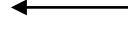


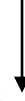
HAKAN NAZLI



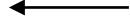
Adınızı soyadınızı giriniz

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



DOKTORA TEZİ



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

İSTANBUL-2021



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(DOKTORA TEZİ)

**ÇÖZÜNÜRLÜĞÜ DÜŞÜK ETKİN MADDEİN
KENDİLİĞİNDEN EMÜLSİFİYE OLAN YENİ
FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ VE İN
VİTRO KARAKTERİZASYON ÇALIŞMALARI**

HAKAN NAZLI

**DANIŞMAN
PROF. DR. YILDIZ ÖZSOY ERGİNER**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2021

İTHAF

Canım annem, babam, sevgili eşim Ceyda ve
biricik kızım Defne Deniz’e ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Hem İstanbul Üniversitesi hem de Trakya Üniversitesi'ndeki akademik hayatım boyunca her alanda ilgi, bilgi ve tecrübesini benden esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Yıldız ÖZSOY ERGİNER'e;

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca tecrübelerinden faydalandığım, tezimde değerli katkıları olan Dr. Öğr. Üyesi Burcu MESUT'a;

Sağlamış olduğu laboratuvar imkanlarından dolayı İstanbul Üniversitesi ve Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakülteleri Dekanlıkları'na;

Bulduğum süre boyunca “aileden biri gibi” hissettiğim İstanbul Üniversitesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma;

Bir üyesi olduğum Trakya Üniversitesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'ndaki hocalarıma ve arkadaşlarıma;

In vivo çalışmalarda hiçbir konuda yardımını esirgemeyen, tecrübeleri ile yoluma ışık tutan Prof. Dr. Alper OKYAR, Prof. Dr. Duri Şehvar ÜNAL, Dr. Öğr. Üyesi Dilek ÖZTÜRK CİVELEK ve Arş. Gör. Neşet NEŞETOĞLU'na;

Hücre kültürü çalışmalarındaki emeklerinden ötürü Arş. Gör. Dr. Özlem AKBAL DAĞISTAN'a;

Tez çalışmaları sırasında çeşitli analiz ve ölçümleri gerçekleştirmede sağladıkları desteklerinden dolayı Kübra KESMEZ, Önder SARP ve Farma-tek İlaç A.Ş.'ye, Hakan GEDİK ve Deva İlaç A.Ş.'ye;

Tezin yapılabilmesinde sağladıkları maddi destekten dolayı İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne;

Her koşulda beni destekleyen anneme, babama, eşimin değerli ailesine;

Bu zorlu süreç boyunca bana güç veren sevgili eşime ve biricik kızıma sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 29467 (TSA-2019-29467)

İÇİNDEKİLER

İTHAF.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xv
ÖZET	xvii
ABSTRACT.....	xviii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Aprepitant Hakkında Genel Bilgiler	4
2.1.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler	4
2.1.2. Farmakodinamik Özellikler	4
2.1.3. Farmakokinetik Özellikler	5
2.1.4. Nanoboyutlu Aprepitant.....	6
2.1.5. Aprepitantın Onaylı Formülasyonları	9
2.2. Bulantı ve Kusma.....	11
2.2.1. Mekanizma.....	11
2.2.1.1. GI Sistem Kaynaklı Yolak	12
2.2.1.2. Area Postrema Kaynaklı Yolak.....	12
2.2.1.3. Vestibüler Sistem Kaynaklı Yolak.....	13
2.2.1.4. Santral Sinir Sistemi Kaynaklı Yolak	13
2.2.2. Antiemetik Tedavinin Gelişimi.....	14
2.2.3. Kemoterapiye Bağlı Bulantı ve Kusma	14
2.2.4. Kemoterapiye Bağlı Bulantı ve Kusmanın Önlenmesi	16
2.2.5. Kemoterapiye Bağlı Bulantı ve Kusmada NK ₁ Reseptör Antagonistleri	18
2.3. Oral Yoldan Kullanılan Lipid Bazlı İlaç Sistemleri	19
2.4. Kendiliğinden Nanoemülsiyeye Olan İlaç Sistemleri.....	22
2.4.1. Tanım ve Terminoloji	22
2.4.2. Kendiliğinden Emülsifikasyon Olayı.....	23

2.4.3. İlaç Emiliminde Nano Boyutun Önemi	24
2.4.4. SNEDDS Tipi Formülasyonların Dezavantajları ve Avantajları	26
2.4.5. SNEDDS Formülasyonlarında Kullanılan Yardımcı Maddeler.....	28
2.4.5.1. SNEDDS Formülasyonlarında Kullanılan Yağlar	28
2.4.5.2. SNEDDS Formülasyonlarında Kullanılan Surfaktanlar	32
2.4.5.3. Kosurfaktan ve Kosolvanlar	35
2.4.5.4. Diğer Maddeler	35
2.4.6. SNEDDS Şeklinde Formüle Edilebilecek İlaçların Özellikleri	36
2.4.7. Katı SNEDDS	37
2.4.8. Aşırı Doygun SNEDDS	39
2.4.9. SNEDDS Tipi Formülasyonlarda Yapılan Kontroller	42
2.5. SNEDDS Formülasyonlarında Kullanılan Kimyasalların Temel Özellikleri	43
2.5.1.1. Transcutol® P	43
2.5.1.2. Imwitor® 988	43
2.5.1.3. Kolliphor® RH40.....	44
2.5.1.4. Kolliphor® CS20	44
2.5.1.5. Kolliphor® ELP	44
2.5.1.6. Kolliphor® HS15	45
2.5.1.7. Capryol™ 90	45
2.5.1.8. Soluplus®	46
3. GEREÇ VE YÖNTEM	47
3.1. Gereçler	47
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler Listesi	47
3.1.2. Kullanılan Cihazlar Listesi.....	50
3.1.3. Kullanılan Malzemeler Listesi	50
3.1.4. Kullanılan Bilgisayar Programları Listesi.....	51
3.2. Yöntemler	52
3.2.1. Aprepitant Miktar Tayini Yöntemi	52
3.2.2. HPLC Yönteminin Validasyonu	53
3.2.2.1. Özgünlük (Spesifiklik)	53
3.2.2.2. Doğrusallık (Lineerite).....	53
3.2.2.3. Kesinlik	54
3.2.2.4. Doğruluk	54

3.2.2.5. Stabilite Çalışması.....	55
3.2.2.6. Sistem Uygunluk Testi	55
3.2.2.7. Tespit (LOD) ve Miktar Tayin (LOQ) Limitleri.....	55
3.2.3. Aprepitantın Çözünürlük Çalışmaları	55
3.2.4. Yüzey Etkin Madde Seçimi Çalışmaları	57
3.2.5. Yardımcı Yüzey Etkin Madde ve Kosolvan Seçimi Çalışmaları.....	57
3.2.6. Üçgen Faz Diyagramı Çalışmaları	58
3.2.7. Boş Formülasyonlarda Damlacık Boyutu ve PDI Ölçümü	59
3.2.8. Formülasyonlara Etkin Madde Yüklenmesi	59
3.2.9. Aprepitant İçeren Formülasyonlarda Damlacık Boyutu ve PDI Ölçümü	60
3.2.10. Doygun Formülasyonlarda Etkin Madde Çökme Testi	60
3.2.11. Polimer Eklenmiş SNEDDS Formülasyonları.....	61
3.2.12. <i>İn vitro</i> Lipoliz Çalışması	62
3.2.13. Katı SNEDDS Formülasyonları.....	63
3.2.13.1. Katı SNEDDS Formülasyonlarının Hazırlanması	63
3.2.13.2. Katı SNEDDS Formülasyonlarının Akış Özellikleri	64
3.2.14. <i>İn vitro</i> Çözünme Hızı Çalışmaları	64
3.2.15. <i>İn vitro</i> Sitotoksikite Çalışması	65
3.2.16. CcsT 10-50-40 ve A-CcsT 10-50-40 Formülasyonları Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları	66
3.2.16.1. Seyreltme Sonrasında Oluşan Dağılımın Özelliği	66
3.2.16.2. Formülasyonların % Transmittans Ölçümleri	67
3.2.16.3. Termodinamik Stabilite Çalışmaları	67
3.2.16.4. Emülsifikasyon Etkinliği ve Süresi Tayini	67
3.2.16.5. Seyrelmeye Olan Dayanıklılık Tayini.....	68
3.2.16.6. Bulutlanma Noktası Ölçümü.....	68
3.2.16.7. pH Ölçümü	68
3.2.16.8. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FT-IR) Analizi	69
3.2.16.9. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi	69
3.2.16.10. X-Işını Toz Kırınımı (XRPD) Analizi	69
3.2.16.11. Uzun Dönem ve Hızlandırılmış Stabilite Çalışmaları.....	69
3.2.17. Toz Aprepitantın Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı	70
3.2.18. <i>İn vivo</i> Biyoyararlanım Çalışması.....	70

3.2.18.1. Plazmadan Aprepitantın Tayininde Kullanılan Biyoanalitik Metot.....	72
3.2.18.2. Farmakokinetik Parametrelerin Hesaplanması	73
4. BULGULAR.....	76
4.1. Aprepitant Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu.....	76
4.1.1. Özgünlük (Spesifiklik) Bulguları.....	76
4.1.2. Doğrusallık Bulguları.....	77
4.1.3. Kesinlik Bulguları	78
4.1.4. Doğruluk Bulguları	79
4.1.5. Stabilite Çalışması Bulguları	79
4.1.6. Sistem Uygunluk Testi Bulguları.....	80
4.1.7. Tespit (LOD) ve Miktar Tayin (LOQ) Limitleri Bulguları.....	81
4.2. Aprepitantın Yardımcı Maddelerdeki Çözünürlük Çalışmaları Bulguları.....	81
4.3. Yüzey Etkin Madde Seçimi Bulguları	86
4.4. Yardımcı Yüzey Etkin Madde ve Kosolvan Seçimi Bulguları	87
4.5. Formülasyon Bileşiminin Belirlenmesi	90
4.6. Üçgen Faz Diyagramı Çalışmalarının Bulguları.....	91
4.7. Boş Formülasyonlarda Damlacık Boyutu ve PDI Ölçümü Bulguları.....	100
4.8. Formülasyonlara Etkin Madde Yüklenmesi Bulguları	105
4.9. Aprepitant İçeren Formülasyonlarda Damlacık Boyutu ve PDI Bulguları.....	106
4.10. Doygun Formülasyonlarda Etkin Madde Çökme Testi Bulguları	109
4.11. Polimer Eklenmiş SNEDDS Formülasyonları Bulguları.....	114
4.12. <i>İn vitro</i> Lipoliz Çalışması Bulguları	119
4.13. Katı SNEDDS Formülasyonları.....	121
4.14. <i>İn vitro</i> Çözünme Hızı Çalışmaları Bulguları	126
4.15. <i>İn vitro</i> Sitotoksosite Çalışması Bulguları	131
4.16. CcsT 10-50-40 ve A-CcsT 10-50-40 Formülasyonları Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları Bulguları.....	133
4.16.1. Seyreltme Sonrasında Oluşan Dağılımın Özelliği	133
4.16.2. Formülasyonların % Transmittans Ölçümü Bulguları	136
4.16.3. Termodinamik Stabilite Çalışmaları Bulguları	136
4.16.4. Emülsifikasyon Etkinliği ve Süresi Tayini Bulguları	136
4.16.5. Seyrelmeye Olan Dayanıklılık Tayini Bulguları	137
4.16.6. Bulutlanma Noktası Ölçümü Bulguları.....	139

