

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

ANTİFUNGAL BİR AJAN OLAN TERBİNAFİN'İN DERİDEN GEÇİŞ ÇALIŞMALARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Eczacı Emre YALÇIN

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr.Ercüment KARASULU

**İZMİR
2006**

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

ANTİFUNGAL BİR AJAN OLAN TERBİNAFİN'İN DERİDEN GEÇİŞ ÇALIŞMALARI

BİYOFARMASÖTİK ve FARMAKOKİNETİK BİLİM DALI PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Eczacı Emre YALÇIN

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr.Ercüment KARASULU

**İZMİR
2006**

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

(ADI SOYADI)

İMZA

Başkan :
(Danışman)

Üye :

Üye :

Yüksek Lisans Tezinin Kabul Edildiği Tarih:

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	9
GİRİŞ VE AMAÇ	10
BÖLÜM 1	11
1.TEORİK BÖLÜM	11
1.1 Deri	11
1.1.1 Derinin Yapısı	11
1.1.1.1 Yüzeysel Tabaka	11
1.1.1.1.1 Stratum corneum	11
1.1.1.1.2 Stratum lucidum	12
1.1.1.1.3 Stratum granulosum	12
1.1.1.1.4 Stratum spinosum	12
1.1.1.1.5 Stratum germinativum	12
1.1.1.2 Derin Tabaka (Dermis)	12
1.1.1.2.1 Papiller Dermis	12
1.1.1.2.2 Retiküler Dermis	12
1.1.1.3 Deri Altı Tabakası (Hipodermis)	12
1.1.2 Derinin Asiditesi	13
1.1.3 Deriden Absorbsiyon ve Absorbsiyonu Etkileyen Faktörler	14
1.2 Tırnak	14
1.2.1 Tırnak Yapısı	14
1.2.1.1 Tırnak plağı	15
1.2.1.2 Tırnak yatağı	15
1.2.1.3 Matriks	15
1.2.1.4 Lunula	15
1.2.1.5 Kütikül	15
1.2.1.6 Tırnak foldları	15
1.3 Merhemler	16
1.3.1 Tanımı	16
1.3.2 Sıvağlar	16
1.4 Mantar Enfeksiyonları Hakkında Genel Bilgi	17
1.4.1 Dermatofitik Mantar Enfeksiyonları (=Dermatofitozlar)	18
1.4.2 Mükokütanöz Mantar Enfeksiyonları	18
1.4.3 Sistemik Mantar Enfeksiyonları	19
1.4.3.1 Derin Sistemik Mikozylar	19
1.4.3.2 Cilt altı Tipi Sistemik Mikozylar	19
1.5 Antifungal İlaçlar Hakkında Genel Bilgi	21
1.5.1 Antifungal Antibiyotikler	21
1.5.2 İmidazol ve Triazol Türevi Antibiyotikler	21
1.5.3 Alilamin Türevleri	21
1.5.4 Diğer Antifungaller	21
1.6 Terbinafin	21

ŞEKİL, GRAFİK VE TABLOLAR

BÖLÜM I TEORİK KISIM'DAKİ ŞEKİL, GRAFİK VE TABLOLAR

Şekil 1: Derinin yapısı

Şekil 2: Derinin anatomik yapısı

Şekil 3: Tırnak yapısı

Şekil 4: Ayaklarda ve tırnaklarda yerleşmiş Tinea pedis

Şekil 5: Yüzeysel yerleşmiş tinea corporis

Şekil 6: Cilt altı tipi mikozların gelişimi

Şekil 7: Terbinafin'in kimyasal formülü

BÖLÜM III BULGULAR KISMANDAKİ ŞEKİL, GRAFİK VE TABLOLAR

Şekil 1: EYKR-5 nolu formülasyonun mikroskopik görüntüleri (x20)

Şekil 2: EYKR-5 nolu formülasyonun mikroskopik görüntüleri (x40)

Şekil 3: %5 PG içeren EYPGKR-5 nolu formülasyonun mikroskopik görüntüleri (x20)

Şekil 4: %5 PG içeren EYPGKR-5 nolu formülasyonun mikroskopik görüntüleri (x40)

Şekil 5: %10 PG içeren EYPGKR-5 nolu formülasyonun mikroskopik görüntüleri (x20)

Şekil 6: %10 PG içeren EYPGKR-5 nolu formülasyonun mikroskopik görüntüleri (x40)

Şekil 7: %20 PG içeren EYPGKR-5 nolu formülasyonun mikroskopik görüntüleri (x20)

Şekil 8: %20 PG içeren EYPGKR-5 nolu formülasyonun mikroskopik görüntüleri (x40)

Grafik 1: 50ng/ml Terbinafin HCl kromatogramı

Grafik 2: 70ng/ml Terbinafin HCl kromatogramı

Grafik 3: 100ng/ml Terbinafin HCl kromatogramı

Grafik 4: 150ng/ml Terbinafin HCl kromatogramı

Grafik 5: 200ng/ml Terbinafin HCl kromatogramı

Grafik 6: Terbinafin'in 5 noktalı kalibrasyon eğrisi grafiği

Grafik 7: Mobil Faz grafiği

Grafik 8: %10'luk izopropil alkol+serum fizyolojik'in

Grafik 9: EYKR-9 nolu krem körünün naylon membrandan geçen salım konsantrasyonunun grafiği(30. dk)

Grafik 10: EYKR-9 nolu kremin naylon membrandan geçen salım konsantrasyonunun grafiği(1. paralel 30. dk)

Grafik 11: EYKR-9 nolu kremin naylon membrandan geçen salım konsantrasyonunun

grafiği(2. paralel 30. dk)

Grafik 12: EYKR-9 nolu krem krnn naylon membrandan geçen salım konsantrasyonunun grafiği(60. dk)

Grafik 13: EYKR-9 nolu kremin naylon membrandan geçen salım konsantrasyonunun grafiği(1. paralel 60. dk)

Grafik 14: EYKR-9 nolu kremin naylon membrandan geçen salım konsantrasyonunun grafiği(2. paralel 60. dk)

Grafik 15: EYKR-9 nolu krem krnn naylon membrandan geçen salım konsantrasyonunun grafiği(120. dk)

Grafik 16: EYKR-9 nolu kremin naylon membrandan geçen salım konsantrasyonunun grafiği(1. paralel 120. dk)

Grafik 17: EYKR-9 nolu kremin naylon membrandan geçen salım konsantrasyonunun grafiği(2. paralel 120. dk)

Grafik 18: EYKR-10 nolu kremin naylon membrandan geçen salım konsantrasyonunun grafiği(30. dk)

Grafik 19: EYKR-10 nolu kremin naylon membrandan geçen salım konsantrasyonunun grafiği(60. dk)

Grafik 20: EYKR-10 nolu kremin naylon membrandan geçen salım konsantrasyonunun grafiği(90. dk)

Grafik 21: EYKR-10 nolu kremin naylon membrandan geçen salım konsantrasyonunun grafiği(120. dk)

Tablo 1:Terbinafin'in 5 konsantrasyonlu kalibrasyon eğrisi grafiği

Tablo 2:Terbinafin'in EYKR-10 nolu optimum formülasyon içindeki stabilite test sonuçları (3. ay)

Tablo 3:Terbinafin'in EYKR-10 nolu optimum formülasyon içindeki stabilite test sonuçları (6. ay)

Tablo 4:Terbinafin'in EYKR-10 nolu optimum formülasyon içindeki stabilite test sonuçları (12. ay)

ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince akademik hayatı boyunca edindiği tüm bilgi ve birikimiyle tezimin yol göstericisi olan değerli danışman hocam ve aynı zamanda tezim sırasında kazandığım dostlukla beraber çalışmaktan son derece mutlu olduğum değerli meslektaşım Sn. Yard. Doç. Dr.ERCÜMENT KARASULU'ya şükranlarımı sunarım.

Yüksek lisansım sırasında yardım ve desteğini esirgemeyen Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyofarmasötik ve Farmakokinetik A.B.D. Başkanı Sayın Hocam Prof. Dr. LEVENT KIRILMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Bana tez sürecinin bir takım ruhu olduğunu hissettiren ve benimseten, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji A.B.D. öğretim üyelerinden Sayın Hocam Prof. Dr. IŞIK TUĞLULAR'a ve onun önderliğinde birçok başarıya imza atan Ege Üniversitesi İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma-Uygulama Merkezi'nde görev yapan tüm çalışma arkadaşlarıma yardımları için teşekkürü bir borç bilirim.

Kariyerimde bu noktaya gelmemde desteklerini her zaman arkamda hissettiğim çok sevgili aileme minnettarım.

Ecz. Emre Yalçın

GİRİŞ ve AMAÇ

Günümüzde çok sık karşılaşılan hastalıklardan olan, dermatofitler denilen saç, tırnak ve deride yerleşmiş mantarların sebep olduğu fungal hastalıkların tedavisi, teşhisin gecikmesine de bağlı olarak uzamaktadır. Bu uzun tedavi süreci hasta için maddi ve manevi açıdan zahmetlidir.

Bu çalışmada; fungal hastalıklarda kullanılan bir etken madde olan terbinafinin, harici preparatlar içerisinde iken, deriden ve tırnaktan geçirgenliğini arttırarak tedavi sürecinin kısaltılması hedeflenmiştir.

Öncelikle bunun için model etken maddemiz olan terbinafinin çözünürlüğünün artırılması gerekmektedir. Terbinafin molekül olarak büyük ve çözünürlüğü düşük olan bir maddedir.Çözünürlüğün bir takım solventlerle artırılması mümkün olacaktır.

Terbinafinin çözünürlüğü artırıldıktan sonra bu çözeltinin uyumlu olduğu optimum bir krem formülasyonunun hazırlanması ile çalışmamız şekillenmektedir. Optimum krem formülasyonu seçilirken kremin fiziksel özelliklerinden mikroskobik görüntüsüne, membran geçişlerinden stabilitesine kadar bir çok özellik göz önüne alınmıştır.

Tüm bu testler yapıldıktan sonra terbinafinin en az konsantrasyon ile içinde en iyi çözüldüğü ve deriden geçirgenliğinin ve biyoyararlanımının arttırıldığı optimum krem hazırlanarak bu çalışma amacına ulaşmıştır.

Tez çalışması sırasında geliştirilen optimum formülasyonun in-vivo çalışmaları yapılacaktır.

1-TEORİK BÖLÜM

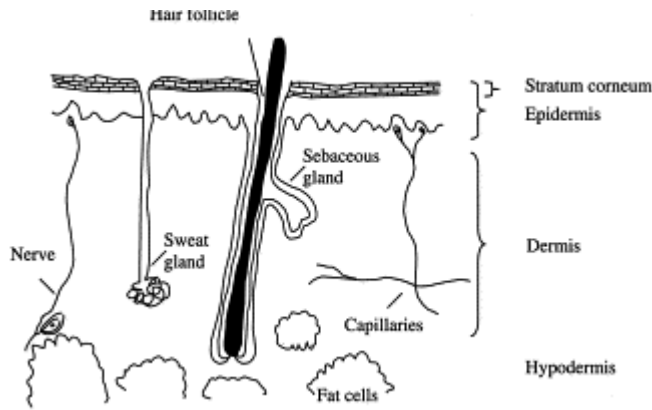
1.1 Deri

1.1.1 Derinin Yapısı (17,10,13,24,20,21)

Deri; kendine özgü birçok fonksiyonu olan, dış ortam ile organizma arasındaki ilişkiyi sağlayan, bir takım ruhsal tepkilerimizi yansıtan bir organdır. İnsan vücudunun en büyük organıdır. Ağırlığının %16'sını oluşturur. Yetişkinlerde 1.5-3 m² arasında alan kaplamaktadır. Koruma görevi yanında ter bezleri ile üriner sistem yardımcısı görevini de görür. Çeşitli sinir uçları ile değişik duyguların alınmasına da yardımcı olur.

Anatomik bakımdan 3 tabakadan oluşur (Şekil 1, 2):

- Yüzeyel Tabaka (Epidermis)
- Derin Tabaka (Dermis)
- Deri Altı Tabakası (Hipodermis)



Şekil 1: Derinin yapısı

1.1.1.1 Yüzeyel Tabaka (Epidermis)

Derinin en dış tabakası olup, mekanik, kimyasal ve bakteriyel dış etkenlere karşı koruma görevini yapar. Bu tabaka 0.05 mm ile 1.5 mm arasında değişen bir kalınlığa sahiptir. Birbirinden farklı 5 hücre katmanına ayrılır:

- **Stratum corneum:** Tümüyle keratinleşmiş, nükleuslarını kaybederek lameller halini almış keratinositlerin oluşturduğu tabakadır. El içi ve ayak tabanında en kalın (600-800µ), göz kapakları, yanaklar, karın ve dirseklerin iç yüzünde en ince (10-15µ)'dir. Bu tabaka % 85 protein, %7-9 lipit (doymuş-doymamış serbest yağ asitleri ve esterleri, trigliseritler ve kolestin), %6-8 oranında monopolisakkaritler, karbonhidrat, münin ve lipo aminoasitlerden meydana gelmiştir.

- **Stratum lucidum:** İnce yağimsı görünümlü bir tabakadır. Suyun geçişini düzenler. Sadece el içi ve ayak tabanında bulunur. Yassılaştırmış, nüveleri kaybolmuş saydam hücrelerden ibarettir.
- **Stratum granulosum:** İğ şeklinde ve sitoplazmaları koyu bazofilik boyanan taneciklerle dolu 2-3 sıra hücreden oluşmaktadır. Vücudun farklı yerlerinde farklı kalınlık gösterir. Derinin beyazlığını ve matlığını sağlar.
- **Stratum spinosum:** 6-7 sıra çok köşeli, birbirlerine dikensi çıkıntılarla bağlı keratonistlerin yaptığı bir mozaik görünümü olan tabakadır.
- **Stratum germinativum:** Mitotik faaliyet gösteren, epidermisin bütün diğer katlarını doğuran, tek sıralı, vertikal dizimli silindirik hücrelerdir. Yeni hücrelerin meydana gelmesini sağlar. Bu hücreler arasında nöral kökenli melanositler bulunur.

1.1.1.2 Derin Tabaka (Dermis)

Derinin dayanıklılık ve esnekliğini verir. Deri duyularına ait olan cisimcikler bu tabakada bulunur. Kalınlığı 0.5-5 mm kadardır. Ter bezleri, kıl folikülleri ve yağ bezleri burada bulunmaktadır. 3 komponentten oluşur.

1.Hücreler (fibroblast, histiyosit, lenfosit, plazma hücreleri ve mast hücreleri)

2.Lifler (kollajen, elastik, retikulum)

3.Temel madde (Hyaluronik asit, kondrotin sülfat, dermatan sülfat)

Dermis anatomik olarak 2 tabakadan oluşur.

- **Papiller Dermis:**

(Epidermisin hemen altı) Terminal kapiller ve sinir sonları bulunur.

- **Retiküler Dermis:**

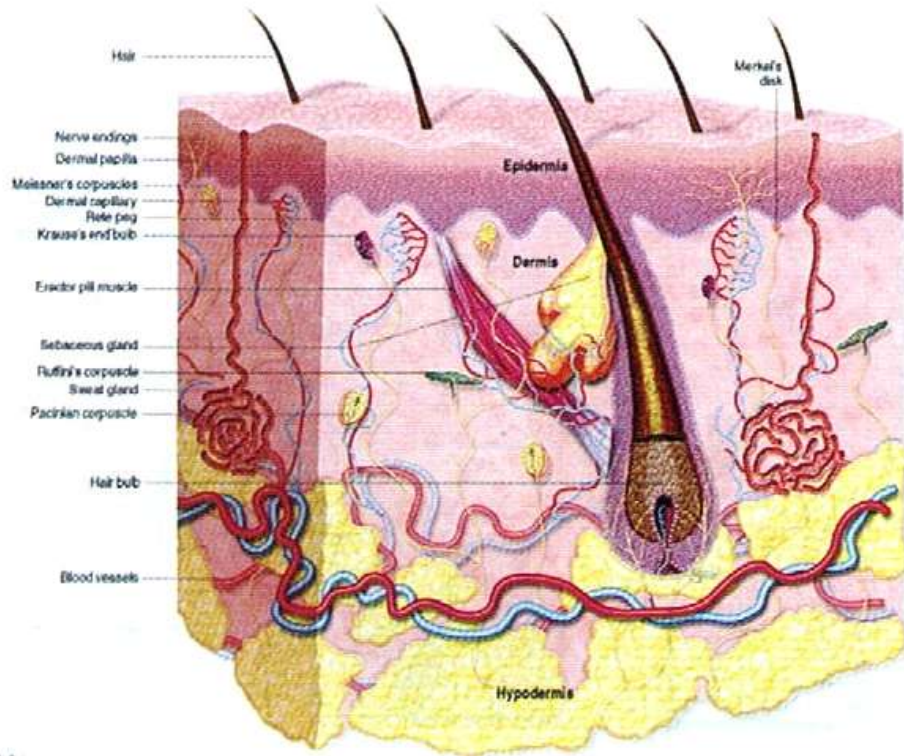
(Subkutisin üstü) Elastik ve kollajen lifler bulunur.

