



T.C.

EGE ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**VALSARTANIN ORAL YOLLA KULLANIMI İÇİN
KENDİLİĞİNDEN EMÜLSİFİYE OLABİLEN
SİSTEMLERİNİN HAZIRLANMASI VE İN VİVO-İN
VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ ÜZERİNE
ÇALIŞMALAR**

Doktora Tezi

Ecz. Eda GÜLMEZOĞLU

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

İzmir

2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**VALSARTANIN ORAL YOLLA KULLANIMI İÇİN
KENDİLİĞİNDEN EMÜLSİFİYE OLABİLEN
SİSTEMLERİNİN HAZIRLANMASI VE İN VİVO-İN
VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ ÜZERİNE
ÇALIŞMALAR**

Ecz. Eda GÜLMEZOĞLU

Danışman
Prof. Dr. H. Yeşim KARASULU

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
Farmasötik Teknoloji Doktora Programı

İzmir
2019

Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. H. Yeşim KARASULU

(Danışman)

Üye : Prof. Dr. Özgen ÖZER

Üye : Prof. Dr. Esra BALOĞLU

Üye : Prof. Dr. Selma ŞAHİN

Üye : Doç.Dr. Zeynep Şafak TEKSİN

Üye : Doç.Dr. Sinem Yaprak KARAVANA

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih:

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 09.12.2019

Önsöz

Bu çalışmada, Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemine (BCS) göre düşük çözünürlük, yüksek permeabilite (sınıf II) ya da düşük permeabilite, yüksek çözünürlük (sınıf III) gösteren bir etkin maddeyi model etkin madde olarak seçip, lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistemlerini hazırlamak ve seçilen etkin maddenin biyoyararlanımını arttırmak hedeflenmiştir. Bu amaçla yapılan literatür araştırmaları sonucunda hipertansiyon tedavisinde kullanılan Valsartan etkin maddesinin kullanılmasına karar verilmiştir. Çünkü Valsartan pH'ya bağlı çözünürlük gösteren ve oral biyoyararlanımı yaklaşık %25 olan bir ilaçtır. Bu tez çalışması formülasyon geliştirme, karakterizasyon ve *in vitro-in vivo* çalışmaları kapsamaktadır. Tez konusunun belirlenmesinden tez çalışmasının son aşamasına kadar yardımlarını esirgemeyen, yoğun temposunda bana her an ışık tutan değerli hocam Prof. Dr. Yeşim KARASULU'ya sonsuz teşekkür ederim.

İzmir, 8.01.2020

Ecz. Eda GÜLMEZOĞLU

Özet

Valsartanın Oral Yolla Kullanımı İçin Kendiliğinden Emülsifiye Olabilen Sistemlerinin Hazırlanması ve *In Vivo-In Vitro* Değerlendirilmesi Üzerine Çalışmalar

Birçok kardiyovasküler hastalık yüksek kan basıncına bağlı gelişmektedir. Yüksek kan basıncı sakatlık ve erken ölüm için, özellikle endüstrileşmiş ülkelerde en büyük risk faktörlerinden biridir. Dolayısıyla antihipertansif tedavi, hipertansiyonla yüksek ölüm oranına sahip hastalarda kardiyovasküler komplikasyon riskini azaltır. Valsartan, yüksek seçiciliğe sahip ve oral yoldan aktif anjiyotensin II tip I reseptör antagonist grubuna dahil antihipertansif bir ilaçtır. Valsartanın anjiyotensin II tip I reseptörüne afinitesi, anjiyotensin II tip II reseptörüne olan afinitesinden yaklaşık 20000 kat fazladır. Bu sayede kan damarlarında gevşemeye ve kan basıncında düşmeye sebep olur. Valsartan oral alımdan sonra hızla absorbe olur fakat yetersiz ve dengesiz biyoyararlanıma sahip olmasından dolayı oral biyoyararlanımı yaklaşık %25'tir. Gastrointestinal kanalın üst kısmından absorbe olur ve buranın asidik ortamı nedeniyle de bu bölgede az çözünür. Ayrıca karaciğerde ilk geçiş etkisine uğrar ve yemek etkisiyle de biyoyararlanımı azalan ilaçlar arasında yer alır. Valsartanın düşük çözünürlük ve biyoyararlanım sorununun üstesinden gelebilmek için literatür de birçok çalışma yapılmıştır. Bunlar arasında katı dispersiyonlar, siklodekstrin kompleksleri, mikrokapsül formülasyonları, kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler yer almaktadır. Tez çalışmamda, farklı olarak, valsartanın değişik lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistemleri geliştirilerek, bu formülasyonlar birbiri içinde kıyaslanmıştır. Sonuç olarak, düşük çözünürlük ve biyoyararlanımın gösteren valsartan için ideal bir ilaç taşıyıcı sistem önerilmiştir. Bilindiği gibi, hipertansiyon tedavisinde valsartan tek başına artan dozlarda kullanıldığı gibi, tedavinin yetersiz olduğu durumlarda kombinasyon tedavileri de kullanılmaktadır. Ancak günümüzde uygulanan sağlık tedbirleri gereği, antihipertansif kombine formlar son çare olarak reçetelenmektedir. Bu nedenle de yüksek seçiciliğe sahip ve pazar payı yüksek olan valsartanın, biyoyararlanım problemini aşacak şekilde yenilikçi bir formülasyon ile yeniden formüle edilmesi oldukça önemlidir. Böylelikle önerilen bu yeni formülasyon ile hastaların hem tedaviye uyuncu artacak hem de valsartan içeren kombine formülasyonlara gereksinimi azalarak ilaç sarfiyatı düşecek ve sağlık harcamalarına da olumlu bir katkı sağlaması söz konusu olacaktır.

Anahtar Kelimeler; Antihipertansif; valsartan; lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistem; miseller çözelti; kendiliğinden emülsifiye olan ilaç taşıyıcı sistem (SEDDS); Katı kendiliğinden emülsifiye olabilen ilaç taşıyıcı sistem (S-SEDDS).



Abstract

Development Of Oral Self-Emulsifying Drug Delivery Systems Valsartan And *In Vitro-In Vivo* Evaluation

Many cardiovascular diseases have been resulted from high blood pressure. Especially in industrialized countries for disability and early death high blood pressure is one of the biggest risk factor. Therefore, antihypertensive treatment reduce the risk of cardiovascular complications in patients with high mortality with hypertension. Valsartan is an orally active antihypertensive drug with high mortality with high selectivity and included in angiotensin II type I receptor antagonist group. The affinity of Valsartan for angiotensin II type I receptor is about 20000 fold greater than its affinity for angiotensin II type II receptor. This loosed the blood vessels and decreases blood pressure. Valsartan rapidly absorbed after oral administration but oral bioavailability is 25% because of its inadequate and unbalanced bioavailability. It is absorbed from the upper part of the gastrointestinal tract and it is less soluble in this region because of its acidic environment. Also Valsartan exposed to first pass metabolism in liver and its bioavailability decreases with food. Many studies have been made in the literature in order to achieve the low solubility and bioavailability problem of Valsartan. These include solid dispersions, cyclodextrin complexes, microcapsule formulations, self emulsifying systems. In this project, different lipid-based drug delivery systems of valsartan will be developed and these formulations compared within each other. As a result, an ideal drug delivery system for valsartan with low solubility and bioavailability will be recommended. As is known, valsartan is used in increasing doses in treatment of hypertension alone, and it is used in combination products when treatment is insufficient. However, according to today's health precautions, antihypertensive combination forms are prescribed as a last solution. For this reason, it is very important that valsartan, which has high selectivity and high drug market share, is reformulated with an innovative formulation to overcome the problem of bioavailability. Thus, with this new formulation, it will be possible for patients to increase their treatment tolerance and reduce the requirement of combined formulations containing valsartan, thereby reducing drug consumption and contributing positively to the health expenses.

Keywords; Antihypertensive; valsartan; lipid-based drug delivery system; micellar solution; self-emulsifying drug delivery system (SEDDS); solid self-emulsifying drug delivery system (S-SEDDS).



İçindekiler

| | |
|---|------|
| Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri | I |
| Önsöz | II |
| Özet | III |
| Abstract | V |
| İçindekiler | VII |
| Tablolar Dizini | XVI |
| Şekiller Dizini | XXI |
| Kısaltma Listesi..... | XXIV |
| Giriş..... | 1 |
| 1.1. Araştırmanın Problemi | 1 |
| 1.2.Araştırmanın Sorusu | 1 |
| 1.3. Araştırmanın Hipotezleri..... | 1 |
| 1.4. Araştırmanın Varsayımları..... | 2 |
| 1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları | 2 |
| 1.6. Araştırmanın Amacı | 2 |
| Genel Bilgiler..... | 3 |
| 2.1. Hipertansiyon | 3 |
| 2.1.1. Primer Hipertansiyon | 5 |
| 2.1.2. Sekonder Hipertansiyon | 6 |
| 2.2. Hipertansiyon Tedavisi | 7 |
| 2.2.1. İlaç Dışı Tedavi | 7 |
| 2.2.2. Farmakolojik Tedavi | 8 |
| 2.2.2.1. Hipertansiyon Tedavisinde Kullanılan İlaçlar | 8 |
| 2.2.2.1.1. Diüretikler | 9 |
| 2.2.2.1.2. Anjiotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörleri (ACEi)..... | 10 |
| 2.2.2.1.3. Kalsiyum Kanal Blokerleri | 12 |
| 2.2.2.1.4. Beta Blokerler | 13 |
| 2.2.2.1.5. Alfa-1 Blokerler | 14 |
| 2.2.2.1.6. Vasodilatörler | 15 |
| 2.2.2.1.7. Santral Alfa-2 Agonistleri ve diğer Santral etkili ilaçlar | 16 |

| | |
|--|----|
| 2.2.2.1.8. Renin-Anjiotensin-Aldosteron İnhibitörleri..... | 16 |
| 2.2.2.1.9. Anjiotensin Reseptör Blokerleri..... | 17 |
| 2.2.2.1.9.1. Valsartan | 22 |
| 2.3. Lipid Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemler..... | 27 |
| 2.3.1. Lipit Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Kullanılan Maddeler..... | 29 |
| 2.3.1.1.Lipitler..... | 29 |
| 2.3.1.1.1. Lipitlerin Sınıflandırılması..... | 29 |
| 2.3.1.2. Yardımcı Yüzey Etkin Maddeler (Ko-Surfaktanlar)..... | 29 |
| 2.3.1.3. Suda Çözünmeyen Yüzey Etkin Maddeler (Lipofilik Surfaktanlar)..... | 30 |
| 2.3.1.4. Suda Çözünen Yüzey Etkin Maddeler (Hidrofilik Surfaktanlar)..... | 30 |
| 2.3.1.5. Additifler | 31 |
| 2.3.2. Lipid Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Sınıflandırılması..... | 31 |
| 2.3.2.1. Tip I Sistemler | 31 |
| 2.3.2.2. Tip II Sistemler | 32 |
| 2.3.2.3. Tip III Sistemler | 33 |
| 2.3.2.3.1. Tip IIIa Sistemler | 34 |
| 2.3.2.3.2. Tip IIIb Sistemler | 34 |
| 2.3.2.4. Tip IV Sistemler | 34 |
| 2.3.3. Lipit Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Avantajları ve Dezavantajları | 35 |
| 2.3.3.1. Lipit Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Avantajları | 36 |
| 2.3.3.2. Lipit Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Dezavantajları | 36 |
| 2.3.4. Lipid Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Lenfatik Sistem Etkisi | 36 |
| 2.3.5. Lipid Bazlı Sistemlerin Karakterizasyonu | 37 |
| Gereç ve Yöntem..... | 39 |
| 3.1. Kullanılan Kimyasal Madde, Araç ve Gereçler | 39 |
| 3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler | 39 |
| 3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler..... | 41 |
| 3.2. Yöntem..... | 42 |
| 3.2.1. Valsartanın Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi..... | 42 |
| 3.2.1.1. Valsartanın Lipid Su Partisyon Katsayısının Saptanması..... | 42 |

| | |
|--|----|
| 3.2.1.2. Valsartanın FT-IR Spektrumu..... | 42 |
| 3.2.1.3. Valsartanın Erime Derecesi Belirlenmesi | 43 |
| 3.2.2. Valsartan Miktar Tayin Yöntemi Geliştirilmesi | 43 |
| 3.2.2.1. Valsartanın Miktar Tayini İçin Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi..... | 43 |
| 3.2.2.1.1. Valsartanın pH 1.2 Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi | 43 |
| 3.2.2.1.2. Valsartanın pH 4.6 Ortamında Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi | 43 |
| 3.2.2.1.3. Valsartanın pH 6.8 Ortamında Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi | 43 |
| 3.2.2.1.4. Valsartanın HBSS Ortamında Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi | 44 |
| 3.2.2.1.5. Açlık Tokluk Ortamlarında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi..... | 44 |
| 3.2.3. Analitik Yöntem Validasyonu..... | 44 |
| 3.2.3.1. Doğrusallık..... | 44 |
| 3.2.3.2. Seçicilik..... | 44 |
| 3.2.3.3. Çalışma Aralığı | 44 |
| 3.2.3.4. Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirlik..... | 44 |
| 3.2.3.5. Kesinlik | 45 |
| 3.2.3.6. Çözelti Stabilitesi | 45 |
| 3.2.3.7. Duyarlılık ve Sapma Sınırı..... | 45 |
| 3.2.3.8. FaSSIF/FeSSIF/FaSSGF Validasyonu..... | 45 |
| 3.2.4. Formülasyon Çalışmaları | 46 |
| 3.2.4.1. Formülasyonunda Yer Alabilecek Bileşenlerin Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi | 46 |
| 3.2.4.2. Valsartanın Geliştirilecek Olan Lipid Bazlı Formülasyon Terkibinde Yer Alacak Bileşenlerinde Çözünürlüğünün Saptanması..... | 47 |
| 3.2.4.3. Lipid Bazlı Formülasyonların Üçgen Faz Diyagramlarının Çizilmesi | 47 |
| 3.2.4.4. Lipid Bazlı Formülasyonların Hazırlanması..... | 47 |
| 3.2.4.4.1. SEDD Sistemlerin Hazırlanması..... | 47 |
| 3.2.4.4.2. S-SEDD Sistemlerin Hazırlanması | 48 |
| 3.2.4.4.3. Miseller Sistemlerin Hazırlanması..... | 48 |

| | |
|---|----|
| 3.2.5. Lipid Bazlı Formülasyonların Karakterizasyon Çalışmaları..... | 48 |
| 3.2.5.1. SEDDS Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları..... | 48 |
| 3.2.5.1.1. Formülasyonun Fiziksel Görünüşü | 48 |
| 3.2.5.1.2. Formülasyonun pH Ölçümü..... | 48 |
| 3.2.5.1.3. Formülasyonun Elektrik İletkenliği | 48 |
| 3.2.5.1.4. Formülasyonun Refraktif İndis Ölçümü | 49 |
| 3.2.5.1.5. Formülasyonun Viskozitesinin Ölçümü..... | 49 |
| 3.2.5.1.6. Dansitesinin Ölçülmesi | 49 |
| 3.2.5.1.7. Formülasyonun Damlacık Boyutunun Saptanması..... | 49 |
| 3.2.5.1.8. Formülasyonun Zeta Potansiyel Değerleri..... | 49 |
| 3.2.5.1.9. Formülasyonun Dağılım Dayanıklılığının Saptanması..... | 50 |
| 3.2.5.1.10. Formülasyonun Emülsifikasyon Zamanı | 50 |
| 3.2.5.1.11. Formülasyonun Santrifüj Çalışmaları | 50 |
| 3.2.5.1.12. Formülasyonun Isıtma-Soğutma Çalışmaları..... | 50 |
| 3.2.5.1.13. Formülasyonun Dondurma-Çözme Çalışmaları | 50 |
| 3.2.5.1.14. Valsartan Miktar Tayini | 50 |
| 3.2.5.2. S-SEDDS Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları | 51 |
| 3.2.5.2.1. Fiziksel Görünüş | 51 |
| 3.2.5.2.2. Küme ve Sıkıştırılmış Dansite Ölçümleri | 51 |
| 3.2.5.2.3. Titreşimli Elek ile Boyut Analizi | 51 |
| 3.2.5.2.4. Emülsifikasyon Zamanı Analizi..... | 52 |
| 3.2.5.2.5. Damlacık Boyutu Analizi..... | 52 |
| 3.2.5.2.6. İçerik Miktar Tayini | 52 |
| 3.2.5.3. Miseller Sistemlerin Karakterizasyon Çalışmaları..... | 52 |
| 3.2.5.3.1. Fiziksel Görünüş | 52 |
| 3.2.5.3.2. Formülasyonun pH Ölçümü..... | 52 |
| 3.2.5.3.3. Formülasyonun Refraktif İndis Ölçümü | 52 |

| | |
|---|----|
| 3.2.5.3.4. Formülasyonun Damlacık Boyutunun Saptanması..... | 52 |
| 3.2.5.3.5. Formülasyonun Santrifüj Çalışmaları | 52 |
| 3.2.5.3.6. Formülasyonun Isıtma-Soğutma Çalışmaları..... | 53 |
| 3.2.5.3.7. Formülasyonun Kritik Misel Konsantrasyonu..... | 53 |
| 3.2.5.3.8. İçerik Miktar Tayini | 53 |
| 3.2.6. Stabilite Çalışmaları | 53 |
| 3.2.6.1. SEDD Sistemlerinin Stabilite Çalışmaları | 53 |
| 3.2.6.2. S-SEDD Sistemlerinin Stabilite Çalışmaları..... | 54 |
| 3.2.7. <i>In Vitro</i> Salım Çalışmaları | 54 |
| 3.2.7.1. <i>In Vitro</i> Salım Çalışmalarının Kinetik Değerlendirilmesi | 54 |
| 3.2.8. Açlık Tokluk Ortamlarında <i>In Vitro</i> Salım Çalışmaları..... | 54 |
| 3.2.9. <i>In vitro</i> Lipoliz Deneyi..... | 55 |
| 3.2.10. <i>In Vitro</i> Permeabilite Çalışmaları | 55 |
| 3.2.10.1. Caco-2 Hücrelerinin Pasajlanması | 56 |
| 3.2.10.2. Caco-2 Hücrelerinin Polikarbonat Filtre Üzerine Ekimi | 56 |
| 3.2.10.3. Valsartanın Caco-2 Hücrelerinden Permeabilite Çalışmaları..... | 57 |
| 3.2.10.4. Transepitelyal Elektrik Rezistans (TEER) Değerinin Ölçülmesi..... | 58 |
| 3.2.10.5. Hücre Canlılığı ve Sitotoksosite Testi | 59 |
| 3.2.11. <i>In Vivo</i> Çalışmalar..... | 59 |
| 3.2.11.1. Farmakokinetik ve Farmakodinamik Çalışmalar | 59 |
| 3.2.11.1.1. Farmakokinetik Çalışmalar | 60 |
| 3.2.11.1.2. Farmakodinamik Çalışmalar | 61 |
| 3.2.11.2. İstatiksel Değerlendirme | 61 |
| Bulgular..... | 63 |
| 4.1. Valsartanın Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi | 63 |
| 4.1.1. Valsartanın Lipid Su Partisyon Katsayısının Saptanması..... | 63 |
| 4.1.2. Valsartanın FT-IR Spektrumu..... | 63 |
| 4.1.3. Valsartanın Erime Derecesi Tayini | 64 |
| 4.2. Valsartan Miktar Tayin Yöntemi Geliştirilmesi | 64 |
| 4.2.1. Valsartanın Miktar Tayini İçin Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi..... | 65 |

| | |
|---|-----|
| 4.2.1.1.Valsartanın pH 1.2 Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi | 65 |
| 4.2.1.2.Valsartanın pH 4.6 Ortamında Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi | 66 |
| 4.2.1.3.Valsartanın pH 6.8 Ortamında Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi | 67 |
| 4.2.1.4.Valsartanın HBSS Ortamında Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi | 67 |
| 4.2.1.5.Açlık Tokluk Ortamlarında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi..... | 68 |
| 4.3. Analitik Yöntem Validasyonu..... | 70 |
| 4.3.1.Doğrusallık..... | 70 |
| 4.3.2.Seçicilik..... | 70 |
| 4.3.3.Çalışma Aralığı | 72 |
| 4.3.4.Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirlik..... | 74 |
| 4.3.5.Kesinlik | 78 |
| 4.3.6.Çözelti Stabilitesi | 80 |
| 4.3.7.Duyarlılık ve Sapma Sınırı..... | 84 |
| 4.4. Formülasyon Çalışmaları | 85 |
| 4.4.1.Formülasyonunda Yer Alabilecek Bileşenlerin Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi | 85 |
| 4.4.2.Valsartanın Geliştirilecek Olan Lipid Bazlı Formülasyon Terkibinde Yer Alacak Bileşenlerinde Çözünürlüğünün Saptanması..... | 85 |
| 4.4.3.Lipid Bazlı Formülasyonların Üçgen Faz Diyagramları..... | 87 |
| 4.4.4. Lipid Bazlı Formülasyonların Hazırlanması..... | 101 |
| 4.4.4.1. SEDD Sistemlerin Hazırlanması..... | 101 |
| 4.4.4.2. S-SEDD Sistemlerin Hazırlanması | 103 |
| 4.4.4.3. Miseller Sistemlerin Hazırlanması..... | 103 |
| 4.5. Lipid Bazlı Formülasyonların Karakterizasyon Çalışmaları..... | 104 |
| 4.5.1. SEDDS Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları..... | 104 |
| 4.5.1.1. Formülasyonun Fiziksel Görünüşü | 104 |
| 4.5.1.2. Formülasyonun pH Ölçümü..... | 104 |
| 4.5.1.3. Formülasyonun Elektrik İletkenliği | 104 |

| | |
|--|-----|
| 4.5.1.4. Formülasyonun Refraktif İndis Ölçümü | 104 |
| 4.5.1.5. Formülasyonun Viskozitesinin Ölçümü..... | 104 |
| 4.5.1.6. Dansitesinin Ölçülmesi | 105 |
| 4.5.1.7. Formülasyonun Partikül Büyüklüğünün Saptanması..... | 105 |
| 4.5.1.8. Formülasyonun Zeta Potansiyel Değerleri..... | 105 |
| 4.5.1.9. Formülasyonun Dağılım Dayanıklılığının Saptanması..... | 107 |
| 4.5.1.10. Formülasyonun Emülsifikasyon Zamanı | 109 |
| 4.5.1.11. Formülasyonun Santrifüj Çalışmaları | 110 |
| 4.5.1.12. Formülasyonun Isıtma-Soğutma Çalışmaları..... | 110 |
| 4.5.1.13. Formülasyonun Dondurma-Çözme Çalışmaları | 111 |
| 4.5.1.14. Valsartan Miktar Tayini | 111 |
| 4.5.2 S-SEDDS Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları | 111 |
| 4.5.2.1. Fiziksel Görünüş | 111 |
| 4.5.2.2. Küme ve Sıkıştırılmış Dansite Ölçümleri | 111 |
| 4.5.2.3. Titreşimli Elek ile Boyut Analizi | 112 |
| 4.5.2.4. Emülsifikasyon Zamanı Analizi..... | 114 |
| 4.5.2.5. Damlacık Boyutu Analizi..... | 114 |
| 4.5.2.6. İçerik Miktar Tayini | 114 |
| 4.5.3. Miseller Sistemlerin Karakterizasyon Çalışmaları..... | 115 |
| 4.5.3.1. Fiziksel Görünüş | 115 |
| 4.5.3.2. Formülasyonun pH Ölçümü..... | 115 |
| 4.5.3.3. Formülasyonun Refraktif İndis Ölçümü | 115 |
| 4.5.3.4. Formülasyonun Damlacık Boyutunun Saptanması..... | 116 |
| 4.5.3.5. Formülasyonun Santrifüj Çalışmaları | 116 |
| 4.5.3.6. Formülasyonun Isıtma-Soğutma Çalışmaları..... | 117 |
| 4.5.3.7. Formülasyonun Kritik Misel Konsantrasyonu | 117 |
| 4.5.3.8. İçerik Miktar Tayini | 117 |

| | |
|---|-----|
| 4.6. Stabilite Çalışmaları | 118 |
| 4.6.1. SEDD Sistemlerinin Stabilite Çalışmaları | 118 |
| 4.6.2. S-SEDD Sistemlerinin Stabilite Çalışmaları..... | 122 |
| 4.7. <i>In Vitro</i> Salım Çalışmaları | 130 |
| 4.7.1. <i>In Vitro</i> Salım Çalışmalarının Kinetik Değerlendirilmesi | 142 |
| 4.8. Açlık Tokluk Ortamlarında <i>In Vitro</i> Salım Çalışmaları..... | 148 |
| 4.9. <i>In vitro</i> Lipoliz Deneyi..... | 152 |
| 4.10. <i>In vitro</i> Permeabilite Çalışmaları..... | 155 |
| 4.10.1. Caco-2 Hücrelerinin Pasajlanması | 155 |
| 4.10.2. Caco-2 Hücrelerinin Polikarbonat Filtre Üzerine Ekimi | 155 |
| 4.10.3. Valsartanın Caco-2 Hücrelerinden Permeabilite Çalışmaları..... | 156 |
| 4.10.4. Transepitelyal Elektrik Rezistans (TEER) Değerinin Ölçülmesi..... | 160 |
| 4.10.5. Hücre Canlılığı ve Sitotoksikite Testi | 166 |
| 4.11. <i>In Vivo</i> Çalışmalar..... | 166 |
| 4.11.1. Farmakokinetik ve Farmakodinamik Çalışmalar | 166 |
| 4.11.1.1. Farmakokinetik Çalışmalar | 166 |
| 4.11.1.1.1. Farmakokinetik Çalışmalar için Yöntem Validasyonu | 166 |
| 4.11.1.1.1.1. Gün İçi ve Günler Arası Doğruluk, Kesinlik ve Geri Kazanım..... | 168 |
| 4.11.1.1.1.2. Stok Çözelti Kararlılığı | 170 |
| 4.11.1.1.1.3. Donma Erime Kararlılığı | 172 |
| 4.11.1.1.1.4. Kısa Süreli Oda Sıcaklığı Kararlılığı | 174 |
| 4.11.1.1.1.5. Dilüsyon Doğruluğu..... | 175 |
| 4.11.1.1.1.6. Matriks Etkisi..... | 175 |
| 4.11.1.1.1.7. LLOQ Düşük Saptama (Tayin) Alt Sınırı..... | 176 |
| 4.11.1.1.2. Farmakokinetik Bulgular | 177 |
| 4.11.1.2. Farmakodinamik Çalışmalar | 180 |
| Tartışma..... | 183 |
| 5.1. Genel Değerlendirme | 183 |
| 5.2. Valsartanın Fizikokimyasal Özelliklerinin Değerlendirilmesi..... | 184 |

| | |
|--|-----|
| 5.3. Valsartanın HPLC Metodu ve Validasyon Çalışmalarının Değerlendirilmesi . | 184 |
| 5.4. Valsartanın Çözünürlük Çalışmalarının Değerlendirilmesi | 185 |
| 5.5. Formülasyon Geliştirme Çalışmalarının Değerlendirilmesi | 186 |
| 5.6. Karakterizasyon ve Stabilité Çalışmalarının Değerlendirilmesi | 188 |
| 5.7. <i>İn Vitro</i> Salım Çalışmalarının Değerlendirilmesi | 192 |
| 5.8. Açlık Tokluk Ortamlarında <i>In Vitro</i> Salım Çalışmalarının Değerlendirilmesi. | 193 |
| 5.9. <i>İn vitro</i> Lipoliz Çalışmasının Değerlendirilmesi | 194 |
| 5.10. <i>İn vitro</i> Permeabilite Çalışmasının Değerlendirilmesi..... | 194 |
| 5.11. Farmakokinetik ve Farmakodinamik Çalışmaların Değerlendirilmesi | 195 |
| Sonuç ve Öneriler..... | 197 |
| Kaynaklar | 198 |
| Ekler | 209 |
| Teşekkür | 210 |
| Tezden Yapılan Yayın ve Bildiriler | 211 |
| Özgeçmiş..... | 212 |

Tablolar Dizini

| | |
|--|----|
| Tablo 1: Kullanılması planlanan yağ/yüzey etkin madde/ yardımcı yüzey etkin maddeler..... | 46 |
| Tablo 2 : pH 1.2' de çalışma aralığı sonuçları | 73 |
| Tablo 3 : pH 4.6'da çalışma aralığı sonuçları | 73 |
| Tablo 4 : pH 6.8'de çalışma aralığı sonuçları | 74 |
| Tablo 5 : HBSS'de çalışma aralığı sonuçları | 74 |
| Tablo 6 : pH 1.2'de 3 farklı konsantrasyonda absorbans değerleri ve yüzde geri kazanım değerleri | 75 |
| Tablo 7 : pH 4.6'da 3 farklı konsantrasyonda absorbans değerleri ve yüzde geri kazanım değerleri | 76 |
| Tablo 8 : pH 6.8'de 2 farklı konsantrasyonda absorbans değerleri ve yüzde geri kazanım değerleri | 77 |
| Tablo 9 : HBSS'de 2 farklı konsantrasyonda absorbans değerleri ve yüzde geri kazanım değerleri | 78 |
| Tablo 10 : pH 1.2'de valsartanın 40 µg/mL'lik (%100) derişimdeki kesinlik bulguları. | 79 |
| Tablo 11 : pH 4.6'da valsartanın 40 µg/mL'lik (%100) derişimdeki kesinlik bulguları. | 79 |
| Tablo 12 : pH 6.8'de valsartanın 40 µg/mL'lik (%100) derişimdeki kesinlik bulguları. | 79 |
| Tablo 13 : HBSS'de valsartanın 40 µg/mL'lik (%100) derişimdeki kesinlik bulguları. | 80 |
| Tablo 14 : pH 1.2'de 4 µg/mL derişimde çözelti stabilite bulguları..... | 80 |
| Tablo 15 : pH 1.2'de 40 µg/mL derişimde çözelti stabilite bulguları..... | 81 |
| Tablo 16 : pH 4.6'da 4 µg/mL derişimde çözelti stabilite bulguları..... | 81 |
| Tablo 17 : pH 4.6'da 40 µg/mL derişimde çözelti stabilite bulguları..... | 82 |
| Tablo 18 : pH 6.8'de 4 µg/mL derişimde çözelti stabilitesi bulguları | 82 |
| Tablo 19 : pH 6.8'de 40 µg/mL derişimde çözelti stabilitesi bulguları | 83 |
| Tablo 20 : HBSS'de 4 µg/mL derişimde çözelti stabilitesi bulguları | 83 |
| Tablo 21 : HBSS'de 40 µg/mL derişimde çözelti stabilitesi bulguları | 84 |
| Tablo 22 : pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8 ve HBSS ortamları için LOD ve LOQ değerleri. | 84 |
| Tablo 23 : Kullanılması planlanan bileşenlerin incelenen özellikleri | 85 |

| | |
|--|-----|
| Tablo 24 : Valsartanın farklı bileşenlerdeki çözünürlük miktarları..... | 86 |
| Tablo 25 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları..... | 87 |
| Tablo 26 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları..... | 88 |
| Tablo 27 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları..... | 89 |
| Tablo 28 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları..... | 90 |
| Tablo 29 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları..... | 91 |
| Tablo 30 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları..... | 92 |
| Tablo 31 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları..... | 92 |
| Tablo 32 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları..... | 93 |
| Tablo 33 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları..... | 94 |
| Tablo 34 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları..... | 95 |
| Tablo 35 : Seçilen formülasyonların terkipleri | 102 |
| Tablo 36 : Optimum formülasyonların partikül boyutu, zeta potansiyel, refraktif indeks ve polidispersite indeksi sonuçları | 102 |
| Tablo 37 : Katı taşıyıcılara emdirilebilen formülasyon miktarları..... | 103 |
| Tablo 38 : F8B plasebo, F9A plasebo, F8B, F9A'nın partikül boyutu ölçümleri ... | 105 |
| Tablo 39 : F8B, F9A'nın zeta potansiyel ölçümleri..... | 106 |
| Tablo 40 : F8B formülasyonunun zeta average (dnm) değerleri | 107 |
| Tablo 41 : F8B formülasyonunun polidispersite indeksi | 108 |
| Tablo 42 : F9A formülasyonunun zeta average(dnm) değerleri | 108 |
| Tablo 43 : F9A formülasyonunun polidispersite indeksi..... | 109 |
| Tablo 44 : Formülasyonların miktar tayini sonuçları..... | 111 |
| Tablo 45 : Formülasyonlara ait Küme dansite, Sıkıştırılmış dansite, Hausner oranı, Carr indeksi değerleri..... | 112 |

| | |
|--|-----|
| Tablo 46 : F9A HPMC formülasyonunun boyut dağılımı | 112 |
| Tablo 47 : F8B HPMC formülasyonunun boyut dağılımı | 113 |
| Tablo 48 : F8B Avicel formülasyonunun boyut dağılımı | 113 |
| Tablo 49 : F9A Avicel formülasyonunun boyut dağılımı | 113 |
| Tablo 50 : S-SEDD formülasyonların partikül boyutu ölçümleri..... | 114 |
| Tablo 51 : Formülasyonların miktar tayini sonuçları..... | 115 |
| Tablo 52 : Misel Formülasyonların Refraktif İndis değerleri. | 116 |
| Tablo 53 : Geliştirilen formülasyonların damlacık boyutu ölçümleri..... | 116 |
| Tablo 54 : Geliştirilen formülasyonların miktar tayini sonuçları..... | 118 |
| Tablo 55: F8B formülasyonunun 0-3. Ay stabilite bulguları..... | 119 |
| Tablo 56 : F8B formülasyonunun 6-12. Ay stabilite bulguları..... | 120 |
| Tablo 57 : F9A formülasyonunu 0-3. Ay stabilite sonuçları. | 121 |
| Tablo 58 : F9A formülasyonunu 6-12. Ay stabilite sonuçları. | 122 |
| Tablo 59 : F8B Avicel formülasyonunun 0-6. ay stabilite bulguları | 123 |
| Tablo 60 : F8B Avicel formülasyonunun 6-12. ay stabilite bulguları | 124 |
| Tablo 61 : F8B HPMC formülasyonunun 0-6. ay stabilite bulguları..... | 125 |
| Tablo 62 : F8B HPMC formülasyonunun 6-12. ay stabilite bulguları..... | 126 |
| Tablo 63 : F9A Avicel formülasyonunun 0-6. Ay stabilite bulguları | 127 |
| Tablo 64 : F9A Avicel formülasyonunun 6-12. Ay stabilite bulguları..... | 128 |
| Tablo 65 : F9A HPMC formülasyonunun 0-6. Ay stabilite bulguları. | 129 |
| Tablo 66 : F9A HPMC formülasyonunun 6-12. Ay stabilite bulguları. | 130 |
| Tablo 67 :Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC, F8B Aerosil formülasyonlarının pH 1.2'deki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS). | 131 |
| Tablo 68 : Ticari formülasyon , Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC, F8B Aerosil formülasyonlarının pH 4.6'daki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS). | 133 |
| Tablo 69 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC, F8B Aerosil formülasyonlarının pH 6.8'deki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS). | 135 |
| Tablo 70 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A HPMC, F9A Aerosil, F9A Avicel formülasyonlarının pH 1.2'deki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS). | 137 |
| Tablo 71 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A HPMC, F9A Aerosil, F9A Avicel formülasyonlarının pH 4.6'daki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS). | 139 |
| Tablo 72 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A HPMC, F9A Aerosil, F9A Avicel formülasyonlarının pH 6.8'deki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS). | 141 |

| | |
|---|-----|
| Tablo 73 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC ve F8B Aerosil formülasyonlarının pH 1.2’de salım kinetiği değerlendirme bulguları..... | 143 |
| Tablo 74 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC ve F8B Aerosil formülasyonlarının pH 4.6’da salım kinetiği değerlendirme bulguları..... | 144 |
| Tablo 75 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC ve F8B Aerosil formülasyonlarının pH 6.8’de salım kinetiği değerlendirme bulguları..... | 145 |
| Tablo 76 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A Avicel, F9A HPMC ve F9A Aerosil formülasyonlarının pH 1.2’de salım kinetiği değerlendirme bulguları..... | 146 |
| Tablo 77 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A Avicel, F9A HPMC ve F9A Aerosil formülasyonlarının pH 4.6’da salım kinetiği değerlendirme bulguları..... | 147 |
| Tablo 78 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A Avicel, F9A HPMC ve F9A Aerosil formülasyonlarının pH 6.8’de salım kinetiği değerlendirme bulguları..... | 148 |
| Tablo 79 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel formülasyonlarının FaSSGF ortamındaki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS)..... | 149 |
| Tablo 80 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel formülasyonlarının FaSSIF ortamındaki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS)..... | 150 |
| Tablo 81: Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel formülasyonlarının FeSSIF ortamındaki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS). | 151 |
| Tablo 82 : Zamana göre F8B ve IPM/Valsartanın zamana göre lipoliz olma yüzdeleri (ortalama±SS). | 153 |
| Tablo 83 : Zamana göre F8B Avicel ve IPM/Valsartanın zamana göre lipoliz olma yüzdeleri (ortalama±SS)..... | 154 |
| Tablo 84 : Lipoliz deneyinin HPLC miktar tayini sonuçları (ortalama±SS). | 155 |
| Tablo 85 : Formülasyonlara ait permeabilite değerleri sonuçları (±SS)..... | 159 |
| Tablo 86 : Effluks değerlerine ait veriler (±SS)..... | 159 |
| Tablo 87 : Apikal kısımdan bazolateral kısma doğru yapılan geçiş çalışmalarına ait veriler (±SS)..... | 160 |
| Tablo 88 : Bazolateral kısımdan apikal kısma doğru yapılan geçiş çalışmalarına ait veriler (±SS)..... | 160 |
| Tablo 89 : Apikal yönden bazolateral yöne doğru yapılan geçiş çalışmaları boyunca hücre membranlarının TEER değerlerindeki yüzde değişim. | 161 |
| Tablo 90 : Bazolateral yönden apikal yöne doğru yapılan geçiş çalışmaları boyunca hücre membranlarının TEER değerlerindeki yüzde değişim. | 161 |
| Tablo 91 : Miktar Tayini Yönteminde Kullanılan Gradient Programı. | 167 |

| | |
|---|-----|
| Tablo 92 : Gün İçi Doğruluk ve Kesinlik Sonuçları (Anl.Std.: Valsartan)..... | 168 |
| Tablo 93 : Günler Arası Doğruluk ve Kesinlik Sonuçları..... | 169 |
| Tablo 94 : Günler Arası Doğruluk ve Kesinlik Toplu Sonuçları (Anl. Std.: Valsartan) | 170 |
| Tablo 95 : Düşük Derişimde Stok çözelti kararlılığı 1(Anl. Std.: Valsartan)..... | 171 |
| Tablo 96 : Yüksek Derişimde Stok çözelti kararlılığı 1(Anl. Std.: Valsartan) | 171 |
| Tablo 97 : Düşük Derişimde Stok çözelti kararlılığı 2(Anl. Std.: Valsartan)..... | 172 |
| Tablo 98 : Yüksek Derişimde Stok çözelti kararlılığı 2(Anl. Std.: Valsartan) | 172 |
| Tablo 99 : Düşük Derişimde Donma Erime Kararlılığı Sonuçları (Anl.Std.: Valsartan). | 173 |
| Tablo 100 : Yüksek Derişimde Donma Erime Kararlılığı Sonuçları (Anl.Std.: Valsartan)..... | 173 |
| Tablo 101 : Düşük Derişimde Kısa Süreli Oda Sıcaklığı Kararlılığı..... | 174 |
| Tablo 102 : Yüksek Derişimde Kısa Süreli Oda Sıcaklığı Kararlılığı..... | 174 |
| Tablo 103 : Kısa Süreli Oda Sıcaklığı Kararlılığı (Anl.Std.: Valsartan, Gerçek Değer: 100 ng/mL Anl. Std.) | 175 |
| Tablo 104 : Matriks Etkisi Sonuçları (Anl.Std.: Valsartan, İç Std.: Olmesartan, MF: Matriks Faktör) | 176 |
| Tablo 105 : LLOQ Sonuçları (Anl.Std.: Valsartan, İç.Std.: Olmesartan)..... | 177 |
| Tablo 106: Yapılan uygulamalardan sonra elde edilen farmakokinetik parametreler. | 179 |
| Tablo 107 : Hayvanlarda tansiyon ölçüm değerleri. | 181 |
| Tablo 108 : İlaç uygulanan ve uygulanmayan hayvanlardaki biyokimyasal parametrelere ait bulgular. | 182 |

Şekiller Dizini

| | |
|---|-----|
| Şekil 1: Valsartanın kimyasal yapısı | 22 |
| Şekil 2: Valsartanın FT-IR spektrumu | 63 |
| Şekil 3 : Valsartanın DSC Termogramı | 64 |
| Şekil 4 : pH 6.8 ortamında Valsartanın HPLC pik görüntüsü. | 65 |
| Şekil 5 : pH 1.2 Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi | 66 |
| Şekil 6 : pH 4.6 Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi. | 66 |
| Şekil 7 : pH 6.8 Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi. | 67 |
| Şekil 8 : HBSS Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi. | 68 |
| Şekil 9 : FaSSIF Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi. | 68 |
| Şekil 10 : FeSSIF Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi. | 69 |
| Şekil 11 : FaSSGF Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi..... | 69 |
| Şekil 12: Valsartanın pH 6.8’de HPLC kromatogramı. | 71 |
| Şekil 13: Valsartanın pH 4.6’da HPLC kromatogramı. | 71 |
| Şekil 14: Valsartanın pH 1.2’de HPLC kromatogramı. | 72 |
| Şekil 15: Valsartanın HBSS’de HPLC kromatogramı..... | 72 |
| Şekil 16 : Lipid Bazlı formülasyonların üçgen faz diyagramlarından elde edilen alanlar | 100 |
| Şekil 17 : Lipid bazlı formülasyonların üçgen faz diyagramında oluşturdukları alan değerleri..... | 101 |
| Şekil 18 : F9A’nın zeta potansiyel grafiği | 106 |
| Şekil 19 : F8B’nın zeta potansiyel grafiği | 106 |
| Şekil 20: Emülsifiye olmuş formülasyon..... | 110 |
| Şekil 21 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC, F8B Aerosil formülasyonlarının pH 1.2’deki dissolüsyon grafiği. | 132 |
| Şekil 22 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC, F8B Aerosil formülasyonlarının pH 4.6’daki dissolüsyon grafiği. | 134 |
| Şekil 23 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC, F8B Aerosil formülasyonlarının pH 6.8’deki dissolüsyon grafiği. | 136 |
| Şekil 24 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A HPMC, F9A Aerosil, F9A Avicel formülasyonlarının pH 1.2’deki dissolüsyon grafiği. | 138 |
| Şekil 25 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A HPMC, F9A Aerosil, F9A Avicel formülasyonlarının pH 4.6’daki dissolüsyon grafiği. | 140 |

| | |
|--|-----|
| Şekil 26 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A HPMC, F9A Aerosil, F9A Avicel formülasyonlarının pH 6.8'deki dissolüsyon grafiği. | 142 |
| Şekil 27 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel formülasyonlarının FaSSGF ortamındaki dissolüsyon grafiği | 150 |
| Şekil 28 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel formülasyonlarının FaSSIF ortamındaki dissolüsyon grafiği..... | 151 |
| Şekil 29 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel formülasyonlarının FeSSIF ortamındaki dissolüsyon grafiği..... | 152 |
| Şekil 30: F8B ve IPM/Valsartanın zamana göre lipoliz profil grafiği. | 153 |
| Şekil 31 : F8B Avicel ve IPM/Valsartanın zamana göre lipoliz profil grafiği. | 154 |
| Şekil 32: 21 gün boyunca filtre üzerinde tutunan hücreler. | 156 |
| Şekil 33: Valsartanın ticari formülasyondan apikal kısımdan bazolateral kısma ve bazolateral kısımdan apikal kısma doğru yapılan geçiş çalışmalarına ait grafik (\pm SS) (0. dakikada miktar $6\mu\text{g}/\text{mL}$). | 157 |
| Şekil 34: Toz valsartanın apikal kısımdan bazolateral kısma ve bazolateral kısımdan apikal kısma doğru yapılan geçiş çalışmalarına ait grafik (\pm SS) (0. dakikada miktar $6\mu\text{g}/\text{mL}$). | 158 |
| Şekil 35: Valsartanın F8B formülasyonundan apikal kısımdan bazolateral kısma ve bazolateral kısımdan apikal kısma doğru yapılan geçiş çalışmalarına ait grafik (\pm SS) (0. dakikada miktar $6\mu\text{g}/\text{mL}$). | 158 |
| Şekil 36: Valsartanın F8B Avicel formülasyonundan apikal kısımdan bazolateral kısma doğru yapılan geçiş çalışmalarına ait grafik (\pm SS) (0. dakikada miktar $6\mu\text{g}/\text{mL}$) | 159 |
| Şekil 37: Toz valsartanın apikal kısımdan bazolateral kısma yapılan geçiş çalışmalarında deneyden önce ve deneyden sonra ölçülen TEER değerlerinin grafiği (\pm SS). | 162 |
| Şekil 38: Toz valsartanın bazolateral kısımdan apikal kısma yapılan geçiş çalışmalarında deneyden önce ve deneyden sonra ölçülen TEER değerlerinin grafiği (\pm SS). | 162 |
| Şekil 39: Ticari formülasyonun apikal kısımdan bazolateral kısma yapılan geçiş çalışmalarında deneyden önce ve deneyden sonra ölçülen TEER değerlerinin grafiği (\pm SS). | 163 |

| | |
|---|-----|
| Şekil 40: Ticari formülasyonun bazolateral kısımdan apikal kısıma yapılan geçiş çalışmalarında deneyden önce ve deneyden sonra ölçülen TEER değerlerinin grafiği (\pm SS). | 163 |
| Şekil 41: F8B'nin apikal kısımdan bazolateral kısıma yapılan geçiş çalışmalarında deneyden önce ve deneyden sonra ölçülen TEER değerlerinin grafiği (\pm SS). | 164 |
| Şekil 42 : F8B'nin bazolateral kısımdan apikal kısıma yapılan geçiş çalışmalarında deneyden önce ve deneyden sonra ölçülen TEER değerlerinin grafiği (\pm SS). | 164 |
| Şekil 43: F8B Avicel'in apikal kısımdan bazolateral kısıma yapılan geçiş çalışmalarında deneyden önce ve deneyden sonra ölçülen TEER değerlerinin grafiği (\pm SS). | 165 |
| Şekil 44: F8B Avicel'in bazolateral kısımdan apikal kısıma yapılan geçiş çalışmalarında deneyden önce ve deneyden sonra ölçülen TEER değerlerinin grafiği (\pm SS). | 165 |
| Şekil 45: Kalibrasyon eğrisi ve denklem bilgileri..... | 167 |
| Şekil 46 : Orogastrik sonda yardımıyla sıçanlara ilaç uygulaması. | 177 |
| Şekil 47 : Uygulamada sıçan görüntüsü..... | 178 |
| Şekil 48 : Zamana göre Ticari formülasyon ve F8B'nin plazma konsantrasyon grafiği (R: Ticari formülasyon, T: F8B). | 179 |
| Şekil 49: Sıçanlarda tansiyon ölçümü. | 180 |

Kısaltma Listesi

| | |
|-------------------|---|
| ACE | : Anjiotensin Dönüştürücü Enzim |
| ACEi | : Anjiotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörleri |
| ARB | : Anjiotensin Reseptör Blokörü |
| ALT | : Alanin Aminotransferaz |
| AST | : Aspartat Aminotransferaz |
| ATPIII | : The Adult Treatment Panel Guidelines (Yetişkin Tedavi Paneli Prensipleri) |
| ATCC | : Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu |
| AT1 | : Anjiotensin II Tip 1 reseptörü |
| AT2 | : Anjiotensin II Tip 2 reseptörü |
| AV | : Atriyoventriküler |
| BCS | : Biopharmaceutical Classification System) Biyofarmasötik İlaç Sınıflandırma Sistemi |
| BHA | : Butillenmiş Hidroksi Anisol |
| BHT | : Butillenmiş Hidroksi Toluen |
| CaCl ₂ | : Kalsiyum Klorür |
| Cmaks | : Pik Plazma Konsantrasyonu |
| DSC | : Diferansiyel Taramalı Kalorimetre |
| DMEM | : Dulbecco's Modified Eagle's Medium |
| DMSO | : Dimetil Sülfoksit |
| EAA(AUC) | : Eğri Altı Alan (Area Under the Curve) |

| | |
|---------|--|
| EDTA | : Etilendiamin Tetraasetik Asit |
| EMA | : European Medicines Agency (Avrupa İlaç Ajansı) |
| ESH/ESC | : European Society of Hypertension(Avrupa Hipertansiyon Topluluğu) / European Society of Cardiology (Avrupa kardiyoloji Topluluğu) |
| FaSSGF | : Fasted State Simulated Gastric Fluid (Açlık Yapay Mide Sıvısı) |
| FaSSIF | : Fasted State Simulated Intestinal Fluid (Açlık Yapay Bağırsak Sıvısı) |
| FDA | : Amerika Gıda ve İlaç İdaresi |
| FeSSIF | : Fed State Simulated Intestinal Fluid (Tokluk Yapay Bağırsak Sıvısı) |
| FFA | : Serbest Yağ Asidi |
| FTIR | : Fourier-transform Infrared Spectroscopy (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi) |
| GI | : Gastrointestinal |
| HBSS | : Hank's Balanced Salt Solution (Hank'ın Dengeli Tuz Solüsyonu) |
| HLB | : Hidrofilik Lipofilik Balans |
| HPLC | : Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi |
| HPMC | : HidroksiPropil Metil Selüloz |
| HT | : Hipertansiyon |
| IDF | : International Diabetes Federation(Uluslararası Diyabet Federasyonu) |

| | |
|---------|---|
| IPM | : İzopropil Miristat |
| LBDDS | : Lipid Based Drug Delivery Systems (Lipid Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemler) |
| LCT | : Uzun Zincirli Yağ Asidi |
| LFCS | : Lipid Formülasyon Sınıflandırma Sistemi |
| LLOQ | : Lower Limit of Quantification (En Düşük Konsantrasyon Tayin Limiti) |
| LOQ | : Konsantrasyon Tayin Limiti |
| LOD | : Konsantrasyon Tespit Limiti |
| LVH | : Sol ventrikül hipertrofisi |
| MAC | : Maksimum Alveolar Konsantrasyon |
| MCT | : Orta Zincirli Yağ Asidi |
| NaCl | : Sodyum Klorür |
| NaOH | : Sodyum Hidroksit |
| PBS | : Fosfat Tamponu Çözeltisi |
| PEG 600 | : Polietilen Glikol 600 |
| pKa | : İyonlaşma Katsayısı |
| PDI | : Polidispersite İndeksi |
| RAAS | : Renin Anjiotensin Aldosteron Sistemi |
| RSD | : Relatif Standart Sapma |

| | |
|---------|---|
| SEDDS | : Self Emulsifying Drug Delivery System (Kendiliğinden Emulsifiye olabilen İlaç Taşıyıcı Sistem) |
| SMEDDS | : Self Micro Emulsifying Drug Delivery Systems (Kendiliğinden mikro emulsifiye Olabilen İlaç Taşıyıcı Sistemler) |
| S-SEDDS | : Solid Self Emulsifying Drug Delivery System (Katı Kendiliğinden Emulsifiye olabilen İlaç Taşıyıcı Sistem) |
| TEER | : Transepitelyal Elektriksel Direnci |
| TEKHARF | : Türk Erişkinlerde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri |
| USP | : Amerikan Farmakopesi |
| UV | : Ultraviyole |
| VSMC | : Vasküler Düz Kas Hücreleri |
| YEM | : Yüzey Etkin Madde |
| YYEM | : Yardımcı Yüzey Etkin Madde |

Giriş

1.1. Araştırmanın Problemi

Hipertansiyon, gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerin en başta gelen sağlık sorunlarından birisidir. Dünya Sağlık Örgütü, prevalansı yüksek olan hipertansiyonun dünyada önlenebilir ölüm nedenleri içinde birinci sırada yer aldığını belirtmektedir. Bizim çalışmamızın konusu olan valsartan ise bu gruba mensup potent, yüksek seçiciliğe sahip ve oral yoldan aktif antihipertansif bir ilaçtır. Valsartan etkisini anjiyotensin II tip I reseptörüne bağlanarak gösterir. Böylece kan basıncında düşüş sağlanır. Ancak valsartanın biyoyararlanımının %25 civarında olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Saydam & Takka, 2007; Siddiqui et al., 2011). Bu nedenle her ne kadar valsartan özellikle diyabetli hastalarda önerilse de valsartanın oral biyoyararlanımı istenilen düzeyde değildir. Valsartanla ilgili çalışmaların birçoğunda tablet formu incelenmiştir. Bu anlamda, projemizde valsartan içeren kendiliğinden emülsifiye olabilen ilaç taşıyıcı sistemleri, katı kendiliğinden emülsifiye olabilen ilaç taşıyıcı sistemleri ve miseller çözeltisi geliştirilmiş ve ticari formülasyon ve toz valsartan ile karşılaştırılmalı *in vitro* çalışmalar yürütülmüştür. Ayrıca yapılan farmakokinetik ve farmakodinamik etkinlik çalışmaları ile valsartanın antihipertansif etkinliği yenilikçi lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistemleri içerisinde değerlendirilmiştir.

1.2. Araştırmanın Sorusu

Tezimizde geliştirilen SEDDS, S-SEDDS ve miseller çözeltinin, ilacın oral biyoyararlanım ve etkinliğinin artırılması, antihipertansif tedavi için daha az doza ihtiyaç duyulan ve böylelikle hasta uyuncunun iyileştirildiği bir ilaç şekli olması amacıyla, ticari oral formülasyonlarına (tablet) kıyasla daha iyi bir alternatif olup olmadığı sorusuna cevap aranacaktır.

1.3. Araştırmanın Hipotezleri

Lipid bazlı formülasyonlarının amacı, gastrointestinal (GI) yol boyunca minimum çökmeye çözülmüş ilacın transferini sağlayarak suda az çözünen ilaçların biyoyararlanım ve absorpsiyonlarını arttırmaktır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistemlerin özellikle lenfatik taşınma ile hepatik metabolizmayı atlayıp, kan konsantrasyonunun artması yolu ile büyük ölçüde karaciğerde metabolize olan ilaçların terapötik etkinliğini arttırdığı görülmüştür. Bu nedenle de tezimizde suda

düşük çözünürlük gösteren, karaciğer ilk geçiş etkisine sahip ve düşük biyoyararlanım gösteren valsartanın miseller çözeltisi, SEDDS, S-SEDDS gibi lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistemleri geliştirilmiş ve bu sistemler birbirleriyle kıyaslanarak antihipertansif tedavi için ideal bir lipid bazlı sistem (F8B) önerilmiştir.

Geliştirilen lipid bazlı formülasyonların karakterizasyon, stabilite ve *in vitro* salım çalışmaları tamamlandıktan sonra, Caco-2 hücre hatlarından geçiş çalışmaları yapılmış, seçilen lipid sistem (F8B) ile *in vivo* çalışmalar yürütülmüştür. *In vivo* çalışmalarda, geliştirilen lipid formülasyon içindeki etkin maddenin farmakokinetik profili, kan basıncı üzerine olan etkisi ve biyokimyasal parametreleri, ticari farmasötik şekil ile karşılaştırmalı olarak sıçanlarda incelenmiştir. Geliştirdiğimiz formülasyonun biyoyararlanımının *in vitro* ve *in vivo* olarak daha üstün olduğu görüşmüştür.

1.4. Araştırmanın Varsayımları

Tezimizde karakterizasyon ve stabilitede kullanılan parametreler istatistiksel olarak anlamlı sayıda olacak şekilde belirlenmiştir. Farmakokinetik ve farmakodinamik çalışmalardaki örneklem büyüklüğü etik kurulun izin verdiği ölçüdedir.

1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları

Tez çalışmamızdaki en büyük sınırlılık maddi olanaklar olmuştur. Bu güçlükleri büyük ölçüde aşmamıza yardımcı olan TÜBİTAK (117S821) ve Ege Üniversitesi BAP birimine (17-İLAM-004 ve 17-ECZ-014) teşekkür ederiz.

1.6. Araştırmanın Amacı

Bu tezin amacı, hipertansiyon tedavisinde kullanılan bir anjiyotensin II tip I reseptör antagonisti olan valsartanın lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistemlerini (miseller çözelti, SEDDS, S-SEDDS) geliştirmek ve geliştirilen bu formülasyonları birbiri içinde kıyaslayarak etkinliğini *in vivo* olarak araştırmaktır. Bu tezde hedeflenen ölçütlere ulaşıldığında, geliştirilen lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistem ile mevcut antihipertansiflerin hipertansiyon tedavisinde daha etkin ve güvenilir bir şekilde kullanılmasının sağlanması, antihipertansif kombinasyonların tercih sıklığının azaltılması, maliyet ve etkinliği daha avantajlı ticari bir takdim şeklinin yaratılması olasıdır.

Genel Bilgiler

2.1. Hipertansiyon

Hipertansiyon genel popülasyonda yüksek prevalansa sahip, birinci basamakta 8 kişiden 1'inde görülen ve kardiyovasküler ve böbrek hastalığı için ana risk faktörü olan bir hastalıktır. Uygun ilaçların varlığına rağmen, tansiyon hastalarının sadece %25'inin kan basıncı kontrol altındadır. Bu bireylerin %50'si tedavi edilmemektedir ve maalesef, kan basıncının tedavi edilmesi tavsiye edilen hipertansif hastaların sadece %50'sinde kılavuza dayalı hedeflere ulaşılmaktadır. Bu gidişle, dünya çapındaki yetişkinlerin üçte birinin 2025 yılına kadar hipertansiyon hastası olacağı öngörülmektedir (Bhagani, Kapil, & Lobo, 2018).

Hipertansiyon, kan basıncının 140/90 mmHg'nın üzerinde olması olarak tanımlanır. Genel popülasyonda sıklığı yüksek olan kardiyovasküler hastalıklar için tedavi edilebilir önemli bir risk faktörüdür. En sık görülen esansiyel hipertansiyondur ve yaygın bir hastalıktır. Ancak sekonder hipertansiyon da araştırılmakta ve teşhis altındadır. Toplumda, hipertansiyon "sessiz katil" olarak adlandırılır ve genelde açık bir belirti göstermez. Global olarak ölüm ve sakatlık için önde gelen bir risk faktörüdür; 25 yaş üstü kişilerin %40'ı hipertansiyonludur (O'Shea, Griffin, & Fitzgibbon, 2017). Hipertansiyonlu (HT) yetişkinlerin sayısı 1975'te 594 milyon iken 2015'te 1.13 milyara yükselmiştir (Zhou et al., 2017).

Kan basıncının regülasyonu kardiyovasküler sistem, renal sistem, sinir sistemi ile endokrin sistem arasındaki etkileşimle sağlanmaktadır. Kan basıncının uzun süre yüksek seyretmesi zaman içinde organ hasarına sebep olur ve kardiyovasküler sisteme, böbreklere ve gözlere zarar verebilmektedir. Ancak uzun süren bu sürecin erken evrelerinde yüksek kan basıncı, kardiyovasküler fonksiyon bozulmasına neden olmayabilir. Zaman içinde görülen bu fonksiyonel bozulmanın çoğu, yüksek kan basıncının neden olduğu kompensatuar mekanizmaların (vasküler-ventriküler hipertrofi) sonucunda veya vasküler sistemde olan değişiklikler (endotel fonksiyon değişikliği-ateroskleroz vb.) sonucunda olmaktadır (Aydın & Öztürk, 2014).

Hipertansiyon sıklığı ırk ve coğrafyaya göre değişim göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri ve pek çok Avrupa ülkesinde erişkin nüfusun yaklaşık %25-30'unda hipertansiyon bulunmaktadır. Türkiye'de yapılan değişik çalışmalarda erişkin yaş grubunda hipertansiyon prevalansı %33 (Türk Kardiyoloji Derneği), %35.9 (Türkiye

Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği) ve %30.3 (Türk Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Derneği) arasında değişmektedir. Ülkemizde hipertansiyon görülme sıklığı ile ilgili ilk geniş kapsamlı çalışma “Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri (TEKHARF)” çalışmasıdır. Bu çalışmada, hipertansiyon prevalansının %33.7 olduğu, yaş ilerledikçe bu sayının arttığı saptanmıştır. Daha yakın zamanda tamamlanmış olan Türk Hipertansiyon Prevalans Çalışması (Prevalence, awareness and treatment of hypertension in Turkey, PatenT), ülkemizde hipertansiyonun sıklığı, dağılımı, farkındalığı, tedavi ve kontrol oranları konusunda en güncel ve kapsamlı bilgilere erişmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmada erişkin yaş grubunda hipertansiyon görülme sıklığını %31.8 olarak bulunmuştur. Bu oran kadınlarda %36.1 iken, erkeklerde %27.7 olarak rapor edilmiştir. Ayrıca, hipertansiyonlu hastaların sadece %40.7’sinin hastalıklarının farkında olduğu tespit edilmiş, %31.1’inin antihipertansif tedavi aldığı ve tedavi alanların sadece %20.7’sinin kan basıncının kontrol altında olduğu saptanmıştır. Diyabet ve prediyabet prevalans ve risk faktörlerinin değerlendirildiği TURDEP-2 çalışmasında hipertansiyon prevalansı %31.4 olarak rapor edilmiştir. Hipertansiyon sıklığının yıllar içinde azaldığı görülmüştür. Ülkemizde erişkinlerde yapılan metabolik sendrom prevalansının ATP III (The Adult Treatment Panel Guidelines) ve IDF (International Diabetes Federation) kriterlerine göre değerlendirildiği bir diğer çalışmada ise hipertansiyon her iki grupta da en sık rastlanan metabolik sendrom komponenti olarak belirlenmiştir. Yaşla hipertansiyon sıklığının belirgin arttığı gösterilmiştir (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2018).

Kan basıncı yaş arttıkça artar ve bu artış çevre ve yaşam tarzı faktörlerinin yanı sıra başlıca elastik arteriyel damarlılıkta, özellikle aortta arteriyel sertliğin neden olduğu hemodinamikteki değişikliklerin neden olduğu düşünülmektedir. Artan arter sertliği sistolik kan basıncının artmasına ve diastolik kan basıncının azalmasına neden olur. Bu nedenle yaşlı bireylerde izole sistolik hipertansiyonun prevalansının artmasından sorumludur. Ayrıca, hipertansiyon, İngiltere ve ABD gibi Batı ülkelerinde kadınlarda ve etnik azınlıklarda daha yüksek bir prevalansa sahiptir (Bhagani et al., 2018).

2013 ESH / ESC kurallarına göre hipertansiyon tanımları aşağıda verilmiştir;

- İşte (At work) Kan Basıncı: Sistolik ≥ 140 mmHg, Diastolik ≥ 90 mmHg.
- Ambulant Kan basıncı: Gündüz (uyanık) Sistolik ≥ 135 mmHg, Diastolik ≥ 85 mmHg.

Gece (uykuda) Sistolik ≥ 120 mmHg, Diastolik ≥ 70 mmHg.

24 saat boyunca Sistolik ≥ 130 mmHg, Diastolik ≥ 80 mmHg.

-Evde Kan Basıncı: Sistolik ≥ 135 mmHg, Diastolik ≥ 85 mmHg.

Hipertansiyon tanısı için sistolik kan basıncı, diastolik kan basıncı veya her ikisi de yukarıda belirtilen değerleri aşmalıdır (Oparil et al., 2018).

Yine 2007 ve 2013 ESH/ESC kurallarına göre hipertansiyonun sınıflandırılması aşağıda belirtildiği şekilde yapılmaktadır;

Optimal: Sistolik <120 mmHg ve Diastolik <80 mmHg

Normal: Sistolik 120-129mmHg ve/veya Diastolik 80-84mmHg

Yüksek normal: Sistolik 130-139mmHg ve/veya Diastolik 85-89mmHg

Evre 1 hipertansiyon: Sistolik 140-159mmHg ve/veya Diastolik 90-99mmHg

Evre 2 hipertansiyon: Sistolik 160-179mmhg ve/veya 100-109mmHg

Evre 3 hipertansiyon: Sistolik ≥ 180 ve/veya Diastolik ≥ 110 mmHg

İzole sistolik hipertansiyon : Sistolik ≥ 140 mmHg ve Diastolik <90 mmHg'dir (Aydın & Öztürk, 2014).

Hipertansiyon etiyolojik olarak primer ve sekonder olarak iki bölümde değerlendirilir.

2.1.1. Primer Hipertansiyon

Hipertansiyonlu hastaların birçoğunda, net bir neden tanımlanmamıştır. Buna esansiyel, primer veya idiyopatik hipertansiyon denir. Esansiyel hipertansiyon bir dışlama teşhisidir ve tüm hipertansiyon vakalarının $\sim 90-95$ 'ini oluşturur. Genetik yatkınlık ve çevresel faktörler arasındaki karmaşık bir etkileşimden kaynaklandığı düşünülmektedir. Esansiyel hipertansiyona yatkınlık, poligeniktir ve sadece çevresel faktörlerle birleşince anlamlı bulunur. Esansiyel hipertansiyon heterojen bir hastalıktır, farklı hastalarda yüksek kan basıncı ile sonuçlanan farklı rastgele faktörlere sahiptir. Obezite, yüksek alkol ve/veya tuz alımı, insülin direnci, düşük potasyum ve/veya düşük kalsiyum alımı, yaşlanma, hareketsiz yaşam tarzı ve stres, hipertansiyon gelişimine katkıda bulunur (O'Shea et al., 2017).

Ayrıca hipertansiyon, hem etiolojisinde duygusal nedenlerin rol oynaması hem de seyri sırasında psikiyatrik belirtilerin ve bozuklukların ortaya çıkabilmesi nedeni ile psikiyatrik olarak da yıllardır araştırılmaktadır. Yapılan çalışmalarda; aşırı kontrollü ve uyumlu olma, işte sürekli çaba gösterme, agresif dürtüleri bastırma gibi özelliklerin hipertansiyona yatkınlığa neden olduğu gösterilmiştir. Hipertansiyonun baskılanmış duygulara karşı bir tepki, bir uyum ve savunma mekanizması olduğu kabul edilmektedir. Hipertansiyona yatkın kişilerde, duygusal streslere cevap olarak sempatik sinir sisteminin etkilendiği, vasküler vazokonstriksiyon ve diğer otonomik cevapların sonucu olarak hipertansiyon ortaya çıkmaktadır. Strese vazokonstriktör cevabın hipertansif olanlarda, tansiyonu normal olanlara göre çok daha uzun olduğu da gösterilmiştir. Hipertansiyona yatkın olan kişilerde, strese karşı otonomik yanıt özelliği kan basıncının yükselmesi şeklindedir. Esansiyel hipertansiyonda sempatik uyarı artışının kilit bir etmen olabileceği, baroreseptörlerin yapısal ve işlevsel değişiklikler göstererek yeniden düzenlendiği günümüzde en geçerli olan varsayımdır (Çelik & Özdemir, 2010).

2.1.2. Sekonder Hipertansiyon

Sekonder hipertansiyon, tanımlanabilen bir sebebe bağlı olan arteriyel hipertansiyon anlamına gelir ve genel hipertansif popülasyonun yaklaşık %5-10'unu etkiler. Belirlenebilir nedenler arasında obstrüktif uyku apnesi, renovasküler hastalık, renal parenkimal hastalık, primer aldosteronizm, Cushing sendromu, hipertiroidi, hipotiroidi, hiperparatiroidi, feokromositoma veya paraganglioma, gebelik, akromegali ve aort koarktasyonu sayılabilir. Sekonder hipertansiyonun sıklığı, yaşa ve taranan popülasyonun klinik özelliklerine oldukça bağlıdır (O'Shea et al., 2017).

Tüm hipertansiyon hastalarını sekonder hipertansiyon açısından değerlendirmek hem zaman hem de maliyet açısından uygun olmayacağından, klinik ipuçlarıyla kimlerin araştırılacağına karar verilebilir. Aşağıda belirtilen hasta gruplarında sekonder hipertansiyon araştırılması gereklidir:

- 1- Farklı sınıf üç adet yeterli dozda antihipertansif (biri diüretik olmak üzere) kullanımına rağmen kan basıncı ayarlanamayan hastalar,
- 2- Tedaviyle normal seyreden kan basıncında ani yükselmeleri olan hastalar,

3- Ailede hipertansiyon, kardiyovasküler hastalık gibi risk faktörleri ve obezitesi olmayıp 30 yaşından önce hipertansiyon hastası olanlar,

4- Puberteden önce hipertansiyon gelişen hastalar,

5- Malign veya ciddi hipertansiyona eşlik eden retinal hemoraji, papilödem, kalp yetmezliği, nörolojik bozukluklar, akut böbrek yetmezliği gibi son organ hasarının olduğu hastalar,

6- Anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü veya anjiotensin reseptör blokörü (ARB) kullanımı sonrası kreatinin değerlerinde ciddi yükselme olan hastalar (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2018).

2.2. Hipertansiyon Tedavisi

2.2.1. İlaç Dışı Tedavi

İlaç dışı tedavi yöntemleri yaşam tarzı değişikliklerini kapsamaktadır. Bunlar;

- Fiziksel aktivitenin artırılması,
- Vücut kitle endeksinin azaltılması (özellikle vücut kitle endeksi 20'nin üzerindeyse),
- Tuz kısıtlaması,
- Meyve ve sebzece zengin bir diyet uygulanması,
- Sigara ve alkol kullanımının mümkün olduğunca azaltılması veya bırakılması,
- Stresi azaltılmış bir hayata yönelme veya stresle başa çıkabilme,

gibi kişinin kolayca yapabileceği değişikliklerdir (Üstü & Uğurlu, 2018).

Bu yaşam tarzı değişiklikleri tüm hipertansif hastalara ve yüksek normal kan basıncılı kişilere önerilir. İlaç tedavisi, evre 3 hipertansiyona sahip hastaların yanı sıra evre 1 ve 2 hipertansiyonu olan yüksek veya çok yüksek toplam kardiyovasküler risk (yaş, sigara, dislipidemi, açlık plazma glikozu yüksekliği, anormal glikoz tolerans testi, abdominal obezite, ailede erken yaşta kardiyovasküler hastalık öyküsü, organ hasarları, diabetes mellitus, serebrovasküler hastalık, kalp hastalığı, böbrek hastalığı, ilerlemiş retinopati gibi risk faktörleri) altındaki hastalarda derhal başlanmalıdır (Kılıç & Üstü, 2012).

Evre 1 ve 2'de yüksek kardiyovasküler risk yoksa ve kan basıncı ölçümlerinde ortalama 180/110 mmHg ise, yaşam tarzı değişikliklerine ek olarak ilaç başlanmalıdır.

Aradaki değerlerde ise, yaşam tarzı değişiklikleri önerileri ile ilaç eklenmesi 1 ila 8 haftaya kadar ertelenebilir (Ritchie Mackenzie, Campbell, & Murchie, 2011).

2.2.2. Farmakolojik Tedavi

Araştırmalar, tüm ilaç gruplarının benzer etkinlikte olduğunu göstermiştir. Tedavinin yararı kan basıncı dūřuřu ile ilgilidir, yani ilaçların çeşitliliğinden bağımsızdır. Bu nedenle ilaç seçiminde, ek hastalıklar göz önüne alınarak dual etkili ilaçlara öncelik verilmeli, yan etki profili dikkate alınmalı ve maliyet-etkin olanlar tercih edilmelidir (Üstü & Uęurlu, 2018). Dolayısıyla tekli veya kombinasyon tedavisi olarak diüretikler (tiyazid grubu, klortalidon ve indapamid), beta-blokerler, kalsiyum kanal blokerleri, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri ve anjiyotensin reseptör blokerlerin hepsi antihipertansif tedavinin başlatılması ve sürdürülmesi için uygundur. Kılavuza (ESC/ESH/2013) göre bu beř grup ilaç da ilk tedavi olarak kullanıldıklarında kan basıncında yeterli dūřuř sağlamaktadır. Antihipertansif ilaçlar kendilerine özgün avantajları ve kısıtlılıkları ile hastaların özellikleri dikkate alınarak ve zorlayıcı endikasyonlar göz önünde bulundurularak kullanılmalıdır. ESC/ESH/2013 kılavuzunda da bu konuya aynı şekilde vurgu yapılmıştır. Yani hipertansiyon tedavisi hastaya özgü olmalı, hipertansiyona eşlik eden klinik durumlar, risk faktörleri, hastanın yaşı, cinsiyeti ilaç seçimi öncesinde dikkate alınmalıdır (Kabakcı, 2013).

2.2.2.1. Hipertansiyon Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

Hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaç grupları aşağıda verilmiştir,

-Diüretikler

-Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörleri (ACEi)

-Kalsiyum Kanal Blokerleri

-Beta Blokerler

-Alfa-1 Blokerler

-Vasodilatörler

-Santral Alfa-2 Agonistleri ve diğer Santral etkili ilaçlar

-Renin-Anjiyotensin-Aldosteron İnhibitörleri

-Anjiyotensin Reseptör Blokerleri (ARB)

2.2.2.1.1. Diüretikler

Diüretikler hipertansiyonda her zaman ilk sıra ilaç olmuşlardır. Fakat son zamanlarda yeni başlangıçlı diabetes mellitus insidansının artması ve daha düşük yan etki profiline sahip ilaçlar sebebiyle kullanımları azalmaktadır.

Hipertansiyon tedavisinde kullanılan diüretikler aşağıdaki gibi sınıflandırılır:

- Tiazid diüretikleri
- Tiazid benzeri diüretikler
- Aldosteron inhibitörleri
- Kıvrım diüretikleri
- Diğer potasyum tutucu diüretikler.

Tiazidler, sodyum ve klorürün yeniden emilmesini önlemek için nefronun distal kısmı üzerinde etki ederler. Hipertansiyonda, renin-anjiyotensin aldosteron sistemi (RAAS) uyarıldığında, daha fazla sodyum distal tübüle ulaşır. Tiazid diüretikler başlangıçta yüksek dozlarda kullanılırdı. Daha sonra, düşük doz tiazid diüretiklerinin daha iyi fayda zarar profiline sahip olduğu anlaşılmıştır (Unni, 2016).