4.16.7. pH Ölçümü Bulguları.....	139
4.16.8. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FT-IR) Analizi Bulguları.....	139
4.16.9. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi Bulguları.....	143
4.16.10. X-Işını Toz Kırınımı (XRPD) Analizi Bulguları	144
4.16.11. Uzun Dönem ve Hızlandırılmış Stabilité Çalışmaları Bulguları	146
4.17. Toz Aprepitantın Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Bulguları.....	148
4.18. <i>İn vivo</i> Biyoyararlanım Çalışması Bulguları.....	149
5. TARTIŞMA	152
5.1. Aprepitant Miktar Tayini Yöntemi	152
5.2. Aprepitantın Yardımcı Maddelerdeki Çözünürlük Çalışmaları.....	154
5.3. Yüzey Etkin Madde Seçimi Çalışmaları.....	158
5.4. Yardımcı Yüzey Etkin Madde ve Kosolvan Seçimi Çalışmaları.....	159
5.5. Üçgen Faz Diyagramı Çalışmaları.....	159
5.6. Boş Formülasyonlarda Damlacık Boyutu ve PDI Ölçümü.....	161
5.7. Formülasyonlara Etkin Madde Yüklenmesi	163
5.8. Aprepitant İçeren Formülasyonlarda Damlacık Boyutu ve PDI Ölçümü	164
5.9. Doygun Formülasyonlarda Etkin Madde Çökme Testi	165
5.10. Polimer Eklenmiş SNEDDS Formülasyonları.....	167
5.11. <i>İn vitro</i> Lipoliz Çalışması	169
5.12. Katı SNEDDS Formülasyonları.....	171
5.13. <i>İn vitro</i> Çözünme Hızı Çalışmaları	174
5.14. <i>İn vitro</i> Sitotoksité Çalışması	179
5.15. İdeal Formülasyon Seçimi	180
5.16. CcsT 10-50-40 ve A-CcsT 10-50-40 Formülasyonları Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları.....	183
5.17. Toz Aprepitantın Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı.....	189
5.18. <i>İn vivo</i> Biyoyararlanım Çalışması.....	189
KAYNAKLAR	195
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	215

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: FDA tarafından onaylı aprepitant formülasyonları	10
Tablo 2-2: Mide bulantısı ve kusmayla ilişkili alanlar ve bulunan reseptör tipleri	14
Tablo 2-3: Kılavuzlar tarafından önerilen antiemetik tedavi protokolleri	17
Tablo 2-4: Piyasada bulunan bazı lipid bazlı formülasyonlar	20
Tablo 2-5: Lipid bazlı ilaç sistemlerinin sınıflandırılmaları	21
Tablo 2-6: BCS sınıfları.....	24
Tablo 2-7: SNEDDS tipi formülasyonların dezavantajları	26
Tablo 2-8: SNEDDS tipi formülasyonların avantajları	27
Tablo 2-9: SNEDDS formülasyonlarında kullanılabilecek yağlar	30
Tablo 2-10: SNEDDS formülasyonlarında kullanılabilecek surfaktanlar	34
Tablo 2-11: SNEDDS formülasyonlarında kullanılabilecek kosurfaktanlar	36
Tablo 2-12: Taşıyıcı olarak kullanılabilen yardımcı maddeler.....	38
Tablo 3-1: HPLC yönteminin özellikleri	52
Tablo 3-2: Standart doğru hazırlanmasında kullanılan çözeltiler	54
Tablo 3-3: USP çözünürlük tanımlamaları	56
Tablo 3-4: Tampon çözeltilerin hazırlanması	56
Tablo 3-5: Boyut ve PDI ölçümü yapılacak formülasyonlar ve kodları	59
Tablo 3-6: <i>İn vitro</i> lipoliz ortamı	62
Tablo 3-7: Emülsifikasyon etkinliği değerlendirme sistemi	68
Tablo 3-8: Deney hayvanlarına uygulanan formülasyonların içeriği	71
Tablo 4-1: Gün içi ve günler arası kesinlik bulguları	78
Tablo 4-2: Doğruluk bulguları	79
Tablo 4-3: Stabilite bulguları	80
Tablo 4-4: Sistem uygunluk testi bulguları.....	80

Tablo 4-5: Imwitor® 988 için yüzey etkin madde seçimi	86
Tablo 4-6: Capryol™ 90 için yüzey etkin madde seçimi	87
Tablo 4-7: Imwitor® 988 için yardımcı yüzey etkin madde ve kosolvan seçimi.....	88
Tablo 4-8: Capryol™ 90 için yardımcı yüzey etkin madde ve kosolvan seçimi.....	89
Tablo 4-9: Üçgen faz diyagramlarının şeffaf alan bulguları (br^2)	91
Tablo 4-10: Boş IcsT formülasyonlarında damlacık boyutu ve PDI ölçümleri.....	101
Tablo 4-11: Boş IrlhT formülasyonlarında damlacık boyutu ve PDI ölçümleri.....	102
Tablo 4-12: Boş CcsT formülasyonlarında damlacık boyutu ve PDI ölçümleri	103
Tablo 4-13: Aprepitantlı IrlhT formülasyonlarında damlacık boyutu ve PDI bulguları	107
Tablo 4-14: Aprepitantlı CcsT formülasyonlarında damlacık boyutu ve PDI bulguları	109
Tablo 4-15: SNEDDS bileşiminin EAA'ya olan etkisi	119
Tablo 4-16: Formülasyon yüklenmemiş adsorbanların akış özellikleri.....	121
Tablo 4-17: Formülasyon yüklü adsorbanların akış özellikleri	122
Tablo 4-18: 15 ve 60 dakika sonunda ortalama çözünmüş aprepitant yüzdeleri.....	131
Tablo 4-19: Çeşitli seyreltme ve farklı ortamlarda ölçülmüş % transmitans değerleri	136
Tablo 4-20: Termodinamik stabilite çalışmaları sonucundaki görsel değişimler.....	136
Tablo 4-21: Çeşitli seyreltme ve farklı ortamlarda ölçülmüş parametreler	137
Tablo 4-22: Ortalama plazma konsantrasyonu verileri.....	150
Tablo 4-23: Hesaplanan bazı önemli farmakokinetik parametreler.....	151

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Aprepitantın kimyasal yapısı.....	4
Şekil 2-2: Aprepitantın mikronizasyon aşamaları	8
Şekil 2-3: Bulantı ve kusmada rol oynayan yollar	13
Şekil 2-4: Yıllara göre FDA tarafından onaylanan NK ₁ reseptör antagonistleri	18
Şekil 2-5: Kendiliğinden emülsifikasyon olayı	24
Şekil 2-6: SNEDDS formülasyonlarında biyoyararlanımı artıran ana faktörler.....	28
Şekil 2-7: Aşırı doygun formülasyonlarda yay ve paraşüt yaklaşımı	40
Şekil 2-8: SNEDDS tipi formülasyonların karakterizasyon çalışmaları	42
Şekil 2-9: Transcutol® P kimyasal yapısı	43
Şekil 2-10: Imwitor® 988 kimyasal yapısı.....	43
Şekil 2-11: Kolliphor® RH40 kimyasal yapısı.....	44
Şekil 2-12: Kolliphor® CS20 kimyasal yapısı	44
Şekil 2-13: Kolliphor® ELP kimyasal yapısı	45
Şekil 2-14: Kolliphor® HS15 kimyasal yapısı	45
Şekil 2-15: Capryol™ 90 kimyasal yapısı	46
Şekil 2-16: Soluplus® kimyasal yapısı.....	46
Şekil 3-1: Üçgen faz diyagramlarının hazırlanması (su ile titrasyon yöntemi)	58
Şekil 3-2: C _{maks} sonrası bölgede EAA hesabında kullanılan formüller	74
Şekil 4-1: Aprepitant UV spektrumu ve örnek bir kromatogram	76
Şekil 4-2: Aprepitant standart doğrusu ve ona ait bilgiler	77
Şekil 4-3: Aprepitantın tamponlarda ve farklı kosolvanlardaki çözünürlüğü.....	81
Şekil 4-4: Aprepitantın yüzey etkin maddelerdeki çözünürlüğü	82
Şekil 4-5: Aprepitantın yağlı maddelerdeki çözünürlüğü	82
Şekil 4-6: Aprepitantın %1'lik yüzey etkin madde çözeltilerindeki çözünürlüğü.....	83

Şekil 4-7: Kimyasal yapılarına göre yağlı maddelerin sınıflandırılması	85
Şekil 4-8: Formülasyon geliştirmede kullanılan yardımcı maddeler	90
Şekil 4-9: Imwitor® 988-Kolliphor® CS20-Transcutol® P üçgen faz diyagramları	92
Şekil 4-10: Imwitor® 988-Kolliphor® RH40-Transcutol® P üçgen faz diyagramları	93
Şekil 4-11: Imwitor® 988-Kolliphor® ELP-Transcutol® P üçgen faz diyagramları	94
Şekil 4-12: Imwitor® 988-Kolliphor® HS15-Transcutol® P üçgen faz diyagramları	95
Şekil 4-13: Capryol™ 90-Kolliphor® RH40-Transcutol® P üçgen faz diyagramları	96
Şekil 4-14: Capryol™ 90-Kolliphor® ELP-Transcutol® P üçgen faz diyagramları	97
Şekil 4-15: Capryol™ 90-Kolliphor® HS15-Transcutol® P üçgen faz diyagramları	98
Şekil 4-16: Capryol™ 90-Kolliphor® CS20-Transcutol® P üçgen faz diyagramları	99
Şekil 4-17: Uygun partikül boyutu ve dağılımına sahip etkin madde içermeyen formülasyonların bileşimleri	104
Şekil 4-18: Aprepitantın IrhT formülasyonlarındaki çözünürlüğü	105
Şekil 4-19: Aprepitantın CcsT formülasyonlarındaki çözünürlüğü	106
Şekil 4-20: Formülasyonların çözünürlük ve çökme testi sonrası EAA verileri	110
Şekil 4-21: 1/100 seyreltilmiş IrhT formülasyonlarında çözeltide kalan aprepitant	111
Şekil 4-22: 1/100 seyreltilmiş CcsT formülasyonlarında çözeltide kalan aprepitant ...	113
Şekil 4-23: 30mg yüklü IrhT 30-10-60 formülasyonlarına polimerlerin etkisi	114
Şekil 4-24: 30mg yüklü A-IrhT 20-60-20 formülasyonlarına polimerlerin etkisi	115
Şekil 4-25: 40mg yüklü CcsT 10-50-40 formülasyonlarına polimerlerin etkisi	116
Şekil 4-26: Soluplus® içeren IrhT 30-10-60 formülasyonlarında aprepitant miktarının çökelmeye etkisi	117
Şekil 4-27: Soluplus® içeren A-IrhT 20-60-20 formülasyonlarında aprepitant miktarının çökelmeye etkisi	118
Şekil 4-28: SNEDDS içermeyen ortamda kalan çözünmüş aprepitant miktarı	118
Şekil 4-29: Lipoliz ortamında çözünmüş olarak kalan aprepitant konsantrasyonu	120

Şekil 4-30: Lipoliz testi süresince harcanan toplam NaOH miktarı	120
Şekil 4-31: Farklı yöntemlerle katı forma çevrilen SNEDDS formülasyonları.....	122
Şekil 4-32: Neusilin® US2 (x100 büyütme)	123
Şekil 4-33: Katı A-IrhT 20-60-20 (x100 büyütme)	123
Şekil 4-34: Neusilin® US2 (x1000 büyütme)	124
Şekil 4-35: Katı A-IrhT 20-60-20 (x1000 büyütme)	124
Şekil 4-36: Neusilin® US2 (x5000 büyütme)	125
Şekil 4-37: Katı A-IrhT 20-60-20 (x5000 büyütme)	125
Şekil 4-38: Farklı adsorbanların aprepitant salımına etkisi	126
Şekil 4-39: %2,2 SLS içeren ortamda gerçekleştirilen çözünme hızı testi.....	127
Şekil 4-40: pH 1,2 tampon ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı testi.....	128
Şekil 4-41: pH 4,5 tampon ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı testi.....	129
Şekil 4-42: pH 6,8 tampon ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı testi.....	130
Şekil 4-43: Farklı konsantrasyonlarda ortalama % canlılık değerleri.....	131
Şekil 4-44: Aprepitantın Caco-2 hücre hattındaki IC ₅₀ değeri.....	132
Şekil 4-45: Farklı formülasyonların Caco-2 hücre hattı üzerindeki sitotoksitesi	133
Şekil 4-46: CcsT 10-50-40 damlacık boyutu ve dağılımı (önceden karıştırılınca).....	134
Şekil 4-47: CcsT 10-50-40 damlacık boyutu ve dağılımı (Capryol™ 90 sonradan eklenince).....	134
Şekil 4-48: A-CcsT 10-50-40 damlacık boyutu ve dağılımı (boş)	135
Şekil 4-49: A-CcsT 10-50-40 damlacık boyutu ve dağılımı (aprepitant yüklü).....	135
Şekil 4-50: A-CcsT 10-50-40 damlacık boyutu ve dağılımı (1/100 distile suda).....	138
Şekil 4-51: A-CcsT 10-50-40 zeta potansiyel (1/100 distile suda).....	138
Şekil 4-52: Aprepitantın FT-IR spektrumu.....	140
Şekil 4-53: A-CcsT formülasyonunda kullanılan yardımcı maddelerin FT-IR spektrumları	141