1.1.1.3 Deri Altı Tabakası (Hipodermis)

Dermisin altında gevşek dokudan yapılmış Hipodermis bulunur. Yağlı bir dokudur. Liposit adı verilen yağ hücreleri kümelenerek lobülleri oluştururlar. Hipodermis tabakası bu yağ lobülleri ve onları ayıran fibröz trabekulalardan oluşur. Diğer dokularla deri arasında yer alır. Yapısında % 16-19 kolesterol içerir. Bu yüzden hücre yağının su bağlama kapasitesi yüksektir. Suya geçirgenlik gösterir. Suyun bu tabakadan geri dönmesi de mümkündür. Böylece deri devamlı nemli kalır. Ayrıca bu tabaka ısı kaybını engelleme, travmalara karşı koruma ve yedek besin deposu görevini görür.

1.1.2. Derinin Asiditesi (22)

Derinin pH'sı genellikle asidiktir. 5.1-5.3 civarındadır. Asit olmasının sebebi; adelede glikoliz esnasında oluşan laktik asidin terleme sonucunda deri yoluyla atılması ve deride birikmesidir. Devamlı terleme esnasında laktik asidin uçucu olması nedeniyle pH 4'e kadar düşebilir. Ayrıca sebumda bulunan trigliseridlere deri üzerinde bulunan mikroorganizmaların taşıdığı bakteriyel lipazın etki etmesiyle meydana gelen bir takım asitler de deri pH'sını etkiler. Örneğin; formik asit, propiyonik asit, kaprik asit.



Şekil 2: Derinin anatomik yapısı

1.1.3 Deriden Absorbsiyon ve Absorbsiyonu Etkileyen Faktörler(22)

Deri engelinden penetrasyonu engelleyen faktörler GI sistemden absorpsiyonu etkileyen faktörlerle temelde aynıdır.

Bunlar; fizyolojik ve fizikokimyasal faktörlerdir. Bu faktörler:

- Derinin durumu
- Derinin yaşı
- Kan akışı
- Deri bölgesi
- İlaç konsantrasyonu
- pH
- Derinin türü
- Derinin hidratasyonu
- Derinin sıcaklığı
- İlaçların çözünürlük özellikleri
- İlacın molekül ve partikül büyüklüğü
- Sıvağdır.

Yukarıdaki başlıklar ışığında örneğin;

Geçirgenlik : Lipitlerde çözünen ilaçlar (salisilik asit, civa gibi) merhemlerden deriye kolaylıkla geçerler ve absorbe olurlar. Emilme hızı vehikülün cinsine bağlıdır. Bu yolla verilen ilaçlarda hem lokal hem de sistemik etki görülebilir. Etken maddenin derinin iç kısımlarına geçmesi molekül boyutu küçüldükçe, suda çözüldükçe, tuzdan daha çok serbest halde olması ile ve pH'nın 11 yada daha yukarıda olması ile artar. Geçirgenlik lipid ve proteinlerle engellenir. İyonlar ancak elektrik akımı uygulanınca deriden geçebilir. Eter-su katsayısı düştükçe geçirgenlik artar.

1.2 Tırnak (8)

1.2.1 Tırnak Yapısı

İnsan tırnağı her bir parmağın distalinde dorsal yüzeye yerleşmiş olup oluşturduğu kompleks yapılarla tırnak ünitesi adını alır. Parmakların rahat hareket etmesini , falanksın yumuşak kısmının travmalardan korunmasını, küçük objelerin hissedilip tutulmasını sağlar. Tırnak 6 kısımdan oluşmaktadır.

1.2.1.1 Tırnak plağı

Tırnağın görünür kısmıdır. Sert boynuzsu bir yapısı vardır. Bu plak yarı saydam olup, altındaki olayları görmemize kısmen izin verir. Kabaca dikdörtgen şeklinde, yarı saydam, boyuna düz veya hafif konveks, enine konveks lamalar halinde uzanır .

1.2.1.2 Tırnak yatağı

Tırnak plağı altındaki deridir. Görünen pembe renk, plağı altındaki tırnak yatağına aittir.

1.2.1.2Matriks

Kütikül (cuticle) altındaki tırnağın büyümesinin yer aldığı gizli bölgedir. Proksimal kıvrımın ventraline yerleşmiş olup distalde Lunula'nın bitimine kadar uzanır. Tırnak, matriks yolu ile sürekli olarak yeniden oluşur ve matriks tırnağın şeklini belirler.

1.2.1.4 Lunula

Matriksin beyaz ve yarım ay şeklindeki tırnak köküne yakın kısmıdır. Her zaman görünür değildir, çoğunlukla başparmaklarda ve büyük ayak parmaklarına bağlı tırnaklarda görünür durumdadır.

1.2.1.5 Kütikül

Plağın üzerine taşan ve tırnak kökünü kaplayan dokudur. Kütikula, matriks açısından koruyucu bir fonksiyon görür. Kütikula olmadığında ya da zarar gördüğünde tırnak matriksi kolayca inflamasyona uğrayabilir .

1.2.1.6 Tırnak foldları

Tırnağı serbest her 3 kenarı boyunca destekleyen deri foldlarıdır.



Şekil 3. Tırnak yapısı

1.3 Merhemler (21)

1.3.1 Tanımı

Deri üzerine sürülerek veya tatbik edilen yağlı ve yağsız sıvağlarla hazırlanmış, yumuşak kıvamlı oda temperaturünde yarı katı, vücut sıcaklığında yumuşayan preperatlardır. Merhemler; etken madde ve sıvağ adı verilen taşıyıcıdan ibarettir. Bu tip preperatların etkisinde tatbik edildiği yer de önemlidir.

1.3.2 Sıvağlar

4 grupta toplanırlar.

- Yağ ve Yağimsı Sıvağlar
- Absorbsiyon Sıvağları
- Suda Çözünen Sıvağlar
- Emülsiyon Sıvağları

Emülsiyon Sıvağları: Emülsiyonun cinsine göre S/Y veya Y/S tipinde olabilirler. S/Y tip sıvağların dış fazı yağdır. Suda çözünmezler. İç fazlarında su içerdiklerinden suyu absorbe ettiklerinden su ilavesi yapılabilir. Absorbsiyon sıvağlarına su ilavesi ile elde edilirler. Deriye sürüldükleri zaman yağlı bir his bırakırlar. Cold krem buna örnektir. Y/S tip sıvağlar ise dış fazlarında suyu tutarlar. Su ile yıkanabilirler. Devamlı ovulmakla yüksek miktarda yağ içermeleri sonucu derinin alt tabakalarına inerek kaybolma eğilimindedirler. Bu tür sıvağlardan birçok madde deriye kolaylıkla nüfuz edebilir. Dış faz su olduğu için iyi korunmazlarsa kolaylıkla sularını kaybederler. Küflenmeye karşı hassastırlar. Bu bakımdan koruyucu madde ilavesi gereklidir. Örnek olarak STEARAT MERHEMLERİ verilebilir. Suyla kolay yıkanabilirler ve dermatolojik merhemlerde çok kullanılırlar.

Stearat Merhemleri (=Vanishing Kremler) (21)

Y/S tipindedirler. İnci parlaklığında olup ciltte yağsız, mat bir tabaka oluştururlar. Yağ miktarı %15-30 arasında değişir. Bu preperatlarda stearik asit yağ fazının ana maddesidir. Stearik asit kremi basit bir sistem olmayıp stearik asidin içinde bulunan oleik ve palmitik asitler ve diğer yağ asitlerinin kısmi nötralizasyonu ile oluşan çeşitli tuz ve asidin kompleksleşmesinin bir sonucudur. Suda çözünen herhangi bir alkali stearik asitle reaksiyona girerek bir alkali stearat verir ve bu madde su ile yağ fazı arasında emulgatör görevi görür. Potasyum hidroksit veya sodyum hidroksit, su, alkol ve gliserinden oluşmuşlardır. Bu kremde yağ fazı stearik asit, su fazı ise gliserin ve sudur. Bu yüzden kreme dokunulunca ciltte yağlı bir

his bırakmaz ve deriyi düzgünleştirmez. Yani ciltte yağlı bir tabaka bırakmaz. Kremden su uçtuğunda stearik asit ciltte küçük kristaller halinde çöker. Sonuç olarak cildi yaldızlı şekilde parlatır. pH'ları 6-6.9 arasındadır. Standart bir yapıları yoktur. Sabun jeli halinde olup stearik asit süspansiyon haldedir. Stearat kremleri hazırlanırken alkali seçimi çok önemlidir. Alkali olarak en çok sodyum ve potasyum hidroksit kullanılabilirdiği gibi organik amin bileşikleri (dietanolamin ve trietanolamin) de kullanılabilir. Bu durumda stearik asidin organik amin tuzu oluşur. Burada emülsiyonun oluşumu ve dayanıklı kalması ortamda asidin kalmamasıyla mümkündür. İstenilen kıvamın elde edilebilmesi için genellikle birden fazla alkali ilavesi yapılır. Bu kremler yüksek su içerikleri nedeniyle ve bu suyun uçarak kaybolması sebebiyle nemlendirici ilavesi gerekir. Bu amaçla %2-5 oranında gliserin, propilen glikol, butilen glikol ve %70'lik sorbitol çözeltisi kullanılabilir. Böylece hem uygulanan yüzeyin nemli kalması hem de kremin kutudaki sebatlılığı sağlanır.

1.4 Mantar Enfeksiyonları Hakkında Genel Bilgi (19,20,22)

Mantarlar; Thallophyta koluna ait, hücrelerden oluşmuş iplikli bitkilerdir. Saprofit ve parazit olarak canlılar üzerinde yaşarlar. Saprofitik olanlar besinlerini cansız organik maddelerden, parazitik olanlar canlı organizmadan sağlarlar. Eskiden bir insanın mantar hastalığına yakalanması için o mantarla enfekte olması yeterli sanılırdı, ancak şimdi biliniyor ki; mantar hastalıklarında konak organizmanın immünitesi enfeksiyonun oluşmasında doğrudan rol oynar. Bazı mantar enfeksiyonlarında; iltihabik yanıt ve doku hasarı, mantar antijenlerine karşı aşırı duyarlılık nedeniyle oluşur. İnsanlarda tedavi açısından mantar enfeksiyonları (mikoelar) üç gruba ayrılırlar. Bunlardan mukokütanöz mantar enfeksiyonlar ve sistemik mantar enfeksiyonları, immun sistemi yeterli (immunokompetent) kimselerde pek olmaz; buna karşılık nötrojenik hastalarda, immunosupresyon yapılmış hastalarda ve AIDS'lilerde nispeten sık görülürler; tanıları zordur.

1.4.1 Dermatofitik Mantar Enfeksiyonları (Dermatofitoelar)

En sık görülen ve cilt, saç, kıl ve tırnaklarda yerleşen enfeksiyonlardır. Ciltte esas olarak stratum corneum'u tutarlar. Ortak olarak dermatofit mantarlar diye adlandırılan Epidermophyton, Trichophyton ve Microsporum türleri tarafından oluşturulurlar. Yaptıkları enfeksiyonlar tinea genel adını alır (Şekil 4) . (tinea pedis, tinea corporis, tinea barbae, tinea unguium vb.) Özel durumlar dışında, kural olarak lokal uygulanan ilaçlarla tedavi edilirler. Eğer mantar bu ilaçlara rezistan ise veya mantar tırnak, kıl ve saçlara sokulmuşsa sistemik ilaç tedavisi yapılır. Ciltte yüzeysel yerleşen Pityrosporum orbiculare (Şekil 5) (eski adıyla Malassezia furfur)'un yaptığı tinea (pitiriazis) versikolor ve Corynebacterium

minutissimum'un yaptığı eritrazma, klinik görünüş bakımından cilt dermatofitozlarına benzer; dermatofitoz tedavisinde lokal kullanılan bazı ilaçlar bunlara karşı da etkilidirler.



Şekil 4. Ayaklarda ve tırnaklarda yerleşmiş tinea pedis



Şekil 5: Yüzeysel yerleşen tinea corporis

1.4.2 Mükokütanöz Mantar Enfeksiyonları

Bu tür mikozlar esas olarak Candida türü mantarlar (olguların büyük bir çoğunluğunda Candida albicans) tarafından oluşturulurlar. Bu mantarlar ıslak kalma olasılığı fazla olan cilt bölgelerini ve mukozaları severler. (parmak araları, ağız boşluğu, barsak, anüs çevresi ve vulvovajinal bölge gibi). Genellikle diyabet, uzun süren glukokortikoid veya geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi ve benzeri predispozisyon yapan faktörlerin eşliğinde ortaya çıkarlar. Nötropenili ve immün yetmezlikli hastalarda sık görülen bir şekli; orofarengeal kandidiyazis'tir. Seyrek görülen özel bir şekli konik mükokütanöz kandidiyazis'tir ve genellikle immünoşüpresyon yapılan hastalarda ortaya çıkar, bu hastalık ilaçla tedaviye en dirençli olan kandidiyazis şeklidir.

1.4.3 Sistemik Mantar Enfeksiyonları

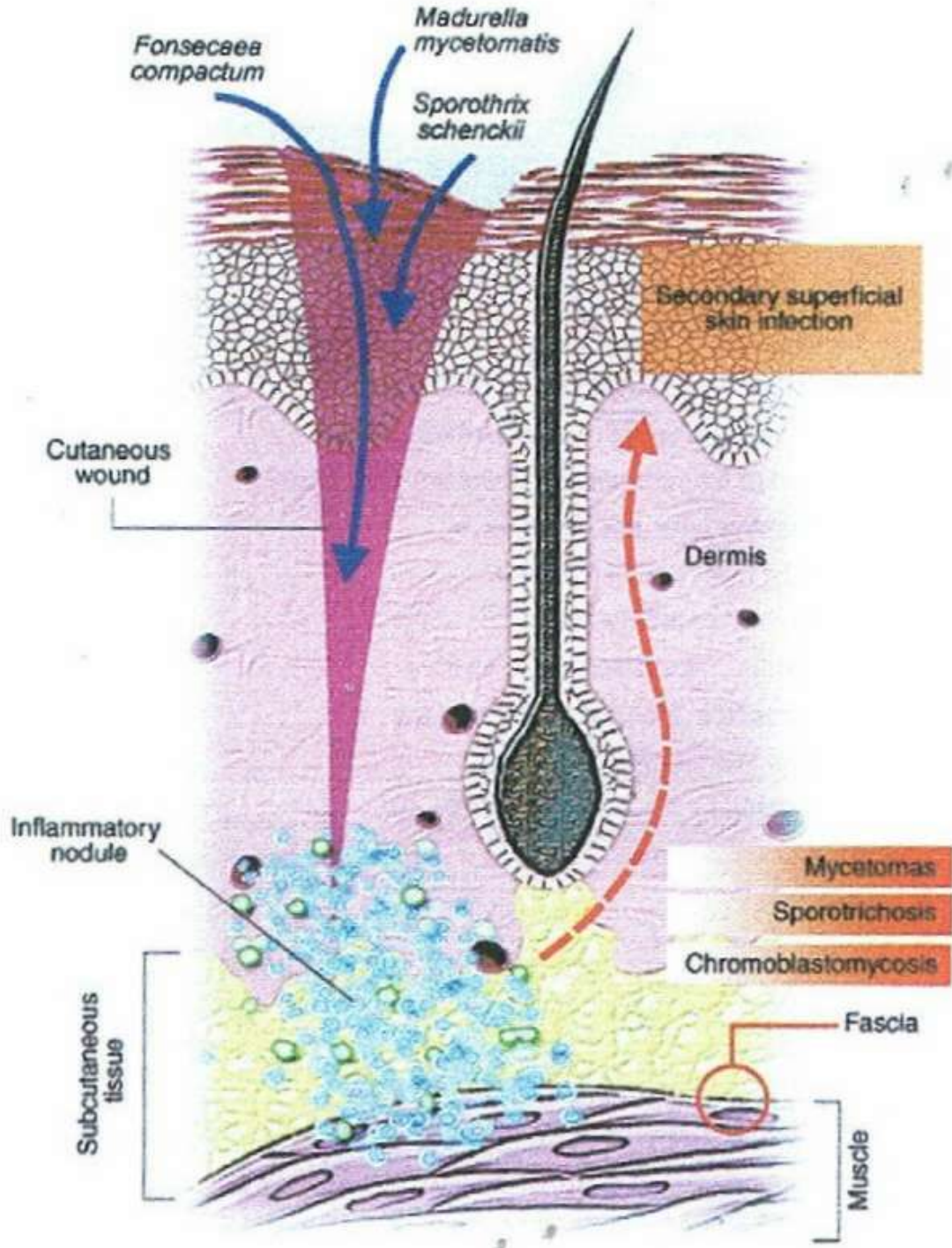
Bu tip mantar enfeksiyonları; yerleşme alanına göre, derin ve ciltaltı (hipodermik) olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Genelde seyrek görülürler ve daha ziyade immün yetmezliği olan kişilerde ortaya çıkarlar.

1.4.3.1 Derin Sistemik Mikozlar

Asperjilozis, blastomiozis, kriptokokozis, histoplazmozis, koksidioidomikozis, parakoksidioidomikozis ve mukormikozistir; bazen mükokütanöz kandidiyazis, derin sistemik enfeksiyon şekline dönüşebilir.

1.4.3.2 Cilt altı Tipi Sistemik Mikozlar

Sporotrikozis, kromomikozis ve misetoma'dır. En sık rastlanılan sistemik mantar enfeksiyonları kandidiyazis ve asperjilozistir (Şekil 6).