Hipertansiyonda kullanılan ilaçların sınıflandırılmasında tiazid grubu diüretikler (hidroklorotiyazid) ve tiazid benzeri diüretikler (klortalidon, indapamid) yıllarca ilk tercih olarak önerilmiş ve aynı başlık altında değerlendirilmiştir (Asil & Atalar, 2017). Tiazid diüretiklerinin yan etkileri doza bağımlıdır ve bunlara hiponatremi, hipokalemi, metabolik alkaloz, hipovolemi, hipotansiyon ve daha az olarak hiperürisemi, hipomagnezemi, hiperglisemi, hiperlipidemi ve impotens dahildir. Kıvrım ve tiazid grubu diüretiklerin farkı, kıvrım diüretikleri sonrası hipokalsemi oluşur fakat tiazid diüretiklerinden sonra hiperkalsemi oluşur (Laurent, 2017).

Aldosteron inhibitörlerinin en bilinen üyesi spironolaktondur. Spironolakton, geliştirilen ilk mineralokortikoid antagonistidir. Kalp yetmezliği, sekonder aldosteronizm ve diğer patolojiler ile ilişkili hipertansiyon, primer hiperaldosteronizm ve periferik ödem tedavisinde kullanılır (Hargovan & Ferro, 2014).

Kıvrım diüretikleri Henle kıvrımının kalın yükselen kolunda sodyum-potasyum-klorür taşıyıcısını inhibe eder, bu da sodyum, klorür ve suyun yeniden emiliminin

azalmasına neden olur. Furosemidin diğer kıvrım diüretiklerinden daha üstün olduğunu gösteren hiçbir veri bulunmamasına rağmen, ABD'de en sık kullanılan 200 reçeteli ilaçta bulunan tek kıvrım diüretik olduğu için sınıf arasında ilk tercih olduğu açıkça görülmektedir. Diğer kıvrım diüretikleri bumedanid, tosemid, etakrinik asittir. Kıvrım diüretikleri sınıfı içindeki tüm ilaçlar başlangıç konsatrasyonu, maksimum konsantrasyon ve etki süresi benzer olmakla birlikte, metabolizma, yarı ömür biyoyararlanım ve atılmaları yönünden farklılıklar bulunmaktadır (Wargo & Banta, 2009). Kıvrım diüretikleri, hücre dışı sıvı hacminde bir azalma ile kan basıncını düşürür. Sodyum atılımının artmasına karşılık gelen plazma hacmindeki azalma, venöz dönüşü azaltır ve kardiyak debiyi azaltır. Plazma hacmindeki bu değişiklikler, sempatik sinir sistemini ve renin anjiyotensin aldosteron sistemini uyarabilir. Furosemid ile diürez başlangıcı, 1 saat içinde hızlı bir şekilde başlar, 3-6 saatte pik yapar, 12 saat sonra azalır. Kıvrım diüretiklerinin yan etkileri doza bağımlıdır ve hiponatremi (Na^+ tükenmesi ve seyreltme), hipokalemi, metabolik alkaloz, hipovolemi, hipotansiyon ve daha az olarak hiperürisemi, hipokalsemi, hipertansemi, hiperglisemi, hiperlipidemi, üriner dolgunluk ve impotens yapabilir. Kıvrım diüretikler gut hastalarında kontrendikedir (Laurent, 2017).

Epitelyal sodyum kanal blokerleri, zayıf diüretik özellikleri olan potasyum tutucu bileşiklerdir. Hem amilorid hem triamteren, Liddle sendromunda tercih edilen tedavi yöntemidir, ancak monoterapi olarak kullanıldığında esansiyel hipertansiyonda nispeten etkisizdir (Catena, Colussi, & Sechi, 2012). Hiperkalemi, özellikle kronik böbrek hastalığı, kalp yetmezliği veya diyabeti olan potasyum tutucu diüretik veya potasyum takviyesi alan hastalarda yaygın bir yan etkidir. Hiperkalemi, metabolik asidoz ile ilişkilidir. İktidarsızlık, azalmış libido, bilateral jinekomasti ve mastodini, potasyum tutucu diüretik tedavisinin sık görülen komplikasyonlarıdır. Potasyum tutucu diüretikler böbrek yetmezliği olan hastalarda kontrendikedir (Laurent, 2017).

2.2.2.1.2. Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörleri (ACEi)

Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ACEi), anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) olarak adlandırılan anjiyotensin I'in anjiyotensin II'ye dönüşümünü katalize eden apluripotent çinko metaloproteinaz'ı hedefler. ACE endotel hücrelerinde büyük ve küçük damarlarda, kılcal damarlarda ve venüllerde ve pulmoner endotelyal hücrelerde bulunur. Önemli olarak, ACE, sistemik arter sirkülasyonuna giren

anjyotensin II miktarını, akciğerler içindeki stratejik pozisyon ve genel dolaşımdaki akciğerlerin stratejik pozisyonu nedeniyle modüle edebilir (Laurent, 2017).

İlk anjyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü olan kaptoprilin 1981'de kullanıma girmesinden itibaren, bu ilaç sınıfı çeşitli kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Diğer anjyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri benazepril, enalapril, fosinopril, lisinopril, perindopril, ramipril, trandopril'dir. ACE inhibitörleri, anjyotensin II oluşumunu inhibe eder ve sonuç olarak anjyotensin II tip 1 (AT1) reseptörü (vazokonstriksiyon, hücre büyümesi, sodyum ve su tutma, sempatik aktivasyon) ve anjyotensin II tip 2 (AT2) reseptörünü etkiler. ACE inhibitörlerinin bir dezavantajı, ACE bulunmayan yollarda ACE'nin inhibisyonuna rağmen düşük seviyelerde anjyotensin II üretimine yol açmalarıdır. Bununla birlikte, anjyotensin reseptörlerinin seçici olmayan inhibisyonunun faydalı olduğu gösterilmiştir çünkü anjyotensin II'nin AT2 reseptörü yoluyla etkisi, artan vazodilatasyon ve antiproliferatif aktivite ile sonuçlanabilir (Messerli, Bangalore, Bavishi, & Rimoldi, 2018).

Anjyotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin kan basıncını düşürücü etkisi aylar ve yıllar boyunca devam ettiğinden, kininaz II'nin (ACE'ye benzer) inhibisyonuna cevap olarak, bradikinin (vazodilatuar bir peptid) konsantrasyonlarında, artış gibi başka mekanizmalar önerilmiştir. ACEi, hipertansif hastalarda hedef organları koruyabilmektedir. Nitekim, ACEi'lerin uzun süreli uygulanması sol ventrikül hipertrofisinin (LVH) azaltılması, endotel fonksiyonunun iyileştirilmesi, büyük arterlerin sertleşmesinin önlenmesi ve büyük ve küçük arterlerin yeniden yapılandırılması ile ilişkilidir. Büyük arterlerin gevşetilmesi daha az basınç dalgası yansımına ve aort boyunca basınç dalgalarının daha yavaş yayılmasına neden olur, bu nedenle merkezi sistolik ve nabız basınçlarındaki düşüşle ilişkilendirilir (Laurent, 2017).

ACEi'ler genellikle iyi tolere edilen ilaçlardır. Bununla birlikte, bu ilaçların en sık görülen yan etkileri öksürük ve anjiyoödemdir. ACEi gebelikte, önceki anjiyo nevroitik ödem veya hiperkalemili hastalarda ve bilateral renal arter darlığı olan hastalarda kontrendikedir (Laurent, 2017).

2.2.2.1.3. Kalsiyum Kanal Blokerleri

Kalsiyum kanal blokerleri, farklı kimyasal yapıları ve farmakolojik etkileri olan heterojen bir gruptur. Üç farklı kalsiyum kanal blokeri alt sınıfı vardır: fenilakilamin (örneğin, verapamil), benzotiyazepinler (örneğin, diltiazem) ve dihidropiridinler (örneğin, nifedipin, amlodipin, izradipin). Tüm kalsiyum kanal blokerleri vazodilatördür ve kan basıncını azaltma kapasiteleri vardır. Kalsiyum kanal blokerlerinin vazodilatör gücü, alt sınıfa göre değişir; dihidropiridin tipi bileşikler, fenilakilamin ve benzotiyazepin gruplarına göre nispeten daha güçlüdür. Dihidropiridin kalsiyum kanal blokerlerinin kalp atış hızı üzerinde değişken etkileri vardır. Akut olarak, bu ilaçlar bir refleks taşikardisini indüklemeye eğilimindedir. Bu ilaçların daha yüksek dozları genellikle kalp hızındaki artışla ilişkilidir. Dihidropiridin kalsiyum kanal blokerlerin, kardiyak debiyi azaltması dihidropiridin olmayan kalsiyum kanal blokerlerinden daha olasıdır. Dihidropiridin olmayan kalsiyum kanal blokerleri nabızı % 10 kadar azaltabilir ve negatif inotropik etkiye sahiptir (Sica, 2006).

Kalsiyum kanal blokerleri küçük dirençli arterlerin vazodilatörleridir. Akut uygulanırsa, toplam periferik direnci ve ortalama kan basıncını düşürürler ve kalp çıkışını artırırlar. Kronik uygulamadan sonra, kalp debisi ön tedavi seviyelerine döner ve ortalama arter basıncı ve sistemik vasküler direnç düşer. Bu değişiklikler büyük arterlerin gevşemesiyle, dolayısıyla daha az arteriyel sertlik ve dalga yansımalarıyla ilişkilendirilerek merkezi sistolik ve nabız basınçlarında düşüşe neden olur (Laurent, 2017).

Verapamil ve diltiazem, kalp nodal dokusu üzerindeki doğrudan inhibitör etkileri ve vasküler selektivite eksikliği nedeniyle bradikardik ajanlardır. Sinüs düğümü üzerindeki inhibitör etkilerine paralel olarak, kalsiyum kanal blokerleri atriyoventriküler (AV) düğümde iletimi yavaşlatır. Verapamil ve diltiazem negatif inotropik ajanlardır. Sonuç olarak, dihidropiridinler daha güçlü vazodilatörlerdir ve genellikle diltiazem ve verapamil gibi diğer kalsiyum kanalı antagonistleri sınıflarının temsilcilerinden daha az kardiyak depresan aktiviteye sahiptir. Kalsiyum kanal blokerlerinin venöz sistem üzerinde doğrudan etkisi yoktur ve ön yükü değiştirmez (Laurent, 2017).

Kalsiyum kanal blokerleri genellikle iyi tolere edilen ilaçlardır. Yüksek dozlarda dihidropiridinler ayak bileği ödemi, baş ağrısı, kızarma ve taşikardiye yol açabilir.

Yüksek dozda verapamil kabızlığa neden olabilir. Tüm kalsiyum kanal blokerlerinden sonra dişeti hipertrofisi görülebilir. Dihidropiridin olmayanlar, kasılmanın azalması ve ciddi bradikardiye neden olabilir. Bu nedenle, kalsiyum kanal blokerleri özellikle kardiyak selektif, dihidropiridin olmayanlar önceden var olan bradikardi, atriyoventriküler iletim defekti veya sistolik kalp yetmezliği olan hastalara verilmemelidir. Benzer şekilde, dihidropiridin olmayanlar, bir beta-blokerle tedavi edilen hastalara uygulanmamalıdır, çünkü verapamil ve diltiazem beta-blokajın kardiyak elektrik ve mekanik aktivite üzerindeki etkilerini hızlandırır. Verapamil ve diltiazem, diğerleri arasında, digoksin, siklosporin, dabigatran, atorvastatin ve simvastatin ile önemli ilaç etkileşimlerine sahiptir. Verapamil ve diltiazem, atriyoventriküler blok, ağır sol ventrikül disfonksiyonu ve kalp yetmezliği olan hastalarda kontrendikedir (Laurent, 2017).

2.2.2.1.4. Beta Blokerler

Beta-blokerlerin hipertansiyon tedavisine girmeleri, ilk beta-bloker olan ve anjina tedavisi için geliştirilen pronetalolun kan basıncını düşürdüğünün fark edilmesi ile başlamıştır. Beta-blokerler hipertansiyon tedavisinde, uzun süre diüretikler ile birlikte en sık kullanılan ilaçlar olmuş ve uzun yıllar çeşitli hipertansiyon kılavuzlar tarafından birinci basamak tedavi olarak önerilmiştir. Beta-blokerlerin, iskemik ve iskemik olmayan kalp yetersizliğinde de morbidite ve mortaliteyi azalttığı açık bir şekilde ortaya konmuştur (Abacı, 2005).

Beta-blokerlerin antihipertansif etkisini açıklamak için çeşitli etki mekanizmaları önerilmiştir: Bradikardiye cevap olarak kardiyak verimdeki azalma, ortalama kan basıncını düşürmek için en önemli faktörlerden biridir. Herhangi bir kan basıncını düşürücü ilaç, barorefleks sistemini aktive ettiğinden, toplam periferik dirence bağlı artış şaşırtıcı olmamaktadır. Ancak bu artış baroreseptörlerin sıfırlanması sonucu bastırılmaktadır. Beta blokerlerin etkileri sonucu merkezi kaynaklı sempatik aktivitedeki bir azalma da muhtemeldir. Beta blokerler vazomotor tonunda bir azalmaya yol açar ve renin salgılanmasındaki azalma ile ilişkili olabilir. Ayrıca prefonksiyonel beta reseptörleri üzerinde norepinefrin salınımında azalmaya yol açan etkileri olduğu da düşünölmektedir (Laurent, 2017).

Beta blokerler etki mekanizmalarına göre 3 gruba ayrılır. Birinci kuşak beta-blokerler (örneğin: propranolol) hem β_1 hem de β_2 reseptörlere etki eder, başka bir etkisi yoktur.

İkinci kuşak β -blokerler (örneğin: metoprolol ve bisoprolol) seçici bir şekilde β_1 reseptörlere etki eder, başka bir etkisi yoktur. Metoprololün β_1 reseptörler üzerine etkisi B2 reseptörlerden 75 kat fazladır, bisoprololun etkisi ise 120 kat fazladır. Üçüncü kuşak beta-blokerler (örneğin: karvedilol) β_1 ve β_2 reseptörler için seçici olabilir veya olmayabilir, önemli ek özellikleri vardır. Karvedilol düşük dozlarda β_1 reseptörlere biraz daha fazla etkilidir (7 kat), ancak yüksek dozlarda β_1 ve β_2 reseptörlere eşit etkilidir. Karvedilol aynı zamanda güçlü bir α_1 -blokerdir, periferik damarlarda genişlemeye yol açar (Eroğlu, 2004).

Tedavide kullanılan beta blokerler, asebotalol, atenolol, betaksolol, bisoprolol, karteolol, karvedilol, labelatol, metoprolol, nadolol, nebivolol, oksprenolol, penbutolol, propanolol, pindolol, sotalol, timololdur (Laurent, 2017).

2.2.2.1.5. Alfa-1 Blokerler

Alfa-1 reseptörlerin seçimli olarak bloke edilmesi katekolaminlerin periferik adrenerjik reseptörlerdeki etkisi olan vasokonstrüksiyonu engelleyerek kan basıncını düşürür. Fentolamin, hipertansif krizlerin tedavisinde kullanılan (örneğin feokromositoma veya kokain zehirlenmesinden kaynaklanan hipertansiyon) kompetitif seçici olmayan, kısa etkili bir alfa blokerdir. 1 ila 5 mg'lık bir intravenöz doz, 5-20 dakika boyunca kan basıncında hızlı bir azalmaya neden olur. Fenoksibenzamin, preoperatif feokromositoma tedavisinde esas olarak kullanılan uzun etkili, seçici olmayan bir alfa blokerdir. Prazosin ve doksazosin, vazodilatasyona neden olan seçici alfa-1 blokerleridir. Ayrıca, iyi huylu prostat hiperplazisi (idrar yolu düz kasının gevşemesi), konjestif kalp yetmezliği ve Raynaud hastalığı için de kullanılırlar. İlk doz hipotansiyonu ciddi olabileceğinden, tüm alfa blokerleri dikkatli bir şekilde titre edilmelidir. Lipid ve glikoz metabolizması üzerinde ek olumlu metabolik etkileri vardır (Charlton & Thompson, 2018).

Alfa-1 reseptör blokerlerinin kullanımındaki en büyük sınırlama, genellikle ilk dozu takiben 90 dakika boyunca veya dozun hızlı bir şekilde artması sırasında ortaya çıkan ani ciddi semptomatik ortostatik hipotansiyonu tarif eden ilk doz fenomenidir. İlacın yatmadan önce alınması veya gastrointestinal terapötik sistem kullanılması, senkop insidansını azaltmıştır (Laurent, 2017).

2.2.2.1.6. Vasodilatörler

Vasodilatörler; nitrik oksit donörleri, potasyum kanal aktivatörleri ve kalsiyum kanal blokerleri olmak üzere 3 gruptur (Kalsiyum kanal blokerleri yukarıda ayrı bir grup olarak incelenmiştir) (Charlton & Thompson, 2018).

Nitrik oksit donörleri, gliserin trinitrat ve sodyum nitroprussid'dir. Gliserin trinitrat, hipertansiyon (venodilasyon) ve anjina tedavisinde kullanılır (miyokard oksijen ihtiyacını azaltır). Transdermal veya intravenöz (10-200 mg/dk), oral olarak modifiye edilmiş salım tableti dilaltı olarak uygulanabilir. Yan etkileri taşikardi, tolerans (48 saat içinde), postural hipotansiyon, trombosit fonksiyon bozukluğu ve baş ağrısıdır. Sodyum nitroprussid, arterlerin ve damarların genişlemesine neden olur. Hipertansif bir krizde ve kasıtlı hipotansif anestezi için kullanılabilir. Hızlı başlangıçlıdır ve dengeli zamanları vardır, ancak ışığa duyarlıdır, bu nedenle infüzyon çözeltisi ışıktan korunmalıdır. Yan etkiler gliserin trinitrata benzer, ancak ek olarak siyanür zehirlenmesi riski olan miyokard iskemisi ve ribaunt hipertansiyon vardır. Taşifilaksi oluşturabilir (Charlton & Thompson, 2018).

Potasyum kanal aktivatörleri, minoksidil ve hidralazindir. Minoksidil'in aktif metaboliti olan Minoksidil sülfat, vasküler düz kas hücreleri üzerinde sarkolemmal adozin trifosfata bağlı potasyum kanallarını açar ve arteriyel gevşemeye yol açar. Hem büyük hem de küçük arterleri gevşetir. Minoksidil, ağırlıklı olarak, kan damarlarının arter bölgesinde venodilasyon olmadan etki eder. Düzenleyici ve nörohumoral değişiklikler, kan basıncını düşürücü etkiyi azaltan sıvı tutulmasına yol açan sempatik sinir sistemi ve renin anjiotensin aldosteron sisteminin aktivasyonunu içerir. Yan etkilerinden biri olan hipertrikozun kapsamı minoksidil kesilmesini gerektirebilir, ancak genellikle birkaç hafta içinde kaybolur. Yan etkilerin ciddiyeti nedeniyle, bazı durumlarda, diğer tedavilere cevap vermeyen hastalar için, özellikle kronik böbrek yetmezliği olan hastalar için bir diüretikten sonra üçüncü basamak ajan olarak şiddetli hipertansiyon dışında, herhangi bir kardiyovasküler patolojide endike değildir. Hidralazin, dirençli arteriollerin doğrudan bir vazodilatörüdür. Venöz sisteme etkisi olmadan toplam periferik direnci azaltır. Minoksidilde olduğu gibi, kan basıncını düşürmeye cevap olarak düzenleyici ve nörohumoral değişiklikler meydana gelir. Yan etkiler, esas olarak doza bağımlı olan ve kan basıncını düşürme etkinliğini sınırlayabilen sıvı tutma ve taşikardidir. Hemolitik anemi, vaskülit, glomerülonefrit ve lupus benzeri sendrom da yan etki olarak bildirilmiştir. Hidralazin, uzun süreli

hipertansiyon tedavisi için endike değildir. Bununla birlikte, hamilelikteki gestasyonel ya da kronik hipertansiyon ve hamilelikteki ciddi hipertansiyonun acil kontrolü için bir beta-bloker ile birlikte endikedir (Laurent, 2017).

2.2.2.1.7. Santral Alfa-2 Agonistleri ve diğer Santral etkili ilaçlar

En sık kullanılan santral etkili antihipertansif ilaçlar, klonidin, rilmenidin ve metildopadır (Laurent, 2017).

Klonidin, sempatik tonunu azaltan ve zaman zaman hipertansiyon tedavisinde kullanılan merkezi bir alfa-2 agonistidir. Premedikasyon perioperatif sempatik tepkileri hafifletir. Klonidin, anestetik ajanların maksimum alveoler konsantrasyonunu (MAC) azaltır ve epidural olarak uygulandığında, opioidlerle sinerjistik olan analjezik etkilere sahiptir. Yan etkiler arasında akut tedavinin geri çekilmesinden sonra sedasyon, bradikardi ve ribaund hipertansiyonu bulunur (Charlton & Thompson, 2018).

Metildopa, etkili bir merkezi alfa-2 agonisti olarak görev yapan, metilnorepinefrine metabolize olan bir DOPA analogudur. Metildopa, çoğunlukla gebelikte ilişkili hipertansiyon tedavisinde kullanılır. Olumsuz etkiler arasında ödem, hepatotoksisite, pozitif direkt Coombs testi (% 10-20) ve kemik iliği baskılanması bulunur (Charlton & Thompson, 2018).

Rilmenidin, klasik alfa-2 adrenoseptörlerine nazaran imidazoline daha fazla afiniteye sahip olan hipotansif bir ilaçtır. Rilmenidin, klonidin ile karşılaştırıldığında, adrenerjik olmayan imidazolin reseptörleri için iki ila üç kat daha fazla seçiciliğe sahiptir. Rilmenidin doza bağlı olarak kan basıncını düşürür. Adrenerjik sinir sisteminin inhibisyonu yoluyla damar direncini azaltır. Ayakta durma ve egzersiz nedeniyle kan basıncı değişse bile vazodilatör görevi görür. Santral yan etkiler klonidin veya metildopa ile karşılaştırıldığında daha az sıklıkta görülür. Klonidinin aksine, rilmenidin ile yapılan kronik tedavi sırasında sodyum tutulumu veya ağırlık artışı gözlenmemektedir (Laurent, 2017).

2.2.2.1.8. Renin-Anjiyotensin-Aldosteron İnhibitörleri

Renin anjiyotensin sistemi (RAS) kardiyovasküler ve sıvı homeostazında rol oynar. Hipotansiyona neden olmak için çeşitli noktalarda manipüle edilebilir:

1. Renin salınımının inhibisyonu (β -blokerler veya santral alfa agonistler).

2. Reninin doğrudan inhibisyonu (örneğin, aliskiren).
3. Güçlü vazokonstriktör anjiyotensin II'nin üretilmesini önlemek için anjiyotensin dönüştürücü enzimin (ACE) (örneğin enalapril, lisinopril) inhibisyonu.
4. Anjiyotensin II reseptörlerinin doğrudan blokajı (örneğin, losartan, kandesartan).
5. Aldosteronun (örneğin, spironolakton) kompetitif inhibisyonu (Charlton & Thompson, 2018).

Aliskiren, insan renininin oldukça güçlü ve seçici bir inhibitördür. Aliskiren uygulamasından sonra gözlenen plazma renin konsantrasyonundaki artış, anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri ve anjiotensin reseptör blokerlerine göre daha yüksektir. Bununla birlikte, plazma renin konsantrasyonundaki artış, kan basıncında paradoksal bir yükselişe dönüşmez çünkü plazma renin konsantrasyonundaki reaktif artış, renin inhibisyonunun %95'ini aşmak için gereken 20-100 kat artıştan çok daha küçüktür. Renin inhibitörleri hamilelikte, önceki anjiyonörotik ödem olgularında, hiperkalemide ve iki taraflı renal arter darlığı olan hastalarda kontrendikedir (Laurent, 2017)

2.2.2.1.9. Anjiotensin Reseptör Blokerleri

Anjiyotensin reseptör blokerleri (ARB) günlük kardiyoloji pratiğinde sıklıkla kullanılan ilaçlardır. Güçlü antihipertansif etkileri ve düşük yan etki profilleri ile iyi tolere edilen bu ilaçlar kardiyovasküler alanda birçok endikasyonla kullanılmaktadırlar. Başlıca kullanıldıkları endikasyon hipertansiyon olmakla beraber diğer kullanıldıkları hastalıklar, sol ventrikül hipertrofisi, santral aortik basınç ve arteriyel sertlik, inme, diyabetik nefropati, proteinüri-mikroalbuminüri, atriyal fibrilasyonu önleme, metabolik sendrom, konjestif kalp yetersizliği, koroner arter hastalığı ve anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerine bağlı öksürüktür. İngiltere Hipertansiyon Derneği 2011 yılında yayınladığı yeni kılavuzda belirtilen bu endikasyonların yanısıra anjiotensin reseptör blokerlerin komplikasyonsuz hipertansiyon tedavisinde ilk tercih olarak kullanılabileceğini belirtmiştir (Dursun & Kozan, 2013; Kabakçı, 2013).

Losartan (kaptopril gibi), renin-anjiyotensin sistemini hedef alan bir ilaçtır. Klinik olarak onaylanmış ilk anjiyotensin II reseptörü antagonistidir, yani anjiyotensin II'nin

doğal reseptörüne bağlanmasını bloke eder, böylece renin-anjiyotensin mekanizmasını ACE inhibitörlerinden bir adım sonra keser. 1980'lerin başından itibaren, başarılı olan bir araştırma grubu (Pieter Timmermans ve Ruth Wexler önderliğinde) tarafından yürütölen geliştirme programı böyle bir farmakolojik profile sahip bir maddeye yönlendirildi. O zamanlar, anjiyotensin II reseptör antagonistlerinin etkili antihipertansif ajanlar olacağı öngörölmekteydi. Bu açıklama kısmen anjiyotensin II'ye giden böbrek yolunu bloke etmenin terapötik değerini ortaya çıkaran kaptoprilin gelişmesine bağlıydı. Anjiyotensin II seviyesinin düşürölmesi yararlı ise, bunun bir reseptör antagonisti ile etkisini bloke etmek de aynı şekilde yararlı olacaktı. Ek olarak, 1970'lerde ACE inhibitörlerinin ortaya çıkmasıyla birlikte, anjiyotensin II reseptörü antagonistlerine de büyük ilgi vardı. Bu çalışmalar, peptid anjiyotensin II'nin (peptid reseptör antagonisti) saralasinin modifikasyonu ile elde edildiğini göstermiştir. Saralasin, oral olarak biyoyararlanımı olmadığından, kısa etki süresine sahip olduğundan ve kısmi agonist aktivite gösterdiğinden ilaç olarak uygun değildi. Yine de saralasin ile yapılan çalışmalar anjiyotensin II'nin hipertansif rolünü kesin olarak göstermiştir (Adam, 2005).

Saralasin dezavantajları sonrası non peptid yapılı losartan geliştirilmiştir. Losartan ilk prototiptir. Günlük kardiyoloji pratiğinde yaygın bir biçimde kullanılan ARB'lerin diğer üyeleri ise valsartan, kandesartan, irbesartan, telmisartan, olmesartan, eprosartan ve azilsartandır (Azilsartan, 2011 yılında ABD'de kullanıma girmiş yeni bir anjiyotensin reseptör blokeridir. Henüz ölkemizde kullanımı için onay almamıştır) (Dursun & Kozan, 2013).

Anjiotensin reseptör blokerleri, iyi tolere edilen ve yan etkileri az olan ilaçlardır. Etkilerini yukarda belirtildiği gibi anjiotensin reseptörlerini bloke ederek gösterirler. Anjiotensin reseptör blokerlerin klinik kullanımı sonucunda gösterdikleri başlıca etkileri; düz kas gevşemesi, natriüretik ve diüretik etki, plazma hacminde azalma, ventriköl hipertrofisinde azalma, diyastolik disfonksiyonda iyileşme, ventriköl aritmilerinde azalma, mikroalbuminüride azalma ve böbrek fonksiyonlarında iyileşme olarak özetlenebilir (Kabakcı, 2013).

Anjiotensin reseptör blokerleri (ARB), anjiyotensin II'nin etkilerini, anjiyotensin II tip 1 alt tip reseptör (AT1) seviyesinde antagonize eder. Tüm ARB'ler, çeşitli dokularda, özellikle düz kas hücrelerinde, kalp, böbrek, aortta yüksek konsantrasyonda bulunan

AT1 reseptörüne karşı yüksek afiniteye sahiptir. Klinik pratikte kullanılan ARB'ler AT1 reseptörüne kompetitif bir şekilde bağlanır ve yavaş disosiyasyon olur. Kan basıncını düşürücü etkisinin farmakokinetik parametreler tarafından tahmin edilenden daha uzun sürmesi bu yavaş disosiyasyona bağlıdır. ARB'ler "sartanlar" olarak da adlandırılır. Anjiyotensin II AT1 reseptörü aktivasyonu, hücre büyümesinden, çoğalmasından ve kontraksiyonundan (ARB'lerin ana etkileri) sorumludur. Bu olay sadece küçük arterlerin sadece vasküler düz kas hücrelerinde (VSMC) değil büyük arterlerin, kardiyak miyositlerin ve fibroblastların da VSMC'lerinde görülür (Laurent, 2017).

Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin etki mekanizmasındaki bazı boşlukları doldurmak için ARB'ler geliştirilmiştir. Gerçekte, yukarıda görüldüğü gibi, Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, uzun vadede yükselen ve kan basıncı düşürücü etkilerini azaltabilen, kimaz ve doku bazlı proteaz gibi alternatif enzimatik yollar ile anjiyotensin II üretimini baskılamakta başarısız olmaktadır. Ek olarak, Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, anjiyoödem riskini artırır ve yüksek bradikinin plazma konsantrasyonlarıyla ilişkilidir. Bu nedenle, anjiyotensin II üretimi yerine anjiyotensin II reseptörlerinin blokajını hedeflemek, antihipertansif etkinliği ve hedef organ korumasını geliştirmek için etkili bir strateji olarak ortaya çıkmıştır (Laurent, 2017).

ARB'lerin hemodinamik etkileri, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinininkine benzerdir. Anjiyotensin II, etkili bir vazokonstriktör peptidi olduğundan, eyleminin blokajı AT1 alıcılarını yer. Bu da küçük dirençli arterlerin vazodilatasyonuna, toplam periferik dirençte azalmaya ve kan basıncının düşürmesine yol açar. Kardiyak çıkış değişmeden kalır. Kan basıncı düşmesine rağmen, kalp atım hızı değişmeden kalır ve ARB'ler baroreseptör işlevini sıfırladığı için postural hipotansiyon oluşmaz (Laurent, 2017).

Hedef organ koruması, genellikle kan basıncındaki azalmaya cevap olarak ortaya çıkar, ancak çok sayıda kanıt, ARB'lerin kalp, böbrek ve arter dokularındaki doğrudan etkilerini desteklemektedir. Birçok çalışma ARB'leri, kalsiyum kanal blokerleri, diüretikler ve beta blokerlere kıyasla sol ventriküler hipertrofi, küçük arter yeniden şekillendirmesi ve büyük arter sertliğini azaltmak için en etkili antihipertansif ilaçlar olarak derecelendirmiştir. Uzun süreli kontrollü çalışmalarda olmesartan ve valsartan,

kan basıncını değişiminden bağımsız olarak aort sertliğini tersine çevirme kapasitesine sahip olarak bulunmuştur (Klingbeil, Schneider, Martus, Messerli, & Schmieder, 2003; Laurent, 2017; Laurent & Boutouyrie, 2014; Nakamura, Fujii, Hoshino, & Saito, 2005). Kullanıldıkları ilk dozdan itibaren genellikle 2 saat içinde kan basıncında düşme gözlenir ve maksimum etki moleküle göre farklı olarak 1-6 haftada ortaya çıkar. Bu ilaçların etkisi genellikle 24 saat devam eder, bu nedenle günde tek doz alınır. ARB kullanımının aniden bırakılması rebound hipertansiyona yol açmaz ve uzun süreli kullanımda taşiflaksi ve tolerans görülmez (Kabakcı, 2013).

ARB'ler genellikle iyi tolere edilen ilaçlardır. Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin aksine, öksürük ve anjiyoödem, ARB'lerde çok daha az görülür, çünkü bunların kininaz II veya P maddesi metabolizmasında rol oynayan diğer enzimler veya peptidler üzerinde hiçbir etkisi yoktur. ARB'ler gebeliğin ikinci ve üçüncü trimesterinde kontrendikedir. Hiperkalemi, kronik böbrek hastalığı ve kalp yetmezliği veya diyabetli hastalar dışında, potasyum tutucu diüretikler veya potasyum takviyeleri alan hastalar dışında nadirdir. ARB'ler , önceki hiperkalemili hastalarda ve bilateral renal arter darlığı olan hastalarda kontrendikedir (Laurent, 2017).

Losartan, piyasaya sürülen ilk oral olarak aktif AT1 reseptör antagonistidir ve en yüksek klinik deneyimin biriktiği antagonisttir. Yüksek derecede seçici bir AT1 reseptör antagonistinin prototipini temsil eder ve zayıf anjiyotensin II antagonistleri olarak bilinen Takeda serisi 1-benzilimidazol-5-asetik asit türevlerinden türetilmiştir. *In vitro* olarak, losartan anjiyotensin II'nin AT1'e bağlanması ile rekabet eder. Losartanın başlıca aktif metaboliti EXP 3174'dür. İntravenöz olarak verilen EXP3174, losartandan 10 ila 20 kat daha etkilidir ve losartandan daha uzun bir etki süresine sahiptir. Bununla birlikte, EXP3174'ün oral biyoyararlanımı çok düşüktür. Bu nedenle, piyasadaki ilaç losartandır, ancak losartanın etkisinin çoğu EXP 3174'ten kaynaklanmaktadır. Losartan ve metaboliti böbrek tarafından ve safrada atılır (Burnier, 2001).

Irbesartan, losartan ve valsartandan daha uzun etkili bir AT1 reseptör antagonistidir. Ayrıca AT1 reseptörü için yüksek bir afiniteye sahiptir ve AT2 reseptörleri için bir afinitesi yoktur. Yapısal olarak, bir karbonil grubunun, Losartandaki C5 hidroksimetil grubu yerine bir hidrojen bağ alıcısı olarak işlev gördüğü bir imidazolinon halkası içerir. Losartanın aksine, irbesartanın aktif metaboliti yoktur. Ağırlıklı olarak safra

(%80) ve kısmen böbrek (%20) ile temizlenir. Irbesartan büyük bir dağılım hacmine sahiptir. Klinik olarak, irbesartan 900 mg / gün dozlarına kadar kullanılabilir. Irbesartan, 300 mg'da bir plato ile doza bağlı bir kan basıncı tepkisine neden olur (Burnier, 2001).

Kandesartan da uzun etkili bir anjiyotensin II reseptörü antagonistidir. Zayıf bir oral emilimin üstesinden gelmek için, bir dizi ester ön ilacı sentezlenmiştir ve oral uygulamadan sonra en iyi anjiyotensin II antagonistik aktivite profilini sağlayan bileşik olarak kandesartan sileksetil bulunmuştur. Kandesartan sileksetil, gastrointestinal emilim sırasında hızla ve tamamen aktif bileşik olan kandesartana dönüştürülen bir ön ilaçtır. Tavşan aortunda kandesartanın AT1'e bağlanma afinitesi, losartaninkinin 80 katı ve losartanın aktif metaboliti olan EXP3174'ün 10 katıdır. İn vivo olarak, kandesartan nispeten uzun bir yarı ömre (9 saat) sahiptir, bu süre yaşlılarda (9 ila 12 saat) biraz daha uzundur. Kandesartan, esasen böbrekler (%60) ve daha az safra (%40) yoluyla elimine edilir. Hafif böbrek yetmezliği olan hastalarda anlamlı bir ilaç birikimi yoktur (Burnier, 2001).

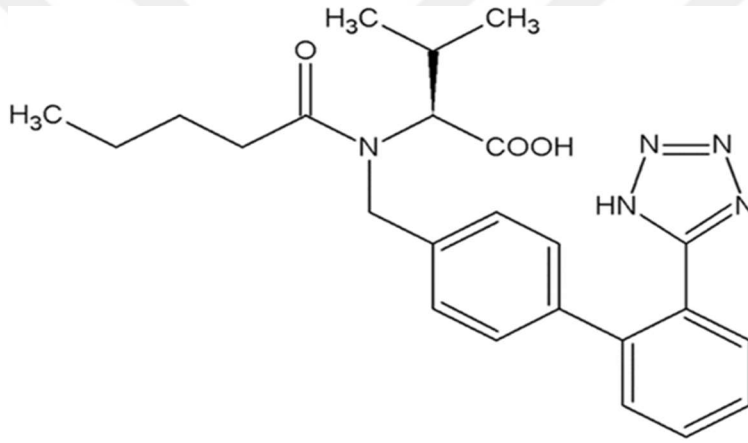
Telmisartan, en uzun etkili anjiyotensin II AT1 reseptör antagonistidir. Ortalama yarı ömrü, 4 hafta boyunca 20 ila 160 mg / gün telmisartan alan hafif ila orta şiddette hipertansiyonlu hastalarda 24 saattir. Telmisartan doğrudan aktiftir; minimal dönüşüm geçirir ve neredeyse tamamen dışkı ile atılır (%98) (Burnier, 2001).

Eprosartan, en kısa yarı ömre sahiptir ve ilk klinik çalışmaların çoğu, günde iki kez 400 mg'a kadar olan dozlarda uygulanmıştır. İn vivo olarak, hem biliyer (%90) hem de renal (%10) atılım yolları, eprosartanın ortadan kaldırılmasına katkıda bulunur. Formülasyona bağlı olarak, eprosartanın emilimi %25 oranında azalabilir ve gıda ile birlikte alındığında 1.5 saat gecikebilir. Eprosartanın küçük bir kısmı böbrek tarafından temizlenir, kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda doz ayarlaması gerekli değildir (Burnier, 2001).

Anjiyotensin II reseptör blokerlerinin diğer türevlerine benzer şekilde (valsartan hariç) olmesartan bir imidazol türevidir. Aktif bileşik olan olmesartan (RNH-6270)'ın oral biyoyararlanımı çok düşüktür (%4.5). Bu bileşiğe medoksomil dalı bağlanarak biyoyararlanımı artırılmıştır (%28.6). Oral alımı takiben olmesartan medoksomil asıl metabolite olan olmesartana dönüştürülmektedir. Olmesartan plazmada albumine bağlı olarak dolaşır (> %99). İlacın yarı ömrü 11.8-14.7 saattir. Olmesartana bağlı

azalan anjiyotensin II aktivitesi vasküler yatakta direnci düşürmektedir. Yapılan çalışmalarda, olmesartanın AT1 reseptörlerine yüksek düzeyde spesifik olduğu AT II reseptörleri üzerinde etkisinin olmadığı görülmüştür. Olmesartanın losartana göre etkisinin daha geç başladığı ve daha uzun etkinliğinin olduğu bildirilmektedir. Oral yoldan tek doz 10 mg ve üzerindeki dozlarda (10-40 mg) verilen olmesartan medoksomilin %75'in üzerinde hastada etkin olarak kan basıncını düşürdüğü tespit edilmiştir (Yılmaz & Erdem, 2006).

2.2.2.1.9.1. Valsartan



Şekil 1: Valsartanın kimyasal yapısı

Valsartan[(S)-2-(N-((20-(1H-tetrazol-5-il)bifenil-4-il)metil)-pentanamido)-3-metilbütanoik asit], ikinci potent, oral olarak aktif ve Avrupa'da ve ABD'de hipertansiyon tedavisinde rutin olarak kullanılan, anjiyotensin II reseptörünün en spesifik antagonistidir (Wu et al., 2012). Ayrıca önceki yıllara ait bir çalışmada valsartanın Alzheimer hastalığının tedavisi ve önlenmesinde bazı etkileri bulunmuştur (Wang et al., 2007).

Valsartan (Şekil 1) ilk olarak Novartis tarafından geliştirilmiştir ve geniş bir pazara sahiptir. Ayrıca diğer antihipertansif ilaçlarla kombine halde ticari formülasyonları mevcuttur. ABD'de valsartan, Aralık 2008'de 6 yaş ve üstü çocuklarda ve ergenlerde

hipertansiyon tedavisinde kullanılmak üzere Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmıştır. Valsartan lipofilik bir ilaçtır. Nötr pH aralığında çözünür. Biyofarmasötik sınıflandırma sistemine (BCS) göre etkin maddeler 4 sınıfa ayrılır;

Sınıf 1 (Class 1): Yüksek çözünürlük-yüksek permeabilite

Sınıf 2 (Class 2): Düşük çözünürlük- yüksek permeabilite

Sınıf 3 (Class 3): Yüksek çözünürlük-düşük permeabilite

Sınıf 4 (Class 4): Düşük çözünürlük-düşük permeabilite

Valsartan, bazı kaynaklarda düşük permeabilite ve yüksek çözünürlüklü ilaç olarak sınıflandırılan BCS sınıf III iken ise bazı kaynaklarda yüksek permeabilite ve düşük çözünürlük gösteren BCS sınıf II olarak belirtilmiştir. Çünkü pH'bağlı çözünürlük gösterir. Valsartan, asetonitril ve metanolde çözünür. İlaç hızlı bir şekilde oral yolla emilir ve sınırlı bir dağılım hacmine sahiptir ve geniş ölçüde plazma proteinlerine bağlanır. Valsartan yoğun şekilde metabolize edilmez ve çoğunlukla renal olmayan yollarla atılır. Valsartan pediatrik, ergen ve hafif-orta şiddette hipertansiyonu olan yaşlı hastaların tedavisinde oldukça etkilidir (Siddiqui et al., 2011).

Valsartanın anjiyotensin II tip 1 reseptörüne afinitesi anjiyotensin II tip 2 reseptörüne olan afinitesinden yaklaşık 20000 kat daha fazladır. Bu sayede kan damarlarında gevşemeye ve kan basıncında düşmeye yol açmaktadır. Oral yoldan alınımından sonra hızla absorbe olur. Maksimum kan konsantrasyonuna 2-4 saat sonra ulaşılır ve bu konsantrasyon çeşitli çalışmalarda kaydedilen 6-9 saat aralığında bir terminal yarı ömürle düşer. Valsartan, 400 mg a kadar günde tek dozda ve günde 200 mg ile birden çok dozlama sonrasında iyi tolere edilir (Saydam & Takka, 2007).

Valsartanın molekül ağırlığı 435.5 g/mol'dür. Valsartan 10 adımda sentezlenmiştir ve 1990 yılında patentlenmiştir. Valsartan, beyaz, mikrokristalin bir tozdur ve 105- 110°C arasında erir. Metanolde $[\alpha]_D^{20}$ spesifik rotasyonu 68°'dir (c = 1). Bileşik S enantiomerdir. Partisyon katsayısı (P) 0.033'tür (log P = 1.499). Bu, bileşiğin fizyolojik pH'ta oldukça hidrofilik bir karaktere sahip olduğunu gösterir. İnce partikül boyutu nedeniyle valsartan, ortamdan geri dönüşümlü olarak su emer. Valsartan, kuru koşullar altında depolandığında kararlıdır. Kararlı çözeltiler ayrıca nötr pH'daki sulu tamponlarda da hazırlanabilir. İyonize edilebilir moleküller için, pH çok önemli bir rol oynar. Bir molekülün belirli bir pH'da taşıdığı yük durumu, molekülün iyonlaşma

katsayısı (pKa) ile karakterize edilir. Tamponlar, karıştırılmamış su katmanlarındaki pH'ı etkiler, bu da iyonize edilebilir moleküllerin hem geçirgenliğini hem de disolüsyonunu önemli ölçüde etkileyebilir. Zayıf bazik ilaçlar ve zayıf asidik ilaçlar veya bunların tuzları, pH'a bağlı çözünürlük gösterir. Zayıf asitler için, pH değeri arttıkça, iyonlaştırılmış formun katkısı nedeniyle asidin çözünürlüğü artar. Valsartan, pKa değerleri 3.9 ve 4.7 olan iki zayıf asidik fonksiyon ve bir asimetric merkez içerir ve disosiyasyon olmamış asit, mono-anyon ve di-anyon olarak fizyolojik pH değerlerinde çözelti içinde bulunur. pH 4'ten pH 6'ya yükselme, valsartanın çözünürlüğünü yaklaşık 1000'lik bir faktörle artırır, ancak anyonik formu destekler ve lipofilikliğini azaltır. İn vitro çözünme, pH 5.0 ve daha yukarısında hızlı ve eksiksizdir ve pH 3.0 ve altında çözünürlük açısından sınırlıdır. Valsartanın çözünürlüğü pH 4-8 aralığında arttığından ve lipofilisite aynı aralıkta azaldığından, valsartanın absorpsiyon oranı, gastrointestinal (GI) kanal boyunca barsak pH'ından etkilenebilir. Bu, in vitro bir intestinal absorpsiyon modeli (Caco-2 hücreleri) kullanılarak gösterilmiştir; burada, pH 6-7.5 aralığında arttıkça absorpsiyon oranının azaldığı gözlenmiştir. Bu nedenle, valsartan, ilaçları biyofarmasötik ve absorpsiyon özelliklerine göre kategorize eden önerilen bir genel sınıflandırma sisteminde (BCS) özel bir durumdadır (pH'a bağlı çözünürlük). Valsartan, 25°C'de suda 0.18g/L'ye kadar çözünür. Tamponlu bir çözeltide, dianyon tuzu olduğu için çözünürlük artar. Fosfat tamponunda (pH 8.0), valsartan, 25°C'de 16.8g/L'ye kadar çözünür (Saydam & Takka, 2007).

Valsartan, vasküler düz kas ve adrenal bez gibi birçok dokuda anjiyotensin II'nin AT1 reseptörüne bağlanmasını seçici olarak bloke ederek, anjiyotensin II'nin vazokonstriktör ve aldosteron salgılayan etkilerini bloke eder. Bu nedenle etkisi anjiyotensin II sentez yollarından bağımsızdır. AT2 reseptörünün işlevsel blokajının, insanlarda tedaviden 2 ila 24 saat sonra (6.66-6.68) 80 mg tek valsartan dozundan sonra gerçekleştiği gösterilmiştir. 1mg, 3mg veya 10 mg / kg'lık tek oral valsartan dozları doza bağlı bir şekilde sistolik kan basıncını düşürmüştür. Eşik dozu 1mg/kg'dır. 30 mmHg düşüş üreten dozun 1.4 mg/kg olduğu hesaplanmıştır. Maksimum kan basıncı azalması 4 saat sonra gözlenmiştir ve refleks taşikardisi yanıtı olmadan 24 saatten fazla sürmüştür (Saydam & Takka, 2007).

Anjiyotensin II reseptör inhibitörleri karşılaştırıldığında, kandesartan ve irbesartan reseptörü nonkompetitif antagonizmle bloke ederken, losartan, valsartan ve eprosartan kompetitif antagonistlerdir. Eliminasyonun yarıömürleri temelinde, losartan, valsartan

ve eprosartan daha kısa etkili, kandesartan sileksetil ve irbesartan daha uzun etkili olarak sınıflandırılabilir (Oparil, 2000). Bir çalışmada 160 mg/gün valsartan ve 80 mg/gün telmisartanın etkileri karşılaştırılmış ve valsartanın arteriyel nabız basıncını düşürmede daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Calvo, Hermida, Ayala, & Ruilope, 2004).

Valsartan oral uygulamadan sonra hızla emilir. Ölçülebilir konsantrasyonlar, yani miktar tayininin (Limit of Quantification-LOQ) üstünde, dozlamadan 15 dakika veya 30 dakika sonra gözlenmiştir. Plazma seviyeleri oral uygulamadan sonra 2-4 saatte zirve yapar ve sonra 6-9 saat arasında çeşitli çalışmalarda bildirilen bir terminal yarı ömrü ile düşer. Sağlıklı gönüllülere 80 mg'lık oral valsartan dozu uygulamasından sonra 1.64 mg/L'lik bir pik plazma konsantrasyonu (Cmaks) elde edilmiştir. Daha yüksek bir doz (200 mg) sonrası benzer bir zamanda orantılı olarak daha yüksek bir Cmaks (3.46 mg/L) elde edilmiştir. Doz orantısı, dozun iki katına çıkmasının konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alanı (EAA) ve Cmaks'ı 1.8 kat arttırdığını gösterdi. Valsartan plazma konsantrasyonları, değişkenlik yüksek olmasına rağmen, 40 mg, 80 mg ve 160 mg dozlarında üst üste binen değerlerle, dozla neredeyse orantılı bir şekilde artmıştır. Oral uygulamadan sonra emilen ve sistemik olarak temin edilebilen doz fraksiyonu, EAA'ye dayanarak kapsül için 0.23 ve çözelti için 0.39'dur. Mutlak biyoyararlanım literatürde %25 (aralık: %10-35) olarak verilmektedir. Gıda, valsartan (EAA ile ölçüldüğü gibi) maruziyetini yaklaşık %40 ve pik plazma konsantrasyonunu (Cmaks) yaklaşık %50 azaltır. Bu nedenle hastalara öğünlerden 1-2 saat önce valsartan almaları önerilmelidir. Valsartanın farmakokinetik özellikleri, hipertansiyonu olan hastalarda günlük 200 mg doza kadar tekrarlanan uygulama tutarlı bulunmuştur (Saydam & Takka, 2007).

Valsartanın dağılım hacmi ve plazma klerensi sırasıyla 17 L ve 2.2 L/saat olarak belirlenmiştir; ilaç, %85-99 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Renal klerensi 0.62 L/s'dir ve toplam klerensin yaklaşık % 30'udur (Saydam & Takka, 2007).

Valsartan aktif olmak için vücutta herhangi bir metabolizma gerektirmez. 80 mg ¹⁴C radyoışaretlenmiş valsartan oral uygulamasından sonra, plazmada yaklaşık %11 kadar sadece bir farmakolojik açıdan inaktif metaboliti bulunmuştur. Birincil metabolit valeril 4-hidroksi Valsartan (M1) olarak tanımlanmıştır ve dozun yaklaşık %9'unu oluşturur. Hipertansiyonda inaktiftir. M1, AT1 reseptörü için valsartandan yaklaşık

200 kat daha düşük afiniteye sahiptir. Valsartan esas olarak dışkılarda biliyer atılım yoluyla atılır ve bu nedenle hepatik disfonksiyonu ve biliyer sirozu olan hastalar için önerilmez (Siddiqui et al., 2011).

Antihipertansiflerin güvenliği, çoğu hastada uzun süre kullanılması muhtemel olması nedeniyle özel bir öneme sahiptir. Valsartan, geniş doz aralığında tutarlı olan ve plasebodan neredeyse ayırt edilemeyen bir yan etki profilli, iyi tolere edilebilirliğe sahiptir ve diğer ARB'lerinden daha üstündür. Valsartan, anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleriyle ilişkili öksürük ve anjiyonörotik ödeme neden olmaz, bunun nedeni bölge spesifitesi ve ilacın seçiciliğidir. 2511 hasta üzerinde yapılan Val-HeFT (Valsartan Kalp Yetersizliği Çalışması-The VALsartan Heart Failure Trial) çalışmasında, advers ilaç reaksiyonları valsartan alan hastaların % 9.9'u, plasebo alan hastaların % 7.2'sinde ortaya çıkmıştır (Siddiqui et al., 2011).

Valsartan şiddetli karaciğer yetmezliği, karaciğer sirozu ve biliyer tıkanıklığı olan hastalarda kontrendikedir. Yapılan bir çalışmada karaciğer fonksiyon testlerinde hastalarda valsartan uygulamasından sonra bilirubin düzeylerinin yükseldiği görülmüştür. Valsartan hamilelik ve emzirme döneminde kontrendikedir; çünkü ilaç doğrudan renin-anjiyotensin sistemine etki eder, bu nedenle gelişmekte olan fetusta bazı zararlara hatta ölüme neden olabilir. Valsartanın fetus üzerindeki etkileri konusunda kontrollü bir çalışma yapılmamıştır. Gebeliğin tespitinden sonra, tedavinin mümkün olan en kısa sürede kesilmesi gerekmektedir. Valsartan, böbrek yetmezliği ve hiperkalemi riskinin artmasına neden olduğu için nonsteroidal antiinflamatuvarlar ve siklosporin ile kontrendikedir. Genel anesteziplerle, klozapin, dopamin agonistleri ve diğer hipertansiflerle valsartan, hipotansiyon riskinin artmasına neden olur. Potasyum tutucu diüretikler, potasyum takviyeleri, ACE inhibitörleri ve heparin ile valsartan tedavisi sırasında hiperkalemi ortaya çıkabilir (Siddiqui et al., 2011).

Valsartanın diğer antihipertansiflerle karşılaştırılması yapılan çalışmaları da mevcuttur. VALUE (Valsartan Antihypertensive Long Term Use Evaluation) adlı çalışmada amlodipin ve valsartan 50 yaş ve üstü hipertansiyon hastalarında ölümcül ya da ölümcül olmayan kalp krizi açısından karşılaştırılmıştır. Amlodipinle valsartanın neredeyse aynı sonucu verdiği gösterilmiştir. Bir başka klinik çalışma olan VALIANT (Valsartan In Acute Myocardial Infarction) çalışmasında beta blokör ile ACE inhibitörü ya da valsartan kombinasyonları 10000 hastanın tedavisinde denenmiştir.

Sonuçlar çok bariz bir farkın olmadığını göstermiştir. PREVAIL isimli çalışmada Lisinopril ile Valsartan 1200 hastada karşılaştırılmıştır. Bu hastalardan Valsartan alanlar %82.7 lisinopril alanlar ise %81.6 kan basıncında kontrol göstermişlerdir. Yan etkiler valsartan alanlarda %5.1 hastada, lisinopril alanlarda ise %10.7 hastada gözlemlenmiştir (Siddiqui et al., 2011).

2.3. Lipid Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemler

İlacın veya kanın ekstrevasyonu, kateter enfeksiyonları ve tromboz gibi intravenöz uygulamanın sakıncalarını, ilaç oral yoldan verilerek önlenir. Bu nedenle oral yol en yaygın uygulama yollarından biridir. Bununla birlikte oral uygulama, ilacın fizikokimyasal özellikleriyle ilişkili olan zayıf çözünürlük, düşük geçirgenlik, hızlı metabolizma, stabilite problemleri gibi oral biyoyararlanımı azaltan problemlerle sınırlıdır (Kalepu, Manthina, & Padavala, 2013).

İlaç tasarımının ortaya çıkmasıyla, terapötik etki potansiyeli olan çeşitli moleküller keşfedilmiştir. Ancak yeni keşfedilen kimyasal ajanların çoğu, yüksek moleküler ağırlıktadır ve zayıf suda çözünürlük ve yüksek membran permeabilitesine sahip olan BCS sınıf II veya yüksek suda çözünürlük ve düşük membran permeabilitesine sahip BCS sınıf III'e aittir. Dolayısıyla, bu iki özellik oral yoldan verilen ilaçların biyoyararlanımını sınırlar. Bu ilaçlar düşük çözünürlüğe sahip olduklarından in vivo ortamda düşük çözünmeye neden olurlar ve emilimleri sınırlıdır. Bu zayıf çözünürlük sadece düşük oral biyoyararlanıma sebep olmakla kalmaz, aynı zamanda yüksek oranda birey içi ve bireyler arasında değişkenlik ve doz orantısının sağlanamamasına yol açar. Ayrıca, bu ilaçların bazıları gıdalarla birlikte verildiğinde biyoyararlanımları arttırmıştır. Bu tür ilaçların güvenli ve etkili bir biçimde formüle edilmesi için, biyoyararlanım, toksisite ve vücutta kalma arasında bir denge sağlanmalıdır. Mikronizasyon, siklodekstrinlerle kompleksleştirme, katı dispersiyonlar, permeabilite artırıcılar ve sürfaktanlar gibi çeşitli tekniklerin bazı çözünürlük ve permeabilite sorunlarının üstesinden geldiği bildirilmiştir (Kalepu et al., 2013).

İlaç salım sistemlerinde lipid bazlı formülasyonların;

- lipid çözeltileri,
- lipid süspansiyonları,
- çoklu ve kuru emülsiyonları,

•kendiliğinden emülsifiye olabilen lipid bazlı formülasyonları

en önemli formülasyon çeşitlerini oluşturmaktadır.

Lipid bazlı sistemler dissolüsyon sürecini hızlandırarak, partikül boyutunu moleküler düzeylere indirmeyle, çözünmüş fazın oluşumunu kolaylaştırarak, taşıyıcı ile katı hal solüsyonu sağlayarak, ilaç alımını değiştirerek, enterosit bazlı transportu değiştirerek, intestinal lenfatik sistem aracılığıyla ilacın sistemik dolaşıma transportunu artırarak gastrointestinal kanaldan ilaç absorpsiyonunu artırırlar (Kalepu et al., 2013).

Lipid bazlı sistem formülasyonlarının hazırlanması, tablet ve kapsül gibi katı dozaj şekillerinin hazırlanmasından daha basit bir sürece sahiptir. Lipid bazlı formülasyonların terkinbinde kullanılan yardımcı maddeler; lipidler/yağlar (doğal veya sentetik kaynaklı), yüzey etkin maddeler (hidrofilik veya hidrofobik), hidrofilik çözeltiler veya yardımcı yüzey etkin maddeler şeklindedir. Hazırlanmalarından sonra uygun meyve özlü veya diyet sıvılar içeren çözeltilerde dağıtılarak ya da yumuşak jelatin kapsül, sert jelatin kapsüllerde de kullanıma sunulabilirler. Ayrıca inert bir yardımcı toz maddeye (Avisel, Aerosil, vb) likit kendiliğinden emülsifiye sistemin emdirilmesi ile katı farmasötik dozaj şekilleri hazırlanabilir (Cerpñjak, Znovar, Gasperlin, & Vrecer, 2013; N. Gursoy & Çevik, 2011; Jannin, Musakhanian, & Marchaud, 2008; Pouton & Porter, 2008).

Son on yılda lipitler, suda çözünürlüğü düşük olan ilaçların uygulanmasında sağladığı avantajlar nedeni ile büyük ilgi kazanmıştır. Yeni lipit yardımcı maddelerin kabul edilebilir güvenlik profillerine sahip olmaları, oral biyoyarlanımı artırma yetenekleriyle birleştiğinde ilaç taşıma aracı olarak lipit bazlı formülasyonların geliştirilmesine yardımcı olmuştur. Lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistemler (LBDDS-Lipid Based Drug Delivery Systems), suda çözünürlüğü zayıf olan ilaçların çözünürlüğünü ve biyoyarlanımını iyileştirme yeteneklerinden dolayı son yıllarda önemi giderek artmıştır. İlacın lipit bazlı formülasyonlardan emilimi; partikül büyüklüğü, emülsifikasyon derecesi, dispersiyon hızı ve ilacın çökmemesi gibi sayısız faktöre bağlıdır (Kalepu et al., 2013).

2.3.1. Lipit Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Kullanılan Maddeler

2.3.1.1. Lipitler

Lipitler, yağ asitleri ve bunların türevleridir ve bu bileşiklerle biyosentetik veya fonksiyonel olarak ilişkili maddelerdir. İkili moleküler yapıları nedeniyle, yani yağ asitlerinden oluşan lipofilik kısım ve yağ asitlerinin esterleştirildiği hidrofilik kısım nedeniyle amfifiliktirler. Lipitler genellikle suda çözünmezler ve genellikle yağ asidi bileşimleri, erime noktaları, hidrofilik-lipofilik balans (HLB) ve polar olmayan organik çözücülerde çözünürlükleri ile tanımlanırlar (Shaji & Bhatia, 2012).

2.3.1.1.1. Lipitlerin Sınıflandırılması

Kimyasal yapılarına göre lipitler aşağıdaki gibi sınıflandırılır;

-Trigliseritler: Karbon zincirinin uzunluğuna bağlı olarak, uzun zincirli ve orta zincirli trigliseritler olarak sınıflandırılırlar. Uzun zincirli trigliseritlere örnek olarak mısır yağı, soya yağı, aspir yağı, zeytinyağını verebiliriz. Orta zincirli trigliseritlere örnek olarak gliseril trikaprilat, Captex®300, Miglyol®810, Miglyol®812, Neobee®M-5'i verebiliriz.

-Mono/Di gliseritler: Bu kategoriye giren yaygın olarak bilinen yardımcı maddeler; gliseril monokaprilokaprat (Capmul® MCM), gliseril monostearat (Geleol™, Imwitor® 191, Cutina™ GMS veya Tegin™), gliseril distearat (Precirol™ ATO5), gliseril monooleat (Peceol™), gliseril monolinoleat (Maisine™ 35-1), gliseril dibehenattır (Compritol® 888 ATO).

-Propilen glikol esterleri: Örnek olarak Propilen glikol monokaprilat (Capmul®PG-8), Propilen glikol monoloratı (Capmul® PG-12, Lauroglycol®) verebiliriz.

-Yağ asitleri: Örnek olarak oleik asit, palmitik asit, stearik asit, linoleik asiti verebiliriz.

-Fosfolipitler: Örnek olarak fosfatidilkolin, fosfatidilgliserolü verebiliriz (Shaji & Bhatia, 2012).

2.3.1.2. Yardımcı Yüzey Etkin Maddeler (Ko-Surfaktanlar)

Çözünme sürecini arttırmak için pazardaki ilaç ürünlerinin çoğu yardımcı yüzey etkin maddeler (Y-YEM) kullanılmaktadır. Kullanılan popüler ortak Y-YEM'ler arasında etanol, gliserol, propilen glikol ve polietilenglikoller (PEG400) bulunur. Kullanımlarının sebebi, ilaçlar için formülasyonun çözücü kapasitesinde bir artışa ve

yüksek oranda suda çözünür yüzey aktif cisimleri içeren sistemlerin dağılımına yardımcı olmakla ilişkilendirilebilir. Bununla birlikte, dilüsyondan sonra solvent kapasitesinin kaybından dolayı çözülmüş ilacın çökmesi, bazı çözücülerin yağlarla karışmaması ve düşük molekül ağırlıklı çözücülerin kapsül kabukları ile uyumsuzluğu gibi Y-YEM'lerle ilgili birkaç pratik sınır vardır (Kalepu et al., 2013).

2.3.1.3. Suda Çözünmeyen Yüzey Etkin Maddeler (Lipofilik Sürfaktanlar)

Yağ-su arayüzeyinde adsorbe olan, 8 ila 12 arası HLB'ye sahip lipidik yardımcı maddelerdir. Etoksilasyon derecesine bağlı olarak, bunlar suda sınırlı çözünürlüğe sahiptir. Suda "dağılabilir" olarak adlandırılırlar. Bu maddeler misel oluşturabilir ancak yetersiz hidrofilik yapıları nedeniyle kendiliğinden emülsiyon oluşturmazlar. Polioksietilen, sorbitantriolate (Tween-85) ve polioksietilengliseriniltriolate (Tagot-TO) gibi oleat esterleri, HLB değerleri 11 ila 11.5 arasında olan suda çözünmeyen yüzey aktif maddelerin tipik örnekleridir. Bununla birlikte, ortalama HLB değeri 11 olan bir Tween-80 ve Span-80 karışımı, Tween-85 işlevine benzer bir etki göstermez. Tween 80 ve Span 80 karışımı, hem suda çözünür hem de suda çözünmeyen moleküllerden oluşur, ancak Tween 85 ağırlıklı olarak suda çözünmeyen moleküllerden oluşur (Kalepu et al., 2013).

2.3.1.4. Suda Çözünen Yüzey Etkin Maddeler (Hidrofilik Sürfaktanlar)

Suda çözünen yüzey etkin maddeler, kendiliğinden emülsiyon oluşturan ilaç uygulama sistemlerinin formülasyonu için en yaygın kullanılan yüzey etkin maddeleridir. HLB değerleri 12 veya daha büyük olan maddeler, saf suda kritik misel konsantrasyonlarının üzerinde çözünerek düşük konsantrasyonlarda misel çözeltileri oluşturabilir. Bu maddeler polietilenglikollerin (PEG) hidrolize edilmiş bitkisel yağlarla karıştırılmasıyla sentezlenebilir. Alternatif olarak, yaygın olarak kullanılan bir yüzey aktif madde olan alkileteretoksilat (örneğin, setostearilalkoleteroksilat ('setomakrogol') etileneoksit ile alkoller reaksiyona sokulabilir. Sorbitan esterleri ile etilen oksitin reaksiyonundan polisorbitatlar (çoğunlukla eteroksilatlar) elde edilir (Kalepu et al., 2013).

Cremophor RH40 ve RH60 (etoksile hidrojene hint yağı), bitkisel yağlardan türetilen malzemelerin hidrojenlenmesinden elde edilen maddelerin örnekleridir. Hidrojene edilmemiş Cremophor EL de (etoksile hint yağı) yaygın olarak kullanılır. Cremophor mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber, effluks pompalarını inhibe ederek

absorpsiyonu arttırdığı bilinmektedir. Bu, yüzey etkin moleküllerinin zara nüfuz etmesi, effluks pompalarının yüzeyine adsorpsiyonu veya moleküllerin effluks pompasının hücre içi alanları ile etkileşmesi nedeniyle spesifik olmayan bir konformasyonel değişime bağlanabilir (Kalepu et al., 2013).

2.3.1.5. Additifler

Formülasyonu oksidasyondan korumak için, α -tokoferol, β -karoten, propil gallat, butillenmiş hidroksiltolüen (BHT) veya butillenmiş hidroksianisol (BHA) gibi çeşitli lipitte çözünür antioksidanlar kullanılabilir.

2.3.2. Lipid Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Sınıflandırılması

Bir lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistem tipik olarak lipitler ve yüzey aktif maddelerden oluşur ve ayrıca bir hidrofilik yardımcı çözücü içerebilir. Pouton tarafından sunulan lipit formülasyon sınıflandırma sistemine (LFCS) göre (Pouton, 2006), bu sistemler, kompozisyonlarına, seyrelme ve sindirimin ilacı çöktürmesini engelleme üzerindeki olası etkilerine bağlı olarak dört gruba (I-IV) ayrılmıştır (Cerpnjak et al., 2013).

2.3.2.1. Tip I Sistemler

Tip I sistemler, sadece mono, di ve/veya trigliseritleri içeren, yüzey etkin madde içermeyen basit yağ çözeltileridir (Pouton & Porter, 2008). Bu formülasyonların avantajları genellikle güvenli kabul edilen ekspiyanlarla hazırlanmasıdır. Kapsül formülasyonlarıyla geçimlidir. Dezavantajları ise, orta log P değerleri olan ilaç için zayıf solvent kapasitesi, sadece lipofilik ilaçlar için uygunluk, sınırlı disperse olma ya da hiç diperse olmama ve sindirime gereksinim duymalarıdır (Cerpnjak et al., 2013).

Tip I sistemler, suda çözünürlüğü çok az olan veya hiç olmayan lipofilik maddelerin karışımlarıdır. Tipik olarak, oral alınımı güvenli olan, hızlı sindirilen ve tamamen bağırsaktan emilen bitkisel yağlardan türetilmiş gıda gliseritlerinin karışımlarıdır. Tip I sistemler yüzey aktif madde içermediklerinden, suda kendiliğinden dağılma yetenekleri çok sınırlıdır. Bunlar, karışık misellerde sindirim ürünlerinin çözüldürülmesi yoluyla koloidal dispersiyonu oluşturmak için sindirime ihtiyaç duyar. Hem uzun zincirli trigliseritler hem de orta zincirli trigliseritler, pankreas enzimleriyle sindirilir, ancak in vitro lipoliz deneyleri, sindirim ürünlerinin işlenmesinde, barsak lümeninde ilaçların kaderi üzerinde etkisi olması muhtemel temel farklılıklar olduğunu ortaya koymaktadır. Orta zincirli yağ asitlerinin sindirimi

için safra gerekli değildir. Bunun aksine, uzun zincirli yağ asitlerinin sindirimi, yalnızca yağ asitlerini (Pouton & Porter, 2008) ve 2-monogliseritleri çözündürerek, onları kısmen parçalanmış yağ damlacıklarının yüzeyinden sıyrılarak safra varlığında devam edecektir. Uzun zincirli sindirim ürünleri, karışık safra tuzu-lesitin miselleri içinde emilinceye kadar geniş ölçüde çözünmeye devam eder. Uzun zincirli triglisitlerin sindirim ürünlerinin oluşturduğu karışık miseller, birçok ilaç için iyi çözünme sistemleridir. Orta zincirli trigliseritlerin sindirilmemesinden kaynaklanan çözünmüş fazlar, uzun zincirli trigliseritlerin sindirilmemesinden kaynaklanandan farklı olacaktır ve bu fazların ilaçları çözündürme kapasitelerinde farklılıklar gösterme olasılıkları yüksektir. Lipofilik ilaçların in vitro sindirimden sonra çözünmesinin özellikle yağ asidi zincir uzunluğuna duyarlı olduğunu ve sonuçta ortaya çıkan morfolojik farklılıkların, halofantrinin MCT (orta zincirli yağ asitleri) ve LCT (uzun zincirli yağ asitleri) çözümlerinden biyoyararlanımındaki gösterilebilir farklılıkları açıkladığı düşünülmektedir (Porter et al., 2004).

Mono / digliserit karışımları (Imwitor 988, Capmul MCM) gibi karma gliseritler Tip I formülasyonlarında sıklıkla kullanılır. Bu maddeler ayrıca degradasyona maruz kalır ve doğal sindirim prosesi 2-monogliseritler üretse de kısmen sindirilmiş materyaller olarak kabul edilebilir çünkü trigliseritlerin kimyasal hidrolizi 1-monogliseritlerle sonuçlanır. Uzun ve orta zincirli kısmi gliseritlerin sindirilmemesinden kaynaklanan faz davranışlarındaki farklılıkların, henüz daha detaylı çalışılmamış olmasına rağmen, trigliseritlerle gözlenenlere benzer olması beklenir. Sorbitan esterleri veya yağ asitleri ve yağ alkoller esterleri gibi diğer polar yağlar da Tip I formülasyonlarına dahil edilebilir, ancak sindirimleri veya bu yardımcı maddelerin ilacın yolakları üzerindeki etkisi hakkında çok az şey bilinmektedir. Çökme bazen bir sorun olsa da, eğer ilaç karışık gliserit yağlarda yeterince çözünebiliyorsa Tip I formülasyonları mükemmel bir seçenektir. Biyoyararlanım, Tip I formülasyonlarda Tip II ve Tip III formülasyonlar kadar iyi olabilir ve Tip I formülasyonların güvenlik ve ilaç stabilitesi gibi avantajları vardır (Pouton & Porter, 2008).

2.3.2.2. Tip II Sistemler

Tip II sistemler, beraber verildiği ilaçlar için çözünme kapasitesini arttırmak ve seyreltme üzerine oluşturulan emülsiyonun stabilitesini arttırmak amacıyla yağ fazına ek olarak lipofilik YEM'leri içerir. Bu lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistemler, kendiliğinden

emülsifiye olan ilaç taşıyıcı sistemler (SEDDS- Self Emulsifying Drug Delivery Systems) olarak bilinir (Pouton & Porter, 2008).

Bu sistemler %40-80 oranında gliseritler (mono, di, trigliseritler), %20-60 oranında lipofilik surfaktanlar (HLB <12) içerirler. Avantajları, dispersiyonlarında çözücü kapasitesini kaybetme olasılıkları düşüktür. Dezavantajları ise damlacık boyutu 0.25-2µm olan kaba emülsiyon oluşturmalarıdır (Cerpnjak et al., 2013).

Tip II sistemler yağlar, polar yağlar ve suda çözünmeyen yüzey aktif maddeler ile formüle edilir. Tipik formülasyonlar, orta zincirli trigliseritler ve polisorbitat 85 karışımları veya orta zincirli trigliseritler ve Tagat-TO karışımlarıdır. Kendiliğinden emülsifiye sistemleri, yüzey aktif madde konsantrasyonu, ağırlıkça %25'i aştığında oluşturulur; optimum konsantrasyon aralığı %30-40 yüzey aktif maddedir. %50'nin üzerinde yüzey aktif madde içerilirse, yağ-su arayüzünde viskoz sıvı kristal fazlarının oluşumu nedeniyle yavaşça emülsiyonlaşırlar. Erken faz çalışmaları, bu formülasyonların kendiliğinden emülsifiye olabilen ilaç taşıyıcı sistemler olarak performansının, düşük su içeriğinde (%5-10) disperse lamel sıvı kristal fazın oluşumuna dayandığını ve bunun, ara yüzey bozulmasına neden olan suyun daha fazla nüfuz etmesine yardımcı olduğunu göstermiştir (Pouton & Porter, 2008).

Optimize edilmiş sistem (üçgen faz diyagramlarına göre alabileceği su miktarları belirlenmiş sistem) düşük yüzey aktif madde konsantrasyonlarında kendi kendine emülsiyonlaşır ve tüm konsantrasyonlarda daha ince parçacıklar üretir. Tip II ve Tip III SEDDS / SMEDDS formülasyonlarının sindiriminden sonra oluşan fazları araştıran kapsamlı bir yayınlanmış çalışma yoktur (Pouton & Porter, 2008).

2.3.2.3. Tip III Sistemler

Tip II sistemlere ek olarak hidrofilik bileşenlerin (YEM ve/veya Y-YEM) yağ fazına eklenmesi, tip III sistemlerine ait kendiliğinden mikroemülsifiye olan ilaç taşıyıcı sistemleri (SMEDDS-Self Microemulsifying Drug Delivery Systems) oluşturur (Pouton & Porter, 2008).

Sandimmune® Neoral formülasyonu, siklosporin A'nın önceki formülasyonuna kıyasla elde edilen biyoyararlanımdaki gelişme, suda az çözünen ilaçların formülasyonuna ilişkin düşünceleri değiştirmiş ve iyi formüle edilmiş lipit bazlı sistemlerin yolunu açmıştır (R. Gursoy & Benita, 2004; D. J. Hauss, 2007; Mercke,

Kaufmann, Kroon, & Höglund, 2003). Sandimmun® Neoral, Tip IIIA formülasyonunun prototipidir, suda çözünür yüzey aktif madde ve önemli miktarda lipit bileşen içeren bir SEDDS / SMEDDS formülasyonudur. Bu tür formülasyonlar, genellikle şeffaf dispersiyonlar oluşturmak için yeterince ince olan mikron altı dispersiyonlar oluşturmak için hızlı bir şekilde dağılma potansiyeline sahiptir (Pouton & Porter, 2008).

Tip III sistemlerinin faz çalışmaları, şeffaf dağılımın neden sıklıkla üretildiğini ve SMEDDS formülasyonlarını optimize etmek için kullanılabileceğini göstermektedir. Her ne kadar bu sistemler ayrıntılı bir şekilde anlaşılmasa da neden şeffaf dispersiyonlara neden olduklarını ve susuz formülasyonların neden sıklıkla kendiliğinden mikroemülsifiye olabilen olarak adlandırıldığını anlamak kolaydır. Bu sistemler suyla kolayca karışır ve o kadar fazla su alırlar ki, formülasyona suyun nüfuz etmesi ve daha sonra dağılması hızla ilerler. Tip III sistemlerini formüle etmek için birkaç suda çözünür yüzey aktif madde kullanılabilir (Pouton & Porter, 2008).