Şekil 4-54: Formülasyonların FT-IR spektrumları	142
Şekil 4-55: Aprepitant, boş ve aprepitant yüklü formülasyonların DSC termogramları	143
Şekil 4-56: Aprepitant, boş ve aprepitant yüklü formülasyonların XRPD difraktogramları	145
Şekil 4-57: 25 ⁰ C ve %60 rölatif nemde tutulan formülasyonların çözünme hızı testleri	146
Şekil 4-58: 40 ⁰ C ve %75 rölatif nemde tutulan formülasyonların çözünme hızı testleri	146
Şekil 4-59: Stabilite koşullarında elde edilen boyut ve PDI değişimi	147
Şekil 4-60: Toz aprepitantın partikül boyutu ve dağılımı	148
Şekil 4-61: Zamana karşı aprepitant kan plazma konsantrasyonu eğrileri	150

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

pH: Çözeltinin hidrojen gücü (power of Hydrogen)

pKa: İlacın %50 iyonize olduğu pH

log D: Partisyon katsayısı

BCS: Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi

NK: Nörokinin

5-HT: 5-hidroksitriptamin (serotonin)

EAA: Eğri altı alan

C_{maks}: Maksimum plazma konsantrasyonlarına

T_{maks}: Maksimum plazma konsantrasyonlarına ulaşma süresi

CYP: Sitokrom P450

FDA: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

EMA: Avrupa İlaç Ajansı

TİTCK: Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu

GI: Gastrointestinal

CTZ: Kemoreseptör tetikleme bölgesi (Chemoreceptor trigger zone)

ACh: Asetilkolin

I.V.: İntravenöz

P.O.: Oral

PEG: Polietilen glikol

PG: Propilen glikol

SEDDS: Kendiliğinden emülsifiye ilaç sistemleri

SMEDDS: Kendiliğinden mikroemülsifiye ilaç sistemleri

SNEDDS: Kendiliğinden nanoemülsifiye ilaç sistemleri

HLB: Hidrofilik lipofilik denge

K-SNEDDS: Katı SNEDDS

A-SNEDDS: Aşırı doymuş SNEDDS

TEM: Geçirimli elektron mikroskobu

SEM: Taramalı elektron mikroskobu

FT-IR: Fourier Transform Infrared Spektroskopisi

DSC: Diferansiyel taramalı kalorimetre

XRPD: X-ışını toz kırınımı

HPLC: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

ICH: Uluslararası Harmonizasyon Konseyi

LOD: Tespit limiti

LOQ: Miktar tayin limiti

GA: Güven aralığı

% BSS: % Bağlı standart sapma

USP: Amerikan Farmakopesi

EP: Avrupa Farmakopesi

ASTM: Uluslararası Amerikan Test ve Materyalleri Topluluğu

PDI: Polidispersite indeksi

DLS: Dinamik ışık saçılımı

4-BFBA: 4-bromofenil boronik asit

ATCC: Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu

EMEM: Eagle's Minimum Essential Medium

FBS: Fetal bovine serum

MTT: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür

IC₅₀: Hücrelerinin yarısının canlılığını kaybetmesine neden olan konsantrasyon

ÖZET

Nazlı, H. (2021). Çözünürlüğü Düşük Etkin Maddenin Kendiliğinden Emülsifiye Olan Yeni Formülasyonlarının Geliştirilmesi ve *İn Vitro* Karakterizasyon Çalışmaları. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Yeni geliştirilen ilaç adaylarının çoğu, suda düşük çözünürlüğe sahip olmaları nedeniyle düşük oral biyoyararlanıma sahiptir. Literatürde düşük biyoyararlanımın üstesinden gelmek için birçok teknik bulunmaktadır. Kendiliğinden nanoemülsifiye olan ilaç sistemleri (SNEDDS), düşük çözünürlüğe sahip ilaçların biyoyararlanımını artırmak için kullanılan başarılı bir tekniktir. Bu tez çalışmasında, farklı bir etki mekanizmasına sahip NK₁ reseptör antagonistlerinin ilk üyesi olan aprepitant, çözünürlüğü düşük model ilaç olarak seçilmiştir. Aprepitant önemli tedavi kılavuzlarında kullanımı çoğu zaman birinci sıra ilaç olarak önerilen, klinikte vazgeçilmez bir ilaçtır. Tez çalışması kapsamında aprepitantın kendiliğinden nanoemülsifiye olan formülasyonları hazırlanarak bu önemli ilacın oral biyoyararlanımının artırılması amaçlanmıştır.

İlk olarak SNEDDS hazırlanmasında kullanılabilecek yardımcı maddeler seçilmiştir. Seçim yardımcı maddelerde aprepitantın çözünürlüğü ve yardımcı maddelerin emülsifikasyon etkinlikleri göz önüne alınarak gerçekleştirilmiştir. Seçilen yardımcı maddelerin formülasyondaki uygun oranlarının bulunabilmesi için üçgen faz diyagramları hazırlanmıştır. İçeriklerindeki yardımcı maddelere göre sıvı, katı veya yarı katı halde tip III veya tip IV formülasyonlar elde edilmiştir. Formülasyonlara yüklenebilen aprepitant miktarının artırılabilmesi amacıyla aşırı doygun formülasyonlar hazırlanmış, aprepitantın çökme süresinin uzatılabilmesi amacıyla ise, çeşitli polimerler formülasyona dahil edilmiştir. Son olarak, sıvı formülasyonlar adsorban maddeler kullanılarak, yarı katı formülasyonlar ise eriyik haldeyken sert jelatin kapsüllere doldurularak katı dozaj formuna dönüştürülmüştür.

Hazırlanmış formüllerde damlacık boyutu ve dağılımı analizi, zeta potansiyel ölçümü, lipoliz testi, çözünme hızı testi, sitotoksitesite çalışması gerçekleştirilmiş olup en uygun formülasyon saptanmıştır. Bu formülasyonda FT-IR, DSC, XRPD analizleri ve stabilite çalışmaları gibi ek çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Son olarak sıçanlarda *in vivo* biyoyararlanım çalışması yapılmış ve geliştirilen formülasyonun biyoyararlanımının aprepitant süspansiyonunun 2,3 katı olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Lipid Bazlı Sistemler, Kendiliğinden Nanoemülsifiye Olabilen Sistemler (SNEDDS), Katı SNEDDS, Kemoterapiye Bağlı Bulantı ve Kusma, Aprepitant

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 29467 (TSA-2019-29467)

ABSTRACT

Nazlı, H. (2021). Development and In Vitro Characterization of Novel Self-Emulsifying Formulations of Low-Solubility Active Pharmaceutical Ingredient. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmaceutical Technology. Doctoral Thesis. İstanbul.

Most of the newly developed drug candidates have low solubility in water, which causes low oral bioavailability. There are many techniques in the literature to overcome poor bioavailability. Self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) are a successful technique to improve the bioavailability of low-soluble drugs. Aprepitant, a drug that is the first member of the NK₁ receptor antagonists with a different mechanism of action, was selected as a model drug with low solubility. It is an indispensable drug that is recommended as a first-line drug by important treatment guidelines. It was aimed to increase the oral bioavailability of aprepitant by preparing it as a SNEDDS formulation.

Firstly, excipients were selected. The selection was made by considering the solubility of aprepitant and emulsification efficiency of the excipients. Pseudo-ternary phase diagrams were prepared to find the appropriate ratios of the selected excipients in the formulation. Type-III or Type-IV formulations were prepared as liquid, solid or semi-solid states. Supersaturated-SNEDDS were prepared to increase the amount of aprepitant that can be loaded into the formulations. Various polymers were added to supersaturated-SNEDDS to extend the precipitation time of the aprepitant. Liquid formulations were converted into powders by using porous adsorbents. Semi-solid formulations were filled into hard gelatin capsules while they were molten.

Droplet size and zeta potential measurement, lipolysis test, dissolution test, cytotoxicity studies were performed on the prepared formulations. After the optimized formulation was determined, additional characterization studies such as FT-IR, DSC, XRPD analysis and stability tests were performed. Finally, *in vivo* bioavailability study was carried out in rats. It was found that the bioavailability of the optimized formulation was 2.3 fold of the aprepitant suspension.

Key Words: Lipid Based Drug Delivery Systems, Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems (SNEDDS), Solid SNEDDS, Chemotherapy Induced Nausea and Vomiting, Aprepitant

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: 29467 (TSA-2019-29467)

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde ilaç uygulanmasının en basit, hızlı ve tercih edilen şekli oral uygulamadır. Oral dozaj formlarının çok sayıda üstünlüğü bulunmakla birlikte etkin maddelerin gastrointestinal sistem sıvılarındaki çözünürlüğünün düşük olması, oral uygulamada en sık karşılaşılan sorunlardandır (1). Sentez kimyasında ve yüksek hızlı ilaç tarama teknolojilerinde görülen gelişmeler sayesinde yüksek farmakolojik aktiviteye sahip olan çok sayıda molekül geliştirilmektedir. Ancak bu moleküllerin çoğu lipofilik karaktere bağlı olarak düşük su çözünürlüğüne sahiptir. Düşük çözünürlük sadece gastrointestinal sistemden ilacın emilimini ve biyoyararlanımını düşürmekle kalmaz, bazı durumlarda ilacın klinikteki kullanımını kısıtlayabilir (2, 3). Bu ilaçların uygun şekilde formüle edilmeleri zorlayıcı olmakla birlikte, ilacın gastrointestinal kanalda çözünme hızını artırabilmek için literatürde birçok teknik bulunmaktadır.

Kendiliğinden nanoemülsifiye olan ilaç sistemleri (SNEDDS) düşük çözünürlüğe sahip ilaçların çözünme hızı ve biyoyararlanımlarını artırmada kullanılan başarılı bir teknik olarak dikkat çekmektedir. SNEDDS, hafif çalkalama koşulları altında sulu bir faz ile karşılaştığında kendiliğinden, genellikle 200 nm altında damlacık boyutuna sahip y/s tipi nanoemülsiyonlar oluşturan izotropik karışımlar olarak tanımlanır. Nanoemülsiyonların oluşumu için gerekli olan çalkalama *in vivo* ortamda gastrointestinal sistem hareketliliği ile sağlanır. SNEDDS formülasyonları etkin maddenin dışında yağ, yüzey etkin madde, yardımcı yüzey etkin madde ve kosolvan gibi maddeler içerir (4).

Tez çalışmasında çözünürlüğü düşük model ilaç olarak aprepitant seçilmiştir. Aprepitant farklı bir etki mekanizmasına sahip olan yeni bir antiemetik ilaç grubunun ilk üyesidir. Aprepitant, bir nörokinin-1 (NK₁) reseptör antagonistidir ve P maddesinin emetik etkilerini azaltarak etki gösterir (5). Klinikte yüksek ve orta derecede emetojenik kanser tedavisine bağlı olan bulantı ve kusmaların önlenmesinde kullanılır (6). Avrupa Tıbbi Onkoloji Derneği (ESMO) ve Amerikan Klinik Onkoloji Derneği (ASCO) gibi önde gelen kuruluşların kılavuzlarında, kullanımı çoğu zaman birinci sıra ilaç olarak önerilen, klinikte vazgeçilmez bir ilaçtır. Aprepitant emiliminin önündeki temel engelin düşük çözünme hızı olduğu düşünüldüğünde, aprepitantın çözünme hızını artıran formülasyonlara ihtiyaç duyulmaktadır.

Biyoyararlanım özünde ilacın partikül boyutu ile doğrudan ilgilidir. Partikül boyutunun küçültülmesi toplam yüzey alanını artıracığından ilacın çözünme hızını artıracak, böylece emilime hazır çözünmüş etkin madde miktarının artmasını sağlayacaktır. Partiküllerin geleneksel yöntemlerle küçültülmesi için çeşitli değirmenler kullanılabilir de bunlar etkin madde çözünürlüğünün ve dolayısıyla biyoyararlanımın artırılması için yeterli değildir. Biyoyararlanımda belirgin bir artış elde edilebilmesi için partiküllerin boyutunun nano ölçeğe düşürülmesi gerekmektedir (7, 8).