Şekil 6: Cilt altı tipi mikozların gelişimi

1.5 Antifungal İlaçlar Hakkında Genel Bilgi

Bu gruptaki antibiyotikler ve sentetik ilaçlar cilt ve mukozaların lokal mantar enfeksiyonlarına ve/veya çeşitli sistemik mantar enfeksiyonlarına karşı etkili ilaçlardır. Antibakteriyel etkileri çok zayıftır veya hiç yoktur. Antifungal ilaçlar genel olarak antibakteriyel ilaçlara göre daha toksik ilaçlardır; bunun temel nedeni mantar hücrelerinin prokaryotik olan bakteri hücrelerinin aksine memeli hücreleri gibi ökaryotik olmalarıdır. Bundan dolayı antifungal ilaçların, her ikisi de ökaryotik olan mantar ve memeli hücreleri arasındaki seçicilik olanağı düşüktür. Antifungal İlaçların Sınıflandırılması:

1.5.1 Antifungal Antibiyotikler

Amfoterisin B, Gliserofulvin ve Nistatin

1.5.2 İmidazol ve Triazol Türevi Antifungaller

Ketokonazol, Flukonazol ve diğer Azol Türevleri (mikonazolnitrat, klotrimazol, itrakonazol, tiokonazol, izokonazol nitrat)

1.5.3 Alilamin Türevleri

Terbinafin ve Naftitin

1.5.4 Diğer Antifungallar

1.5.4.1 Sistemik Uygulananlar

Flusitozin, potasyum iyodür, hidrosistilbamidin

1.5.4.2 Lokal Uygulananlar:

Tolnaftat, yağ asitleri, iyot, siklopiroksolamin

1.6 Terbinafin (2,25,5)

Terbinafin; alilamin türevi geniş antifungal aktivite spektrumu olan bir ajandır. Alilaminler; dermatofitlere karşı gravimetrik etki gücü en yüksek olan (MIC değeri 0.003µg/ml dolaylarında olan) ve onlara karşı diğer antifungal ilaçların çoğundan farklı olarak fungusid etki gösteren ilaçlardır. Fazla lipofilik ve keratolitik bileşiklerdir. Bu özelliği ve fungusid olması nedeniyle sistemik terbinafin uygulanması dermatofitlere bağlı onikomikozisin ‘el ve ayak tırnağı mikozisi ‘ tedavisinde tercih edilir. Azollere ve

griseofulvine göre daha kısa zamanda ve daha yüksek oranda radikal tedavi sağlar; nüks oranı daha düşük olur.

1.6.1 Alil Aminlerin Etki Mekanizması

Duyarlı funguslarda skualen epoksidazı selektif bir şekilde inhibe ederek ergosterol sentezini erken bir basamakta bloke eder. Ayrıca, bu inhibisyon sonucu hücre içinde aşırı miktarda toplanan skualen aracılığı ile fungus hücre membranı fonksiyonunu ve hücre duvarı sentezini bozarlar. Azol grubu ilaçların aksine fungal veya memeli sitokrom P450 enzimlerini C4P2D6 hariç inhibe etmezler.

1.6.2 Terbinafin'in Genel Özellikleri (2,15)

Fiziksel Özellikleri: Beyaz, higroskopik toz madde

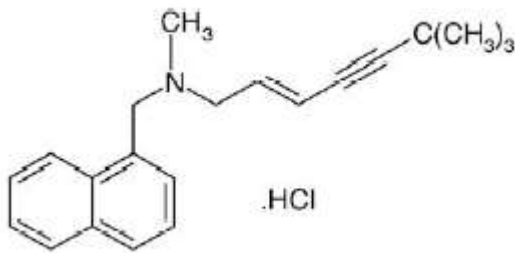
Molekül Formülü: C₂₁H₂₅N.HCl

Molekül Ağırlığı: 327.9

Kimyasal adı: trans-N-(6,6-dimetil-2-hepten-4-inil)-N-metil-1-naftil metilamin hidroklorid

Çözünürlük: Metanol ve metilen kloridde serbest olarak çözünür. Etanol ve izopropil alkol'de çözünebilir. Eter'de az çözünür. Suda çözünmez.

Kimyasal Formül: (6)



Şekil 7. Terbinafin'in kimyasal formülü

Safılık: %98

Stabilitesi : Oda sıcaklığında 1 yıla kadar, -20°C'de 3 aya kadar saklanabilir.

Depolanma Koşulları: Oral tabletleri 25°C'nin altında saklanmalıdır ve ışıktan korunmalıdır.

Topikal kremleri ise 5-30°C arasında saklanabilir.

1.6.3 Tedavide Kullanılışı

1.6.3.1 Oral Kullanım

Dermotofitlere bağlı onikomikozisin ve yüzeysel dermatofitozların tedavisi için ağızdan günde tek doz halinde 250 mg verilir. Yüzeysel dermatofitozlara karşı 2-4 hafta uygulanır. Onikomikozis'te tercih edilen bir ilaçtır; bu endikasyonda daha uzun süre (6 hafta-3 ay ve hatta daha uzun)verilir ve diğer antifungal ilaçlara göre daha kısa sürede klinik ve mikolojik kür sağlar.

1.6.3.2 Topikal Kullanım

Yüzeysel dermatofitozlarda, cilt kandidiyazisinde ve pitriyazis versicolorda %1'lik kremi veya diğer cilt preparatları lezyonlu cilt bölgesine günde 1-2 kez 1-2 hafta sürülerek tedavi yapılabilir.

Tinea corporis,cruris : 1-2 hafta

Tinea pedis : 2-4 hafta (günde 2 defa

uyulandığında 1 haftalık tedavi yeterlidir.

Cutaneous candidiasis : 1-2 hafta

Pityriasis versicolor : 2 hafta

Klinik semptomların gerilemesi birkaç gün içinde olur. Düzensiz kullanım veya tedavinin erken kesilmesi hastalığın yineleme riskini artırır. İki hafta sonrasında iyileşme bulguları yoksa teşhis bir kez daha gözden geçirilmelidir.

1.6.4 Dağılım ve Eliminasyonu :

1.6.4.1 Oral Kullanım

Mide – barsak kanalından iyi absorbe edilir. Lipofilik olması nedeniyle dermis,epidermis,sebum ve yağ dokusunda toplanır. Stratum corneum'da birikir. Plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır, (%90). Karaciğerde metabolize edilmek suretiyle inaktive edilir. %70'i böbreklerden elimine edilir. Eliminasyon yarılanma ömrü 17 saat kadardır. 250 mg'lık tek dozun 2 saat sonraki pik plazma konsantrasyonu 1µg/ml'dir, Maksimum ölçülen plazma konsantrasyonu 11.4 ng/ml'dir.

1.6.4.2 Topikal Kullanım

Dozun %5'inden azı absorbe edilir. Bu nedenle sistemik etkilenme çok hafiftir. Uygulanan dozun %9'a kadarlık kısmı idrarla atılır.

1.6.5 Advers etkiler :

1.6.5.1 Oral Kullanım

Dispepsi, diyare, abdominal ağrı gibi gastrointestinal bozukluklar, baş ağrısı, cilt reaksiyonları gelişebilir. Nadiren karaciğer fonksiyonları bozulabilir. Serum transaminazlarının düzeyini yükseltebilir.

1.6.5.2 Topikal Kullanım

Uygulama bölgesinde ender olarak kızarıklık, kaşıntı ve batma olur. Bu nedenle tedavinin kesilmesi nadirdir. Allerjik reaksiyonlar görülürse tedavi kesilmelidir.

1.6.6 İlaç-İlaç Etkileşimleri

1.6.6.1 Oral Kullanım

Rifampin ile terbinafin klerensi %100 artar. Cimetidine ile %33 azalır. Siklosporinlerden klerens etkilenmez. Antipirin, digoxin ve terfenadin'in klerensleri terbinafinden etkilenmez.

1.6.6.2 Topikal Kullanım

Hiçbir ilaç etkileşimi bildirilmemiştir.

1.6.2.15 Ülkemiz ve Dünyada Mevcut Dozaj Şekilleri

- Lamisil Tablet (Novartis) : 250mg'lık tb. 14 tb/kutu
- Lamisil Krem (Novartis) : %1'lik krem 15g/tüp
- Lamisil Solusyon Dermal (Novartis) : %1'lik cilt sol. 30ml/şişe
- Lamisil Sprey Dermal (Novartis) : %1'lik cilt spreyi 30ml/şişe
- Lamisil Dermgel Jel (Novartis) : %1'lik jel 15g/tüp
- Terbisil Tablet (Novartis) : 250mg'lık tb. 14 tb/kutu
- Terbisil Krem (Novartis) : %1'lik krem 15g/tüp
- Mycocur (Nobel) : %1'lik krem 15g/tüp

- Mikonafin (Münir Şahin) : %1'lik krem 15g/tüp
- Tekfin Tablet (Deva) : 250mg'lık tb.14 tb ve 28tb/kutu
- Tekfin Sprey Dermal (Deva) :%1'lik cilt spreyi 30ml/şişe

1.7 Propilen Glikol

Fiziksel Görünüş : Berrak, renksiz, viskoz higroskopik bir sıvıdır.

Kapalı Formül : C₃H₈O₂

Molekül Ağırlığı : 76.09

Kimyasal adı ve Sinonimleri : 1,2-Propandiol

Propan-1,2-diol

Metil glikol

Metil etilen glikol

1,2-dihidroksi propan

Çözünürlük : Su, aseton, alkol, gliserin ve kloroform ile karışabilir.1:6 oranında eterde çözünebilir. Doymuş ve mineral yağlarla karışmaz.

Stabilite ve Depolama Koşulları : Sıkı kapaklı kaplarda saklanabilir. Yüksek sıcaklıklarda açık kalırsa okside olabilir ve propiyonaldehit, laktik asit, pirüvik asit ve asetik asite parçalanır. Işıktan korunmalıdır.

Fonksiyonel Özellikleri : Farmasötik uygulamalarında; solvent olarak ve suda çözünmeyen veya stabilitesi düşük ilaçlarda taşıyıcı olarak kullanılır. Vitamin peperatlarında stabilizan ajan olarak, plastikleştirici ve koruyucu olarak kullanılır. Yiyeceklerde ve kozmetikte de yaygın olarak kullanımı vardır. Bunlardan ayrı; nemlendirici özelliğe de sahiptir ve gliserole benzer olarak topikal nemlendirici preperatlarında kullanılır. Veteriner ilaçlarında glukoz prekürsörü olarak da yer almaktadır. Cilt hastalıklarında topikal tedavide ilaçların terkbine nemlendirici ve keratolitik ajan olarak girer. Antibakteriyel ve antifungal özellikleri de vardır. Ichthyosis, tinea versicolor ve seboroik dermatit olarak tanımlanan bir numara cilt hastalıklarının tedavisinde çalışılmıştır.

Advers Etkileri : Ciltte ve mukoz membranlarda bazı lokal irritasyonlara sebep olabilir. Hipersensitiv reaksiyonlar bildirilmiştir. Renal yetmezliği bulunan hastalarda hiperosmolalite, laktik asidoz ve MSS depresyonları görülmüştür.

1.8 Dietanolamin

Fiziksel Görünüş : Oda sıcaklığında beyaz bir sıvı, oda sıcaklığının üzerinde berrak, su beyazı, viskoz bir sıvıdır.

Kapalı Formül : $C_4H_{11}NO_2$

Yapısal Formül : $(HOCH_2CH_2)_2NH$

Molekül Ağırlığı : 105.14

Kimyasal adı ve Sinonimleri : Dietilolamin
Bis(hidroksietil)amin
2,2'-dihidroksidietilamin
Diolamin
Alkanolaminler, Etanolaminler

Çözünürlük : 20°C'de suda %96.4 oranında çözünür. Su, metanol, aseton ile karışır. 25°C'de benzende (%4.2) , eterde (%0.8) oranında çözünür.

Stabilite ve Depolama Koşulları : Hava almayan sıkı kapatılmış kaplarda ışıktan korunarak saklanmalıdır. 50°C'nin ve üzeri sıcaklıklarda yapısı bozulur ve rengi değişir.

Fonksiyonel Özellikleri : Farmasötik uygulamalarda; alkalize edici ajan ve emülsifiye edici ajan olarak kullanılır.

Advers Etkileri : Herhangi bir yan etkisi görülmemiştir. Toksikitesi düşüktür.

1.9 İzopropil Alkol (İPA)

Fiziksel Görünüş : Renksiz sıvı

Kapalı Formül : C_3H_8O

Yapısal Formül : $H_3CCH(OH)CH_3$

Molekül Ağırlığı : 60.09

Kimyasal adı ve Sinonimleri : izopropil alkol
Propan-2-ol

Çözünürlük : Sadece aseton, benzen ve kloroformda çözünür. Tuz çözeltilerinde çözünmez.

Stabilite ve Depolama Koşulları : Hava almayan sıkı kapatılmış kaplarda ışıktan korunarak saklanmalıdır.

Fonksiyonel Özellikleri : Farmasötik uygulamalarda; iyi bir çözücüdür.

Advers Etkileri : Seri ve yoğun üretimlerde patlayıcı özelliğinden dolayı tehlikeli olabilir. Buhar basınçları ve uçucu organik bileşen değerleri yüksektir. Bu nedenle çalışırken mutlaka maske kullanılmalıdır.

1.10 Setil Alkol

Fiziksel Görünüş : Beyaz pul veya granüle şeklinde katı madde

Kapalı Formül : $C_{16}H_{34}O$

Yapısal Formül : $CH_3(CH_2)_{14}CH_2OH$

Molekül Ağırlığı : 240

Çözünürlük : Sadece alkol, eter, kloroform ve bitkisel yağlarda çözünür. Suda çözünmez.

Stabilite ve Depolama Koşulları : Hava almayan sıkı kapalı kaplarda ışıktan korunarak saklanmalıdır.

1.11 Stearil Alkol

Fiziksel Görünüş : Beyaz pul veya granüler şeklinde, özel kokulu katı maddedir.

Kapalı Formül : $C_{18}H_{38}O$

Yapısal Formül : $CH_3(CH_2)_{16}CH_2OH$

Molekül Ağırlığı : 270.48

Kimyasal adı ve Sinonimleri : 1-oktadekanol

Çözünürlük : Sadece alkol,eter,benzen ve asetonda çözünür. Suda çözünmez.

Stabilite ve Depolama Koşulları : Hava almayan sıkı kapalı kaplarda ışıktan korunarak saklanmalıdır.

1.12 Stearik Asit

Fiziksel Görünüş : Beyaz veya parlak sarı, kristal yada toz madde

Kapalı Formül : $C_{18}H_{36}O_2$

Yapısal Formül : $CH_3(CH_2)_{16}COOH$

Molekül Ağırlığı : 284.47

Kimyasal adı ve Sinonimleri : Oktadekonik asit

Çözünürlük : Sadece amilasetat ve toluen'de çözünür.

Stabilite ve Depolama Koşulları : Hava almayan sıkı kapalı kaplarda ışıktan korunarak saklanmalıdır.

BÖLÜM II

DENEYSEL BÖLÜM

1.Çalışmanın Genel Planı

- **Çözünürlük Çalışmaları**
- **Optimum kremin Seçimi**
- **İn-vitro çalışmalar**

Bu çalışma model etken maddemiz olan terbinafinin çözünürlüğünün arttırılmasına bağlı olarak geçirgenliğinin ve biyoyararlanımının artırılmasını amaç edinmiştir.

Bunun için çözünürlüğü artırılan terbinafinin stabilitesini koruyabildiği optimum bir formülasyonu hazırlanacaktır. Bu optimum formülasyon seçimi süresince tüm formülasyonların fiziksel ve mikroskopik kontrolleri, stabiliteleri ve naylon membrandan geçişleri ve geçiş hızları kontrol edilecektir.

Optimum formülasyon bulunduktan sonra görülecektir ki; geliştirilen formülasyonlar birçok preperata göre çok daha iyi biyoyararlanım sağlayacaktır.

2.Gereç ve Yöntem

2.1 Kullanılan Kimyasal Madde,Araç ve Gereçler

2.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Terbinafin	Dr.Reddy's Lab.
Propilen glikol	Biofarma
Dietanolamin	Merck
Gliserin	Biofarma
Sodyum hidroksit	Biofarma
Stearik asit	Galenik
Setil alkol	Galenik
Stearil alkol	Galenik
Metil paraben	Biofarma
Propil paraben	Biofarma
İzopropil alkol	J.T Baker
Potasyum hidroksit	J.T Baker
İzopropil miristat	Biofarma
Asetonitril	Lab-Scan
Tetrahidrofuran	Merck
Metanol	Lab-scan
Tetrametilamonyum pentahidrat sodyum tuzu	Sigma

2.1.2 Kullanılan Araç ve Gereçler

Hassas terazi	Sartorius , AND
Mikro hassas terazi	
Vorteks	Heidolph
Çoklu manyetik karıştırıcılı su banyosu	Nüve BS 402

Manyetik karıştırıcı

Variomag Electronic

Telemodul 20P

Ultrasonik su banyosu LC 30

Bandelin Sonorex

pH metre

WTW

UV Visible spektrofotometre

HP (Hewlett Packard 8453)

Santrifüj aleti

Nüve NF 800

Etüv

Memmert

Buzdolabı

Bosch

Otomatik pipet

Mettler Toledo

Ultra saf su cihazı

Seral

2.2 Yöntem ve Deneyler

2.2.1 Terbinafin'in Özelliklerinin Belirlenmesi

2.2.1.1 Terbinafin'in Spektrofotometrik Analizi

Terbinafin'in UV spektrumu serum fizyolojik, serum fizyolojik metanol karışımı, izopropil alkol, serum fizyolojik izopropil alkol karışımında 200-400 nm'de kuvarz küvette döteryum lamba ile alındı. Maximum absorbans gösterdiği dalga boyları tespit edildi.