2.3.2.3.1. Tip IIIa Sistemler

Bu sistemler %40-80 oranında gliseritler (mono, di, trigliseritler), %20-40 oranında lipofilik YEM'ler (HLB<12), %0-40 oranında Y-YEM içerirler. Kendiliğinden emülsifiye olma yetenekleri vardır. Bu sistemlerin avantajları berrak çözeltiler oluşturmaları ve absorpsiyon için sindirime gerek duymamalarıdır. Damlacık boyutları <250 nm'dir. Dezavantajları, dispersiyonlarında çözücü kapasitesini kaybetme olasılıkları yüksektir ve kolay sindirilmemezler (Cerpñjak et al., 2013).

2.3.2.3.2. Tip IIIb Sistemler

Bu sistemler %20'den az oranda gliseritler (mono, di, trigliseritler), %20-50 oranında hidrofilik YEM'ler (HLB>12), %20-50 oranında Y-YEM'ler içerirler. Kendiliğinden mikroemülsifiye olma kapasiteleri vardır. Avantajları, transparan dispersiyonlar oluşturmaları ve absorpsiyon için sindirime gereksinim duymamalarıdır. Dezavantajları kısmi ilaç çökmesine neden olabilmeleri ve kolay sindirilmemeleridir (Cerpñjak et al., 2013).

2.3.2.4. Tip IV Sistemler

Tip IV sistemler, en hidrofilik grubun temsilcileridir. Bu tip sistemler yalnızca hidrofilik yüzey aktif maddeler ve sulu ortam ile seyreltme üzerine kolloidal bir misel

dispersiyonu oluşturan hidrofilik Y-YEM'den oluşan sistemlerdir (Pouton & Porter, 2008).

Bu sistemler %0-20 oranında lipofilik YEM'ler ($HLB < 12$), %20-80 oranında hidrofilik YEM'ler ($HLB > 12$) ve %20-80 Y-YEM içerir. Kendiliğinden miseller çözeltiler meydana getirirler. Avantajları birçok ilaç için yüksek çözücü kapasitesine sahip olmalarıdır. Dezavantajları ise diperse olduğunda ilacın çökebilme ihtimalidir. Bu sistemler sindirilebilir olmayabilir (Cerpñjak et al., 2013).

Tip IV sistemler esas olarak saf yüzey etkin maddeler veya yüzey etkin madde ve yardımcı yüzey etkin maddelerin karışımlarıdır. Saf yardımcı yüzey aktif madde içinde suda az çözünen ilaçların formülasyonunun, ilacın çökmesine neden olması muhtemeldir. Kazanılacak tek avantaj, ilacın çok iyi ince kristal veya amorf parçacıkların süspansiyonu olarak sunulabilmesidir. Güvenilirlik bu stratejide problemlidir. Saf yüzey etkin maddelerin kullanımında iki sorun vardır. Birincisi, YEM'lerin, YEM-su arayüzünde viskoz sıvı kristalin (veya jel kristalin) fazlarının oluşumu nedeniyle çözülmesi için oldukça zaman harcamasıdır. İkincisi, saf yüzey etkin maddelerin, sindirim sisteminde tahriş edici olması ve kötü tolere edilebileceği endişesidir. Mide veya barsak duvarına YEM bakımından zengin, kısmen çözünmüş viskoz bir kütle yapışması, lokal olarak ciddi hasarlar verebilir. Suda çözünür yüzey etkin maddelerle birlikte yardımcı yüzey etkin maddelerin harmanlanması, yüzey etkin maddenin dağılımını kolaylaştırır ve çözücü kapasitesi kaybını azaltır (Pouton & Porter, 2008).

İlaç endüstrisinin, kapsül ürünlerinde yüzey etkin maddelerin kullanımına karşı tutumu son yıllarda değişmiştir. Birkaç HIV proteaz inhibitörü, genellikle günlük çok sayıda alınacak yüksek konsantrasyonlarda yüzey etkin maddelere sahip kapsüllerde pazarlanmaktadır. Deneyimler, bu dozajların göreceli olarak iyi tolere edildiğini, ancak potansiyel uzun vadeli etkilerin yine de dikkatlice düşünülmesinin gerekli olduğunu göstermektedir (Pouton & Porter, 2008).

2.3.3. Lipit Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Avantajları ve Dezavantajları

Lipid bazlı sistemler hazırlanış, in vitro karakterizasyon, in vivo davranış ve üretim yönleri açısından değerlendirildiğinde birçok avantaj ve dezavantaja sahiptir.

2.3.3.1. Lipit Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Avantajları

Lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistemlerin avantajları,

1. Kontrollü ve hedeflendirilmiş ilaç salınımı,
2. Farmasötik stabilite,
3. Yüksek ve artmış ilaç içeriği (diğer taşıyıcılara göre),
4. Hem lipofilik hem de hidrofilik ilaç taşıma yetenekleri,
5. Biyolojik olarak parçalanabilir ve biyolojik olarak uyumlulukları,
6. Geniş ekspiyan çeşidi,
7. Geniş formülasyon çeşidi,
8. Düşük risk profili,
9. Çabuk ticarileşme için invazif olmayan veziküler bir sistem oluşudur (Shrestha, Bala, & Arora, 2014).

2.3.3.2. Lipit Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Dezavantajları

1. İn vitro modeller formülasyonun değerlendirilmesi için yeterli değildir.
2. Yüksek konsantrasyonda YEM (yaklaşık %30-60) içeren formülasyonlar mide- bağırsak sisteminde iritasyona sebep olabilirler.
3. Kullanılan YYEM yumuşak veya sert jelatin kapsülden sızabilir. Bu durum lipofilik özelliğe sahip etkin maddenin formülasyonunda çökelmeye sebep olabilir (Jannin et al., 2008; Pouton & Porter, 2008).

2.3.4. Lipid Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Lenfatik Sistem Etkisi

Lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistemlerin primer mekanizması, gastrointestinal kanaldan emilimi çözünürlük artışıyla arttırmalarıdır. Diğer mekanizmalar ilacın gastrointestinal kanalın sulu ortamında kimyasal ve enzimatik degradasyondan koruma ve karaciğer ilk geçiş etkisini önleyen lenfatik ilaç transportunu desteklemesidir. İlacın fizikokimyasal özellikleri, lipit ekspiyanlar ve formülasyonun in vivo olarak dağılılırılığı, hem gastrointestinal kanalda ilacın alımını, hem de portal venlerde ve mezenterik lenfatik yollarda tüm ilaç absopsiyonunun katılım derecesini belirler (Gupta, Kesarla, & Omri, 2013).

Lenfatik sistem, tüm vücuttaki geniş drenaj ağına bağlı olarak, ilaçların sistemik dolaşıma taşınmasında önemli bir rol oynar. İlacın lenfatik taşınmasının avantajlarından bazıları, ilk geçiş metabolizmasından kaçınmak ve lenfomalar ve HIV

gibi lenfler yoluyla yayıldığı bilinen spesifik hastalıkların hedeflenmesidir. Lipitlerin ilaç emilimini, biyoyararlanımı ve oral uygulamadan sonra yer değiştirmesini etkiledikleri muhtemel mekanizmalar; sıkı bağlantıları açarak paraselüler taşınmaya izin vermeleri, P-gp ve/veya CYP450'nin inhibisyonu nedeniyle yüzey etkin maddeler tarafından hücre içi konsantrasyonunda ve kalma süresinde artış, lipoprotein/şilomikron üretiminin lipidler tarafından uyarımıdır (Kalepu et al., 2013).

Özellikle, yiyeceğin lipid bileşeni, lipofilik ilaçların emiliminde artan biyoyararlanıma yol açan hayati bir rol oynar. Bu durum yüksek yağ içeren gıdaların, biliyer ve pankreatik salgıları stimüle etmesi, metabolizma ve effluks aktivitesini azaltması, barsak duvarı geçirgenliğini artırması, gastrointestinal kanalda kalma süresini uzatması ve lenfatik sistem yoluyla transport ile açıklanır. Trigliseritler ve uzun zincirli yağ asitleri, gastrointestinal kanalda kalma süresinin uzatılmasında önemli bir rol oynar. Aynı zamanda, yüksek yağlı bir yemek, ilaç molekülleriyle reaksiyona giren trigliserit bakımından zengin lipoproteinleri yükseltir. Lipoproteinlerin ilaç molekülleri ile birleşmesi, barsak lenfatik transportunu artırır, ilaç dağıtımında değişikliklere yol açar ve nihayetinde az çözünen ilaçların farmakolojik etkilerinin kinetiğini değiştirir (Kalepu et al., 2013; Trevaskis, Charman, & Porter, 2008).

Lenfatik absorpsiyon yolu, trigliseritlerde ($C_s > 50$ mg / mL) yüksek çözünürlüğe sahip yüksek lipofilik ilaçların ($\text{Log } P > 5$) biyoyararlanımını arttırmak için iyi bir fırsattır. Doymamış uzun zincirli yağ asitlerinin alkol esterlerinden oluşan lipit sistemlerinin, lenfatik alım yolunu kolaylaştırmak suretiyle birçok ilacın biyoyararlanımını arttırdığı gösterilmiştir. Örnek olarak, saquinavir ile poligliseril oleat (Plurol® Oleique CC497) veya etoksile edilmiş hint yağı (Cremophor® EL) (Griffin & Driscoll, 2006), ontazolast ile gliseril monooleat (Peceol™) (D. Hauss et al., 1998) ve halofantrin ile çeşitli trigliseritler ve türevleri (Charman & Stella, 1991; Driscoll, 2002) verilebilir (Jannin et al., 2008).

2.3.5. Lipid Bazlı Sistemlerin Karakterizasyonu

Başarılı bir lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistem formülasyonu için bütünsel bir yaklaşım gereklidir. Bu gerekçenin sistematik açıklaması;

(1) Yağ asidi yapılarının uygunluğu için yardımcı maddelerin ön seçimi, erime özellikleri, HLB veya emülsifikasyon özellikleri, enterosit bazlı ilaç taşıma, dispozisyon ve genel sindirilebilirlik üzerindeki potansiyel etkileri,

(2) İleride yapılacak çalışmalar için bir veya daha fazla uygun sistemi tanımlamak üzere, ilaç çözünürlüğü, uyumluluk, stabilite ve çözünme / dağılma özellikleri (önceden belirlenmiş ortamlarda) için önceden seçilmiş yardımcı maddeler ile ikili tarama yapılması,

(3) Amaçlanan dozaj formu için uygun formülasyon tekniğini / tekniklerini belirlemek,

(4) Seçilen formülasyon sistemlerinin in vivo performansının uygun hayvan modellerinde onaylanması,

(5) Formülasyonu ilaç yükleme veya çözünme profili için optimize etmek ve gerekirse oksidatif ve polimorfik değişikliklerin kontrolünü kazanmaktır (Mahapatra, Pn, Sciences, & Swain, 2014).

Lipid bazlı sistemlerin değerlendirilmesinde ilk karakterizasyon parametresi görünüşür. Kendiliğinden emülsifikasyonun etkinliği, emülsifikasyon oranı ve damlacık büyüklüğü dağılımının belirlenmesiyle tahmin edilebilir. Dağılımın ulaştığı hızlı dengeyi ve bu işlemin tekrarlanabilirliğini belirlemek için bulanıklık ölçümleri yapılabilir (R. Gursoy & Benita, 2004). Formülasyonun pH'sı, viskozitesi, özgül ağırlığı veya dansitesi temel ölçülmesi gereken parametreleridir. Bakılması gereken bir diğer parametre zeta potansiyeldir. Zeta potansiyel, partiküllerin yüzey yükünü karakterize eder ve böylece partiküller ve damlacıklar arasındaki itici kuvvetler hakkında bilgi verir (Shrestha et al., 2014). Formülasyonların hem karakterizasyonlarında bir diğer önemli basamak termodinamik stabilitedir. Santrifüj, ısıtma- soğutma döngüsü ve dondurma çözme döngüsü olarak 3 farklı testten oluşur (Selvam, Kulkarni, & Dixit, 2015; Shukla & Patel, 2010). S-SEDD'lerde bunlara ek olarak toz akış özelliklerine ve disperse olabilme özelliklerine bakılabilir (Gumaste, Freire, & Serajuddin, 2017).

Gereç ve Yöntem

3.1. Kullanılan Kimyasal Madde, Araç ve Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Valsartan (Seri No: VLS/1612219, 01.02.2017) ..Jubilant Generics Limited, Hindistan

| | |
|---------------------------------|------------------------|
| Metanol..... | Merck, Almanya |
| Asetonitril..... | Sigma Aldrich, Almanya |
| Potasyum dihidrojen fosfat..... | Merck, Almanya |
| Trifloroasetik asit..... | Merck, Almanya |
| Oleik Asit..... | Sigma Aldrich, Almanya |
| Hint yağı..... | Sigma Aldrich, Almanya |
| İzopropil Miristat..... | Sigma Aldrich, Almanya |
| Soya Yağı..... | Sigma Aldrich, Almanya |
| Capryol 90..... | Gattefosse, Fransa |
| Labrafil M 1944 CS | Gattefosse, Fransa |
| Span 80..... | Sigma Aldrich, Almanya |
| Labrafil M 2125 CS..... | Gattefosse, Fransa |
| Plurol Oleique CC497..... | Gattefosse, Fransa |
| Tween 20..... | Sigma Aldrich, Almanya |
| Tween 80..... | Merck, Almanya |
| Cremophor EL..... | Sigma Aldrich, Almanya |
| PEG 600..... | Sigma Aldrich, Almanya |
| Etanol..... | Merck, Almanya |
| Transcutol HP..... | Gattefosse, Fransa |
| İzopropil Alkol..... | Merck, Almanya |

| | |
|---|----------------------------------|
| Lutrol F127..... | BASF, Almanya |
| Sodyum Hidroksit..... | Merck, Almanya |
| 1-Metil N-Prolidon..... | Merck, Almanya |
| Hidroksipropil Metil Selüloz..... | Sigma Aldrich, Almanya |
| Avicel pH101..... | Sigma Aldrich, Almanya |
| Aerosil..... | Flumed silika |
| Sodyum Dihidrojen Fosfat..... | Merck, Almanya |
| Hidroklorik asit..... | Merck, Almanya |
| Sodyum Asetat trihidrat..... | Merck, Almanya |
| Glasiyel Asetik Asit..... | Merck, Almanya |
| Soluplus® | BASF, Almanya |
| Solutol HS15..... | BASF, Almanya |
| FaSSIF/FeSSIF/FaSSGF..... | Biorelevant, İngiltere |
| HBSS (Hank's Balanced Salt Solution) | Gibco, İngiltere |
| DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) | Gibco, İngiltere |
| Streptomisin..... | Sigma Aldrich, Almanya |
| L-Glutamin..... | Sigma Aldrich, Almanya |
| L-Alanin..... | Gibco, İngiltere |
| Tripsin-EDTA..... | Gibco, İngiltere |
| Fetal Sığır Serumu..... | Gibco, İngiltere |
| Caco-2..... | American Type Culture Collection |
| Trizma Maleat..... | Sigma Aldrich, Almanya |
| Sodyum klorür..... | Merck, Almanya |
| Kalsiyum Klorür Dihidrat..... | Merck, Almanya |

Olmesartan Asit (İç standart)Sigma Aldrich, Almanya

3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

HPLC.....HP Agilent 1100 Series, Almanya

Çalkalayıcı.....CAT S20, Almanya

Santrifüj Cihazı.....Nüve 800R, Türkiye

HPLC kolonu.....Zorbax SB C18, Amerika

Damlacık Boyutu Ölçüm Cihazı.....Malvern Zeta Sizer Nano ZS, İngiltere

Dissolüsyon Cihazı.....Sotax, İsviçre

Viskozimetre.....Brookfield, Amerika

Refraktometre.....Krüss DR301-95, Almanya

FTIR spektrometre.....Schmadzu IR Tracer 100, Japonya

Titreşimli elek.....Retsch, Almanya

Sıkıştırılmış Dansite Cihazı.....Logan Tap 2S, Amerika

Buzdolabı.....Beko, Türkiye

Derin Dondurucu.....Uğur, Türkiye

Mikroskop.....Leica DM750, Almanya

Santrifüj Cihazı (Hücre Kültürü)Sigma 2-16KL, Almanya

İnkübatör.....ESCO Cell Culture, Singapur

Laminar Hava Akımlı Kabin.....ESCO Class II BSC, Singapur

Vorteks karıştırıcı.....Stuart Vortex Mixer SA8, İngiltere

TEER Ölçüm Cihazı.....Milicell ERS-2 Epithelial Ohmmeter, Almanya

İnkübatör Çalkalayıcı.....Zhiceng ZWY-240, Çin

Tartı.....Mettler Toledo ME204, Amerika

Otomatik Pipet.....Motopet, Amerika

| | |
|--|---------------------------------------|
| Ultrasonik Banyo..... | Alex Machine, Türkiye |
| Otomatik Titrasyon Cihazı..... | Titroline, Amerika |
| Kuyruktan Tansiyon Ölçüm Cihazı..... | Hatteras SC-1000 Instruments, Amerika |
| Kan Analiz Cihazı..... | VetScan VS2 Abaxis, Amerika |
| Su Banyosu..... | Buchi 461, Türkiye |
| pHmetre..... | Mettler Toledo, Amerika |
| Etüv..... | Nüve EN 500, Türkiye |
| Karıştırıcı..... | Yellow Line, Almanya |
| UV Spektrometre..... | Schmadzu UV 1208, Japonya |
| Elektrik İletkenliği Ölçüm Cihazı..... | Jenwey 4071, İngiltere |
| Stabilite Kabini..... | Nüve İD501, Türkiye |
| Elisa Reader..... | Polarstar Omega BMG Glabtech, Almanya |

3.2. Yöntem

3.2.1. Valsartanın Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

3.2.1.1. Valsartanın Lipid Su Partisyon Katsayısının Saptanması

Partisyon katsayısı bir maddenin, bir ortam ya da fazdaki çözünürlüğünün bir diğer ortam ya da fazdaki çözünürlüğüne (iki konsantrasyon dengede iken) oranıdır. Valsartanın partisyon katsayısını hesaplarken çalkalama metodu kullanıldı. Valsartanın fazlası eşit miktarda n-oktanol ve su içeren kaba konularak çalkalamak suretiyle çözündürüldü. Her iki fazdan miktar tayini yapılarak lipid-su partisyon katsayısı belirlendi.

3.2.1.2. Valsartanın FT-IR Spektrumu

100 mg Valsartan katı halde FT-IR spektrofotometrede 750-4000 cm^{-1} arasında taranıp pik verdiği dalga boyları belirlendi.

3.2.1.3. Valsartanın Erime Derecesi Belirlenmesi

Erime derecesi DSC’de (Diferansiyal Taramalı Kalorimetre) ölçüldü. 100 mg Valsartan toz halde alüminyum tepside farklı oranlarda 140°C’ye kadar ısıtıldı. Daha sonra numune hızla soğutuldu ve verdiği pik belirlendi.

3.2.2. Valsartan Miktar Tayin Yöntemi Geliştirilmesi

Valsartan miktar tayini yöntemi geliştirilmesi için HPLC cihazında, UV dedektörde, 247, 250, 265 nm dalga boylarında çalışıldı. Metot geliştirme çalışmalarında, Zorbax® XDB C18 (150mm×4.6mm, 5µm) ve Zorbax® SB C18 (150mm×4,6mm, 3,5µm) kolonlarında denemelerde bulunuldu. Mobil faz olarak asetonitril: fosfat tamponu (55:45) pH 2.7 (Trifluoro asetik asit ile) ve akış hızı 1 mL/dakika olarak çalışıldı. Metot geliştirme tamamlandığında doğrusalık, seçicilik, çalışma aralığı, doğruluk ve geri elde edilebilirlik, kesinlik, çözelti stabilitesi, duyarlılık ve sapma sınırı parametrelerinde validasyon tamamlandı.

3.2.2.1. Valsartanın Miktar Tayini İçin Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi

3.2.2.1.1. Valsartanın pH 1.2 Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi

Valsartan pH 1.2 ortamında çözünmediği için önce 1 mL metanolde çözündürülüp 10 mL’ye pH 1.2 ortamıyla tamamlandı. Mobil faz ile seyreltilerek 0.5, 1, 5, 10, 20, 40, 50 µg/mL derişimlerinde 7 seri çözelti hazırlanarak HPLC’de analiz edildi.

3.2.2.1.2. Valsartanın pH 4.6 Ortamında Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi

Valsartanın pH 4.6 ortamı ile 100 µg/mL derişiminde stok çözeltisi hazırlandı. Mobil faz ile seyreltilerek 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20, 40, 50 µg/mL derişimlerinde 8 seri çözelti hazırlanarak HPLC’de analiz edildi.

3.2.2.1.3. Valsartanın pH 6.8 Ortamında Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi

Valsartanın pH 6.8 ortamı ile 100 µg/mL derişiminde stok çözeltisi hazırlandı. Mobil faz ile seyreltilerek 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20, 40, 50 µg/mL derişimlerinde 8 seri çözelti hazırlanarak HPLC’de analiz edildi.

3.2.2.1.4. Valsartanın HBSS Ortamında Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi

Valsartanın HBSS ile 100 µg/mL derişiminde stok çözeltisi hazırlandı. Mobil faz ile seyreltilerek 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20, 40, 50 µg/mL konsantrasyonlarında 8 seri çözelti hazırlanarak HPLC’de analiz edildi.

3.2.2.1.5. Açlık Tokluk Ortamlarında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi

Valsartanın FaSSIF, FeSSIF, FaSSGF ortamları ile 100 µg/mL derişiminde stok çözelti hazırlandı. Mobil faz ile seyreltilerek 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20, 40, 50 µg/mL derişimlerinde 8 seri çözelti hazırlanarak HPLC’de analiz edildi.

3.2.3. Analitik Yöntem Validasyonu

3.2.3.1. Doğrusallık

Kullanılan analitik yöntemin doğrusallığını göstermek amacıyla pH 1.2, pH 4.6 pH 6.8 ve HBSS ortamlarında bilinen konsantrasyonlarda Valsartan miktarlarından hareketle (pH 1.2’de 0.5, 1, 5, 10, 20, 40, 50 µg/mL ve pH 4.6, pH 6.8 ve HBSS’de 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20, 40, 50 µg/mL), HPLC tayini sonuçlarına göre doğrusal sonuçların alınıp alınmadığını kanıtlamak için r^2 değerleri belirlendi (EMA, 2006).

3.2.3.2. Seçicilik

Seçicilik, yöntemin sadece analiz edilmek istenen maddeye özgün olması ya da numune içerisinde safsızlıklar, yardımcı maddeler ya da bozunma ürünleri varlığında analiz edilmek istenen maddenin doğru bir şekilde saptanmasıdır. Bu amaçla Valsartan içeren numune ve içermeyen numune enjeksiyonu yapıldı. pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8 ve HBSS ortamlarında çözücüde, etkin madde pikinin altında herhangi bir pik olup olmadığı belirlendi.

3.2.3.3. Çalışma Aralığı

Çalışma aralığı için, 40 µg/mL %100 derişim olarak belirlenmiştir. pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8, HBSS ortamlarında 4 µg/mL (%100) ve 50 µg/mL (%125) derişimlerde 6 enjeksiyon verilerek etkin madde pik alanları arasındaki RSD belirlendi.

3.2.3.4. Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirlik

Elde edilen deneysel değerlerin gerçek değere ne kadar yakın olduğunu tespit etmek amacıyla yapılır. pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8 ve HBSS ortamlarında 0.5 µg/mL (%1.25),

4µg/mL (%10), 40µg/mL (%100) konsantrasyonlarında hazırlanıp 6 örnek enjeksiyon verilerek alan değerleri ölçüldü. Bu alan değerlerine karşılık gelen konsantrasyon miktarları bulundu ve yüzde geri kazanım hesaplandı. Yöntemin doğruluğu geri alma yüzdesine bağlıdır.

3.2.3.5. Kesinlik

Kesinlik, aynı şartlarda ve aynı yöntemle elde edilen sonuçların birbirini takip eden ölçümleri arasındaki yakınlığın derecesini göstermek için kullanılır. pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8 ve HBSS ortamlarında Valsartanın 40µg/mL'lik (%100) derişimdeki çözeltisinden 6 defa ardarda enjeksiyonlar yapıp, elde edilen alan değerlerine karşılık gelen derişimlerin ortalaması, standart sapma ve relatif standart sapması hesaplandı.

3.2.3.6. Çözelti Stabilitesi

pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8 ve HBSS ortamlarında 4µg/mL, 40µg/mL ile standart örnekler hazırlandı ve oda sıcaklığında cihaza enjekte edilip 90 dakika, 10 saat, 14 saat, 18 saatte enjeksiyonlar tekrarlandı. Bulunan konsantrasyonlar ile çözeltinin ne kadar stabil olduğu ortalama, standart sapma ve relatif standart sapma değerleriyle değerlendirildi.

3.2.3.7. Duyarlılık ve Sapma Sınırı

Yöntemin saptayabildiği en küçük derişime sapma derişimi (Limit of Detection, LOD) denir (Denklem 1). Bu derişim gürültü içerebildiğinden çok güvenli olmayabilir. Bu nedenle daha güvenilir olan derişime duyarlılık veya analiz sınırı (Limit of Quantification, LOQ) denir (Denklem 2).

$$\frac{3 * \text{Gürültü}}{\text{Sinyal}} = LOD \text{ (Denklem 1)}$$

$$\frac{10 * \text{Gürültü}}{\text{Sinyal}} = LOQ \text{ (Denklem 2)}$$

3.2.3.8. FaSSIF/FeSSIF/FaSSGF Validasyonu

Açlık-tokluk ortamlarında kısa bir validasyon yapılmıştır. Doğrusallık, seçicilik, çalışma aralığı, doğruluk ve geri elde edilebilirlik ve kesinlik parametreleri incelenmiştir. Çözelti stabilitesine enzim içerdiklerinden dolayı bakılmamıştır.

3.2.4. Formülasyon Çalışmaları

3.2.4.1. Formülasyonunda Yer Alabilecek Bileşenlerin Fizikokimyasal

Özelliklerinin İncelenmesi

Lipid bazlı sistemlerin (SEDDS, miseller çözeltiler, S-SEDDS) geliştirilmesinde kullanılması planlanan bileşenlerin fizikokimyasal özelliklerinden bazıları incelenerek analiz sertifikalarına uygunluğu karşılaştırıldı. Bu amaçla refraktif indeksi tayini, dansitesinin tayini, viskozitesinin tayini ve pH'sının tayini yapıldı. YEM ve Y-YEM'lerin viskozite tayini, refraktif indeks tayini ve dansite tayini yapıldı. Lipid bazlı sistemlerin geliştirilmesinde kullanılması planlanan bileşenler Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1: Kullanılması planlanan yağ/yüzey etkin madde/ yardımcı yüzey etkin maddeler

| Yağlar | Yüzey Etkin Maddeler | Yardımcı Yüzey Etkin Maddeler | Katılaştırma Ajanları |
|--------------------|----------------------|-------------------------------|-----------------------|
| Oleik Asit | Capyrol 90 | PEG 600 | Avicel pH101 |
| Hint Yağı | Labrafil M 1944 CS | Etanol | Aerosil |
| İsopropil Miristat | Span 80 | Transcutol HP | HPMC |
| Soya Yağı | Labrafil M 2125 CS | İsopropil Alkol | |
| | Plurol Oleik CC497 | | |
| | Tween 20 | | |
| | Tween 80 | | |
| | Cremophor EL | | |
| | Solutol HS 15 | | |
| | Lutrol F127 | | |
| | Soluplus | | |

3.2.4.2. Valsartanın Geliştirilecek Olan Lipid Bazlı Formülasyon Terkibinde

Yer Alacak Bileşenlerinde Çözünürlüğünün Saptanması

Bu aşamada, valsartanın çözünürlüğü geliştirilecek olan SEDD, S-SEDD ve miseller sistemlerinin terkinde yer alacak bileşenlerde HPLC ile miktar tayini yapılarak tespit edilmiştir ve en çok çözüdüğü yağ tipleri, YEM ve Y-YEM'ler belirlenmiştir. Bu amaçla Tablo 1'de incelenen YEM, YYEM ve yağlar kullanıldı. Bu çalışmada 2 mL YEM, yağ ve YYEM içerisine aşırı doymuş dozda Valsartan ilave edildi. 200rpm'de oda koşullarında 72 saat boyunca (çözünmesi devam edenler için 120 saat) karanlık ortamda çalkalayıcıda karıştırıldı. 24., 48. ve 72. saat sonunda (çözünmesi devam edenler için 96. ve 120. saatlerde) karışım 25°C'de 3000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Üstte kalan berrak çözeltiler alındı ve gerekli seyreltmeler yapılarak HPLC cihazında miktar tayinleri gerçekleştirildi (n=3). Bu çalışma sonucunda Valsartanı en çok çözen yağ, YEM, YYEM'lere karar verildi.

3.2.4.3. Lipid Bazlı Formülasyonların Üçgen Faz Diyagramlarının Çizilmesi

SEDD sistemlerin terkinde yer alacak en çok Valsartanı çözen bileşenler çözünürlük çalışması sonucu belirlenmişti. Bu bileşenler ile formülasyon denemeleri yapılarak üçgen faz diyagramları çizildi (Ege, Karasulu, & Güneri, 2004). Bu diyagramların çizilmesinde titrasyon yöntemi kullanıldı. Formülasyon geliştirme çalışmaları sırasında YEM'ler ile YYEM'ler farklı kombinasyonlarda ve oranlarda karıştırıldı. 30 farklı formülasyon geliştirildi. Yağ, YEM ve YYEM bir beher içerisinde manyetik karıştırıcıda 25°C'de 50 devir/dk dönme hızıyla karıştırılırken su ile titrasyon yapılarak bulanma noktaları tespit edildi. Elde edilen veriler kullanılarak bilgisayar programı yardımıyla üçgen faz diyagramları çizildi ve en yüksek su alan ve mikroemülsiyon alanını veren YEM/YYEM oranları ideal kabul edildi. Burada elde edilen alanların ağırlık merkezleri kullanılarak optimum mikroemülsiyon formülasyonları hesaplandı.

3.2.4.4. Lipid Bazlı Formülasyonların Hazırlanması

3.2.4.4.1. SEDD Sistemlerin Hazırlanması

Bilgisayar programında en büyük alanı veren ve ağırlık merkezinden hesaplanan optimum formülasyonlar su fazı içermeden tüm bileşenler (yağ/YEM/YYEM) karıştırılarak formülasyon hazırlandı. 0.5 mL'sinde 80 mg olacak şekilde Valsartan

eklendi. Valsartanın formülasyonda çözünmesini sağlamak amacıyla manyetik karıştırıcıda 50 rpm devirde karıştırılarak ve 37°C'ye kadar ısıtılarak berrak bir çözelti elde edilerek formülasyonlar hazırlandı.

3.2.4.4.2. S-SEDD Sistemlerin Hazırlanması

Yöntem 3.2.4.4.1'de anlatıldığı gibi hazırlanan Valsartan içeren SEDD formülasyonlar inert taşıyıcılara emdirildi ve yaş granülasyon tekniği ile granüle haline getirildi. Etüvde 45°C'de yaklaşık 1 saat kurutularak kuru karışım elde edildi.

3.2.4.4.3. Miseller Sistemlerin Hazırlanması

Miseller sistemlerin hazırlanması için seçilen yüzey etkin maddeler (Soluplus, Lutrol F127, Solutol HS 15) çeşitli oranlarda bir beherde karıştırılarak etanolde çözüldü. Etanolün uçmasını sağlamak için bir gece çeker ocakta bırakıldı. Daha sonra 10 mL su ile hidrate edilerek miseller formülasyonların oluşması sağlandı.

3.2.5. Lipid Bazlı Formülasyonların Karakterizasyon Çalışmaları

Karakterizasyon çalışmaları, üçgen faz diyagramlarında belirlenen orandaki su ile seyreltilerek yapılmıştır.

3.2.5.1. SEDDS Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları

3.2.5.1.1. Formülasyonun Fiziksel Görünüşü

Geliştirilen formülasyonların oda sıcaklığında (25±2°C) fiziksel görünüşleri incelenerek değerlendirildi.

3.2.5.1.2. Formülasyonun pH Ölçümü

Geliştirilen formülasyonların pH'sı oda sıcaklığında (25±2°C) Mettler Toledo marka pHmetre ile ölçüldü (n=3).

3.2.5.1.3. Formülasyonun Elektrik İletkenliği

Geliştirilen formülasyonların elektrik iletkenliği, oda sıcaklığında (25±2°C) Jenway 4071 model konduktivitemetre aleti ile belirlendi (n=3).

3.2.5.1.4. Formülasyonun Refraktif İndis Ölçümü

Geliştirilen formülasyonların refraktif indisi oda sıcaklığında (25±2°C) Atago refraktometer RX-7000 CX marka refraktometre ile ölçüldü (n=3).

3.2.5.1.5. Formülasyonun Viskozitesinin Ölçümü

Geliştirilen formülasyonların viskozitesi oda sıcaklığında (25±2°C) Brookfield DVII+ Pro cihazında ULA Spindle kullanılarak ölçüldü (n=3).

3.2.5.1.6. Dansitesinin Ölçülmesi

Geliştirilen formülasyonların dansitesi piknometre yardımıyla ölçüldü. Başlangıçta boş piknometrenin darası alındı. Daha sonra piknometre distile su ile doldurulup tıpası kapatılıp tartıldı. İçinde su kalmaması için etanolla çalkalanıp etüvde kurumaya bırakıldı. Tartıldı ve bulunan kütlede boş piknometre kütlesi çıkarılarak sıvı kütlesi bulundu(m₁). Daha sonra SEDD formülasyonu piknometreye konuldu ve tıpası kapatıldı. Tartılıp kaydedildi. Bu kütlede boş piknometrenin kütlesi çıkarılarak SEDD formülasyonu içeren sıvı kütlesi bulundu (m₂). Dansitenin hesaplanması Denklem 3'te verilmiştir.

$$\frac{d_{sıvı} * m}{m + (m_1 - m_2)} = \text{Dansite}(\text{Denklem3})$$

d_{sıvı}: suyun dansitesi, **m**: SEDD formülasyonunun kütlesi, **m₁**: suyun kütlesi, **m₂**:SEDD formülasyonunu içeren sıvı kütlede ağırlığı

3.2.5.1.7. Formülasyonun Damlacık Boyutunun Saptanması

Geliştirilen formülasyonların damlacık büyüklüğü Malvern zetasizer cihazı kullanılarak ölçüldü. Formülasyonun etkin madde içeren ve içermeyen hallerinin damlacık büyüklüğü, polidispersite indeksi oda sıcaklığında (25±2°C) ölçüldü (n=6).

3.2.5.1.8. Formülasyonun Zeta Potansiyel Değerleri

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemlerde stabilite yüzey yükü ile ilişkilidir. Zeta potansiyel ölçümü Malvern zetasizer cihazı ile oda sıcaklığında (25±2°C) yapılmıştır (n=3).

3.2.5.1.9. Formülasyonun Dağılım Dayanıklılığının Saptanması

Formülasyonlar pH 1.2, distile su, pH 6.8 ortamlarında 1:10, 1:100, 1:500 ve 1:1000 oranlarında seyreltilerek 0., 2. ve 24. saatlerde Malvern zetasizer cihazında partikül büyüklükleri ölçüldü. Partikül büyüklüklerinde zamana bağlı değişim olup olmadığı araştırıldı.

3.2.5.1.10. Formülasyonun Emülsifikasyon Zamanı

Geliştirilen formülasyonların 100 rpm'de USP XXII dissolüsyon aparatı kullanılarak karıştırılan $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 'lik 1000 mL'lik distile suya damla damla eklenerek, formülasyon gözlenmeyene kadar geçen süre hesaplandı.

3.2.5.1.11. Formülasyonun Santrifüj Çalışmaları

Geliştirilen formülasyonların 5000 rpm hızında, $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta ve 30 dakika süre ile santrifüj cihazı (Sigma 2-16KL) ile santrifüj edilerek formülasyonlarda faz ayrışımı olup olmadığı kontrol edildi.

3.2.5.1.12. Formülasyonun Isıtma-Soğutma Çalışmaları

Geliştirilen formülasyonların soğutma $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat bekletilme ve ısıtma ise $45\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat boyunca bekletilmesi ile gerçekleştirildi. Bu amaçla hazırlanan formülasyonlar 3 kez soğutma (4°C , 24 saat) ve ısıtma (45°C , 24 saat) döngüsüne tabi tutulduktan sonra 5 dakika 3000 devir/dakika santrifüjlenip formülasyonlarda faz ayrışması ve bulanıklık olup olmadığı incelendi. Her bir sıcaklık muamelesi sonrasında faz ayrışması, çökme gibi stabilizasyon problemlerinin oluşup oluşmadığı araştırıldı.

3.2.5.1.13. Formülasyonun Dondurma-Çözme Çalışmaları

Geliştirilen formülasyonlar $-4\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat donmaya bırakıldıktan sonra $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat bekletildi. 3000 devir/dakika santrifüjlendikten sonra faz ayrışması olup olmadığı gözlemlendi.

3.2.5.1.14. Valsartan Miktar Tayini

Geliştirilen Valsartan içeren SEDD sistemler mobil fazda çözündürülmüş ve açığa çıkan Valsartan miktarı HPLC ile değerlendirilmiştir (Denklem 4).

$$\% \text{ Miktar} = (M \text{ valsartan} / M \text{ madde}) \times 100 (\text{Denklem 4})$$

M valsartan: Deneysel olarak elde edilen valsartan miktarı

M madde: Formülasyondaki teorik madde miktarı

3.2.5.2. S-SEDDS Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları

3.2.5.2.1. Fiziksel Görünüş

Geliştirilen formülasyonların oda sıcaklığında (25±2°C) fiziksel görünüşleri incelenerek değerlendirildi.

3.2.5.2.2. Küme ve Sıkıştırılmış Dansite Ölçümleri

S-SEDDS sıkıştırılmış dansitelerinin ölçülmesinde Tap-2S Tap Density Tester cihazı kullanıldı. Başlangıçta mezüre 100 mL hacminde konularak başlandı. 0., 10., 500., 1250. vuruşlar sonucu hacimlere bakıldı. Bunun sonucunda küme dansite (Denklem 5), sıkıştırılmış dansite (Denklem 6), Hausner oranları (Denklem 7) ve Carr indeksi (Denklem 8) hesaplandı. Carr indeksi %5-15 arasında ise mükemmel, %12-16 arasında ise iyi, %18-21 arasında orta, %23-35 arasında ise zayıf, %33-38 arasında ise çok zayıf, %40'tan büyükse aşırı zayıf akış olarak değerlendirilir.

$$\frac{\text{Tozun Ağırlığı}(g)}{\text{Başlangıç Hacmi}(mL)} = \text{Küme Dansitesi (Denklem 5)}$$

$$\frac{\text{Tozun Ağırlığı}(g)}{\text{Sıkıştırılmış Hacim}(mL)} = \text{Sıkıştırılmış Dansite (Denklem 6)}$$

$$\frac{\text{Sıkıştırılmış Dansite}}{\text{Küme Dansite}} = \text{Hausner Oranı (Denklem 7)}$$

$$\frac{\text{Sıkıştırılmış Dansite} - \text{Küme Dansite}}{\text{Sıkıştırılmış dansite}} * 100 = \text{Carr İndeksi}(\%)(\text{Denklem 8})$$

3.2.5.2.3. Titreşimli Elek ile Boyut Analizi

S-SEDDS'lerin boyut analizi Retsch marka titreşimli elek ile gerçekleştirildi. Formülasyonlardan 50 g alınıp elek sistemine konuldu. 10 dk 20 Hz titreşim uygulandı. Kullanılan elek sisteminin boyutları 1.40mm, 1.00mm, 500µm ve 250µm'dir.

3.2.5.2.4. Emülsifikasyon Zamanı Analizi

Geliştirilen formülasyonların 100 rpm’de USP XXII dissolüsyon aparatı kullanılarak karıştırılan $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ’lik 1000 mL’lik distile suya S-SEDDS eklenerek, formülasyon gözlenmeye kadar geçen süre hesaplandı.

3.2.5.2.5. Damlacık Boyutu Analizi

80 mg Valsartan dozunu 1000 mL pH 1.2, pH 6.8 ve distile suda çözerek damlacık büyüklükleri Malvern zetasizer cihazı kullanılarak oda sıcaklığında ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) ölçüldü (n=6).

3.2.5.2.6. İçerik Miktar Tayini

Geliştirilen Valsartan içeren S-SEDD sistemler mobil fazda çözündürülmüş ve açığa çıkan Valsartan miktarı HPLC ile değerlendirilmiştir (n=3) (Denklem 4).

3.2.5.3. Miseller Sistemlerin Karakterizasyon Çalışmaları

3.2.5.3.1. Fiziksel Görünüş

Geliştirilen formülasyonların oda sıcaklığında ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) fiziksel görünüşleri incelenerek değerlendirildi.

3.2.5.3.2. Formülasyonun pH Ölçümü

Geliştirilen formülasyonların pH’sı oda sıcaklığında ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) Mettler Toledo marka pHmetre ile ölçüldü.

3.2.5.3.3. Formülasyonun Refraktif İndis Ölçümü

Geliştirilen formülasyonların refraktif indisi oda sıcaklığında ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) Atago refraktometer RX-7000 CX marka refraktometre ile ölçüldü.

3.2.5.3.4. Formülasyonun Damlacık Boyutunun Saptanması

Geliştirilen formülasyonların damlacık büyüklüğü Malvern zetasizer cihazı kullanılarak oda sıcaklığında ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) ölçüldü (n=6).

3.2.5.3.5. Formülasyonun Santrifüj Çalışmaları

Geliştirilen formülasyonların 5000 rpm hızında, $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta ve 30 dakika süre ile santrifüj cihazı (Sigma 2-16KL) ile santrifüj edilerek formülasyonlarda faz ayrışımı olup olmadığı kontrol edildi.

3.2.5.3.6. Formülasyonun Isıtma-Soğutma Çalışmaları

Geliştirilen formülasyonların soğutma $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat bekletilme ve ısıtma ise $45\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat boyunca bekletilmesi ile gerçekleştirildi. Bu amaçla hazırlanan formülasyonlar 3 kez soğutma (4°C , 24 saat) ve ısıtma (45°C , 24 saat) döngüsüne tabi tutulduktan sonra 5 dakika 3000 devir/dakika santifürülenip formülasyonlarda faz ayrışması ve bulanıklık olup olmadığı incelendi. Her bir sıcaklık muamelesi sonrasında faz ayrışması, çökme gibi stabilizasyon problemlerinin oluşup oluşmadığı araştırıldı.

3.2.5.3.7. Formülasyonun Kritik Misel Konsantrasyonu

Valsartan içeren miseller çözeltiler belirli oranlarda distile su kritik misel konsantrasyonu belirlendi. Valsartan içeren miseller sistemin farklı derişimlerde hazırlanan çözeltilerinin kritik misel konsantrasyonu yüzey gerilimi tayini yöntemiyle gerçekleştirildi. Yüzey gerilimi damla sayma yöntemi Traube Stalogmometresi kullanılarak ölçüldü ($n=2$).

3.2.5.3.8. İçerik Miktar Tayini

Geliştirilen Valsartan içeren miseller sistemler mobil fazda çözündürülmüş ve açığa çıkan Valsartan miktarı HPLC ile değerlendirilmiştir (Denklem 4).

3.2.6. Stabilite Çalışmaları

SEDD ve S-SEDD formülasyonlarının stabiliteelerinin incelenmesi amacıyla hazırlanan formülasyonlar $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $\%60\pm 5$ bağıl nemde ve $40\pm 2^{\circ}\text{C}$, $\%75\pm 5$ bağıl nemde 12 ay boyunca saklandı. Stabilite çalışmasında numuneler 12 ay süreyle $t=0$ yani başlangıç anında ve 1., 3., 6., 9. ve 12. aylar olmak üzere kontrol edildi. Valsartan içeren S-SEDD formülasyonlar sert jelatin kapsüller içinde ayrıca SEDD formülasyonlar renkli cam vialler içersinde (20 mL) stabilite çalışmasına alınarak bu sıvı sistemlerin stabiliteeleri değerlendirildi.

3.2.6.1. SEDD Sistemlerinin Stabilite Çalışmaları

Isıtma-soğutma, santrifüj çalışmaları gibi termodinamik stabilite çalışmaları ve damlacık boyutu, PDI gibi karakterizasyon çalışmaları sonrası seçilen formülasyonların stabilite çalışmalarına başlandı. Valsartan içeren SEDD sistemlerinin stabilitesini incelemek amacıyla, formülasyonların fiziksel görünüşü,

damlacık büyüklüğü, elektriksel iletkenliği, refraktif indeksi, pH'sı, viskozitesi ve faz ayrışması gibi özellikleri değerlendirildi. Ayrıca etkin maddenin sistem içerisindeki kimyasal stabilitesi de araştırıldı.

3.2.6.2. S-SEDD Sistemlerinin Stabilite Çalışmaları

Valsartan içeren S-SEDDS sert jelatin kapsüllerin stabilite testlerinde takip edilecek parametreler, kapsülün dağılma zamanı, kapsülün görünüşü ve etkin madde içeriğidir. Kullanılan kapsül 00'dır. Etkin madde miktar tayini geliştirilecek olan HPLC yöntemi ile analizlendi.

3.2.7. *In Vitro* Salım Çalışmaları

Geliştirilen lipid bazlı formülasyonlarının, ticari formülasyonun ve etkin maddenin *in vitro* salım çalışmaları döner palet yöntemi ile 1000 mL ortamda (pH 1.2, 4.6, 6.8) $37\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 50 rpmde yapılmıştır. Her bir formülasyon için 3 paralel salım çalışması yapıldı. Çalışmalarda formülasyonlar sert jelatin kapsüle (00 numara) 80 mg Valsartan içerecek miktarda konuldu. Çözünme ortamından numuneler belirli zaman aralıklarında (0., 5., 10., 20., 30., 45., 60., 90., 120., 180., 240., 300., 360., 420., 480., 1440.dakikalarda) 0.45 µm por boyutundaki membran filtreden süzülerek alınmıştır. Alınan örneklerin HPLC'de miktar tayini yapılarak sonuçlar daha önce pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8 ortamlarında çizilmiş olan kalibrasyon eğrileriyle değerlendirildi.

3.2.7.1. *In Vitro* Salım Çalışmalarının Kinetik Değerlendirilmesi

Valsartan etkin maddesinin ve ticari formülasyonunun salım çalışması sonrası hesaplanan % salım değerleri sıfıncı derece, birinci derece, Higuchi eşitliği, Langenbucher, Hixson–Crowell, RRSBW, M.Langensbucher, Hopfenberg, BTA ve Peppas eşitlikleri kullanılarak bilgisayar ortamında (Ege, Karasulu, Karasulu, & Ertan, 2001) kinetik modelleme yapılmıştır.

3.2.8. Açlık Tokluk Ortamlarında *In Vitro* Salım Çalışmaları

In vitro salım çalışmaları sonucu seçilen SEDD ve S-SEDD ile açlık tokluk ortamlarında 24 saat boyunca döner palet yöntemiyle 1000 mL ortamda $37\pm 1^\circ\text{C}$ 'de 50 rpm'de *in vitro* salım çalışmaları yapılmıştır. Ortam olarak FaSSIF pH 6.5, FeSSIF pH 5, FaSSGF pH 1.6 ortamları kullanılmıştır. Çalışmalar 3 paralel yapılmıştır. Çözünme ortamından numuneler belirli zaman aralıklarında (0., 5., 10., 20., 30., 45., 60., 90., 120., 180., 240., 300., 360., 420., 480., 1440. dakikalarda) 0.45µm por boyutundaki

membran filtreden süzülerek alınmıştır. Alınan örneklerin HPLC’de miktar tayini yapılarak sonuçlar daha önce açlık tokluk ortamlarında çizilmiş olan kalibrasyon eğrileriyle değerlendirildi.

3.2.9. *In vitro* Lipoliz Deneyi

In vitro lipoliz deneyi, pH kontrollü otomatik titratörde yapıldı. SEDD, S-SEDD formülasyonları ve sadece yağ ve etkin madde içeren formlarının lipolizi ayrı deneylerde belirlendi. Her bir deney için, termostatlı bir reaksiyon kabına 160 mg Valsartan içerecek kadar formülasyon ilave edildi ve 18 mL sindirim tamponu (50 mM Trizma maleat, 150 mM NaCl, 5 mM CaCl₂ · 2H₂O) içinde dağıtıldı. Daha sonra pH, 0.1 M NaOH ile 7.5'e ayarlandı. Lipoliz denemeleri, 1 mL pankreatin özü ilave edilerek başlatıldı ve karışım, sürekli karıştırılarak 37±0.5°C'de tutuldu. Pankreatin özü, 5 mL sindirim tamponuna 1 g pankreatin (pankreatik lipaz ve ko-lipaz içeren) ilave edilerek hazırlandı. Karışım 15 dakika karıştırıldıktan sonra 1600 rpm ve 5±0.1°C'de 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen sıvı toplandı ve buzda saklandı. Pankreatin özleri her deney için taze olarak hazırlandı. pH kontrollü otomatik titratör, pH'yı 0.1 M NaOH ile titre ederek 7.50 ± 0.05'te tutmak için kullanıldı. Titrant hacimleri önceden belirlenmiş zamanlarda (0., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda) kaydedildi. Sindirilen lipit yüzdesi, tüketilen miktara eşit olan serbest yağ asidi (FFA) miktarından hesaplandı (Denklem 9). Bu miktarlar grafiğe geçirildi (Zhang et al., 2014).

$$\frac{C_{NaOH} \times V_{NaOH} \times M_{lipid}}{m_{lipid} \times 2} \times 100 = \% \text{ Sindirilen (Denklem 9)}$$

Her bir zaman noktasında miktar tayini analizi için 1 mL örnek alındı. 15 dakika 25°C'de 5000 rpm'de santrifüjlendi. Üstte kalan örnek süzülüp gerekli seyreltmeler yapılarak HPLC’de tayin edildi.

3.2.10. *In Vitro* Permeabilite Çalışmaları

In vitro permeabilite çalışmaları için hazırlanan eşit miktarda etkin madde içeren (40µg/mL) lipid bazlı sistemleri (SEDD ve S-SEDD), valsartan ve ticari dozaj formunun çalışmaları yapıp, permeabilite verileri hesaplanmıştır. Böylece hazırlanan yeni formülasyonların valsartanın permeabilitesi üzerine etkisi ticari formülasyonla karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

3.2.10.1. Caco-2 Hücrelerinin Pasajlanması

In vitro permeabilite çalışmalarında, -80°C'de 1 mL'lik tüpte dondurularak saklanmış ve Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonundan (ATCC) gelen Caco-2 (Kolonik Adenokarsinoma Hücreleri) hücre grubu kullanıldı. Caco-2 hücreleri 37±0.5°C'lik su banyosunda çözündürülüp, 1200 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Üstte kalan sıvı kısım atıldı. Altta kalan kısım 20 mL'lik besiyeri ortamı ile yıkandı. Bu hücreleri Tripkan mavisi ile boyayarak Neubauer lamında mikroskopta hücrelerin canlılık durumuna bakıldı. Tripkan mavisi vital bir boya olduğundan canlı hücreler parlak, ölü hücreler ise maviye boyanmış olarak görünmektedir. Hücre canlılığına baktıktan sonra kalan kısım 75 cm²'lik hücre kültür erlenine aktarıldı.

Hücre besiyeri ortamı olarak DMEM içine, %20 Fetal sığır serumu, %1 L-Glutamin, %1 Pen-Streptomisin, %1 esansiyel olmayan aminoasit çözeltisi kullanıldı. Hücre kültür erleni, hücrelerin çoğalması için 37±0.5°C'de %5 CO₂ içeren inkübatörde inkübasyona bırakılıp, 48 saatte bir besiyeri ortamı tek kullanımlık pipetler ile değiştirildi ve hücreler mikroskop altında belirli aralıklarla incelendi.

Caco-2 hücrelerinin polikarbonat membran filtre üzerine ekimi, laminar hava akımlı kabin altında hücre kültür süspansiyonu besiyeri ortamıyla yapıldı. Pasajlama işlemine başlamadan önce laminar hava akımlı kabin hazır duruma getirildi. Kullanılacak tüm malzemeler ve kabin %70 alkolle temizlendi. pH 7.4 fosfat tampon çözeltisi ile hücrelerin bulunduğu tüm kısımları alacak şekilde kültür erleni yıkanıp, kapağı kapatıldı. Sonra inkübatörde 10 dakika bekletilip, fosfat tamponu kültür erleninden uzaklaştırılmıştır. Bu kültür erlenine 2.5 mL Tripsin-Etilen Diamin Tetra Asetik asit (Tripsin-EDTA) çözeltisi konup, 10 dakika inkübatörde bekletildi. Yüzeye yapışan hücrelerin yüzeyle bağlantıları kesilip DMEM eklenerek karışım tüpe alınıp santrifüj edildi. Üst kısım atılarak hücrelere 10 mL DMEM ortamı eklendi. DMEM eklenen hücreler hücre kültür erlenine eklenerek pasaj oluşturuldu. 24 saat sonra besiyeri ortamı yukarıdaki işlem sırasına göre değiştirildi. Daha sonra 48 saatte bir besiyeri ortamı yenilendi (Gündoğdu, 2009).

3.2.10.2. Caco-2 Hücrelerinin Polikarbonat Filtre Üzerine Ekimi

+4°C'de saklanan fosfat tampon çözeltisi (PBS), tripsin-EDTA çözeltisi ve hücre kültürü besiyeri 37°C'ye ulaşana kadar su banyosunda bekletildi. Laminar hava akımlı kabin altında açılan erlenden hücre kültürü süspansiyonu erlen tabanına değmeden

dikkatlice tek kullanımlık pipet yardımıyla uzaklaştırıldı. Erlenin içi 2 defa 10 mL PBS ile yıkanıp ve tripsin-EDTA çözeltisi ilave edilip, inkübatörde 10 dakika bekletilerek erlen yüzeyine tutunmuş haldeki hücrelerin erlen tabakasından ayrılması sağlandı. Her hücre kültür erleni için hesaplanan miktarda hücre kültürü besiyeri ilave edilip, bu hücre süspansiyonunun hepsi alınıp santrifüj tüpüne aktarıldı. 1200 rpm’de 5 dakika 25°C’de santrifüjlenip, çalışma kabini altında üstteki toplanan sıvı atılıp, 10 mL besiyeri ortamı ile tekrar süspande edildi. Elde edilen hücre süspansiyonundan, küçük cam pipetler ile hücreler alınıp, ışık mikroskobu altında tripan mavisi ile boyanarak hücre sayımı yapıldı. Her bir kültür kabı için 15 mL ortam gereklidir. Bu ortamın mL sinde 25 hücre olmalıdır. Hücre sayısı hesabı yapıldıktan sonra, 2 mL hücre süspansiyonu, hücre kültürü çalışmalarında kullanılmak üzere apikal kısımdaki polikarbonat filtreler üzerine ekildi (6 kuyucuklu plate, her bir kuyucuk 4.67 cm²). Bazolateral kısma da 2 mL besiyeri ortamı ilave edildi. Ekimden sonra 1. ve 2. günlerde ortam değiştirildi. Daha sonra, en az 21 gün boyunca Caco-2 hücrelerinin polikarbonat membran filtre üzerine tutunması için beklendi. Bu süre boyunca haftada 3 defa apikal ve bazolateral kısımlardaki besiyeri ortamı değiştirildi. Caco-2 hücrelerinin polikarbonat membran filtre üzerine tutunup tutunmadığı, permeabilite deneylerine başlamadan önce kültür kaplarındaki her bir kuyucuk içindeki TEER değerlerinin ölçülmesiyle belirlendi (Gündoğdu, 2009).

3.2.10.3. Valsartanın Caco-2 Hücrelerinden Permeabilite Çalışmaları

Caco-2 hücrelerinin ekilip, polikarbonat membran filtre üzerine tutunması sağlandıktan sonra permeabilite çalışmalarına başlandı. Caco-2 hücrelerinden geçiş çalışmaları; hazırlanan SEDD, S-SEDD, valsartan ve ticari preparat ile yapıldı. Önce apikal ve bazolateral kısımdaki besiyeri ortamları boşaltılıp, yeni besiyeri ortamı ile değiştirildi ve 37±0.5°C 50 rpm’deki inkübatörlü yatay çalkalayıcıya kültür kapları konuldu. 1 saat kadar sistemin dengeye gelmesi beklendi ve bu süre sonunda deney başlatıldı. Geçiş çalışmaları apikal yönden bazolateral yöne ve bazolateral yönden apikal yöne doğru yapıldı. Apikal yönden bazolateral yöne doğru yapılan geçiş çalışmaları için valsartan içeren 1.5 mL formülasyonun HBSS içindeki çözeltisi apikal kısma konuldu. Bazolateral kısma 2.6 mL HBSS ilave edildi. Bazolateral yönden apikal yöne doğru olan çalışmalar için valsartan içeren 2.6 mL formülasyonun HBSS içindeki çözeltisi bazolateral kısma; 1.5 mL HBSS çözeltisi apikal kısma ilave edildi. Tüm deneyler boyunca 0, 30, 60, 90 ve 120. dakika zamanlarında 200 µL örnek alındı.

HPLC’de analiz edilinceye kadar -20°C’de saklandı. Alınan örneklerden sonra ortamın hacmini sabit tutmak için 200 µL HBSS ilave edildi.

120. dakikada alınan final örneğinden sonra membranlar pens yardımıyla çıkartılıp, serum fizyolojik ile 3 defa yıkandı ve ependorfa koyuldu. Üzerine 200 µL fosfat tampon çözeltisi koyulup 1500 rpm de 10 dakika santrifüjlendi. Üstte kalan sıvı alındı (A_m). Daha sonra ependorfta kalan membran üzerine 200 µL metanol koyuldu (A_{OH}). Alınan bu örnekler HPLC’de analiz edilinceye kadar -20°C’de saklandı. Deneylerin sonunda zamana karşı kümülatif valsartan miktarları grafiğe geçirilip etkili permeabilite değeri Denklem 9 ile hesaplandı. Geçiş çalışmaları 3 paralel yapıldı. Etkili permeabilite apikal ve bazolateral kısımlar için hesaplandı (González-Alvarez et al., 2005; Gundogdu & Karasulu, 2012; Komin & Toral, 2009).

$$\frac{dQ/dt}{CoxAxt} = Papp \text{ (Denklem 10)}$$

Papp= Permeabilite (geçiş) Katsayısı

dQ/dt= İlacın Permeabilite (geçiş) Hızı

Co= İlacın Başlangıç Konsantrasyonu

A= Yüzey Alanı (4.67 cm²)

t= Zaman

3.2.10.4. Transepitelyal Elektrik Rezistans (TEER) Değerinin Ölçülmesi

Caco–2 hücrelerinin bütünlüğünün tespitinde kullanılan yöntemlerden biri de elektriksel direncin ölçülmesidir. Bu amaçla, çalışmada voltmetre denilen alet kullanılmıştır. Deneye başlamadan önce kültür kaplarının içindeki ortam boşaltılıp, içine 2 mL, dışına 3 mL HBSS eklendi. Bu işlem 3 defa yapıldı. Geçiş çalışması için 1mL 1 M HEPES içeren HBSS karışımı kullanıldı (1mL HEPES+99 mL HBSS). Önce TEER değeri boş kuyucuklarda 3 farklı yönde voltmetre ile ölçüldü. Deneyde kullanılacak kültür erlenlerinin TEER değerleri yine bu üç yönde ölçüldü ve en son deney bitiminde TEER değerleri ölçülüp iki ölçüm arasındaki fark değerlendirildi. Böylece hücrelerin bütünlüğü kontrol edildi.

3.2.10.5. Hücre Canlılığı ve Sitotoksisite Testi

Caco-2 hücrelerinin canlılığı üzerine lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistemlerin etkisi ve sitotoksitesini incelemek amacıyla, 1×10^4 hücre/mL konsantrasyondaki Caco-2 hücrelerinden 96 gözlü hücre kültürü kaplarına 100'er μL ekildi. Bu hücreler 24 saat 37°C 'de, %5 CO_2 'li ve rutubetli ortamda inkübe edildi. 24 saat sonunda 96 gözlü hücre kültürü kaplarındaki ortamlar atılarak sitotoksisite çalışmalarına başlandı. Önce hücreler 100 μL PBS ile yıkandı. Daha sonra farklı konsantrasyonlarda (10-1000 $\mu\text{g/mL}$) HBSS içinde çözündürülmüş etkin madde çözeltisi ve yeni hazırlanan lipid bazlı formülasyonlar 24, 48 ve 72 saat bekletildi. Bu süre sonunda hücre kültürü kaplarındaki her bir göze 100 μL MTT (3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) (5 mg/mL stok MTT/PBS çözeltisinden alınarak) ilave edilip 4 saat inkübasyona bırakıldı. Sitotoksisite testi yapılan örnekleri (etkin maddenin çözeltileri ve lipid bazlı formülasyonları) içeren ortamlar uzaklaştırılıp 100 μL DMSO, 96 gözlü hücre kültür kaplarının her bir kuyucuğuna eklendi. 96 gözlü hücre kültür kaplarının ilk sırası kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Hücre canlılığını test etmek için absorbans değerleri 570 nm'de ELISA mikroparka okuyuculu UV spektrofotometre (Thermo Vario Scan-FHA multiplate reader) ile okutulup değerlendirilmiştir. Hücre canlılığı Denklem 10 ile hesaplandı.

$$\left(\frac{T}{R}\right) * 100 = \text{Hücre Canlılığı (\%)} (\text{Denklem 11})$$

T: Test edilen örneklerden okunan absorbans değeri

R: Kontrol grubundan okunan absorbans değeri

Hücre canlılığı yüzdesi, %95'in üzerinde çıkarsa; uygulanan örneğin hücreler üzerinde sitotoksik olmadığı ifade edilir.

3.2.11. *In Vivo* Çalışmalar

3.2.11.1. Farmakokinetik ve Farmakodinamik Çalışmalar

Geliştirilecek olan valsartan içeren SEDD, S-SEDD ve miseller sistemlerinde yapılacak olan karakterizasyon, stabilite, *in vitro* salım ve permeabilite çalışmaları sonucu ideal olarak tespit edilen lipid formülasyon olan SEDD ile *in vivo* çalışmalara geçilmiştir. (Bu çalışma için E.Ü. Deney Hayvanları Etik Kuruluna ait 22.02.2017 tarih ve 2017-003 sayılı izin belgesi alınmıştır.)

3.2.11.1.1. Farmakokinetik Çalışmalar

Geliştirilen lipid bazlı SEDD ve ticari formülasyonun farmakokinetik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla “Hayvanlarda Farmakokinetik Çalışmaların Yönetimi” başlıklı kılavuz takip edilmiştir (EMA, Hayvanlarda Farmakokinetik Çalışmaların Uygulanması Yönetimi Kılavuzu, 1992).

Her iki cinsten olacak şekilde sağlıklı Wistar albino sıçanlarda (250-300 gram) çalışıldı. Çalışmadan bir gece önce hayvanlar aç bırakılıp sadece su takviyesi yapıldı. Çalışma sırasında sıçanlara anestezi uygulanmadı.

Formülasyonun farmakokinetik parametreleri, tek doz olacak şekilde per oral (64 mg/kg) (Yan et al., 2012) uygulamalarını takiben, 2 grup olarak incelenmiştir.

1. Grup: Ticari formülasyon (64 mg/kg olacak şekilde serum fizyolojikte süspande edildi.)
2. Grup: Geliştirilen lipid bazlı formülasyon (64 mg/kg olacak şekilde verildi.)

Sıçanlara formülasyon oral olarak gavaj yoluyla orogastrik sonda yardımıyla uygulanmıştır. Üzerine 200 µL su verilmiştir.

Formülasyonun vücuttaki dağılımını belirlemek için (Cmaks ve Tmaks öncesi en az 5 noktada ve sonrasında 24. saate kadar 5 noktada olmak üzere) toplamda 10 noktada kan örnekleme yapılmıştır (0., 0.5., 1., 2., 3., 4., 5., 7., 18. ve 24. saatlerde). Sıçanlardan kalp kanı alınmıştır. Çalışmada her bir zaman noktası için 4 sıçan kullanılmıştır. 2 grup için toplam 80 adet sıçanla çalışılmıştır. Belirlenen zaman aralıklarında kalp kanı örnekleri alınarak farmakokinetik hesaplamalar yapılmıştır (EAAson, EAAsonsuz, Cmaks ve Tmaks). Çalışmada alınan kan örnekleri; 100 µL/mL heparin içeren ependorflara konuldu. Daha sonra bu kan örnekleri 10000 rpm’de 10 dakika boyunca santrifüj edilip plazmaları ayrıldı ve plazma içindeki valsartanın miktarının bulunması için -20°C’de HPLC’de analiz edilene kadar saklandı. Plazmada valsartan tayin yöntemi olarak HPLC-UV cihazında literatürlere göre metot geliştirme ve validasyon çalışmaları yapıldı. Validasyon için gün içi ve günler arası doğruluk, kesinlik ve geri kazanım, stok çözelti kararlılığı, donma erime kararlılığı, dilüsyon doğruluğu, matriks etkisi LLOQ tayini yapılmıştır. İç standart olarak olmesartan kullanılmıştır (Perez, Farm, & Ramírez, 2007; Zarghi & Shafaati, 2008).

Farmakokinetik çalışmalar İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma-Uygulama Merkezi (ARGEFAR) Faz Öncesi Araştırmalar Birimi deney hayvanı laboratuvarında gerçekleştirildi. Etkin madde analizleri HPLC ile, Sağlık Bakanlığı TITCK'dan GCP/GLP onayı bulunan ARGEFAR Biyoanalitik biriminde yapılmıştır. Tüm Farmakokinetik analizlerde FDA onaylı ve Lisanslı SAS 9.2 TS Level 2M3 ve WinNonline 6.4 Connect 1.4 kullanılmıştır.

3.2.11.1.2. Farmakodinamik Çalışmalar

Antihipertansif etkinlik çalışmaları her iki cinsten 18 Wistar albino sıçanlarda (250-300 gram) gerçekleştirildi. Sıçanlar 3 gruba bölündü ve her grupta 6 sıçan olacak şekilde gruplandırıldı (A, B ve C) (n=6). Sıçanlar polipropilen kafeslerde, $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve $\%55\pm 5$ rölatif neme sahip standart laboratuvar koşullarında tutuldu. Hayvanların standart laboratuvar diyetine ve suya erişimi serbesttir. Çalışmaya başlamadan önce kan basıncındaki doğal sapmaları azaltmak için 30 dakikalık zaman diliminde 3-4 defa tutulacakları kafese konularak kan basınçları ayarlandı. Normal duruma ulaşıldıktan sonra, normal tansiyonlu hayvanların başlangıçtaki sistolik kan basıncı invazif olmayan küçük hayvan kuyruğu kan basıncı sistemi (SC1000 Single Channel System (Hatteras Instruments)) ile kaydedildi. Sıçanların başlangıç kan basıncı kaydedildikten sonra 3 grup sıçanda hipertansiyon oluşturmak üzere metil prednisolon asetat (20 mg/kg/hafta) iki hafta süreyle subkutanöz enjeksiyonu yapıldı. Hipertansiyon indüklendikten sonra A grubundaki hayvanlara kontrol grubu olarak herhangi bir tedavi uygulanmadı. B ve C grubundaki hayvanlara ticari formülasyon ve geliştirilen lipid bazlı formülasyon peroral olarak 64 mg/kg dozda verildi. Hayvanların ortalama sistolik kan basıncı ilaç uygulama sonrası belirlenen zaman aralıklarında (0-3-4. saatlerde) ölçüldü (Beg, Swain, Singh, Patra, & Rao, 2012).

Hipertansiyonlu sıçanlarda biyokimyasal parametreler (kanda glukoz ve serum sodyum ve potasyum düzeyleri, kreatinin, gama glutamil transpeptidaz, kolesterol, trigliserit konsantrasyonları ve ALT/ AST) (O'Shea et al., 2017) ticari farmasötik şekil ile geliştirilen lipid bazlı formülasyonda karşılaştırmalı olarak VetScan VS2 (Abaxis) cihazında ölçülmesi ile araştırıldı.

3.2.11.2. İstatiksel Değerlendirme

Farmakokinetik parametreler WinNonlin programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Tekrarlı ölçümlerde gruplar arasındaki farkı istatiksel olarak belirlemede T testi

kullanıldı. İn vitro salım profilleri değerlendirilmesinde F_2 benzerlik faktörü hesaplanarak karşılaştırma yapıldı.



Bulgular

4.1. Valsartanın Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

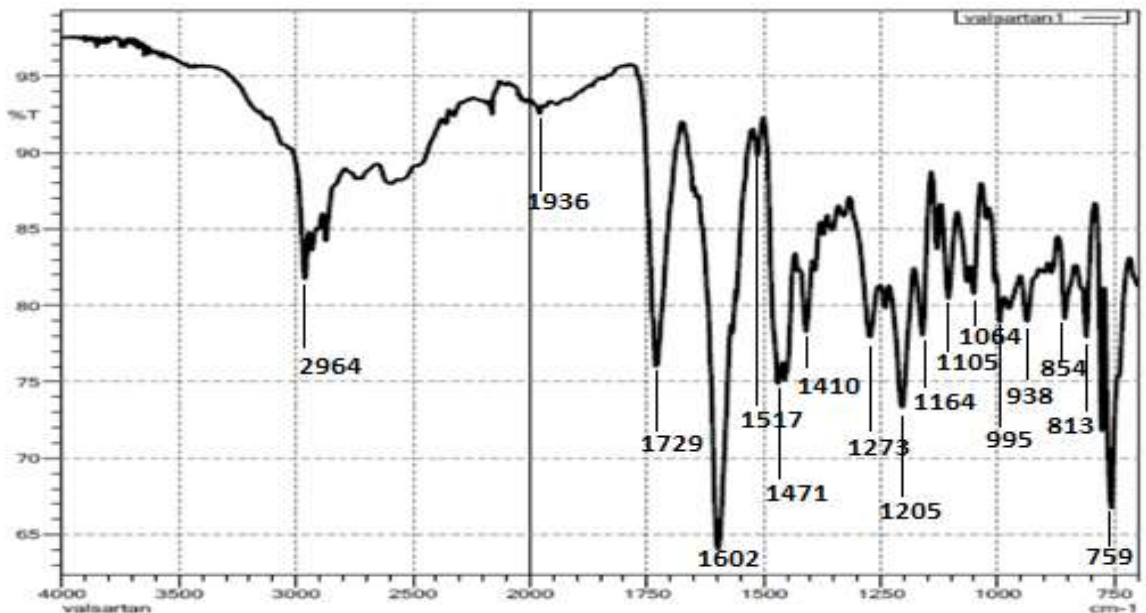
Valsartanın fizikokimyasal özellikleri, analiz sertifikası ile uyumlu bulunmuştur. Valsartan, pratikte suda çözünmeyen, etanol ve metanolde serbestçe çözünebilen, metilen klorürde kısmen çözünen beyaz ve higroskopik bir tozdur.

4.1.1. Valsartanın Lipid Su Partisyon Katsayısının Saptanması

Yöntem 3.2.1.1’de belirtildiği gibi, valsartanın partisyon katsayısını hesaplamak için çalkalama metodu kullanıldı. Valsartanın fazları eşit miktarda n-oktanol ve su içeren kaba konularak çalkalanarak çözüldürüldü. Her iki fazdan miktar tayini yapılarak oranlandı ve partisyon katsayısı 22.2 olarak belirlendi.

4.1.2. Valsartanın FT-IR Spektrumu

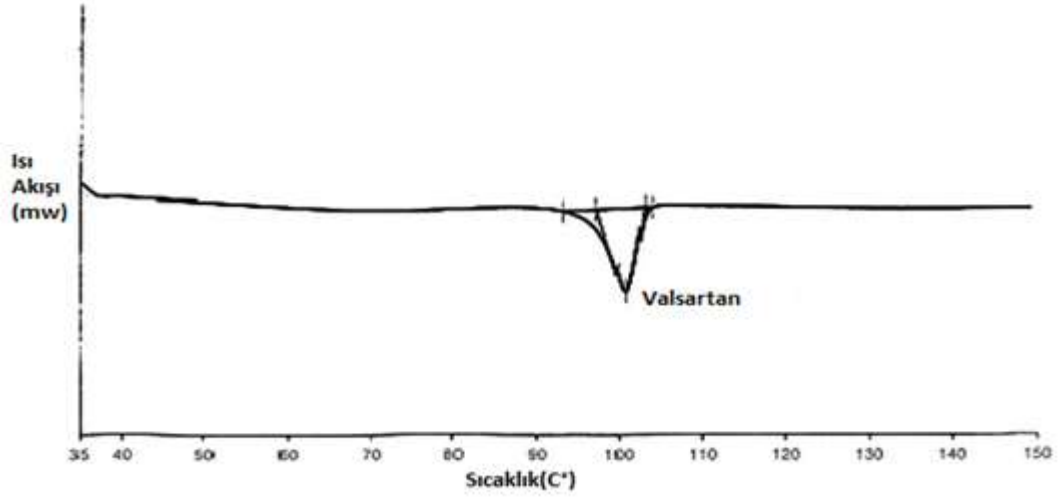
Yöntem 3.2.1.2’de belirtildiği gibi 100 mg Valsartan katı halde FT-IR spektrofotometrede 750-4000 cm^{-1} arasında tarama pik verdiği dalga boyları belirlendi (Şekil 2).



Şekil 2: Valsartanın FT-IR spektrumu

4.1.3. Valsartanın Erime Derecesi Tayini

Yöntem 3.2.1.3'te belirtildiği gibi valsartanın erime derecesi analizi yapılmış ve 104°C 'de verdiği keskin karakteristik pik bulunmuştur (Şekil 3).