Aprepitantın oral biyoyararlanımını artırmaya yönelik araştırmalar ve patentler incelendiğinde, geliştirilen yöntemlerin ağırlıklı olarak ya orjinator firma gibi partikül boyutu küçültmeye dayalı olduğu ya da aprepitantın çeşitli maddeler ile katı dispersiyonlarının hazırlandığı görülmektedir (9). Partikül boyutunun küçültülmesine dayanan yöntemlerde nanokristaller, çözeltiden etkin maddenin kontrollü şekilde çöktürülmesi, yüksek hızlı değirmenler ile öğütme, yüksek basınçlı homojenizasyon gibi teknikler kullanılarak elde edilebilir (10). Partikül küçültülmesine dayanan yöntemlerin temel dezavantajı işlem basamaklarının çok olmasıdır. İşlem parametrelerindeki ufak değişiklikler elde edilecek son ürünün partikül boyutu üzerinde çok ciddi farklılıklara yol açabileceği için, bu parametrelerin çok sıkı bir şekilde kontrol edilmesi gerekmektedir. Ayrıca uzun işlem basamakları üretim maliyetini artırmaktadır.

İlaç moleküllerinin nano boyuta getirilmesinde aşağıdan yukarı (bottom-up) ve yukarıdan aşağı (top-down) olmak üzere iki yaklaşım bulunmaktadır. Orjinator Merck & Co firması partikül boyutu küçültme metodlarından yukarıdan aşağı (top-down) yaklaşımı içerisinde sınıflandırılabilen NanoCrystal™ teknolojisini kullanarak aprepitant kristallerini nano boyuta indirmiştir. Sonuç olarak nanoboyuta sahip aprepitant kullanılarak Emend® kapsülün biyoyararlanımı yaklaşık %60-65'e yükseltilebilmiştir (11). Biyoyararlanım bu yöntemle yükseltilmiş olsa dahi, gerek hala yeterince yüksek olmaması, gerekse bu yöntemin yüksek maliyeti nedeniyle daha farklı yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Sonuç olarak bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesinin ardında yatan problemler etkin maddenin düşük oral biyoyararlanımı ve mevcut ilacın yüksek üretim maliyeti olarak iki ayrı başlıkta toplanabilir.

İdeal bir ilaç formülasyonu, biyoyaralanımının yüksek olmasının yanısıra kolay ve düşük maliyetle üretilebilir olmalıdır. Bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen çalışmalarda bu iki önemli özellik açısından da diğer uygulamalara göre avantajlara sahip formülasyonlar üretilmiştir. Farklı ilaç yardımcı maddeleri ile tasarlanmış formülasyonlar 10 nm ile 120 nm arasında değişebilen damlacık boyutlarına sahip nanoemülsiyonlar oluşturur. Ortalama 100 nm altındaki damlacıklar ilacın hızla çözünmesini ve emilime hazır hale geçmesini sağlamaktadır. Formülasyonların sahip olduğu yüksek çözünme hızı ve biyoyaralanım özelliği buradan kaynaklanmaktadır. Geliştirilen formülasyonların bir diğer önemli avantajı da bu nano boyutlara düşük maliyetli bir üretim teknolojisi ile erişilebilmesidir. Formülasyonun üretiminde ana basamak farmasötik formülasyonların üretiminde kullanılan en basit işlemlerden olan karıştırma işlemidir. Tez kapsamında geliştirilen formülasyonlar sadece basit karıştırıcılar ve hacimsel katı/sıvı doldurma ekipmanına sahip, oldukça ekonomik üretim tesislerinde kolaylıkla üretilebilecek niteliktedir. Basit üretim metodu sayesinde de ölçek büyütmede herhangi bir sorun görülme ihtimali yok denecek kadar azdır.

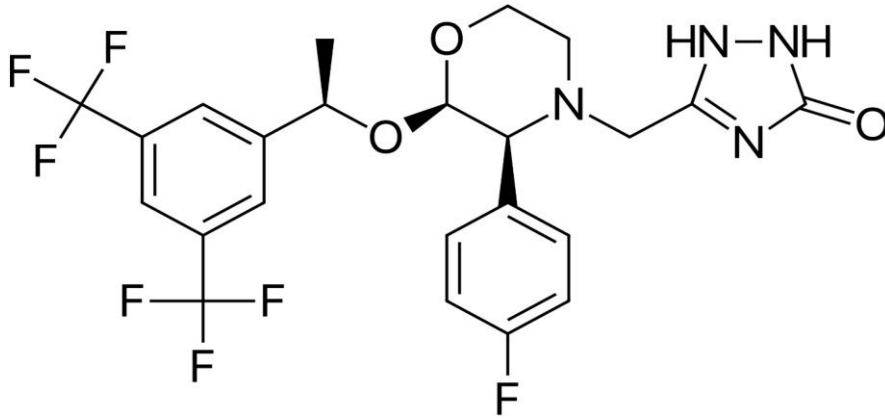
Sonuç olarak bu tez çalışması kapsamında farklı yardımcı maddeler kullanılarak bir NK₁ reseptör antagonisti olan aprepitantın farklı özelliklerdeki SNEDDS formülasyonlarının (klasik sıvı SNEDDS, katı forma dönüştürülmüş SNEDDS, aşırı doygun SNEDDS) hazırlanması, bunların karakterizasyonlarının yapılması, *in vitro* ve *in vivo* özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Böylece ticari olarak pazarlanan mevcut dozaj formuna bir alternatif olabilecek, başta kanser hastaları olmak üzere, bulantı ve kusma nedeniyle yaşam kaliteleri azalan hasta gruplarının kullanabileceği yenilikçi bir ilaç formülasyonu geliştirilmiş olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Aprepitant Hakkında Genel Bilgiler

2.1.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikler

Aprepitant beyazımsı renkli, kristal yapılı, higroskopik olmayan, pKa'sı 9,7 (asidik) ve 2,4 (bazik), erime derecesi 254°C olan bir bileşiktir (12, 13). Kimyasal adı 3-[[[(2R,3S)-2-[(1R)-1-[3,5-bis(triflorometil)fenil]etoksi]-3-(4-florofenil)morfolin-4-il]metil]-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (C₂₃H₂₁F₇N₄O₃) olup molekül ağırlığı 534,4 g/mol'dür (14). Aprepitant zayıf bazik ve lipofilik (logD pH 7'de 4,8) bir molekül olup, pH 2-10 aralığında oldukça düşük (3-7 µg/mL) bir çözünürlüğe sahiptir (15). Yani suda pratik olarak çözünmez. Etanol ve izopropil asetat içinde eser miktarda, asetonitril içinde ise az miktarda çözünür (16). Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi'ne (BCS) göre literatürde bazı kaynaklarda (15-17) sınıf II bazı kaynaklarda (18-20) ise sınıf IV bir molekül olarak geçmektedir. Bunun temel nedeni molekülün orta derecede (sınırdan) bir geçirgenlik göstermesidir. Çözünürlük ve ilaç metabolizasyonunun göz önüne alındığı Biyofarmasötik İlaç Dağılım Sınıflandırma Sistemi'ne (BDDCS) göre ise sınıf II olarak sınıflandırılmıştır (21). Bileşiğin kimyasal yapısı Şekil 2-1'de gösterilmektedir.



Şekil 2-1: Aprepitantın kimyasal yapısı

2.1.2. Farmakodinamik Özellikler

P maddesi memelilerin merkezi sinir sisteminde en çok bulunan nörokinin olup astım, migren, ağrı, anksiyete, şizofreni, emezis ve özellikle de kemoterapiye bağlı gecikmiş emezis gibi birçok olayın patofizyolojisinde rol oynar (22). Aprepitant, bir nörokinin-1 (NK₁) reseptör antagonistidir ve P maddesinin emetik etkilerini azaltarak

etki gösterir. Aprepitantın kan-beyin bariyerini geçtiği ve beyindeki NK₁ reseptörlerine bağlandığı insanda yapılan pozitron emisyon tomografisi çalışmaları ile gösterilmiştir. 125 mg dozda aprepitantın merkezi sinir sistemindeki NK₁ reseptörlerinin %90'ını bloke ettiği görülmüştür. Bununla birlikte diğer nörokinin reseptörlerine (NK₂ ve NK₃), serotonin 5-HT₃, dopamin ve kortikosteroid reseptörlerine afinitesi çok azdır veya hiç yoktur (5). Aprepitant, diğer ajanlarla kombinasyon halinde yüksek veya orta düzeyde emetojenik kemoterapi ile ilişkili akut ve gecikmiş bulantı-kusmanın önlenmesinde ve operasyon sonrası görülen bulantı-kusmanın önlenmesinde oral yoldan kullanılan bir moleküldür (6).

Aprepitantın antiemetik etkilerinin yanısıra çok sayıda kanser tipinde *in vitro* ve *in vivo* antikanser etkinliğinin olabileceği de gösterilmiştir. Bu özellik NK₁ reseptörleri aracılığı ile antiproliferatif, antianjiyojenik, apoptotik, antimetastatik ve Warburg (kanseri hücrelerinin aerobik solunum yerine özel bir fermentasyonu tercih etmesi) karşıtı etkiler göstermesine bağlıdır. NK₁ reseptörleri aracılığı ile etki gösterdiğinden dolayı klasik sitotoksik ilaçlarda görülen şiddetli yan etkilere sebep olmayan, güvenli bir antitümoral etki sunmaktadır (23). Fakat klinikte doğrudan bu etkisi sebebiyle, henüz kullanımı bulunmamaktadır.

2.1.3. Farmakokinetik Özellikler

Aprepitant, doğrusal olmayan farmakokinetik gösterir. Doz arttıkça mutlak biyoyararlanım azalır. Aprepitantın ortalama mutlak oral biyoyararlanımı 80 mg kapsül için %67 ve 125 mg kapsül için %59'dur. İlk gün 125 mg'lık kapsülün uygulanmasıyla EAA_{0-24saat} 19,6 ± 2,5 µg.saate/mL olarak, devamında ikinci ve üçüncü günlerde ise 80 mg'lık kapsüllerin uygulanmasının ardından ise EAA_{0-24saat} 21,2 ± 6,3 µg.saate/mL olarak bulunmuştur. Bu kullanım şeklinde ulaşılan maksimum plazma konsantrasyonları sırasıyla 1,6 ± 0,36 µg/mL and 1,4 ± 0,22 µg/mL olmuştur (24). Aprepitant sadece üst gastrointestinal sistemde emilir (25). Emend® farmakokinetiğinde ırk, cinsiyet veya yaş açısından önemli farklılıklar görülmez. Maksimum plazma konsantrasyonuna (C_{maks}) yaklaşık 4 saatte (T_{maks}) ulaşır. Yiyeceklerin aprepitantın emilimi üzerinde klinik olarak anlamlı bir etkisi yoktur. İlaç, plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır (> %95) ve kararlı durumda ortalama görünen dağılım hacmi, insanlarda 66 L'dir (26).

Aprepitant insan vücudunda kapsamlı bir metabolizmaya uğrar. Aprepitantın metabolizması, büyük ölçüde morfolin halkasında ve yan zincirlerinde oksidasyon

yoluyla meydana gelir. İnsan plazmasında on iki aprepitant metaboliti tanımlanmıştır. Ortaya çıkan metabolitler, oldukça zayıf aktiviteye sahiptir. İnsan karaciğer mikrozomlarının kullanıldığı *in vitro* çalışmalar, aprepitantın esas olarak CYP3A4 tarafından metabolize edildiğini, CYP1A2 ve CYP2C19'un ise minör oranda bir katkıda bulunduğunu göstermektedir (24). Aprepitant CYP3A4'ün bir substratı olmakla birlikte orta düzeyde bir inhibitörü ve indükleyicisidir. Aynı zamanda CYP2C9'un da bir indükleyicisidir. Aprepitant tedavisi sırasında CYP3A4 inhibe edilirken tedavi sonrasında CYP3A4, CYP2C9 ve glukuronidasyonda geçici ve hafif düzeyde bir indüksiyona neden olur (27). Aprepitant, bir CYP3A4 inhibitörü ve indükleyicisi olduğu için eş zamanlı olarak kullanılan CYP3A4 veya CYP2C9 substratları olan bazı antikanser ve tedaviye yardımcı diğer ilaçların farmakokinetiğini etkileyebilir. Bu nedenle, aprepitant ile eşzamanlı olarak CYP2C9 veya CYP3A4 substratı olan ajanlar alan hastalarda, özellikle de terapötik penceresi dar olan hastalarda dikkatli izleme gereklidir (28). Aprepitantın P-glikoprotein taşıyıcısının substratı olan ilaçlarla bir etkileşimi bulunmamaktadır. Görülebilecek etkileşimler nedeniyle astemizol, terfenadin, pimizid ve sisaprid ile birlikte kullanımı kontrendikedir (24).