2.2.1.2 Terbinafin'in Yüksek Basıncı Sıvı kromatografisi ile Miktar Tayini (HPLC) Analizi

Mobil Faz: 250 ml KH₂PO₄ (pH: 7.8 o-fosforik asit ile ayarlanır.)

750 ml Asetonitril

Kolon: C-18 (5 µ)

Mobil faz hazırlandı ve kolon 2 saat şartlandı.

Kalibrasyon Eğrisi Örnekleri

Stok çözelti: 100 mg/l terbinafin, kalibrasyon eğrisi için 50, 70, 100, 150, 200 ng/ml 'lik değerler seçildi ve stoktan belirli oranlarda seyreltmeler yapılarak terbinafin'in bir seri belirli konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı.

Ana stok çözelti (stok A1) : 1mg/10 ml = 100mg/l = 100 ppm

Ara stok çözelti (Stok B1) : 1ppm * 1ml = 100ppm * V

V=0.01ml ana stoktan alıp 1ml'ye %10 İPA (izopropil alkol) içeren serum fizyolojikten konuldu.

50 ng/ml için: 50ul stok B1 + 950ul %10İPA içeren serum fizyolojik

70 ng/ml için: 70ul stok B1 + 930ul %10İPA içeren serum fizyolojik

100 ng/ml için: 100ul stok B1 + 900ul %10İPA içeren serum fizyolojik

150 ng/ml için: 150ul stok B1 + 850ul %10İPA içeren serum fizyolojik

200 ng/ml için: 200ul stok B1 + 800ul %10İPA içeren serum fizyolojik

Kalibrasyon eğrisi örnekleri hazırlandı ve enjeksiyonları yapılarak bu konsantrasyonlara karşılık gelen terbinafin piklerinin alan değerleri integratörden okundu ve günlük kalibrasyon eğrileri çizildi.

2.2.1.3 Terbinafin'in Miktar Tayini için Kalibrasyon Eğrisi Çizimleri

Kalibrasyon için, belirli konsantrasyonlarda terbinafin'in stok çözeltisi hazırlandı ve bu stok çözeltilerden de uygun seyreltmeler yapılarak, farklı konsantrasyonlarda bir seri çözelti elde edildi. Buna karşılık gelen absorbans değerleri uygun dalga boylarında derişime karşı

okunarak, regresyon analizine uygulandı. Derişim ile absorbands arasındaki ilişkiyi veren kalibrasyon eğrisi oluşturuldu.

2.2.2 Terbinafin'in Çözünme Çalışmaları

Terbinafin 'in çözünürlüğü 5 farklı çözeltilerde çalışıldı. Bunlar;

2.2.2.1 Tip 1 suda Terbinafin'in Çözünürlüğü

1mg terbinafin HCl'i mikrohassas terazide tartılıp 10 ml'ye tip 1 kalite su ile tamamlandı. Ultrasonik su banyosunda çözüldü. Çözeltilerden bir miktar HPLC'ye 222nm'de verilerek çözünürlüğü saptandı.

2.2.2.2 Serum Fizyolojik'te Terbinafin'in Çözünürlüğü

1mg terbinafin HCl'i mikrohassas terazide tartılıp, 10 ml'ye serum fizyolojik ile tamamlandı. Ultrasonik su banyosunda 37°C'de 15 dk. çözüldü. Çözeltilerden bir miktar HPLC'ye 222nm'de verilerek çözünürlüğü tespit edildi.

2.2.2.3 Metanol'de Terbinafin'in Çözünürlüğü

1mg terbinafin HCl mikrohassas terazide tartılıp 10 ml'ye metanol ile tamamlandı. Ultrasonik su banyosunda 37°C'de 15 dk. çözüldü. Çözeltilerden bir miktar HPLC'ye 222nm'de verilerek çözünürlüğü saptandı.

2.2.2.4 Metanol:Serum Fizyolojik Karışımında (50:50) Terbinafin'in Çözünürlüğü

1mg terbinafin HCl mikrohassas terazide tartılıp 10 ml'ye 50:50 serum fizyolojik:metanol ile tamamlandı. Ultrasonik su banyosunda 37°C'de 15 dk. çözüldü. Çözeltilerden bir miktar HPLC'ye 222nm'de verilip çözünürlüğü araştırıldı.

2.2.2.5 İzopropil Alkol'de Terbinafin'in Çözünürlüğü

1mg terbinafin HCl mikrohassas terazide tartılıp 10 ml'ye izopropil alkol ile tamamlandı. Ultrasonik su banyosunda 37°C'de 15 dk. çözüldü. Çözeltilerden bir miktar HPLC'ye 222nm'de verilerek çözünürlüğü saptandı.

2.2.2.6 İzopropil Alkol:Serum fizyolojik Karışımında (10:90) Terbinafin'in Çözünürlüğü

1mg terbinafin HCl mikrohassas terazide tartılıp 10 ml'ye 10:90 izopropil alkol:serum fizyolojik ile tamamlandı. Ultrasonik su banyosunda 37°C'de 15 dk. çözüldü. Çözeltiden bir miktar HPLC'ye 222nm'de verilerek çözünürlüğü tespit edildi.

2.2.3 Terbinafin Krem Formülasyonlarının Hazırlanması

Optimum krem formülasyonunu bulmak için birçok formülasyon çalışmaları yapıldı.

2.2.3.1 Stearat Krem Formülasyonlarının Hazırlanması

EYKR 1 :

Stearik asit	16 g
Stearil alkol	0.8 g
Setil alkol	0.8 g
Gliserin	5 g
Metil paraben	0.1 g
Propil paraben	0.05 g
Distile su	ad. 100 g

Hazırlanış: Mettler terazisinde stearik asit, stearil alkol ve setil alkol tartılıp (yağlı faz) su banyosunda 75°C'ye kadar ısıtılıp eritildi. Metil paraben ve propil paraben metlerde tartılıp koruyucu olarak yağlı faza eklendi. Sulu fazı oluşturan madde olan gliserin de metlerde bir erlende tartılıp su ile karıştırılıp, su banyosu üzerinde 75°C'ye getirildi. Yağlı fazı sulu fazın üzerine ekleyip sabunlaşma bitene kadar su banyosu üzerinde karıştırıldı. Sabunlaşma bitince suyun geri kalan kısmı 75°C'ye getirilip eklendi ve soğuyana kadar karıştırıldı.

EYKR 2 :

Stearik asit	15 g
İzopropil miristat	3 g
Setil alkol	0.5 g
Gliserin	5 g
Potasyum hidroksit	0.5 g
Sodyum hidroksit	0.18 g
Metil paraben	0.015
Propil paraben	0.002 g
Distile su	ad. 100 g

Hazırlanış: Mettler terazisinde stearik asit, setil alkol ve izopropil miristat tartılıp (Yağlı faz) su banyosunda 75°C'ye kadar ısıtılıp eritildi. Metil paraben ve propil paraben metlerde tartılıp yağlı faza eklendi. Sulu fazı oluşturan madde olan gliserin de metlerde bir erlende tartılıp suyun yarısı kadarında karıştırıldı ve potasyum hidroksit ve sodyum hidroksit saat camında metler terazisinde tartılıp suyun yarısı kadarında çözülerek iki sulu karışım su banyosu üzerinde 75°C'ye getirildi. Yağlı fazı sulu fazın üzerine ekleyip sabunlaşma bitene kadar su banyosu üzerinde karıştırıldı. Sabunlaşma bitince suyun geri kalan kısmı 75°C'ye getirilip eklendi ve soğuyana kadar karıştırıldı.

EYKR 3 :

Stearik asit	20 g
Gliserin	4 g
Potasyum hidroksit	1.4 g
Metil paraben	0.015 g
Propil paraben	0.002 g
Distile su	ad. 100 g

Hazırlanış: Mettler terazisinde stearik asit tartılıp (yağlı faz) su banyosunda 75°C'ye kadar ısıtılıp eritildi. Metil paraben ve propil paraben metlerde tartılıp yağlı faza eklendi. Sulu fazı oluşturan madde olan gliserin de metlerde bir erlende tartılıp suyun yarısı kadarında karıştırıldı ve potasyum hidroksit saat camında metler terazisinde tartılıp suyun yarısı kadarında çözülerek iki sulu karışım su banyosu üzerinde 75°C'ye getirildi. Yağlı faz sulu fazın üzerine eklenerek sabunlaşma bitene kadar su banyosu üzerinde karıştırıldı. Sabunlaşma bitince suyun geri kalan kısmı 75°C'ye getirilip eklendi ve soğuyana kadar karıştırıldı.

EYKR 4 :

Stearik asit	18 g
Alkil miristat	5 g
Setil alkol	0.5 g
Gliserin	8 g
Potasyum hidroksit	1 g
Metil paraben	0.015 g
Propil paraben	0.002 g
Distile su	ad.100 g

Hazırlanış: Metler terazisinde stearik asit, setil alkol ve alkil miristat (yağlı faz) tartılıp su banyosunda 75°C'ye kadar ısıtılıp eritildi. Metil paraben propil paraben metlerde tartılıp yağlı faza eklendi. Sulu fazı oluşturan maddeler yani gliserin ve potasyum hidroksit metlerde tartılıp su içinde çözümlenerek su banyosu üzerinde 75°C'ye getirildi. Yağlı fazı sulu fazın üzerine ekleyerek sabunlaşma bitene kadar su banyosu üzerinde karıştırıldı. Sabunlaşma bitince suyun geri kalan kısmı 75°C'ye getirilip eklendi ve soğuyana kadar karıştırıldı.

EYKR 5 :

Stearik asit	20 g
Setil alkol	0.5 g
Gliserin	8 g
Sodyum hidroksit	0.36 g
Dietanolamin	1.2 g
Metil paraben	0.015 g
Propil paraben	0.002 g
Distile su	ad.100 g

Hazırlanış: Metler terazisinde stearik asit, setil alkol (yağlı faz) tartılıp su banyosunda 75°C'ye kadar ısıtılıp eritildi. Metil paraben ve propil paraben metlerde tartılıp yağlı faza eklendi. Sulu fazı oluşturan maddeler yani gliserin, sodyum hidroksit ve dietanolamin metlerde tartılıp su içinde çözümlenerek su banyosu üzerinde 75°C'ye getirildi. Yağlı fazı sulu fazın üzerine ekleyerek sabunlaşma bitene kadar su banyosu üzerinde karıştırıldı. Sabunlaşma bitince suyun geri kalan kısmı 75°C'ye getirilip eklendi ve soğuyana kadar karıştırıldı.

2.2.3.2 Farklı % 'lerde Propilen Glikol İçeren Krem Formülasyonlarının Hazırlanması

EYPGKR 6 : (%5 PG içerir.)

Stearik asit	20 g
Setil alkol	0.5 g
Gliserin	8 g
Sodyum hidroksit	0.36 g
Dietanolamin	1.2 g
Propilen glikol	5 g
Metil paraben	0.015 g
Propil paraben	0.002 g
Distile su	ad.100 g

Hazırlanış: Mettler terazisinde stearik asit, setil alkol (yağlı faz) tartılıp su banyosunda 75°C'ye kadar ısıtılıp eritildi. Metil paraben ve propil paraben metlerde tartılıp yağlı faza eklendi. Sulu fazı oluşturan maddeler yani gliserin, sodyum hidrokisit, dietanolamin ve propilen glikol metlerde tartılıp suyun içinde çözümlenerek su banyosu üzerinde 75°C'ye getirildi. Yağlı fazı sulu fazın üzerine ekleyerek sabunlaşma bitene kadar su banyosu üzerinde karıştırıldı. Sabunlaşma bitince suyun geri kalan kısmı 75°C'ye getirilip eklendi ve soğuyana kadar karıştırıldı.

EYPGKR 7 : (%10 PG içerir.)

Stearik asit	20 g
Setil alkol	0.5 g
Gliserin	8 g
Sodyum hidrokisit	0.36 g
Dietanolamin	1.2 g
Propilen glikol	10 g
Metil paraben	0.015 g
Propil paraben	0.002 g
Distile su	ad.100 g

Hazırlanış: Mettler terazisinde stearik asit, setil alkol (yağlı faz) tartılıp su banyosunda 75°C'ye kadar ısıtılıp eritildi. Metil paraben ve propil paraben metlerde tartılıp yağlı faza eklendi. Sulu fazı oluşturan maddeler yani gliserin, sodyum hidrokisit, dietanolamin ve propilen glikol metlerde tartılıp suyun içinde çözümlenerek su banyosu üzerinde 75°C'ye getirildi. Yağlı fazı sulu fazın üzerine ekleyerek sabunlaşma bitene kadar su banyosu üzerinde karıştırıldı. Sabunlaşma bitince suyun geri kalan kısmı 75°C'ye getirilip eklendi ve soğuyana kadar karıştırıldı.

EYPGKR 8 : (%20 PG içerir.)

Stearik asit	20 g
Setil alkol	0.5 g
Gliserin	8 g
Sodyum hidroksit	0.36 g
Dietanolamin	1.2 g
Propilen glikol	20 g
Metil paraben	0.015 g
Propil paraben	0.002 g
Distile su	ad.100 g

Hazırlanış: Metler terazisinde stearik asit, setil alkol (yağlı faz) tartılıp su banyosunda 75°C'ye kadar ısıtılıp eritildi. Metil paraben ve propil paraben metlerde tartılıp yağlı faza eklendi. Sulu fazı oluşturan maddeler yani gliserin, sodyum hidroksit, dietanolamin ve propilen glikol metlerde tartılıp suyun içinde çözümlenerek su banyosu üzerinde 75°C'ye getirildi. Yağlı fazı sulu fazın üzerine ekleyerek sabunlaşma bitene kadar su banyosu üzerinde karıştırıldı. Sabunlaşma bitince suyun geri kalan kısmı 75°C'ye getirilip eklendi ve soğuyana kadar karıştırıldı.

2.2.3.3 İPA İçeren Stearat Krem Formülasyonlarının Hazırlanması

EYİPAKR 9 : (%10 İPA içerir.)

Stearik asit	20 g
Setil alkol	0.5 g
Gliserin	8 g
Sodyum hidroksit	0.36 g
Dietanolamin	1.2 g
İzopropil alkol	10 g
Metil paraben	0.015 g
Propil paraben	0.002 g
Distile su*	ad.100 g

Hazırlanış: Metler terazisinde stearik asit, setil alkol (yağlı faz) tartılıp su banyosunda 75°C'ye kadar ısıtılıp eritildi. Metil paraben ve propil paraben metlerde tartılıp yağlı faza eklendi. Sulu fazı oluşturan maddeler yani gliserin, sodyum hidroksit, dietanolamin ve izopropil alkol metlerde tartılıp suyun içinde çözümlenerek su banyosu üzerinde 75°C'ye getirildi.

Yağlı fazı sulu fazın üzerine ekleyerek sabunlaşma bitene kadar su banyosu üzerinde karıştırıldı. Sabunlaşma bitince suyun geri kalan kısmı 75°C'ye getirilip eklendi ve soğuyana kadar karıştırıldı.

* Tüm formülasyonlar 100g üzerinden ifade edilmiştir.

2.2.3.4 Emülsiyon Bazlı Krem Formülasyonunun Hazırlanması

EYEBKR 10 :

Sodyum hidroksit	0.18 g
Benzil alkol	1 g
Sorbitan monostearat	1.8 g
Setil palmitat	2 g
Setil alkol	4 g
Stearil alkol	4 g
Polisorbat 60	6 g
İzopropil miristat	8 g
Distile su	ad. 100 g

Hazırlanış : Metler terazisinde benzil alkol, sorbitan monostearat, setil palmitat, setil alkol, stearil alkol, izopropil miristat ve polisorbat 60 (yağ fazı) tartılıp 60-70°C'lik su banyosunda eritilip çözüldü. 20 dk. karıştırıldı. Sodyum hidroksit metlerde saat camında tartılıp tamamı suyun yarısında çözüldü ve 60-65°C'de yağ fazına eklendi. Geri kalan su da 60-65°C'ye ısıtılarak karışıma eklendi. 30 dk karıştırılarak karışım homojenize edildi.

2.2.4 Krem Formülasyonlarının Fiziksel Kontrol Çalışmaları

Yukarıda elde edilen krem formülasyonlarının görünüş, koku, pH ve viskozite tayinleri yapılarak uygun (optimum) formülasyonlar seçildi.

2.2.5 Optimum Krem Formülasyonundan Terbinafin Miktar Tayini

2.2.5.1 Metanol: Serum Fizyolojik (50:50) Karışımında Miktar Tayini

%1 Terbinafin HCl içeren optimum formülasyondan 1g krem hassas terazide tartılıp üzerine 10 ml serum fizyolojik:metanol çözeltisi (50:50) eklendi. 20 dk. ultrasonik su banyosunda homojenize edildi. Krem homojenize olunca katı ve sıvı fazı ayırmak için 3000 rpm'de 10 dk santrifüje edildi. Çöken katı faz üzerindeki sıvı fazdan bir miktar alındı. Gerekli

seyretmeler yapılarak elde edilen çözeltiler HPLC'ye enjekte edildi ve örneklerdeki terbinafin tayin edildi.

2.2.5.2 İzopropil Alkol: Serum Fizyolojik (10:90) Karışımında Miktar Tayini

%1 Terbinafin HCl içeren optimum formülasyondan 1g krem hassas terazide tartılıp üzerine 10 ml 10:90 izopropil alkol:serum fizyolojik çözeltisi eklendi.20 dk. ultrasonik su banyosunda çözüldü. Krem çözününce katı ve sıvı fazı ayırmak için 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Çöken katı faz üzerindeki sıvı fazdan bir miktar alındı. Gerekli seyretmeler yapılarak elde edilen çözeltiler HPLC'ye enjekte edildi ve örneklerdeki terbinafin tayin edildi.