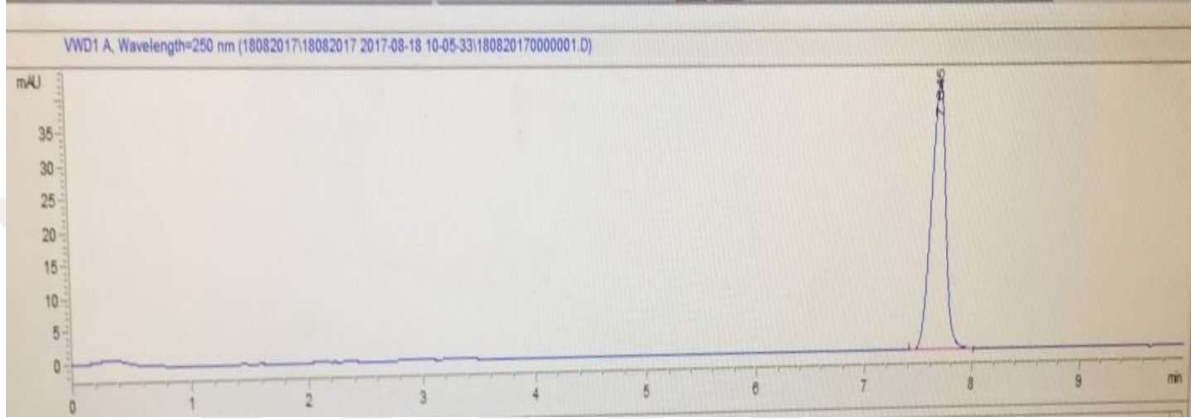
Şekil 3 : Valsartanın DSC Termogramı

4.2. Valsartan Miktar Tayin Yöntemi Geliştirilmesi

Yöntem 3.2.2'de belirtildiği gibi Valsartan miktar tayini yöntemi geliştirilmesi için HPLC cihazında, UV dedektörde, 247, 250, 265 nm dalga boylarında çalışıldı. Metot geliştirme çalışmalarında, Zorbax® XDB C18 (150 mm×4.6 mm, 5 µm) ve Zorbax® SB C18 (150 mm×4.6 mm, 3.5 µm) kolonlarında denemelerde bulunuldu. Mobil faz olarak asetonitril: fosfat tamponu (55:45) pH 2.7 (Trifluoro asetik asit ile) ve akış hızı 1 mL/dakika olarak çalışıldı. Bunların sonucu olarak HPLC miktar tayini yöntemi; Kolon: Zorbax SB C18 SN USEG021354 4.6×150 mm, 3.5 µm, Akış Hızı: 1 mL/min, Çözücü: Mobil Faz, Mobil Faz: Fosfat Tamponu (pH: 2.7) / Asetonitril (55:45 v/v), Enjeksiyon Hacmi: 10 µL, Sıcaklık: 25°C, Dalga Boyu: 250 nm olarak belirlendi.

4.2.1. Valsartanın Miktar Tayini İçin Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi

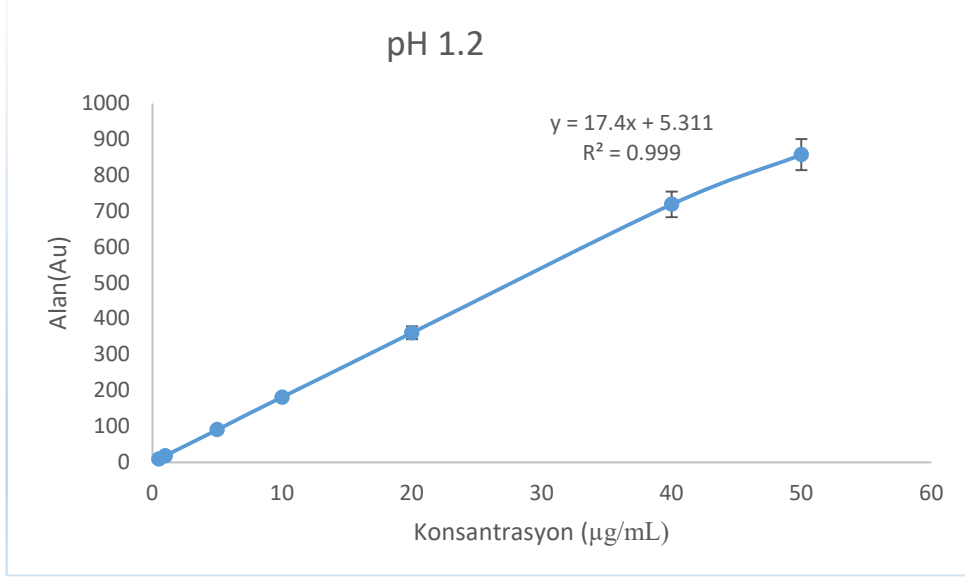
Valsartan alıkonma zamanı 7.6 dakika olarak belirlenmiştir. Toplam analiz süresi 10 dakikadır. Boş yapılan mobil faz enjeksiyonunda Valsartanın alıkonması gereken sürede herhangi bir pik gözlenmemiştir (Şekil 4).



Şekil 4 : pH 6.8 ortamında Valsartanın HPLC pik görüntüsü.

4.2.1.1. Valsartanın pH 1.2 Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi

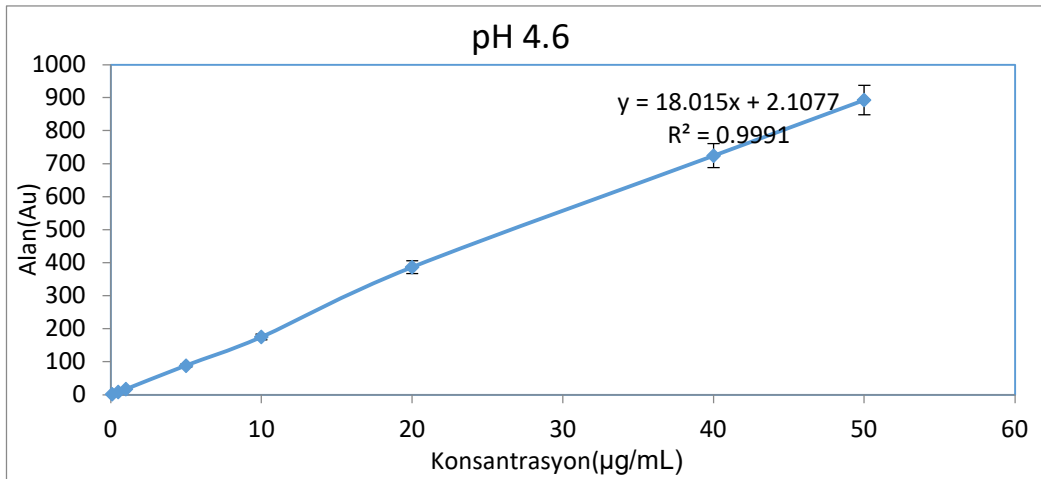
Yöntem 3.2.2.1.1'de belirtildiği gibi valsartan pH 1.2 ortamında çözünmediği için önce 1 mL metanolde çözündürülüp 10 mL'ye pH 1.2 ortamıyla tamamlandı. Mobil faz ile seyreltilerek 0.5, 1, 5, 10, 20, 40, 50 µg/mL derişimlerinde 7 seri çözelti hazırlanarak HPLC'de analiz edildi (Şekil 5).



Şekil 5 : pH 1.2 Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi

4.2.1.2.Valsartanın pH 4.6 Ortamında Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi

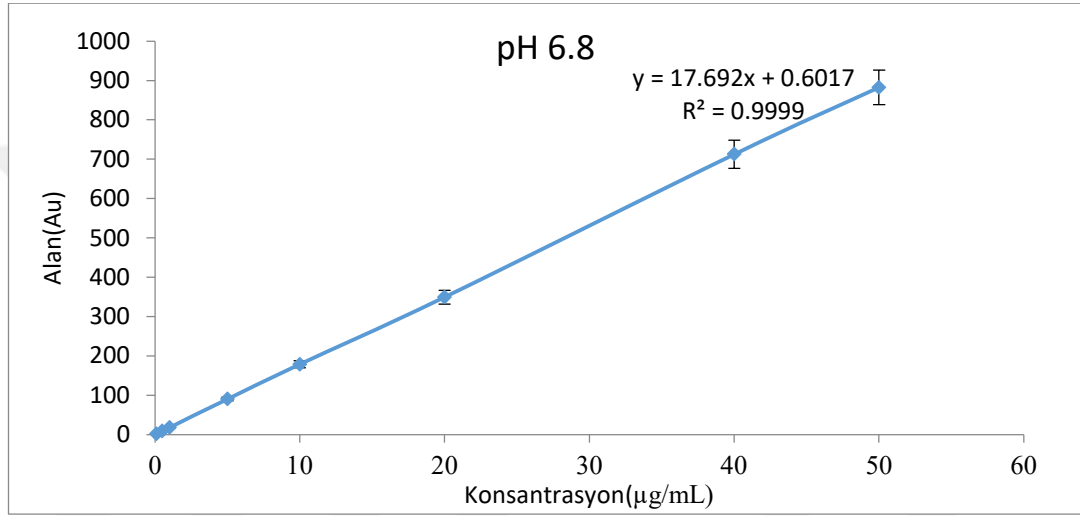
Yöntem 3.2.2.1.2’de belirtildiği gibi valsartanın pH 4.6 ortamı ile 100 µg/mL derişiminde stok çözeltisi hazırlandı. Mobil faz ile seyreltilerek 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20, 40, 50 µg/mL derişimlerinde 8 seri çözelti hazırlanarak HPLC’de analiz edildi (Şekil 6).



Şekil 6 : pH 4.6 Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi.

4.2.1.3.Valsartanın pH 6.8 Ortamında Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi

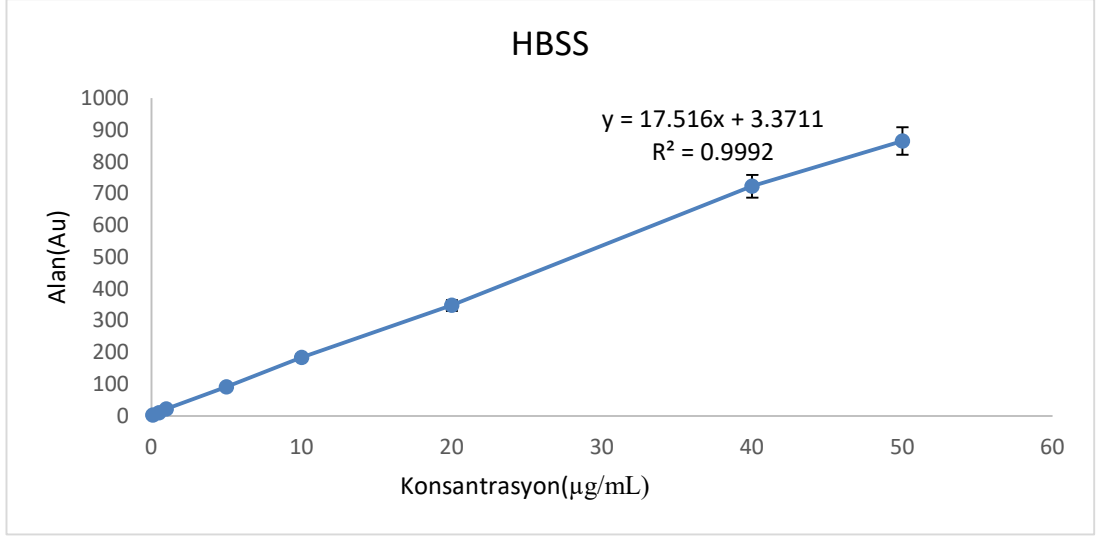
Yöntem 3.2.2.1.3’de belirtildiği gibi valsartanın pH 6.8 ortamı ile 100 µg/mL derişiminde stok çözeltisi hazırlandı. Mobil faz ile seyreltilerek 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20, 40, 50 µg/mL derişimlerinde 8 seri çözelti hazırlanarak HPLC’de analiz edildi (Şekil 7).



Şekil 7 : pH 6.8 Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi.

4.2.1.4.Valsartanın HBSS Ortamında Kalibrasyon Eğrisinin Çizimi

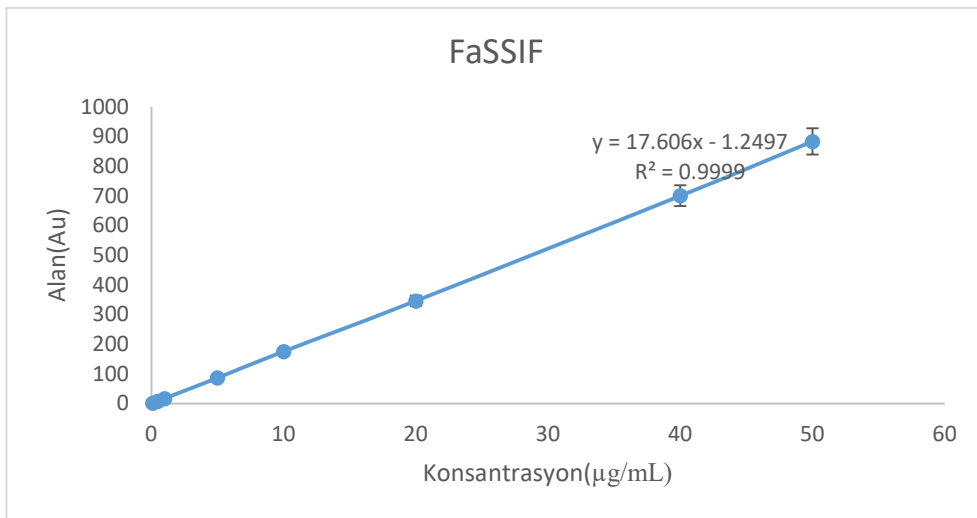
Yöntem 3.2.2.1.4’de belirtildiği gibi valsartanın HBSS ile 100 µg/mL derişiminde stok çözeltisi hazırlandı. Mobil faz ile seyreltilerek 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20, 40, 50 µg/mL derişimlerinde 8 seri çözelti hazırlanarak HPLC’de analiz edildi (Şekil 8).



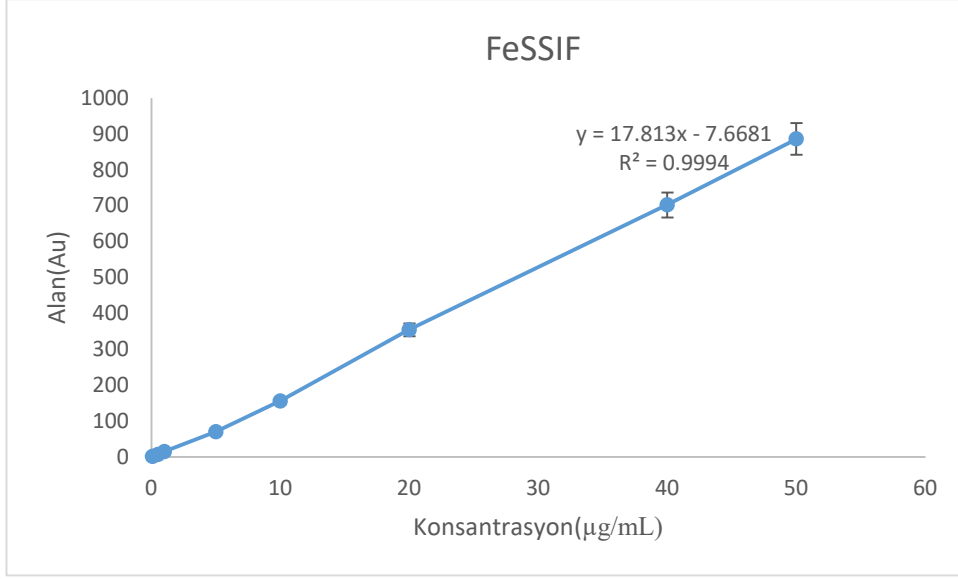
Şekil 8 : HBSS Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi.

4.2.1.5. Açlık Tokluk Ortamlarında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi

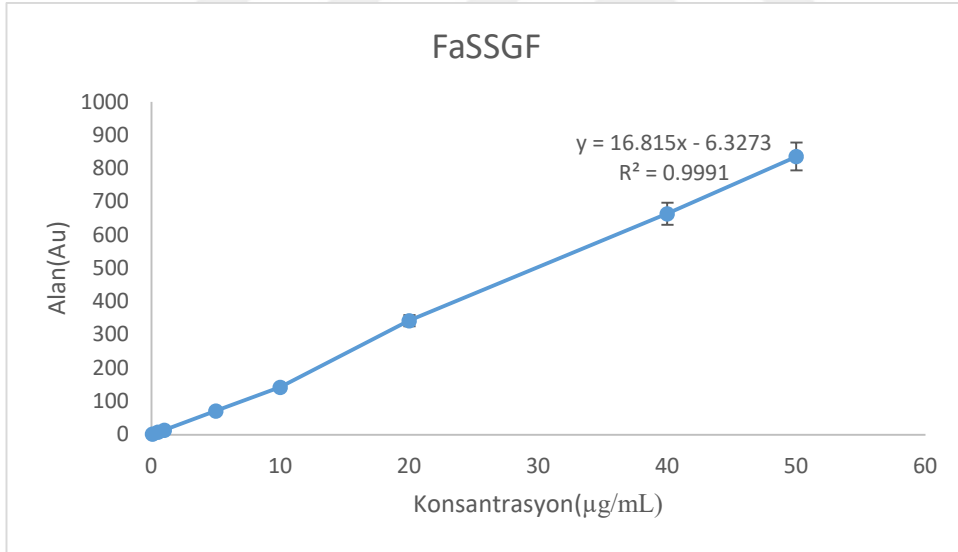
Yöntem 3.2.2.1.5’de belirtildiği gibi valsartanın FaSSIF, FeSSIF, FaSSGF ortamları ile 100 $\mu\text{g/mL}$ derişiminde stok çözelti hazırlandı. Mobil faz ile seyreltilerek 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20, 40, 50 $\mu\text{g/mL}$ derişimlerinde 8 seri çözelti hazırlanarak HPLC’de analiz edildi (Şekil 9, 10, 11).



Şekil 9 : FaSSIF Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi.



Şekil 10 : FeSSIF Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi.



Şekil 11 : FaSSGF Ortamında Kalibrasyon Eğrisi Çizimi.

Bu ortamlarda kısa bir validasyon yapılmıştır. Doğrusallık parametresi için r^2 değerleri FaSSIF, FeSSIF, FaSSGF için sırasıyla 0.9999, 0.9994, 0.9991 olarak bulunmuştur. Seçicilik parametresinde her üç ortam için çözücü pikinin altında herhangi bir pik

gözelemedi. Çalışma aralığı parametresi için her üç ortamda 4 µg/mL (%10) ve 50 µg/mL (%125) derişimlerde 6 enjeksiyon verildiğinde etkin madde pik alanları arasındaki RSD %2'den küçük bulunmuştur. Her üç ortamda yüzde geri kazanımlar hesaplandı ve %98'den büyük bulundu. Kesinlik parametresi için valsartanın 40µg/mL'lik (%100) derişimdeki çözeltisinden 6 defa ard arda enjeksiyonlar yapıp, elde edilen alan değerlerine karşılık rölatif standart sapmaları %2'den küçük bulunmuştur.

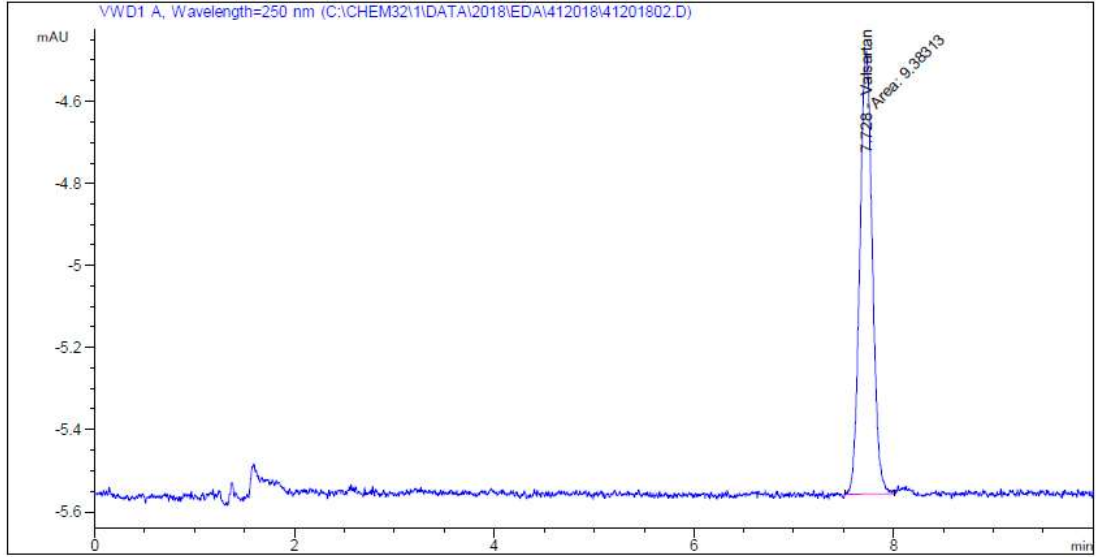
4.3. Analitik Yöntem Validasyonu

4.3.1.Doğrusallık

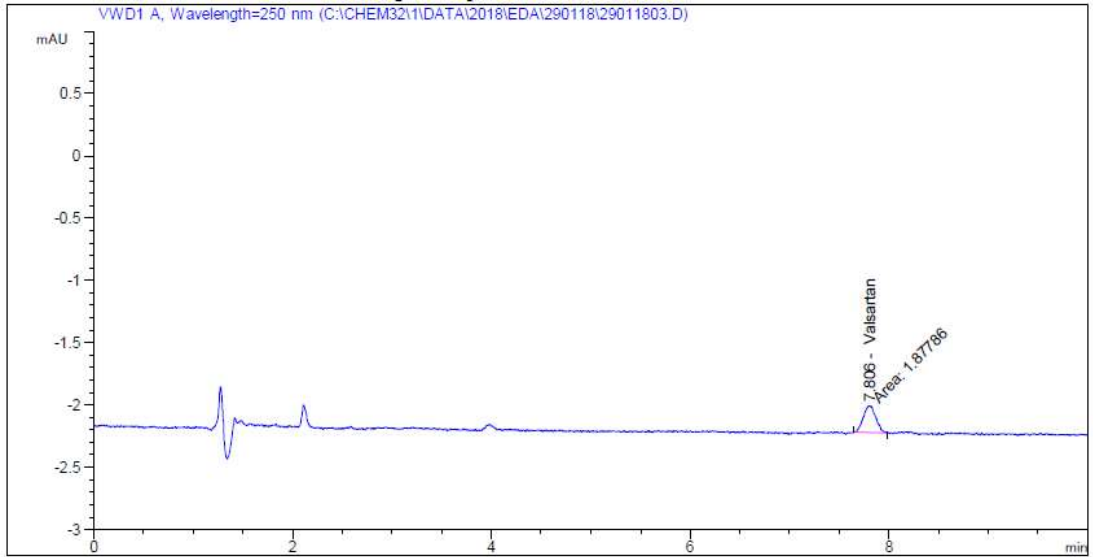
Yöntem 3.2.3.1'de belirtildiği gibi kullanılan analitik yöntemin doğrusallığını göstermek amacıyla pH 1.2, pH 4.6 pH 6.8 ve HBSS ortamlarında valsartanın 200 µg/mL stok çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltisinden farklı oranlarda seyreltme yapılarak pH 1.2 için 7 farklı (0.5 ,1, 5, 10, 20, 40, 50 µg/mL), diğer ortamlar için 8 farklı konsantrasyonda (0.1, 0.5 ,1, 5, 10, 20, 40, 50 µg/mL) çözeltiler elde edildi. Bu çözeltilerden elde edilen her konsantrasyon ve karşılık gelen alan değerleri yardımıyla standart doğrunun denklemi bulundu r^2 değerleri sırasıyla pH 1.2 için 0.999, pH 4.6 için 0.9991, pH 6.8 için 0.9999 ve HBSS için 0.9992 olarak belirlendi.

4.3.2.Seçicilik

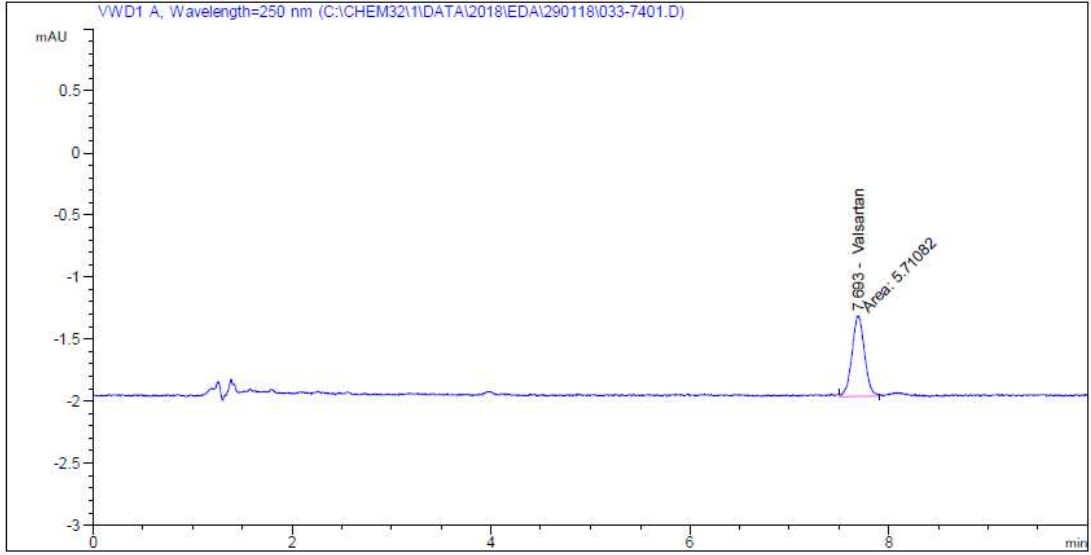
Yöntem 3.2.3.2'de belirtildiği gibi seçicilik, yöntemin sadece analiz edilmek istenen maddeye özgün olması ya da numune içerisinde safsızlıklar, yardımcı maddeler ya da bozunma ürünleri varlığında analiz edilmek istenen maddenin doğru bir şekilde saptanmasıdır. Bu amaçla Valsartan içeren numune ve içermeyen numune enjeksiyonu yapıldı. pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8 ve HBSS çözücünde, etkin madde pikinin altında herhangi bir pik yoktur. Etkin madde piki pH 1.2'de 7.7, pH 4.6'da 7.8, pH 6.8'de 7.7 ve HBSS yaklaşık 7.6 dakikada gelmektedir (Şekil 12-15).



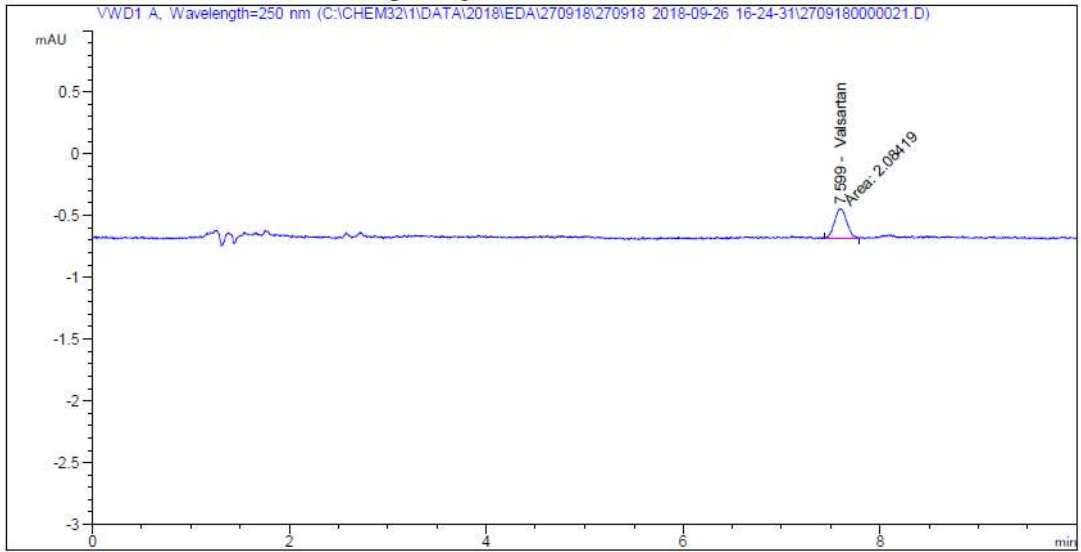
Şekil 12: Valsartanın pH 6.8’de HPLC kromatogramı.



Şekil 13: Valsartanın pH 4.6’da HPLC kromatogramı.



Şekil 14: Valsartanın pH 1.2’de HPLC kromatogramı.



Şekil 15: Valsartanın HBSS’de HPLC kromatogramı.

4.3.3.Çalışma Aralığı

Yöntem 3.2.3.3’de belirtildiği gibi çalışma aralığı için, 40 µg/mL derişimi %100 derişim olarak belirlenmiştir. pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8, HBSS ortamlarında 4 µg/mL

(%10) ve 50 µg/mL (%125) derişimlerde 6 enjeksiyon verildiğinde etkin madde pik alanları arasındaki RSD %2'den küçüktür (Tablo 2-5).

Tablo 2 : pH 1.2' de çalışma aralığı sonuçları

| | Alan (Au) | Ortalama | Standart sapma | RSD (%) |
|-----------------|----------------------|-----------------|---------------------------|--------------------|
| 4 µg/mL | 21.8 | 21.78 | 0.041 | 0.654 |
| | 21.8 | | | |
| | 21.8 | | | |
| | 21.7 | | | |
| | 21.8 | | | |
| | 21.8 | | | |
| 50 µg/mL | 302.6 | 302.6 | 0.219 | 0.143 |
| | 302.4 | | | |
| | 302.4 | | | |
| | 302.6 | | | |
| | 302.6 | | | |
| | 303 | | | |

Tablo 3 : pH 4.6'da çalışma aralığı sonuçları

| | Alan (Au) | Ortalama | Standart Sapma | RSD (%) |
|----------------|----------------------|-----------------|---------------------------|--------------------|
| 4µg/mL | 71.4 | 71.51 | 0.893 | 1.249 |
| | 70.9 | | | |
| | 71.9 | | | |
| | 73.1 | | | |
| | 70.6 | | | |
| | 71.2 | | | |
| 50µg/mL | 893.5 | 893.88 | 0.556 | 0.062 |
| | 893.2 | | | |
| | 893.7 | | | |
| | 894.6 | | | |
| | 893.8 | | | |
| | 894.5 | | | |

Tablo 4 : pH 6.8'de çalışma aralığı sonuçları

| | Alan (Au) | Ortalama | Standart Sapma | RSD (%) |
|---------|--------------|----------|-------------------|------------|
| 4 µg/mL | 118 | 119.63 | 13.048 | 0.654 |
| | 120.6 | | | |
| | 119.4 | | | |
| | 118.2 | | | |
| | 120.6 | | | |
| | 121 | | | |
| 50µg/mL | 884.2 | 883.46 | 12.628 | 0.143 |
| | 883.2 | | | |
| | 881.1 | | | |
| | 884.5 | | | |
| | 883.5 | | | |
| | 884.3 | | | |

Tablo 5 : HBSS'de çalışma aralığı sonuçları

| | Alan (Au) | Ortalama | Standart Sapma | RSD (%) |
|---------|--------------|----------|-------------------|------------|
| 4µg/mL | 69.8 | 70.066 | 0.903 | 1.288 |
| | 69.8 | | | |
| | 69.7 | | | |
| | 69.6 | | | |
| | 69.6 | | | |
| | 71.9 | | | |
| 50µg/mL | 866.6 | 867.65 | 113.446 | 0.131 |
| | 866 | | | |
| | 867.8 | | | |
| | 869 | | | |
| | 868.1 | | | |
| | 868.4 | | | |

4.3.4.Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirlik

Yöntem 3.2.3.4'de belirtildiği gibi pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8, HBSS ortamlarında 3 farklı konsantrasyonda 0.5µg/mL (%1.25), 4 µg/mL (%10), 40 µg/mL (%100) hazırlanıp 6

enjeksiyon verilerek absorbands değerleri ölçüldü. Bu absorbands değerlerine karşılık gelen konsantrasyon miktarları bulundu ve yüzde geri kazanım hesaplandı (Tablo 6-9).

Tablo 6 : pH 1.2’de 3 farklı konsantrasyonda absorbands değerleri ve yüzde geri kazanım değerleri

| | Alan (Au) | Ortalama | Standart Sapma | RSD (%) | Derişim (µg/mL) | Yüzde Geri Kazanım (%) |
|-----------------|-----------|----------|----------------|---------|-----------------|------------------------|
| 0.5µg/mL | 2.7 | 2.733 | 0.052 | 1.89 | 0.492 | 98.4 |
| | 2.8 | | | | | |
| | 2.7 | | | | | |
| | 2.7 | | | | | |
| | 2.7 | | | | | |
| | 2.8 | | | | | |
| 4µg/mL | 21.8 | 21.783 | 0.041 | 0.654 | 3.922 | 98.041 |
| | 21.8 | | | | | |
| | 21.8 | | | | | |
| | 21.7 | | | | | |
| | 21.8 | | | | | |
| | 21.8 | | | | | |
| 40µg/mL | 238.9 | 239.55 | 2.182 | 0.911 | 39.512 | 98.778 |
| | 241.5 | | | | | |
| | 238 | | | | | |
| | 240.8 | | | | | |
| | 241.8 | | | | | |
| | 236.3 | | | | | |

Tablo 7 : pH 4.6'da 3 farklı konsantrasyonda absorbans değerleri ve yüzde geri kazanım değerleri

| | Alan (Au) | Ortalama | Standart Sapma | RSD (%) | Derişim ($\mu\text{g/mL}$) | Yüzde Geri Kazanım (%) |
|---------------------------------------|-----------|----------|----------------|---------|------------------------------|------------------------|
| 0.5$\mu\text{g/mL}$ | 8.9 | 9 | 0.089 | 0.994 | 0.497 | 99.4 |
| | 9.1 | | | | | |
| | 8.9 | | | | | |
| | 9 | | | | | |
| | 9.1 | | | | | |
| | 9 | | | | | |
| 4 $\mu\text{g/mL}$ | 71.9 | 72.383 | 0.286 | 0.395 | 3.901 | 97.523 |
| | 72.3 | | | | | |
| | 72.7 | | | | | |
| | 72.6 | | | | | |
| | 72.3 | | | | | |
| | 72.5 | | | | | |
| 40 $\mu\text{g/mL}$ | 713.8 | 714.13 | 3.013 | 0.422 | 39.524 | 98.81 |
| | 714.8 | | | | | |
| | 710.3 | | | | | |
| | 719.4 | | | | | |
| | 713.9 | | | | | |
| | 712.6 | | | | | |

Tablo 8 : pH 6.8’de 2 farklı konsantrasyonda absorbans değerleri ve yüzde geri kazanım değerleri

| | Alan (Au) | Ortalama | Standart Sapma | RSD (%) | Derişim (µg/mL) | Geri kazanım (%) |
|-----------------|-----------|----------|----------------|---------|-----------------|------------------|
| 0.5µg/mL | 9.4 | 9.433 | 0.052 | 0.055 | 0.52 | 104 |
| | 9.4 | | | | | |
| | 9.5 | | | | | |
| | 9.5 | | | | | |
| | 9.4 | | | | | |
| | 9.4 | | | | | |
| 4 µg/mL | 71.2 | 71.63 | 0.0643 | 0.653 | 4.009 | 100.23 |
| | 72.8 | | | | | |
| | 71.5 | | | | | |
| | 71.3 | | | | | |
| | 71 | | | | | |
| | 71.4 | | | | | |
| 40 µg/mL | 721.7 | 715 | 5.731 | 0.801 | 40.379 | 100.949 |
| | 707.9 | | | | | |
| | 714.2 | | | | | |
| | 721.5 | | | | | |
| | 709.9 | | | | | |
| | 714.8 | | | | | |

Tablo 9 : HBSS’de 2 farklı konsantrasyonda absorbans değerleri ve yüzde geri kazanım değerleri

| | Alan (Au) | Ortalama | Standart Sapma | RSD (%) | Derişim (µg/mL) | Yüzde Geri Kazanım (%) |
|-----------------|-----------|----------|----------------|---------|-----------------|------------------------|
| 0.5µg/mL | 8.7 | 8.65 | 0.084 | 0.97 | 0.494 | 98.8 |
| | 8.7 | | | | | |
| | 8.6 | | | | | |
| | 8.5 | | | | | |
| | 8.7 | | | | | |
| | 8.7 | | | | | |
| 4 µg/mL | 69.8 | 70.066 | 0.902 | 1.289 | 3.807 | 95.192 |
| | 69.8 | | | | | |
| | 69.7 | | | | | |
| | 69.6 | | | | | |
| | 69.6 | | | | | |
| | 71.9 | | | | | |
| 40 µg/mL | 690.8 | 687.016 | 2.683 | 0.391 | 39.03 | 97.57 |
| | 686 | | | | | |
| | 684.6 | | | | | |
| | 683.9 | | | | | |
| | 689.2 | | | | | |
| | 687.6 | | | | | |

4.3.5.Kesinlik

Yöntem 3.2.3.5’de belirtildiği gibi pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8 ve HBSS ortamlarında Valsartanın 40µg/mL’lik (%100) derişimdeki çözeltisinden 6 defa ard arda enjeksiyonlar yapıp, elde edilen alan değerlerine karşılık gelen derişimlerin ortalaması, standart sapma ve rölatif standart sapması hesaplandı (Güven aralığı %15 olarak değerlendirildi.) (Tablo 10-13).

Tablo 10 : pH 1.2’de valsartanın 40 µg/mL’lik (%100) derişimdeki kesinlik bulguları.

| | Alan (Au) | Ortalama | Standart sapma | RSD (%) | Derişim (µg/mL) |
|----------------|------------------|-----------------|-----------------------|----------------|------------------------|
| 40µg/mL | 246.2 | 245.91 | 0.278 | 0.113 | 40.55 |
| | 246.1 | | | | |
| | 245.4 | | | | |
| | 245.9 | | | | |
| | 246 | | | | |
| | 245.9 | | | | |
| | 245.9 | | | | |

Tablo 11 : pH 4.6’da valsartanın 40 µg/mL’lik (%100) derişimdeki kesinlik bulguları.

| | Alan (Au) | Ortalama | Standart sapma | RSD (%) | Derişim (µg/mL) |
|----------------|------------------|-----------------|-----------------------|----------------|------------------------|
| 40µg/mL | 723.6 | 724.5667 | 0.665 | 0.092 | 40.07 |
| | 725.4 | | | | |
| | 724.1 | | | | |
| | 724.4 | | | | |
| | 724.8 | | | | |
| | 725.1 | | | | |
| | 725.1 | | | | |

Tablo 12 : pH 6.8’de valsartanın 40 µg/mL’lik (%100) derişimdeki kesinlik bulguları.

| | Alan (Au) | Ortalama | Standart sapma | RSD (%) | Derişim (µg/mL) |
|----------------|------------------|-----------------|-----------------------|----------------|------------------------|
| 40µg/mL | 713.5 | 713.15 | 0.339 | 0.047 | 40.27 |
| | 713.2 | | | | |
| | 712.5 | | | | |
| | 713.3 | | | | |
| | 713.2 | | | | |
| | 713.2 | | | | |
| | 713.2 | | | | |

Tablo 13 : HBSS’de valsartanın 40 µg/mL’lik (%100) derişimdeki kesinlik bulguları.

| | Alan (Au) | Ortalama | Standart Sapma | RSD (%) | Derişim (µg/mL) |
|----------------|----------------------|-----------------|---------------------------|--------------------|----------------------------|
| 40µg/mL | 685.2 | 684.7 | 0.93 | 0.14 | 38.89 |
| | 686 | | | | |
| | 684.3 | | | | |
| | 683.4 | | | | |
| | 684.1 | | | | |
| | 685.2 | | | | |

4.3.6.Çözelti Stabilitesi

Yöntem 3.2.3.6’de belirtildiği gibi pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8 ve HBSS ortamlarında 4µg/mL, 40µg/mL ile standart örnekler hazırlandı ve oda sıcaklığında cihaza enjekte edilip 90 dakika, 10 saat, 14 saat, 18 saatte enjeksiyonlar tekrarlandı. Bulunan konsantrasyonlar ile çözeltinin ne kadar stabil olduğu ortalama, standart sapma ve relatif standart sapma değerleriyle değerlendirildi (Tablo 14-21).

Tablo 14 : pH 1.2’de 4 µg/mL derişimde çözelti stabilite bulguları

| 4µg/mL | Alan (Au) | Derişim (µg/mL) | Ortalama | Standart Sapma | RSD (%) |
|----------------------|----------------------|----------------------------|-----------------|---------------------------|--------------------|
| 90 dakika | 21.8 | 3.924 | 3.935 | 0.009 | 0.239 |
| | 21.9 | 3.940 | | | |
| | 21.9 | 3.941 | | | |
| 10 saat | 22.1 | 3.973 | 3.984 | 0.019 | 0.474 |
| | 22.1 | 3.973 | | | |
| | 22.3 | 4.006 | | | |
| 14 saat | 22 | 3.957 | 3.989 | 0.033 | 0.819 |
| | 22.2 | 3.989 | | | |
| | 22.4 | 4.022 | | | |
| 18 saat | 22.1 | 3.973 | 3.984 | 0.019 | 0.474 |
| | 22.1 | 3.973 | | | |
| | 22.3 | 4.006 | | | |

Tablo 15 : pH 1.2’de 40 µg/mL derişimde çözeltili stabilite bulguları

| 40 µg/mL | Alan (Au) | Derişim (µg/mL) | Ortalama | Standart sapma | RSD (%) |
|-----------|-----------|-----------------|----------|----------------|---------|
| 90 dakika | 239.2 | 39.454 | 39.454 | 0.033 | 0.083 |
| | 239 | 39.421 | | | |
| | 239.4 | 39.487 | | | |
| 10 saat | 242 | 39.911 | 39.966 | 0.049 | 0.125 |
| | 242.6 | 40.01 | | | |
| | 242.4 | 39.977 | | | |
| 14 saat | 242.7 | 40.026 | 40.053 | 0.025 | 0.062 |
| | 243 | 40.075 | | | |
| | 242.9 | 40.059 | | | |
| 18 saat | 243.5 | 40.157 | 40.140 | 0.016 | 0.041 |
| | 243.3 | 40.124 | | | |
| | 243.4 | 40.141 | | | |

Tablo 16 : pH 4.6’da 4 µg/mL derişimde çözeltili stabilite bulguları

| 4µg/mL | Alan (Au) | Derişim (µg/mL) | Ortalama | Standart Sapma | RSD (%) |
|-----------|-----------|-----------------|----------|----------------|---------|
| 90 dakika | 70.9 | 3.819 | 3.819 | 0.005 | 0.145 |
| | 71 | 3.824 | | | |
| | 70.8 | 3.813 | | | |
| 10 saat | 71.8 | 3.868 | 3.872 | 0.003 | 0.083 |
| | 71.9 | 3.874 | | | |
| | 71.9 | 3.874 | | | |
| 14 saat | 72 | 3.879 | 3.889 | 0.009 | 0.218 |
| | 72.2 | 3.891 | | | |
| | 72.3 | 3.896 | | | |
| 18 saat | 72.3 | 3.896 | 3.894 | 0.003 | 0.083 |
| | 72.2 | 3.891 | | | |
| | 72.3 | 3.896 | | | |

Tablo 17 : pH 4.6'da 40 µg/mL derişimde çözeltili stabilite bulguları

| 40µg/mL | Alan (Au) | Derişim (µg/mL) | Ortalama | Standart Sapma | RSD (%) |
|------------------|------------------|------------------------|-----------------|-----------------------|----------------|
| 90 dakika | 710.6 | 39.328 | 39.379 | 0.046 | 0.117 |
| | 712.2 | 39.418 | | | |
| | 711.8 | 39.394 | | | |
| 10 saat | 720.2 | 39.861 | 39.840 | 0.019 | 0.049 |
| | 719.5 | 39.822 | | | |
| | 719.8 | 39.837 | | | |
| 14 saat | 722.9 | 40.011 | 40.003 | 0.018 | 0.045 |
| | 722.4 | 39.983 | | | |
| | 723 | 40.016 | | | |
| 18 saat | 723 | 40.016 | 40.014 | 0.014 | 0.035 |
| | 722.7 | 39.999 | | | |
| | 723.2 | 40.027 | | | |

Tablo 18 : pH 6.8'de 4 µg/mL derişimde çözeltili stabilitesi bulguları

| 4 µg/mL | Alan (Au) | Derişim (µg/mL) | Ortalama | Standart sapma | RSD (%) |
|------------------|------------------|------------------------|-----------------|-----------------------|----------------|
| 90 dakika | 72.7 | 4.075 | 4.073 | 0.003 | 0.080 |
| | 72.7 | 4.075 | | | |
| | 72.6 | 4.069 | | | |
| 10 saat | 73.8 | 4.137 | 4.129 | 0.006 | 0.158 |
| | 73.6 | 4.126 | | | |
| | 73.6 | 4.126 | | | |
| 14 saat | 73.8 | 4.137 | 4.135 | 0.003 | 0.079 |
| | 73.7 | 4.132 | | | |
| | 73.8 | 4.137 | | | |
| 18 saat | 73.8 | 4.137 | 4.147 | 0.009 | 0.208 |
| | 74 | 4.149 | | | |
| | 74.1 | 4.154 | | | |

Tablo 19 : pH 6.8'de 40 µg/mL derişimde çözeltili stabilitesi bulguları

| 40 µg/mL | Alan (Au) | Derişim (µg/mL) | Ortalama | Standart sapma | RSD (%) |
|----------------------|----------------------|----------------------------|-----------------|---------------------------|----------------|
| 90 dakika | 699.4 | 39.498 | 39.487 | 0.011 | 0.029 |
| | 699 | 39.475 | | | |
| 10 saat | 699.2 | 39.487 | 40.176 | 0.021 | 0.051 |
| | 711.8 | 40.199 | | | |
| | 711.3 | 40.171 | | | |
| 14 saat | 711.1 | 40.159 | 40.370 | 0.014 | 0.035 |
| | 715.1 | 40.385 | | | |
| | 714.8 | 40.368 | | | |
| | 714.6 | 40.357 | | | |
| 18 saat | 717.4 | 40.515 | 40.500 | 0.0173 | 0.043 |
| | 716.8 | 40.481 | | | |
| | 717.2 | 40.504 | | | |

Tablo 20 : HBSS'de 4 µg/mL derişimde çözeltili stabilitesi bulguları

| 4µg/mL | Alan (Au) | Derişim (µg/mL) | Ortalama | Standart Sapma | RSD (%) |
|----------------------|----------------------|----------------------------|-----------------|---------------------------|--------------------|
| 90 dakika | 70.9 | 3.855 | 3.855 | 0.006 | 0.148 |
| | 71 | 3.861 | | | |
| | 70.8 | 3.849 | | | |
| 10 saat | 71.8 | 3.907 | 3.910 | 0.003 | 0.084 |
| | 71.9 | 3.912 | | | |
| | 71.9 | 3.912 | | | |
| 14 saat | 72 | 3.918 | 3.927 | 0.009 | 0.222 |
| | 72.2 | 3.929 | | | |
| | 72.3 | 3.935 | | | |
| 18 saat | 72.3 | 3.935 | 3.933 | 0.003 | 0.0838 |
| | 72.2 | 3.929 | | | |
| | 72.3 | 3.935 | | | |

Tablo 21 : HBSS’de 40 µg/mL derişimde çözeltili stabilitesi bulguları

| 40µg/mL | Alan (Au) | Derişim (µg/mL) | Ortalama | Standart sapma | RSD (%) |
|-----------|-----------|-----------------|----------|----------------|---------|
| 90 dakika | 710.6 | 40.376 | 40.429 | 0.047 | 0.117 |
| | 712.2 | 40.467 | | | |
| | 711.8 | 40.445 | | | |
| 10 saat | 720.2 | 40.924 | 40.903 | 0.020 | 0.049 |
| | 719.5 | 40.884 | | | |
| | 719.8 | 40.901 | | | |
| 14 saat | 722.9 | 41.078 | 41.071 | 0.018 | 0.045 |
| | 722.4 | 41.049 | | | |
| | 723 | 41.084 | | | |
| 18 saat | 723 | 41.084 | 41.082 | 0.014 | 0.035 |
| | 722.7 | 41.067 | | | |
| | 723.2 | 41.095 | | | |

4.3.7.Duyarlılık ve Sapma Sınırı

Yöntem 3.2.3.7’de belirtildiği gibi, yöntemin saptayabildiği en küçük derişime sapma derişimi (Limit of Detection, LOD) denir. Bu derişim gürültü içerebildiğinden çok güvenli olmayabilir. Bu nedenle daha güvenilir olan derişime duyarlılık veya analiz sınırı (Limit of Quantification, LOQ) denir. Bunlar arasında istenilen doğruluğu sağlayan derişim her dört ortam için (pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8 ve HBSS) saptandı ve analitik yöntemin kantitatif tayin sınırı (duyarlılık sınırı) bulundu. Kullanılan yöntemde Valsartanın 0.1 µg/mL derişimine kadar analiz edilmiştir. Dört ortam için bulunan LOD ve LOQ değerleri Tablo 22’de verilmiştir.

Tablo 22 : pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8 ve HBSS ortamları için LOD ve LOQ değerleri

| | LOD | LOQ |
|--------|-------|-------|
| pH 1.2 | 0.07 | 0.21 |
| pH 4.6 | 0.027 | 0.081 |
| pH 6.8 | 0.031 | 0.103 |
| HBSS | 0.025 | 0.074 |

4.4. Formülasyon Çalışmaları

4.4.1. Formülasyonunda Yer Alabilecek Bileşenlerin Fizikokimyasal

Özelliklerinin İncelenmesi

Yöntem 3.2.4.1’de belirtildiği gibi lipid bazlı sistemlerin (SEDDS, miseller çözeltiler, S-SEDDS) geliştirilmesinde kullanılması planlanan bileşenlerin fizikokimyasal özellikleri incelenmiş ve analiz sertifikalarına uygun oldukları tespit edilmiştir (Tablo 23).

Tablo 23 : Kullanılması planlanan bileşenlerin incelenen özellikleri

| | Refraktif İndis | Viskozite (mPa.s) | Dansite (g/mL) |
|-----------------------------|-----------------|-------------------|----------------|
| Oleik Asit | 1.462 | 4.85 | 0.86 |
| Hint Yağı | 1.472 | 5.85 | 0.96 |
| İzopropil Miristat | 1.436 | 4.7 | 0.83 |
| Soya Yağı | 1.475 | 5.1 | 0.90 |
| PEG 600 | 1.468 | 6.2 | 1.20 |
| Etanol | 1.361 | 0.99 | 0.78 |
| Transcutol HP | 1.426 | 3.85 | 0.99 |
| İzopropil Alkol | 1.376 | 2.86 | 0.77 |
| Avicel pH 101 | 1.650 | - | 0.52 |
| Aerosil | 1.458 | - | 2.1 |
| HPMC | 1.511 | 4.2 | 1.24 |
| Capyrol 90 | 1.412 | 19 | 0.94 |
| Labrafil M 1944 CS | 1.425 | 74 | 0.95 |
| Span 80 | 1.478 | 1268 | 0.97 |
| Labrafil M 2125 CS | 1.434 | 75 | 0.94 |
| Plurol Oleique CC497 | 1.451 | 2890 | 1.1 |
| Tween 20 | 1.462 | 3.4 | 1.1 |
| Tween 80 | 1.471 | 420 | 1.05 |
| Cremophor EL | 1.469 | - | 1.03 |

4.4.2. Valsartanın Geliştirilecek Olan Lipid Bazlı Formülasyon Terkibinde Yer Alacak Bileşenlerinde Çözünürlüğünün Saptanması

Yöntem 3.2.4.2’de belirtildiği gibi valsartanın çözünürlüğü geliştirilecek olan SEDD, S-SEDD ve miseller sistemlerinin terkinde yer alacak bileşenlerde HPLC ile miktar

tayini yapılarak tespit edilmiştir ve en çok çözüdüğü yağ tipleri, YEM ve Y-YEM'ler belirlenmiştir. Bu çalışmada 2mL YEM, yağ ve YYEM içerisine aşırı doymuş dozda Valsartan ilave edildi. 200 rpm'de oda koşullarında 72 saat boyunca (çözünmesi devam edenler için 120 saat) karanlık ortamda çalkalayıcıya bırakıldı. 24.,48., 72. saat sonunda (çözünmesi devam edenler için 96. ve 120. saatlerde) karışım 25°C de 3000 rpm de 15 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan berrak çözeltiler alındı ve gerekli seyreltmeler yapılarak HPLC cihazında miktar tayinleri gerçekleştirildi (n=3). Elde edilen sonuçlara göre her bir bileşendeki çözünen valsartan miktarı Tablo 24'de verilmiştir.

Tablo 24 : Valsartanın farklı bileşenlerdeki çözünürlük miktarları

| Kullanılan Bileşenler | Valsartan Miktarı(mg/mL) |
|------------------------------|---------------------------------|
| Oleik Asit | 3.2±0.023 |
| Hint Yağı | 5.26±0.12 |
| Soya Yağı | 2.4±0.01 |
| İzopropil Miristat | 3.5±0.57 |
| Capyrol 90 | 19.79±0.89 |
| Labrafil M 1944 CS | 19.7±0.56 |
| Span 80 | 9.8±1.1 |
| Labrafil M 2125 CS | 21.65±1.35 |
| Plurololeique CC497 | 8.9±0.65 |
| Tween 20 | 32.45±0.87 |
| Tween 80 | 24.5±3.4 |
| Cremophor EL | 32.34±1.98 |
| PEG 600 | 93.43±5.2 |
| Etanol | 142.2±3.7 |
| Transcutol HP | 168.9±6.4 |
| İzopropil alkol | 174.7±4.5 |
| Distile su | 0.092±0.001 |
| pH 1.2 | 0.038±0.004 |
| pH 6.8 | 3.87±0.056 |

Tablo 24'e göre valsartanın en çok çözüdüğü bileşenler seçilerek formülasyon denemelerine başlanmıştır.

4.4.3.Lipid Bazlı Formülasyonların Üçgen Faz Diyagramları

SEDD sistemlerin terkininde yer alacak ve valsartanı en çok çözen bileşenler çözünlük çalışması sonucu belirlenmiştir. Yöntem 3.2.4.3'de belirtildiği gibi bu maddelerle formülasyon denemeleri yapılarak Mikroemülsiyon programı ile üçgen faz diyagramları çizildi (Ege et al., 2004). Bu diyagramların çizilmesinde titrasyon yöntemi kullanıldı. Yapılan çözünlük çalışmasına göre seçilen yağ, YEM ve YYEM ile uygun oranlarda SEDD sistemler hazırlanarak distile su ile titrasyon yapılmıştır. Bu maddeler ve oranlar Tablo 25-34'de belirtilmiştir.

Tablo 25 : Yapılan çözünlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları

| Formül Kodu | YEM/YYEM Oranı | Yağ (IPM) | YEM/YYEM (Capyrol90-Tween20 /PEG 600) | Titrasyonda Harcanan Su miktarı (mL) | Alan |
|-------------|----------------|-----------|---------------------------------------|--------------------------------------|-------|
| F1A | 1:0.5 | 0.25 | 9.75 | 1.28 | 54.51 |
| | | 0.5 | 9.5 | 1.20 | |
| | | 1.0 | 9.0 | 1.16 | |
| | | 1.5 | 8.5 | 0.67 | |
| | | 2.0 | 8.0 | 0.49 | |
| F1B | 1:1 | 0.25 | 9.75 | 1.66 | 85.46 |
| | | 0.5 | 9.5 | 1.45 | |
| | | 1.0 | 9.0 | 0.73 | |
| | | 1.5 | 8.5 | 0.11 | |
| | | 2.0 | 8.0 | 0.01 | |
| F1C | 1:1.5 | 0.25 | 9.75 | 1.76 | 52.9 |
| | | 0.5 | 9.5 | 0.97 | |
| | | 1.0 | 9.0 | 0.22 | |
| | | 1.5 | 8.5 | 0.01 | |
| | | 2.0 | 8.0 | 0.00 | |

Tablo 26 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları

| Formül Kodu | YEM/YYEM Oranı | Yağ (IPM) | YEM/YYEM (Capyrol 90-Tween20/IPA) | Titrasyonda Harcanan Su miktarı (mL) | Alan |
|-------------|----------------|-----------|-----------------------------------|--------------------------------------|--------|
| F2A | 1:1 | 0.25 | 9.8 | 8.58 | 154.34 |
| | | 0.50 | 9.5 | 7.51 | |
| | | 1.00 | 9.0 | 5.54 | |
| | | 1.50 | 8.5 | 3.90 | |
| | | 2.00 | 8.0 | 2.40 | |
| F2B | 1:1.5 | 0.25 | 9.75 | 9.90 | 119.14 |
| | | 0.50 | 9.5 | 9.34 | |
| | | 1.00 | 9.0 | 6.52 | |
| | | 1.50 | 8.5 | 4.64 | |
| | | 2.00 | 8.0 | 3.53 | |
| F2C | 1:2 | 0.25 | 9.75 | 12.54 | 128.43 |
| | | 0.50 | 9.5 | 10.20 | |
| | | 1.00 | 9.0 | 7.06 | |
| | | 1.50 | 8.5 | 5.10 | |
| | | 2.00 | 8.0 | 3.70 | |

Tablo 27 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları

| Formül Kodu | YEM/YYEM Oranı | Yağ (IPM) | YEM/YYEM (Labrafil M 2125-Tween 20/PEG 600) | Titrasyonda Harcanan Su miktarı (mL) | Alan |
|-------------|----------------|-----------|---|--------------------------------------|-------|
| F3A | 1:0.5 | 0.25 | 9.75 | 0.28 | 26.03 |
| | | 0.50 | 9.50 | 0.26 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 0.36 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 0.38 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 0.12 | |
| F3B | 1:1 | 0.25 | 9.75 | 0.53 | 33.76 |
| | | 0.50 | 9.50 | 0.43 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 0.45 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 0.62 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 0.22 | |
| F3C | 1:1.5 | 0.25 | 9.75 | 0.38 | 19.12 |
| | | 0.50 | 9.50 | 0.38 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 0.42 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 0.22 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 0.18 | |

Tablo 28 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları

| Formül Kodu | YEM/YYEM Oranı | Yağ (IPM) | YEM/YYEM (Labrafil M 2125-Tween 20/ IPA) | Titrasyonda Harcanan Su miktarı (mL) | Alan |
|-------------|----------------|-----------|--|--------------------------------------|-------|
| F4A | 1:1 | 0.25 | 9.75 | 0.95 | 8.43 |
| | | 0.50 | 9.50 | 0.87 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 0.94 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 0.82 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 0.80 | |
| F4B | 1:1.5 | 0.25 | 9.75 | 1.02 | 15.59 |
| | | 0.50 | 9.50 | 1.08 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 1.22 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 1.22 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 1.12 | |
| F4C | 1:2 | 0.25 | 9.75 | 1.02 | 29.44 |
| | | 0.50 | 9.50 | 1.11 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 1.32 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 1.40 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 1.43 | |

Tablo 29 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları

| Formül Kodu | YEM/YYEM Oranı | Yağ (IPM) | YEM/YYEM (Capyrol 90-Tween20 /NMP) | Titrasyonda Harcanan Su miktarı (mL) | Alan |
|--------------------|-----------------------|------------------|---|---|-------------|
| F5A | 1:0.5 | 0.25 | 9.75 | 2.21 | 22.82 |
| | | 0.50 | 9.50 | 1.80 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 1.36 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 1.26 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 1.24 | |
| F5B | 1:1 | 0.25 | 9.75 | 4.20 | 127.42 |
| | | 0.50 | 9.50 | 3.10 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 1.90 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 1.18 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 0.64 | |
| F5C | 1:1.5 | 0.25 | 9.75 | 3.90 | 117.09 |
| | | 0.50 | 9.50 | 2.79 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 1.40 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 0.74 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 0.43 | |

Tablo 30 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları

| Formül Kodu | YEM/YYEM Oranı | Yağ (IPM) | YEM/YYEM (Labrafil M 2125- Tween 20/NMP) | Titrasyonda Harcanan Su miktarı (mL) | Alan |
|-------------|----------------|-----------|--|--------------------------------------|-------|
| F6A | 1:0.5 | 0.25 | 9.75 | 0.13 | 10.77 |
| | | 0.50 | 9.50 | 0.19 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 0.10 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 0.04 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 0.02 | |
| F6B | 1:1 | 0.25 | 9.75 | 0.30 | 14.28 |
| | | 0.50 | 9.50 | 0.24 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 0.18 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 0.12 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 0.07 | |
| F6C | 1:1.5 | 0.25 | 9.75 | 0.44 | 22.97 |
| | | 0.50 | 9.50 | 0.39 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 0.26 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 0.14 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 0.08 | |

Tablo 31 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları

| Formül Kodu | YEM/YYEM Oranı | Yağ (Oleik Asit) | YEM/YYEM (Capyrol 90- Tween20/ NMP) | Titrasyonda Harcanan Su miktarı (mL) | Alan |
|-------------|----------------|------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|-------|
| F7A | 1:0.5 | 0.25 | 9.75 | 8.34 | 61.67 |
| | | 0.50 | 9.50 | 2.22 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 1.40 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 1.32 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 1.20 | |
| F7B | 1:1 | 0.25 | 9.75 | 8.51 | 126.8 |
| | | 0.50 | 9.50 | 5.92 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 2.42 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 1.71 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 1.39 | |
| F7C | 1:1.5 | 0.25 | 9.75 | 5.96 | 88.18 |
| | | 0.50 | 9.50 | 3.92 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 2.53 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 1.90 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 1.60 | |

Tablo 32 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları

| Formül Kodu | YEM/YYEM Oranı | Yağ (IPM) | YEM/YYEM (Capyrol 90-Tween20/Transcutol HP) | Titrasyonda Harcanan Su miktarı (mL) | Alan |
|-------------|----------------|-----------|---|--------------------------------------|--------|
| F8A | 1:0.5 | 0.25 | 9.75 | 50.00 | 227.82 |
| | | 0.50 | 9.50 | 50.00 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 25.00 | |
| | | 1.25 | 8.75 | 11.80 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 7.50 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 4.30 | |
| F8B | 1:1 | 0.25 | 9.75 | 50.00 | 295.63 |
| | | 0.50 | 9.50 | 50.00 | |
| | | 0.75 | 9.25 | 19.10 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 9.40 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 2.50 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 1.60 | |
| F8C | 1:1.5 | 0.25 | 9.75 | 50.00 | 208.39 |
| | | 0.50 | 9.50 | 50.00 | |
| | | 0.60 | 9.40 | 22.50 | |
| | | 0.75 | 9.25 | 3.60 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 2.90 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 2.60 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 1.50 | |

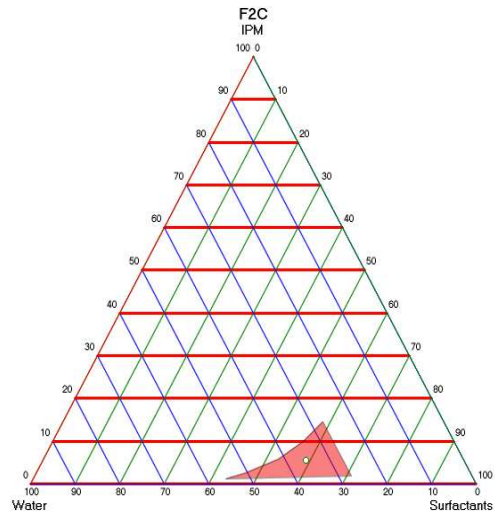
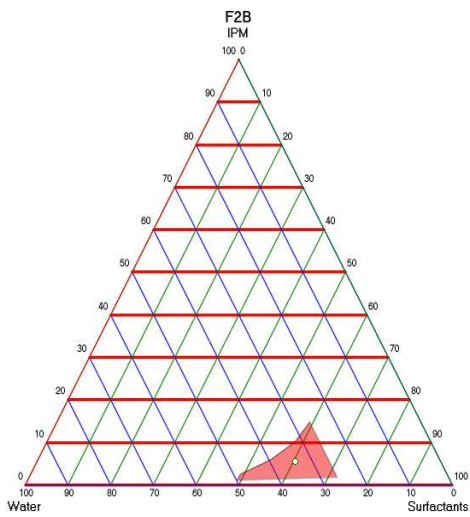
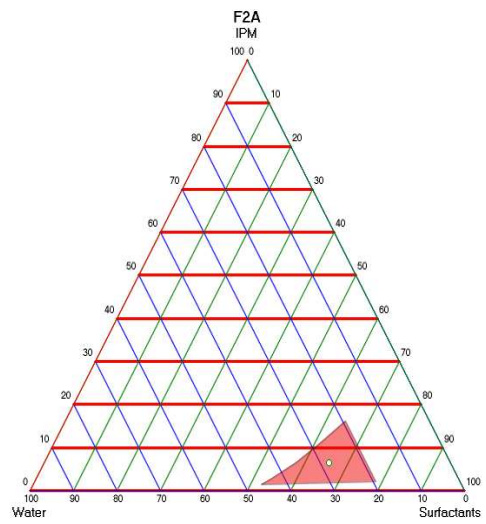
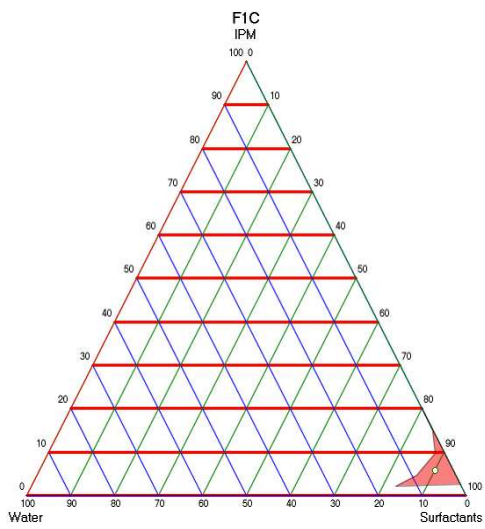
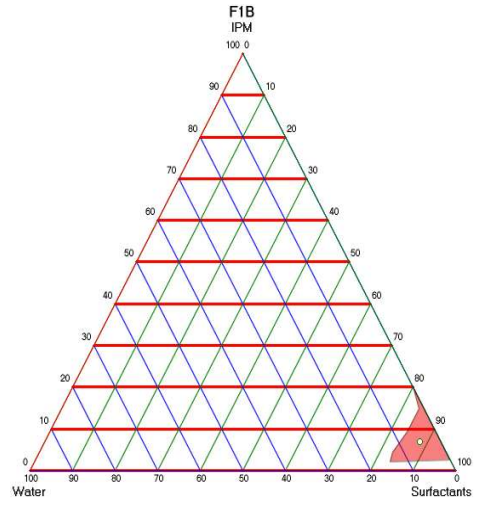
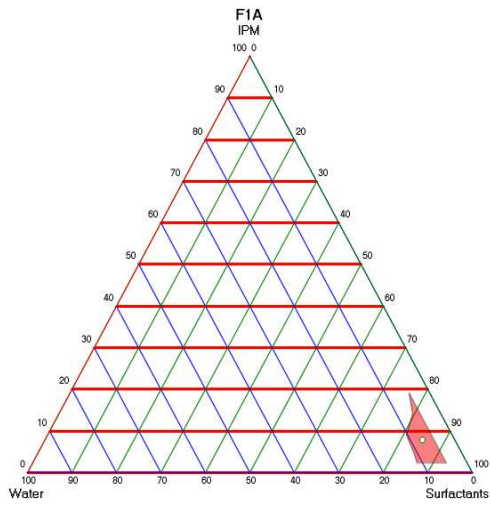
Tablo 33 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları

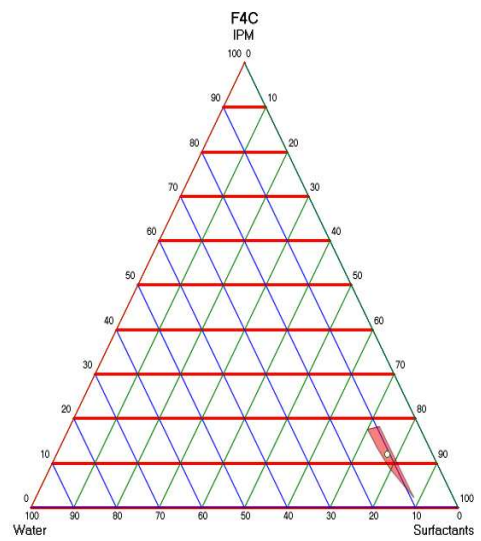
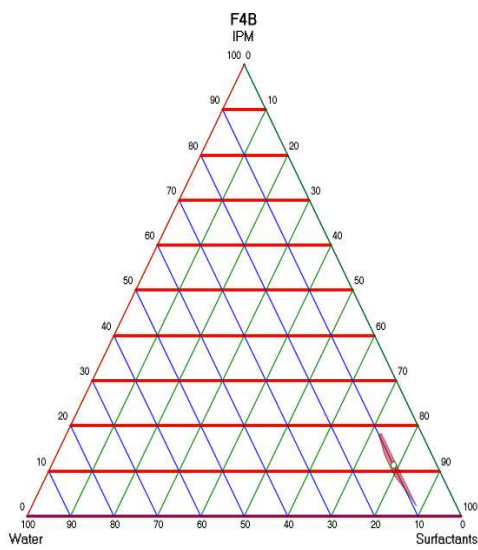
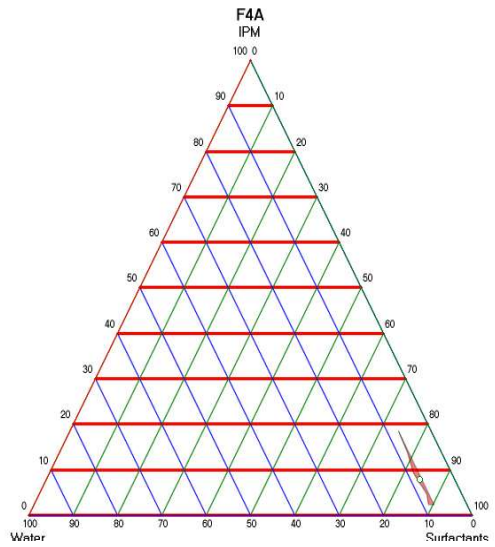
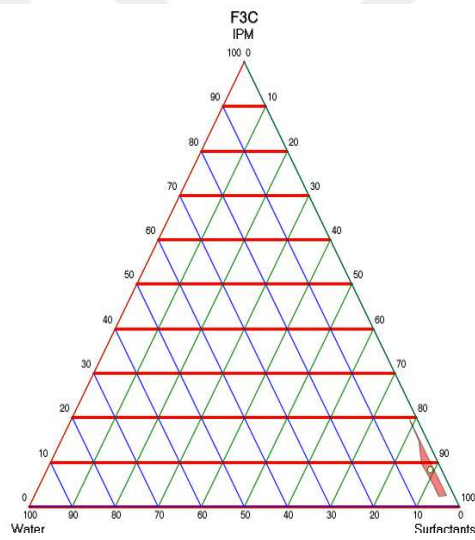
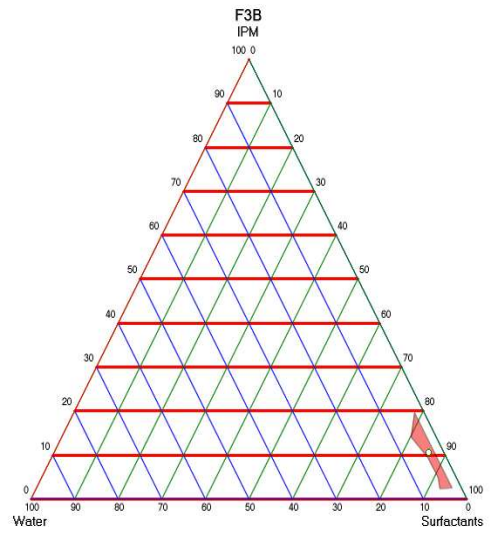
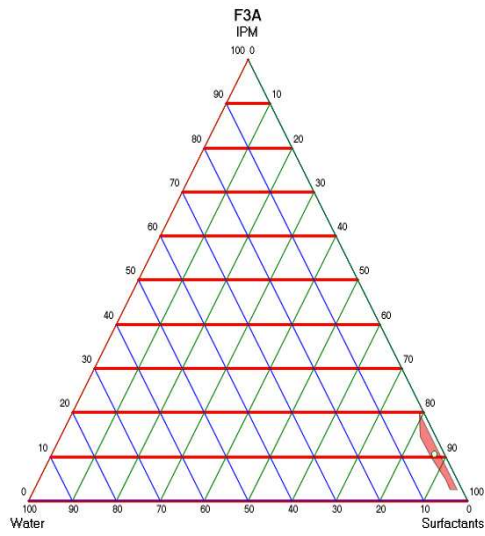
| Formül Kodu | YEM/YYEM Oranı | Yağ (Oleik Asit) | YEM/YYEM (Capyrol 90-Tween 20/Transcutol HP) | Titrasyonda Harcanan Su miktarı (mL) | Alan |
|-------------|----------------|------------------|--|--------------------------------------|--------|
| F9A | 1:0.5 | 0.25 | 9.75 | 50.00 | 134.28 |
| | | 0.50 | 9.50 | 23.30 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 9.50 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 6.80 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 5.30 | |
| F9B | 1:1 | 0.25 | 9.75 | 50.00 | 76.27 |
| | | 0.50 | 9.50 | 22.60 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 12.10 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 8.20 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 8.90 | |
| F9C | 1:1.5 | 0.25 | 9.75 | 50.00 | 78.55 |
| | | 0.50 | 9.50 | 27.50 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 11.90 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 8.30 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 9.00 | |