Aprepitant doğrudan idrara atılmaz, metabolitler şeklinde geçer. Ayrıca safra yoluyla feçese de geçer. Aprepitantın plazma klirensi de doza bağımlı olup, doz arttıkça azalır. Terapötik doz aralığında klirens 60-72 mL/dk arasında olup, yarılanma ömrü 9-13 saat arasındadır (24).

Aprepitantın gebelik kategorisi B olarak belirlenmiş, emziren sıçanların sütüne geçtiği gösterilmiştir. Aprepitantın insanda anne sütüne geçip geçmediği bilinmemektedir. Bu sebeple aprepitant tedavisi sırasında emzirme önerilmemektedir (24).

2.1.4. Nanoboyutlu Aprepitant

Aprepitantın geleneksel dozaj formu, insana 100 mg'lık dozda tokluk şartlarında uygulandığında açlık koşullarına göre emilimin 3 kat arttığı, 300 mg gibi daha yüksek dozlarda ise bu etkinin daha da belirginleştiği gösterilmiştir (29). Aprepitant gibi düşük çözünürlüğe sahip bileşikler, midede kalma süresinin artması, safra salgılarının uyarılması, gastrointestinal sıvı hacmindeki artış, besin maddeleri ile etkileşimler gibi nedenlerden, besinlerle alındığında daha yüksek emilim gösterme eğilimindedirler. Her ne kadar bu düşük çözünürlüklü ilaçların oral biyoyararlanımını iyileştirmek için etkili

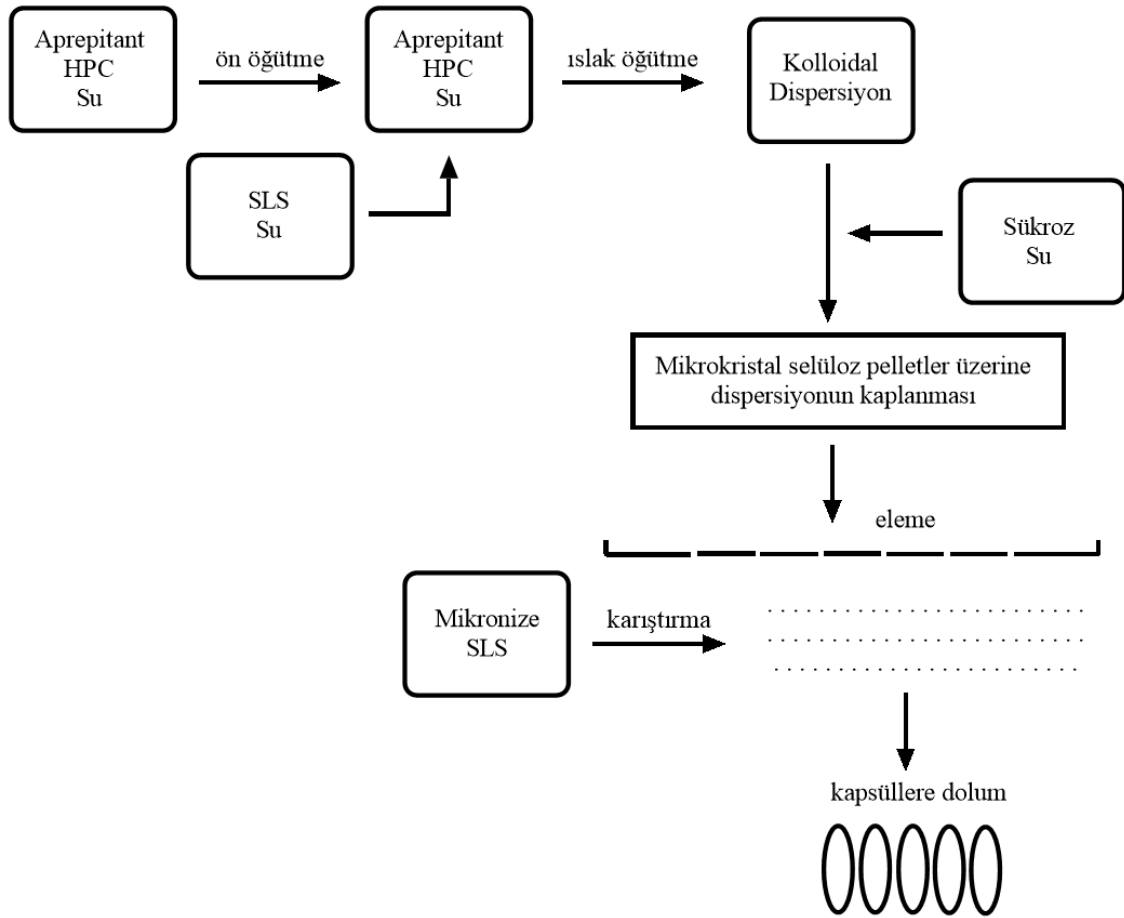
bir yaklaşım olsa da, her zaman arzu edilen bir durum değildir. İlk olarak bu durum ilaç güvenliği açısından bir sorun oluşturmaktadır. İkinci olarak ise bulantı ve kusmanın önlenmesi gibi endikasyonlarda, ilaç emiliminin açlık durumunda artırılması tercih edilmektedir (15). Zayıf çözünürlüğe bağlı az önce sayılan dezavantajlarından dolayı aprepitantın geleneksel formülasyonlarını kullanarak etkili bir tedavi sağlamak mümkün olamamaktadır. Çözünürlüğü artırarak bu sorunu çözmek için ilk olarak çeşitli tuz formları hazırlanmış ancak tamamının kimyasal stabilitesinin düşük olduğu gösterilmiştir (30). Bu nedenle partikül boyutu küçültülme yöntemleri kullanılmıştır.

Çözünme hızının, partikül boyutunun küçültülmesi ile artmasının ardında iki mekanizma bulunmaktadır. Bunlar yüzey alanının artması ve yüzey kıvrımlılığının artmasına bağlı olarak çözünürlüğün artmasıdır. Yüzey alanı, parçacık boyutu ile ters orantılıdır. Bu nedenle, partikül boyutu 1 μm 'den 100 nm'ye düşürülürse, yüzey alanı yaklaşık 10 kat artar, bu da çözünme hızının 10 kat artmasına yol açar. Bir parçacığın küresel olduğunu varsayarsak, çözünürlüğün parçacık boyutuna bağımlılığı Ostwald-Freundlich denklemi ile açıklanabilir (7, 8). Bu denkleme göre parçacık boyutu azaldıkça çözünürlük artacaktır. Ancak partikül boyutu azalmasının çözünürlük artışına olan etkisi oldukça sınırlı olup, 100 nm'de sadece 1,02 kat 10 nm'de ise ancak 1,27 kat artış olduğu hesaplanmıştır. Çoğu etkin madde partikülleri küresel bir yapıya sahip olmadığından gerçekte ulaşılabilecek değerler daha az olacaktır. Dolayısıyla partikül boyutu küçültülmesinde çözünme hızını artıran temel mekanizmanın yüzey alanı artışı olduğu rahatlıkla söylenebilir (31).

Aprepitantın NanoCrystal® formülasyonunda partiküllerinin mikron altı boyuta öğütüldüğü ve polimer veya yüzey aktif madde ile stabilize edildiği NanoCrystal® teknolojisi (Elan Corporation, Dublin / İrlanda) kullanılmıştır. Bu yöntem partikül boyutu küçültme metotlarından yukarıdan aşağı (top-down) yaklaşımı içerisinde sınıflandırılır (11). Nano öğütme işleminde, sulu bir polimerik çözelti içerisindeki ilaç partikülleri küre şekilli öğütme ortamıyla (bilyalı değirmende) döndürülür. Öğütme ortamının çarpmasıyla açığa çıkan enerji partiküllerin parçalanmasına neden olur. Süreç istenilen partikül boyutu elde edilene kadar devam eder. Etkin maddenin nanometre boyutuna inmiş kolloidal dispersiyonu daha sonra bir tablet veya kapsül gibi katı dozaj formuna dönüştürülebilir (32).

Emend® kapsülün üretim basamakları aşağıda listelenmiş, Şekil 2-2’de gösterilmiştir (33):

- i. Hidroksipropil selüloz ve aprepitant ile sulu bir karışım hazırlanması,
- ii. Bu karışımın ön bir öğütme işleminden geçirilmesi,
- iii. Karışıma sodyum lauril sülfatın sulu çözeltisinin eklenmesi,
- iv. Bilyalı değirmenlerde ana partikül boyutu küçültme işleminin gerçekleştirilmesi,
- v. Sükrozun sulu çözeltisinin ilave edilmesi,
- vi. Mikrokristal selüloz yapılı boncukların yüzeyinin mevcut dispersiyon ile akışkan yataklı kazanda kaplanması,
- vii. Elde edilen kaplanmış boncukların elenmesi,
- viii. Elenen boncukların mikronize sodyum lauril sülfat ile karıştırılması,
- ix. Son ürünün kapsüllere doldurulması.



Şekil 2-2: Aprepitantın mikronizasyon aşamaları

Formülasyonda etkin madde dışında hidroksipropil selüloz, sodyum lauril sülfat, süktroz yardımcı maddeler olarak kullanılmıştır. Hidroksipropil selüloz partikül boyutu küçültülmesi sırasında stabilizan olarak kullanılmıştır. Sodyum lauril sülfat ortam viskozitesini düşürerek öğütme işleminin etkinliğini artırma amacıyla ve kapsül dolumunda lubrikan olarak kullanılmıştır. Süktroz ise nanopartikül kolloidal süspansiyondaki partiküllerin kurutma işlemi sırasında dayanıklı şekilde kalmalarını sağlar (32). Bu gerçekleştirilen işlemlerle Emend® kapsül içerisindeki aprepitant partikülleri 0,12 µm (120 nm) boyutuna kadar küçültülebilmektedir (34). Nano boyutlu aprepitant formülasyonu ile elde edilen yüksek çözünme hızının, mikronize aprepitant formülasyonu ile karşılaştırıldığında, açlık durumunda biyoyararlanımın artmasını ve ayrıca besin etkisinin azalmasını sağladığı gösterilmiştir (35).

İşlem basamaklarının çok olması ve bu halde ilacın maliyetinin yüksek olması sebebiyle, ilacın farklı şekilde formülasyonlarının geliştirilmesi ile ilgili literatürde çok sayıda kaynak bulunmaktadır. Literatür taraması sonucu geliştirilen formülasyonların çoğunlukla aprepitantın katı dispersiyonları olduğu görülmüştür. Ardından aprepitantın çeşitli yöntemlerle partikül boyutunun küçültülmesiyle hazırlanan nanokristal formülasyonları gelmektedir. Bunların dışında emülsiyon, mikroemülsiyon, siklodekstrin kompleksleri, ağızda dağılan filmler, katı çözelti, surfaktan bazlı formülasyonlar gibi çalışmalar literatürde kayıtlı bulunmaktadır (9).

2.1.5. Aprepitantın Onaylı Formülasyonları

Aprepitantın nano boyutlu formülasyonu ile açlık durumunda doğrusal olmayan farmakokinetiğin üstesinden gelinebilmiş, gıda etkisi ortadan kaldırılıp, biyoyararlanım iyileştirilerek ve daha uygun bir dozaj formu üretilmiştir (15, 29). Bu formülasyon 80 mg ve 125 mg'lık kapsüller halinde ilk olarak Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından 26 Mart 2003 tarihinde yüksek derecede emetojenik kanser tedavisine bağlı olan bulantı ve kusmaların önlenmesi endikasyonu ile onaylanmıştır. FDA tarafından onaylanmış aprepitant formülasyonları Tablo 2-1'de görülmektedir (36).