2.2.5.3 pH 5.5 Fosfat Tamponu ile Miktar Tayini

Terbinafin formülasyonundan fosfat tampon ile miktar tayini çalışması için pH 5.5 fosfat tampon hazırlanması (1997 EPh) :

pH= 5.5 fosfat tamponu 2 solüsyonun karışımından oluşur. 1000ml pH5.5 fosfat tampon hazırlamak için ;

SOLÜSYON I964 ml

1000 ml hazırlamak için; 13.61 KH₂PO₄ tartılır, 1000ml d.su ile tamamlanır.

SOLÜSYON II.....36ml

1000 ml hazırlamak için;90.28g [Na₂HPO₄ + 12 H₂O] tartılır,. 1000ml d.su ile tamamlanır.

Mezürle ölçülüp 1000 ml'lik bir balon jodede karıştırılır, pH metrede pH kontrolü yapılır.

%1 Terbinafin HCl içeren optimum formülasyondan 1g krem hassas terazide tartılıp üzerine 10 ml pH:5.5 fosfat tampon çözeltisi eklendi. 20 dk. ultrasonik su banyosunda çözüldü. Krem çözününce, katı ve sıvı fazı ayırmak için 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Çöken katı faz üzerindeki sıvı fazdan bir miktar alındı. Gerekli seyretmeler yapılarak elde edilen çözeltiler HPLC'ye enjekte edildi ve örneklerdeki terbinafin tayin edildi.

2.2.5.4 pH 7.4 Fosfat Tamponu ile Miktar Tayini

1997 Avrupa Farmakopesine göre pH7.4 Fosfat Tamponun Hazırlanması;

393.4 ml 0.1N NaOH 'in üzerine 250 ml 0.2 M KH₂PO₄'ı ilave edildi ve distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. pH metrede pH kontrolü yapıldı. pH 7.4'e ayarlandı.

%1 Terbinafin HCl içeren optimum formülasyondan 1g krem hassas terazide tartılıp üzerine 10 ml pH:7.4 fosfat tampon çözeltisi eklendi. 20 dk. ultrasonik su banyosunda

çözüldü. Krem çözününce katı ve sıvı fazı ayırmak için 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Çöken katı faz üzerindeki sıvı fazdan bir miktar alındı. Gerekli seyretmeler yapılarak elde edilen çözeltiler HPLC'ye enjekte edildi ve örneklerdeki terbinafin tayin edildi.

2.2.6 Terbinafin'in İdeal Formülasyonunun Naylon Membrandan Geçiş Hızı Çalışmaları

Terbinafin içeren krem formülasyonundan, terbinafin'in in vitro ortamda naylon membran geçişi, %10 İPA içeren serum fizyolojikte, difüzyon tüp yöntemi kullanılarak yapıldı. Difüzyon tüp yönteminde sistem; donör ve reseptör kompartman olmak üzere 2 kısımdan oluşmaktadır. Naylon diyaliz membranı, (1cm²), donör ve reseptör kompartmanlar arasında yerleştirildi ve iki kompartman ortam sıvısını sızdırmaması için, birbirine kauçuk bir tıpa ile tutturuldu. Reseptör faza 10 ml %10 İPA içeren serum fizyolojik ve donör faza 1g krem konuldu. Tüm sistem 37±1°C'de manyetik karıştırıcılı su banyosuna yerleştirilerek, terbinafin'in geçiş hızı kontrol edildi. Deney boyunca sıcaklığın sabit kalması sağlandı. Kullanılan naylon membran deneye başlamadan önce, ½ saat reseptör faz ile ıslatılarak, gözeneklerinin açılması sağlandı. Reseptör faz, deney boyunca bir manyetik karıştırıcı ile 300 devir/dk hızla dipten karıştırıldı.

HPLC 'de günlük kalibrasyon eğrisi çizilmesi için uygun konsantrasyonda, %10 İPA içeren serum fizyolojikte terbinafin'in çözeltisi hazırlandı ve bu stok çözeltilerden de uygun seyreltmeler yapılarak, farklı konsantrasyonlarda bir seri çözelti elde edildi. Bu konsantrasyonlara karşılık gelen alan değerleri okundu. Alan değerleri derişime karşı konularak, en küçük kareler yöntemi ile, regresyon analizine uygulandı. Derişim ile alan arasındaki ilişkiyi veren kalibrasyon eğrileri oluşturuldu.

2.2.7 Terbinafin'in Krem Formülasyonu İçinde Stabilitesi

Terbinafin'in 12 aylık bir zaman aralığında krem içersindeki stabilitesini belirlemek için %1 terbinafin içerikli optimum formülasyon (KR-10) laboratuvar ölçekli olarak hazırlandı ve +4°C, 25°C %60 nem, 40°C %75 nem olmak üzere 3 farklı ortam ve sıcaklığa sahip iklim kabinlerine saklandı. İlk stabilite testleri 3. ayın sonunda yapıldı. Arkasından 6. ay ve 12. ay testleri gerçekleştirildi. Testler alınan bir kısım kreme uygulanan ekstraksiyon işlemlerinden sonra, örnekler uygun mobil faz ve şartlar uygulanarak HPLC'ye verildi. İntegrasyon sonucu görülen pikler bize krem içersinde terbinafin bulunduğunu ispatlayacaktır.

BÖLÜM III

BULGULAR

3.Terbinafin'in özelliklerine ait bulgular

3.1. Terbinafin'in spektrofotometrik analiz bulguları

Terbinafin'in deneysel bölümde anlatıldığı gibi serum fizyolojik:metanol ve serum fizyolojik : izopropil alkol karışımlarındaki stok çözeltilerinin kuvartz küvette döteryum lamba ile λ_{max} taraması yapıldı. Çözeltilerde seyreltme gerekliliği görüldü. Uygun seyreltmeler yapıldı. Terbinafin için spesifik λ_{max} değerleri aşağıdaki gibi değerlendirildi.

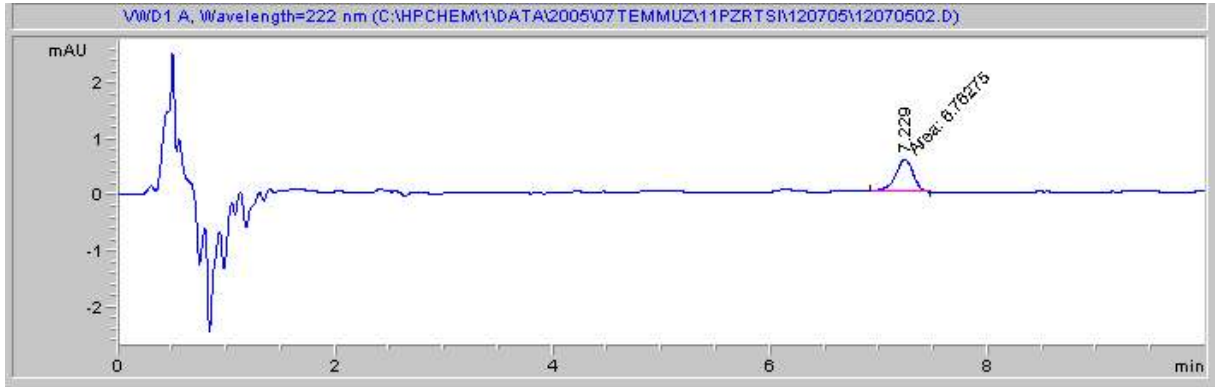
Çözücü **$\lambda_{max}(nm)$**

Serum fizyolojik:metanol.....222

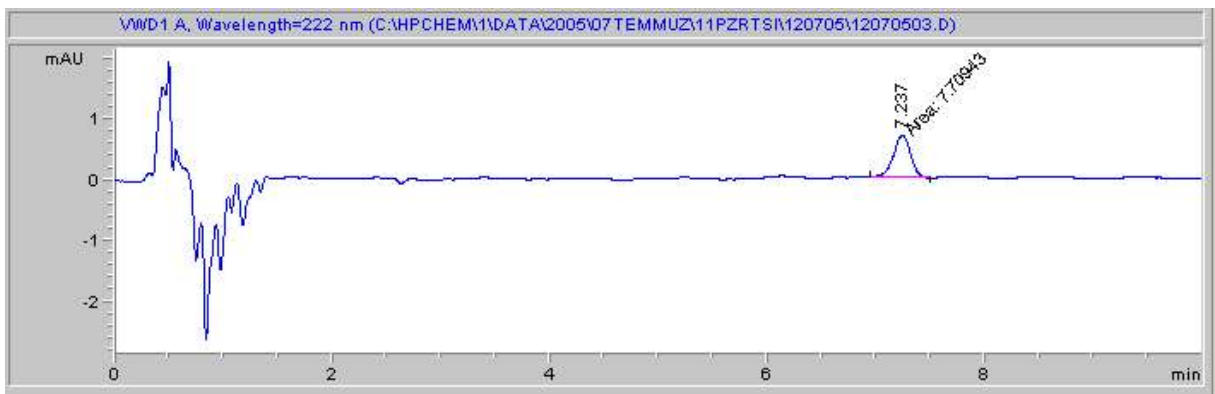
Serum fizyolojik:izopropil alkol.....222

3.2 Terbinafin'in çözünme çalışmaları bulguları

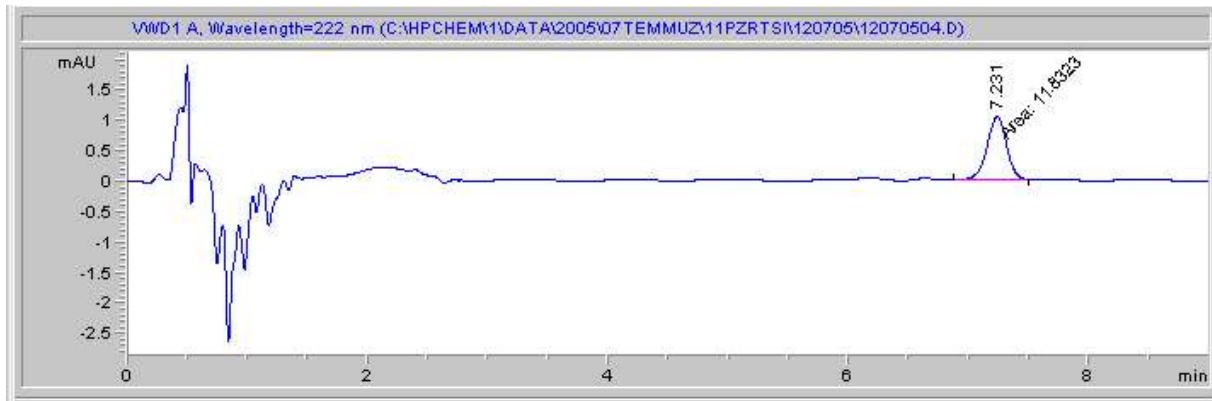
3.2.1 Terbinafin'in miktar tayini için kalibrasyon eğrisi bulguları



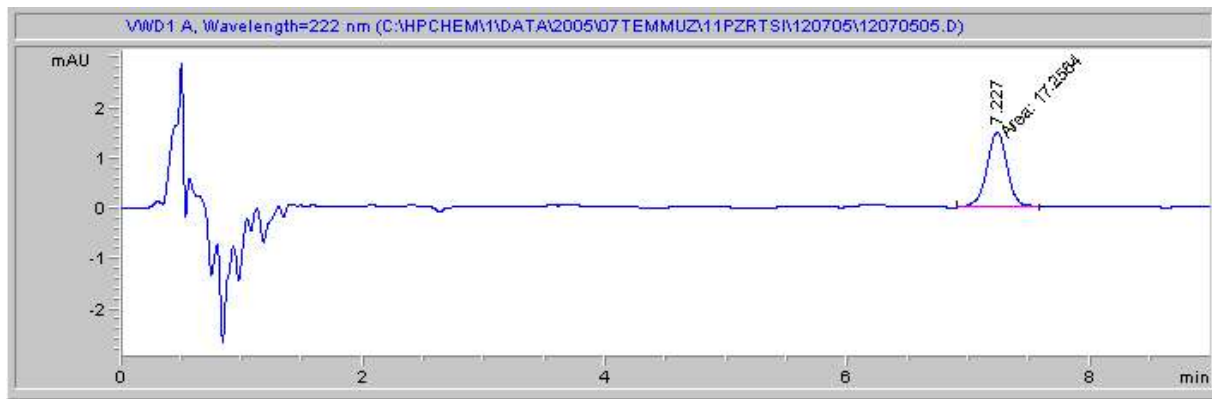
Grafik 1: 50 ng/mL terbinafin HCl



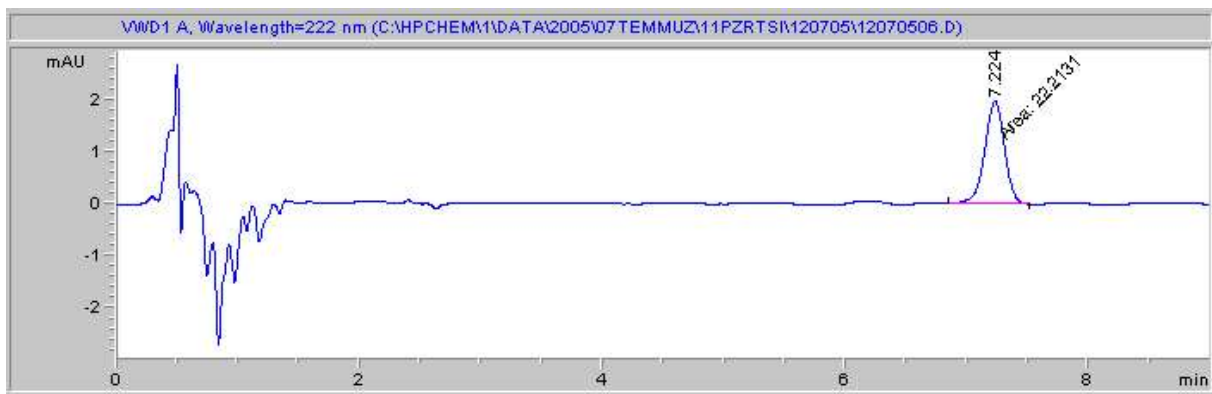
Grafik 2: 70 ng/mL terbinafin HCl



Grafik 3: 100 ng/mL terbinafin HCl



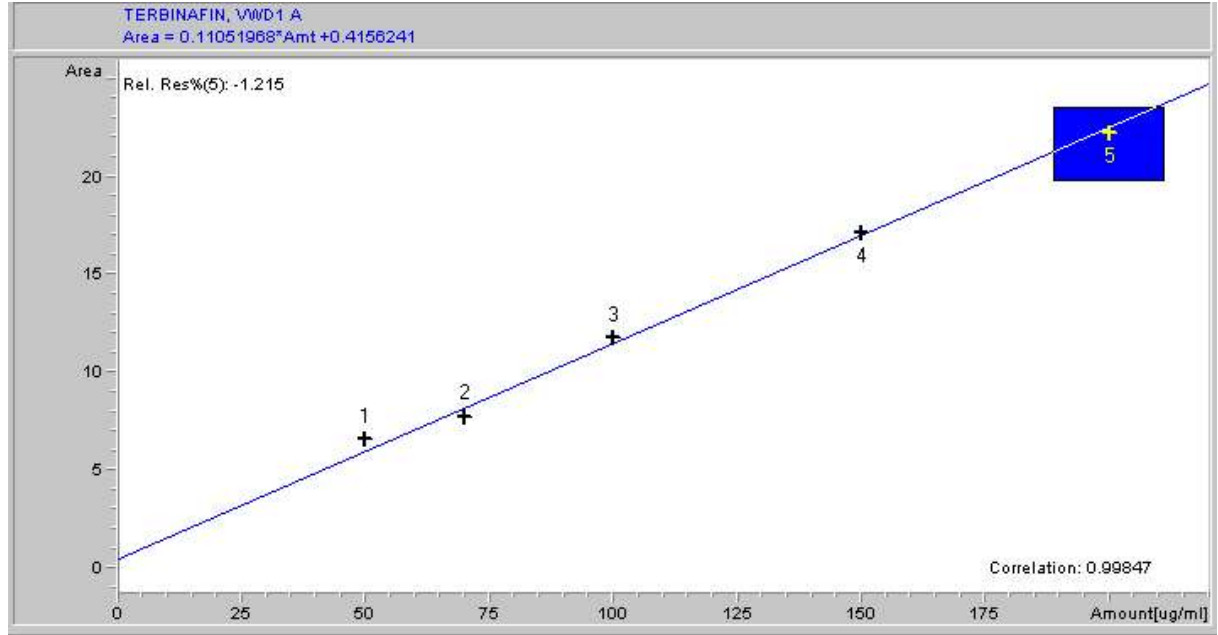
Grafik 4: 150 ng/mL terbinafin HCl



Grafik 5: 200 ng/mL terbinafin HCl

#	RT	Signal	Compound	Lvl	Amt[ug/ml]	Area	Rsp.Factor
1	7.025	VWD1 A	TERBINAFIN	1	50.000	6.600	7.576
				2	70.000	7.742	9.041
				3	100.000	11.780	8.489
				4	150.000	17.122	8.761
				5	200.000	22.246	8.990

Tablo 1: Kalibrasyon Eğrisinin 5 Noktası ve Alanları



Grafik 6: Terbinafin'in 5 noktalı Kalibrasyon Eğrisi

3.2.2 Terbinafin'in farklı ortamlarda çözünürlük bulguları

1mg Terbinafin HCl en iyi çözünürlüğü İPA:serum fizyolojik (10:90) karışımında göstermiş olup, bu HPLC'de verdiği piklerden de anlaşılmıştır.