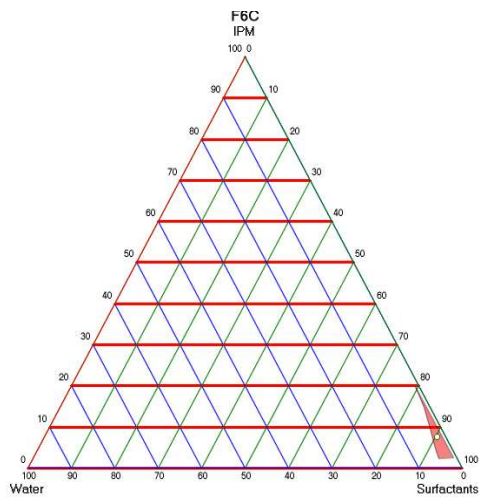
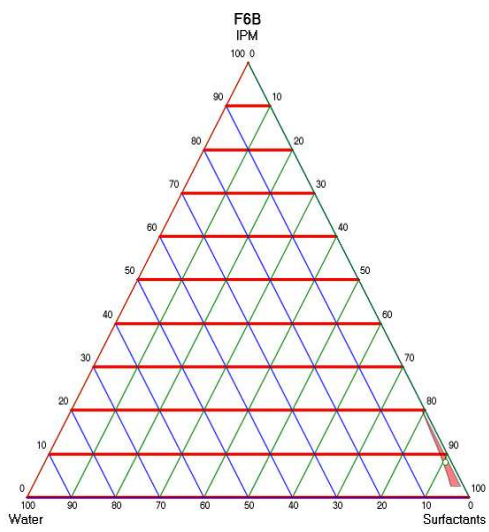
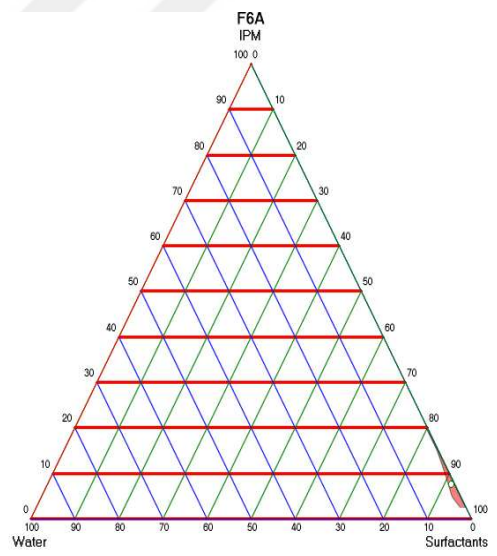
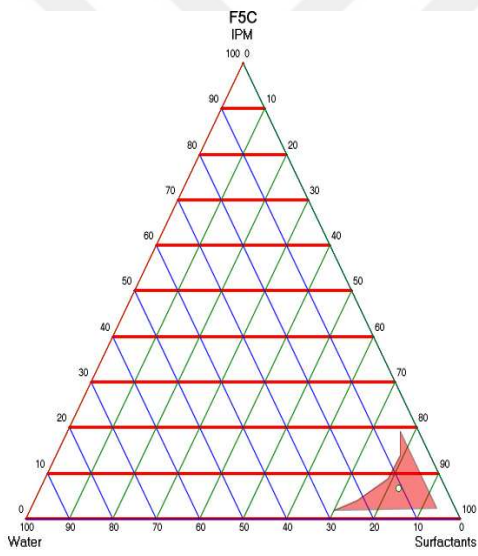
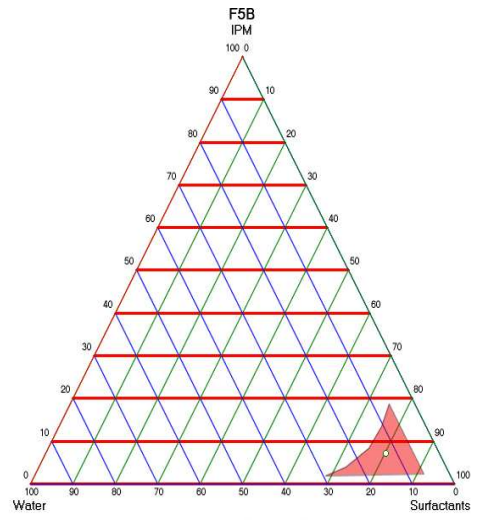
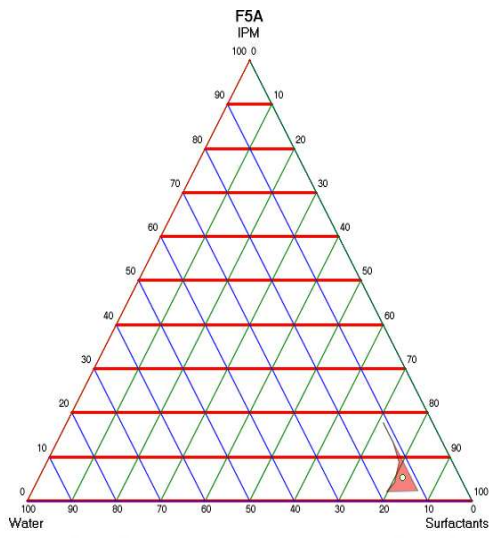
Tablo 34 : Yapılan çözünürlük çalışmasına göre seçilen yardımcı maddeler ile formülasyon çalışmaları

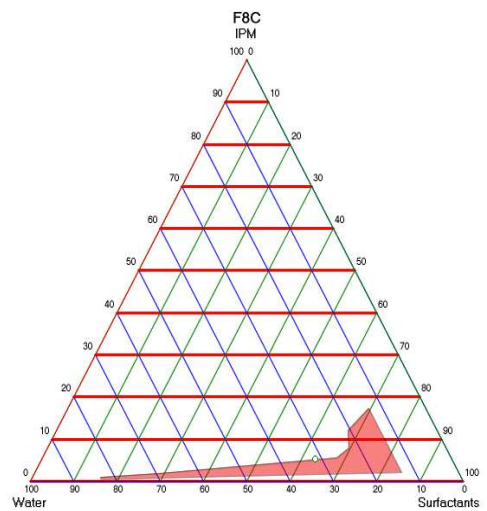
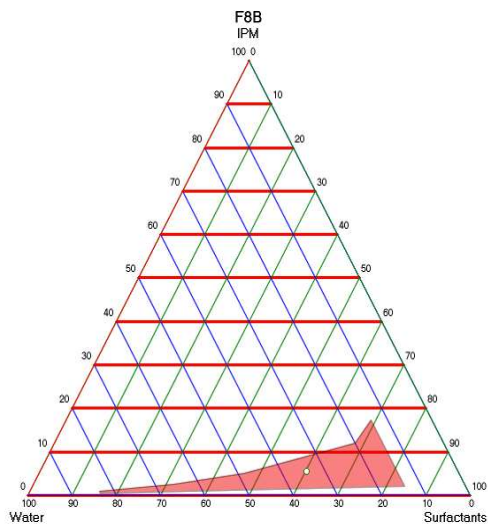
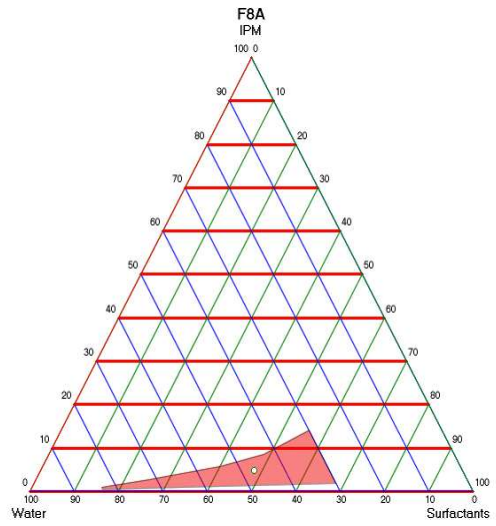
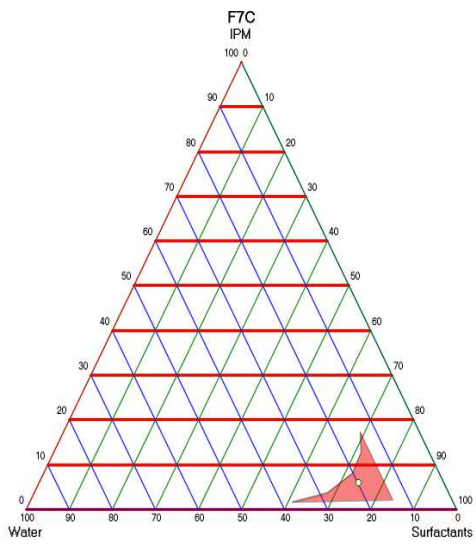
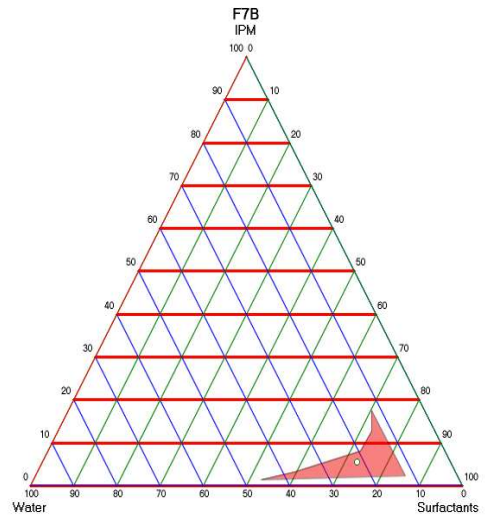
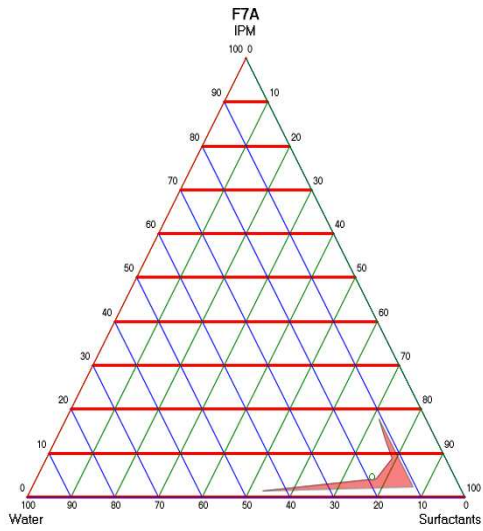
| Formül Kodu | YEM/YYEM Oranı | Yağ (Oleik Asit) | YEM/YYEM (Capyrol 90-Tween 20/Transcutol HP) | Titrasyonda Harcanan Su miktarı (mL) | Alan |
|-------------|----------------|------------------|--|--------------------------------------|--------|
| F10A | 1:0.5 | 0.25 | 9.75 | 46.00 | 153.92 |
| | | 0.50 | 9.50 | 19.40 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 7.10 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 5.00 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 3.90 | |
| F10B | 1:1 | 0.25 | 9.75 | 70.00 | 157.67 |
| | | 0.40 | 9.60 | 21.20 | |
| | | 0.50 | 9.50 | 16.90 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 9.50 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 6.90 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 4.50 | |
| F10C | 1:1.5 | 0.25 | 9.75 | 60.00 | 71.79 |
| | | 0.50 | 9.50 | 17.60 | |
| | | 1.00 | 9.00 | 9.80 | |
| | | 1.50 | 8.50 | 7.90 | |
| | | 2.00 | 8.00 | 7.50 | |

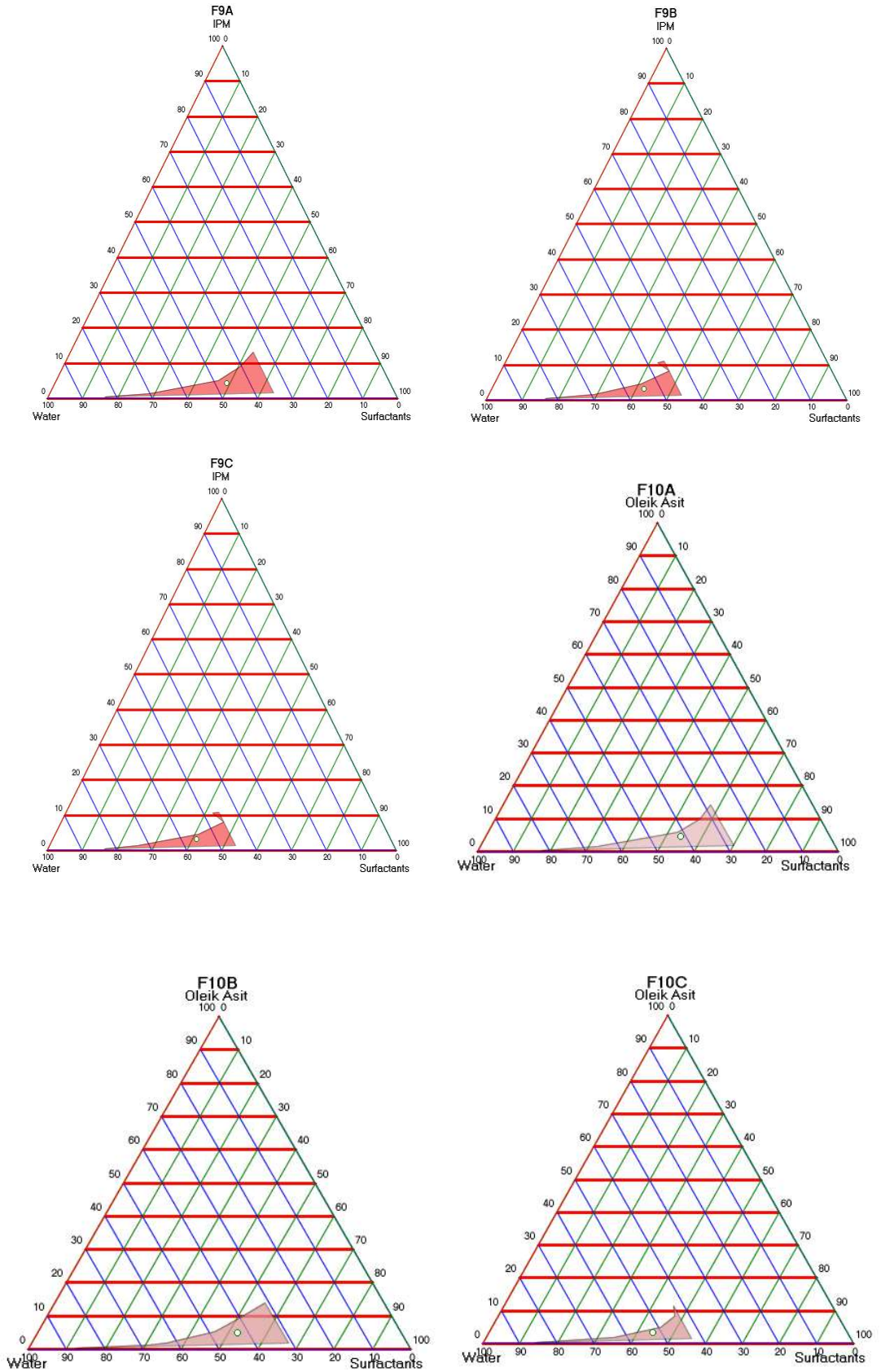
Tablo 25-34'den elde ettiğimiz veriler ile Mikroemülsiyon programı (Ege et al., 2004) yardımıyla her bir YEM/YYEM oranı için en yüksek mikroemülsiyon alanını veren YEM/YYEM oranı ideal olarak kabul edildi. Faz diyagramlarında belirlenen mikroemülsiyon oluşum bölgesinin ağırlık merkezi kullanılarak optimum mikroemülsiyon formülasyonları hesaplanarak geliştirildi. Her bir formülasyon için çizilen üçgen faz diyagramları Şekil 16'te alan değerleri Şekil 17'te verilmiştir.



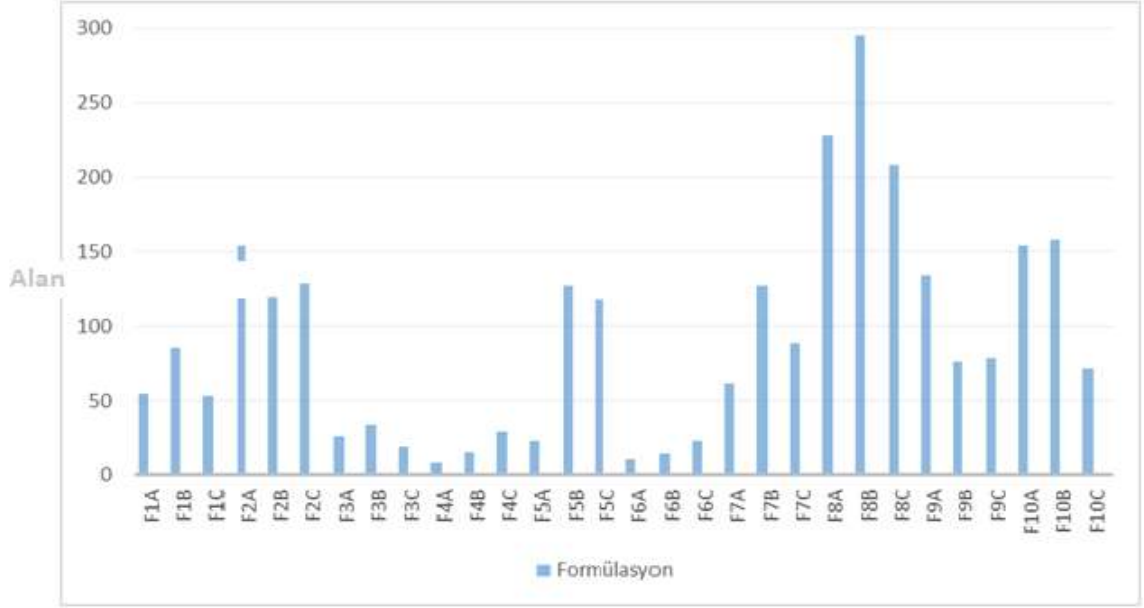








Şekil 16 : Lipid Bazlı formülasyonların üçgen faz diyagramlarından elde edilen alanlar



Şekil 17 : Lipid bazlı formülasyonların üçgen faz diyagramında oluşturdukları alan değerleri

Bu verilerden hareketle seçilen ideal en yüksek alanı veren formülasyonlar; F2C F5B, F7B, F8B, F9A ve F10B olarak belirlendi. F2A'nın alanı daha yüksek olmasına rağmen titrasyonda daha çok su aldığı için F2C seçilmesine karar verildi.

4.4.4. Lipid Bazlı Formülasyonların Hazırlanması

4.4.4.1. SEDD Sistemlerin Hazırlanması

Bilgisayar programında en büyük alanı veren ve ağırlık merkezinden hesaplanan alanlara göre seçilen formülasyonların terkipleri, HLB değerleri ve refraktif indeksleri Tablo 35'de gösterilmiştir.

Tablo 35 : Seçilen formülasyonların terkipleri

| Formülasyon Kodu | HLB Değeri | YEM/YYEM Oranı | Yağ Miktarı (%) | YEM/YYEM Miktarı (%) | Refraktif indeksleri |
|-------------------------|-------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| F2C | 10.95 | 1:2 | 8.56 | 91.44 | 1.4024 |
| F5B | 10.95 | 1:1 | 8.136 | 91.864 | 1.4609 |
| F7B | 10.01 | 1:1 | 7.1 | 92.9 | 1.4527 |
| F8B | 9.3 | 1:1 | 8.31 | 91.69 | 1.4266 |
| F9A | 10.55 | 1:0.5 | 8.128 | 91.872 | 1.4048 |
| F10B | 8.39 | 1:1 | 8.74 | 91.26 | 1.4189 |

Tablo 35’de terkipleri verilen SEDD formülasyonlarda partikül boyutu, refraktif indeks ve polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli değerleri belirlendi. Sonuçlar Tablo 36’da verilmiştir.

Tablo 36 : Optimum formülasyonların partikül boyutu, zeta potansiyel, refraktif indeks ve polidispersite indeksi sonuçları

| | Partikül Boyutu (nm) | Refraktif İndeks | Polidispersite İndeksi | Zeta potansiyel (mV) |
|---------------------|-----------------------------|-------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| F2C optimum | 4964±236 | 1.4024 | 0.650 | 0.715±0.015 |
| F5B optimum | 459.6±26 | 1.4609 | 1 | Ölçülemedi. |
| F7B optimum | 1924±584 | 1.4527 | 1 | 0.0915±0.002 |
| F8B optimum | 95.2±15 | 1.4266 | 0.232 | 0.0696±0.001 |
| F9A optimum | 135.4±12 | 1.4048 | 0.438 | 0.0440±0.005 |
| F10B optimum | 353.7±52 | 1.4189 | 0.730 | 0.0565±0.002 |

Tablo 36’da verilen partikül boyutu ve polidispersite indeksi değerlerinden hareketle ideal formülasyonlar olarak seçilen F8B ve F9A formülasyonu ile bundan sonraki çalışmalar yürütülmüştür.

Optimum formülasyonlarda belirtilen tüm bileşenler (yağ/YEM/YYEM) manyetik karıştırıcıda karıştırılarak (su fazı eklenmeden) formülasyon hazırlandı. 0.5 mL’inde 80 mg olacak şekilde Valsartan ilave edildi. Valsartanın formülasyonda çözünmesini sağlamak amacıyla manyetik karıştırıcıda 50 rpm devirde $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ’ye kadar ısıtılarak berrak bir çözelti elde edilene kadar karıştırılarak formülasyonlar hazırlandı.

4.4.4.2. S-SEDD Sistemlerin Hazırlanması

Partikül boyutu ve polidispersite değerlerine göre seçilen F8B ve F9A formülasyonları çeşitli HPMC, Avicel pH 101, Aerosil gibi katılaştırma ajanlarına yağ granülasyon yöntemiyle emdirilip etüvde 45 dakika (45°C) kurumaya bırakıldı. Bu şekilde S-SEDD (solid) formülasyonlar hazırlanmış oldu. Hazırlanan formülasyonların ne kadar F8B ve F9A formülasyonlarından emebildiği Tablo 37’de gösterilmiştir.

Tablo 37 : Katı taşıyıcılara emdirilebilen formülasyon miktarları.

| | 500 mg HPMC-E5 | 500 mg Avicel-pH 102 | 500mg Aerosil-200 |
|------------|----------------|----------------------|-------------------|
| F8B | 0.35 mL | 0.45 mL | 1 mL |
| F9A | 0.5 mL | 0.6 mL | 1 mL |

4.4.4.3. Miseller Sistemlerin Hazırlanması

Miseller sistemlerin hazırlanması için seçilen yüzey etkin maddeler (Soluplus, Lutrol F127, Solutol HS 15) aşağıda belirtilen oranlarda bir beherde karıştırılarak etanolde çözüldü. Etanolün uçmasını sağlamak için 24 saat çeker ocakta bırakıldı. Daha sonra 10 mL su ile hidrate edildi ve 24 saat 200 rpm’de manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. 14000 rpm’de 10 dakika santrifüjlenerek miseller formülasyonların oluşması sağlandı.

Formülasyon A: 200mg Valsartan + 2g Lutrol F127

Formülasyon B: 200mg Valsartan + 2g Soluplus

Formülasyon D: 200 mg Valsartan+ 4g Lutrol F127

Formülasyon E: 200 mg Valsartan+ 4g Soluplus

Formülasyon F: 200 mg Valsartan+ 2g Soluplus + 2g Lutrol F127

4.5. Lipid Bazlı Formülasyonların Karakterizasyon Çalışmaları

4.5.1. SEDDS Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları

4.5.1.1. Formülasyonun Fiziksel Görünüşü

Yöntem 3.2.5.1.1’de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların oda sıcaklığında ($25\pm 2^\circ\text{C}$) F8B ve F9A’nın fiziksel görünüşlerinin berrak ve homojen olduğu gözlemlenmiştir.

4.5.1.2. Formülasyonun pH Ölçümü

Yöntem 3.2.5.1.2’de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların pH’sı oda sıcaklığında ($25\pm 2^\circ\text{C}$) Mettler Toledo marka pHmetre ile ölçüldü. F8B’nin pH’sı 3.741, F9A’nın pH’sı 3.746 olarak ölçülmüştür.

4.5.1.3. Formülasyonun Elektrik İletkenliği

Yöntem 3.2.5.1.3’de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların elektrik iletkenliği, oda sıcaklığında ($25\pm 2^\circ\text{C}$) F8B $86\mu\text{s/cm}$, F9A ise $73\mu\text{s/cm}$ olarak ölçülmüştür ($n=3$).

4.5.1.4. Formülasyonun Refraktif İndis Ölçümü

Yöntem 3.2.5.1.4’de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların refraktif indisi oda sıcaklığında ($25\pm 2^\circ\text{C}$) F8B için 1.4566 ve F9A için 1.4660 olarak ölçülmüştür ($n=3$).

4.5.1.5. Formülasyonun Viskozitesinin Ölçümü

Yöntem 3.2.5.1.5’de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların viskozitesi Brookfield DVII+ Pro cihazında ULA Spindle kullanılarak $25\pm 2^\circ\text{C}$ ’de ölçüldü. F8B için 47cP (150rpm, %98 torque), F9A için 57.8 cP (100rpm, %90 torque) olarak ölçülmüştür ($n=3$).

4.5.1.6. Dansitesinin Ölçülmesi

Yöntem 3.2.5.1.6’de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların dansitesi $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ’de piknometre yardımıyla ölçüldü. F9A’nın dansitesi 1.0516, F8B’nin dansitesi ise 1.0148’dir.

4.5.1.7. Formülasyonun Partikül Büyüklüğünün Saptanması

Yöntem 3.2.5.1.7’de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların damlacık büyüklüğü Malvern zetasizer cihazı kullanılarak ölçüldü. Formülasyonun etkin madde içeren ve içermeyen hallerinin damlacık büyüklüğü, polidispersite indeksi oda sıcaklığında ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) ölçüldü ($n=6$). Sonuçlar Tablo 38’de verilmiştir.

Tablo 38 : F8B plasebo, F9A plasebo, F8B, F9A’nın partikül boyutu ölçümleri

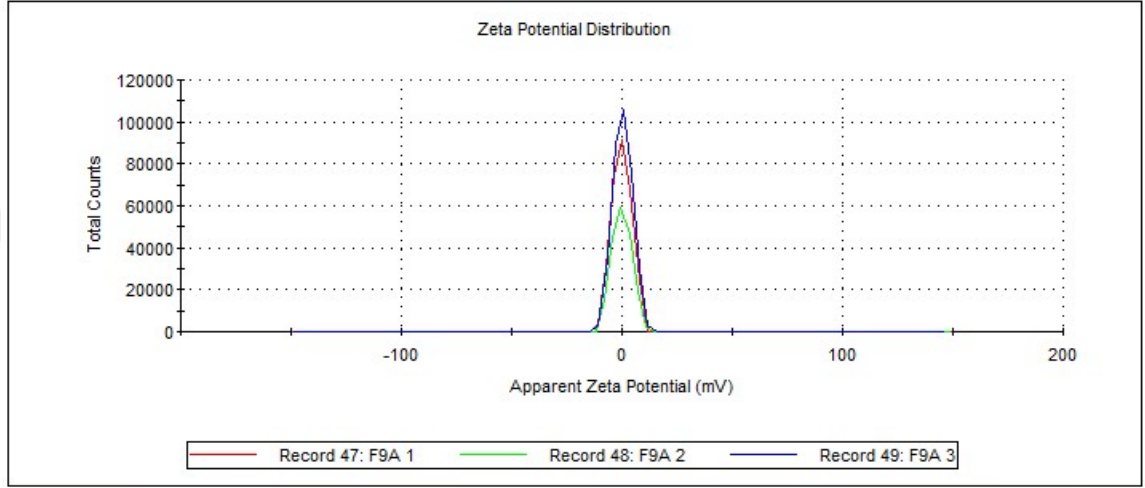
| Formülasyon | Partikül Boyutu (nm) | Refraktif İndeks | Polidispersite İndeksi |
|-------------|----------------------|------------------|------------------------|
| F8B plasebo | 8.78 ± 0.003 | 1.4561 | 0.851 |
| F9A plasebo | 45.11 ± 0.04 | 1.4500 | 0.687 |
| F8B | 72.63 ± 0.45 | 1.3349 | 0.449 |
| F9A | 146.6 ± 0.78 | 1.3348 | 0.339 |

4.5.1.8. Formülasyonun Zeta Potansiyel Değerleri

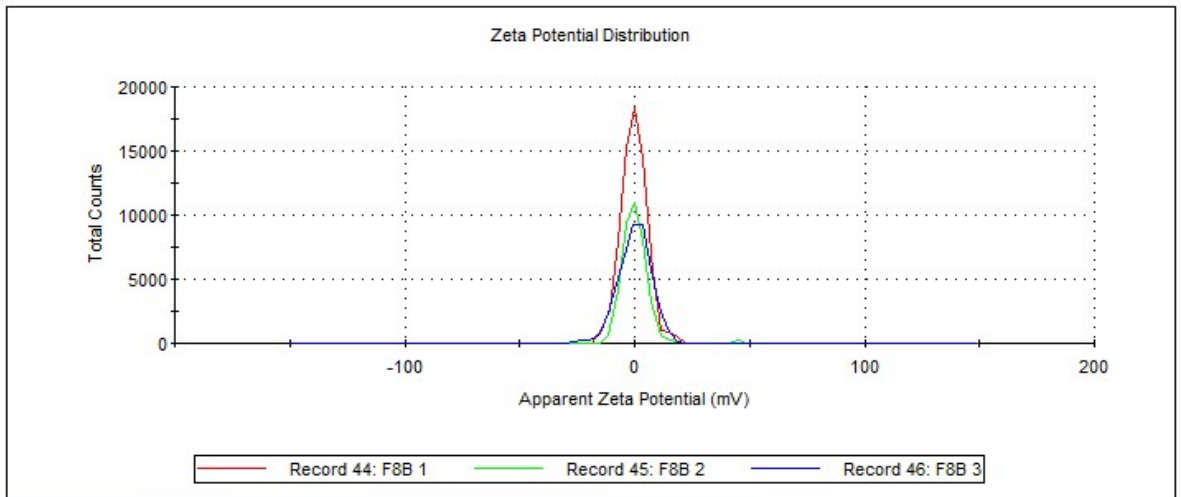
Yöntem 3.2.5.1.8’de anlatıldığı zeta potansiyel ölçümü Malvern Zetasizer cihazı ile oda sıcaklığında ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) yapılmıştır. Ölçüm sonuçları Tablo 49’de ve Şekil 18-19’da verilmiştir.

Tablo 39 : F8B, F9A'nın zeta potansiyel ölçümleri

| Formülasyon | Zeta Potansiyel (mV) |
|-------------|----------------------|
| F8B | 0.0696±0.005 |
| F9A | 0.440±0.002 |



Şekil 18 : F9A'nın zeta potansiyel grafiği



Şekil 19 : F8B'nın zeta potansiyel grafiği

4.5.1.9. Formülasyonun Dağılım Dayanıklılığının Saptanması

Yöntem 3.2.5.1.9’de anlatıldığı gibi formülasyonlar pH 1.2, distile su, pH 6.8 ortamlarında 1:10, 1:100, 1:500 ve 1:1000 oranlarında seyreltilerek 0., 2. ve 24. saatlerde (25±2 °C) Malvern zetasizer cihazında partikül büyüklükleri ölçüldü. Partikül büyüklüklerinde zamana bağlı değişim olup olmadığı araştırıldı. Sonuçlar tablo 40-43’de verilmiştir (n=6).

Tablo 40 : F8B formülasyonunun zeta average (dnm) değerleri

| Dilüsyon | Zaman(saat) | Distile su | pH 1.2 | pH 6.8 |
|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 1:10 | 0 | 284.3±1.256 | 377.5±5.48 | 301.0±5.48 |
| | 2 | 444.0±5.485 | 454.7±9.37 | 405.3±9.45 |
| | 24 | 559.8±2.145 | 587.6±9.58 | 562.3±6.78 |
| 1:100 | 0 | 353.1±7.98 | 322.7±2.64 | 157.4±0.368 |
| | 2 | 307.3±1.56 | 328.1±7.31 | 127.7±1.54 |
| | 24 | 330.6±6.89 | 433.7±7.21 | 148.1±1.79 |
| 1:500 | 0 | 192.8±2.65 | 378.3±4.93 | 75.13±0.483 |
| | 2 | 232.5±3.91 | 471.9±2.97 | 90.21±1.482 |
| | 24 | 333.1±9.13 | 443.0±10.56 | 120.6±6.478 |
| 1:1000 | 0 | 47.30±0.56 | 437.9±5.34 | 77.16±2.826 |
| | 2 | 41.01±1.03 | 372.0±6.82 | 90.15±1.02 |
| | 24 | 75.16±2.15 | 271.0±8.86 | 121.2±3.80 |

Tablo 41 : F8B formülasyonunun polidispersite indeksi

| Dilüsyon | Zaman(saat) | Distile su | pH 1.2 | pH 6.8 |
|-----------------|--------------------|-------------------|---------------|---------------|
| 1:10 | 0 | 0.232 | 0.441 | 0.359 |
| | 2 | 0.516 | 0.439 | 0.308 |
| | 24 | 0.395 | 0.173 | 0.509 |
| 1:100 | 0 | 0.549 | 0.655 | 0.464 |
| | 2 | 0.478 | 0.558 | 0.353 |
| | 24 | 0.404 | 0.655 | 0.266 |
| 1:500 | 0 | 0.461 | 0.725 | 0.269 |
| | 2 | 0.328 | 0.688 | 0.196 |
| | 24 | 0.465 | 0.714 | 0.246 |
| 1:1000 | 0 | 0.312 | 0.559 | 0.242 |
| | 2 | 0.247 | 0.418 | 0.262 |
| | 24 | 0.347 | 0.590 | 0.284 |

Tablo 42 : F9A formülasyonunun zeta average (dnm) değerleri

| Dilüsyon | Zaman(saat) | Distile su | pH 1.2 | pH 6.8 |
|-----------------|--------------------|-------------------|---------------|---------------|
| 1:10 | 0 | 368.6±2.89 | 452.3±5.41 | 345.3±4.62 |
| | 2 | 505.6±3.74 | 929.6±13.59 | 397.2±2.56 |
| | 24 | 1315±15.4 | 2386±15.47 | 427.2±4.75 |
| 1:100 | 0 | 265.4±1.78 | 204.0±2.54 | 133.7±2.6 |
| | 2 | 225.2±2.04 | 327.4±1.56 | 115.9±1.61 |
| | 24 | 234.1±6.71 | 78.7±1.85 | 133.6±2.21 |
| 1:500 | 0 | 366±2.72 | 342±3.46 | 157.6±2.31 |
| | 2 | 360.6±6.51 | 568.6±5.74 | 157.5±2.95 |
| | 24 | 262.3±3.94 | 913±7.9 | 155.1±3.46 |
| 1:1000 | 0 | 97.42±1.03 | 466.9±1.62 | 165.5±7.61 |
| | 2 | 141.4±5.74 | 433.5±6.95 | 162.5±4.36 |
| | 24 | 156.9±2.5 | 223.9±3.62 | 139.2±2.81 |

Tablo 43 : F9A formülasyonunun polidispersite indeksi

| Dilüsyon | Zaman(saat) | Distile su | pH 1.2 | pH 6.8 |
|-----------------|--------------------|-------------------|---------------|---------------|
| 1:10 | 0 | 0.333 | 0.313 | 0.269 |
| | 2 | 0.319 | 0.332 | 0.726 |
| | 24 | 0.367 | 0.815 | 0.805 |
| 1:100 | 0 | 0.436 | 0.303 | 0.446 |
| | 2 | 0.351 | 0.676 | 0.437 |
| | 24 | 0.330 | 0.373 | 0.370 |
| 1:500 | 0 | 0.386 | 0.736 | 0.518 |
| | 2 | 0.798 | 0.501 | 0.670 |
| | 24 | 0.402 | 0.858 | 0.682 |
| 1:1000 | 0 | 0.520 | 0.479 | 0.508 |
| | 2 | 0.695 | 0.474 | 0.830 |
| | 24 | 0.634 | 0.451 | 0.579 |

4.5.1.10. Formülasyonun Emülsifikasyon Zamanı

Yöntem 3.2.5.1.10'de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların 100 rpm'de USP XXII dissolüsyon aparatı kullanılarak karıştırılan $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 'lik 1000 mL'lik distile suya damla damla eklenerek, formülasyon gözlenmeyene kadar geçen süre hesaplandı (Şekil 20). Emülsifikasyon zamanı F9A için 15 sn, F8B için 10 sn olarak belirlenmiştir.



Şekil 20: Emülsifiye olmuş formülasyon.

4.5.1.11. Formülasyonun Santrifüj Çalışmaları

Yöntem 3.2.5.1.11’de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların 5000 rpm hızında, $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta ve 30 dakika süre ile santrifüj cihazı (Sigma 2-16KL) ile santrifüj edilerek formülasyonlarda faz ayrışımı olup olmadığı kontrol edildi. Her iki formülasyonda da herhangi bir faz ayrışması, çökme gibi stabilizasyon problemi gözlemlenmemiştir.

4.5.1.12. Formülasyonun Isıtma-Soğutma Çalışmaları

Yöntem 3.2.5.1.12’de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların soğutma 4°C ’de 24 saat bekletilme ve ısıtma ise 45°C ’de 24 saat boyunca bekletilmesi ile gerçekleştirildi. Bu amaçla hazırlanan formülasyonlar 3 kez soğutma (4°C , 24 saat) ve ısıtma (45°C , 24 saat) döngüsüne tabi tutulduktan sonra 5 dakika 3000 devir/dakika santrifüjlenip formülasyonlarda faz ayrışması ve bulanıklık olup olmadığı incelendi. Her bir sıcaklık muamelesi sonrasında faz ayrışması, çökme gibi stabilizasyon problemlerinin oluşup oluşmadığı araştırıldı. Her iki formülasyonda da herhangi bir faz ayrışması, çökme gibi stabilizasyon problemi gözlemlenmemiştir.

4.5.1.13. Formülasyonun Dondurma-Çözme Çalışmaları

Yöntem 3.2.5.1.13’de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonlar -4°C’de 24 saat donmaya bırakıldıktan sonra 40±0.5°C’de 24 saat bekletildi. 3000 devir/dakika santrifüjlendikten sonra faz ayrışması olup olmadığı gözlemlendi. Her iki formülasyonda da herhangi bir faz ayrışması, çökme gibi stabilizasyon problemi gözlemlenmemiştir.

4.5.1.14. Valsartan Miktar Tayini

Yöntem 3.2.5.1.14’de anlatıldığı gibi geliştirilen Valsartan içeren SEDD sistemler mobil fazda çözündürülmüş ve açığa çıkan Valsartan miktarı HPLC ile değerlendirilmiştir (Tablo 44).

Tablo 44 : Formülasyonların miktar tayini sonuçları

| Formülasyon | Teorikte olması gereken derişim($\mu\text{g/mL}$) | Pratikten elde edilen derişim ($\mu\text{g/mL}$) | Yüzde (%) |
|-------------|---|--|-----------|
| F8B | 40±0.5 | 38.09±0.057 | %95.225 |
| F9A | 40±0.5 | 38.423±0.007 | %96.057 |

4.5.2 S-SEDDS Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları

4.5.2.1. Fiziksel Görünüş

Yöntem 3.2.5.2.1’de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların oda sıcaklığında (25±2°C) fiziksel görünüşleri incelenerek değerlendirildi. S-SEDD sistemler homojen, beyaz pellet görünümündedir.

4.5.2.2. Küme ve Sıkıştırılmış Dansite Ölçümleri

Yöntem 3.2.5.2.2’de anlatıldığı gibi S-SEDD’lerin sıkıştırılmış dansitelerinin ölçülmesinde Tap-2S Tap Density Tester cihazı kullanıldı. Başlangıçta mezüre 100 mL hacminde konularak başlandı. 0.,10., 500. ve 1250. vuruşlar sonucu hacimlere

bakıldı. Bunun sonucunda küme dansite, sıkıştırılmış dansite, Hausner oranları ve Carr indeksi Tablo 45’de gösterilmiştir.

Tablo 45 : Formülasyonlara ait Küme dansite, Sıkıştırılmış dansite, Hausner oranı, Carr indeksi değerleri

| Formülasyon | Küme Dansite (g/mL) | Sıkıştırılmış Dansite (g/mL) | Hausner Oranı | Carr İndeksi (%) |
|------------------|------------------------|---------------------------------|------------------|---------------------|
| F9A Avicel pH101 | 0.382 | 0.538 | 1.405 | 28.99 |
| F9A HPMC E5 | 0.287 | 0.383 | 1.333 | 24.98 |
| F8B Avicel pH101 | 0.288 | 0.4301 | 1.492 | 32.98 |
| F8B HPMC E5 | 0.222 | 0.308 | 1.389 | 27.98 |

4.5.2.3. Titreşimli Elek ile Boyut Analizi

Yöntem 3.2.5.2.3’de belirtildiği gibi S-SEDDS’lerin boyut analizi Retsch marka titreşimli elek ile gerçekleştirildi. Formülasyonlardan 50 g alınıp elek sistemine konuldu. 10 dakika 20 Hz titreşim uygulandı. Kullanılan elek sisteminin boyutları 1.40 mm, 1.00 mm, 500 µm, 250 µm’dir. Sonuçlar Tablo 46-49’da gösterilmiştir.

Tablo 46 : F9A HPMC formülasyonunun boyut dağılımı

| Boyut Dağılımı (µm) | Ağırlık (g) | % Ağırlık | % Toplanan Miktar |
|---------------------|-------------|-----------|-------------------|
| >2000 | 0±0 | 0 | 0 |
| 2000-1400 | 48±0.152 | 96 | 96 |
| 1400-1000 | 0.42±0.023 | 0.84 | 96.84 |
| 1000-500 | 1.348±0.156 | 2.696 | 99.536 |
| 500-250 | 0.23±0.085 | 0.46 | 99.996 |

Tablo 47 : F8B HPMC formülasyonunun boyut dağılımı

| Boyut Dağılımı (µm) | Ağırlık (g) | % Ağırlık | % Toplanan Miktar |
|----------------------------|--------------------|------------------|--------------------------|
| >2000 | 0±0 | 0 | 0 |
| 2000-1400 | 47.416±3.74 | 94.832 | 94.832 |
| 1400-1000 | 1.2±0.15 | 2.4 | 97.232 |
| 1000-500 | 0.88±0.097 | 1.76 | 98.992 |
| 500-250 | 0.5±0.059 | 1 | 99.992 |

Tablo 48 : F8B Avicel formülasyonunun boyut dağılımı

| Boyut Dağılımı (µm) | Ağırlık (g) | % Ağırlık | % Toplanan Miktar |
|----------------------------|--------------------|------------------|--------------------------|
| >2000 | 0±0 | 0 | 0 |
| 2000-1400 | 49.2±5.85 | 98.4 | 98.4 |
| 1400-1000 | 0.03±0.001 | 0.06 | 98.46 |
| 1000-500 | 0.63±0.048 | 1.26 | 99.72 |
| 500-250 | 0.09±0.003 | 0.18 | 99.9 |

Tablo 49 : F9A Avicel formülasyonunun boyut dağılımı

| Boyut Dağılımı (µm) | Ağırlık (g) | % Ağırlık | % Toplanan Miktar |
|----------------------------|--------------------|------------------|--------------------------|
| >2000 | 0±0 | 0 | 0 |
| 2000-1400 | 49.1±6.59 | 98.2 | 98.2 |
| 1400-1000 | 0.3±0.06 | 0.6 | 98.8 |
| 1000-500 | 0.52±0.045 | 1.04 | 99.84 |
| 500-250 | 0.04±0.002 | 0.08 | 99.92 |

4.5.2.4. Emülsifikasyon Zamanı Analizi

Yöntem 3.2.5.2.4'de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların 80 mg valsartan içerecek miktarı bir seferde 37 ± 0.5 °C'lik 1000 mL'lik distile suya ilave edilmiştir. F9A ve F8B nin HPMC içeren formülasyonları önce şişip 5 dk'da emülsifiye olmuşlardır. F8B Aerosil ve Avicel, F9A Aerosil ve Avicel formülasyonlarının emülsifikasyon zamanlarının ise 30 sn'den kısa olduğu gözlemlenmiştir.

4.5.2.5. Damlacık Boyutu Analizi

Yöntem 3.2.5.2.5'de anlatıldığı gibi 80 mg Valsartan dozunu 1000 ml pH 1.2, pH 6.8 ve distile suda çözerek damlacık büyüklükleri Malvern zetasizer cihazı kullanılarak oda sıcaklığında (25 ± 2 °C) ölçüldü (n=6). Sonuçlar Tablo 50'te verilmiştir.

Tablo 50 : S-SEDD formülasyonların partikül boyutu ölçümleri.

| Formülasyon | Damlacık Boyutu (nm±SS) | Refraktif İndis | Polidispersite İndeksi |
|-------------|----------------------------|-----------------|------------------------|
| F9A Avicel | 231.1±2.59 | 1.3368 | 0.510 |
| F9A Aerosil | 576.7±3.45 | 1.3342 | 0.686 |
| F9A HPMC | 293.2±3.12 | 1.3340 | 0.778 |
| F8B Avicel | 186.3±1.362 | 1.3341 | 0.565 |
| F8B Aerosil | 1183±20.69 | 1.3341 | 0.712 |
| F8B HPMC | 129.1±5.36 | 1.3343 | 0.291 |

4.5.2.6. İçerik Miktar Tayini

Yöntem 3.2.5.2.6'de belirtildiği gibi geliştirilen Valsartan içeren S-SEDD sistemler mobil fazda çözüldürülmüş ve açığa çıkan Valsartan miktarı HPLC ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar Tablo 51'te verilmiştir.

Tablo 51 : Formülasyonların miktar tayini sonuçları

| Formülasyon | Teorikte olması gereken derişim ($\mu\text{g/mL}$) | Pratikten elde edilen derişim ($\mu\text{g/mL}$) | Yüzde (%) |
|--------------------|--|--|------------------|
| F8B Avicel | 28 | 16.15 | %57.68 |
| F8B Aerosil | 80 | 23.12 | %28 |
| F8B HPMC | 25.6 | 13.65 | %53.32 |
| F9A Avicel | 36.5 | 19.11 | %52.35 |
| F9A Aerosil | 36 | 11.05 | %30.07 |
| F9A HPMC | 32 | 19.678 | %61.49 |

4.5.3. Miseller Sistemlerin Karakterizasyon Çalışmaları

4.5.3.1. Fiziksel Görünüş

Yöntem 3.2.5.3.1’de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların oda sıcaklığında ($25\pm 2^\circ\text{C}$) fiziksel görünüşleri incelenerek değerlendirildi. Misel sistemler homojen, yarı saydam, yanar-döner yansımali şekilde gözlemlenmiştir.

4.5.3.2. Formülasyonun pH Ölçümü

Yöntem 3.2.5.3.2’de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların pH’sı oda sıcaklığında ($25\pm 2^\circ\text{C}$) Mettler Toledo marka pHmetre ile ölçüldü. Misel formülasyonlarının ortalama pH değeri 3.75 dir.

4.5.3.3. Formülasyonun Refraktif İndis Ölçümü

Yöntem 3.2.5.3.3’de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların refraktif indisi oda sıcaklığında ($25\pm 2^\circ\text{C}$) Atago refraktometer RX-7000 CX marka refraktometre ile ölçüldü. Sonuçlar Tablo 52’de verilmiştir.

Tablo 52 : Misel Formülasyonların Refraktif İndis değerleri.

| Formülasyon | Refraktif İndis |
|-------------|-----------------|
| MİSEL A | 1.3399 |
| MİSEL B | 1.3375 |
| MİSEL C | 1.3381 |
| MİSEL D | 1.3392 |
| MİSEL E | 1.3383 |
| MİSEL F | 1.3389 |

4.5.3.4. Formülasyonun Damlacık Boyutunun Saptanması

Yöntem 3.2.5.3.4’de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların damlacık büyüklüğü Malvern zetasizer cihazı kullanılarak ölçüldü (n=6). Sonuçlar Tablo 53’de verilmiştir.

Tablo 53 : Geliştirilen formülasyonların damlacık boyutu ölçümleri

| | Damlacık Boyutu (dnm) | Polidispersite İndeksi |
|---------|-----------------------|------------------------|
| MİSEL A | 543.3±10.54 | 1 |
| MİSEL B | 942.5±6.85 | 1 |
| MİSEL C | 1205±25.69 | 1 |
| MİSEL D | 752±6.041 | 0.965 |
| MİSEL E | 1403±23.69 | 1 |
| MİSEL F | 230.4±3.42 | 0.985 |

4.5.3.5. Formülasyonun Santrifüj Çalışmaları

Yöntem 3.2.5.3.5.’de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların 5000 rpm hızında, 25±2°C sıcaklıkta ve 30 dakika süre ile santrifüj cihazı (Sigma 2-16KL) ile santrifüj

edilerek formülasyonlarda faz ayrışımı olup olmadığı kontrol edildi. Misel A, Misel B ve Misel F formülasyonlarında faz ayrışması gözlemlenmemiştir.

4.5.3.6. Formülasyonun Isıtma-Soğutma Çalışmaları

Yöntem 3.2.5.3.6'de anlatıldığı gibi geliştirilen formülasyonların soğutma $4\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat bekletilme ve ısıtma ise $45\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat boyunca bekletilmesi ile gerçekleştirildi. Bu amaçla hazırlanan formülasyonlar 3 kez soğutma (4°C , 24 saat) ve ısıtma (45°C , 24 saat) döngüsüne tabi tutulduktan sonra 5 dakika 3000 devir/dakika santifürülenip formülasyonlarda faz ayrışması ve bulanıklık olup olmadığı incelendi. Tüm misel formülasyonlarda faz ayrışması gözlemlendi. Termodinamik olarak stabil olmadıklarına karar verildi.

4.5.3.7. Formülasyonun Kritik Misel Konsantrasyonu

Yöntem 3.2.5.3.7'da anlatıldığı gibi valsartan içeren miseller çözeltiler belirli oranlarda distile su kritik misel konsantrasyonu belirlendi. Valsartan içeren miseller sistemin farklı derişimlerde hazırlanan çözeltilerinin kritik misel konsantrasyonu yüzey gerilimi tayini yöntemiyle gerçekleştirildi. Yüzey gerilimi damla sayma yöntemi Traube Stalogrametresi kullanılarak ölçüldü. Misel A formülasyonunun kritik misel konsantrasyonu 0.0202 g/mL olarak, Misel F formülasyonunun kritik misel konsantrasyonu 0.196 g/mL olarak ölçüldü. Diğer formülasyonlarda yüzey gerilimlerinde dramatik bir değişiklik olmamasından ötürü kritik misel konsantrasyonları ölçülemedi.

4.5.3.8. İçerik Miktar Tayini

Yöntem 3.2.5.3.8'de anlatıldığı gibi geliştirilen Valsartan içeren miseller sistemler mobil fazda çözündürülmüş ve açığa çıkan Valsartan miktarı HPLC ile değerlendirilmiştir (Tablo 54).

Tablo 54 : Geliştirilen formülasyonların miktar tayini sonuçları.

| Formülasyon | Teorikte olması gereken derişim ($\mu\text{g/mL}$) | Pratikten elde edilen derişim ($\mu\text{g/mL}$) | Yüzde (%) |
|-------------|--|--|-----------|
| MİSEL A | 20 \pm 0.5 | 18.9 \pm 0.62 | %94.5 |
| MİSEL B | 20 \pm 0.5 | 19.87 \pm 0.74 | %99.35 |
| MİSEL C | 20 \pm 0.5 | 12.51 \pm 0.85 | %62.55 |
| MİSEL D | 20 \pm 0.5 | 10.7896 0.26 | %53.948 |
| MİSEL E | 20 \pm 0.5 | 15.9 \pm 0.47 | %79.5 |
| MİSEL F | 20 \pm 0.5 | 17.22 \pm 0.38 | %86.1 |

Miseller sistemlerin karakterizasyon çalışmaları sonucu termodinamik stabilitelerinde problem görülmesinden dolayı bundan sonraki stabilite, salım çalışmaları ve *in vitro* *in vivo* çalışmalara dahil edilmemiştir.

4.6. Stabilite Çalışmaları

Yöntem 3.2.6'da belirtildiği gibi SEDD ve S-SEDD formülasyonların stabilitelerinin incelenmesi amacıyla hazırlanan formülasyonlar 25 \pm 2°C, %60 \pm 5 bağıl nemde ve 40 \pm 2°C, %75 \pm 5 bağıl nemde 12 ay boyunca saklandı. Stabilite çalışmasında numuneler 12 ay süreyle t=0 yani başlangıç anında ve 1., 3., 6., 9. ve 12. aylar olmak üzere kontrol edildi.

4.6.1. SEDD Sistemlerinin Stabilite Çalışmaları

Yöntem 3.2.6.1'de belirtildiği gibi karakterizasyon çalışmaları sonrası seçilen formülasyonların stabilite çalışmaları yapıldı. Valsartan içeren SEDD sistemlerinin stabilitesini incelemek amacıyla, formülasyonların fiziksel görünüşü, damlacık büyüklüğü, elektriksel iletkenliği, refraktif indeksi, pH'sı, viskozitesi ve faz ayrışması gibi özellikleri değerlendirildi. Ayrıca etkin maddenin sistem içerisindeki kimyasal stabilitesi de araştırıldı. F8B'nin sonuçları Tablo 55 ve 56'da F9A'nın sonuçları ise Tablo 57 ve 58'de gösterilmiştir.

Tablo 55: F8B formülasyonunun 0-3. Ay stabilite bulguları

| Ölçülen Parametre | 0. Ay | | 1. Ay | | 3.Ay | |
|---------------------------------|--|--|--|--|--|--|
| | %25±5C° | %40±5C° | %25±5C° | %40±5C° | %25±5C° | %40±5C° |
| | %60±5 | %75±5 | %60±5 | %75±5 | %60±5 | %75±5 |
| pH* | 3.741 | 3.741 | 3.752 | 3.755 | 3.748 | 3.752 |
| Refraktif indis* | 1.4566 | 1.4566 | 1.4567 | 1.4566 | 1.4565 | 1.4566 |
| Elektriksel İletkenlik(µs) * | 86 | 86 | 86 | 87 | 86 | 87 |
| Dansite (g/mL) | 0.7464 | 0.7464 | 0.7465 | 0.7467 | 0.7466 | 0.7463 |
| Damlacık | 72.63± | 72.63±1.56 | 70.23±0.96 | 73.73±1.94 | 73.28±1.56 | 79.04±2.95 |
| Boyutu(nm)* | 1.56 | | | | | |
| Polidispersite İndeksi | 0.449 | 0.449 | 0.726 | 0.418 | 0.477 | 0.673 |
| Viskozite (cP) | 47.03 | 47.03 | 47.05 | 47.04 | 47.05 | 47.03 |
| Miktar Tayini (µg/mL)** | 38.09±0.5 | 38.09±0.5 | 38.25±0.6 | 37.98±0.5 | 38.15±0.3 | 38.54±0.6 |
| Fiziksel Görünüş | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok |

(*optimum formülasyonu oluşturan su miktarıyla seyreltilmiştir, ** Miktar tayini teorik miktar 40µg/mL'dir. Seyreltme faktörü 2000'dir.)

Tablo 56 : F8B formülasyonunun 6-12. Ay stabilite bulguları

| Ölçülen Parametre | 6. Ay | | 9. Ay | | 12. Ay | |
|---------------------------------|--|--|--|--|--|--|
| | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 |
| pH* | 3.756 | 3.748 | 3.745 | 3.752 | 3.743 | 3.755 |
| Refraktif indis* | 1.4567 | 1.4566 | 1.4566 | 1.4565 | 1.4566 | 1.4567 |
| Elektriksel İletkenlik(µs) * | 87 | 87 | 86 | 87 | 86 | 86 |
| Dansite (g/mL) | 0.7466 | 0.7465 | 0.7465 | 0.7464 | 0.7467 | 0.7467 |
| Damlacık Boyutu(nm)* | 62.13± 1.25 | 63.81±0.96 | 65.55±1.4 | 67.51±1.76 | 61.3±1.62 | 63.92±1.85 |
| Polidispersite İndeksi | 0.640 | 0.584 | 0.498 | 0.594 | 0.637 | 0.562 |
| Viskozite (cP) | 47.03 | 47.05 | 47.03 | 47.03 | 47.05 | 47.06 |
| Miktar Tayini (µg/mL)** | 38.17±1.9 5 | 38.69±0.5 | 38.21±0.9 1 | 38.65±1.0 1 | 38.63±1.5 6 | 38.92±1.4 9 |
| Fiziksel Görünüş | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok |

(*optimum formülasyonu oluşturan su miktarıyla seyreltilmiştir, ** Miktar tayini teorik miktar 40µg/mL'dir. Seyreltme faktörü 2000'dir.)

Tablo 57 : F9A formülasyonunu 0-3. Ay stabilite sonuçları.

| Ölçülen Parametre | 0.Ay | | 1.Ay | | 3.Ay | |
|--|--|--|--|--|--|--|
| | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 |
| pH* | 3.746 | 3.746 | 3.749 | 3.751 | 3.749 | 3.753 |
| Refraktif indeks* | 1.4660 | 1.4660 | 1.4661 | 1.4663 | 1.4664 | 1.4661 |
| Elektriksel İletkenlik(µs)* | 73 | 73 | 74 | 74 | 73 | 74 |
| Dansite(g/mL) | 1.05166 | 1.05166 | 1.0517 | 1.05169 | 1.05168 | 1.05167 |
| Damlacık Boyutu(nm)* | 146.6±5.1 | 146.6±5.1 | 121.4±3.52 | 156.6±4.62 | 93.44±6.2 | 174.1±1.6 |
| Polidispersite İndeksi | 0.339 | 0.339 | 0.551 | 0.601 | 0,890 | 0.913 |
| Viskozite(cP) | 58.7 | 58.7 | 58.73 | 58.72 | 58.76 | 58.75 |
| Miktar Tayini (µg/mL)** | 36.423±0.95 | 36.423±0.95 | 36.21±1.56 | 35.73±1.53 | 37.2±0.99 | 36.18±1.04 |
| Fiziksel Görünüş | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok |

(*optimum formülasyonu oluşturan su miktarıyla seyreltilmiştir, ** Miktar tayini teorik miktar 40µg/mL'dir. Seyreltme faktörü 2000'dir.)

Tablo 58 : F9A formülasyonunu 6-12. Ay stabilite sonuçları.

| Ölçülen Parametre | 6.Ay | | 9. Ay | | 12. Ay | |
|--|---|--|--|--|--|--|
| | %25±5C ° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 |
| pH* | 3.754 | 3.747 | 3.745 | 3.750 | 3.743 | 3.749 |
| Refraktif İndeks* | 1.4662 | 1.4660 | 1.4662 | 1.4662 | 1.4661 | 1.4662 |
| Elektriksel İletkenlik(µs)* | 73 | 73 | 73 | 74 | 74 | 73 |
| Dansite(g/mL) | 1.05169 | 1.05165 | 1.05174 | 1.05132 | 1.05165 | 1.05194 |
| Damlacık | 158.1±5. | 173.9± | 165.2± | 170.4± | 172.6± | 175.8± |
| Boyutu(nm) | 21 | 10.3 | 6.73 | 6.95 | 8.46 | 2.36 |
| Polidispersite İndeksi | 0.604 | 0.713 | 0.752 | 0.635 | 0.742 | 0.563 |
| Viskozite(cP) | 58.78 | 58.72 | 58.73 | 58.72 | 58.62 | 58.68 |
| Miktar Tayini (µg/mL)** | 36.41± | 38.52± | 36.72± | 37.26± | 36.89± | 37.12± |
| Fiziksel Görünüş | Homojen Saydam Faz Ayrışma sı yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok | Homojen Saydam Faz Ayrışması yok |

(*optimum formülasyonu oluşturan su miktarıyla seyreltilmiştir, ** Miktar tayini için teorik miktar 40µg/mL'dir. Seyreltme faktörü 2000'dir.)

4.6.2. S-SEDD Sistemlerinin Stabilite Çalışmaları

Yöntem 3.2.6.2'de anlatıldığı gibi Valsartan içeren S-SEDDS sert jelatin kapsüllerin stabilite testlerinde kapsülün dağılma zamanı, kapsülün görünüşü ve etkin madde içeriği takip edilmiştir. Kullanılan kapsül 00'dır. Sonuçlar Tablo 59-66'de verilmiştir.

Tablo 59 : F8B Avicel formülasyonunun 0-6. ay stabilite bulguları

| Ölçülen Parametre | 0. Ay | | 1. Ay | | 3. Ay | |
|--|--|--|--|--|--|--|
| | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 |
| Miktar | 16.15±0.51 | 16.15±0.51 | 15.48± | 16.86±0.96 | 16.69± | 16.90± |
| Tayini (µg/mL) * | | | 1.45 | | 1.03 | 1.53 |
| Damlacık Boyutu(nm) | 186.3±5.23 | 186.3±5.23 | 184.2±4.96 | 179.4±4.78 | 142.4±3.56 | 169.4±4.26 |
| Kapsülün Dağılma Zamanı(sn) | 105 | 105 | 105 | 105 | 105 | 105 |
| Kapsülün Görünüşü | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. |

(* Teorikte olması gereken 28 µg/mL'dir. Seyreltme faktörü 2857'dir)

Tablo 60 : F8B Avicel formülasyonunun 6-12. ay stabilite bulguları

| Ölçülen Parametre | 6.Ay | | 9. Ay | | 12. Ay | |
|--|--|--|--|--|--|--|
| | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 |
| Miktar Tayini (µg/mL) * | 17.31± | 16.95± | 17.16± | 16.74± | 16.85± | 16.93± |
| Damlacık Boyutu(nm) | 181.0±9.47 | 233.7±6.73 | 178.5±4.82 | 195.7±3.42 | 189.2±8.62 | 190.7±5.41 |
| Kapsülün Dağılma Zamanı(sn) | 105 | 105 | 105 | 105 | 105 | 105 |
| Kapsülün Görünüşü | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. |

(* Teorikte olması gereken 28 µg/mL'dir. Seyreltme faktörü 2857'dir)

Tablo 61 : F8B HPMC formülasyonunun 0-6. ay stabilite bulguları

| Ölçülen Parametre | 0. Ay | | 1.Ay | | 3.Ay | |
|--|--|--|--|--|--|--|
| | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C ° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 |
| Miktar Tayini (µg/mL) * | 13.65±0.77 | 13.65±0.77 | 13.47± 0.96 | 13.5± 1.07 | 13.15± 0.74 | 12.58± 0.93 |
| Damlacık Boyutu(nm) | 129.1±4.12 | 129.1±4.12 | 113.6± 9.65 | 136.5±12.5 | 162.6±4.28 | 167.8±6.92 |
| Kapsülün Dağılma Zamanı(sn) | 180 | 180 | 180 | 180 | 180 | 180 |
| Kapsülün Görünüşü | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. |

(*Teorikte olması gereken 25.6 µg/mL'dir. Seyreltme faktörü 3125'dir)

Tablo 62 : F8B HPMC formülasyonunun 6-12. ay stabilite bulguları

| Ölçülen Parametre | 6.Ay | | 9. Ay | | 12. Ay | |
|------------------------------------|--|--|--|--|--|--|
| | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 |
| Miktar Tayini (µg/mL)* | 13.77± 0.96 | 13.69± 0.63 | 13.58± 1.19 | 13.85± 0.84 | 13.25± 0.67 | 13.61± 0.81 |
| Damlacık Boyutu(nm) | 153.7± 15.3 | 177.5± 9.65 | 168.7± 12.62 | 173.2± 7.52 | 159.4± 8.54 | 170.3±7.71 |
| Kapsülün Dağılma Zamamı(sn) | 180 | 180 | 180 | 180 | 180 | 180 |
| Kapsülün Görünüşü | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. |

(*Teorikte olması gereken 25.6 µg/mL'dir. Seyreltme faktörü 3125'dir)

Tablo 63 : F9A Avicel formülasyonunun 0-6. Ay stabilite bulguları

| Ölçülen Parametre | 0. Ay | | 1.Ay | | 3.Ay | |
|--|--|--|--|--|--|--|
| | %25±5C ° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C ° %60±5 | %40±5C° %75±5 |
| Miktar Tayini (µg/mL) * | 19.11± 1.69 | 19.11± 1.69 | 13.27± 0.58 | 13.07± 0.81 | 13.85± 1.09 | 13.92± 1.1 |
| Damlacık Boyutu(nm) | 231.1± 6.52 | 231.1± 6.52 | 191.9± 9.25 | 195.2± 9.87 | 190.1 ± 19.0 | 199.1± 10.52 |
| Kapsülün Dağılma Zamanı(sn) | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 |
| Kapsülün Görünüşü | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. |

(*Teorikte olması gereken 36.5 µg/mL'dir. Seyreltme faktörü 2174'dür)

Tablo 64 : F9A Avicel formülasyonunun 6-12. Ay stabilite bulguları

| Ölçülen Parametre | 6.Ay | | 9. Ay | | 12. Ay | |
|--|--|---|--|---|---|---|
| | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 |
| Miktar Tayini (µg/mL) * | 12.83± | 12.96± | 12.42± 0.87 | 12.65± | 12.22± | 12.03± |
| Damlacık | 218.8±17.8 | 260.3± | 200.4±10.62 | 215.7± | 203.1± | 226.8± |
| Boyutu(nm) | | 26.4 | | 12.9 | 16.1 | 9.26 |
| Kapsülün Dağılma Zamanı(sn) | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 |
| Kapsülün Görünüşü | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. |

(*Teorikte olması gereken 36.5 µg/mL'dir. Seyreltme faktörü 2174'dür)

Tablo 65 : F9A HPMC formülasyonunun 0-6. Ay stabilite bulguları.

| Ölçülen Parametre | 0. Ay | | 1.Ay | | 3.Ay | |
|--|--|--|--|--|--|--|
| | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 |
| Miktar Tayini (µg/mL) * | 19.678± 2.49 | 19.678± 2.49 | 14.944± 0.92 | 15.23± 0.53 | 13.14± 1.68 | 12.276± 2.01 |
| Damlacık | 293.2± | 293.2± | 261.9± | 262.3± | 274.7± | 243.0± |
| Boyutu(nm) | 21.56 | 21.56 | 15.95 | 18.25 | 14.21 | 23.3 |
| Kapsülün Dağılma Zamanı(sn) | 180 | 180 | 180 | 180 | 180 | 180 |
| Kapsülün Görünüşü | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. |

(*Teorikte olması gereken 32 µg/mL'dir. Seyreltme faktörü 2500'dür.)

Tablo 66 : F9A HPMC formülasyonunun 6-12. Ay stabilite bulguları.

| Ölçülen Parametre | 6.Ay | | 9. Ay | | 12. Ay | |
|------------------------------------|--|--|---|---|--|--|
| | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 | %25±5C° %60±5 | %40±5C° %75±5 |
| Miktar Tayini (µg/mL) * | 13.10± 1.24 | 12.19± 0.92 | 13.05± 1.62 | 12.98± 0.83 | 13.16± 1.21 | 12.78± 0.99 |
| Damlacık | 231.8± | 191.9± | 242.8± | 203.2± | 236.1± | 195.9± |
| Boyutu(nm) | 22.6 | 15.7 | 12.4 | 16.4 | 17.2 | 18.1 |
| Kapsülün | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 | 150 |
| Dağılma Zamanı (sn) | | | | | | |
| Kapsülün Görünüşü | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. | Renk ya da şekil değişimi yoktur. |

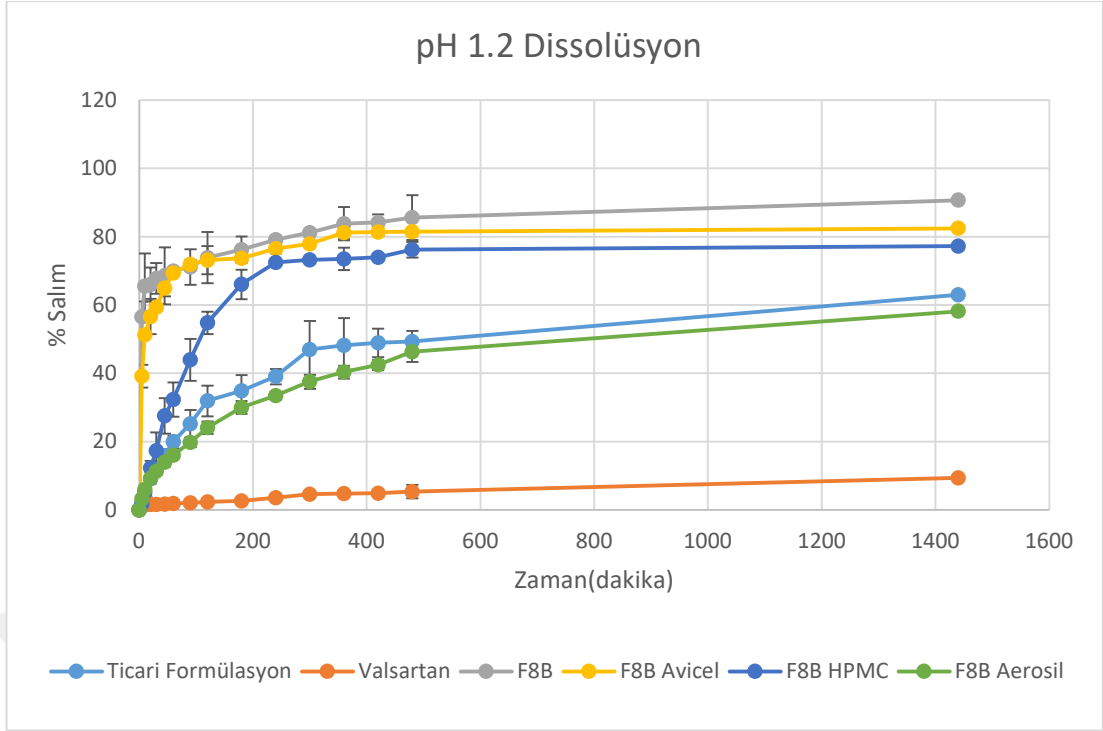
(*Teorikte olması gereken 32 µg/mL'dir. Seyreltme faktörü 2500'dür.)

4.7. In Vitro Salım Çalışmaları

Yöntem 3.2.7'de anlatıldığı gibi geliştirilen lipid bazlı formülasyonlarının, ticari formülasyonun ve etkin maddenin in vitro salım çalışmaları döner palet yöntemi ile 1000 mL ortamda (pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8) 37±1°C'de 50 rpm'de yapıldı. Her bir fomülasyon için 3 paralel salım çalışması yapıldı. Yapılan çalışmaların sonuçları Tablo 67-72'de ve Şekil 21-26'da gösterilmiştir.

Tablo 67 :Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC, F8B Aerosil formülasyonlarının pH 1.2'deki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS).

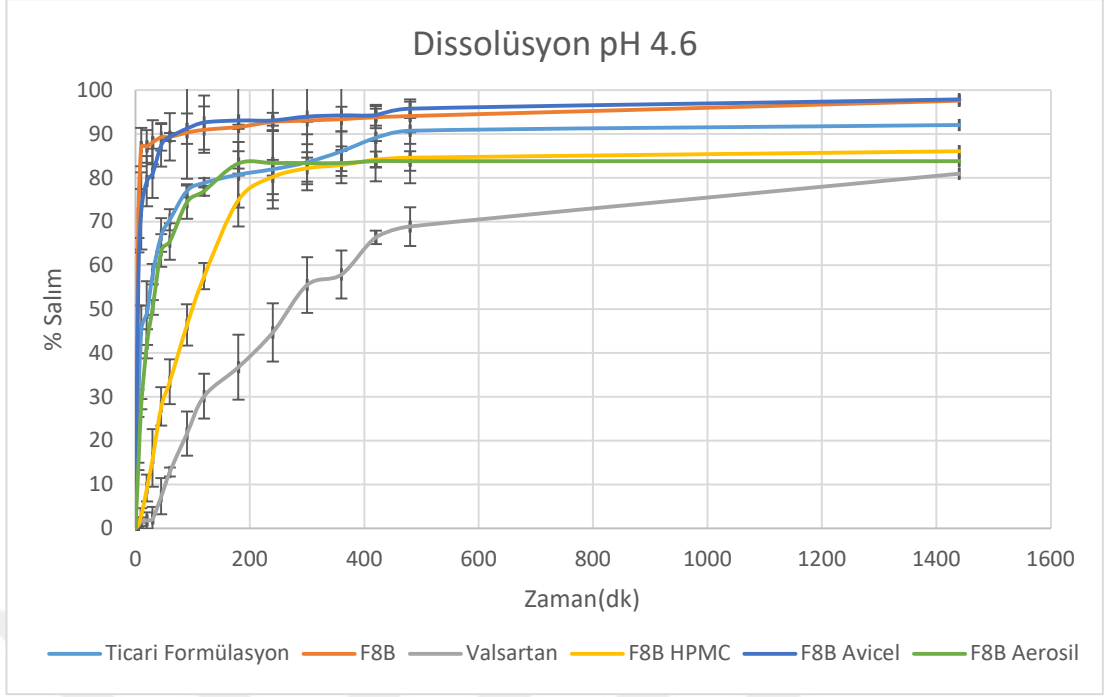
| Zaman (dk) | Ticari formülasyon (%) | Valsartan (%) | F8B (%) | F8B Avicel (%) | F8B HPMC (%) | F8B Aerosil (%) |
|------------|------------------------|-----------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 2.035± 0.345 | 1.195± 0.61 | 56.511± 0.325 | 39.193± 2.209 | 1.738± 0.499 | 3.262± 0.376 |
| 10 | 3.646± 0.362 | 1.411± 0.109 | 65.549± 4.588 | 51.230± 3.34 | 5.150± 0.947 | 6.042± 0.593 |
| 20 | 9.089± 0.799 | 1.549± 0.058 | 66.038± 9.573 | 56.664± 0.785 | 12.319± 1.82 | 9.325± 1.3 |
| 30 | 11.802± 0.57 | 1.625± 0.059 | 67.798± 4.954 | 59.300± 5.166 | 17.303± 2.094 | 11.294± 1.647 |
| 45 | 15.837± 1.033 | 1.702± 0.164 | 68.585± 4.502 | 64.926± 0.753 | 27.539± 5.408 | 13.958± 0.956 |
| 60 | 19.948± 1.97 | 1.894± 0.059 | 69.921± 8.373 | 69.325± 2.318 | 32.349± 5.195 | 16.028± 1.294 |
| 90 | 25.258± 1.888 | 2.066± 0.18 | 71.170± 0.22 | 71.946± 0.659 | 43.965± 4.988 | 19.766± 1.071 |
| 120 | 31.918± 4.04 | 2.296± 0.160 | 73.887± 5.199 | 73.154± 1.299 | 54.795± 6.131 | 24.050± 1.366 |
| 180 | 34.870± 4.498 | 2.660± 0.188 | 76.226± 7.494 | 73.667± 4.088 | 66.076± 3.317 | 30.030± 1.837 |
| 240 | 39.049± 4.595 | 3.590± 0.208 | 79.091± 3.877 | 76.459± 0.967 | 72.421± 4.317 | 33.500± 1.90 |
| 300 | 46.994± 2.248 | 4.606± 0.23 | 81.199± 1.298 | 77.898± 1.299 | 73.23± 0.619 | 37.564± 1.118 |
| 360 | 48.183± 8.352 | 4.794± 0.311 | 83.806± 1.112 | 81.147± 0.0199 | 73.513± 0.199 | 40.381± 2.046 |
| 420 | 48.949± 8.04 | 4.855± 0.493 | 84.223± 4.876 | 81.353± 1.83 | 73.973± 3.277 | 42.499± 1.883 |
| 480 | 49.294± 4.18 | 5.354± 0.342 | 85.618± 2.358 | 81.506± 1.039 | 76.187± 0.47 | 46.271± 1.458 |
| 1440 | 62.999± 3.158 | 9.417± 1.976 | 90.736± 6.595 | 82.484± 0.599 | 77.251± 2.278 | 58.188± 2.938 |



Şekil 21 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC, F8B Aerosil formülasyonlarının pH 1.2'deki dissolüsyon grafiği.