Tablo 2-1: FDA tarafından onaylı aprepitant formülasyonları (36, 37)

Formülasyon	Başvuru No	Onay Tarihi	Endikasyon
Kapsül 40mg, 80mg, 125mg	021549 Emend®	26 Mart 2003	Yüksek derecede emetojenik kanser tedavisine bağlı olan bulantı ve kusmaların önlenmesi (yetişkinlerde)
		28 Ekim 2005	Orta derecede emetojenik kanser tedavisine bağlı olan bulantı ve kusmaların önlenmesi (yetişkinlerde)
		20 Haziran 2006	Operasyon sonrası bulantı ve kusmaların önlenmesi (yetişkinlerde) – 40mg
		28 Ağustos 2015	Yüksek ve orta derecede emetojenik kanser tedavisine bağlı olan bulantı ve kusmaların önlenmesi (12-17 yaş arası veya kilosu 30kg üstündeki çocuklar)
Oral süspansiyon (125mg/5mL)	207865 Emend®	17 Aralık 2015	Yüksek ve orta derecede emetojenik kanser tedavisine bağlı olan bulantı ve kusmaların önlenmesi (6 aylıktan 12 yaşa kadar olan çocuklar)
I.V. emülsiyon (130mg/18mL)	209296 Cinvanti®	11 Eylül 2017	Yüksek ve orta derecede emetojenik kanser tedavisine bağlı olan bulantı ve kusmaların önlenmesi (yetişkinlerde)

Avrupa İlaç Ajansı (EMA) da nano aprepitant formülasyonunun kullanımına 11 Kasım 2003'te onay vermiştir. Yukarıda sayılan formülasyonlara ek olarak 165 mg'lık kapsül formu da Avrupa Birliği sınırları içinde pazarlanmaktadır (38). Ülkemizde de aprepitant 26 Eylül 2005 tarihinde, 118/58 ruhsat numarasıyla Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (TİTCK) tarafından ruhsatlanmış ve Emend® Kapsül adıyla satışa sunulmuştur (39). Nano aprepitant dünya çapında Emend®, Aprecap®, Aprepit®, Apricyt®, Emetant® gibi çeşitli isimlerde ve farklı dozaj kuvvetlerinde (40 mg, 80 mg, 125 mg ve 165 mg) müstahzar olarak bulunmaktadır.

Aprepitantin yanısıra bir aprepitant ön ilacı olan fosaprepitant dimeglumin şeklinde intravenöz kullanıma uygun bir formülasyonu da piyasada mevcuttur. Fosaprepitant hızla aktif forma (aprepitant) dönüştürüldüğünden, EAA açısından aynı aprepitant maruziyetini ve buna karşılık benzer bir antiemetik etkiyi sağlaması beklenir (40). Klinik çalışmalar, fosaprepitantın aprepitant oral kapsüle intravenöz bir alternatif olarak uygun olabileceğini göstermiştir. 24 saat süresince 115 mg intravenöz fosaprepitantın ortalama plazma konsantrasyonunun 125 mg oral aprepitanta eşdeğer olduğu gösterilmiştir (41).

2.2. Bulantı ve Kusma

Yiyecek tüketimi hayatta kalma davranışında kilit bir unsurdur ve beslenme eylemi iç organların çoğunu bozulmuş yiyeceklerle, çeşitli toksinlere, virüslere, bakterilere ve mantarlara maruz bırakabilir. Bulantı ve kusma bunu önleyen veya azaltan temel bir hayatta kalma tepkisidir (42). Elbette yiyecek tüketimi bulantı ve kusmaya neden olabilecek tek durum değildir. Mide bulantısı ve kusmaya sebep olabilecek çok sayıda durum vardır. İlaç tedavisi, çeşitli enfeksiyonlar, toksinler, hareket hastalığı, hamilelik, bağırsak tıkanıklığı veya çeşitli gastrointestinal sistem bozuklukları, migren, hormonal bozukluklar, santral sinir sistemi bozuklukları, böbrek yetmezliği, radyasyon tedavisi, psikiyatrik bozukluklar, fiziksel veya duyuşsal ağrılar, kardiyovasküler disfonksiyon, operasyonlar gibi durumlar da bulantı ve kusmaya neden olabilir. Dolayısı ile bulantı ve kusmanın klinikte en sık görülen semptomlardan olması şaşırtıcı değildir.

Mide bulantısı genellikle kusmanın ön belirtisi olarak kabul edilir. Ancak hem mide bulantısı hem de kusma ayrı ayrı da meydana gelebilir. Bu olaylar kısmen de olsa, ayrı fizyolojik süreçler olarak kabul edilir (43). Bir teoriye göre bulantı ve kusmayı tetikleyen yolların hafif uyarılmasının mide bulantısına, daha yoğun uyarılmasının ise kusmaya yol açtığı düşünülmektedir (44).

2.2.1. Mekanizma

Bulantı ve kusmanın çok çeşitli nedenleri olmakla birlikte, bunların hepsi beyin sapında bulunan kusma merkezi tarafından koordine edilen emetik refleksin başlamasına neden olur. Kusma merkezi emezis öncesinde, beyindeki *area postrema* bölgesi (kemoreseptör tetikleme bölgesi) aracılığıyla dolaşımdaki kimyasal emetojenik maddelerden, abdominal vagal veya glossofaringeal afferent sinirlerden, santral sinir sisteminden ve vestibular sistemden uyarıları alabilir. Alınan bu uyarılar emezis eşiğini aştığında kusma merkezi, emetik refleksi indüklemek için merkezi bir yer görevi görür (45). Emezis eşiği dinamik bir limit olup aynı kişinin dahi beklentisine, duyuş durumuna göre değişkenlik gösterir. Birey içi veya bireyler arasında görülen farklılıkların temel nedenini bu durum oluşturmaktadır (46).

Kusma merkezinden çıkan efferent (motor) nöronlar gastrointestinal sistem, diyafram, karın kasları, orofarinksi içeren ve kusmayı sağlayan karmaşık bir dizi olayın koordinasyonunu sağlar. Özet olarak, kişide antral kasılmalar durur ve mide gevşer,

pilorik tonus artar, alt yemek borusu sfinkteri gevşer, karın duvarı kasları ve diyafram kasılır ve mide içeriği dışarı atılmak üzere ağza doğru itilerek kusma gerçekleşir (44). İnsanda bu olaylarda asetilkolin, histamin, dopamin, 5-hidroksi triptamin (serotonin), P maddesi, noradrenalin ve vazopressin gibi nörotransmitter maddelerin ve hormonların rol oynadığı bilinmektedir (44-46).

Mide bulantısı ve kusmanın patogenezinde merkezi ve çevresel kaynaklı yollar rol oynayabilir. Farklı uyaranlardan alınan uyarılar, çeşitli şekillerde *nükleus tractus solitarius*'a (soliter çekirdek) iletilir. Bunlar vestibüler yolak, santral sinir sistemi (beyin korteksi ve limbik sistem) kaynaklı yolak, *area postrema* bölgesi kaynaklı yolak ve vagus siniri yoluyla GI sistem kaynaklı yollar olmak üzere dörde ayrılabilir. Vagus siniri aynı zamanda *nükleus tractus solitarius*'dan gelen merkezi bilgilerin periferik iletilmesinden ve otonom sinir sistemi yanıtının başlatılmasından da sorumludur. Ek olarak bulantı GI sistemdeki ritim bozukluğu ve vazopressin salınımı ile de ilişkilidir. Bununla birlikte, bu durumu neden-sonuç ilişkisi çok iyi anlaşılmamıştır ve üzerinde daha fazla çalışmayı gerektirmektedir (46).

2.2.1.1. GI Sistem Kaynaklı Yolak

GI sistem mekanoreseptörler ve kemoreseptörler açısından oldukça zengindir. Mekanoreseptörler mide, bağırsak ve yemek borusunun yanı sıra karın ve kalbin kasılması gibi olayları algılayarak vagus sinirini doğrudan uyararak mide bulantısı ve kusmaya neden olabilir. Ayrıca vücuda giren çeşitli yabancı ajanlar (ksenobiyotikler) GI sistemdeki enterokromafin hücrelerden serotonin salgılanmasına neden olarak yine vagus aracılığı ile bulantı ve kusma oluşturabilir (47).

2.2.1.2. Area Postrema Kaynaklı Yolak

Dördüncü ventrikülün kaudal ucunda yer alan *area postrema* bölgesi, nispeten geçirgen kan-beyin ve beyin omurilik sıvısı-beyin bariyerleri ile karakterizedir. Bu bölge ayrıca vagus sinirinin aferent (duyusal) aksonlarının sinaps yaptığı bölge *nükleus tractus solitarius* ile bağlantılıdır. 1950 ve 1960'larda yapılan çalışmalar, bu bölgenin kandaki çeşitli maddelere verilen emetik yanıtın sorumlu olduğunun bulunmasına ve "kemoreseptör tetikleme bölgesi" (CTZ) olarak tanımlanmasına yol açmıştır (48). Burada bulunan kemoreseptörler, kandaki emetik ajanların varlığını tespit eder ve bu bilgi *nükleus tractus solitarius*'a iletilir ve kusma refleksi tetiklenir (46).

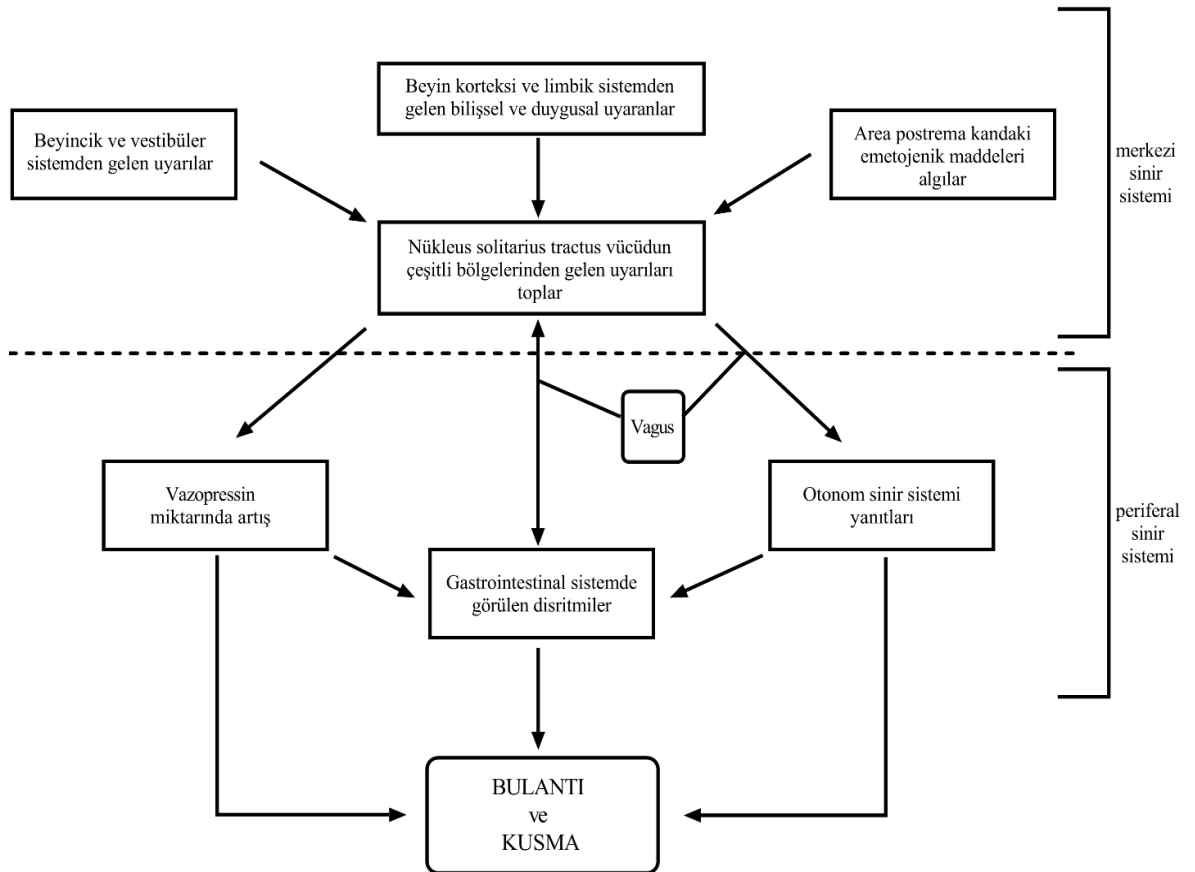
2.2.1.3. Vestibüler Sistem Kaynaklı Yolak

Vestibüler sistem, hastanın denge hissi ve hareket hastalığı hissi ile ilgilidir. Vestibüler sistemdeki anormallikler veya hastalıklar doğrudan hareket hastalığına ve dolayısıyla bulantı ve kusmalara neden olabilir (47).