3.3 Terbinafin'in Krem formülasyonlarının fiziksel kontrol çalışmaları bulguları

DeneySEL bölümde anlatıldığı gibi hazırlanan EYKR-1 formülasyonunda krem kıvamı oluşmadı. Homojen bir yapıda değildi.

Hazırlanan EYKR-2 formülasyonunda ise beyazımsı renkte ancak yumuşak olmayan sert bir krem oluştu.

EYKR-3 kodlu formülasyonda da homojenlik sağlanamadı ve sürümü kolay olmayan bir yapı oluştu.

Hazırlanan EYKR-4 nolu formülasyon standart bir emülsiyon yapısında değildi. Bütünlük sağlanamadı.

EYKR-5 nolu formülasyon diğer formülasyonlara nazaran; homojenlik, kıvam ve renk standartlarına uymaktaydı. Beyazımsı renkte, homojen, rahat sürülebilir ve emilen bir krem oluştu.

Ayrıca bu formülasyona bağlı kalınarak hazırlanan farklı yüzdelerde (%5, %10, %20) propilen glikol (PG) içeren formülasyonlar da uygunluk gösterdi. Mikroskopik çalışmaları yapılan bu formülasyonların %PG içeriği arttıkça çözünürlüğün arttığı gözlemlendi. Ancak optimum formülasyonun %10 PG içeren formülasyon olduğu saptandı.

%5 PG içeren formülasyonda kullanılan PG'nin terbinafinin çözünürlüğünü pek etkilemediği ve EYKR 5'den pek farklı olmadığı görüldü.

%20 PG içeren formülasyonda ise terbinafinin çözünürlüğü artmasına rağmen kremin yumuşaklığı ve stearat krem parlaklığının azaldığı gözlemlendi.

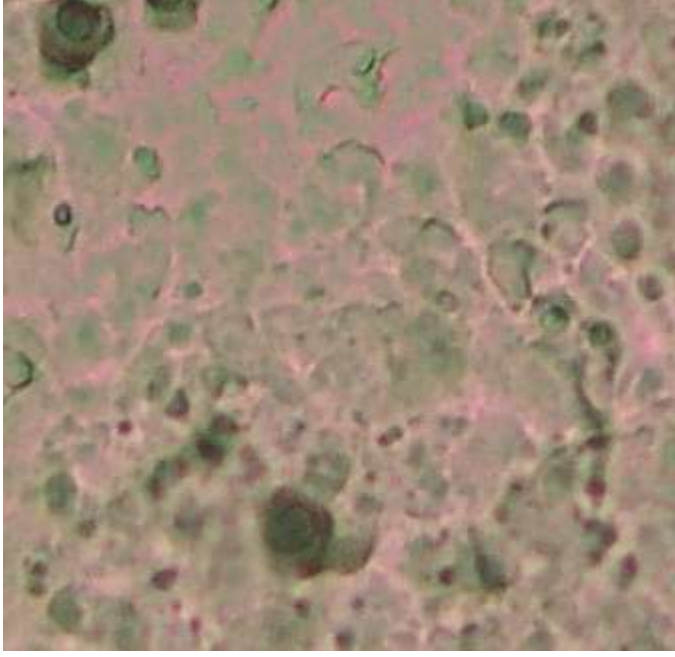
Bu sebeple; %10 PG içeren kremin mikroskopik inceleme sonucu hem çözünürlük açısından hem de krem kalitesi bakımından optimum olduğu saptandı. Ayrıca yine EYKR-5 formülasyonu temel alınarak, %10 oranında izopropil alkol ekleyerek bir formülasyon daha oluşturuldu. Amaç terbinafin'in çözünürlüğünü arttırmaktı. Oluşan formülasyon beyazımsı renkte, sedef parlaklığında, yumuşak kolay sürülebilen bir yapıda oldu.

3.4 Krem formülasyonlarının optimizasyon çalışma bulguları

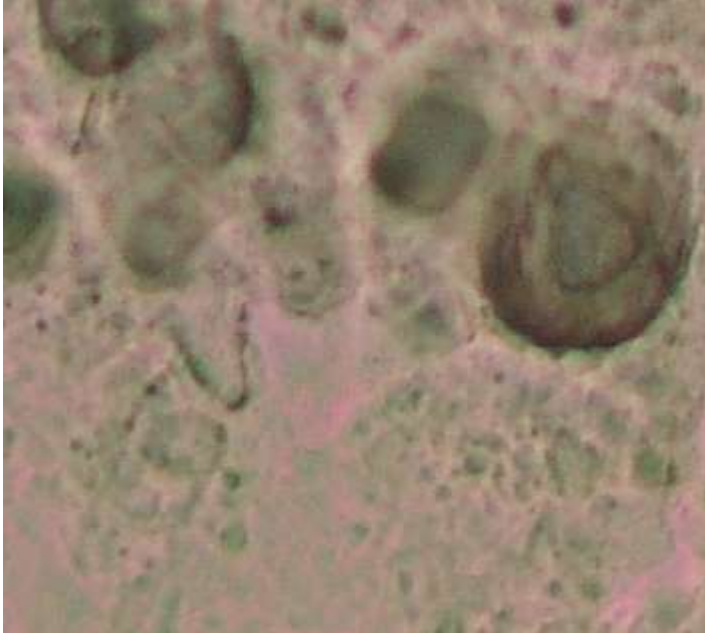
Optimum formülasyon olduğu düşünülen EYKR 5 nolu formülasyon'un mikroskopik görüntülerinin fotoğrafları çekildi. Bu aşamada görüldü ki; EYKR 5 nolu formülasyona farklı yüzdelerde eklenen PG ile formülasyon iyileştirilebilirdi. Bu görüntüler sonucunda; %10 PG içeren EYKR 5 nolu formülasyon optimum formülasyondur.



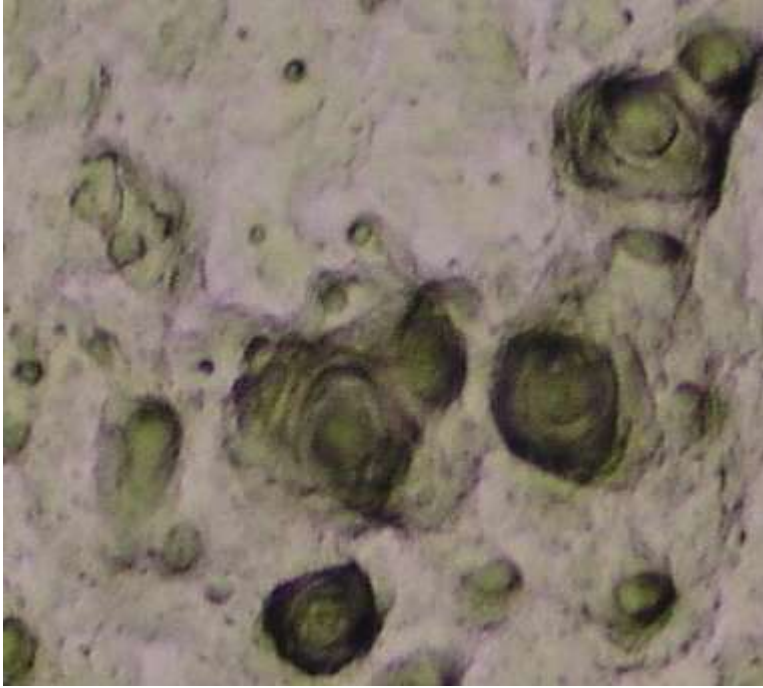
Şekil 1: EYKR 5 nolu formülasyonun mikroskopik görüntüleri (x20)



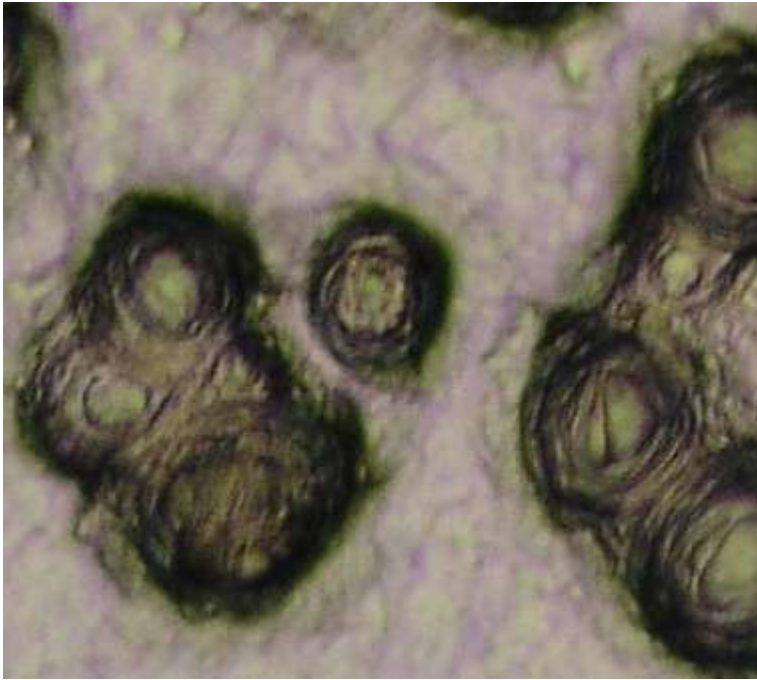
Şekil 2: EYKR 5 nolu formülasyonun mikroskobik görüntüleri (x40)



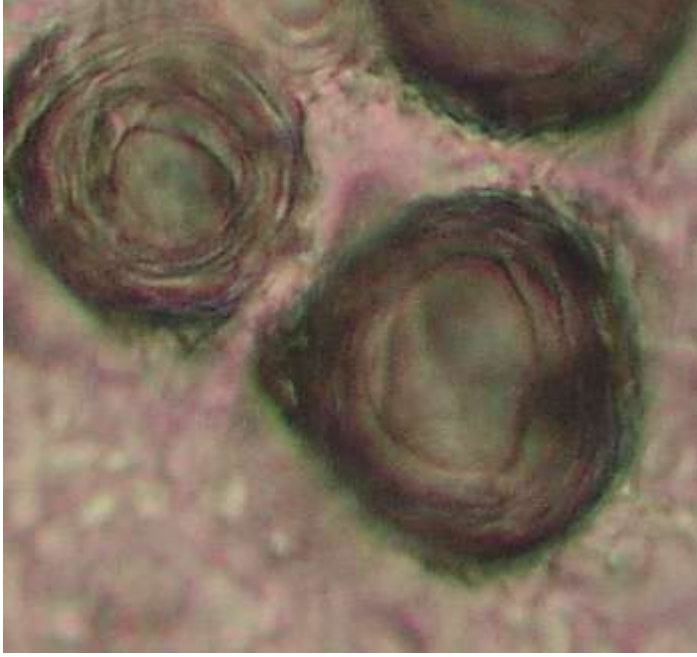
Şekil 3: %5 PG içeren EYPGKR 6 nolu formülasyonun mikroskobik görüntüleri (x20)



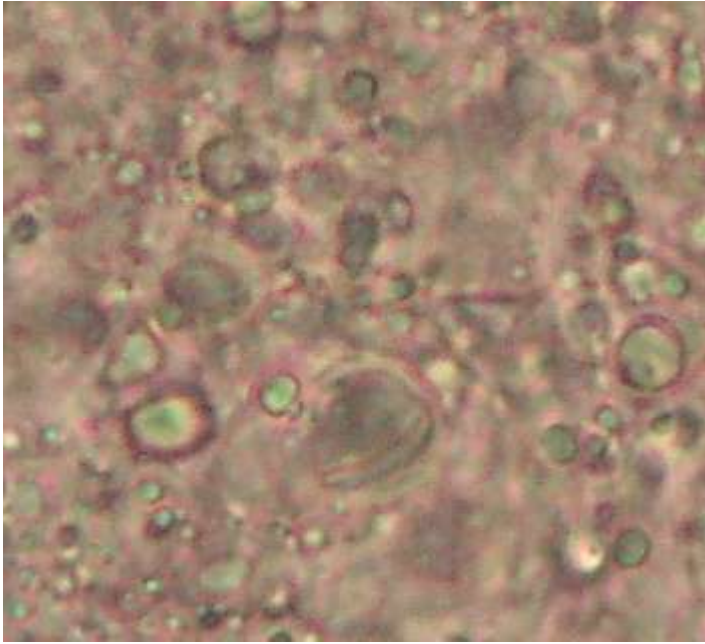
Şekil 4: %5 PG içeren EYPGKR 6 nolu formülasyonun mikroskopik görüntüleri (x40)



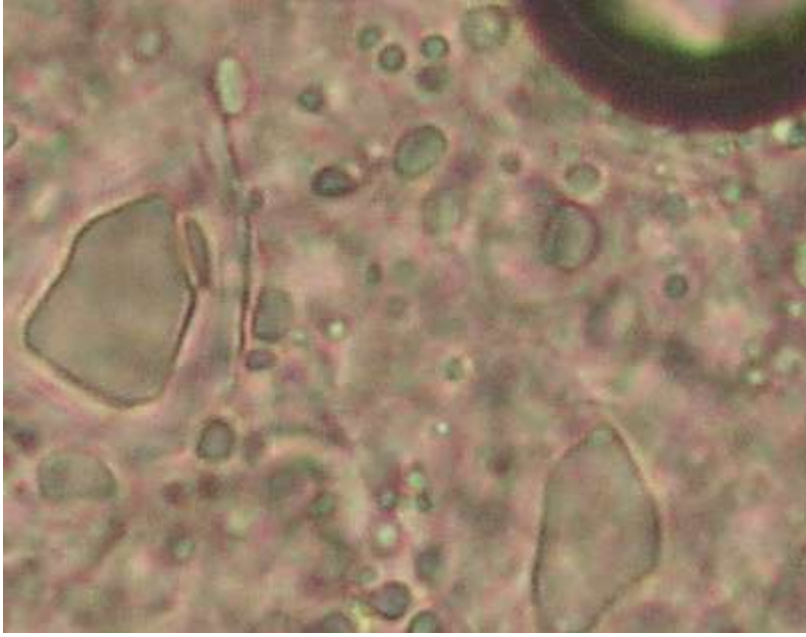
Şekil 5: %10 PG içeren EYPGKR 7 nolu formülasyonun mikroskopik görüntüleri (x20)



Şekil 6: %10 PG içeren EYPGKR 7 nolu formülasyonun mikroskopik görüntüleri (x40)

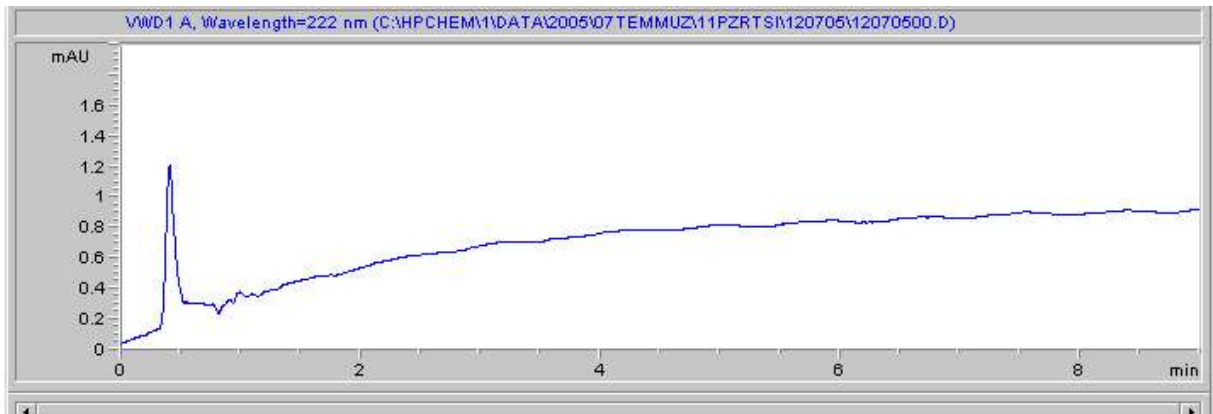


Şekil 7: %20 PG içeren EYPGKR 8 nolu formülasyonun mikroskopik görüntüleri (x20)

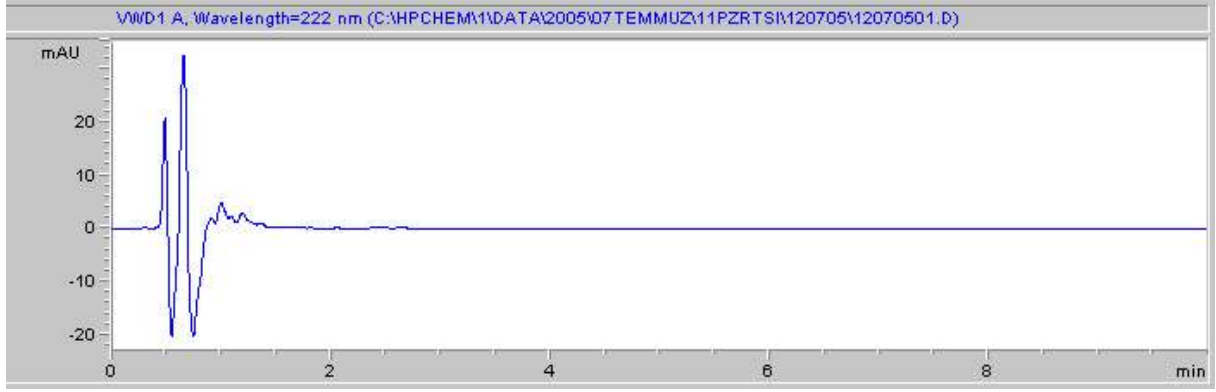


Şekil 8: %20 PG içeren EYPGKR 8 nolu formülasyonun mikroskobik görüntüleri (x40)