Tablo 68 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC, F8B Aerosil formülasyonlarının pH 4.6'daki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS).

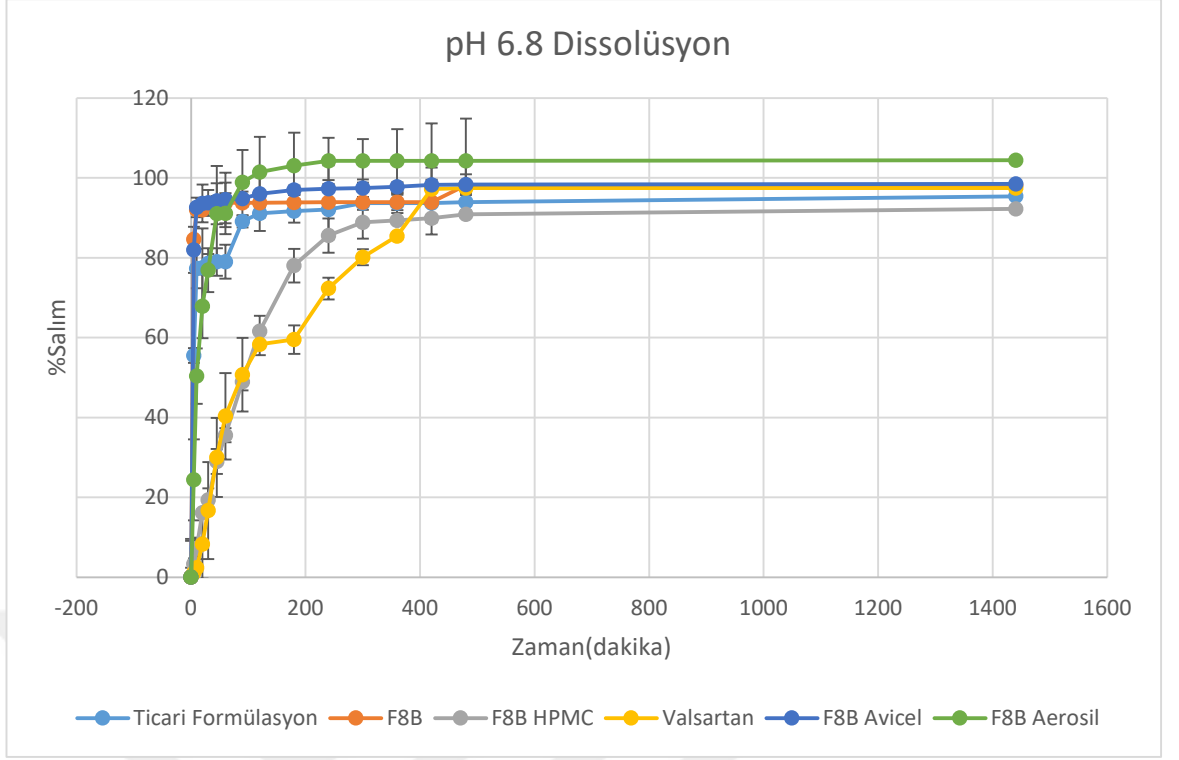
| Zaman (dk) | Ticari formülasyon (%) | Valsartan (%) | F8B (%) | F8B Avicel (%) | F8B HPMC (%) | F8B Aerosil (%) |
|------------|------------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 28.588± 25.959 | 0.654± 0.122 | 71.855± 2.583 | 56.923± 23.182 | 1.0155± 0.449 | 14.180± 1.424 |
| 10 | 45.423± 3.173 | 1.556± 0.828 | 87.022± 5.615 | 72.437± 6.035 | 2.986± 0.625 | 28.372± 0.83 |
| 20 | 49.169± 5.467 | 1.825± 0.948 | 87.161± 4.376 | 79.265± 14.788 | 9.222± 1.65 | 42.139± 1.142 |
| 30 | 58.033± 7.254 | 2.255± 1.874 | 88.132± 3.697 | 81.055± 5.735 | 16.114± 3.06 | 50.401± 3.3305 |
| 45 | 66.951± 2.316 | 7.389± 2.676 | 89.260± 5.03 | 87.554± 11.615 | 27.854± 6.596 | 63.426± 1.672 |
| 60 | 70.439± 1.84 | 12.885± 4.138 | 89.326± 3.017 | 89.358± 4.962 | 33.479± 4.401 | 65.489± 3.761 |
| 90 | 77.045± 2.433 | 21.659± 0.989 | 90.324±0.939 | 91.218±1 0.426 | 46.441± 5.101 | 74.436± 4.161 |
| 120 | 78.866± 1.515 | 30.204 ±5.0268 | 90.993± 12.53 | 92.624± 13.502 | 57.59± 4.70 | 77.045± 3.795 |
| 180 | 80.713± 1.08 | 36.809± 5.13 | 91.625± 5.293 | 93.101± 6.175 | 74.954± 3.00 | 83.297± 1.099 |
| 240 | 81.961± 12.469 | 44.719± 7.411 | 92.75± 0.479 | 93.115± 10.951 | 80.190± 6.031 | 83.400± 2.798 |
| 300 | 83.557± 28.944 | 55.544± 6.654 | 93.048± 2.098 | 93.985± 12.569 | 82.179± 3.899 | 83.400± 8.483 |
| 360 | 86.074± 6.417 | 57.949± 6.38 | 93.394± 0.239 | 94.245± 9.402 | 82.956± 3.63 | 84.400± 4.276 |
| 420 | 89.136± 4.537 | 66.442± 5.458 | 93.838± 2.818 | 94.296± 12.13 | 84.178± 4.196 | 83.830± 2.93 |
| 480 | 90.759± 11.670 | 68.875± 1.533 | 94.077± 2.532 | 95.788± 2.394 | 84.596± 1.838 | 83.830± 4.596 |
| 1440 | 92.06± 3.028 | 80.958± 14.39 | 97.58± 3.305 | 97.90± 2.109 | 86.06± 5.81 | 83.830± 2.24 |



Şekil 22 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC, F8B Aerosil formülasyonlarının pH 4.6'daki dissolüsyon grafiği.

Tablo 69 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC, F8B Aerosil formülasyonlarının pH 6.8'deki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS).

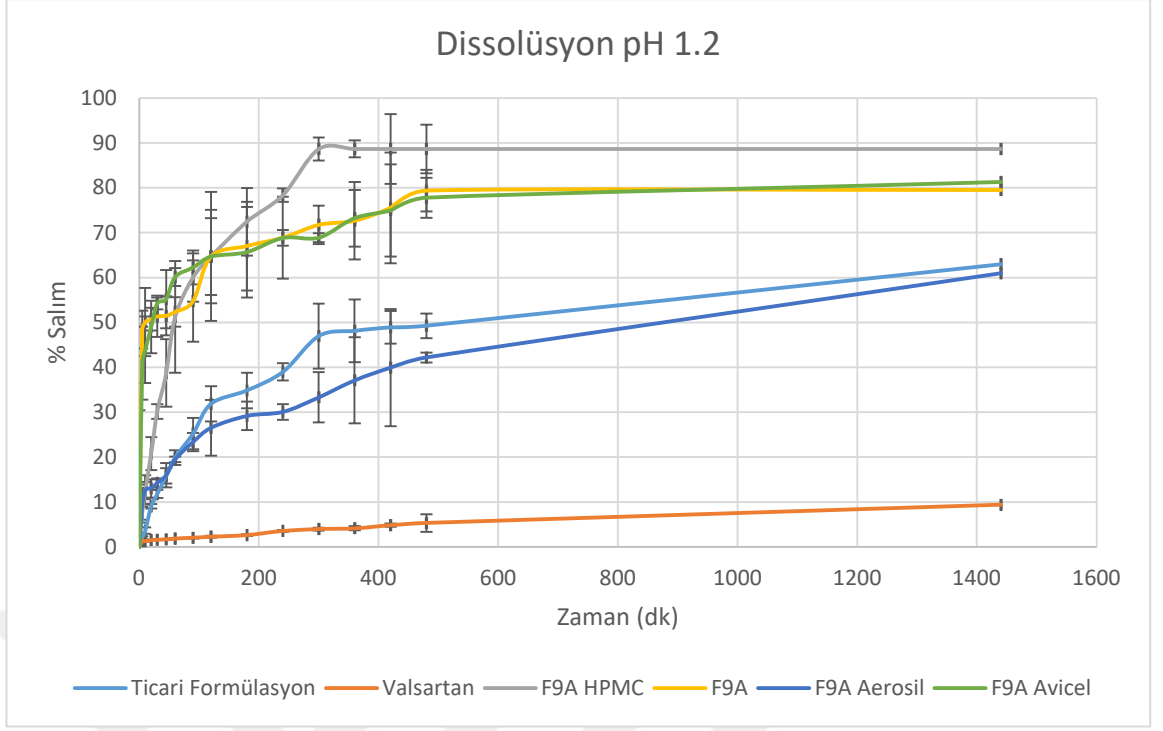
| Zaman (dk) | Ticari formülasyon (%) | Valsartan (%) | F8B (%) | F8B Avicel (%) | F8B HPMC (%) | F8B Aerosil (%) |
|------------|------------------------|-------------------|-------------------|----------------|-----------------|--------------------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 55.55± 2.387 | 1.064± 0.543 | 84.605± 12.646 | 82.014± 9.109 | 3.353± 0.882 | 24.40± 0.979 |
| 10 | 77.304± 1.83 | 2.383± 1.379 | 92.033± 0.419 | 92.640± 5.785 | 7.272± 1.336 | 50.361± 10.11 |
| 20 | 77.501± 4.941 | 8.281± 4.528 | 92.033± 0.579 | 93.643± 2.458 | 16.156± 2.68 | 67.869± 15.927 |
| 30 | 78.651± 9.871 | 16.730± 8.599 | 93.446± 0.419 | 93.770± 4.756 | 19.349± 0.604 | 76.94± 25.959 |
| 45 | 78.979± 2.357 | 30.004± 12.129 | 93.542± 1.086 | 94.273± 3.277 | 29.005± 2.954 | 91.055± 32.494 |
| 60 | 79.046± 3.437 | 40.357± 14.903 | 93.757± 5.136 | 94.545± 1.199 | 35.589± 3.107 | 91.10± 29.956 |
| 90 | 89.136± 4.211 | 50.747± 10.826 | 93.757± 5.096 | 94.837± 6.814 | 48.919± 1.789 | 98.872± 41.146 |
| 120 | 91.151± 1.464 | 58.321± 9.19 | 93.756± 0.925 | 96.046± 1.778 | 61.599± 2.102 | 101.48± 44.16 |
| 180 | 91.656± 4.416 | 59.532± 2.698 | 93.85± 2.997 | 96.964± 5.915 | 78.029± 3.877 | 103.07± 44.84 |
| 240 | 92.075± 2.794 | 72.348± 3.537 | 93.914± 1.958 | 97.289± 1.139 | 85.603± 4.197 | 104.28± 44.3 |
| 300 | 93.658± 7.44 | 80.177± 2.7178 | 93.914± 0.479 | 97.455± 5.872 | 88.895± 4.296 | 104.284± 32.773 |
| 360 | 93.659± 1.62 | 85.439± 1.978 | 93.914± 0.16 | 97.752± 2.218 | 89.334± 4.037 | 104.284± 32.454 |
| 420 | 93.695± 2.437 | 97.190± 0.599 | 93.914± 1.938 | 98.292± 1.159 | 89.899± 0.5 | 104.289± 37.969 |
| 480 | 93.963± 4.776 | 97.473± 2.358 | 98.208± 0.0489 | 98.323± 4.356 | 90.869± 4.027 | 104.284± 39.423 |
| 1440 | 95.419± 2.066 | 97.473± 6.953 | 98.208± 0.799 | 98.511± 2.587 | 92.282± 0.648 | 104.453± 43.642 |



Şekil 23 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC, F8B Aerosil formülasyonlarının pH 6.8'deki dissolüsyon grafiği.

Tablo 70 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A HPMC, F9A Aerosil, F9A Avicel formülasyonlarının pH 1.2'deki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS).

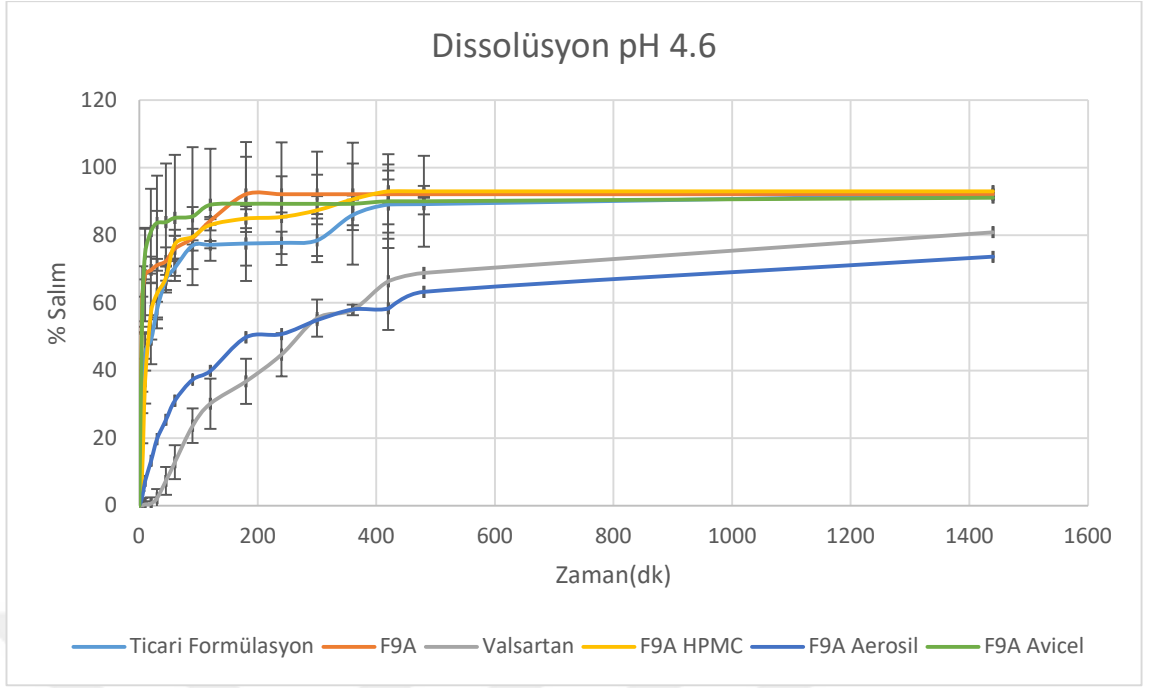
| Zaman (dk) | Ticari formülasyon (%) | Valsartan (%) | F9A (%) | F9A Avicel (%) | F9A HPMC (%) | F9A Aerosil (%) |
|------------|------------------------|-----------------|-------------------|-------------------|---------------------|-----------------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 2.035± 0.345 | 1.195± 0.61 | 48.451± 13.927 | 40.974± 30.447 | 7.479± 2.236 | 9.281± 2.594 |
| 10 | 3.646± 0.362 | 1.41± 0.109 | 50.119± 4.219 | 43.942± 8.129 | 12.578± 1.426 | 12.73± 3.867 |
| 20 | 9.089± 0.799 | 1.549± 0.058 | 50.751± 7.602 | 49.045± 7.415 | 20.839± 1.915 | 13.062± 3.296 |
| 30 | 11.802± 0.57 | 1.625± 0.059 | 51.394± 2.53 | 54.269± 5.853 | 30.184± 3.67 | 14.284± 2.033 |
| 45 | 15.837± 1.033 | 1.702± 0.164 | 51.518± 4.593 | 55.208± 1.32 | 38.771± 1.625 | 15.989± 1.015 |
| 60 | 19.948± 1.97 | 1.894± 0.059 | 52.366± 4.325 | 60.163± 6.500 | 51.259± 7.523 | 19.526± 2.708 |
| 90 | 25.257± 1.889 | 2.066± 0.18 | 54.796± 3.294 | 62.274± 2.021 | 60.04786± 12.464 | 23.389± 0.636 |
| 120 | 31.918± 4.04 | 2.297± 0.160 | 64.734± 9.064 | 64.725± 3.779 | 64.729± 5.358 | 26.561± 2.032 |
| 180 | 34.870± 4.499 | 2.660± 0.188 | 67.058± 14.387 | 65.702± 10.408 | 72.488± 8.58 | 29.216± 6.218 |
| 240 | 39.049± 4.594 | 3.590± 0.208 | 68.942± 9.887 | 68.884± 10.100 | 78.415± 7.53 | 30.107± 3.174 |
| 300 | 46.994± 2.248 | 4.606± 0.23 | 71.779± 19.138 | 68.927± 1.761 | 88.694± 1.505 | 33.356± 1.739 |
| 360 | 48.183± 8.352 | 4.794± 0.311 | 72.708± 22.313 | 73.260± 0.99 | 88.694± 2.551 | 37.142± 5.592 |
| 420 | 48.949± 8.04 | 4.855± 0.493 | 75.564± 8.664 | 75.008± 6.310 | 88.694± 1.897 | 39.979± 9.590 |
| 480 | 49.295± 4.18 | 5.354± 0.342 | 79.417± 12.362 | 77.811± 10.280 | 88.694± 7.749 | 42.231± 13.05 |
| 1440 | 62.999± 3.157 | 9.417± 1.976 | 79.570± 4.605 | 81.324± 4.477 | 88.694± 5.401 | 60.987± 1.11 |



Şekil 24 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A HPMC, F9A Aerosil, F9A Avicel formülasyonlarının pH 1.2'deki dissolüsyon grafiği.

Tablo 71 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A HPMC, F9A Aerosil, F9A Avicel formülasyonlarının pH 4.6'daki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS).

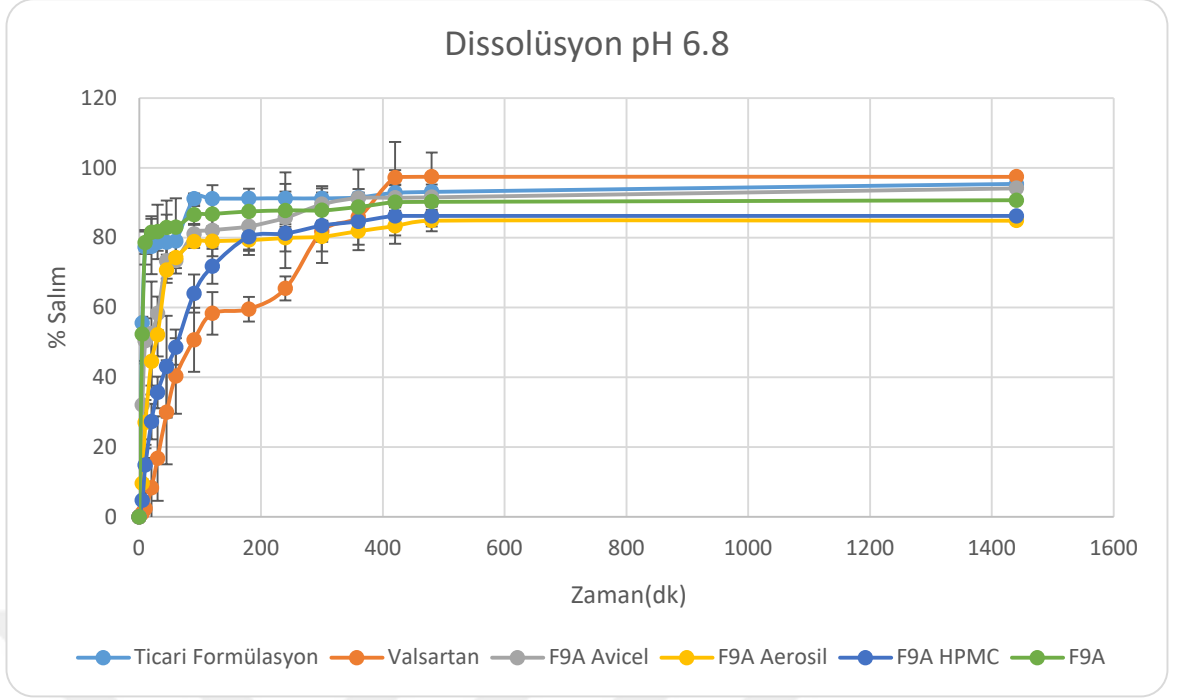
| Zaman (dk) | Ticari formülasyon (%) | Valsartan (%) | F9A (%) | F9A Avicel (%) | F9A HPMC (%) | F9A Aerosil (%) |
|------------|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 28.588± 25.959 | 0.654± 0.122 | 61.146± 5.707 | 57.394± 1.417 | 10.406± 4.396 | 2.579± 1.933 |
| 10 | 45.423± 3.173 | 1.556± 0.828 | 68.283± 9.763 | 74.630± 1.181 | 36.865± 8.110 | 7.362± 4.463 |
| 20 | 49.169± 5.467 | 1.825± 0.948 | 69.785± 13.705 | 81.254± 4.579 | 57.598± 6.599 | 13.357± 7.608 |
| 30 | 58.033± 7.254 | 2.255± 1.874 | 71.198± 3.932 | 83.650± 5.287 | 62.779± 8.427 | 19.722± 12.52 |
| 45 | 66.951± 2.316 | 7.389± 2.676 | 72.394± 16.067 | 83.931± 6.521 | 67.432± 10.287 | 25.449± 14.064 |
| 60 | 70.439± 1.84 | 12.885± 4.138 | 76.101± 4.112 | 85.191± 10.129 | 77.415± 3.59 | 31.111± 17.355 |
| 90 | 77.045± 2.433 | 21.659± 0.989 | 79.19± 3.732 | 85.676± 7.350 | 79.626± 4.293 | 37.356± 18.643 |
| 120 | 78.866± 1.515 | 30.204 ±5.0268 | 84.298± 9.215 | 89.049± 8.523 | 83.123± 2.297 | 39.937± 20.402 |
| 180 | 80.713± 1.08 | 36.809± 5.13 | 92.152± 1.145 | 89.386± 9.946 | 84.945± 1.653 | 49.836± 16.584 |
| 240 | 81.961± 12.469 | 44.719± 7.411 | 92.152± 11.112 | 89.386± 9.054 | 85.445± 2.761 | 50.779± 18.274 |
| 300 | 83.557± 28.944 | 55.544± 6.654 | 92.152± 5.355 | 89.386± 1.943 | 87.453± 0.049 | 54.933± 18.108 |
| 360 | 86.075± 6.417 | 57.949± 6.38 | 92.152± 5.830 | 89.386± 9.806 | 90.6432± 4.188 | 58.060± 15.435 |
| 420 | 89.136± 4.537 | 66.442± 5.458 | 92.152± 9.165 | 90.131± 2.113 | 93.068± 1.125 | 58.403± 18.043 |
| 480 | 90.759± 11.670 | 68.876± 1.533 | 92.152± 8.850 | 90.131± 5.652 | 93.068± 3.437 | 63.278± 13.876 |
| 1440 | 92.060± 3.028 | 80.958± 14.39 | 92.152± 0.979 | 91.186± 6.036 | 93.068± 1.578 | 73.677± 13.444 |



Şekil 25 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A HPMC, F9A Aerosil, F9A Avicel formülasyonlarının pH 4.6'daki dissolüsyon grafiği.

Tablo 72 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A HPMC, F9A Aerosil, F9A Avicel formülasyonlarının pH 6.8'deki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS).

| Zaman (dk) | Ticari formülasyon (%) | Valsartan (%) | F9A (%) | F9A Avicel (%) | F9A HPMC (%) | F9A Aerosil (%) |
|------------|------------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 55.552± 2.387 | 1.064± 0.543 | 52.387± 7.21 | 32.095± 19.314 | 4.738± 1.597 | 9.618± 8.978 |
| 10 | 77.304± 1.83 | 2.383± 1.379 | 78.566± 2.791 | 50.427± 12.645 | 14.837± 6.124 | 27.083± 3.821 |
| 20 | 77.501± 4.941 | 8.280± 4.528 | 81.591± 3.203 | 52.566± 6.497 | 27.328± 4.809 | 44.586± 6.381 |
| 30 | 78.651± 9.871 | 16.730± 8.599 | 81.711± 4.618 | 58.312± 14.937 | 35.646± 5.082 | 52.169± 9.539 |
| 45 | 78.979± 2.357 | 30.004± 12.129 | 82.911± 7.790 | 73.404± 4.823 | 43.060± 4.542 | 70.719± 6.19 |
| 60 | 79.046± 3.437 | 40.357± 14.903 | 83.031± 7.745 | 73.451± 5.156 | 48.618± 14.559 | 74.270± 3.647 |
| 90 | 89.136± 4.211 | 50.747± 10.826 | 86.564± 8.239 | 81.124± 2.129 | 64.039± 5.053 | 78.839± 4.511 |
| 120 | 91.151± 1.464 | 58.321± 9.19 | 86.807± 2.588 | 82.113± 2.602 | 71.793± 5.449 | 79.018± 1.721 |
| 180 | 91.656± 4.416 | 59.532± 2.698 | 87.553± 3.67 | 83.257± 4.631 | 80.262± 5.020 | 79.329± 4.293 |
| 240 | 92.075± 2.794 | 72.348± 3.537 | 87.830± 3.469 | 85.744± 8.168 | 81.232± 3.981 | 79.951± 2.700 |
| 300 | 93.658± 7.44 | 80.177± 2.7178 | 87.859± 5.376 | 89.616± 9.66 | 83.474± 1.89 | 80.332± 8.626 |
| 360 | 93.659± 1.62 | 85.439± 1.978 | 88.824± 6.923 | 91.368± 0.631 | 84.692± 10.664 | 81.873± 4.271 |
| 420 | 93.695± 2.437 | 97.190± 0.599 | 90.209± 3.466 | 91.4875± 8.159 | 86.225± 8.25 | 83.361± 3.873 |
| 480 | 93.963± 4.776 | 97.473± 2.358 | 90.313± 1.434 | 91.594± 3.792 | 86.225± 5.540 | 84.934± 1.122 |
| 1440 | 95.419± 2.066 | 97.473± 6.953 | 90.746± 2.732 | 94.166± 2.623 | 86.224± 3.021 | 84.934± 3.069 |



Şekil 26 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A HPMC, F9A Aerosil, F9A Avicel formülasyonlarının pH 6.8'deki dissolüsyon grafiği.

4.7.1. *In Vitro* Salım Çalışmalarının Kinetik Değerlendirilmesi

Yöntem 3.2.7.1'de anlatıldığı gibi Valsartan etkin maddesinin ve ticari formülasyonunun salım çalışması sonrası hesaplanan % salım değerleri kinetik eşitlikler kullanılarak modellemeler yapılmıştır (Ege et al., 2001). Tablo 73-78'de tüm kinetik çalışmalar gösterilmiştir.

Tablo 73 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC ve F8B Aerosil formülasyonlarının pH 1.2’de salım kinetiği değerlendirme bulguları

| | Ticari formülasyon | Valsartan | F8B | F8B Avicel | F8B HPMC | F8B Aerosil |
|-------------------------|--|---|--|---|---|--|
| Sıfırıncı Derece | y=2.477x+19.533 r ² =0.618 res/n-2=590.494 | y=0.354x+1.774 r ² =0.931 res/n-2=3.999 | y=1.208x-69.590 r ² =0,352 res/n-2=4850.74 | y=1.25x+64.072 r ² =0.352 res/n-2=4850.74 | y=2.967x-34.661 r ² =0.397 res/n-2=1917.27 | y=2.282x+16.51 0 r ² =0.701 res/n-2=402.488 |
| Birinci Derece | y=-0.041x+4.384 r ² =0.734 res/n-2=112.584 | y=-0.004x+4.587 r ² =0.938 res/n-2=0.335 | y=-0.061x+3.415 r ² =0.792 res/n-2=24.262 | y=-0.043x+3.532 r ² =2.458 res/n-2=104.401 | y=-0.064x+4.092 r ² =0.473 res/n-2=471.317 | y=-0.036x+4.427 r ² =0.799 res/n-2=61.812 |
| Higuchi | y=14.779x+5.088 r ² =0,885 res/n-2=45.302 | y=1.807x+0.223 r ² =0.975 res/n-2=1.132 | y=7.172x-62.605 r ² =0.711 res/n-2=12.142 | y=8.407x+55.182 r ² =0.641 res/n-2=63.105 | y=19.746x+13.913 r ² =0.7067 res/n-2=258.259 | y=13.144x+3.99 5 r ² =0.936 res/n-2=18.929 |
| Langen-bucher | y=0.051x-0.118 r ² =0.947 res/n-2=26.629 | y=0.004x-0.008 r ² =0.738 res/n-2=1.396 | y=0.050x+0.144 r ² =0.926 res/n-2=8.051 | y=0.0548x+0.084 r ² =0.966 res/n-2=4.092 | y=0.089x-0.197 r ² =0.924 res/n-2=74.352 | y=0.043x-0.096 r ² =0.915 res/n-2=28.839 |
| Hixon Crowel | y=0.053x+0.329 r ² =0.694 res/n-2=465.746 | y=0.006x+0.027 r ² = 0.935 res/n-2=3.849 | y=0.054x+1.523 r ² =0.733 res/n-2=4520.152 | y=0.044x+1.378 r ² = 0.423 res/n-2= 4115.008 | y=0.075x+0.689 r ² =0.447 res/n-2=1478.334 | y=0.047x+0.269 r ² =0.766 res/n-2=317.995 |
| RRSBW | y= 0.703x-1.718 r ² = 0.954 res/n-2= 36.247 | y=0.373x-3.782 r ² = 0.909 res/n-2=0.567 | y=0.174x+ 0.242 r ² =0.949 res/n-2=4.933 | y=0.223x+0.056 r ² = 0.937 res/n-2= 8.911 | y=0.822x-1.201 r ² =0.904 res/n-2=92.25 | y= 0.586x-1.747 r ² =0.989 res/n-2= 7.649 |
| M. Langen-bucher | y= 0.112x+0.112 r ² =0.979 res/n-2=25.319 | y=0.038x+0.130 r ² =0.867 res/n-2= 0.770 | y=0.024x+0.796 r ² =0.964 res/n-2= 3.149 | y=0.0356x+0.717 r ² =0.907 res/n-2=17.834 | y=0.132x-0.119 r ² =0.921 res/n-2=230.94 | y=0.096x+0.164 r ² =0.994 res/n-2=4.31 |
| Hopfen-berg | y=-0.0003x+0.896 r ² =0.675 res/n-2=127.449 | y=0.991 r ² =0.934 res/n-2=0.352 | y=-0.0002x+ 0.551 r ² =0.704 res/n-2=28.824 | y=-0.0002x+ 0.592 r ² = 0.405 res/n-2= 106.016 | y=-0.0004x+ 0.792 r ² = 0.434 res/n-2= 468.763 | y=-0.0002x- 0.914 r ² =0.750 res/n-2=72.793 |
| BTa | y=0.675x-5.628 r ² =0.947 res/n-2=54.589 | y=0.371x-6.406 r ² =0.910 res/n-2= 0.564 | y=0.136x-1.623 r ² =0.957 res/n-2=4.071 | y=0.186x-1.985 r ² = 0.924 res/n-2=11.430 | y=0.767x-5.54 r ² = 0.890 res/n-2=114.077 | y= 0.563x-5.192 r ² = 0.986 res/n-2=12.612 |
| Peppas | y=0.621x+0.087 r ² =0.929 res/n-2=200.779 | y=0.367x-0.301 r ² = 0.911 res/n-2=0.557 | y=0.079x+1.711 r ² =0.964 res/n-2=3.001 | y=0.126x+1.581 r ² = 0.888 res/n-2= 22.966 | y=0.672x+0.164 r ² = 0.859 res/n-2= 1161.396 | y= 0.518x+ 0.266 r ² = 0.978 res/n-2= 38.873 |

Tablo 74 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC ve F8B Aerosil formülasyonlarının pH 4.6’da salım kinetiği değerlendirme bulguları.

| | Ticari Formülasyon | Valsartan | F8B | F8B Avicel | F8B HPMC | F8B Aerosil |
|-------------------------|---|---|---|---|--|---|
| Sıfırıncı Derece | $y=1.858x+64.075$ $r^2=0.359$ res/n-2=4982.08 | $y=3.721x+16.936$ $r^2=0.641$ res/n-2=638.072 | $y=0.559x+87.663$ $r^2=0.342$ res/n-2=8891.00 | $y=0.932x+83.588$ $r^2=0.266$ res/n-2=8457.29 | $y=3.463x+36.699$ $r^2=0.398$ res/n-2=2274.26 | $y=1.881x+58.758$ $r^2=0.251$ res/n-2=4402.45 |
| Birinci Derece | $y=-0.083x+3.482$ $r^2=0.574$ res/n-2=219.031 | $y=-0.076x+4.425$ $r^2=0.807$ res/n-2=169.743 | $y=-0.076x+2.491$ $r^2=0.755$ res/n-2=21.186 | $y=-0.101x-2.654$ $r^2=0.6122$ res/n-2=10.410 | $y=-0.089x+4.004$ $r^2=0.494$ res/n-2=653.752 | $y=-0.057x+3.559$ $r^2=0.325$ res/n-2=419.761 |
| Higuchi | $y=12.421x+50.988$ $r^2=0.648$ res/n-2=135.617 | $y=21.858x-4.186$ $r^2=0.889$ res/n-2=94.381 | $y=3.506x+84.119$ $r^2=0.5403$ res/n-2=16.676 | $y=6.421x+76.705$ $r^2=0.506$ res/n-2=64.112 | $y=23.034x+12.506$ $r^2=0.708$ res/n-2=349.767 | $y=13.583x+43.80$ $r^2=0.526$ res/n-2=264.759 |
| Langenbucher | $y=0.088x+0.031$ $r^2=0.978$ res/n-2=5.575 | $y=0.080x-0.229$ $r^2=0.855$ res/n-2=189.632 | $y=0.047x+0.33$ $r^2=0.887$ res/n-2=6.403 | $y=0.078x+0.169$ $r^2=0.958$ res/n-2=7.131 | $y=0.114x-0.272$ $r^2=0.908$ res/n-2=151.385 | $y=0.086x-0.061$ $r^2=0.912$ res/n-2=26.113 |
| Hixon Crowel | $y=0.075x+ 1.417$ $r^2= 0.497$ res/n-2= 3755.32 | $y=0.091x+0.279$ $r^2= 0.749$ res/n-2= 374.49 | $y=0.047x+2.349$ $r^2=0.609$ res/n-2=7280.89 | $y=0.066x+2.190$ $r^2=0.470$ res/n-2=6283.856 | $y=0.098x+0.774$ $r^2=0.460$ res/n-2=1588.527 | $y= 0.059x+ 1.306$ $r^2= 0.301$ res/n-2= 3616.048 |
| RRSBW | $y=0.353x+0.076$ $r^2=0.946$ res/n-2=14.41 | $y=1.128x-2.245$ $r^2= 0.955$ res/n-2= 45.469 | $y=0.137x+0.794$ $r^2=0.868$ res/n-2=6.808 | $y=0.240x+0.677$ $r^2=0.932$ res/n-2=9.781 | $y=0.997x-1.251$ $r^2=0.907$ res/n-2=92.747 | $y=0.436x-0.163$ $r^2= 0.843$ res/n-2= 61.94 |
| M. Langenbucher | $y=0.053x+0.641$ $r^2=0.891$ res/n-2=48.228 | $y= 0.162x-0.148$ $r^2= 0.951$ res/n-2= 88.280 | $y=0.012x+0.910$ $r^2=0.740$ res/n-2=8.816 | $y=0.025x+0.841$ $r^2=0.798$ res/n-2=26.205 | $y=0.151x+0.036$ $r^2=0.919$ res/n-2=371.846 | $y= 0.072x+ 0.524$ $r^2= 0.812$ res/n-2= 153.429 |
| Hopfenberg | $y=-0.0003x+0.584$ $r^2=0.46$ res/n-2=218.868 | $y=-0.0004x-0.911$ $r^2= 0.721$ res/n-2= 219.836 | $y=-0.0002x+0.347$ $r^2=0.536$ res/n-2=22.185 | $y=-0.0002x+0.388$ $r^2=0.408$ res/n-2=89.485 | $y=-0.0004x+0.77$ $r^2=0.444$ res/n-2=617.303 | $y=-0.0003x+ 0.618$ $r^2= 0.289$ res/n-2= 400.099 |
| BTa | $y=0.289x-2.406$ $r^2=0.924$ res/n-2=20.632 | $y=1.08x -7.822$ $r^2= 0.948$ res/n-2= 57.464 | $y=0.092x-1.034$ $r^2=0.839$ res/n-2=7.354 | $y=0.169x-1.444$ $r^2=0.894$ res/n-2=13.109 | $y=0.924x-6.249$ $r^2=0.889$ res/n-2=201.824 | $y= 0.378x-2.985$ $r^2= 0.821$ res/n-2= 80.638 |
| Peppas | $y=0.192x+1.454$ $r^2=0.860$ res/n-2=72.089 | $y= 0.995x- 0.814$ $r^2= 0.932$ res/n-2= 1385.316 | $y=0.037x+1.878$ $r^2=0.727$ res/n-2=9.034 | $y=0.079x+1.778$ $r^2=0.779$ res/n-2=29.197 | $y=0.801x-0.108$ $r^2=0.85$ res/n-2=2633.229 | $y= 0.285x+ 1.214$ $r^2= 0.766$ res/n-2= 267.321 |

Tablo 75 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel, F8B HPMC ve F8B Aerosil formülasyonlarının pH 6.8’de salım kinetiği değerlendirme bulguları.

| | Ticari formülasyon | Valsartan | F8B | F8B Avicel | F8B HPMC | F8B Aerosil |
|-------------------------|--|---|---|--|---|--|
| Sıfırncı Derece | y=0.965x+81.357 r ² =0.289 res/n-2=7727.69 | y=4.034x+36.134 r ² =0.482 res/n-2=2200.23 | y=0.308x+92.222 r ² =0,381 res/n-2=9819.50 | y=0.330x+93.696 r ² =0.238 res/n-2=10143.45 | y=3.622x+40.452 r ² =0.409 res/n-2=2639.99 | y=1.568x+80.255 r ² =0.166 res/n-2=7897.00 |
| Birinci Derece | y=-0.077x+2.779 r ² =0.476 res/n-2=87.185 | y=-0.178x+4.063 r ² =0.651 res/n-2=509.923 | y=-0.069x+2.046 r ² =0.615 res/n-2=5.637 | y=-0.079x+1.692 r ² =0.503 res/n-2=13.475 | y=-0.012x+3.901 r ² =0.535 res/n-2=693.962 | y=-0.368x+0.388 r ² =0.326 res/n-2=721.547 |
| Higuchi | y=6.602x+74.304 r ² =0.546 res/n-2=57.816 | y=25.637x+9.966 r ² =0.783 res/n-2=290.976 | y=1.793x+90.503 r ² =0.518 res/n-2=4.778 | y=2.2697x+91.266 r ² =0.452 res/n-2=9.952 | y=23.944x+15.394 r ² =0.719 res/n-2=347.644 | y=11.620x+62.17 r ² =0.386 res/n-2=342.350 |
| Langen-bucher | y=0.072x+0.169 r ² =0.916 res/n-2=13.163 | y=0.148x-0.389 r ² =0.848 res/n-2=345.552 | y=0.033x+0.456 r ² =0.653 res/n-2=3.089 | y=0.050x+0.420 r ² =0.904 res/n-2=3.229 | y=0.132x-0.314 r ² =0.901 res/n-2=215.048 | y=0.189x-9.174 r ² =0.878 res/n-2=28.463 |
| Hixon Crowel | y=0.058x+ 2.075 r ² = 0.411 res/n-2= 6158.719 | y= 0.152x+0.731 r ² = 0.614 res/n-2= 1016.130 | y=0.038x+2.666 r ² =0.557 res/n-2=8341.453 | y=0.041x+ 2.857 r ² = 0.413 res/n-2= 8486.278 | y= 0.118x+0.882 r ² = 0.489 res/n-2= 1655.01 | y=0.129x+2.707 r ² =0.281 res/n-2=4956.146 |
| RRSBW | y= 0.223x+0.593 r ² = 0.893 res/n-2= 14.699 | y=1.099x-1.201 r ² = 0.939 res/n-2= 53.788 | y=0.091x+0.984 r ² =0.653 res/n-2=3.131 | y=0.140x+ 1.082 r ² = 0.898 res/n-2= 3.237 | y= 0.857x-0.865 r ² =0.947 res/n-2= 36.92 | y=0.687x+0.968 r ² =0.879 res/n-2=17.832 |
| M. Langen-bucher | y= 0.025x+ 0.834 r ² = 0.799 res/n-2= 24.541 | y=0.157x+ 0.016 r ² = 0.933 res/n-2= 311.433 | y=0.005x+0.952 r ² =0.654 res/n-2=3.402 | y= 0.008x+0.947 r ² = 0.716 res/n-2= 5.002 | y= 0.135x+ 0.147 r ² = 0.935 res/n-2= 277.925 | y=0.056x+0.686 r ² =0.684 res/n-2=212.943 |
| Hopfen-berg | y=-0.0002x+0.416 r ² = 0.379 res/n-2= 84.303 | y=-0.0006x+ 0.779 r ² = 0.585 res/n-2= 500.375 | y=-0.0001x+0.278 r ² =0.518 res/n-2=5.805 | y=-0.0001x+0.241 r ² = 0.366 res/n-2=13.162 | y=-0.0005x+ 0.741 r ² = 0.468 res/n-2= 624.331 | y=- 0.0004x+0.329 r ² =0.247 res/n-2=511.769 |
| BTa | y= 0.161x-1.469 r ² = 0.867 res/n-2= 16.279 | y= 0.988x-6.489 r ² = 0.915 res/n-2= 936.122 | y=0.055x-0.756 r ² =0.667 res/n-2=3.212 | y=0.082x-0.814 r ² = 0.857 res/n-2= 3.633 | y= 0.767x-5.245 r ² = 0.933 res/n-2= 67.058 | y=0.410x-2.421 r ² =0.819 res/n-2=186.997 |
| Peppas | y= 0.08x+1.767 r ² = 0.781 res/n-2= 26.725 | y=0.826x-0.154 r ² = 0.856 res/n-2= 2868.631 | y=0.017x+1.937 r ² =0.651 res/n-2=3.416 | y=0.024x+ 1.929 r ² = 0.708 res/n-2= 5.088 | y= 0.623x+ 0.349 r ² = 0.896 res/n-2= 1146.572 | y=0.198x+1.518 r ² =0.645 res/n-2=293.119 |

Tablo 76 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A Avicel, F9A HPMC ve F9A Aerosil formülasyonlarının pH 1.2’de salım kinetiği değerlendirme bulguları.

| | Ticari formülasyon | Valsartan | F9A | F9A Avicel | F9A HPMC | F9A Aerosil |
|-------------------------|--|---|---|---|--|---|
| Sifirinci Derece | y=2.477x+19.533 r ² =0.618 res/n-2=590.494 | y=0.354x+1.774 r ² =0.931 res/n-2=3.999 | y=1.431x+56.567 r ² =0.556 res/n-2=3757.02 | y=1.473x+56.551 r ² =0.539 res/n-2=3763.41 | y=3.051x+45.801 r ² =0.382 res/n-2=3017.67 | y=2.116x+18.257 r ² =0.831 res/n-2=420.615 |
| Birinci Derece | y=-0.041x+4.384 r ² =0.734 res/n-2=112.584 | y=-0.004x+4.587 r ² =0.938 res/n-2=0.335 | y=-0.044+3.756 r ² =0.622 res/n-2=50.142 | y=-0.046x+3.759 r ² =0.674 res/n-2=58.377 | y=-0.095x+3.827 r ² =0.478 res/n-2=554.859 | y=-0.035x+4.414 r ² =0.927 res/n-2=20.846 |
| Higuchi | y=14.779x+5.088 r ² =0.885 res/n-2=45.302 | y=1.807x+0.223 r ² =0.975 res/n-2=1.132 | y=8.684x+47.977 r ² =0.823 res/n-2=25.872 | y=9.053x+47.513 r ² =0.82 res/n-2=28.696 | y=20.505x+24.13 r ² =0.694 res/n-2=295.838 | y=11.487x+7.833 r ² =0.985 res/n-2=3.114 |
| Langenbucher | y=0.051x-0.118 r ² =0.947 res/n-2=26.629 | y=0.004x-0.008 r ² =0.738 res/n-2=1.396 | y=0.046x+0.075 r ² =0.857 res/n-2=26.527 | y=0.049x+0.06 r ² =0.971 res/n-2=4.507 | y=0.115x-0.232 r ² =0.921 res/n-2=79.054 | y=0.036x-0.064 r ² =0.838 res/n-2=33.859 |
| Hixon Crowel | y=0.053x+0.329 r ² =0.694 res/n-2=465.746 | y=0.006x+0.027 r ² =0.935 res/n-2=3.849 | y=0.046x+1.138 r ² =0.600 res/n-2=3132.43 | y=0.048x+1.137 r ² =0.629 res/n-2=3117.487 | y=0.097x+0.984 r ² =0.451 res/n-2=2101.931 | y=0.045x+0.293 r ² =0.894 res/n-2=328.938 |
| RRSBW | y=0.703x-1.718 r ² =0.954 res/n-2=36.247 | y=0.373x-3.782 r ² =0.909 res/n-2=0.567 | y=0.192x-0.116 r ² =0.875 res/n-2=17.429 | y=0.216x-0.126 r ² =0.985 res/n-2=2.227 | y=0.672x-0.588 r ² =0.939 res/n-2=32.293 | y=0.394x-1.474 r ² =0.974 res/n-2=4.951 |
| M. Langenbucher | y=0.112x+0.112 r ² =0.979 res/n-2=25.319 | y=0.038x+0.130 r ² =0.867 res/n-2=0.770 | y=0.032x+0.707 r ² =0.880 res/n-2=15.974 | y=0.036x+0.686 r ² =0.982 res/n-2=3.398 | y=0.11x+0.295 r ² =0.922 res/n-2=184.218 | y=0.069x+0.311 r ² =0.966 res/n-2=7.085 |
| Hopfenberg | y=-0.0003x+0.896 r ² =0.675 res/n-2=127.449 | y=0.991 r ² =0.934 res/n-2=0.352 | y=-0.0002x+0.656 r ² =0.589 res/n-2=55.263 | y=-0.0002x+0.657 r ² =0.606 res/n-2=63.777 | y=-0.0004x+0.709 r ² =0.435 res/n-2=514.928 | y=-0.0002x+0.906 r ² =0.879 res/n-2=27.563 |
| BTa | y=0.675x-5.628 r ² =0.947 res/n-2=54.589 | y=0.371x-6.406 r ² =0.910 res/n-2=0.564 | y=0.164x-2.026 r ² =0.878 res/n-2=16.405 | y=0.183x-2.125 r ² =0.985 res/n-2=2.462 | y=0.594x-4.267 r ² =0.925 res/n-2=46.424 | y=0.374x-4.147 r ² =0.978 res/n-2=4.028 |
| Peppas | y=0.621x+0.087 r ² =0.929 res/n-2=200.779 | y=0.367x-0.301 r ² =0.911 res/n-2=0.557 | y=0.111x+1.567 r ² =0.883 res/n-2=15.286 | y=0.129x+1.531 r ² =0.978 res/n-2=4.711 | y=0.469x+0.737 r ² =0.886 res/n-2=529.476 | y=0.336x+0.705 r ² =0.982 res/n-2=2.384 |

Tablo 77 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A Avicel, F9A HPMC ve F9A Aerosil formülasyonlarının pH 4.6’da salım kinetiği değerlendirme bulguları.

| | Ticari formülasyon | Valsartan | F9A | F9A Avicel | F9A HPMC | F9A Aerosil |
|-------------------------|--|---|--|--|--|--|
| Sıfırıncı Derece | y=1.858x+64.075 r ² =0.359 res/n-2=4982.08 | y=3.721x+16.936 r ² =0.641 res/n-2=638.072 | y=1.092x+77.221 r ² =0,351 res/n-2=6967.89 | y=0.638x+81.958 r ² =0.196 res/n-2=7816.66 | y=1.981x+65.164 r ² =0.260 res/n-2=5342.77 | y=2.689x+27.700 r ² =0.531 res/n-2=1109.71 |
| Birinci Derece | y=-0.083x+3.482 r ² =0.574 res/n-2=219.031 | y=-0.076x+4.425 r ² =0.807 res/n-2=169.743 | y=-0.067x+2.988 r ² =0.384 res/n-2=83.079 | y=-0.04x+2.799 r ² =0.325 res/n-2=65.720 | y=-0.091x+3.346 r ² =0.470 res/n-2=439.985 | y=-0.053x+4.27 r ² =0.721 res/n-2=168.952 |
| Higuchi 8 | y=12.421x+50.98 r ² =0.648 res/n-2=135.617 | y=21.858x-4.186 r ² =0.889 res/n-2=94.381 | y=7.442x+69.291 r ² =0.656 res/n-2=46.289 | y=4.563x+76.962 r ² =0.404 res/n-2=49.056 | y=13.936x+50.04 r ² =0.517 res/n-2=288.974 | y=16.440x+11.352 r ² =0.843 res/n-2=80.210 |
| Langen-bucher | y=0.088x+0.031 r ² =0.978 res/n-2=5.575 | y=0.080x-0.229 r ² =0.855 res/n-2=189.632 | y=0.070x+0.132 r ² =0.876 res/n-2=13.435 | y=0.048x+0.258 r ² =0.843 res/n-2=16.394 | y=0.104x-0.079 r ² =0.956 res/n-2=21.707 | y=0.065x-0.135 r ² =0.973 res/n-2=19.660 |
| Hixon Crowel | y=0.075x+ 1.417 r ² = 0.497 res/n-2= 3755.318 | y=0.091x+0.279 r ² = 0.749 res/n-2= 374.49 | y= 0.056x+ 1.887 r ² = 0.376 res/n-2= 5615.99 | y=0.033x+ 2.076 r ² = 0.278 res/n-2= 6850.423 | y= 0.081x+ 1.522 r ² = 0.39 res/n-2= 4012.09 | y=0.065x+0.488 r ² =0.666 res/n-2=846.089 |
| RRSBW | y=0.353x+0.076 r ² =0.946 res/n-2=14.408 | y=1.128x-2.245 r ² = 0.954 res/n-2= 45.469 | y=0.223x+ 0.463 r ² = 0.891 res/n-2= 10.355 | y=0.153x+ 0.571 r ² = 0.791 res/n-2= 17.604 | y= 0.482x+0.031 r ² = 0.807 res/n-2= 71.339 | y=0.661x-1.294 r ² =0.929 res/n-2=38.071 |
| M. Langen-bucher | y=0.053x+0.641 r ² =0.891 res/n-2=48.228 | y=0.162x-0.148 r ² = 0.951 res/n-2= 88.280 | y= 0.026x+ 0.812 r ² = 0.907 res/n-2= 14.631 | y= 0.019x+ 0.858 r ² = 0.689 res/n-2= 24.979 | y= 0.073x+ 0.549 r ² = 0.726 res/n-2= 191.166 | y=0.1091x+0.191 r ² =0.957 res/n-2=47.689 |
| Hopfen-berg | y=-0.0003x+0.584 r ² =0.46 res/n-2=218.868 | y=-0.0004x-0.911 r ² = 0.721 res/n-2= 219.836 | y=-0.0002x+0.463 r ² = 0.371 res/n-2= 78.816 | y=-0.0001x+0.414 r ² = 0.256 res/n-2= 64.739 | y=-0.0003x+ 0.56 r ² = 0.361 res/n-2= 416.586 | y=-0.0003x+0.847 r ² =0.639 res/n-2=189.062 |
| BTa | y=0.289x-2.406 r ² =0.924 res/n-2=20.632 | y=1.08x -7.822 r ² = 0.948 res/n-2= 57.464 | y= 0.165x -1.579 r ² = 0.898 res/n-2= 10.088 | y=0.115x -1.289 r ² = 0.757 res/n-2= 19.21 | y=0.405x -2.946 r ² = 0.756 res/n-2= 93.586 | y=0.623x-5.015 r ² =0.915 res/n-2=56.729 |
| Peppas | y=0.192x+1.454 r ² =0.860 res/n-2=72.089 | y= 0.995x- 0.814 r ² = 0.932 res/n-2= 1385.316 | y= 0.086x+ 1.737 r ² = 0.909 res/n-2=15.862 | y=0.061x+ 1.802 r ² = 0.671 res/n-2= 26.595 | y= 0.290x+1.241 r ² = 0.645 res/n-2= 362.595 | y=0.555x+0.362 r ² =0.884 res/n-2=281.557 |

Tablo 78 : Ticari formülasyon, Valsartan, F9A, F9A Avicel, F9A HPMC ve F9A Aerosil formülasyonlarının pH 6.8’de salım kinetiği değerlendirme bulguları.

| | Ticari formülasyon | Valsartan | F9A | F9A Avicel | F9A HPMC | F9A Aerosil |
|-------------------------|--|---|---|---|--|--|
| Sıfırıncı Derece | y=0.965x+81.357 r ² =0.289 res/n-2=7727.69 | y=4.034x+36.134 r ² =0.482 res/n-2=2200.23 | y=0.669x+80.967 r ² =0.186 res/n-2=7642.14 | y=1.784x+67.849 r ² =0.335 res/n-2=5562.16 | y=32.736x+48.342 r ² =0.338 res/n-2=3277.27 | y=1.809x+59.762 r ² =0.223 res/n-2=4574.70 |
| Birinci Derece | y=-0.077x+2.779 r ² =0.476 res/n-2=87.185 | y=-0.178x+4.063 r ² =0.651 res/n-2=509.923 | y=-0.040x+2.857 r ² =0.349 res/n-2=77.367 | y=-0.093x+3.333 r ² =0.559 res/n-2=231.188 | y=-0.079x+3.782 r ² =0.437 res/n-2=556.626 | y=-0.055x+3.536 r ² =0.331 res/n-2=458.132 |
| Higuchi | y=6.602x+74.304 r ² =0.546 res/n-2=57.816 | y=25.637x+9.966 r ² =0.783 res/n-2=290.976 | y=4.709x+75.858 r ² =0.369 res/n-2=60.416 | y=12.095x+54.999 r ² =0.619 res/n-2=143.321 | y=18.841x+28.172 r ² =0.644 res/n-2=312.525 | y=13.064x+45.386 r ² =0.466 res/n-2=311.334 |
| Langenbucher | y=0.072x+0.169 r ² =0.916 res/n-2=13.163 | y=0.148x-0.389 r ² =0.848 res/n-2=345.552 | y=0.046x+0.259 r ² =0.799 res/n-2=27.451 | y=0.094x-0.028 r ² =0.972 res/n-2=9.698 | y=0.106x-0.189 r ² =0.939 res/n-2=37.406 | y=0.083x-0.042 r ² =0.879 res/n-2=56.229 |
| Hixon Crowel | y=0.058x+ 2.075 r ² = 0.411 res/n-2= 6158.719 | y= 0.152x+0.731 r ² = 0.614 res/n-2= 1016.130 | y= 0.034x+ 2.027 r ² = 0.289 res/n-2= 6685.349 | y= 0.079x+ 1.559 r ² = 0.476 res/n-2= 4127.761 | y=0.084x+1.044 r ² =0.404 res/n-2=2453.711 | y=0.055x+1.336 r ² =0.291 res/n-2=3798.068 |
| RRSBW | y= 0.223x+0.593 r ² = 0.893 res/n-2= 14.699 | y=1.0992x-1.201 r ² = 0.939 res/n-2= 53.788 | y= 0.154x+ 0.539 r ² = 0.723 res/n-2= 28.573 | y=0.355x+ 0.195 r ² = 0.944 res/n-2= 15.455 | y=0.657x-0.561 r ² =0.888 res/n-2=57.878 | y=0.456x-0.176 r ² =0.759 res/n-2=114.434 |
| M. Langenbucher | y= 0.025x+ 0.834 r ² = 0.799 res/n-2= 24.541 | y= 0.157x+ 0.016 r ² = 0.933 res/n-2= 311.433 | y= 0.019x+ 0.851 r ² = 0.605 res/n-2= 36.212 | y= 0.0507x+ 0.669 r ² = 0.878 res/n-2= 53.101 | y=0.107x+0.315 r ² =0.881 res/n-2=222.419 | y=0.075x+0.51 r ² =0.730 res/n-2=223.354 |
| Hopfenberg | y=-0.0002x+0.416 r ² = 0.379 res/n-2= 84.303 | y=-0.0006x+ 0.779 r ² = 0.585 res/n-2= 500.375 | y=-0.0001x+ 0.426 r ² = 0.260 res/n-2= 76.504 | y=-0.0003x+0.547 r ² = 0.437 res/n-2= 225.359 | y=-0.0004x+0.692 r ² =0.387 res/n-2=523.695 | y=-0.0003x+0.609 r ² =0.272 res/n-2=439.853 |
| BTa | y= 0.161x-1.469 r ² = 0.867 res/n-2= 16.279 | y= 0.988x-6.489 r ² = 0.915 res/n-2= 936.122 | y= 0.117x-1.323 r ² = 0.681 res/n-2= 30.257 | y= 0.283x-2.289 r ² = 0.920 res/n-2= 21.287 | y=0.587x-4.212 r ² =0.864 res/n-2=78.828 | y=0.4005x-3.093 r ² =0.731 res/n-2=141.487 |
| Peppas | y= 0.08x+1.767 r ² = 0.781 res/n-2= 26.725 | y=0.826x-0.154 r ² = 0.856 res/n-2= 2868.631 | y= 0.065x+ 1.789 r ² = 0.583 res/n-2= 38.292 | y= 0.178x+1.504 r ² = 0.851 res/n-2= 74.417 | y=0.472x+0.739 r ² =0.808 res/n-2=670.978 | y=0.310x+1.157 r ² =0.671 res/n-2=408.286 |

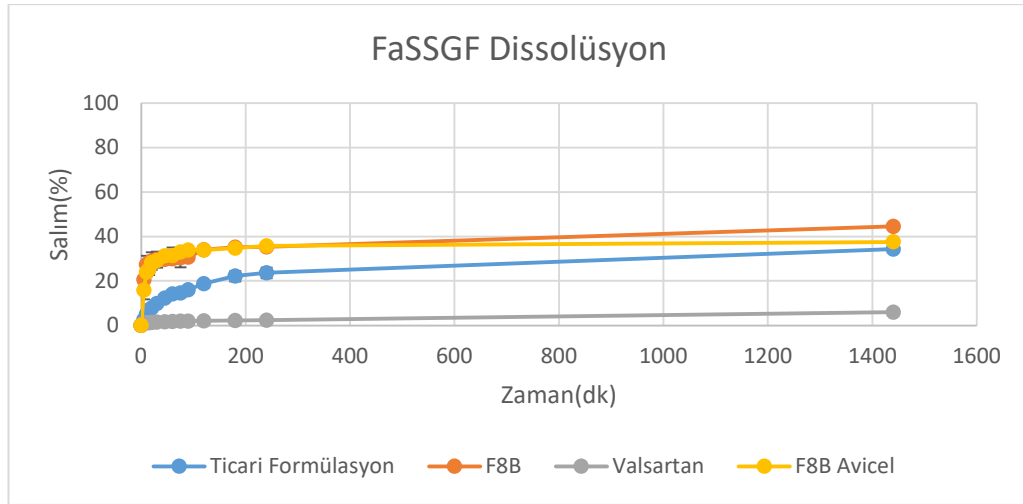
4.8.Açlık Tokluk Ortamlarında *In Vitro* Salım Çalışmaları

Yöntem 3.2.8’de anlatıldığı gibi in vitro salım çalışmaları sonucu seçilen SEDD (F8B), S-SEDD (F8B Avicel), Ticari formülasyon ve Valsartan ile açlık tokluk ortamlarında 2 saat boyunca döner palet yöntemiyle in vitro salım çalışmaları yapılmıştır. Ortam olarak FaSSIF pH 6.5, FeSSIF pH 5, FaSSGF pH 1.6 ortamları kullanılmıştır. Çalışmalar 3 paralel yapılmıştır. Çözünme ortamından numuneler

belirli zaman aralıklarında (0., 5., 10., 20., 30., 45., 60., 90., 120., 180., 240., 300., 360., 420., 480., 1440. dakikalarda) 0.45µ por boyutundaki membran filtreden süzülerek alındı. Alınan örneklerin HPLC’de miktar tayini yapılarak sonuçlar daha önce açıklık tokluk ortamlarında çizilmiş olan kalibrasyon eğrileriyle değerlendirildi. Sonuçlar Tablo 79-81 ve Şekil 27-29’da gösterilmiştir.

Tablo 79 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel formülasyonlarının FaSSGF ortamındaki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS).

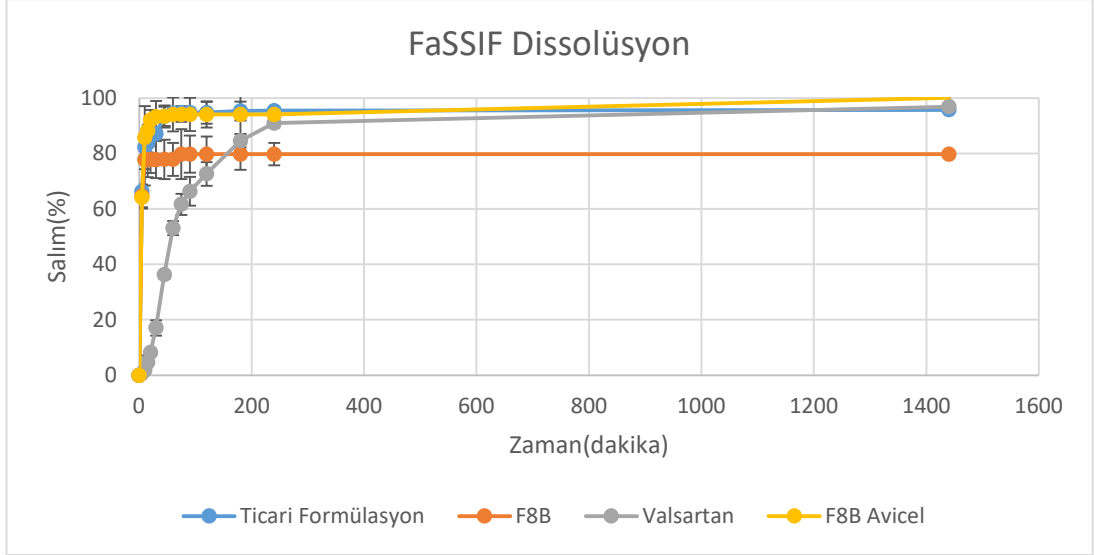
| Zaman(dk) | Ticari formülasyon | F8B | Valsartan | F8B Avicel |
|-----------|--------------------|---------------|--------------|---------------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 2.698± 0.699 | 20.609± 0.777 | 1.027± 0.154 | 15.921± 1.221 |
| 10 | 5.024± 0.649 | 27.379± 0.782 | 1.173± 0.150 | 24.007± 4.10 |
| 15 | 6.947± 0.590 | 28.252± 4.011 | 1.259± 0.37 | 25.269± 2.002 |
| 20 | 7.875± 0.925 | 29.035± 1.717 | 1.387± 0.09 | 28.207± 2.552 |
| 30 | 9.911± 1.225 | 29.655± 3.949 | 1.436± 0.007 | 29.179± 1.017 |
| 45 | 12.354± 1.026 | 29.773± 3.587 | 1.690± 0.047 | 31.279± 1.282 |
| 60 | 14.106± 1.369 | 30.003± 2.255 | 1.735± 0.131 | 31.415± 1.48 |
| 75 | 14.527± 1.668 | 30.388± 2.068 | 1.894± 0.241 | 33.004± 3.706 |
| 90 | 16.052± 1.690 | 30.745± 4.167 | 1.939± 0.139 | 33.863± 1.065 |
| 120 | 18.726± 1.148 | 33.986± 0.589 | 2.072± 0.139 | 33.894± 0.970 |
| 180 | 22.170± 1.669 | 35.257± 1.062 | 2.141± 0.251 | 34.759± 0.962 |
| 240 | 23.686± 2.315 | 35.284± 0.608 | 2.358± 0.263 | 35.755± 0.815 |
| 1440 | 34.348± 2.376 | 44.570± 0.902 | 6.010± 0.394 | 37.574± 0.815 |



Şekil 27 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel formülasyonlarının FaSSGF ortamındaki dissolüsyon grafiği

Tablo 80 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel formülasyonlarının FaSSIF ortamındaki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS).

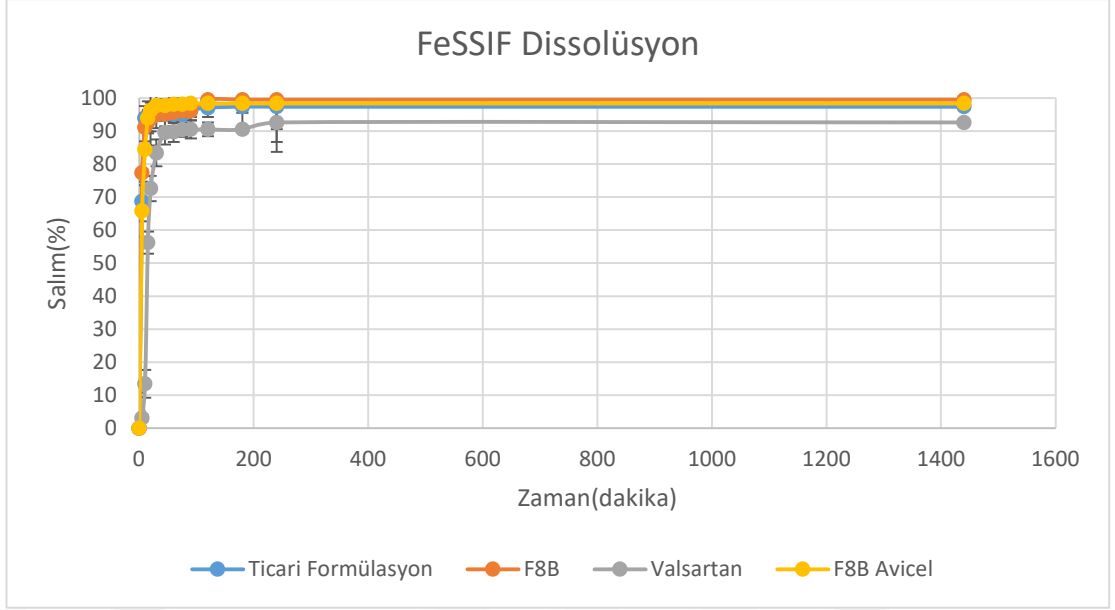
| Zaman (dk) | Ticari formülasyon | F8B | Valsartan | F8B Avicel |
|------------|--------------------|---------------|---------------|----------------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 66.386± 7.187 | 64.655± 4.595 | 0.692± 1.611 | 64.135± 5.259 |
| 10 | 82.326± 2.444 | 77.821± 4.027 | 1.864± 0.091 | 85.765± 3.974 |
| 15 | 83.741± 3.325 | 77.868± 9.364 | 4.655± 0.869 | 88.313± 11.347 |
| 20 | 86.181± 3.336 | 77.868± 6.389 | 8.268± 1.335 | 92.117± 2.118 |
| 30 | 87.174± 1.689 | 77.868± 4.827 | 17.120± 0.583 | 93.237± 3.634 |
| 45 | 93.419± 1.646 | 77.944± 6.692 | 36.291± 0.993 | 93.442± 5.759 |
| 60 | 94.583± 3.980 | 77.944± 7.09 | 53.098± 2.790 | 94.155± 3.458 |
| 75 | 94.739± 0.369 | 79.826± 5.983 | 61.723± 1.383 | 94.155± 6.087 |
| 90 | 94.739± 2.455 | 79.826± 9.049 | 66.386± 2.542 | 94.155± 2.610 |
| 120 | 94.739± 1.614 | 79.826± 6.743 | 72.676± 3.828 | 94.155± 6.042 |
| 180 | 95.403± 3.973 | 79.826± 6.399 | 84.659± 5.202 | 94.155± 4.716 |
| 240 | 95.457± 3.427 | 79.826± 5.599 | 91.024± 4.317 | 94.155± 9.143 |
| 1440 | 95.819± 1.325 | 79.826± 4.051 | 96.973± 2.405 | 100.169± 1.252 |



Şekil 28 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel formülasyonlarının FaSSIF ortamındaki dissolüsyon grafiği.

Tablo 81: Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel formülasyonlarının FaSSIF ortamındaki dissolüsyon sonuçları (%) (ortalama±SS).

| Zaman(dk) | Ticari formülasyon | F8B | Valsartan | F8B Avicel |
|-----------|--------------------|---------------|--------------|--------------|
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 68.733±5.319 | 77.397±10.85 | 3.125±10.847 | 65.832±9.567 |
| 10 | 93.967±6.020 | 91.173±1.0593 | 13.480±1.059 | 84.499±7.795 |
| 15 | 94.522±3.674 | 92.760±4.255 | 56.242±4.253 | 94.023±0.779 |
| 20 | 95.034±4.565 | 93.841±3.355 | 72.644±3.355 | 96.307±2.425 |
| 30 | 95.034±9.368 | 94.988±3.849 | 83.441±3.849 | 97.738±2.344 |
| 45 | 95.034±1.786 | 95.173±4.054 | 89.617±4.054 | 97.738±4.371 |
| 60 | 95.034±4.565 | 95.584±3.653 | 89.794±3.653 | 98.159±1.905 |
| 75 | 95.034±0.198 | 96.073±3.078 | 90.459±3.078 | 98.166±2.305 |
| 90 | 96.437±0.675 | 96.073±2.146 | 90.546±2.146 | 98.398±3.582 |
| 120 | 97.125±2.084 | 99.553±2.698 | 90.546±2.698 | 98.398±2.69 |
| 180 | 97.462±1.012 | 99.553±2.096 | 90.546±2.096 | 98.398±4.106 |
| 240 | 97.462±7.919 | 99.553±0.382 | 92.667±0.382 | 98.398±2.801 |
| 1440 | 97.462±10.758 | 99.553±8.944 | 92.667±8.944 | 98.398±1.881 |



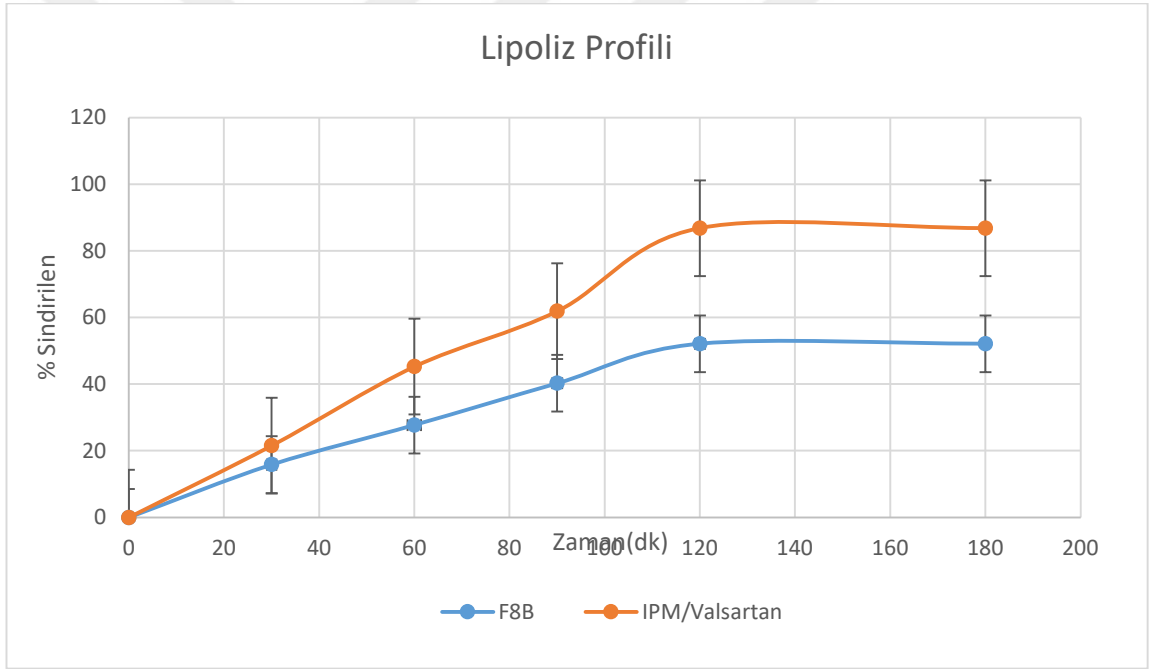
Şekil 29 : Ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel formülasyonlarının FeSSIF ortamındaki dissolüsyon grafiği.

4.9. *In vitro* Lipoliz Deneyi

Yöntem 3.2.9’da anlatıldığı gibi vitro lipoliz deneyi, pH kontrollü otomatik titratörde yapıldı. SEDD, S-SEDD formülasyonları ve sadece yağ ve etkin madde içeren formlarının lipolizi ayrı deneylerde belirlendi. Elde edilen bulgular Tablo 82, 83 ve Şekil 30, 31’de verilmiştir.

Tablo 82 : Zamana göre F8B ve IPM/Valsartanın zamana göre lipoliz olma yüzdeleri (ortalama±SS).