2.2.1.4. Santral Sinir Sistemi Kaynaklı Yolak

Bulantı ve kusmaya neden olan merkezi yolaklar, GI sistemle ilişkili yolaklardan daha karmaşıktır (47). Merkezi sinir sistemi içindeki korku, beklenti, beyin travması, aniden yükselen kafa içi basıncı gibi çeşitli uyaranlar da emetik refleksi tetikleyebilir. Fakat bu olaylar ile ilgili mekanizmalar yeterince anlaşılmamıştır. Bu tür uyaranlar genellikle öğürme veya mide bulantısı olmaksızın kusmaya neden olur (49).

Bulantı ve kusma olaylarında rol oynayan yolaklar Şekil 2-3'te özetlenmiştir.



Şekil 2-3: Bulantı ve kusmada rol oynayan yolaklar (46)

2.2.2. Antiemetik Tedavinin Gelişimi

İkinci Dünya Savaşı öncesinde (1939-1945) bulantı ve kusmayı engellemek için ampirik tedaviler uygulanmaktaydı. Belladon-atropin-skopolamin türevi (alkaloidler) ilaçların hareket hastalığına karşı etkili olduğu ilk olarak 1940'lı yıllarda gösterilmiştir. Bir H_1 reseptör antagonisti olan dimenhidrinatin antiemetik etkinliği 1949'da bulunmuştur. Daha sonraki yıllarda emetik etkileri ile bilinen dopamin D_2 reseptör agonisti olan apomorfinden yola çıkılarak, bu reseptörün antagonisti olan fenotiyazin türevlerinin (özellikle de proklorperazin) kullanımına başlanmıştır. Sırası ile 1964 ve 1974'te metoklopramit ve domperidon bulunmuştur. Kanabinoidler, 1970'lerin sonlarında ve 1980'lerin başlarında antiemetik olarak araştırılmıştır. Her ne kadar plasebo ve proklorperazinden üstün olsalar da, görülen yan etkiler ve muhtemelen 5-HT₃ reseptör antagonistlerinin antiemetik etkinliğinin sadece birkaç yıl sonra keşfi nedeniyle bu araştırmalar çok sürmedi. Son olarak 2000'li yıllarda NK₁ reseptör antagonistlerinin keşfiyle bulantı ve kusma tedavisindeki ilerlemeler günümüze kadar gelmiştir. Neredeyse yüz yılı bulan bu süreçte muskarinik reseptörlerin (muhtemelen M₃/M₅), H_1 , D_2 , 5-HT₃ ve NK₁ reseptörlerinin insanlarda görülen emeziste önemli rollerinin olduğu belirlenmiştir (50). Bu reseptörlerin vücutta bulundukları bölgeler Tablo 2-2'de gösterilmektedir.

Tablo 2-2: Mide bulantısı ve kusmayla ilişkili alanlar ve bulunan reseptör tipleri (47)

Merkez	Reseptörler
GI Sistem	5-HT ₃ , D_2 , NK ₁
<i>Area postrema</i>	Opioid: μ (μ), 5-HT ₃ , D_2 , NK ₁ , ACh ₁
Vestibüler Sistem	Muskarinik (M ₃ , M ₅), Kolinerjik (ACh ₁), H_1
<i>Nükleus tractus solitarius</i>	Opioid: μ (μ), 5-HT ₃ , NK ₁

2.2.3. Kemoterapiye Bağlı Bulantı ve Kusma

Kemoterapötik ajanların CTZ, gastrointestinal sistem ve kusma merkezinde bulunan nörotransmitter reseptörlerini aktive ederek kusmaya neden olduğu düşünülmektedir. Mekanizma kesin olarak tanımlanmamış olmakla birlikte araştırmalar, kusmanın esas olarak gastrointestinal kanaldaki ve merkezi sinir sistemindeki nörotransmitterler (serotonin, dopamin, P maddesi, asetilkolin) aracılığıyla gerçekleşebileceğini göstermektedir (51).

Kemoterapötik ilaçlar, beynin *area postrema* bölgesinde bulunan nörotransmitter reseptörleri veya GI sistemdeki enterokromafin hücrelerine yakın vagal duyuşal nöronların terminal uçlarında bulunan reseptörleri aktive ederek emetik refleksi başlatabilir. Bu durum kusmaya neden olmak için organlara ve dokulara uyarılar gönderir (52). Kemoterapiye bağılı bulantı ve kusma, kemoterapinin seyri ile ilişkili olarak ne zaman başladığına ve hastaların profilaksiye önceki yanıtlarının ne olduğuna bağılı olarak beş kategoriye ayrılabilir (53).

- i. **Akut:** Kemoterapinin başlamasından sonraki ilk 24 saat içinde ortaya çıkar. Ana olarak GI sistemdeki serotonin reseptörlerinin aktive olmasına bağılıdır.
- ii. **Gecikmiş:** Kemoterapiden sonraki ilk 24 saatten bir kaç güne kadar (2-5 gün) ortaya çıkar. Genellikle P maddesi aracılığı ile gelişir.
- iii. **Ani Gelişen:** Kılavuzların uygun gördüğü profilaktik antiemetik tedaviye rağmen kemoterapiden sonraki 5 gün içerisinde ortaya çıkar. Bu tipteki bulantı ve kusmalar hastaya acil olarak ek tedaviler uygulanmasına neden olur.
- iv. **Beklentisel:** Daha önceki kürlerde yaşamış olduğı bulantı ve kusmalardan dolayı şartlanmaya bağılı olarak kemoterapi öncesinde ortaya çıkar.
- v. **Refrakter:** Refrakter (dirençli) bulantı ve kusma, tedavi kılavuzlarına uygun profilaktik antiemetik ajanların daha erken sikluslarda başarısız olmasının ardından kemoterapi döngülerinde, kemoterapi sonrasında ortaya çıkan bulantı ve kusmadır.

Günümüzde mevcut olan bilgilere göre kemoterapiye bağılı olarak görülen bulantı ve kusma, merkezi ve periferik olmak üzere iki farklı yoldan gerçekleşebilir. Periferik yolak çoğunlukla ilk 24 saat içerisinde gerçekleşen akut bulantı ve kusmalardan sorumludur (54). Kemoterapide kullanılan ajanlar GI sistemdeki enterokromafin hücrelerden serotonin salınmasını sağlayarak vagal duyuşal nöronlar üzerindeki 5-HT₃ reseptörlerinin uyarılmalarına sebep olurlar. 5-HT₃ reseptör antagonistlerinin çoğunlukla periferik sinir sisteminde etkili oldukları düşünülse de santral sinir sisteminde *area postrema* bölgesindeki 5-HT₃ reseptörlerini de bloke ederler (55). Merkezi yolak ise beynin içerisindeki merkezlerin uyarılmasına bağılı olan ve ana olarak kemoterapi uygulandıktan 24 saat sonrasında gerçekleşen gecikmiş tip bulantı ve kusmalardan sorumludur. P maddesi isimli nörotransmitter santral sinir sistemindeki NK₁ reseptörlerini uyararak bu yolağı tetikler (54).

2.2.4. Kemoterapiye Bağlı Bulantı ve Kusmanın Önlenmesi

Yaklaşık 20-25 yıl önce kemoterapiye bağlı olarak görülen bulantı ve kusmalar hastaların tedavilerinin ertelenmesine veya hastaların tedaviyi reddetmelerine sebep olmaktaydı. Geçen süre içerisinde 90'lı yılların başında 5-HT₃, ilerleyen yıllarda da NK₁ reseptör antagonistlerinin kullanıma sunulması kanser hastalarının destekleyici tedavilerinde çok belirgin iyileşmelere sebep olmuştur (56).

Area postrema bölgesi, vestibüler ve vagal duyuşal nöronların bir birleşim noktası olan *nükleus tractus solitarius* antiemetik ilaçlar için iyi bir etki bölgesidir. Kusmanın kontrolüne yönelik ana yaklaşım, merkezi sinir sistemindeki ve kusma merkezine gelen duyuşal nöronlarda uyarılar oluşmasına aracılık eden GI kanaldaki aktif nörotransmitterleri ve reseptörlerini tanımlayıp bloke etmek üzerinedir. Kusma merkezi, CTZ ve GI kanaldaki bu nörotransmitter reseptörlerini bloke edebilen ajanlar, kusmayı önlemede veya kontrol etmede yararlı olurlar (51). Başarılı bir antiemetik tedavi için, bulantı ve kusmada rol oynayan periferik ve merkezi reseptörlerin bloke edilmesi gereklidir (47).

Kemoterapide kullanılan ilaçlar bulantı ve kusma oluşturma potansiyellerine göre dört sınıfa ayrılmaktadır (57):

- i. **Yüksek derecede emetojenik:** İlacı alan hastalarda bulantı ve kusma görülme olasılığı >%90 (sisplatin, siklofosfamid (doz $\geq 1,5\text{g/m}^2$), karmustin, dakarbazin, mekloreタミン, streptozosin)
- ii. **Orta derecede emetojenik:** İlacı alan hastalarda bulantı ve kusma görülme olasılığı %30-90 (karboplatin, okzaliplatin, siklofosfamid (doz $< 1,5\text{g/m}^2$), ifosfamid, irinotekan, doksorubisin, epirubisin)
- iii. **Düşük derecede emetojenik:** İlacı alan hastalarda bulantı ve kusma görülme olasılığı %10-30
- iv. **Çok düşük derecede emetojenik:** İlacı alan hastalarda bulantı ve kusma görülme olasılığı < %10

Yüksek ve orta derecede emetojenik ilaçlarla tedavi görecektir hastalarda birden fazla ilacın kullanıldığı kombinasyon şeklinde önleyici tedavilerin uygulanması önerilmektedir. Düşük dereceli emetojenik kemoterapi alan hastalar için, kemoterapiden önce 5-HT₃ reseptör antagonisti, deksametazon veya fenotiyazin gibi tek bir antiemetik ajanın kullanılması önerilirken, çok düşük düzeyde emetojenik kemoterapi öncesi

antiemetik profilaksi yapılması zorunlu değildir (57). Bulantı ve kusmanın önlenmesinde deksametazonun etki mekanizması kesin olarak belirlenememiş olmakla birlikte serotonin ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Deksametazon ve benzeri diğer kortikosteroidler vücutta bir serotonin öncülü olan triptofan seviyesini azaltabilirler. Bunun yanında antienflamatuvar etkileri sebebiyle GI sistemden serotonin salınmasını da azaltabilirler (55).

Kanser tedavisiyle ilgili farklı organizasyonlar tarafından, antiemetik tedavi kılavuzları hazırlanmıştır. Profilaksinin antiemetik tedavinin ilk amacı olması ve kemoterapiye bağlı bulantı ve kusmanın görülme riski %10'un üzerinde olan tüm hastalara uygulanması gerektiği temel bir ilke olarak kabul edilmiştir (52). Tablo 2-3'te çeşitli organizasyonlar tarafından hazırlanmış kılavuzlara göre önerilen antiemetik tedavi protokolleri yer almaktadır.