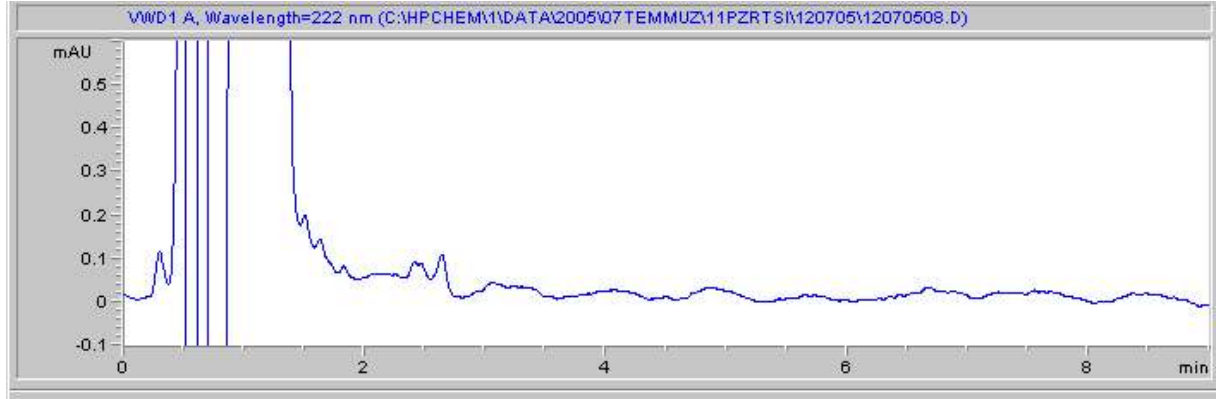
3.5 Terbinafin'in EYPGKR-09 ve EYEBKR10 kremlerinin naylon membrandan geçiş hızı çalışmaları bulguları



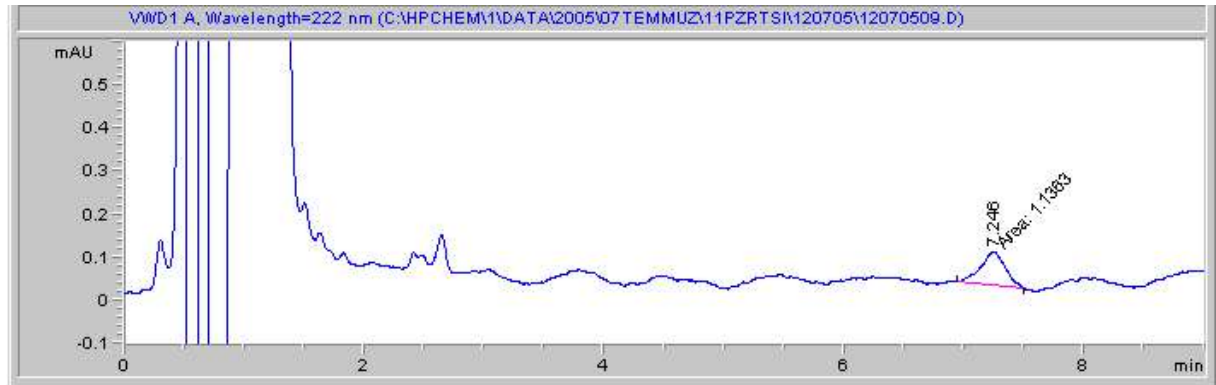
Grafik 7: Mobil faz



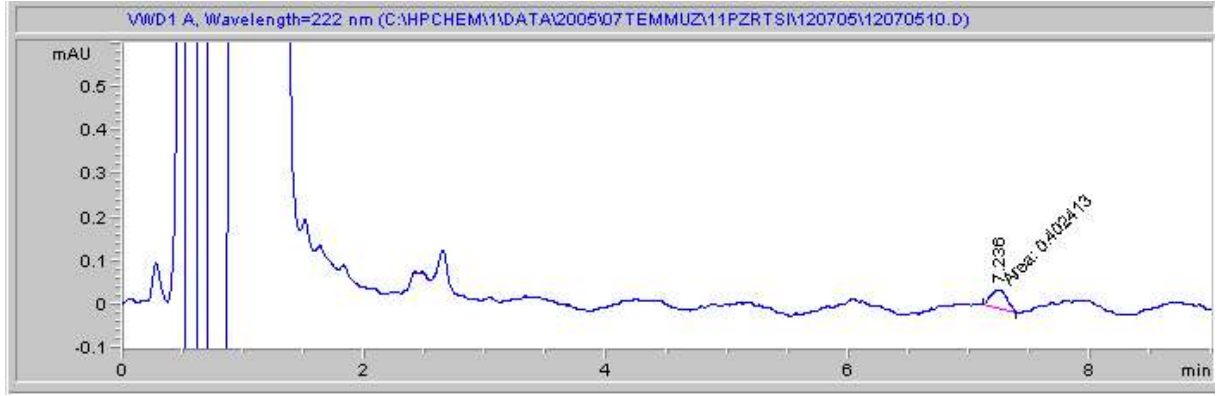
Grafik 8: %10'luk izopropil alkol+Serum fizyolojik



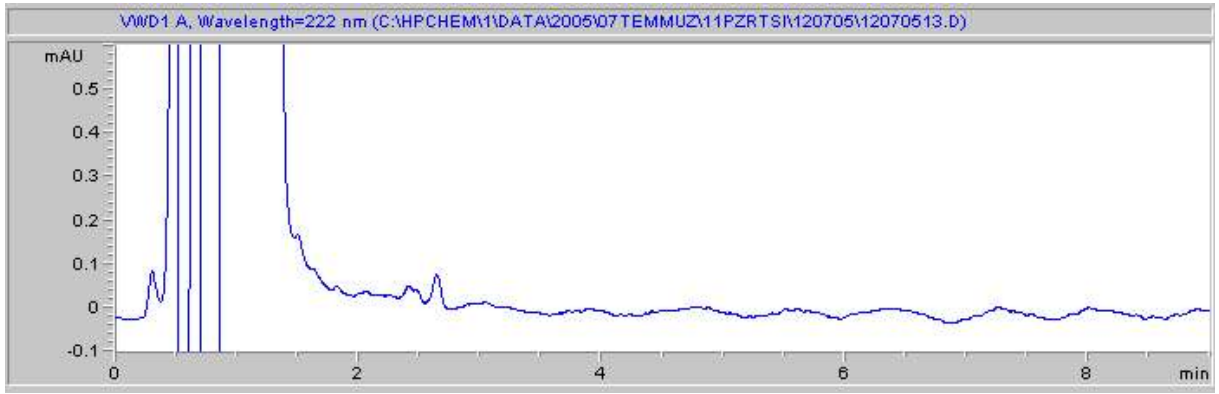
Grafik 9: GEÇİŞ ÇALIŞMASI BOS KREM (EYİPAKR 9) 30.DAKİKA



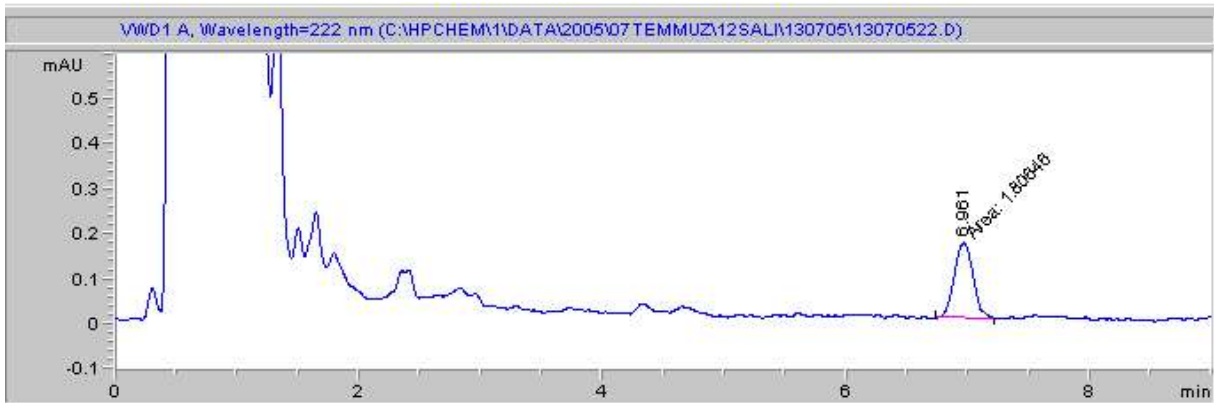
Grafik 10: GEÇİŞ ÇALIŞMASI EYİPAKR 9 1.PARALEL 30.DAKİKA



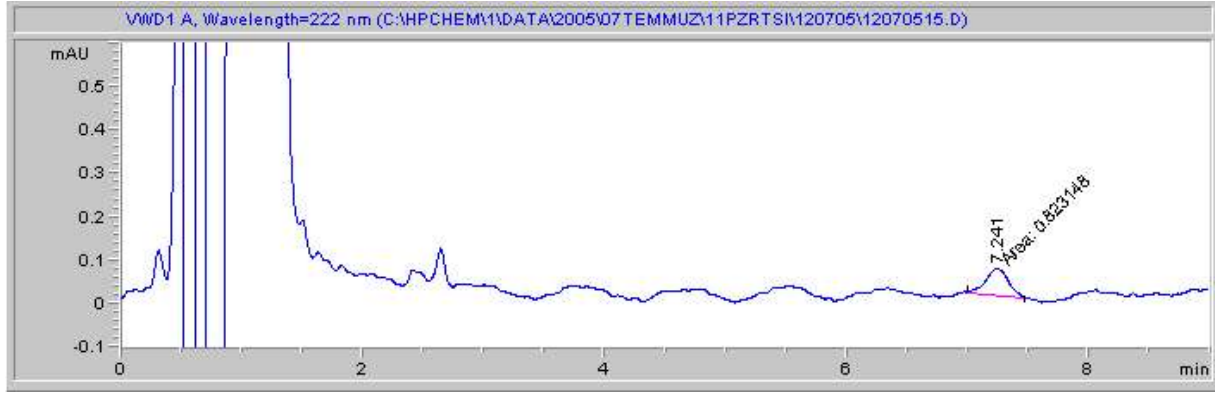
Grafik 11: GEÇİŞ ÇALIŞMASI EYİPAKR 9 2.PARALEL 30.DAKİKA



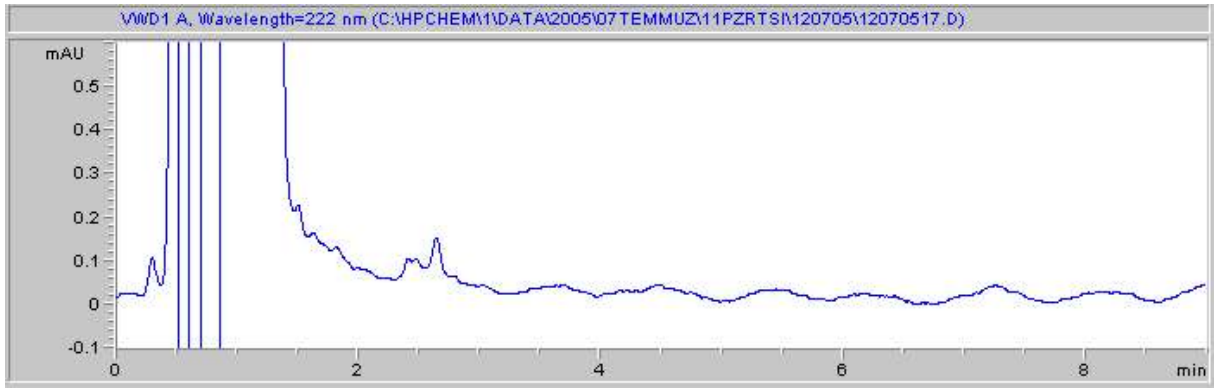
Grafik 12: GEÇİŞ ÇALIŞMASI BOS KREM 60.DAKİKA



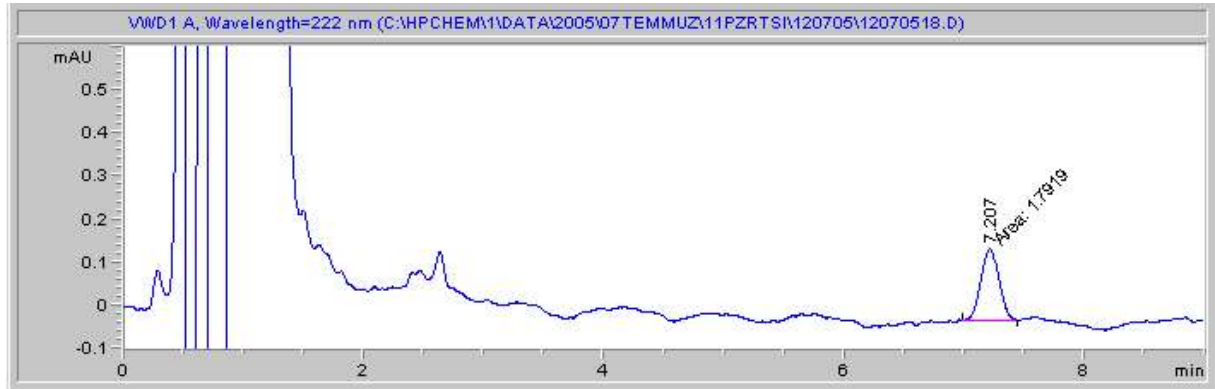
Grafik 13: GEÇİŞ ÇALIŞMASI EYİPAKR 9 1.PARALEL 60.DAKİKA



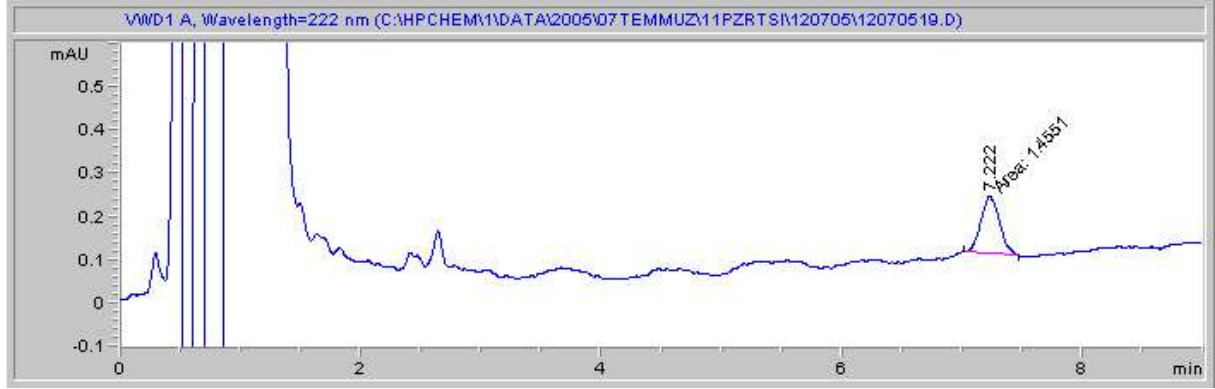
Grafik 14: GEÇİŞ ÇALIŞMASI EYİPAKR 9 2.PARALEL 60.DAKİKA



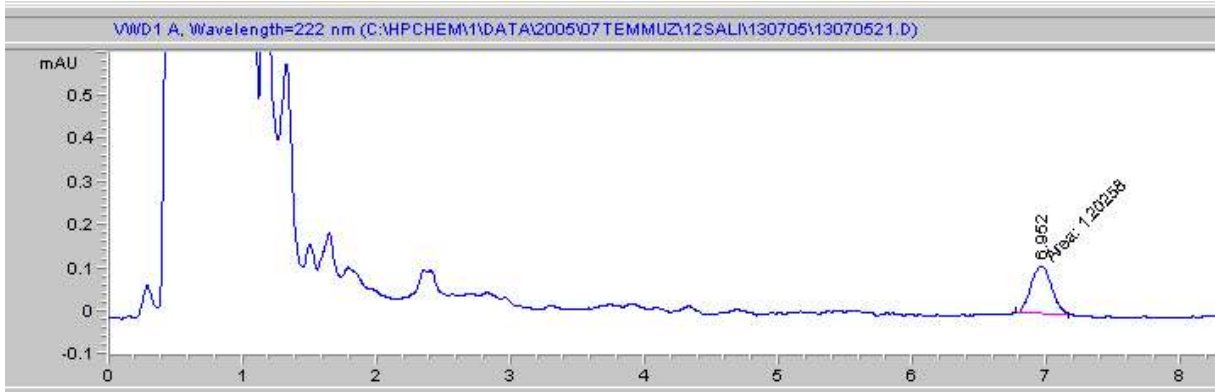
Grafik 15: GEÇİŞ ÇALIŞMASI BOS KREM 120.DAKİKA