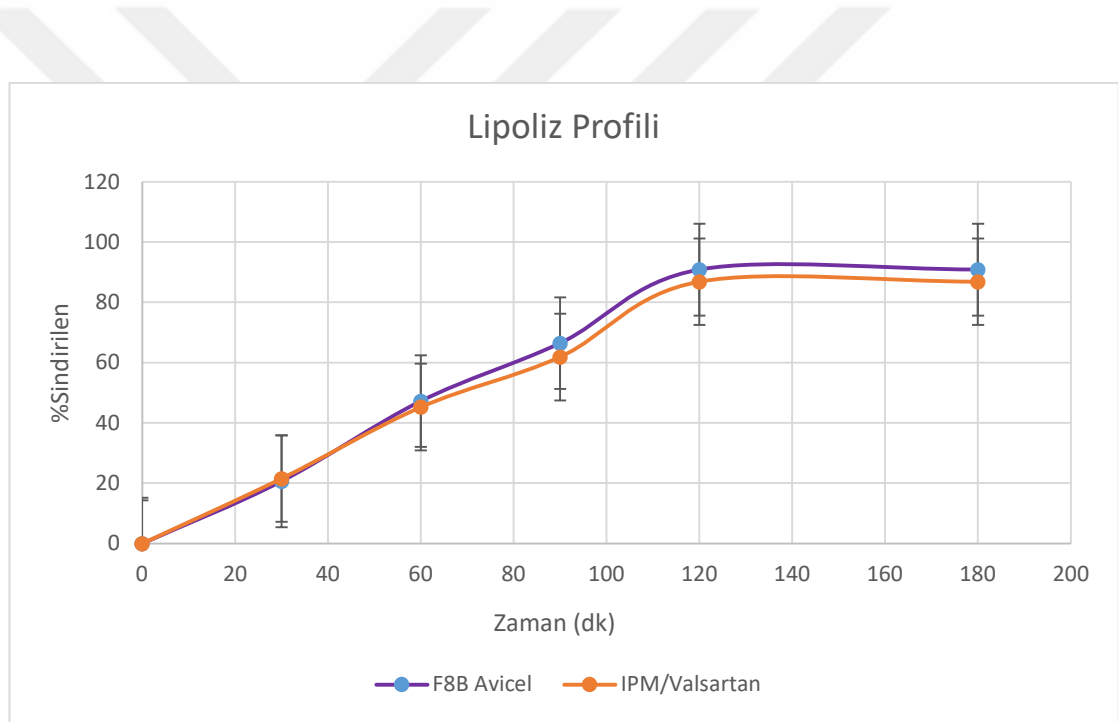
| Zaman(dk) | F8B (%) | IPM/Valsartan (%) |
|-----------|------------|-------------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 30 | 15.86±0.09 | 21.57±1.17 |
| 60 | 27.74±0.94 | 45.29±2.46 |
| 90 | 40.29±1.40 | 61.88±3.44 |
| 120 | 52.12±1.06 | 86.84±3.39 |
| 180 | 52.12±1.06 | 86.84±3.39 |



Şekil 30: F8B ve IPM/Valsartanın zamana göre lipoliz profil grafiği.

Tablo 83 : Zamana göre F8B Avicel ve IPM/Valsartanın zamana göre lipoliz olma yüzdeleri (ortalama±SS).

| Zaman (dk) | F8B Avicel (%) | IPM/Valsartan (%) |
|------------|----------------|-------------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 30 | 20.67±3.80 | 21.57±1.17 |
| 60 | 47.25±6.130 | 45.29±2.46 |
| 90 | 66.48±4.89 | 61.88±3.44 |
| 120 | 90.86±7.44 | 86.84±3.39 |
| 180 | 90.86±7.44 | 86.84±3.39 |



Şekil 31 : F8B Avicel ve IPM/Valsartanın zamana göre lipoliz profil grafiği.

Her bir zaman noktasında miktar tayini analizi için 1mL örnek alındı. Gerekli seyreltmeler yapılarak HPLC’de tayin edildi. Sonuçlar Tablo 84’de verilmiştir.

Tablo 84 : Lipoliz deneyinin HPLC miktar tayini sonuçları (ortalama±SS).

| Zaman (dk) | F8B (g/mL) | F8B Avicel (g/mL) | IPM/Valsartan (g/mL) |
|------------|------------|-------------------|----------------------|
| 0 | 3.4± 0.02 | 4.14±0.3 | 3.1±0.05 |
| 30 | 2.45± 0.01 | 2.92±0.05 | 2.14±0.06 |
| 60 | 2.37±0.01 | 2.87±0.02 | 2.12±0.03 |
| 90 | 2.35±0.01 | 2.86±0.052 | 2.1±0.05 |
| 120 | 2.3±0.045 | 2.85± 0.02 | 2.07±0.06 |
| 180 | 2.3± 0.04 | 2.85±0.02 | 2.07±0.07 |

4.10. *In Vitro* Permeabilite Çalışmaları

Yöntem 3.2.10'de anlatıldığı gibi *in vitro* permeabilite çalışmaları için hazırlanan eşit miktarda etkin madde içeren (40 µg/mL) lipid bazlı sistemleri (F8B, F8B Avicel), valsartan ve ticari dozaj formunun çalışmaları yapıp, permeabilite verileri hesaplanmıştır. Böylece hazırlanan yeni formülasyonların valsartanın permeabilitesi üzerine etkisi ticari formülasyonla karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

4.10.1. Caco-2 Hücrelerinin Pasajlanması

Yöntem 3.2.10.1'de anlatıldığı gibi *in vitro* permeabilite çalışmalarında, -80°C'de 1 mL'lik tüpte dondurularak saklanmış ve Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonundan (ATCC) gelen Caco-2 (Kolonik Adenokarsinoma Hücreleri) hücre grubu kullanılarak pasajlandı.

Caco-2 hücrelerinin polikarbonat membran filtre üzerine ekimi, laminar hava akımlı kabin altında hücre kültür süspansiyonu besiyeri ortamıyla yapıldı. 48 saatte bir besiyeri ortamı yenilendi.

4.10.2. Caco-2 Hücrelerinin Polikarbonat Filtre Üzerine Ekimi

Yöntem 3.2.10.2'de belirtildiği gibi +4°C'de saklanan fosfat tampon çözeltisi (PBS), tripsin-EDTA çözeltisi ve hücre kültürü besiyeri 37°C'ye ulaşana kadar su banyosunda bekletildi. Elde edilen hücre süspansiyonundan, küçük cam pipetler ile hücreler alınıp, ışık mikroskobu altında hemositometre ile hücre sayımı yapıldı. Hücre sayısı hesabı yapılarak yaklaşık 9 milyon hücre belirlendi çalışma için yeterli bulundu. Hücre

süspansiyonu, hücre kültürü çalışmalarında kullanılmak üzere apikal kısımdaki polikarbonat filtreler üzerine ekildi. Bazolateral kısma da besiyeri ortamı ilave edildi. Ekimden sonra, en az 21 gün boyunca Caco-2 hücrelerinin polikarbonat membran filtre üzerine tutunması için beklendi (Şekil 32). Bu süre boyunca haftada 3 defa apikal ve bazolateral kısımlardaki besiyeri ortamı değiştirildi.

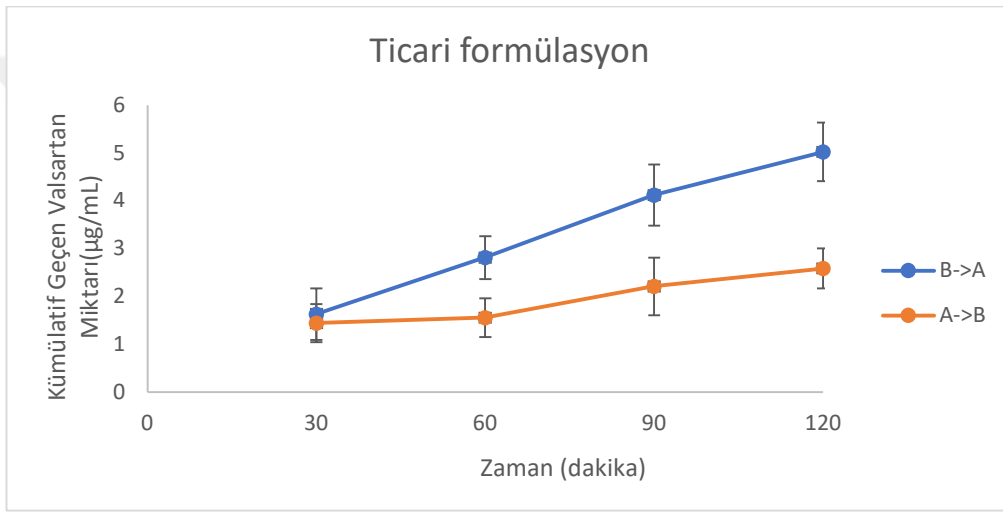


Şekil 32: 21 gün boyunca filtre üzerinde tutunan hücreler.

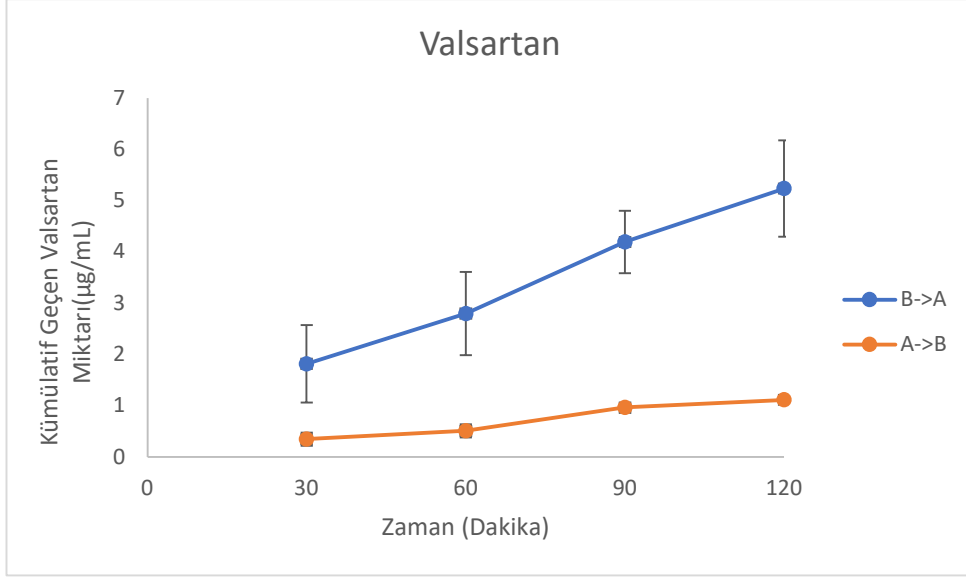
4.10.3. Valsartanın Caco-2 Hücrelerinden Permeabilite Çalışmaları

Yöntem 3.2.10.3'de anlatıldığı gibi Caco-2 hücrelerinin ekilip, polikarbonat membran filtre üzerine tutunması sağlandıktan sonra permeabilite çalışmalarına başlandı. Caco-2 hücrelerinden geçiş çalışmaları; hazırlanan F8B, F8B Avicel ve ticari formülasyon ile yapıldı. Apikal yönden bazolateral yöne doğru yapılan geçiş çalışmaları için valsartan içeren 1.5 mL formülasyonun HBSS içindeki çözeltisi apikal kısma konuldu. Bazolateral kısma 2.6 mL HBSS ilave edildi. Bazolateral yönden apikal yöne doğru

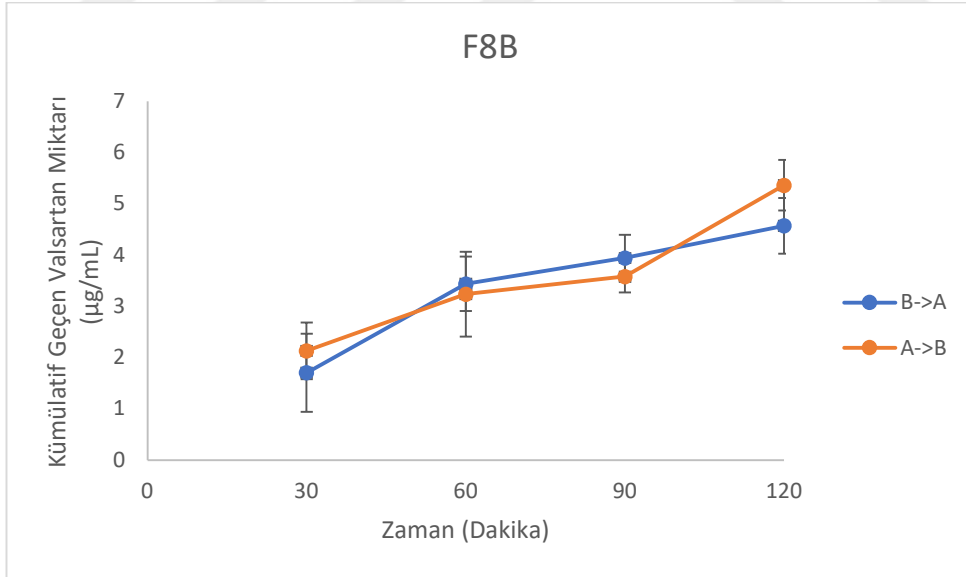
olan çalışmalar için valsartan içeren 2.6 mL formülasyonun HBSS içindeki çözeltisi bazolateral kısma; 1.5 mL HBSS çözeltisi apikal kısma ilave edildi. Tüm geçiş çalışmaları boyunca 0., 30., 60., 90. ve 120. dakika zamanlarında 200 µL örnek alınıp, HPLC ile valsartan miktarı tayin edildi. Permeabilite çalışmaları sonunda zamana karşı kümülatif valsartan miktarları grafiğe geçirilip (Şekil 33-36) etkili permeabilite değeri hesaplandı. Hesaplanan permeabilite değerleri Tablo 85’de verilmiştir. Hesaplanan effluks değerleri Tablo 86’da verilmiştir.



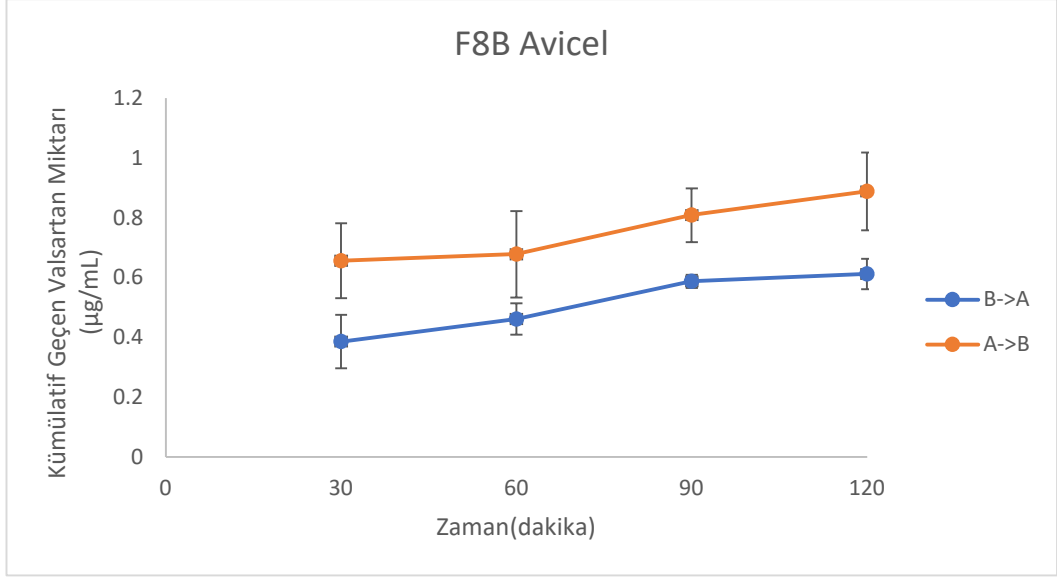
Şekil 33: Valsartanın ticari formülasyondan apikal kısımdan bazolateral kısma ve bazolateral kısımdan apikal kısma doğru yapılan geçiş çalışmalarına ait grafik (\pm SS) (0. dakikada miktar 6µg/mL).



Şekil 34: Toz valsartanın apikal kısımdan bazolateral kısma ve bazolateral kısımdan apikal kısma doğru yapılan geçiş çalışmalarına ait grafik (\pm SS) (0. dakikada miktar $6\mu\text{g/mL}$).



Şekil 35: Valsartanın F8B formülasyonundan apikal kısımdan bazolateral kısma ve bazolateral kısımdan apikal kısma doğru yapılan geçiş çalışmalarına ait grafik (\pm SS) (0. dakikada miktar $6\mu\text{g/mL}$).



Şekil 36: Valsartanın F8B Avicel formülasyonundan apikal kısımdan bazolateral kısma doğru yapılan geçiş çalışmalarına ait grafik (±SS) (0. dakikada miktar 6µg/mL)

Tablo 85 : Formülasyonlara ait permeabilite değerleri sonuçları (±SS)

| | Valsartan (cm/sn) | Ticari formülasyon (cm/sn) | F8B (cm/sn) | F8B Avicel (cm/sn) |
|-----------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| P_{ab} | 37.29x10 ⁻⁵ ±0.01 | 39.68x10 ⁻⁵ ±0.006 | 86.46x10 ⁻⁵ ±0.007 | 51.48 x10 ⁻⁵ ± 0.002 |
| P_{ba} | 72.93.x10 ⁻⁵ ± 0.006 | 63.41x10 ⁻⁵ ± 0.008 | 75.57x10 ⁻⁵ ± 0.016 | 52.14 x10 ⁻⁵ ± 0.009 |

Tablo 86 : Effluks değerlerine ait veriler (±SS)

| | Valsartan | Ticari formülasyon | F8B | F8B Avicel |
|----------------|------------|-----------------------|------------|------------|
| Effluks | 1.95±0.698 | 1.59±0.69 | 0.87±0.047 | 1.01±1.66 |

Ticari formülasyon, etkin madde, F8B ve F8B Avicel formülasyonlarına ait apikal kısımdan bazolateral kısma ait geçiş verileri (A_0 : 0. dakikadaki konsantrasyon, A_{120} : 120. dakikadaki konsantrasyon, A_M : Membran yüzeyinde kalan konsantrasyon, A_{OH} : Membran içinde kalan konsantrasyon.) Tablo 87’de verilmiştir. Bazolateralden apikal kısma ait geçiş verileri Tablo 88’de verilmiştir.

Tablo 87 : Apikal kısımdan bazolateral kısma doğru yapılan geçiş çalışmalarına ait veriler ($\pm SS$)

| | A_0 | A_M | A_{OH} | A_{120} |
|---------------------------|------------------|------------------|-------------------|-----------------|
| Valsartan | 0.34 \pm 0.23 | 1.34 \pm 0.244 | 0.499 \pm 0.078 | 1.11 \pm 0.05 |
| Ticari formülasyon | 1.44 \pm 0.89 | 0.926 \pm 0.8 | 0.69 \pm 0.21 | 2.58 \pm 0.42 |
| F8B | 2.133 \pm 1.55 | 0.47 \pm 0.302 | 0.379 \pm 0.14 | 5.36 \pm 0.49 |
| F8B Avicel | 0.65 \pm 0.1 | 0 \pm 0 | 0 \pm 0 | 0.88 \pm 0.22 |

Tablo 88 : Bazolateral kısımdan apikal kısma doğru yapılan geçiş çalışmalarına ait veriler ($\pm SS$)

| | A_0 | A_M | A_{OH} | A_{120} |
|---------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Valsartan | 1.819 \pm 0.755 | 0.487 \pm 0.13 | 0.457 \pm 0.439 | 5.237 \pm 1.438 |
| Ticari formülasyon | 1.63 \pm 0.539 | 0.38 \pm 0.257 | 0.528 \pm 0.317 | 5.023 \pm 0.613 |
| F8B | 1.75 \pm 1.06 | 0.586 \pm 0.435 | 0.824 \pm 0.423 | 4.57 \pm 0.94 |
| F8B Avicel | 0.38 \pm 0.18 | 0 \pm 0 | 0 \pm 0 | 0.61 \pm 0.251 |

4.10.4. Transepitelyal Elektrik Rezistans (TEER) Değerinin Ölçülmesi

Yöntem 3.2.10.4’de anlatıldığı gibi voltmetre ile TEER değerleri ölçülmüştür. Önce TEER değeri boş kuyucuklarda 3 farklı yönde voltmetre ile ölçüldü. Deneyde

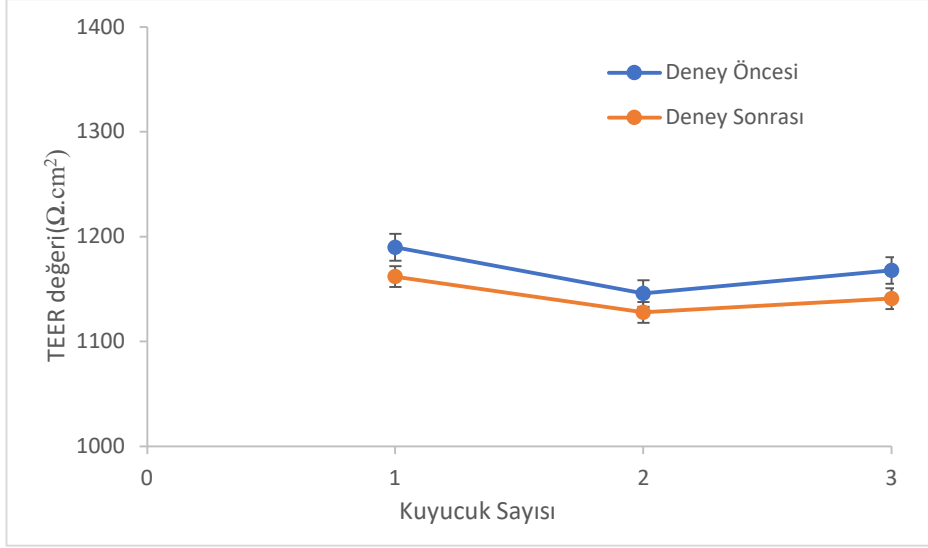
kullanılacak kültür erlenlerinin TEER değerleri yine bu üç yönde ölçüldü ve en son deney bitiminde TEER değerleri ölçülüp (Şekil 37-44) iki ölçüm arasındaki fark değerlendirildi. Böylece hücrelerin bütünlüğü kontrol edildi. Sonuçlar Tablo 89 ve 90'da verilmiştir.

Tablo 89 : Apikal yönden bazolateral yöne doğru yapılan geçiş çalışmaları boyunca hücre membranlarının TEER değerlerindeki yüzde değişim.

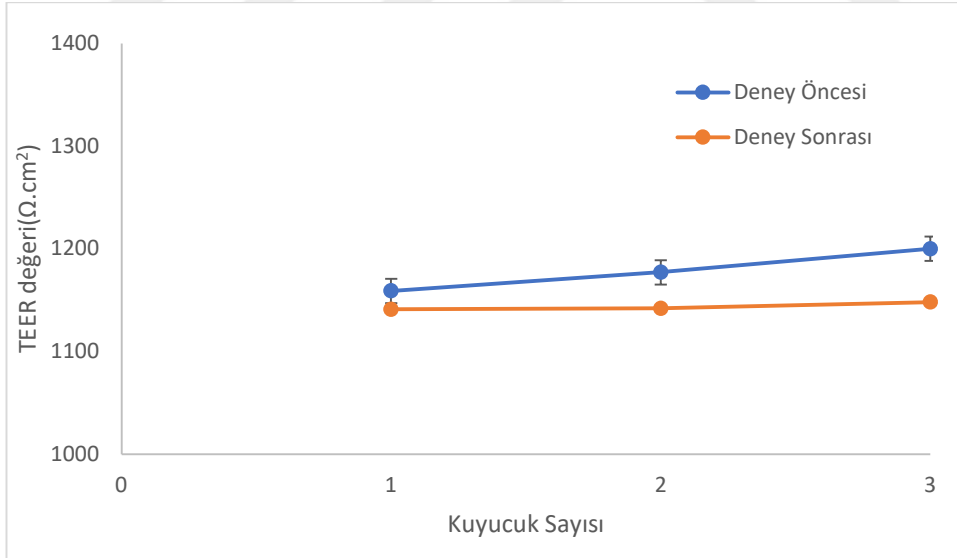
| TEER değerindeki % değişim | | | | |
|-----------------------------------|------------------|---------------------------|------------|-------------------|
| Kuyucuk Sayısı | Valsartan | Ticari formülasyon | F8B | F8B Avicel |
| 1 | %2.4 | %1.7 | %0.3 | %1.04 |
| 2 | %1.6 | %1.02 | %0.7 | %0.9 |
| 3 | %2.36 | %4.2 | %0.9 | %0.78 |

Tablo 90 : Bazolateral yönden apikal yöne doğru yapılan geçiş çalışmaları boyunca hücre membranlarının TEER değerlerindeki yüzde değişim.

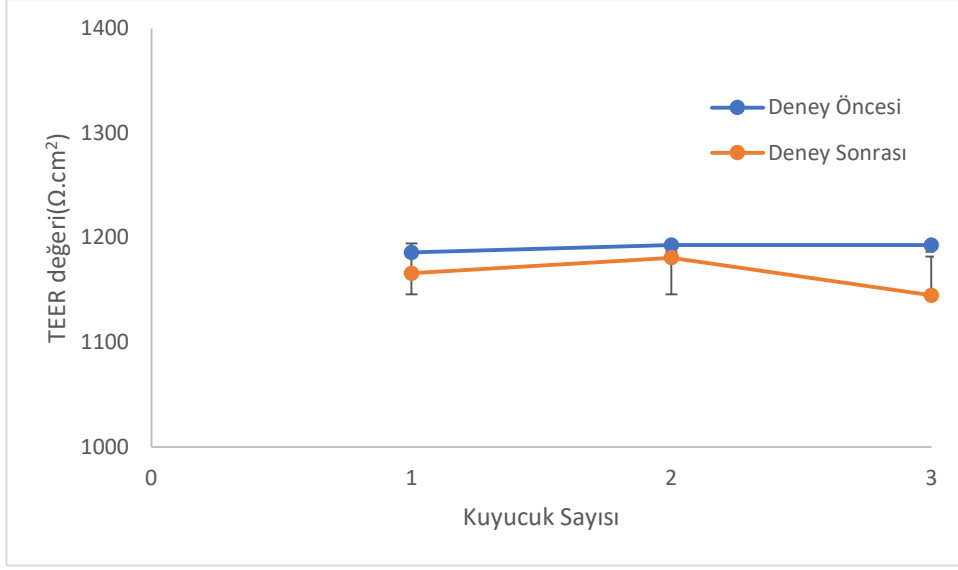
| TEER değerindeki % değişim | | | | |
|-----------------------------------|------------------|---------------------------|------------|-------------------|
| Kuyucuk Sayısı | Valsartan | Ticari formülasyon | F8B | F8B Avicel |
| 1 | %1.7 | %3.7 | %1.7 | %1.7 |
| 2 | %1.02 | %1.72 | %1.02 | %1.02 |
| 3 | %4.2 | %4.64 | %4.2 | %4.5 |



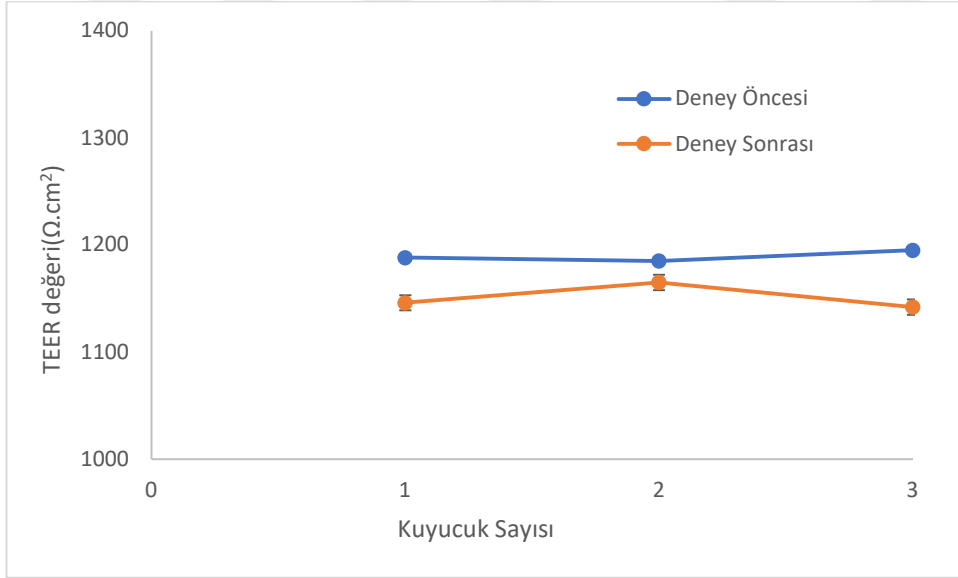
Şekil 37: Toz valsartanın apikal kısımdan bazolateral kısma yapılan geçiş çalışmalarında deneyden önce ve deneyden sonra ölçülen TEER değerlerinin grafiği (\pm SS).



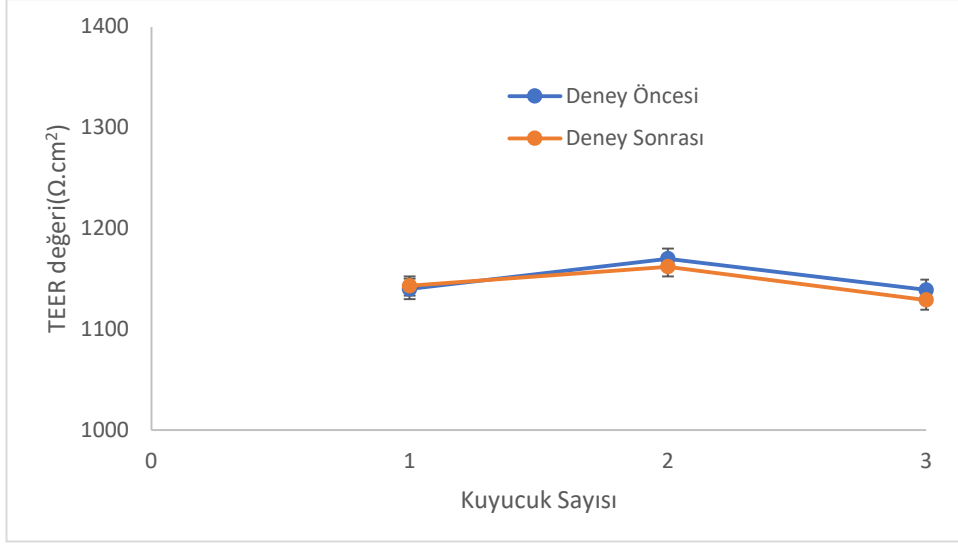
Şekil 38: Toz valsartanın bazolateral kısımdan apikal kısma yapılan geçiş çalışmalarında deneyden önce ve deneyden sonra ölçülen TEER değerlerinin grafiği (\pm SS).



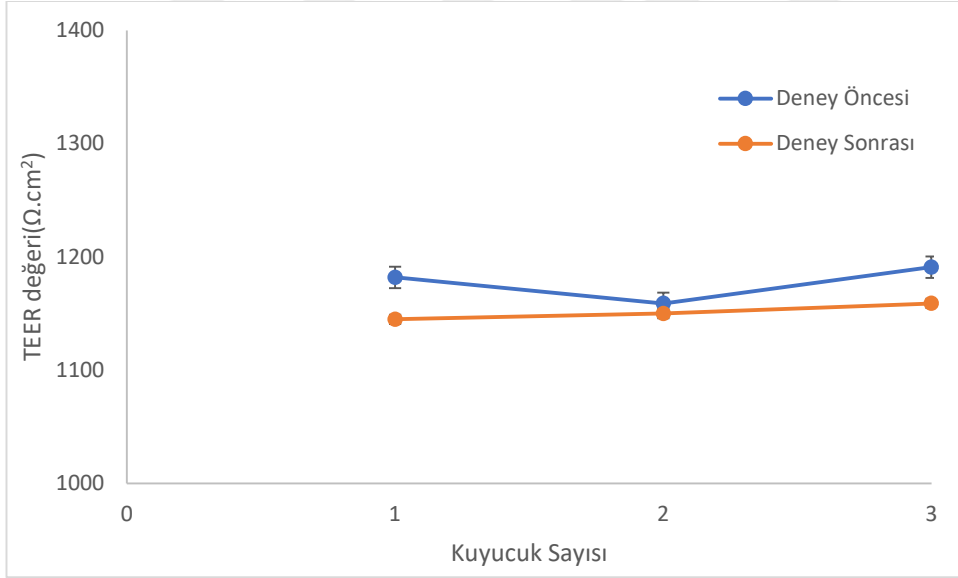
Şekil 39: Ticari formülasyonun apikal kısımdan bazolateral kısma yapılan geçiş çalışmalarında deneyden önce ve deneyden sonra ölçülen TEER değerlerinin grafiği (\pm SS).



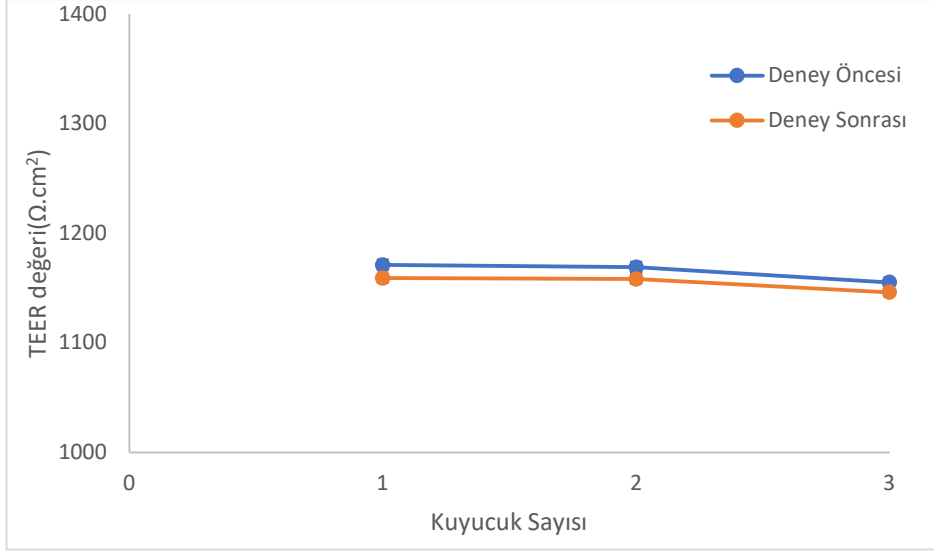
Şekil 40: Ticari formülasyonun bazolateral kısımdan apikal kısma yapılan geçiş çalışmalarında deneyden önce ve deneyden sonra ölçülen TEER değerlerinin grafiği (\pm SS).



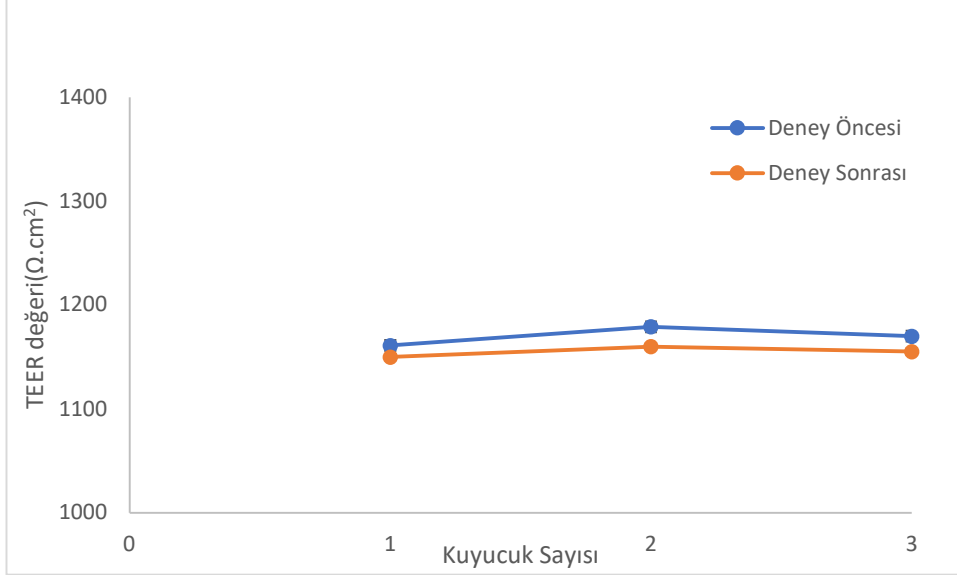
Şekil 41: F8B'nin apikal kısımdan bazolateral kısma yapılan geçiş çalışmalarında deneyden önce ve deneyden sonra ölçülen TEER değerlerinin grafiği (\pm SS).



Şekil 42 : F8B'nin bazolateral kısımdan apikal kısma yapılan geçiş çalışmalarında deneyden önce ve deneyden sonra ölçülen TEER değerlerinin grafiği (\pm SS).



Şekil 43: F8B Avicel'in apikal kısımdan bazolateral kısma yapılan geçiş çalışmalarında deneyden önce ve deneyden sonra ölçülen TEER değerlerinin grafiği (\pm SS).



Şekil 44: F8B Avicel'in bazolateral kısımdan apikal kısma yapılan geçiş çalışmalarında deneyden önce ve deneyden sonra ölçülen TEER değerlerinin grafiği (\pm SS).

4.10.5. Hücre Canlılığı ve Sitotoksosite Testi

Yöntem 3.2.10.5’de anlatıldığı gibi Caco-2 hücrelerinin canlılığı üzerine lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistemlerin etkisi ve sitotoksitesini incelemek amacıyla yapılmıştır. Hücre canlılığını test etmek için absorbans değerleri 570 nm’de ELISA mikroparka okuyuculu UV spektrofotometre (Thermo Vario Scan-FHA multiplate reader) ile okutulup değerlendirilmiştir. Hücre canlılığı yüzdesi, %95’in üzerinde çıkarsa; uygulanan örneğin hücreler üzerinde sitotoksik olmadığı ifade edilir. Hücre canlılığı yüzdeleri, ticari formülasyon, Valsartan, F8B, F8B Avicel için sırasıyla %98, %98.5, %96 ve %96.5’un üzerinde bulunmuştur.

4.11. *In Vivo* Çalışmalar

4.11.1. Farmakokinetik ve Farmakodinamik Çalışmalar

Geliştirilen valsartan içeren SEDD, S-SEDD ve miseller sistemlerinde yapılan karakterizasyon, stabilite, in vitro salım ve permeabilite çalışmaları sonucu ideal olarak tespit edilen lipid formülasyon olan F8B ile in vivo çalışmalara geçilmiştir. (Bu çalışma için E.Ü. Deney Hayvanları Etik Kuruluna ait 22.02.2017 tarih ve 2017-003 sayılı izin belgesi alınmıştır.)

4.11.1.1. Farmakokinetik Çalışmalar

Geliştirilen lipid bazlı SEDD ve ticari formülasyonun farmakokinetik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla “Hayvanlarda Farmakokinetik Çalışmaların Yönetimi” başlıklı kılavuz takip edilmiştir (EMA, Hayvanlarda Farmakokinetik Çalışmaların Uygulanması Yönetimi Kılavuzu, 1992). Önce yöntem geliştirme ve validasyon çalışmaları yapılmıştır.

4.11.1.1.1. Farmakokinetik Çalışmalar için Yöntem Validasyonu

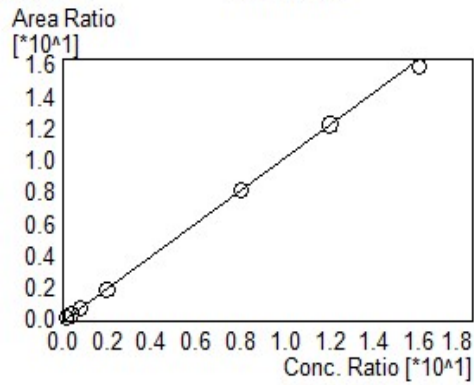
Valsartan ve Olmesartan maddelerinin farklı molekül yapısı, aynı ortamda farklı tutunma zamanlarında görebilmemizi sağlamıştır. LC-MS cihazında çalışılmıştır. Moleküller için uyarma dalga boyu 253 nm, yayılma dalga boyu ise 374 nm kullanılmıştır. Moleküllerin analizlerinde ACE C-8 2.1x150 mm 5µ partikül çapına sahip kolon kullanılmıştır. Mobil faz A olarak %0.2’lik Asetik Asit Çözeltisi ve Mobil faz B olarak ise Asetonitril kullanılmıştır. Akış hızı 0.75 mL/dk olan Tablo 91’de gösterilmiş olan gradient programı kullanılmıştır. Enjeksiyon hacmi 10 µL’dir.

Tablo 91 : Miktar Tayini Yönteminde Kullanılan Gradient Programı.

| Zaman | Mobil Faz A % | Mobil Faz B % | Akış (mL/dk) |
|-------|---------------|---------------|--------------|
| 0.01 | 80.5 | 19.5 | 0.75 |
| 7.50 | 80.5 | 19.5 | 0.75 |
| 8.50 | 59 | 41 | 0.75 |
| 13.50 | 59 | 41 | 0.75 |
| 14.00 | 80.5 | 19.5 | 0.75 |
| 21.00 | | Stop | |

Çizilen kalibrasyon eğrisi grafiği, noktaları ve denklemini Şekil 45’de verilmiştir.

ID# : 2
Name : Valsartan
Quantitative Method : Internal Standard
Function : $f(x)=1.02586*x-0.00320209$
Rr1=0.9996878 Rr2=0.9993756
MeanRF:1.0215 RFSD:0.0223898 RFRSD:2.19185
FitType : Linear
ZeroThrough : Not Through
WeightedRegression : 1/C^2
Detector Name : Detector A



| # | Conc(Ratio) | Area Ratio | Area |
|---|-------------|------------|---------|
| 1 | 0.200 | 0.2 | 118992 |
| 2 | 0.400 | 0.4 | 239927 |
| 3 | 0.800 | 0.8 | 490728 |
| 4 | 2.000 | 2.0 | 1187033 |
| 5 | 8.000 | 8.3 | 4789342 |
| 6 | 12.000 | 12.3 | 7208099 |
| 7 | 16.000 | 16.0 | 9270464 |

Şekil 45: Kalibrasyon eğrisi ve denklem bilgileri.

Değerlendirilen validasyon parametreleri ve elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

4.11.1.1.1. Gün İçi ve Günler Arası Doğruluk, Kesinlik ve Geri Kazanım

Gün için doğruluk, kesinlik ve geri kazanım için 4 farklı derişimde 5'er paralel örnek çalışıldı. Günler arasında ise en az 3 gün 4 farklı derişim çalışıldı ve 3'er enjeksiyon verildi. Sonuçlar verilen kalibrasyon eğrisinden hesaplandı. Bulunan derişim değerlerinin standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri LLOQ derişimleri için $\pm\%20$, diğer derişimler için $\pm\%15$ 'tir. Tablo 92-94'te belirtildiği gibi sonuçlar uygun sınırlar aralığında saptanmıştır (EMA, 2012).

Tablo 92 : Gün İçi Doğruluk ve Kesinlik Sonuçları (Anl.Std.: Valsartan)

| | LLOQ DERİŞİM (10 ng/mL Anl.Std.1) | | DÜŞÜK DERİŞİM (30 ng/mL Anl.Std.1) | | ORTA DERİŞİM (400 ng/mL Anl.Std.1) | | YÜKSEK DERİŞİM (600 ng/mL Anl.Std.1) | |
|---------------------|--------------------------------------|-------------------|---------------------------------------|-------------------|---------------------------------------|-------------------|---|-------------------|
| | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım |
| N 1. paralel | 10.4 | 104.03 | 33.13 | 110.45 | 414.81 | 103.7 | 627.76 | 104.7 |
| N 2. paralel | 11.02 | 110.19 | 31.21 | 104.04 | 409.89 | 102.5 | 630.97 | 105.2 |
| N 3. paralel | 10.2 | 101.7 | 31.39 | 104.63 | 411.3 | 102.8 | 636.9 | 106.2 |
| N 4. paralel | 10.72 | 107.19 | 30.35 | 101.1 | 415.22 | 103.8 | 649.87 | 108.3 |
| N 5. paralel | 10.66 | 106.56 | 30.45 | 101.49 | 419.77 | 104.94 | 647.46 | 107.9 |
| Ortalama | 10.59 | 105.93 | 31.31 | 104.35 | 414.2 | 103.55 | 638.6 | 106.4 |
| SD | 0.32 | 3.23 | 1.12 | 3.73 | 3.85 | 0.96 | 9.8 | 1.6 |
| %SAPMA | 3.05 | 3.05 | 3.58 | 3.58 | 0.93 | 0.93 | 1.5 | 1.5 |
| % RSD | 5.93 | 5.93 | 4.35 | 4.35 | 3.55 | 3.55 | 6.4 | 6.4 |

Tablo 93 : Günlük Arası Doğruluk ve Kesinlik Sonuçları.

| 1.GÜN | LLOQ DERİŞİM (10 ng/mL Anl.Std.1) | | DÜŞÜK DERİŞİM (30 ng/mL Anl.Std.1) | | ORTA DERİŞİM (400 ng/mL Anl.Std.1) | | YÜKSEK DERİŞİM (600 ng/mL Anl.Std.1) | |
|-----------------------------|--------------------------------------|-------------------|---------------------------------------|-------------------|---------------------------------------|-------------------|---|-------------------|
| | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım |
| N ₁ . enjeksiyon | 9.33 | 93.3 | 30.1 | 100.2 | 381.6 | 95.4 | 569.71 | 94.95 |
| N ₂ . enjeksiyon | 11.35 | 113.5 | 30.5 | 101.5 | 382.0 | 95.5 | 568.63 | 94.77 |
| N ₃ . enjeksiyon | 9.46 | 94.59 | 30.4 | 101.5 | 381.0 | 95.25 | 567.88 | 94.65 |
| Ortalama | 10.05 | 100.5 | 30.3 | 101.1 | 381.5 | 95.38 | 568.74 | 94.79 |
| SD | 1.13 | 11.3 | 0.2 | 0.7 | 0.49 | 0.12 | 0.92 | 0.15 |
| % RSD | 11.25 | 11.25 | 0.7 | 0.7 | 0.13 | 0.13 | 0.2 | 0.2 |
| %SAPMA | 0.47 | 0.47 | 1.1 | 1.1 | -4.62 | -4.62 | -5.2 | -5.2 |
| 2.GÜN | LLOQ DERİŞİM (10 ng/mL Anl.Std.1) | | DÜŞÜK DERİŞİM (30 ng/mL Anl.Std.1) | | ORTA DERİŞİM (400 ng/mL Anl.Std.1) | | YÜKSEK DERİŞİM (600 ng/mL Anl.Std.1) | |
| | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım |
| N ₁ . enjeksiyon | 10.42 | 104.2 | 29.36 | 97.86 | 445.84 | 111.46 | 659.9 | 109.99 |
| N ₂ . enjeksiyon | 10.25 | 102.47 | 30.52 | 101.72 | 448.33 | 112.08 | 668.08 | 111.35 |
| N ₃ . enjeksiyon | 9.929 | 99.29 | 33.25 | 110.85 | 449.09 | 112.27 | 688.06 | 114.7 |
| Ortalama | 10.2 | 101.99 | 31.04 | 103.48 | 447.75 | 111.94 | 672.01 | 112.0 |
| SD | 0.25 | 2.49 | 2.0 | 6.67 | 1.7 | 0.43 | 14.49 | 2.4 |
| % RSD | 2.44 | 2.44 | 6.44 | 6.44 | 0.38 | 0.38 | 2.16 | 2.16 |
| %SAPMA | 1.99 | 1.99 | 3.48 | 3.48 | 11.94 | 11.94 | 12.0 | 12.0 |
| 3.GÜN | LLOQ DERİŞİM (10 ng/mL Anl.Std.1) | | DÜŞÜK DERİŞİM (30 ng/mL Anl.Std.1) | | ORTA DERİŞİM (400 ng/mL Anl.Std.1) | | YÜKSEK DERİŞİM (600 ng/mL Anl.Std.1) | |
| | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım |
| N ₁ . enjeksiyon | 10.3 | 102.99 | 31.89 | 106.29 | 390.97 | 97.74 | 567.5 | 94.58 |
| N ₂ . enjeksiyon | 10.6 | 106.03 | 32.43 | 108.09 | 389.0 | 97.25 | 569.36 | 94.89 |
| N ₃ . enjeksiyon | 10.5 | 105.05 | 32.23 | 107.45 | 389.5 | 97.38 | 567.97 | 94.66 |
| Ortalama | 10.5 | 104.69 | 32.18 | 107.28 | 389.8 | 97.46 | 568.28 | 94.71 |
| SD | 0.15 | 1.55 | 0.27 | 0.91 | 1.02 | 0.25 | 0.97 | 0.16 |
| % RSD | 1.48 | 1.48 | 0.85 | 0.85 | 0.26 | 0.26 | 0.17 | 0.17 |
| %SAPMA | 4.7 | 4.7 | 7.28 | 7.28 | -2.54 | -2.54 | -5.29 | -5.29 |

Tablo 94 : Günler Arası Doğruluk ve Kesinlik Toplu Sonuçları (Anl. Std.: Valsartan)

| | LLOQ DERİŞİM (10 ng/mL Anl.Std.1) | | DÜŞÜK DERİŞİM (30 ng/mL Anl.Std.1) | | ORTA DERİŞİM (400 ng/mL Anl.Std.1) | | YÜKSEK DERİŞİM (600 ng/mL Anl.Std.1) | |
|---|--|-------------------|---|-------------------|---|-------------------|---|-------------------|
| | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım | Hesaplanan Derişim | % Geri Kazanım |
| 1. Gün | 10.05 | 100.47 | 30.32 | 101.07 | 381.53 | 95.38 | 568.74 | 94.8 |
| Ortalama | | | | | | | | |
| 2. Gün | 10.2 | 101.99 | 31.04 | 103.48 | 447.75 | 111.94 | 672.01 | 112.0 |
| Ortalama | | | | | | | | |
| 3. Gün | 10.5 | 104.69 | 32.18 | 107.28 | 389.83 | 97.46 | 568.28 | 94.7 |
| Ortalama | | | | | | | | |
| Ortalama | 10.24 | 102.38 | 31.18 | 103.94 | 406.37 | 101.59 | 603.01 | 100.5 |
| SD | 0.21 | 2.14 | 0.94 | 3.13 | 36.08 | 9.02 | 59.76 | 9.96 |
| % RSD | | | | | | | | |
| Günlerarası Tekrarlanabilirlik | 2.09 | 2.09 | 3.02 | 3.02 | 8.88 | 8.88 | 9.91 | 9.91 |
| %SAPMA | | | | | | | | |
| Günlerarası Tekrarlanabilirlik | 2.38 | 2.38 | 3.94 | 3.94 | 1.59 | 1.59 | 0.5 | 0.5 |

4.11.1.1.2. Stok Çözelti Kararlılığı

Stok çözeltilerin, derişimleri oda sıcaklığında kromatografi koşullarına bağlı olarak uygun aralıklarla kararlılığı kontrol edilmiştir. Tablo 95-98'de görüldüğü gibi sapmalar düşük ve yüksek derişimler için \pm %15 sınırları içindedir ve uygundur.

Tablo 95 : Düşük Derişimde Stok çözelti kararlılığı 1(Anl. Std.: Valsartan)

| | Pa- ra- lel | Düşük Derişim (30 ng/mL Analitik Standart) | | | | | |
|------------------|-------------------|--|----------|-------|-------|----------------------------|---------|
| | | Hesaplanan Derişim | Ortalama | SD | % RSD | Gerçek Değerden % Sapma | % Sapma |
| 1.Gün 0.Saat | 1 | 30.316 | 30.335 | 0.144 | 0.476 | 1.117 | 5.945 |
| | 2 | 30.201 | | | | | |
| | 3 | 30.488 | | | | | |
| 1.Gün 20.Saat | 1 | 32.665 | 32.138 | 0.544 | 1.694 | 7.128 | |
| | 2 | 32.172 | | | | | |
| | 3 | 31.578 | | | | | |

Tablo 96 : Yüksek Derişimde Stok çözelti kararlılığı 1(Anl. Std.: Valsartan)

| | Pa- ra- lel | Yüksek Derişim (600 ng/mL Analitik Standart) | | | | | |
|--------------------|-------------------|--|----------|-------|-------|-------------------------------|---------|
| | | Hesaplanan Derişim | Ortalama | SD | % RSD | Gerçek Değerden % Sapma | % Sapma |
| 1. Gün 0. Saat | 1 | 564.697 | 569.699 | 5.800 | 1.018 | -5.050 | 3.329 |
| | 2 | 568.344 | | | | | |
| | 3 | 576.057 | | | | | |
| 1. Gün 20. Saat | 1 | 589.044 | 588.666 | 5.085 | 0.864 | -1.889 | |
| | 2 | 593.551 | | | | | |
| | 3 | 583.402 | | | | | |

Tablo 97 : Düşük Derişimde Stok çözelti kararlılığı 2 (Anl. Std.: Valsartan)

| | Paralel | Düşük Derişim (30 ng/ml Analitik Standart) | | | | | |
|---------------------|---------|--|----------|-------|-------|-------------------------|---------|
| | | Hesaplanan Derişim | Ortalama | SD | % RSD | Gerçek Değerden % Sapma | % Sapma |
| 1.Gün 0.Saat | 1 | 30.316 | 30.335 | 0.144 | 0.476 | 1.117 | 4.618 |
| | 2 | 30.201 | | | | | |
| | 3 | 30.488 | | | | | |
| 5.Gün | 1 | 31.900 | 31.736 | 0.162 | 0.510 | 5.786 | |
| | 2 | 31.732 | | | | | |
| | 3 | 31.576 | | | | | |

Tablo 98 : Yüksek Derişimde Stok çözelti kararlılığı 2(Anl. Std.: Valsartan)

| | Para- lel | Yüksek Derişim (600 ng/mL Analitik Standart) | | | | | |
|---------------------------|--------------|--|----------|-------|-------|-------------------------|---------|
| | | Hesaplanan Derişim | Ortalama | SD | % RSD | Gerçek Değerden % Sapma | % Sapma |
| 1. Gün 0. Saat | 1 | 564.697 | 569.699 | 5.800 | 1.018 | -5.050 | 1.866 |
| | 2 | 568.344 | | | | | |
| | 3 | 576.057 | | | | | |
| 5. Gün | 1 | 578.740 | 580.330 | 1.460 | 0.252 | -3.278 | |
| | 2 | 580.638 | | | | | |
| | 3 | 581.611 | | | | | |

4.11.1.1.1.3. Donma Erime Kararlılığı

Yüksek ve düşük derişimlerdeki örnekleri üçer paralel olarak hazırlanır ve dondurulup (-80°C) tekrar oda sıcaklığına (21±4°C) getirilir (Her bir döngüde örnek çözündürülmeden önce 12 saat dondurulmuş olmalıdır). Bu İşlem en az üç döngü

boyunca tekrarlanır. Değerlendirme taze hazırlanmış kalibrasyon eğrisinden okutulur. Elde edilen değerler beklenen değerle karşılaştırılır. Her bir derişim için hesaplanan derişim $\pm\%15$ sınırları arasında olmalıdır. Tablo 99 ve 100’de belirtildiği gibi sonuçlar uygun sınırlar aralığında saptanmıştır.

Tablo 99 : Düşük Derişimde Donma Erime Kararlılığı Sonuçları (Anl.Std.: Valsartan).

| DÖNGÜ | | Pa- ra- lel | Düşük Derişim (30 ng/mL Anl.Std.) | | | | | |
|---|------------|-------------------|-----------------------------------|----------|-------|-------|-------------------------------|--------|
| Karşılaştı- rılacak Değerler (K.D) | 14/01/2019 | | Hesaplanan Derişim | Ortalama | SD | %RSD | Gerçek Değerden % Sapma | %Sapma |
| | | 3. Döngü | 14/01/2019 | 1 | 30.28 | 30.62 | 1.09 | 3.55 |
| 2 | 31.83 | | | | | | | |
| 3 | 29.74 | | | | | | | |
| 14/01/2019 | 1 | | 31.71 | 31.85 | 0.12 | 0.38 | 6.16 | |
| | 2 | | 31.92 | | | | | |
| | 3 | | 31.91 | | | | | |

Tablo 100 : Yüksek Derişimde Donma Erime Kararlılığı Sonuçları (Anl.Std.: Valsartan).

| DÖNGÜ | | Pa- ra- lel | Yüksek Derişim (600 ng/mL Anl.Std.) | | | | | |
|------------------------------------|------------|-------------------|-------------------------------------|----------|--------|--------|-------------------------------|--------|
| Karşılaştı- rılacak Değerler | 14/01/2019 | | Hesaplanan Derişim | Ortalama | SD | %RSD | Gerçek Değerden % Sapma | %Sapma |
| | | 3. Döngü | 14/01/2019 | 1 | 569.16 | 566.62 | 2.23 | 0.39 |
| 2 | 564.98 | | | | | | | |
| 3 | 565.73 | | | | | | | |
| 14/01/2019 | 1 | | 561.87 | 563.88 | 2.14 | 0.38 | -6.02 | |
| | 2 | | 566.13 | | | | | |
| | 3 | | 563.62 | | | | | |

4.11.1.1.4. Kısa Süreli Oda Sıcaklığı Kararlılığı

Kararlılığı incelenen örnek, yöntemde bildirilen yüksek ve düşük kalite kontrol örneklerindeki derişimlerde üçer paralel olarak hazırlanır. Örnek, oda sıcaklığında hazırlandığında, derişimi derhal saptanır, oda sıcaklığında 24. saatin sonunda derişimi kontrol edilir ve bir kayıp olup olmadığı belirlenir. Tablo 101 ve 102’de görüldüğü gibi sapma $\pm\%15$ ’in altındadır ve oda sıcaklığında 24 saat kararlıdır.

Tablo 101 : Düşük Derişimde Kısa Süreli Oda Sıcaklığı Kararlılığı

| DÖNGÜ | Pa- ra- lel | Düşük Derişim (30 ng/mL Analitik Standart) | | | | | |
|---------|-------------------|--|----------|-------|-------|-------------------------------|--------|
| | | Hesaplanan Derişim | Ortalama | SD | %RSD | Gerçek Değerden % Sapma | %Sapma |
| 0.SAAT | 1 | 30.299 | 30.858 | 1.468 | 4.758 | 2.861 | - |
| | 2 | 32.524 | | | | | |
| | 3 | 29.752 | | | | | |
| 24.SAAT | 1 | 31.857 | 31.088 | 0.670 | 2.156 | 3.627 | 0.744 |
| | 2 | 30.630 | | | | | |
| | 3 | 30.776 | | | | | |

Tablo 102 : Yüksek Derişimde Kısa Süreli Oda Sıcaklığı Kararlılığı

| Döngü | Pa- ra- lel | Yüksek Derişim (600 ng/mL Analitik Standart) | | | | | |
|---------|-------------------|--|----------|-----|-------|-------------------------------|--------|
| | | Hesaplanan Derişim | Ortalama | SD | %RSD | Gerçek Değerden % Sapma | %Sapma |
| 0.SAAT | 1 | 575.298 | 575.758 | 0.4 | 0.069 | -4.040 | - |
| | 2 | 575.962 | | | | | |
| | 3 | 576.015 | | | | | |
| 24.SAAT | 1 | 641.250 | 641.279 | 1.8 | 0.278 | 6.880 | 11.380 |
| | 2 | 639.509 | | | | | |
| | 3 | 643.077 | | | | | |

4.11.1.1.5. Dilüsyon Doğruluğu

Kalibrasyon eğrisinin en üst değerinin dışındaki bir analit derişimi kör matriks ile seyreltildiğinde doğruluk ve kesinlik için belirtilen $\pm\%15$ değeri içerisinde olmalıdır. Tablo 103’de görüldüğü gibi sonuçlar uygundur.

Tablo 103 : Kısa Süreli Oda Sıcaklığı Kararlılığı (Anl.Std.: Valsartan, Gerçek Değer: 100 ng/mL Anl. Std.)

| Analitik Standart Hesaplanan Derişim (ng/mL) | |
|---|--------|
| Dilüsyon-1 | 113.75 |
| Dilüsyon-2 | 108.73 |
| Dilüsyon-3 | 113.82 |
| Dilüsyon-4 | 102.99 |
| Dilüsyon-5 | 112.8 |
| Ortalama | 110.42 |
| SD | 4.65 |
| % RSD | 4.21 |
| % SAPMA | 10.42 |

4.11.1.1.6. Matriks Etkisi

En az altı farklı hayvanın iç standart düzeltilmesi yapılan matriks etkisininin Relatif Standart Sapma değeri (RSD) $\%15$ den daha yüksek olmamalıdır. Tablo 104’de görüldüğü gibi sonuçlar uygundur.

Tablo 104 : Matriks Etkisi Sonuçları (Anl.Std.: Valsartan, İç Std.: Olmesartan, MF: Matriks Faktör)

| | DÜŞÜK DERİŞİM (30 ng/mL) | | | YÜKSEK DERİŞİM (600 ng/mL) | | |
|-----------------|-----------------------------|---------|------------|-------------------------------|-----------|------------|
| | Alan | | | Alan | | |
| | Anl. Std.1 | İç Std. | Pik Alan % | Anl. Std.1 | İç Std. | Pik Alan % |
| KE | 462232 | 557737 | - | 7927302 | 569509.00 | - |
| MF 1 | 432479 | 520024 | 100.35 | 7706602 | 522004.00 | 106.06 |
| MF 2 | 450428 | 498363 | 109.06 | 7709319 | 520422.00 | 106.42 |
| MF 3 | 447499 | 508654 | 106.15 | 7664581 | 529083.00 | 104.07 |
| MF 4 | 446940 | 540605 | 99.76 | 7729128 | 532262.00 | 104.32 |
| MF 5 | 443452 | 516887 | 103.52 | 7671643 | 496163.00 | 111.08 |
| MF 6 | 451579 | 501485 | 108.65 | 7664183 | 515459.00 | 106.82 |
| Ortalama | | | 104.58 | Ortalama | | 106.46 |
| SD | | | 4.04 | SD | | 2.53 |
| %RSD | | | 3.86 | %RSD | | 2.37 |

4.11.1.1.7. LLOQ Düşük Saptama (Tayin) Alt Sınırı

Analizlenecek maddenin, doğruluğu ve kesinliği ispatlanmış bir düzeyde güvenebilir olarak ölçülebilen en düşük konsantrasyonudur. Sinyal / gürültü oranını 5 katı olarak hesaplanır. LLOQ değeri çalışmada hedeflenen konsantrasyona göre uyarlanmalıdır. Tablo 105’de görüldüğü gibi doğruluğu ve kesinliği ispatlanmış LLOQ değeri valsartan için ortalama 0.082 ng/mL ve olmesartan için 0.018 ng/mL dir. Bu sebepten dolayı bu çalışmada LLOQ değeri 10 ng/mL olarak alınmasının hiçbir sakıncası yoktur.

Tablo 105 : LLOQ Sonuçları (Anl.Std.: Valsartan, İç.Std.: Olmesartan)

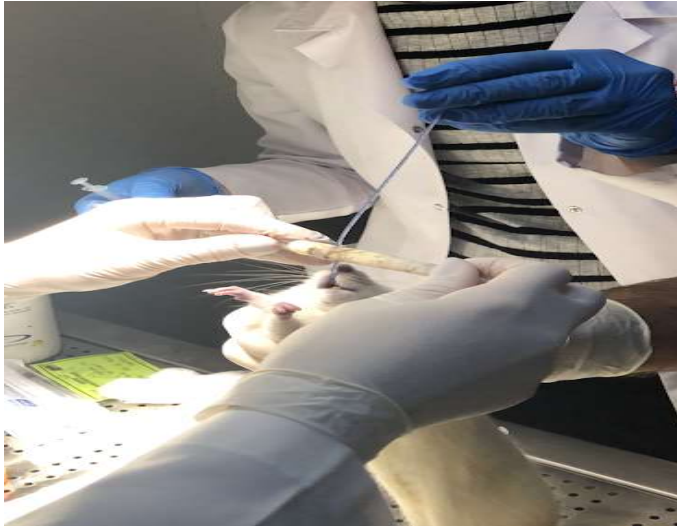
| | Anl.Std. (ng/mL) | İç Std. (ng/mL) |
|----------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| LLOQ-1 | 0.082 | 0.018 |
| LLOQ-2 | 0.100 | 0.019 |
| LLOQ-3 | 0.078 | 0.018 |
| LLOQ-4 | 0.085 | 0.020 |
| LLOQ-5 | 0.064 | 0.015 |
| LLOQ Ortalama | 0.082 | 0.018 |

4.11.1.1.2. Farmakokinetik Bulgular

Formülasyonun farmakokinetik parametreleri, tek doz olacak şekilde per oral (64 mg/kg) uygulamalarını takiben, 2 grup olarak incelenmiştir.

1.Grup: Ticari formülasyon (64 mg/kg olacak şekilde serum fizyolojikte süspand edildi.)

2.Grup: Geliştirilen lipid bazlı formülasyon (64 mg/kg olacak şekilde verildi.)



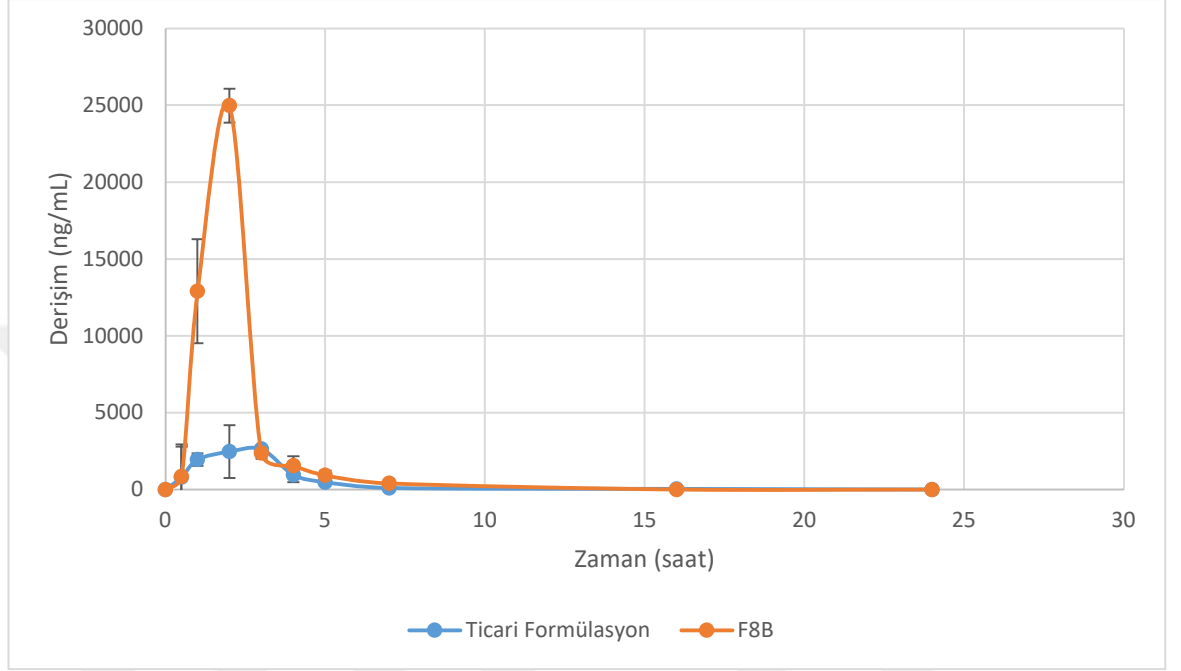
Şekil 46 : Orogastrik sonda yardımıyla sıçanlara ilaç uygulaması.



Şekil 47 : Uygulamada sıçan görüntüsü.

Formülasyonun vücuttaki dağılımını belirlemek için toplamda 10 noktada kan örnekleme yapılmıştır (0., 0.5., 1., 2., 3., 4., 5., 7.,18. ve 24. saatlerde). Sıçanlardan 4mL kalp kanı alınmıştır (Şekil 47). Çalışmadan bir gece önce hayvanlar aç bırakılıp sadece su takviyesi yapıldı. Çalışma sırasında sıçanlara anestezi uygulanmadı. Sıçanlara formülasyon oral olarak gavaj yoluyla orogastrik sonda (Şekil 46)

yardımıyla uygulanmıştır. Üzerine 200 µL su verilmiştir. Sonuçlar Şekil 48’de gösterilmiştir.



Şekil 48 : Zamana göre Ticari formülasyon ve F8B’nin plazma konsantrasyon grafiği (R: Ticari formülasyon, T: F8B).

Belirlenen zaman aralıklarında kan örnekleri alınarak farmakokinetik hesaplamalar Winnonlin programı ile yapılmıştır. Sonuçlar Tablo 106’da verilmiştir.

Tablo 106: Yapılan uygulamalardan sonra elde edilen farmakokinetik parametreler.

| Farmakokinetik parametreler | Ticari formülasyon (%CV) | F8B (%CV) |
|--------------------------------------|--------------------------|------------------|
| EAA _{son} (saat * ng/mL) | 9741.5 (7.180) | 39209.9 (13.999) |
| EAA _{sonsuz} (saat * ng/mL) | 9871.5 (10.649) | 48100.3 (11.386) |
| C _{maks} (ng/mL) | 2474 (1.344) | 21003 (28.383) |
| T _{maks} (saat) | 2 (0) | 2 (0) |

4.11.1.2. Farmakodinamik Çalışmalar

Yöntem 3.2.11.1.2’de anlatıldığı gibi antihipertansif etkinlik çalışmaları her iki cinsten 18 Wistar albino sıçanlarda (250-300 gram) gerçekleştirildi. Sıçanlar 3 gruba bölündü ve her grupta 6 sıçan olacak şekilde gruplandırıldı (A, B ve C) (n=6). Sıçanlar polipropilen kafeslerde, $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve $\%55\pm 5$ rölatif neme sahip standart laboratuvar koşullarında tutuldu. Hayvanların standart laboratuvar diyetine ve suya erişimi serbesttir. Bulgular Tablo 107’de verilmiştir.



Şekil 49: Sıçanlarda tansiyon ölçümü.

Tablo 107 : Hayvanlarda tansiyon ölçüm değerleri.

| | T=0. SAAT (mm/Hg) | | | T=3. SAAT (mm/Hg) | | | T=4. SAAT (mm/Hg) | | |
|---|-------------------|---------------|---------------|-------------------|--------------|--------------|-------------------|---------------|---------------|
| | Sistolik | Diastolik | Nabız | Sistolik | Diastolik | Nabız | Sistolik | Diastolik | Nabız |
| Sağlıklı Hayvan | 123± 36.61 | 73± 47 | 277± 38 | 136± 28.3 | 58± 43 | 346± 22 | 130± 33.2 | 62± 39 | 312± 35 |
| Tansiyon Oluşturulmuş Tedavi Uygulanmayan | 226± 73.55 | 183± 68.67 | 285± 60.48 | 227± 23.9 | 223± 21.5 | 332± 52.1 | 191± 26.52 | 182± 35.16 | 405± 90.10 |
| Tansiyon Oluşturulmuş Ticari formülasyon İle Tedavi Edilen | 213± 60.53 | 200± 51.73 | 284± 53.61 | 172± 39.13 | 117± 57 | 315± 2.02 | 184± 46.56 | 141± 71.75 | 379± 54.21 |
| Tansiyon Oluşturulmuş F8B İle Tadavi Edilen | 244± 58.98 | 167± 32.8 | 265± 42.89 | 156± 57.8 | 108± 72 | 134± 34 | 122± 46 | 69± 59 | 359± 115 |

Hipertansiyonlu sıçanlarda biyokimyasal parametreler ticari farmasötik şekil ile geliştirilen lipid bazlı formülasyonda karşılaştırmalı olarak VetScan VS2 (Abaxis) cihazında ölçülmesi ile araştırıldı. Sonuçlar Tablo 108’de verilmiştir.

Tablo 108 : İlaç uygulanan ve uygulanmayan hayvanlardaki biyokimyasal parametrelere ait bulgular.

| Ölçülen Biyokimyasal Parametreler | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--------------|-----------------|-----------------|------------------|--------------|----------------|----------------|----------------|--------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|----------------|------------------|-----------------|
| | ALB | ALP | ALT | AMY | TBIL | BUN | CA | PHOS | CRE | GLU | NA ⁺ | K ⁺ | TP | GLOB | T4 | CHOL |
| Sağlıklı Hayvan | 4.1± 0.4 | 51± 16 | 60 ± 31.8 | 510 ± 16.2 | 0.3± 0 | 13± 1 | 4 ± 0.28 | 5.5± 0.7 | 0.6± 0.07 | 12 ± 8 | 155 ± 3.53 | 8.5± 0.84 | 4.1 ± 0.7 | 3.1± 2.1 | 3 ± 1.3 | 44 ± 3.5 |
| T- Tedavi yok (1) | 6.5± 0.2 | 47± 0 | 171 ± 202 | 773 ± 92.6 | 0.4± 0.07 | 13 ± 1 | 3.9 ± 0 | 5.4± 0.21 | 0.5± 0.14 | 155 ± 9.89 | 149 ± 0.7 | 13.1 ± 0 | 8.4 ± 0.28 | 2 ± 4.5 | 6 ± 0.07 | 234 ± 20 |
| T- Tedavi yok (2) | 5.5± 0.2 | 23± 2.2 | 86 ± 2.12 | 860 ± 11.3 | 0.4± 0.07 | 15± 1 | 3.9± 0 | 5.7± 0.56 | 0.8± 0.28 | 139 ± 9.89 | 158 ± 1.41 | 12.1 ± 2.54 | 7.9 ± 0.35 | 2.7± 0.6 | 4.8± 0.49 | 137 ± 17 |
| T- Tedavi yok (3) | 5.4± 0.7 | 30± 14 | 62 ± 140 | 939 ± 198 | 0.4± 0 | 18± 2 | 3.9± 0 | 5.6± 0.28 | 0.3± 0 | 158 ± 55 | 150 ± 4.24 | 12.1 ± 2.47 | 8.2 ± 0.21 | 2.5± 1.7 | 6.1± 2.62 | 230 ± 18 |
| T- Tedavi yok (1) | 5.4± 0.3 | 72± 9.1 | 514 ± 73 | 781 ± 159 | 0.3± 0 | 14± 2 | 3.9± 0 | 6 ± 0.98 | 0.3± 0.7 | 195 ± 35.3 | 151 ± 2.82 | 8.6± 0 | 8.1 ± 1.31 | 1.7± 0.4 | 5.4± 2.26 | 227 ± 15 |
| T- Tedavi Ticari formülasyon (2) | 5.2± 0.6 | 166 ± 69 | 83 ± 7.07 | 681 ± 11.3 | 0.3± 0 | 15 ± 0.7 | 3.9± 0 | 5.7± 0.49 | 0.2± 0.28 | 259 ± 4.24 | 145 ± 1.4 | 8.6± 0 | 6.5± 0.7 | 2 ± 0.42 | 3.8 ± 1.13 | 112 ± 1.4 |
| T- Tedavi F8B (3) | 5.1± 0.98 | 82 ± 29.6 | 532 ± 19 | 851 ± 66.4 | 0.3± 0 | 12 ± 0 | 3.9± 0 | 5.9± 0.35 | 0.2± 0.28 | 236 ± 142 | 148 ± 2.82 | 8.6± 2.47 | 7.1± 2.45 | 2 ± 1.41 | 4 ± 0.49 | 22± 1.8 |

(Sağlıklı hayvan: Metil prednisolon asetat ile tansiyon oluşturulmamış hayvan (Negatif Kontrol), T- Tedavi yok(1): Metil prednisolon asetat ile tansiyon oluşturulmuş tedavi almamış hayvan(Pozitif Kontrol), T-Tedavi yok(2): Metil prednisolon asetat ile tansiyon oluşturulmuş tedavi almamış hayvan(Pozitif Kontrol),T-Tedavi yok(3):Metil prednisolon asetat ile tansiyon oluşturulmuş tedavi almamış hayvan(Pozitif Kontrol), T- Tedavi yok(1): Metil prednisolon asetat ile tansiyon oluşturulmuş tedavi almamış hayvan(Pozitif Kontrol),T-Tedavi ticari formülasyon (2): Metil prednisolon asetat ile tansiyon oluşturulmuş ticari formülasyon ile tedavi almış hayvan, T-Tedavi F8B(3):Metil prednisolon asetat ile tansiyon oluşturulmuş F8B ile tedavi almış hayvan.)

Tartışma

5.1. Genel Değerlendirme

Hipertansiyon, gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerin en başta gelen sağlık sorunlarından biridir. Dünya Sağlık Örgütü, prevalansı yüksek olan hipertansiyonun dünyada önlenebilir ölüm nedenleri içerisinde birinci sırada yer aldığını belirtmektedir (Dönmez, Memioğlu, & Erdem, 2015). Tezimizde antihipertansif bir etkin madde olan Valsartan kullanılmıştır. Valsartan, BCS sınıf II bir etkin madde olup düşük çözünürlük ve yüksek permeabilite göstermektedir. Bu etkin maddenin biyoyararlanımı %25 civarındadır. Valsartan bünyesinde barındırdığı iki zayıf asidik bölümden dolayı (pKa 3.9 ve 4.7) pH'ya bağlı çözünürlük gösterir. pH'nın 4'ten 6'ya yükselmesi valsartanın çözünürlüğünü 1000 kat arttırır fakat iyonik olmayan form artar ve lipofiliklik azalır. Bu nedenle gastrointestinal kanal boyunca valsartanın absorpsiyon oranı da pH'ya bağlı etkilenir. Valsartan asidik bir bölüm olan gastrointestinal kanalın üst kısmından absorbe olur fakat burada çözünürlüğü düşüktür (Saydam & Takka, 2007; Siddiqui et al., 2011).

Son yıllarda özellikle düşük çözünürlük gösteren etkin maddelerin formülasyon geliştirme çalışmalarında lipid bazlı formülasyonlar sıklıkla kullanılan ilaç taşıyıcı sistemler olmuştur. Çünkü birçok yeni ilaç molekülü ve varolan ilaç molekülleri zayıf biyoyararlanıma, bireylerarası/bireyleriçi farklılığa neden olan düşük çözünürlük gösterirler (Kallakunta, Bandari, Jukanti, & Veerareddy, 2012). Bu yüzden bu ilaçların oral uygulamasında çözünürlük hız sınırlayıcı basamaktır (Palmer, 2003). Valsartan gibi düşük çözünürlük ve biyoyararlanıma sahip ilaçlar lenfatik hedefleme için potansiyel adaylardır. Böyle ilaçlar bağırsak lenfleri aracılığı ile etkin bir şekilde taşınarak sistemik dolaşıma katılırlar. Valsartanın direkt olarak sistemik dolaşıma taşınması portal sistemin geçilmesine ve karaciğer ilk geçiş etkisi sorununun ortada kaldırılmasına yol açacaktır. Böylelikle çok daha düşük dozlarda etkin plazma konsantrasyonlarına ulaşılacaktır. Direkt lenfatik kılcallarda bulunan endotelial hücreler arasındaki bağlar, koloidal parçacıkların doğrudan lenflere gitmesini sağlar. Lenfatik sistemin bu özelliği kullanılarak şilomikron oluşumu ile uzun zincirli yağ asitlerinin absorpsiyonu artırılarak portal sirkülasyon atlanabilir. Lenfatik hedefleme yaklaşımı mikroemülsiyon, kendiliğinden emülsiyon oluşturan ilaç taşıyıcı sistemler, miseller sistemler gibi lipid bazlı sistemler için uygundur (Hetal, Bindesh, & Sneha, 2010). Lipid bazlı sistemler dissolüsyon sürecini hızlandırarak, partikül boyutunu

moleküler düzeylere indirmeyeyle çözülmüş fazın formasyonunu kolaylaştırarak, taşıyıcı ile katı hal solüsyonunu sağlayarak, ilaç alımını değiştirerek, enterosit bazlı transportu değiştirerek, intestinal lenfatik sistem aracılığıyla ilacın sistemik dolaşıma transportunu arttırarak gastrointestinal kanaldan ilaç absorpsiyonunu arttırırlar (Kalepu et al., 2013). Bu nedenle tez çalışmamızda Valsartan gibi düşük çözünürlük ve düşük biyoyararlanım gösteren etkin maddenin gastrointestinal sistemde çözünürlüğünü arttırmak ve oral biyoyararlanımını arttırmak amacıyla miseller çözelti, kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler ve katı kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler geliştirilmiştir.

5.2. Valsartanın Fizikokimyasal Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Bu amaçla ilk olarak Valsartanın fizikokimyasal özellikleri belirlenmeye çalışıldı ve literatürle uyumu araştırıldı. İlk olarak Valsartanın lipid su partiyon katsayısı 22.2 olarak belirlendi. Bu değer literatürdeki Valsartanın lipid su partiyon katsayısı değeri ile uyumlu bulundu (Mbah, 2005). Daha sonra Valsartanın FT-IR spektrumu çekildi (Şekil 2) ve erime derecesi tayini (Şekil 3) yapıldı. FT-IR spektrumdaki pik değerleri (2964cm^{-1} 'de C=N gerilmesi, 1729cm^{-1} 'de karboksilat gerilmesi, 1602cm^{-1} 'de C=O bağı, 1105cm^{-1} 'de C-N bağı) literatürlere uygun bulunmuştur (Ardiana, Suciati, & Indrayanto, 2015). DSC'de yapılan erime derecesi analizinde 104°C 'de pik verdiği gözlemlenmiştir. Bu pik literatür bilgisi ile uyumludur (Ramos & Diego, 2017).

5.3. Valsartanın HPLC Metodu ve Validasyon Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Valsartanın yapılacak olan in vitro salım, permeabilite, stabilite ve in vivo çalışmalarında kullanılmak üzere HPLC yöntemi geliştirilip valide edilmiştir. Validasyonlar FDA tarafından önerilen kriterlere göre doğrusallık, seçicilik, çalışma aralığı, doğruluk ve geri elde edilebilirlik, kesinlik, çözelti stabilitesi, duyarlık ve sapma sınırı parametreleri açısından değerlendirilmiştir. Doğrusallık parametresinde bulunan r^2 değerleri pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8, HBSS, FaSSIF, FeSSIF, FaSSGF için sırasıyla 0.999, 0.9991, 0.9999, 0.9992, 0.9999, 0.9994, 0.9991 olarak bulunmuştur. Bu değerler eğrilerin %99.9, %99.91, %99.99, %99.92, %99.99, %99.94, %99.91 doğrusallık gösterdiğini belirtmektedir. Seçicilik parametresinde pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8, HBSS, FaSSIF, FeSSIF, FaSSGF ortamlarının hiçbirinde etkin madde pikinin altında herhangi bir pik yoktur. Bu bulgu yöntemin seçicilik yönünden sorun teşkil etmediğini göstermektedir. Çalışma aralığı örneğin yüksek konsantrasyonundan düşük

konsantrasyonuna kadar olan bir aralıkta analitik yöntemin kabul edilebilir doğruluk, hassasiyet ve doğrusallık seviyesi ile çalıştığı kanıtlanması ile ilgilidir. Bu parametre için %10 ve %125'lik konstrasyonlarda numune analizlendi ve 7 ortamın hepsinde RSD %2'den küçük bulundu. Doğruluk ve geri elde edilebilirlik parametresinde düşük (%1.25), orta (%10) ve yüksek (%100) derişimlerde 6 paralel enjeksiyon verilerek hesaplanan yüzde doğruluk değerleri pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8 ve HBSS ortamlarında Tablo 6, Tablo 7, Tablo 8, Tablo 9'da verildiği gibi %95'in üzerinde, FaSSIF, FeSSIF, FaSSGF ortamlarında ise %98'den büyük bulunmuştur. FDA tarafından, yapılan validasyon çalışmalarında beklenen doğruluk değeri %80'den büyük olmasıdır. Doğruluk parametresi bu kriteri karşılamıştır. Kesinlik çalışmasında %100 derişimdeki çözeltilerden 6 enjeksiyon yapılmıştır. Tüm 7 ortam için RSD değerleri %2'den küçük bulunmuştur. FDA tarafından verilen sınırlara uygun olduğu belirlenmiştir. (FDA, 2000). İstatiksel analizde yapılan altı enjeksiyon arasında fark gözlemlenmemiştir ($p>0.05$). FaSSIF, FeSSIF, FaSSGF ortamları enzim içerdiklerinden dolayı çözeltilerinin stabilitesine bakılmamıştır. pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8 ve HBSS ortamlarında çözeltilerinin stabilitesi parametresi için 90 dakika, 10 saat, 14saat 18 saatte enjeksiyonlar tekrarlandı. %RSD değerleri her bir derişim için istenen sınırlarda bulundu (RSD <%15). Duyarlık ve sapma sınırı için pH 1.2, pH 4.6, pH 6.8 ve HBSS ortamlarında LOD değerleri sırasıyla 0.07, 0.027, 0.031, 0.025 ve LOQ değerleri sırasıyla 0.21, 0.081, 0.103, 0.074 değerleri elde edilmiştir. HPLC çalışmalarında pH 4.6, pH 6.8 ve HBSS ortamı için en düşük derişim seçilen 0.1µg/mL ve pH 1.2 için seçilen 0.5µg/mL derişimlerinde çalışılmasında sakınca yoktur. Elde edilen tüm parametrelerin sonucunda HPLC yöntemi FDA'da belirlenen kriterlere göre uygundur.

5.4. Valsartanın Çözünürlük Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Valsartan, potent yüksek seçiciliğe sahip oral yoldan kullanılan aktif anjiotensin II tip1 reseptör antagonist grubuna dahil antihipertansif bir ilaçtır. Valsartanın anjiotensin II tip 1 reseptörüne afinitesi anjiotensin II tip 2 reseptörüne olan afinitesinden yaklaşık 20000 kat fazladır. Bu sayede kan damarlarında gevşemeye ve kan basıncında düşmeye yol açar. Valsartan nötral pH'da suda çözünür özelliktedir. Fakat bünyesinde barındırdığı iki zayıf asidik bölümden dolayı pH'ya bağlı çözünürlük gösterir (Aydın & Öztürk, 2014; Saydam & Takka, 2007). Yapılan Valsartana ait çözünürlük çalışmasında literatüre uygun olarak pH'ya bağlı bir çözünürlüğe sahip olduğu için, pH 1.2'de 0.038 mg/mL, pH 6.8'de 3.87 mg/mL çözünürlük gösterdiği bulunmuştur.

Valsartanla yapılan bir katı kendiliğinden nanoemülsifiye olan sistem çalışmasında, Campul CMC, Labrasol ve Tween 20 kullanılmıştır. Aerosil 200, Silisia, Neusilin US2'e emdirilmiştir ve ayrıca tablet olarak basılmış ve birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Optimize edilen S-SNEDDS formülasyonu çözünürlük oranında 3-3.5 kat artış göstermiştir ve buna bağlı biyoyararlanımda da artış gözlemlenmiştir (Beg et al., 2012) Tez kapsamında lipid bazlı sistemler geliştirilmesi için bu sistemlerin hazırlanmasında kullanılan çeşitli yağ, yüzey etkin madde, yardımcı yüzey etkin maddelerde çözünürlük çalışması yapılmış ve bununla ilgili sonuçlar Tablo 24'de verilmiştir. Buradan yola çıkarak Valsartanın en çok çözüldüğü izopropil miristat, oleik asit, Capryol 90, Tween 20, PEG 600, Transcutol HP, izopropil alkol, etanol, Labrafil M 2125 CS, Tween 80 ile denemelere başlanmıştır.

5.5. Formülasyon Geliştirme Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Projemiz kapsamında geliştirdiğimiz lipid bazlı formülasyonların ilki kendiliğinden emülsifiye olabilen ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Bu amaçla Tablo 24'de en yüksek çözünürlüğü gösteren yağ, YEM, Y-YEM ile Tablo 25-34'de belirtilen toplam 30 formülasyon geliştirilmiştir. Lipid bazlı formülasyonlarda yağ fazı olarak Valsartan için yüksek çözünürlük gösteren oleik asit (3.2 mg/mL) ve izopropilmiristatın (3.5 mg/mL) formülasyonlarda kullanılması uygun görülmüştür. Yine Valsartan için yüksek çözünürlük gösteren Hint yağı laksatif etkisi nedeniyle seçilmemiştir (EMA, 2016). Valsartanın yüksek çözünürlük gösterdiği YEM'lerden Cremophor EL ise kan beyin bariyerini geçebildiğinden uygun görülmemiştir (Kemper, Zandbergen, Cleypool, Mos, & Boogerd, 2003). Bu formülasyonların geliştirilmesinde titrasyon yöntemi kullanılmıştır. Her bir YEM/YYEM oranı için en yüksek mikroemülsiyon alanını veren faz diyagramları Şekil 16 ve 17'te verilmiştir. Buna göre F2A, F2C, F5B, F7B, F8B, F9A ve F10B seçilmiştir. F2A ile F2C'yi kendi arasında kıyasladığımızda benzer formülasyonlar olsa da Tablo 26'da belirtildiği gibi F2A 1:1 YEM/YYEM, F2C 1:2 YEM/YYEM içermektedir. Her ne kadar F2A'nın mikroemülsiyon alanı daha yüksek olmasına rağmen Valsartanın YYEM içerisinde çözünürlüğünün daha yüksek olması nedeniyle F2C formülasyonu seçilmiştir. Ayrıca F2C titrasyonla daha fazla su tutabilmektedir. Bilindiği gibi kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler fizyolojik ortamda biyolojik sıvılar ile seyrediklerinde kendiliğinden emülsiyon oluştururlar

(SEDD/SNEDD/SMEDD) (Borkar, Holm, Yang, Müllertz, & Mu, 2016; Leonaviciute et al., 2017; Liu et al., 2016; Tandel, Shah, Vanza, & Misra, 2017).

Lipid bazlı formülasyon sınıflandırma sistemine göre formülasyonlar dört grupta incelenir. Tip 1 formülasyonlar, sadece yağlardan oluşur ve kaba dağılım gösterirler. Tip 2 formülasyonlar %40-80 trigliserit veya gliserit karışımları, %20-60 yüzey etkin maddeden (HLB<12) oluşur. Partikül büyüklüğü 100-250nm'dir (SEDDS). Tip 3 formülasyonlar, tip 3A ve tip 3B olarak ikiye ayrılır. Tip 3A %40-80 trigliserit veya gliserit karışımları, %20-40 yüzey etkin madde (HLB<12), %0-40 yardımcı yüzey etkin maddelerden (YYEM) oluşur. Buna göre tezimizde geliştirilen formülasyonların HLB değeri 9-11 arasında ayarlandı (Tablo 35) (N. Gursoy & Çevik, 2011; Kalepu et al., 2013). Tip 3A sistemlerin partikül büyüklüğü 100-250 nm'dir (sulu komponentlerle SEDDS/SNEDDS oluştururlar). Tip 3B ise % <20 trigliserit veya gliserit karışımları, %20-50 yüzey etkin madde (HLB>12), %20-50 yardımcı yüzey etkin madde (YYEM) içerir. Partikül büyüklüğü 50-100nm'dir (sulu ve az yağlı içeriklerle beraber SMEDDS oluştururlar). Tip 4 formülasyonlar trigliserit veya gliserit karışımları içermez. Sadece %0-20 yüzey etkin madde (HLB<12), %20-80 yüzey etkin madde (HLB>12) ve yardımcı yüzey etkin madde %0-80 içerir (Miseller solüsyonlar oluştururlar) (N. Gursoy & Çevik, 2011; Kalepu et al., 2013).

Tez kapsamında geliştirdiğimiz ikinci lipid bazlı formülasyon ise S-SEDD sistemlerdir. Sıvı formülasyonlar olarak hazırlanan SEDDS/SMEDDS/SNEDDS'lerin, fiziksel dayanıklılığa sahip sistemler olmalarının yanında taşıma kolaylığı sağlanması ve mikrobiyolojik dayanıklılıklarının artırılması amacıyla katı dozaj formu şekline getirilmeleri için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu durumda yüksek dayanıklılık, tekrarlanabilirlik ve hasta uyuncunun artması gibi üstünlükler sağlanabilmektedir. Kapsüle dolun teknolojisi, sıvı veya yarı katı sistemlerin enkapsüle edilerek oral yolla uygulanmasında kullanılan en yaygın ve kolay teknolojidir. Fakat yüksek maliyet ve kapsül deformasyonu gibi sakıncaları vardır. Bunun yanında SEDDS/SMEDDS/SNEDDS'ler çeşitli yöntemlerle pellet ya da toz haline getirilebilmektedir (S-SEDDS). Bu yöntemlerde bazıları püskürterek kurutma, katı taşıyıcılara adsorbsiyon, yağ granülasyon ve yağ ekstrüzyondur (Sultan, El-gizawy, Osman, & Maghraby, 2017). Geliştirilen formülasyonların Tablo 36'da belirtildiği gibi en iyi damlacık boyutu (F8B ve F9A sırasıyla 95.2nm ve 135.4nm) ve polidispersite indeksine (PDI<0.5) sahip olan F8B ve F9A ile karakterizasyon

çalışmalarına ve bu formülasyonlar kullanılarak geliştirilen S-SEDD formülasyonu çalışmalarına geçilmiştir. Katılaştırma çalışmalarında inert katı taşıyıcı olarak HPMC E5, Avicel pH 102 ve Aerosil 200 kullanılmıştır. Granüle haline getirme yöntemi olarak yaş granülasyon yöntemi uygulanmıştır.

Tezimizde geliştirdiğimiz üçüncü lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistemler ise miseller sistemlerdir. Miseller sistemler lesitinle safra tuzlarının birlikteliğine dayanır. Düşük toksisite ve yüksek çözündürme gücüne sahip bir alternatif olarak umut vaat eder. Bu miseller sistemler az çözünen ilaçların rahat çözünmesi için nanotaşıyıcılar olarak araştırılmıştır (Sultan et al., 2017). Miseller sistemlerin dışındaki hidrofilik kabuktan dolayı dolaşımdaki ömürleri daha uzundur. Ayrıca artmış permeabilite ve tutulma etkisi (EPR effect) miseller sistemleri çekici bir ilaç taşıyıcı sistem yapmaktadır (Beg et al., 2012). Kritik misel konsantrasyonunun altında surfaktanlar miselleri oluştururlar. Bu miseller agregatların hidrofobik çekirdek ve hidrofilik yüzeyleri vardır. Hidrofobik iç yüzey hidrofobik, Valsartan gibi çözünürlük problemi olan moleküller için uygun bir çözünme ortamı yaratır (Do et al., 2009). Projemizde beş farklı misel formülasyonu geliştirilmiştir. Lutrol F127 ve Soluplus® bu amaçla kullanılmıştır.

5.6. Karakterizasyon ve Stabilite Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Geliştirilen tüm formülasyonlar mL'de 80 mg Valsartan içermektedir. Projede kullanılan tüm miktar tayini yöntemleri valide edilmiş metodlarla analizlenmiştir. Hazırlanan Valsartan içeren lipid bazlı formülasyonların karakterizasyon çalışmalarında fiziksel görünüş, pH, elektriksel iletkenlik, refraktif indis, viskozite, damlacık boyutu, emülsifikasyon zamanı, termodinamik stabilite (santrifüj, ısıtma soğutma), dağılım dayanıklılığı ve kritik misel konsantrasyonu değerlendirilmiştir.

SEDD sistemlerin karakterizasyon çalışmalarında bakılan ilk parametre pH'dır. Bir çözeltinin asitlik ya da bazlık derecesini tarif eden ölçü birimi olan pH ölçümleri stabilite çalışmaları süresince yapılmıştır. F8B'nin 3.741-3.755 arasında ve F9A'nın 3.746-3.754 arasında değişim göstermiştir ve her bir ay arasında ölçülen pH değerleri arasında istatistiksel olarak fark gözlemlenmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 55-58). İkinci olarak incelenen parametre ise elektriksel iletkenliktir. Elektriksel iletkenlik ölçülerek mikroemülsiyon sistemlerin fazları belirlenebilmektedir. Elektriksel iletkenlik ölçümleri mikroemülsiyon formülasyonunun dayanıklılığın bir göstergesidir. F8B ve

F9A formülasyonlarının elektriksel iletkenlikleri üçgen faz diyagramında belirtilen su miktarına karşılık gelen miktarda su kullanılarak ölçülmüştür (optimum formülasyon). F8B ve F9A için elektriksel iletkenlik sırasıyla 86 $\mu\text{s}/\text{cm}$ ve 73 $\mu\text{s}/\text{cm}$ olarak bulunmuştur. Stabilite çalışmalarında 12 ay boyunca iki farklı sıcaklıkta yapılmış ve Tablo 55-58'de belirtildiği gibi elektriksel iletkenlik değerleri F8B için 86-87 $\mu\text{s}/\text{cm}$ arasında, F9A için 73-74 $\mu\text{s}/\text{cm}$ arasında ölçülmüştür. Bu bulgu mikroemülsiyonun stabilite çalışmaları boyunca faz dönüşümü geçirmediğini ifade etmektedir. İstatiksel olarak ölçümler arasında fark gözlemlenmemiştir ($p>0.05$). Üçüncü olarak incelenen parametre Refraktif indis ölçümüdür. Bir ışık demetinin yoğunlukları farklı iki ortam arasında yön değiştirmesine refraksiyon (kırılma) denir. Bir maddenin refraktif indisi, onun karakteristiğinin bir işaretidir (Bakhle, 2016; Cilek, Celebi, & Tirnaksiz, 2006). Hazırlanan F8B ve F9A formülasyonlarının refraktif indisleri sırasıyla 1.4566 ve 1.4660 olarak ölçülmüştür. 12 ay boyunca yapılan uzun süreli ve hızlandırılmış stabilite çalışmalarında elde edilen refraktif indis değeri Tablo 55-58'de belirtildiği gibi başlağıctaki ile benzerdir. Formülasyonların damlacık büyüklükleri karakterizasyonda önemli parametrelerden biridir (Akula, Gurram, & Devireddy, 2014). Tablo 38'de belirtildiği gibi etkin madde içermeyen F8B ve F9A'nın partikül büyüklükleri sırasıyla 8.78 ± 0.003 nm, 45.11 ± 0.04 nm bulunmuştur. Bu büyümeyi etkin maddenin formülasyonun içine girmesiyle açıklayabiliriz. Etkin madde içeren F8B ve F9A'nın partikül büyüklükleri ise 72.63 ± 0.45 nm ve 146.6 ± 0.78 nm olarak bulunmuştur. Tip 3A sistemlerin partikül büyüklüğü 100-250 nm'dir (sulu komponentlerle SEDDS/SNEDDS oluştururlar). Tip 3B'nin ise partikül büyüklüğü 50-100 nm'dir (sulu ve az yağlı içeriklerle beraber SMEDDS oluştururlar) (Kalepu et al., 2013). Buna göre F8B tip 3B, F9A ise tip 3A sistemlere uygun bulunmuştur. Zeta potansiyel, partiküllerin yüzey yükünün bir ölçüsüdür ve partikül-partikül itme güçlerinin etkisiyle sisteme koloidal stabilite kazandırır. Dolayısıyla, zeta potansiyelinin bilinmesi, aynı zamanda koloidal dispersiyonun stabilitesinin öngörülmesine de izin verir (Patil, Patil, Shete, & Doijad, 2013). Genelde ± 30 mV'luk zeta potansiyel değerine sahip sistemler stabil kabul edilmektedir (Balakumar, Vijaya, Tamil, Hari, & Abdu, 2013). F8B ve F9A'nın zeta potansiyeli üç paralel ölçülmüş ve sonuçlar birbiri ile uyumlu bulunmuştur (Şekil 18-19). Dağılım dayanıklılığı, farklı seyreltme ortamlarında ve oranlarında homojen SEDD formülasyonlarının *in vivo* ortamda etkin maddenin çökmeyip absorpsiyonu etkilemeyeceğinin bir göstergesi olduğu için önemli bir parametredir (Balakumar et al., 2013). F8B ve F9A

formülasyonlarının dağılım dayanıklılığı pH 1.2, pH 6.8 ve distile su ortamlarında 1:10, 1:100, 1:500 ve 1:1000 seyreltme oranlarında yapılmıştır. Formülasyonlar seyreltikçe damlacık büyüklüklerinin küçüldüğü gözlemlenmiştir. F8B formülasyonunda 1:1000 seyreltmede 0.dakikada damlacık boyutu 47.30 ± 0.56 nm olarak bulunurken, 24. Saat sonunda damlacık boyutu 75.16 ± 2.15 nm, pH 1.2 ortamında 0. dakikada 437.9 ± 5.34 nm iken 24. saatin sonunda 271.0 ± 8.86 nm, pH 6.8 ortamında 0. dakikada 77.16 ± 2.826 nm iken 24. saatin sonunda 121.2 ± 3.80 nm olarak bulunmuştur. F9A formülasyonunda 1:1000 seyreltmede 0.dakikada damlacık boyutu 97.42 ± 1.03 nm olarak bulunurken, 24. Saat sonunda damlacık boyutu 156.9 ± 2.5 nm, pH 1.2 ortamında 0. dakikada 466.9 ± 1.62 nm iken 24. saatin sonunda 223.9 ± 3.62 nm, pH 6.8 ortamında 0. dakikada 165.5 ± 7.61 nm iken 24. saatin sonunda 139.2 ± 2.81 nm olarak bulunmuştur. Bu zaman aralıklarında ölçülen damlacık boyutlarında polidispersite indeksi 0.85'ten küçük bulunmuştur. Kendiliğinden emülsifikasyonda emülsifiye olabilme zamanı, sistemin etkinliği hakkında bilgi vermektedir (Amrutkar, Salunkhe, & Chaudhari, 2014). SEDD formülasyonları seyreltme ortamlarında hafif bir çalkalama ile disperse olmalıdır (Amrutkar et al., 2014; Balakumar et al., 2013). Balakumar ve arkadaşlarının yaptığı benzer bir çalışmada emülsifikasyon zamanı bir dakikadan küçük olan formülasyonların stabil olacağını belirtmişlerdir (Balakumar et al., 2013). F9A ve F8B literatürlerle uyumlu olarak sırasıyla 15 sn ve 10 sn'de tamamen dağılmıştır. SEDD formülasyonlarla termodinamik stabilite (santrifüj, ısıtma-soğutma ve dondurma-çözme) çalışmaları yapılmıştır (Selvam et al., 2015). F8B ve F9A formülasyonlarında da herhangi bir faz ayrışması, çökme gibi stabilizasyon problemi gözlemlenmemiştir. Buradan hareketle iki formülasyonun da termodinamik olarak stabil olduğunu söyleyebiliriz. F9A ve F8B ile 12 ay boyunca yapılan uzun süreli ($25 \pm 5^\circ\text{C}$, 60 ± 5 bağıl nem) ve hızlandırılmış stabilite ($40 \pm 5^\circ\text{C}$, 75 ± 5 bağıl nem) çalışmalarında içerik miktar tayinleri yapılmıştır. Etkin madde içerik miktarlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişme olmamıştır. Aynı şekilde 12 ay boyunca yapılan fizikokimyasal analizlerde başlangıç değerlerine benzer bulunmuştur (Tablo 55-58).

S-SEDD (F9A Avicel, F9A HPMC, F8B Avicel, F8B HPMC) formülasyonlarında yapılan karakterizasyon çalışmalarında ilk olarak küme ve sıkıştırılmış dansitelere bakıldı ve buradan hareketle Hausner oranı ve Carr indeksi hesaplandı. Carr indeksleri 24.98 ile 32.98 arasında bulundu. Bu bulgulara göre granülerimizin akışlarının

zayıf olduğu gözlemlendi. Bu formülasyonlarla yapılan titreşimli elek testinde her birinin en yoğun olduğu partikül boyutu dağılımının 1400 µm'den büyük olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 46-49). Granülelerle yapılan emülsifikasyon zamanı analizinde F8B ve F9A'nın HPMC formülasyonu şişerek 5 dakikada emülsifiye olmuşlardır. F9A ve F9B'nin Avicel- Aerosil formülasyonlarında emülsifikasyon zamanlarının 30 saniyeden kıs olduğu gözlemlenmiştir. F9A Avicel-HPMC-Aerosil ve F8B Avicel-HPMC-Aerosil formülasyonlarının partikül boyutu ölçümleri yapılmıştır (Tablo 50). Bu bulgulardan hareketle F9A ve F8B aerosil formülasyonlarının partikül boyutlarının istenenden fazla olduğu gözlemlenmiştir. F9A ve F8B'nin her Avicel ve HPMC formülasyonları ile 12 ay boyunca yapılan uzun süreli (%25±5°C, %60±5 bağıl nem) ve hızlandırılmış stabilite (%40±5°C, %75±5 bağıl nem) çalışmalarında içerik miktar tayinleri yapılmıştır. F9A Avicel ve HPMC formülasyonlarında 0. ay ile 1. ay arasında dramatik bir farklılık vardır. Bu nedenle F9A Avicel ve HPMC *in vitro* permeabilite ve *in vivo* çalışmalara dahil edilmemiştir. Granülelerde yapılan fizikokimyasal analizler 0. ay sonuçlarına çok yakın bulunmuştur (Tablo 59-66).

Misel formülasyonlarıyla yapılan karakterizasyon çalışmalarında ilk olarak formülasyonların pH değerleri ölçüldü. Misel formülasyonlarının ortalama pH değeri 3.75 olarak bulundu. Misel formülasyonlarda yapılan damlacık büyüklüğü ölçümleri sonucu elde edilen bulgularda damlacık büyüklükleri Misel A ve F dışında çok büyük bulundu. Tüm formülasyonlarda polidispersite indeksleri 0.85'ten büyük bulundu. Misel formülasyonlarda yapılan termodinamik stabilite testlerinde tüm formülasyonlarda faz ayrışması gözlemlendi. Buna dayanarak termodinamik olarak stabil olmadıklarına karar verildi. Kritik misel konsantrasyonu ölçümünde ise, Formülasyon A ve F dışındaki diğer formülasyonlarda yüzey gerilimlerinde dramatik bir değişiklik olmamasından ötürü kritik misel konsantrasyonları ölçülemedi. Buradan hareketle bu Misel B, C, D ve E formülasyonlarında misel sistemleri oluşturamadığımız bulgusu belirlendi.

Yapılan karakterizasyon çalışmaları sonrası, misel sistemlerin damlacık boyutu ve PDI değerleri uygun olmadığından ve termodinamik stabilitelerinde problem görülmesinden dolayı bundan sonraki stabilite, salım çalışmaları ve *in vitro* *in vivo* çalışmalara dahil edilmemiştir. Karakterizasyon çalışmaları sonrası tespit edilen F8B, F9A, F8B Avicel, F8B HPMC, F8B Aerosil, F9A Avicel, F9A HPMC, F9A Aerosil ile *in vitro* salım çalışmalarına devam edilmiştir.

5.7. *In Vitro* Salım Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Literatürde Valsartan doğası olarak asidik olmasından dolayı biyoyararlanımı %25 civarındadır (Aydın & Öztürk, 2014; Saydam & Takka, 2007). Ancak Valsartan asidik bir bölüm olan gastrointestinal kanalın üst kısmından absorbe olur fakat burada çözünürlüğü düşüktür (Saydam & Takka, 2007). Geliştirilen formülasyonların, Toz valsartanın ve ticari formülasyonun pH 1.2, pH 4.6 ve pH 6.8 de salım çalışması yapılmıştır (Şekil 21-26, Tablo 67-72). Valsartan pH yükseldikçe çözünürlüğü artan bir madde olduğu için önemli olan pH 1.2’de çözünürlüğünü artırmaktır. pH 1.2’de 24. saatin sonunda ticari formülasyon %62.99, toz valsartan %9.41, F8B %90.73, F8B Avicel %82.48, F8B HPMC %77.25, F8B Aerosil %58.18, F9A %79.57, F9A Avicel %81.32, F9A HPMC %88.69, F9A Aerosil %60.98 ‘lik salım değerlerine ulaşmışlardır. F8B pH’ya bağlı olmayan bir çözünme profili sergilemektedir. Bu nedenle permeabilite çalışmalarında sadece F8B formülasyonu ve bu formülasyonun katılaştırılmış hali olan F8B Avicel formülasyonu kullanılmıştır. HPMC formülasyonunun kullanılmamasının nedeni yaptığı yavaş salımdır.

F₂ benzerlik faktörüne göre sonuçlar değerlendirildiğinde, pH 1.2’de F8B ve F8B Avicel incelenmiştir. Buna göre F₂ benzerlik faktörü 56.5 bulunmuştur ve profiller benzerdir. pH 4.6’da F8B ve F8B Avicel incelenmiştir. Buna göre F₂ benzerlik faktörü 60.2 bulunmuştur ve profiller benzerdir. pH 6.8’de Ticari formülasyon-F8B ve F8B-F8B Avicel incelenmiştir. Buna göre F₂ benzerlik faktörleri sırasıyla 46.87 ve 79.42 olarak bulunmuştur. F8B ve F8B Avicel daha benzer profile sahiptir. pH 1.2’de F9A ve F9A Avicel incelendiğinde F₂ benzerlik faktörü 68.74 olarak bulunmuştur ve profiller benzerdir. pH 4.6’da Ticari formülasyon-F9A, F9A-F9A HPMC, F9A-F9A Avicel incelenmiştir. Buna göre F₂ benzerlik faktörleri sırasıyla 43.81, 39.48, 55.56 olarak bulunmuştur. En benzer F9A-F9A Avicel’in profilleridir. pH 6.8’de Ticari formülasyon-F9A Avicel, Ticari formülasyon-F9A Aerosil, Ticari formülasyon-F9A incelenmiştir. Buna göre F₂ benzerlik faktörleri sırasıyla 43.75, 32.22, 69.5 olarak bulunmuştur. Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde F8B ve F8B Avicel en benzer profile sahip olan iki formülasyondur.

In vitro salım çalışmaları yapıldıktan sonra kinetik modelleme yapılarak değerlendirilmiştir. Hazırlanan formülasyonlar, ticari formülasyon ve toz valsartanın salım profilleri kinetik modellerden sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi, Langenbucher, Hixon-Crowell, RRSBW, M. Langenbucher, Hopfenberg, BTa,

Peppas'a uyum yönünden incelenmiştir. pH 1.2'de elde edilen sonuçların modele uyumun göstergesi olan regresyon doğrusunun tamamlayıcılık katsayısı (r^2) ve modele uygunluğunu belirleyen artık kareler toplamı incelendiğinde F8B formülasyonunun 0.9638 değeri ile M. Langenbucher (Ağabeyoğlu, 1978) modeline uyum sağladığı gözlemlenmiştir (Tablo 73). Aynı şekilde ticari formülasyon da bu modele uyum sağlamaktadır. F8B Avicel ise Langenbucher modeline uyum sağlamaktadır (Langenbucher, 1972).

5.8. Açlık Tokluk Ortamlarında *In Vitro* Salım Çalışmalarının

Değerlendirilmesi

Etkin maddelerin *in vitro* başarısının incelenmesinde ve *in vivo* davranışlarının ön görülmesinde kullanılan en önemli ölçüt dissolüsyon testleridir. Dissolüsyon testlerinde *in vivo* ortamı en iyi şekilde taklit eden şartların elde edilmesi gereklidir. Bunlardan en önemlisi ise kullanılan dissolüsyon ortamıdır. Farmakopeler ve kılavuzlarda belirtilen dissolüsyon ortamları çoğunlukla fizyolojik ortamların pH'larını baz alır. Bu ortamlar, çözünürlük ve çözünme problemi olmayan ilaçlar için uygun olsa da düşük çözünürlük gösteren etkin maddeler için *in vivo* koşulları yeterince yansıtamaz. Oysa dissolüsyon ortamı seçilirken ilacın lipofilitesi, çözünürlüğü, iyonizasyon özellikleri ve yiyecekler ile etkileşimleri gibi etkenler de göz önünde tutulmalıdır. Bundan dolayı, gastrointestinal koşulları taklit eden biyouyumlu ortamlar geliştirilmiştir. Bu ortamların içerikleri, osmolalitesi, pH'sı ve tampon kapasitesi açlık ve tokluğa göre değişiklik göstermektedir (Yaşın & Teksin, 2018). Açlık ve tokluk ortamlarında yapılan dissolüsyon çalışmaları Ticari formülasyon, Valsartan, F8B ve F8B formülasyonları ile yapılmıştır (Tablo 79-81 ve Şekil 27-29). Geliştirtirdiğimiz F8B formülasyonu tokluk halinde daha iyi salım yapmaktadır (FaSSGF %44.57, FaSSIF %79.82, FeSSIF %99.55). Bunu tokluk durumunda bağırsak içeriğinde yer alan safra tuzları, fosfolipitler, monogliseritler ve yağ asitleri gibi diğer amfifilik maddelerin bazı ilaçların çözünürlük, çözünme hızı ve emilimi üzerinde büyük etkisi bulunmasıyla ilişkilendirebiliriz. Bu bileşikler öncelikle gastrointestinal sıvıların yüzey gerilimini düşürerek ilaçların ıslanabilirliğini artırır (Kleberg & Jacobsen, 2010). F8B Avicel ise açlık tokluk durumlarından etkilenmemektedir (FaSSGF %37.57, FaSSIF %100.16, FeSSIF %98.39).

5.9. *In vitro* Lipoliz Çalışmasının Değerlendirilmesi

In vitro lipoliz çalışması F8B, F8B Avicel ve sadece yağ ve etkin madde içeren formlarla yapılmıştır. Sonuçlar Tablo 82-84 ve Şekil 30-31’de gösterilmiştir. Sonuçlar denklem 9 ile hesaplınmıştır (Zhang et al., 2014). Sindirilen IPM ve SEDD yüzdeleri, 3. saat sonunda sırasıyla % 86.84 ve% 52.12’dir. SEDD formülasyonundaki IPM'nin sindirim oranı, IPM'den daha düşüktür. Bu durum daha yüksek yüzey aktif madde / yağ oranından dolayı gerçekleşmiş olabilmektedir. Uzun zincirli lipidlerin düşük sindirim oranı, gastrointestinal kanalda formülasyonu daha stabil hale getirmiştir ve biyoyararlanım orta ve kısa zincirli lipid formülasyonlarına göre daha yüksektir (Zhang et al., 2014). Sindirilen IPM ve S-SEDD yüzdeleri, 3. saat sonunda sırasıyla %90.86 ve %86.84 ’tür. Katılaştırma için kullanılan Avicel’in sindirimi hızlandırdığı gözlemlenmiştir.

5.10. *In vitro* Permeabilite Çalışmasının Değerlendirilmesi

Caco-2 hücre hatlarından geçiş çalışmaları 2 yönlü olarak tasarlanmıştır. Bunlar apikal yönden bazolateral yöne doğru olan barsakta absorpsiyon olayının mukozadan serözal tabakaya doğru taşınan ilaç moleküllerinin kılcal damarlar vasıtasıyla sistemik dolaşıma geçmesini taklit etmesidir. Bazolateral yönden apikal yöne doğru olan ise eksorpsiyon olarak ifade edilen ilaçların kandan barsak lümenine doğru geçişi olarak tanımlanan ve bağırsak membranından apikal membrana doğru olan geçişi taklit etmesidir (Gündoğdu, 2009). Caco-2 hücrelerinde apikalden bazolaterale doğru yapılan geçiş çalışmalarında Valsartanın bazolateral kısmındaki derişim miktarı Toz Valsartanda, ticari formülasyonda, F8B ve F8B Avicel formülasyonunda sırasıyla 1.11 ± 0.05 , 2.58 ± 0.42 , 5.36 ± 0.49 , 0.88 ± 0.22 ’dir (Tablo 87). Caco-2 hücrelerinden yapılan geçiş çalışmalarında Toz Valsartan, ticari formülasyon, F8B Avicel’de valsartan etkin maddesinin A->B yöne doğru hesaplanan permeabilite değerleri (Toz Valsartan 37.29×10^{-5} , Ticari formülasyon 39.68×10^{-5} , F8B Avicel 51.48×10^{-5}) B->A yöne doğru hesaplanan permeabilite değerlerinden (Toz Valsartan 72.93×10^{-5} , Ticari formülasyon 63.41×10^{-5} , F8B Avicel 52.14×10^{-5}) daha düşük bulunmuştur. F8B’ise tam dersi bir durum söz konusudur (A->B’ye 86.46×10^{-5} , B->A’ya 75.57×10^{-5}). Buna göre F8B formülasyonu en yüksek geçiş değerine sahiptir (Tablo 85). Geliştirilen formülasyonlar ticari formülasyon ile karşılaştırıldığında permeabilite değerleri daha yüksek bulunmuştur. F8B ve F8B Avicel formülasyonları için Pab değerinin literatürlerde belirtilen 1×10^{-6} cm/sn değerinden büyük olduğu gözlenmiştir. Effluks

(net fluks) değeri, bazolateralinden apikale permeabilitenin, apikalden bazolaterale permeabiliteye bölümü olarak tanımlanır (Custodio, Wu, & Benet, 2009). Bu değerler 4 formülasyonda da 2'den küçük olarak bulunmuştur (Artursson, Palm, & Luthman, 2001).

Tüm formülasyonlar için yapılan geçiş çalışmalarında kullandığımız yöntemin geçerliliğini test etmek için Tablo 87 ve 88'de göstermiş olduğumuz kontrol parametrelerinden membrandaki ilaç miktarını temsil eden A_M ve hücre içindeki ilaç miktarını temsil eden A_{OH} değerleri tayin limitlerinin altındadır. Bu durumda tüm valsartan derişimlerinde Valsartana ait kayıp olup olmadığı da kontrol edilmiştir. Burada yaşanabilecek kayıplar, Valsartanın membran üzerinde kalabileceği ya da hücrelerin içine difüze olabileceğidir. Yapılan hesaplar sonucunda membran ve hücre içindeki miktar önemsenmeyecek kadar az olduğu için Valsartana ait herhangi bir kaybın olmadığı da gözlemlenmiştir.

Hücre çalışmaları özelinde çalışmanın bitiminde tüm deney boyunca çalışmanın doğru yapıldığını gösteren bir kalite kontrol parametresi TEER (Transepitelyal elektrik rezistansı) değerinin ölçümüdür. TEER değerinin ölçümü ile hem hücre kültürü ile üretilen dokuların gelişimi kontrol edilmekte hem de olası permeabilite etkileşimleri hakkında bilgi edinilebilmektedir. Doğru çalışan bir sistemde çalışma başlamadan önce ve çalışma bitiminde TEER değerinin 1500-1800 ohmxcm² aralığında olması istenir (Green, Clay, Richardson, & Hassan, 1997; Hilgers, Conradi, & Burton, 1990). TEER değerlerindeki % değişimler Tablo 89 ve 90'da verilmiştir.

Hücre canlılığı yüzdesi, %95'in üzerinde çıkarsa, uygulanan örneğin hücreler üzerinde sitotoksik olmadığı ifade edilir. Hücre canlılığı yüzdeleri ticari formülasyon, valsartan, F8B, F8B Avicel için sırasıyla %98, %98.5, %96 ve %96.5 üzerinde bulunmuştur. Geliştirilen formülasyonların hücre canlılığı üzerinde herhangi bir toksik etkisi gözlenmemiştir.

5.11. Farmakokinetik ve Farmakodinamik Çalışmaların Değerlendirilmesi

Hidrofobik ilaçların kaba yağ/su emülsiyonlarının hayvanlara uygulanıp oral biyoyararlanımının değerlendirilmesine ait pek çok çalışma mevcuttur ((Hoogevest, Liu, & Fahr, 2011; Kawakami, Yoshikawa, & Hayashi, 2002). Bu kaba emülsiyonlar sahip oldukları zayıf fiziksel stabilite ve yüksek hacimde uygulanmaları nedeniyle kullanımları sınırlıdır. Ancak SEDDS/SMEDDS/SNEDDS, S-SEDDs ve miseller

sistemlerinin sahip oldukları fiziksel stabilite ve düşük hacimde yumuşak jelatin kapsül içerisinde uygulanabilme avantajları nedeniyle oral uygulama için alternatif olabilirler. Valsartan gibi hidrofobik ilaçların lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistemler içinde uygulanması sonrası yüksek biyoyararlanım elde edilmesi birçok çalışmada vurgulanmıştır. Bunlara göre in vivo performanslarda 1.4'ten 7.5 kata kadar artışlar gözlemlenmiştir (Rao, Tan, Thomas, & Prestidge, 2014).

Bir antihipertansif olan olmersartan medoksomille yapılan bir çalışmada olmesartan medoksomilin katı kendiliğinden nano emülsifiye olan sistemleri hazırlanmıştır. Bunu poröz taşıyıcılardan Neusilin US2'ye adsorbe edilerek yapmışlardır. Farelerde yapılan farmakokinetik çalışmalarda Cmaks ve EAA'da 2.32 ve 3.27 kat artış gözlenmiştir (Beg et al., 2016). Tez çalışmamızda ise sıçanlarda yapılan farmakokinetik çalışmada formülasyonun vücuttaki dağılımını belirlemek için toplamda 10 noktada kan örnekleme yapılmıştır (0., 0.5., 1., 2., 3., 4., 5., 7.,18. ve 24. saatlerde). Sıçanlardan kalp kanı alınmıştır. Ticari formülasyonla geliştirilen F8B SEDD formülasyonu karşılaştırıldığında eğri altı alan Cmaks değeri 8.5 kat, eğri altı alan ise 4.02 kat artmıştır (Tablo 106).

Geliştirilen F8B formülasyonu ile tansiyon oluşturulmuş hayvan modellerinde 4 saat sonra bazal sistolik ve diastolik kan basıncına ulaşılırken, ticari formülasyon ile 4 saat sonra sistolik kan basıncı %50, diastolik kan basıncını %44 düşürmüştür. Sonuçlar arasında istatistiksel olarak fark gözlemlenmemiştir ($p>0.05$)

Sonuç ve Öneriler

Bu tezde literatürde varolan Valsartan içeren formülasyonlardan farklı olarak, valsartanın değişik lipid bazlı ilaç taşıyıcı sistemleri geliştirilerek, bu formülasyonlar birbiri içinde kıyaslanmıştır. Sonuç olarak düşük çözünürlük ve biyoyararlanım gösteren valsartan için ideal bir ilaç taşıyıcı sistem olarak kendiliğinden emülsifiye olabilen F8B formülasyonu önerilmiştir. Bilindiği gibi, hipertansiyon tedavisinde tedavide valsartan tek başına artan dozlarda kullanıldığı gibi, tedavinin yetersiz olduğu durumlarda kombinasyon ürünleri de kullanılmaktadır. Ancak günümüzde uygulanan sağlık tedbirleri gereği, antihipertansif kombin formlar son çare olarak reçetelenmektedir. Bu nedenle de yüksek seçiciliğe sahip ve pazar payı yüksek olan valsartanın, biyoyararlanım problemini aşacak şekilde yenilikçi bir formülasyon ile yeniden formüle edilmesi ve bu formülasyonların kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler olması açısından bu tez çalışmasında elde edilen bulgular oldukça önemlidir.

Kaynaklar

- Abacı, A. (2005). Hipertansiyon tedavisinde beta-blokerler : Kral gerçekten çıplak mı? *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 33(4), 241–247.
- Adam, M. (2005). Integrating research and development : The emergence of rational drug design in the pharmaceutical industry. *Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences*, 36(3), 513–537.
- Ağabeyoğlu, İ. (1978). *Sürekli Etkili Sülfametizol Preparatının Biyofarmasötik Açından Tasarımı ve Gerçekleştirilmesi*.
- Akula, S., Gurram, A. K., & Devireddy, S. R. (2014). Self-Microemulsifying Drug Delivery Systems : An Attractive Strategy for Enhanced Therapeutic Profile. *International Scholarly Research Notices*, 2014, 1–11.
- Amrutkar, C., Salunkhe, K., & Chaudhari, S. (2014). Study On Self Emulsifying Drug Delivery System Of Poorly Water Soluble Drug Rosuvastatin Calcium. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 3(4), 2137–2151.
- Ardiana, F., Suciati, & Indrayanto, G. (2015). Valsartan. In *Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology* (Vol. 40, pp. 431–493). <https://doi.org/10.1016/bs.podrm.2015.01.004>
- Artursson, P., Palm, K., & Luthman, K. (2001). Caco-2 monolayers in experimental and theoretical predictions of drug transport. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46, 27–43.
- Asil, S., & Atalar, E. (2017). All Diuretics Used in the Treatment of Hypertension is not the Same. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi-Archives of the Turkish Society of Cardiology*, 45(1), 94–101. <https://doi.org/10.5543/tkda.2016.93137>
- Aydın, Z., & Öztürk, S. (2014). Hipertansiyon Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Haseki Tıp Bulteni*, 52(4), 251–255. <https://doi.org/10.4274/haseki.1952>
- Bakhle, S. S. (2016). Development and Evaluation of Liquid and Solid Self-microemulsifying Drug Delivery System of Lovastatin. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 10(1), 22–35.
- Balakumar, K., Vijaya, C., Tamil, N., Hari, R., & Abdu, S. (2013). Colloids and

- Surfaces B : Biointerfaces Self nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) of Rosuvastatin calcium: Design , formulation , bioavailability and pharmacokinetic evaluation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 112(2013), 337–343. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.08.025>
- Beg, S., Katare, O. P., Saini, S., Garg, B., Kaur, R., & Singh, B. (2016). Solid self-nanoemulsifying systems of olmesartan medoxomil : Formulation development , micromeritic characterization , in vitro and in vivo evaluation. *Powder Technology*, 294, 93–104. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2016.02.023>
- Beg, S., Swain, S., Singh, H. P., Patra, C. N., & Rao, M. E. B. (2012). Development , Optimization , and Characterization of Solid Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems of Valsartan Using Porous Carriers. *American Association of Pharmaceutical Scientists Pharmaceutical Science and Technology*, 13(4), 1416–1427. <https://doi.org/10.1208/s12249-012-9865-5>
- Bhagani, S., Kapil, V., & Lobo, M. D. (2018). Hypertension. *Medicine*, 46(9), 509–515. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2018.06.009>
- Borkar, N., Holm, R., Yang, M., Müllertz, A., & Mu, H. (2016). In vivo evaluation of lipid-based formulations for oral delivery of apomorphine and its diester prodrugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 513(1–2), 211–217. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.09.024>
- Burnier, M. (2001). Angiotensin II Type 1 Receptor Blockers. *Circulation*, 103, 904–912.
- Calvo, C., Hermida, R., Ayala, D., & Ruilope, L. (2004). Effects of telmisartan 80 mg and valsartan 160 mg on ambulatory blood pressure in patients with essential hypertension. *Journal of Hypertension*, 22(4), 837–846.
- Catena, C., Colussi, G., & Sechi, L. A. (2012). Potassium-Sparing Diuretics in Hypertension. *Antihypertensive Drugs*, (4), 67–84. <https://doi.org/10.5772/36236>
- Çelik, C., & Özdemir, B. (2010). Esansiyel hipertansiyonda psikolojik etmenler. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, 2(1), 52–65. Retrieved from http://sfx.nelliportaali.fi/sfxlcl3?url_ver=Z39.88-2004&rft_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:journal&genre=article&sid=ProQ:ProQ:psycinfo&atitle=Esansiyel+hipertansiyonda+psikolojik+etmenler.&title=Psik

- Cerpnjak, K., Znovar, A., Gasperlin, M., & Vrečer, F. (2013). Lipid-based systems as a promising approach for enhancing the bioavailability of poorly water-soluble drugs. *Acta Pharmaceutica*, 63(2013), 427–445.
- Charlton, M., & Thompson, J. (2018). Drugs acting on the heart : antihypertensive drugs. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, 19(7), 365–369. <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2018.04.005>
- Charmann, W. N., & Stella, V. J. (1991). Transport of lipophilic molecules by the intestinal lymphatic system. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 7(1), 1–14.
- Cilek, A., Celebi, N., & Tirnaksiz, F. (2006). Lecithin-Based Microemulsion of a Peptide for Oral Administration : Preparation , Characterization , and Physical Stability of the Formulation Lecithin-Based Microemulsion of a Peptide for Oral Administration : Preparation , Characterization , and Physica. *Drug Delivery*, 13(1071–7544). <https://doi.org/10.1080/10717540500313109>
- Custodio, J. M., Wu, C., & Benet, L. Z. (2009). Predicting Drug Disposition, Absorption / Elimination / Transporter Interplay And The Role Of Food On Drug Absorbtion. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(6), 717–733. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.08.043>. PREDICTING
- Do, T., Speybroeck, M. Van, Barillaro, V., Martens, J., Annaert, P., Augustijns, P., ... Mooter, G. Van Den. (2009). Formulate-ability of ten compounds with different physicochemical profiles in SMEDDS. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 38(2009), 479–488. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2009.09.012>
- Dönmez, İ., Memioğlu, T., & Erdem, F. (2015). *Yeni Kılavuzların Işığında Hipertansiyon Tanı ve Tedavisi*. 1(1), 49–53.
- Driscoll, C. M. O. (2002). Lipid-based formulations for intestinal lymphatic delivery. *European Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 15, 405–415.
- Dursun, H., & Kozan, Ö. (2013). Anjiyotensin reseptör blokerlerinin kardiyovasküler süreçteki yerleri. *Türk Kardiyol Dern Arş*, 41(5), 10–17.
- Ege, M. A., Karasulu, H. Y., & Güneri, T. (2004). Triangle phase diagram analysis software. *The 4th International Postgraduate Research*.

- Ege, M. A., Karasulu, H. Y., Karasulu, E., & Ertan, G. (2001). A computer program designed for in vitro dissolution kinetics in vitro in vivo kinetic correlations and routine applications. *4th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology*, 127–128.
- EMA. (2006). *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*.
- EMA. (2012). Guideline on bioanalytical method validation. In *EMA* (Vol. 44).
- EMA. (2016). Castor oil. https://doi.org/https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-summary/castor-oil-summary-public_en.pdf
- Eroğlu, A. G. (2004). Kalp yetersizliği tedavisinde yeni bir yaklaşım : beta-adrenerjik blokerler. *Türk Pediatri Arşivi*, 39, 141–145.
- FDA. (2000). *Guidance for Industry Analytical Procedures and Methods Validation- Chemistry, Manufacturing, and Controls Documentation*.
- González-Alvarez, I., Fernández-Teruel, C., Garrigues, T. M., Casabo, V. G., Bermejo, M., Garrigues, T. M., & Casabo, V. G. (2005). Kinetic modelling of passive transport and active efflux of a fluoroquinolone across Caco-2 cells using a compartmental approach in NONMEM. *Xenobiotica*, 35(12), 1067–1088. <https://doi.org/10.1080/00498250500354469>
- Green, J. R., Clay, V., Richardson, J., & Hassan, I. F. (1997). The effect of zoledronate and pamidronate on the intestinal permeability barrier in vitro and in vivo. *International Journal of Pharmaceutics*, 153, 59–66.
- Griffin, B. T., & Driscoll, C. M. O. (2006). A comparison of intestinal lymphatic transport and systemic bioavailability of saquinavir from three lipid-based formulations in the anaesthetised rat model. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 58, 917–925. <https://doi.org/10.1211/jpp.58.7.0006>
- Gumaste, S. G., Freire, B. O. S., & Serajuddin, A. T. M. (2017). European Journal of Pharmaceutical Sciences Development of solid SEDDS , VI : Effect of precoating of Neusilin ® US2 with PVP on drug release from adsorbed self-emulsifying lipid-based formulations. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 110, 124–133. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.02.022>

- Gündoğdu, E. (2009). *Feksofenadin Hidroklorür absorpsiyonunun in vitro, in situ ve in vivo olarak belirlenmesi*. Ege Üniversitesi.
- Gundogdu, E., & Karasulu, H. Y. (2012). The novel oral imatinib microemulsions : physical properties , cytotoxicity activities and improved Caco-2 cell permeability. *Journal of Microencapsulation*, 30(2), 132–142. <https://doi.org/10.3109/02652048.2012.704952>
- Gupta, S., Kesarla, R., & Omri, A. (2013). Formulation Strategies to Improve the Bioavailability of Poorly Absorbed Drugs with Special Emphasis on Self-Emulsifying Systems. *ISRN Pharmaceutics*, 2013.
- Gursoy, N., & Çevik, Ö. (2011). Kendiliğinden Emülsifiye Olabilen İlaç Taşıyıcı Sistemler ve Farmasötik Alanda Uygulamaları. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 2(31), 151–170.
- Gursoy, R., & Benita, S. (2004). Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 58, 173–182. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2004.02.001>
- Hargovan, M., & Ferro, A. (2014). Aldosterone synthase inhibitors in hypertension: current status and future possibilities. *JRSM Cardiovascular Disease*, 0(0), 1–9. <https://doi.org/10.1177/2048004014522440>
- Hauss, D., Fogal, S. E., Ficorilli, J. V, Price, C. A., Roy, T., Ayaraj, A. N. A. J., & Eirns, J. A. J. K. (1998). Lipid-Based Delivery Systems for Improving the Bioavailability and Lymphatic Transport of a Poorly Water-Soluble LTB 4 Inhibitor. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 87(2), 164–169.
- Hauss, D. J. (2007). *Oral Lipid-Based Formulations: Enhancing the Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs*.
- Hetal, T., Bindesh, P., & Sneha, T. (2010). A Review On Techniques For Oral Bioavailability Enhancement Of Drugs. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 4(3), 203–223.
- Hilgers, A., Conradi, R., & Burton, P. (1990). *Caco-2 Cell Monolayers as a Model for Drug Transport Across the Intestinal Mucosa*. 7(9), 902–910.
- Hoogevest, V., Liu, X., & Fahr, A. (2011). Drug delivery strategies for poorly water-

soluble drugs: the industrial perspective. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 8(11), 1481–1500.

Jannin, V., Musakhanian, J., & Marchaud, D. (2008). *Approaches for the development of solid and semi-solid lipid-based formulations*. 60, 734–746. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.09.006>

Kabakcı, G. (2013). Güncel kılavuzlar eşliğinde hipertansiyon tedavisi ve anjiyotensin reseptör blokerlerinin gelişen rolü. *Türk Kardiyoloji Derneği Araştırmaları*, 41(5), 1–9.

Kalepu, S., Manthina, M., & Padavala, V. (2013). Oral lipid-based drug delivery systems – an overview. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 3(6), 361–372. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2013.10.001>

Kallakunta, V. R., Bandari, S., Jukanti, R., & Veerareddy, P. R. (2012). Oral self emulsifying powder of lercanidipine hydrochloride : Formulation and evaluation. *Powder Technology*, 221, 375–382. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2012.01.032>

Kawakami, K., Yoshikawa, T., & Hayashi, T. (2002). Microemulsion formulation for enhanced absorption of poorly soluble drugs II . In vivo study. *Journal of Controlled Release*, 81(2002), 75–82.

Kemper, E. M., Zandbergen, A. E. Van, Cleypool, C., Mos, H. A., & Boogerd, W. (2003). Increased Penetration of Paclitaxel into the Brain by Inhibition. *Clinical Cancer Research*, 9(July), 2849–2855.

Kılıç, T., & Üstü, Y. (2012). Hipertansiyon İçin Birinci Basamak Kullanımına Yönelik Kanıta Dayalı Bir Rehber Çalışması. *Ankara Medical Journal*, 12(4), 205–213.

Kleberg, K., & Jacobsen, J. (2010). Characterising the behaviour of poorly water soluble drugs in the intestine : application of biorelevant media for solubility , dissolution and transport studies. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 62, 1656–1668. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2010.01023.x>

Klingbeil, A. U., Schneider, M., Martus, P., Messerli, F. H., & Schmieder, R. E. (2003). A meta-analysis of the effects of treatment on left ventricular mass in essential hypertension. *The American Journal of Medicine*, 115(1), 41–46.

- Komin, N., & Toral, R. (2009). Drug absorption through a cell monolayer: A theoretical work on a non-linear three-compartment model. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 37(2009), 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2009.01.005>
- Langenbucher, F. (1972). Linearization of dissolution rate curves by the Weibull distribution. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 24(12), 979–981.
- Laurent, S. (2017). Antihypertensive Drugs. *Pharmacological Research*, 124, 116–125. <https://doi.org/10.1016/bs.seda.2018.07.013>
- Laurent, S., & Boutouyrie, P. (2014). Clinical Trial Dose-Dependent Arterial Destiffening and Inward Remodeling After Olmesartan in Hypertensives With. *Hypertension*, 64, 709–716. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03282>
- Leonaviciute, G., Adamovic, N. T., Lam, H. T., Rohrer, J., Partenhauser, A., & Bernkop-schnürch, A. (2017). European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS): Proof-of-concept how to make them mucoadhesive. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 112, 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.11.019>
- Liu, L., Li, J., Zhao, M., Xu, H., Li, L., & Wang, S. (2016). Loading of tacrolimus containing lipid based drug delivery systems into mesoporous silica for. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11(6), 751–759. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2016.07.005>
- Mahapatra, A. K., Pn, M., Sciences, H., & Swain, R. P. (2014). Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDS): An Update from Formulation Development to Therapeutic Strategies. *International Journal of Pharmaceutical Technology Research*, 6(2), 545–568.
- Mbah, C. J. (2005). Physicochemical properties of valsartan and the effect of ethyl alcohol , propylene glycol and pH on its solubility. *Pharmazie*, 60, 849–850.
- Mercke, J., Kaufmann, P., Kroon, K., & Höglund, P. (2003). Lipid drug delivery and rational formulation design for lipophilic drugs with low oral bioavailability , applied to cyclosporine. *European Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 20, 375–382. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2003.08.005>

- Messerli, F. H., Bangalore, S., Bavishi, C., & Rimoldi, S. F. (2018). Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors in Hypertension: To Use or Not to Use? *Journal of the American College of Cardiology*, *71*(13), 1474–1482. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.01.058>
- Nakamura, T., Fujii, S., Hoshino, J., & Saito, Y. (2005). Selective Angiotensin Receptor Antagonism with Valsartan Decreases Arterial Stiffness Independently of Blood Pressure Lowering in Hypertensive Patients. *Hypertens Res*, *28*(12), 937–943.
- O’Shea, P. M., Griffin, T. P., & Fitzgibbon, M. (2017). Hypertension: The role of biochemistry in the diagnosis and management. *Clinica Chimica Acta*, *465*, 131–143. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2016.12.014>
- Oparil, S. (2000). Newly Emerging Pharmacologic Differences in Angiotensin II Receptor Blockers. *American Journal of Hypertension*, *13*(1), 18–24.
- Oparil, S., Acelajado, M. C., Bakris, G. L., Berlowitz, D. R., Cifková, R., Dominiczak, A. F., ... Whelton, P. K. (2018). Hypertension. *Nature Reviews Disease Primers*, *4*, 18014. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.14>
- Palmer, A. M. (2003). New Horizons in Drug Metabolism , Pharmacokinetics and Drug Discovery. *Drug News Perspect*, *16*(11), 57–62.
- Patil, S., Patil, V., Shete, A., & Doijad, R. (2013). Design , Development and In Vitro Characterization of Self Emulsifying Drug Delivery System for Irbesartan. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *9*(2), 67–80.
- Perez, Mi., Farm, Q., & Ramírez, G. (2007). Validation of an analytical method for the determination of valsartan in human plasma by HPLC/UV with addition standard using losartan as an internal standard. *Colombia Médica*, *38*(1), 13–20.
- Porter, C. J. H., Kaukonen, A. N. N. M., Taillardat-bertschinger, A., Boyd, B. E. N. J., Connor, J. M. O., Edwards, G. A., & Charman, W. N. (2004). *Use of In Vitro Lipid Digestion Data to Explain the In Vivo Performance of Triglyceride-Based Oral Lipid Formulations of Poorly Water-Soluble Drugs: Studies with Halofantrine*. *93*(5), 5–9.
- Pouton, C. W. (2006). Formulation of poorly water-soluble drugs for oral

- administration: Physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. *European Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 29(2006), 278–287. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2006.04.016>
- Pouton, C. W., & Porter, C. J. H. (2008). *Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration : Materials , methods and strategies*. 60(2008), 625–637. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.10.010>
- Ramos, J. J. M., & Diego, H. p. (2017). Thermal behavior and molecular mobility in the glassy state of three anti-hypertensive pharmaceutical ingredients. *The Royal Society of Chemistry*, 7, 10831–10840. <https://doi.org/10.1039/c7ra00298j>
- Rao, S., Tan, A., Thomas, N., & Prestidge, C. A. (2014). Perspective and potential of oral lipid-based delivery to optimize pharmacological therapies against cardiovascular diseases. *Journal of Controlled Release*, 193(2014), 174–187. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.05.013>
- Ritchie Mackenzie, L. D., Campbell, N. C., & Murchie, P. (2011). New NICE guidelines for hypertension. *BMJ (Online)*, 343(7822), 491–492. <https://doi.org/10.1136/bmj.d5644>
- Saydam, M., & Takka, S. (2007). Bioavailability File: Valsartan. *FABAD J. Pharn. Sci.*, 32, 185–196.
- Selvam, P., Kulkarni, P. K., & Dixit, M. (2015). *Preparation and Evaluation of Self-nanoemulsifying Formulation of Efavirenz Preparation and Evaluation of Self-nanoemulsifying Formulation of Efavirenz*. (January 2013).
- Shaji, J., & Bhatia, V. (2012). *Novel Lipid Carriers For Oral Delivery Of Lipophilic Drugs*. 15(1), 47–53.
- Shrestha, H., Bala, R., & Arora, S. (2014). *Lipid-Based Drug Delivery Systems*. 2014.
- Shukla, J. B., & Patel, S. J. (2010). *Formulation and Evaluation Of Self Micro Emulsifying System of Candesartan Cilexetil*. 2(4), 2–5.
- Sica, D. A. (2006). Pharmacotherapy Review: Calcium Channel Blockers. *The Journal of Clinical Hypertension*, 8(1), 53–56. <https://doi.org/10.1111/j.1524-6175.2005.04140.x>

- Siddiqui, N., Husain, A., Chaudhry, L., Alam, M. S., Mitra, M., Bhasin, P. S., ... Alam, M. S. (2011). Pharmacological and Pharmaceutical Profile of Valsartan : A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 01(04), 12–19.
- Sultan, A. A., El-gizawy, S. A., Osman, M. A., & Maghraby, G. M. El. (2017). Colloids and Surfaces B : Biointerfaces Self dispersing mixed micelles forming systems for enhanced dissolution and intestinal permeability of hydrochlorothiazide. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 149, 206–216. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.10.028>
- Tandel, H., Shah, D., Vanza, J., & Misra, A. (2017). Journal of Drug Delivery Science and Technology Lipid based formulation approach for BCS class-II drug : Modi fi nil in the treatment of ADHD. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 37, 166–183. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2016.12.012>
- Trevaskis, N. L., Charman, W. N., & Porter, C. J. H. (2008). Lipid-based delivery systems and intestinal lymphatic drug transport : A mechanistic update. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60, 702–716. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.09.007>
- Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. (2018). *Hipertansiyon Tanı ve Tedavi Kılavuzu*.
- Unni, G. T. (2016). *Treatment of Hypertension in 2016: Role of Diuretics* (Vol. 26).
- Üstü, Y., & Uğurlu, M. (2018). Hipertansiyona Pratik Yaklaşım. *Ankara Med J.*, 18(3), 447–453. <https://doi.org/10.17098/amj.461664>
- Wang, J., Rosendorff, C., Pasinetti, G. M., Wang, J., Ho, L., Chen, L., ... Humala, N. (2007). Valsartan lowers brain β -amyloid protein levels and improves spatial learning in a mouse model of Alzheimer disease. *117*(11), 3393–3402. <https://doi.org/10.1172/JCI31547>.for
- Wargo, K. A., & Banta, W. M. (2009). A comprehensive review of the loop diuretics: Should furosemide be first line? *Annals of Pharmacotherapy*, 43(11), 1836–1847. <https://doi.org/10.1345/aph.1M177>
- Wu, C., Hu, Y., Li, Q., He, L., Chen, J., Cheng, Z., & Li, Y. (2012). Synthesis , Pharmacokinetics , and Pharmacodynamics Studies of Valsartan Peptide Derivatives. *Archiv Der Pharmazie-Chemistry in Life Sciences*, 345, 393–400.

<https://doi.org/10.1002/ardp.201100377>

- Yan, Y., Ho, J., Kook, K., Wuk, D., Oh, J., Lee, B., ... Choi, H. (2012). Novel valsartan-loaded solid dispersion with enhanced bioavailability and no crystalline changes. *International Journal of Pharmaceutics*, 422(2012), 202–210. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.10.053>
- Yılmaz, R., & Erdem, Y. (2006). Anjiyotensin II Reseptör Blokerleri ve Yeni Bir Ajan: Olmesartan Medoksomil. *İç Hastalıkları Dergisi*, 13(4), 176–182.
- Zarghi, A., & Shafaati, A. (2008). Rapid Quantification of Valsartan in Human Plasma by Liquid Chromatography using a Monolithic Column and a Fluorescence Detection: Application for Pharmacokinetic Studies. *Scientia Pharmaceutica*, 76, 439–450. <https://doi.org/10.3797/scipharm.0808-01>
- Zhang, J., Lv, Y., Zhao, S., Wang, B., Tan, M., Xie, H., ... Ma, X. (2014). Effect of Lipolysis on Drug Release from Self microemulsifying Drug Delivery Systems (SMEDDS) with Different Core / Shell Drug Location. *Journal of The American Association of Pharmaceutical Scientists*, 15(3), 731–740. <https://doi.org/10.1208/s12249-014-0096-9>
- Zhou, B., Bentham, J., Di Cesare, M., Bixby, H., Danaei, G., Cowan, M. J., ... Eggertsen, R. (2017). Worldwide trends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 19·1 million participants. *The Lancet*, 389(10064), 37–55. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31919-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31919-5)

Ekler

EGE ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

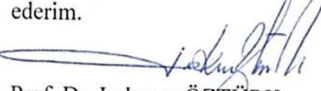
SAYI: 2017-003
KONU: Onay

22.02.2017

Etik kurulumuza yapmış olduğunuz başvuru doğrultusunda "VALSARTANIN ORAL YOLLA KULLANIMI İÇİN LİPİD BAZLI İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLERİNİN HAZIRLANMASI VE İN VİTRO-İN VİVO DEĞERLENDİRİLMESİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR" isimli araştırma projeniz değerlendirilmiştir.

Yürütücü: Prof. Dr. Hatice Yeşim KARASULU E.Ü. Eczacılık Fakültesi
Arş. Gör. Dr. Gülbeyaz YILDIZ E.Ü. Eczacılık Fakültesi
Ecz. Eda GÜLMEZOĞLU E.Ü. Eczacılık Fakültesi
Prof. Dr. Selahattin Fehmi AKÇİÇEK E.Ü. Tıp Fakültesi

Proje başvuru formunuzda belirtildiği koşullarda deney hayvanı kullanarak araştırmayı gerçekleştirmeniz kurulumuz tarafından uygun bulunmuştur. Saygılarımla bilgilerinizi rica ederim.



Prof. Dr. Lokman ÖZTÜRK
(E.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı)

(KATILMADI)
Prof. Dr. Gülcihan Mehtap KÖKSAL



Prof. Dr. Hüseyin TEZEL



Prof. Dr. Haşmet ÇAĞIRGAN



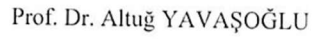
Prof. Dr. N. Ülkü KARABAY YAVAŞOĞLU



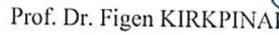
Özcan NALBANTOĞLU



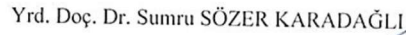
Prof. Dr. Uğur KAYA



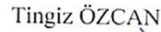
Prof. Dr. Altuğ YAVAŞOĞLU



Prof. Dr. Figen KIRKPINAR



Yrd. Doç. Dr. Sumru SÖZER KARADAĞLI



Tingiz ÖZCAN

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan, her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm danışman hocam Prof. Dr. H. Yeşim KARASULU'ya,

Doktora eğitiminde ders ve tez aşamasında her zaman destek olan Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı başkanı sayın Prof. Dr. Özgen Özer'e ve çalışmalarım süresince yardımları ile yanımda olan Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine,

Tez çalışmalarım süresince laboratuvar çalışmalarım için fırsatlar yaratan değerli hocam Prof. Dr. Ercüment Karasulu'ya,

Tez çalışmamı yürütmem için proje desteği sağlayan TÜBİTAK'a (117S821), ve BAP birimine (17-İLAM-004 ve 17-ECZ-014), ayrıca TÜBİTAK projesi ekibinde olan değerli hocalarım Prof. Dr.Selahattin Fehmi AKÇİÇEK ve Arş. Gör.Dr. Gülbeyaz Yıldız TÜRKYILMAZ'a,

Tezmin istatistiksel değerlendirme ve faz diyagramları çizimlerinde yardımlarını esirgemeyen Hocam Dr. Mehmet Ali EGE'ye,

Tüm laboratuvar çalışmalarında her türlü sorumu cevaplayan, bana yardımcı ve moral olan ARGEFAR Ürün Geliştirme Birimindeki arkadaşlarıma,

Tüm doktora süresince zorlukları benimle göğüsleyen ve hayatımın her evresinde bana destek olan değerli eşim S.Efe GÜLMEZOĞLU'na,

Beni bu günlere getiren ve benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen bu hayattaki en büyük şansım olan annem, babam ve kardeşime,

En büyük manevi desteğim kızım Sedef Nil GÜLMEZOĞLU'na teşekkür ederim.

İzmir, 19.11.2019

Ecz. Eda GÜLMEZOĞLU

Tezden Yapılan Yayın ve Bildiriler

1.Evaluation Of Valsartan's Self Emulsifying Drug Delivery Systems With In Vitro Lipolysis And In Vivo Animal Models- 8th BBBB International Conference on Pharmaceutical Sciences.

2.Preparation Of Lipid-based Drug Delivery Systems For Oral Use Of Valsartan And In Vitro Evaluation- 8th BBBB International Conference on Pharmaceutical Sciences.



Özgeçmiş

06/04/1990 tarihinde İzmir’de doğdum. 2008 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi’nde lisans eğitimime başladım ve 2013 yılının haziran ayında mezun oldum. Aynı zamanda 2009 yılında Anadolu Üniversitesi İşletme Fakültesi İşletme bölümüne başladım ve 2013 yılında mezun oldum. 1 çocuk annesiyim. 2013 yılı Eylül ayında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı’nda doktora eğitimime başladım ve hala devam etmekteyim.

e-posta adresi : gulmezoglueda@gmail.com