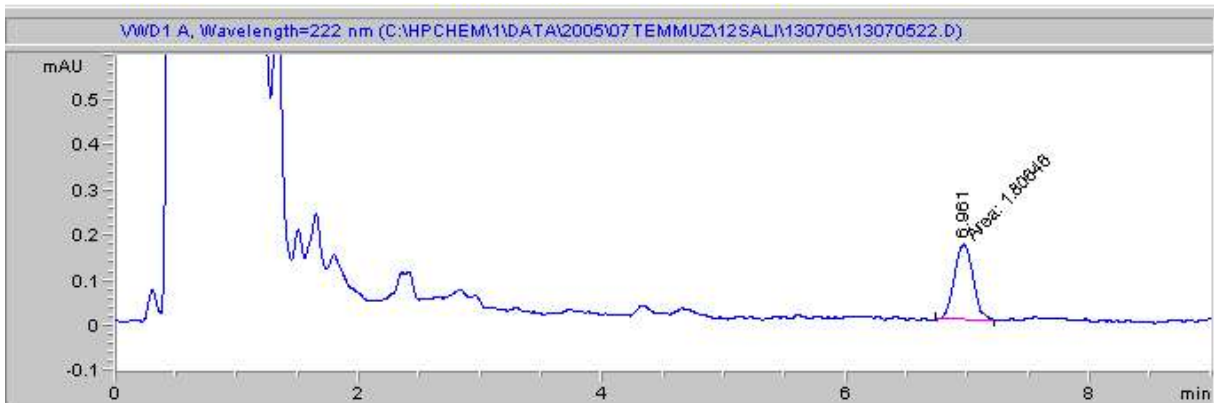
Grafik 16: GEÇİŞ ÇALIŞMASI EYİPAKR 9 1.PARALEL 120.DAKİKA



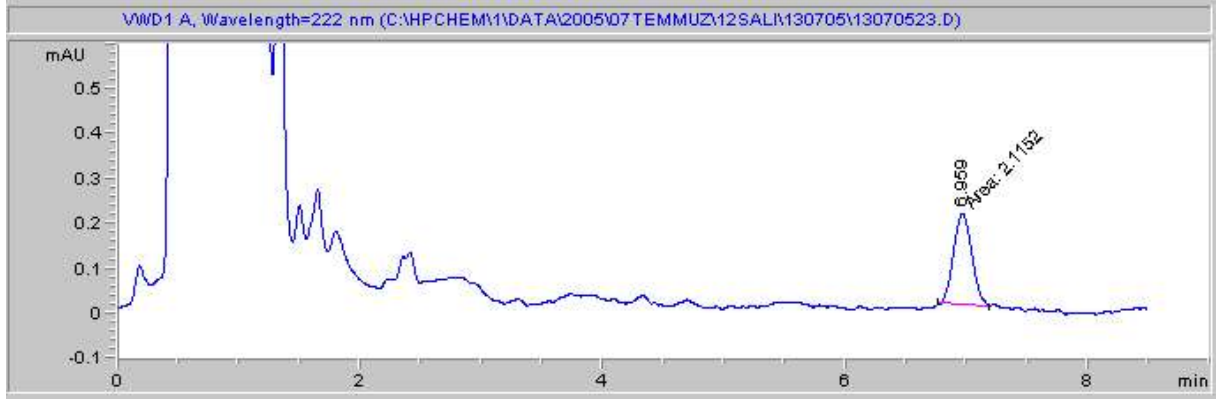
Grafik 17: GEÇİŞ ÇALIŞMASI EYİPAKR 9 2.PARALEL 120.DAKİKA



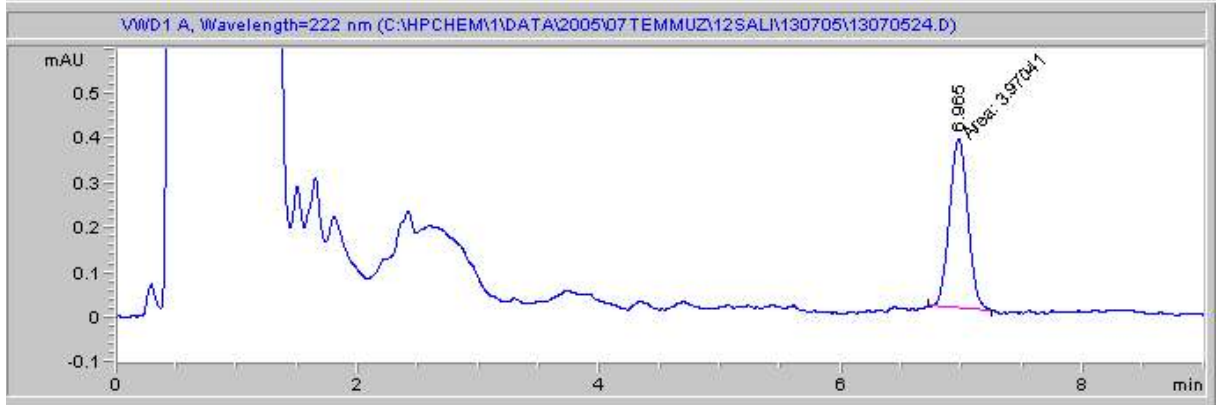
Grafik 18: GEÇİŞ ÇALIŞMASI EYEBKR 10 30.DAKİKA



Grafik 19: GEÇİŞ ÇALIŞMASI EYEBKR 10 60.DAKİKA



Grafik 20: GEÇİŞ ÇALIŞMASI EYEBKR 10 90.DAKİKA



Grafik 21: GEÇİŞ ÇALIŞMASI EYEBKR 10 120.DAKİKA

3.6 Terbinafinin stabilite bulguları

Sıcaklık		Alan	Derişim (mg/L)
+4° C	1.paralel	1793.40	202.12
	2.paralel	1763.80	198.77
25° C	1.paralel	1766.80	199.11
	2.paralel	1769.50	199.41

40° C	1.paralel	1758.30	198.14
	2.paralel	1778.20	200.39

Tablo 3: Terbinafin içerikli kremin 6.ay stabilite sonuçları

Sıcaklık		Alan	Derişim (mg/L)
+4° C	1.paralel	1806.42	201.91
	2.paralel	1811.90	202.53
25° C	1.paralel	1774.37	198.30
	2.paralel	1765.69	197.32
40° C	1.paralel	1874.42	209.58
	2.paralel	1856.75	207.59

Tablo 4: Terbinafin içerikli kremin 12.ay stabilite sonuçları

BÖLÜM IV

TARTIŞMA SONUÇ

Topikal preperatlarda formülasyonun yapısı kadar içeriği de önemlidir. Etken madde dışındaki diğer yardımcı maddeler, krem ve diğer harici preperatların yapısı deriden geçişini ve geçiş hızını etkiler.

Bu yardımcı maddeler etken maddeyi çözerek, ya da taşıyarak deriden penetrasyonu sağlarlar. Dolayısıyla penetrasyon etken maddenin molekül yapısına da bağlıdır. Etken maddenin molekül yapısı ne kadar büyükse çözünürlük o kadar güç olur. Çözünürlük az ise geçirgenlik de düşük olacaktır.

İyi çözünürlük, iyi penetrasyondan geçmektedir. Molekül çözücüsü ile birlikte formülasyon terkininde bulunmalıdır. Çözücü de formülasyon ile uyumlu olmalıdır.

Bu çalışmada terbinafinin çözücüsü olarak metanol ve izopropil alkol ile çözünürlük çalışmaları yapılmıştır. Her iki çözücü de serum fizyolojik ile 50:50 oranı ile karıştırılmıştır. 1mg terbinafin HCl karışımlar içinde ayrı çözülmüştür.

Hem fiziksel olarak hem de HPLC’de rastlanan piklere bakıldığında terbinafin; İPA:SF (50:50) çok daha iyi çözünmekte olup krem içerisinde uyumluluk göstermektedir. Böylece optimum krem şartlarına uymaktadır.

Metanol ile; hem formülasyonun yapısı bozulmaktadır, hem de HPLC’nin kolonunda hasara yol açılabilmektedir.

İyi çözünürlük sağlandıktan sonra maddenin bu çözücü ile krem formülasyonunda yer alması sağlanmalıdır.

Böyle bir formülasyon oluşturulduktan sonra (EYİPAKR- 9) bu formülasyonun in-vitro ortam yaratılarak geçiş hızına bakılmıştır. Bunun için naylon membran kullanılmıştır. İnsan derisine en yakın sistem budur. Selüloz membranın kullanılmadan önce terbinafinin çözücüsü içerisinde şişirilmesi gerekmektedir. Bu işlemde şişirme süresi çok önemlidir. Bu çalışma

sirasında 12 saatlik şişirme ile işlemden önce yarım saatlik şişirme çok daha sağlıklı sonuçlar vermektedir. Şişirme süresi uzadıkça membranın gözenekleri doymunluğa ulaşır tıkanabilir ve geçiş tam anlamıyla gerçekleşmez.

Çalışma sırasında ortam sıcaklığı da vücut sıcaklığı ile aynı olmalıdır. Çözünürlük ne kadar iyi olursa bu membrandan geçiş de o derece fazla olacaktır.

Geçiş işleminde membranın altına geçen krem miktarı, yani terbinafin konsantrasyonu belirli saatlerde örnek alınarak HPLC’de ölçüm yapılır ve bir grafik çıkarılır.

Bu grafikte görülecektir ki; çözünürlük iyi ise geçiş çok hızlıdır ve latans zaman kısadır.

Dolayısıyla bu tip kremler deriye yada tırnağa sürüldüğünde 0,5-1,5 saat içerisinde penetre olmuş ve hedef hücrelere ulaşmış olacaktır.

Bu tip kremler piyasaya girdiğinde mantar hastalığı olan kişilerin şikayetleri çok daha kısa sürede bitecektir.

ÖZET

Bu çalışmanın amacı; model etkin madde olarak seçtiğimiz antifungal bir ajan olan terbinafin'in biyoyararlanımı yüksek olacak bir krem formülasyonunu geliştirmektir.

Bu formülasyonun geliştirilebilmesi için, öncelikle terbinafin'in çözünürlüğünün artırılması gerekmiştir. Bunun için, bir çok çözücü ile çözünürlük testleri yapılmış ve optimum krem şartları oluşana dek çeşitli formülasyonlar oluşturulmuştur.

Optimum krem formülasyonu oluşturulduktan sonra, bu kremin selüloz membrandan geçiş denemeleri yapılmıştır. Naylon membranlar insan derisine en yakın özellik gösteren sistemlerdir. Geçiş hızı çalışmalarında bu membranlar çok büyük kolaylık sağlar.

Geçiş hızı çalışmalarının ardından kremin stabilite çalışmaları yapılmıştır. 6. ve 12. ayda etkin madde konsantrasyonu ölçülmüştür. Terbinafin'in stabilitesini koruduğu gözlenmiştir.

İn-vitro testler sonrasında yapılacak olan in-vivo testler ile de bu özelliği ispatlanacak olan bu formülasyonu eczane raflarında görmek mümkün olacaktır.

SUMMARY

The aim of this study is to improve a cream formulation of a cream which includes antifungal agent terbinafine as an active substance

To improve this formulation, first of all, we needed to increase solubility of terbinafine. For this aim; solubility tests are done by a lot of solvent.

After optimum cream is formed; penetration tests of this cream are done with cellulose membrane. Nylon membranes provide ease facilities for these penetration studies.

After penetration rate tests, stability tests of cream are done. The concentration of active substance is measured on 6. and 12. months. It was observed that, terbinafin protects its stability.

As to the results of these tests; It was seen that, Bioavailability and penetration of optimum cream with active substance, terbinafine, are higher than commercial cream in drug markets available.

This formulation which will be proved by using in-vivo tests after carrying out in-vitro tests may be seen on the shelves of pharmacies.

KAYNAKLAR

1. Albanese G, Marca S, Camera E, Picardo M – Scavenging effects of terbinafine on free radicals in vitro – *British Journal of Dermatology* 140 (1999) 640
2. Alberti Ingo, Kalia Yogeshvar N., Naik Aarti, Bonny Jean-Daniel, Guy Richard H. – Effect of ethanol and isopropyl myristate on the availability of topical terbinafine in human stratum corneum, in vivo – *International Journal of Pharmaceutics* 219 (2001) 11-19
3. Alberti Ingo, Kalia Yogeshvar N., Naik Aarti, Bonny Jean-Daniel, Guy Richard H. – In vivo assessment of enhanced topical delivery of terbinafine to human stratum corneum – *Journal of Controlled Release* 71 (2001) 319-327
4. Arranz A., de Betono Fdz, Moreda J.M., Cid A., Arranz J.F. – Voltammetric behaviour of the antimycotic terbinafine at the hanging mercury drop electrode – *Analytica Chimica Acta* 351 (1997) 97-103
5. Balfour JA, Faulds D. – Terbinafine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in superficial mycoses – *Drugs* 43(2) (1992) 259-84 – PubMed
6. Cardoso Simone Gonçalves, Schapoval Elfrides E.S. – High-performance liquid chromatographic assay of terbinafine hydrochloride in tablets and creams – *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 19 (1999) 809-812
7. Cardoso Simone Gonçalves, Schapoval Elfrides E.S. - Microbiological assay for terbinafine hydrochloride in tablets and creams – *International Journal of Pharmaceutics* 203 (2000) 109-113
8. Dr Mark Nelson – Toenail Fungus (Onychomycosis), Nail fungus infections-An underreported health problem – Dr Nelson Clinic

- 9.El-Saharty Yasser S., Hassan Nagiba Y., Metwally Fadia H. – Simultaneous determination acetamide by UV derivative spectrophotometry and spectrodensitometry – Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 28 (2002) 569-580
- 10.Evans EG – A comparison of terbinafine (Lamisil) 1% cream given for one week with clotrimazole (Canesten) 1%cream given for four weeks, in the treatment of tinea pedis – British Journal of Dermatol 130 Suppl 43 (1994) 12-4 – PubMed
- 11.Faergemann J., Hersle K., Nordin P. – Pityriasis versicolor: clinical experience with Lamisil cream and Lamisil DermGel. – Dermatology 194 Suppl1 (1997) 19-21 – PubMed
- 12.Gupta Aditya K., Ryder Jennifer E., Nicol Karyn, Cooper Elizabeth A. – Superficial fungal infections: An update on pityriasis versicolor, seborrheic dermatitis, tinea capitis, and onychomycosis – 2003 by Elsevier
- 13.Hill S, Thomas R, Smith SG, Finlay AY – An investigation of the pharmacokinetics of topical terbinafine (Lamisil) 1% cream – British Journal of Dermatol127(4) (1992) 396-400 - PubMed
- 14.Lee Sang-Bumm, Gerski Dayle H., Prausnitz Mark R., Edelhauser Henry F. – Drug delivery through the sclera: effects of thickness, hydration, and sustained release systems – Experimental Eye Research 78 (2004) 599-607
- 15.Moser Katrin, Kriwet Katrin, Naik Aarti, Kalia Yogeshvar N., Guy Richard H. – Passive skin penetration enhancement and its quantification in vitro – European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 52 (2001) 103-112
- 16.Nokhodchi A., Nazemiyeh H., Ghafourian T., Hassan-Zadeh D., Valizadeh H., Bahary L.A.S. – The effect of glycyrrhizin on the release rate and skin penetration of diclofenac sodium from topical formulations – IL Farmaco 57 (2002) 883-888
- 17.Noble Sara L., Stamm Pamela L. – Diagnosis and management of common tinea infections – American Family Physician 58 (1998)
- 18.Prof. Dr. Sevinç Akkaya, Doç.Dr. Fikret Kölemen, Doç. Dr. Tülin Akan, Doç. Dr. Nazif Kürkçüoğlu, Yard. Doç. Dr.Nilgün Atakan – Dermatoloji Ders Kitabı
- 19.Prof.Dr.Tamer Güneri - Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Ders Notları
- 20.Reeves John R.T., Maibach Howard I. – Resimli Klinik Dermatoloji, Bölgesel Yaklaşım
- 21.Savin Ronald , Eisan Drore , Fradin Mark S. , Lebowhl Mark – Clinical Trial, Tinea versicolor treated with terbinafine 1% solution – International Journal of Dermatology 38 (1999) 863-86)

- 22.Schmook Fritz P., Meingassner Josef G., Billich Andreas – Comparison of human skin or epidermis models with human and animal skin in in-vitro percutaneous absorption – International Journal of Pharmaceutics 215 (2001) 51-56
- 23.Terbinafine hydrochloride, in clinical trial against fluconazole-resistant candidiasis – The U.S. National Library of Medicine
- 24.Trottet L., Merly C., Mirza M., Hadgraft J., Davis A.F. – Effect of finite doses of propylene glycol on enhancement of in vitro percutaneous permeation of loperamide hydrochloride – International Journal of Pharmaceutics 274 (2004) 213-219

ÖZGEÇMİŞ

11 Kasım 1979 Aydın doğumluyum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Aydın'da tamamlayıp 1998 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ne başladım. 4 senelik örgün eğitim sonrası 2002 yılında mezun oldum. Hemen ardından Ege Üniversitesi İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma-Uygulama Merkezi Biyoanalitik Biriminde çalışmaya başladım. 2003 yılının Eylül ayında Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofarmasötik ve Farmokokinetik A.B.D'nda yüksek lisansa başladım. Yüksek lisansım süresince Ege Üniversitesi İlaç Geliştirme ve Farmakokinetik Araştırma-Uygulama Merkezi'nde çalışmaya devam ettim. Burada Ürün

Geliştirme ve Klinik Birimlerinde sorumlu eczacılık yaptım. 3 yıl bu merkezde çalıştıktan sonra 2005 yılının Kasım ayında Deva Holding Genel Merkezinde ürün müdürlüğü görevime başladım. Halen aynı yerde ve aynı pozisyonda çalışmaktayım.