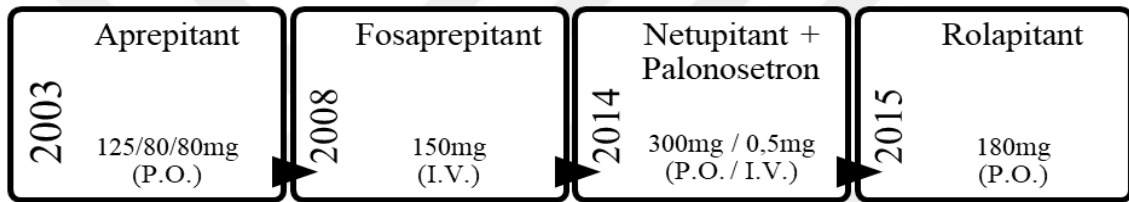
Tablo 2-3: Kılavuzlar tarafından önerilen antiemetik tedavi protokolleri (52, 58)

Risk	Kılavuz	Tedavi Protokolü	
		Akut Faz	Gecikmiş Faz
Yüksek	MASCC-ESMO	5-HT ₃ -RA + deksametazon + aprepitant / fosaprepitant	Deksametazon + aprepitant
	ASCO	5-HT ₃ -RA + deksametazon + aprepitant VEYA Netupitant + palonosetron + deksametazon	Deksametazon + aprepitant VEYA Deksametazon
	NCCN	5-HT ₃ -RA + deksametazon + aprepitant / fosaprepitant / rolapitant, Netupitant + palonosetron + deksametazon, Olanzapin + palonosetron + deksametazon	Deksametazon + aprepitant, Deksametazon, Olanzapin
Orta	MASCC-ESMO	Palonosetron + deksametazon	Deksametazon
	ASCO	Palonosetron + deksametazon VEYA 5-HT ₃ -RA + deksametazon + aprepitant	5-HT ₃ -RA + deksametazon VEYA aprepitant
	NCCN	5-HT ₃ -RA + deksametazon ikili VEYA aprepitant / fosaprepitant / rolapitant eklenmiş üçlü Netupitant + palonosetron + deksametazon, Olanzapin + palonosetron + deksametazon	Deksametazon + aprepitant, Deksametazon, Olanzapin
Düşük	MASCC-ESMO	5-HT ₃ -RA VEYA deksametazon VEYA dopamin reseptör antagonisti	-
	ASCO	Deksametazon	-
	NCCN	5-HT ₃ -RA VEYA deksametazon VEYA metoklopramid VEYA proklorperazin	-

MASCC: Multinational Association for Supportive Care in Cancer (Çok Uluslu Kanserde Destekleyici Bakım Derneği), ESMO: European Society for Medical Oncology (Avrupa Tıbbi Onkoloji Derneği), ASCO: American Society of Clinical Oncology (Amerikan Klinik Onkoloji Derneği), NCCN: National Comprehensive Cancer Network (Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı), 5-HT₃-RA: Serotonin reseptör antagonistleri (-setronlar)

2.2.5. Kemoterapiye Bağlı Bulantı ve Kusmada NK₁ Reseptör Antagonistleri

P maddesi 11 aminoasitten oluşan bir nöropeptit olup NK₁ reseptörleri için endojen bir ligandır. Nörotransmitter olarak görev yapar ve vücuttaki inflamatuvar ve immün yanıtların oluşmasında görev alır. NK₁ reseptörlerinin tanımlanıp izole edilmesiyle bu reseptörlerin antagonistlerinin çeşitli hastalık-sağlık durumlarındaki rolleri incelenmiş ve emezise karşı etkili oldukları görülmüştür. Geliştirilen ilk NK₁ antagonistleri P maddesi baz alınarak hazırlanmış olan peptit veya peptit benzeri yapılardır. Fakat hem stabilite hem de biyoyararlanım sorunları bu maddelerin ilaç olarak geliştirilmelerini engellemiştir. Bu dezavantajların önüne geçilebilmesi için non-peptit NK₁ reseptör antagonistleri tasarlanmıştır (55). Klinikte kullanılan NK₁ reseptör antagonistleri ve FDA tarafından onaylandıkları yıllar Şekil 2-4’te gösterilmektedir.



Şekil 2-4: Yıllara göre FDA tarafından onaylanan NK₁ reseptör antagonistleri (52)

NK₁ reseptör antagonistlerinin 5-HT₃ reseptör antagonistleri ve kortikosteroid tedavisine ek olarak kullanıldıklarında özellikle gecikmiş emezisin önlenmesinde son derece başarılı olduklarını gösteren çok sayıda klinik çalışma bulunmaktadır (59). Aprepitant ve fosaprepitant ile bilgiler ayrı bir başlıkta verilmiştir. Netupitant ve rolapitant klinikte kullanılan daha yeni NK₁ reseptör antagonistleridir. Netupitant oral yoldan kullanılan potent ve seçici bir NK₁ reseptör antagonistidir. Tek bir oral doz olarak verildiğinde uzun bir süre (96 saat) yüksek derecede (%90) reseptör inhibisyonu sağladığı ve vücut tarafından iyi tolere edildiği görülmektedir. Klinikte ikinci nesil 5-HT₃ reseptör antagonisti olan palonosetron ile birlikte sabit doz kombinasyonu (300 mg / 0,5 mg) şeklinde kullanılmaktadır. Bu kombinasyon literatürde “NEPA” kısaltmasıyla anılmaktadır (60). Rolapitant yine oral olarak kullanılan ve yüksek merkezi sinir sistemi penetrasyonuna sahip, seçici ve oldukça uzun etkili bir NK₁ reseptör antagonistidir. Rolapitantın 180 saatlik yarılanma ömrü, oral aprepitant ile kıyaslandığında önemli ölçüde daha uzundur (59). Benzer yapıya sahip kasopitant veya ezlopitant gibi moleküller de üretilmiş olmasına rağmen bunlar ilaç olarak piyasaya çıkamadan çalışmaları sonlandırılmıştır (59).

2.3. Oral Yoldan Kullanılan Lipid Bazlı İlaç Sistemleri

Yeni keşfedilen veya mevcut ilaç moleküllerinin büyük bir çoğunluğu suda zayıf bir çözünürlüğe sahiptirler. Düşük su çözünürlükleri nedeniyle bu moleküllerin oral uygulanması büyük bir zorluk oluşturmaktadır. Bu moleküllerin GI sistem lümeninden absorpsiyonu, çözünme ile kontrol edilir ve çözünme hızı emilim için hız kısıtlayıcı bir basamak haline gelir (61).

Çözünürlüğü düşük ilaçların çözünürlüğünü ve çözünme hızını artırmak için, literatürde partikül boyutunun azaltılması, yüzey etkin maddelerin kullanılmasıyla misel tipi sistemlerin oluşturulması, suda çözünür komplekslerin (siklodekstrin gibi) oluşturulması, ön ilaç veya tuz formlarının kullanılması, amorf katı dispersiyonların hazırlanması, lipid bazlı ilaç sistemlerinin geliştirilmesi gibi teknikler bulunmaktadır (62, 63). Yağ bakımından zengin bir öğün ile birlikte uygulandığında, suda çözünürlüğü düşük lipofilik ilaçların oral biyoyararlanımının artabileceğinin farkına varılması, lipid bazlı ilaç sistemlerine karşı olan ilginin de artmasına yol açmıştır. Lipid bazlı ilaç sistemlerinin, oral biyoyararlanımı artırmasında çeşitli mekanizmalar bulunmaktadır. Ancak etkin maddenin GI sistemdeki çözünürlüğünün artırılmasının, en önemli mekanizma olduğu düşünülmektedir (64).

Lipid bazlı ilaç sistemleri birçok avantaja sahip olup bunlar aşağıda özetlenmiştir (61):

- i. Biyoyararlanımın artmasına bağlı olarak doz azaltımına olanak tanır.
- ii. Zayıf çözünürlüklü ilaçların emiliminde görülen değişkenliklerin önlenmesini sağlar.
- iii. Emilimde gıda etkisini önler.
- iv. İlaçların GI sistemdeki spesifik emilim bölgelerine yönlendirilmelerini sağlar.
- v. İlaçları GI kanalındaki zorlu koşullara karşı korurlar.
- vi. İlaç salım profilinin kontrol edilebilmesini sağlar.
- vii. Yüksek oranda ilaç yükleme kapasitesine sahiptir.

Sayılan bu avantajlar lipid bazlı formülasyonların müstahzarlar olarak üretilip piyasaya sunulmasını sağlamıştır. Tablo 2-4'te lipid bazlı formülasyon şeklinde üretilmiş bazı müstahzarlara ve içeriklerine yer verilmiştir.

Tablo 2-4: Piyasada bulunan bazı lipid bazlı formülasyonlar (65)

Etkin Madde (Müstahzar)	Endikasyon	İçerik
Siklosporin A (Neoral®)	İmmünsüpresan	dl- α - tokoferol, mısır yağı mono-di-trigliseritleri, Cremophor® RH40, etanol, propilen glikol
Kalsitriol (Rocaltrol®)	Ca ⁺² metabolizması regülatörü	fraksiyonlanmış hindistan cevizi trigliseritleri, fraksiyonlanmış palm tohumu yağı trigliseritleri
Amprenavir (Agenerase®)	HIV antiviral	TPGS, PEG 400, propilen glikol
Dutasterid (Avodart™)	BPH tedavisinde	kaprilik ve kaprik asidin mono- ve digliseritleri karışımı
İzotretinoin (Accutane®)	Akne tedavisinde	balmumu, hidrojenize soya yağı, hidrojene bitkisel yağlar
Lopinavir-Ritonavir (Kaletra®)	HIV antiviral	oleik asit, Cremophor® EL, propilen glikol
Sirolimus (Rapamune®)	İmmünsüpresan	Phosal® 50PG (fosfotidilkolin mono- ve digliseritleri, soya yağ asitleri, askorbil palmitat), polisorbata 80

TPGS: D- α -tokoferil polietilen glikol süksinat, BPH: Benign prostat hiperplazisi, PEG: Polietilen glikol, HIV: Human Immunodeficiency Virus (İnsan immünyetmezlik virüsü)

Lipid bazlı ticari formülasyonlar kapsül veya çözelti formlarında piyasada bulunmaktadır. Tam olarak sayı vermek güç olsa da piyasada müstahzar olarak bulunan ilaçların ortalama %2 ila %4'ünün lipid bazlı ilaç sistemleri şeklinde olduğu düşünülmektedir (66). Oral uygulamaya yönelik lipid bazlı ilaç sistemleri genellikle trigliseritler, kısmi gliseritler, yüzey etkin maddeler veya yardımcı yüzey etkin maddeler gibi iki veya daha fazla yardımcı maddeden oluşan bir karışım içerisinde çözündürülmüş bir etkin maddeden oluşur (67). Lipid bazlı ilaç sistemleri Pouton tarafından ilk olarak 2000 yılında (67) sınıflandırılmış, daha sonra 2006 yılında (68) yine Pouton tarafından güncellenmiştir. Güncel sınıflamaya göre lipid bazlı ilaç sistemleri içerdikleri maddelerin oranlarına göre 5 sınıfa ayrılmış olup, bunlar Tablo 2-5'te gösterilmiştir.

Tablo 2-5: Lipid bazlı ilaç sistemlerinin sınıflandırılmaları (68)

Tip	İçerik	Özellik	Avantaj	Dezavantaj
Tip I	Gliseritler (%100)	Suda dağılmaz, sindirilmeleri gerekli	GRAS statüsünde, kapsül kabuğuyla geçimli formülasyonlar	İlaç yağda çok çözünmüyorsa çoğu zaman çözme kapasitesi yetersiz
Tip II	Gliseritler (%40-80) Lipofilik surfaktanlar (%20-60)	Suda çözünen yardımcı madde bulunmayan SEDDS	Çözücü kapasitesini kaybetme olasılığı çok düşüktür	Bulanık s/y tipi emülsiyonlar (0,25-2µm)
Tip IIIA	Gliseritler (%40-80) Lipofilik surfaktanlar (%20-40) Hidrofilik surfaktanlar (%0-40)	Suda çözünen ve çözünmeyen yardımcı maddeler içeren SEDDS veya SMEDDS	Berrak veya neredeyse berrak dağılımlar, ilaç Emilimi için sindirim gerekmez	Formülasyonun çözücü kapasitesini kaybetme olasılığı mümkün
Tip IIIB	Gliseritler (< %20) Hidrofilik surfaktanlar (%20-50) Kosolvanlar (%20-50)	Sadece suda çözünen yardımcı maddeler içeren, düşük oranda yağ içeren SMEDDS	Berrak dağılımlar, ilaç Emilimi için formülasyonun sindirilmesi gerekmez	Formülasyonun çözücü kapasitesini kaybetme olasılığı yüksek
Tip IV	Lipofilik surfaktanlar (%0-20) Hidrofilik surfaktanlar (%30-80) Kosolvanlar (%0-50)	Yağ içermeyen sadece yüzey etkin madde, yardımcı yüzey etkin madde kosolvan içeren formülasyonlar	Birçok ilaç için yüksek çözücü kapasitesine sahip, misel tipi çözelti oluştururlar	Formülasyon çözücü kapasitesini kaybeder, sindirilmeden GI kanaldan geçebilirler

SEDDS: Kendiliğinden emülsifiye ilaç sistemleri, SMEDDS: Kendiliğinden mikroemülsifiye ilaç sistemleri, SNEDDS: Kendiliğinden nanoemülsifiye ilaç sistemleri

Lipid bazlı ilaç sistemleri, lipid çözeltilerindeki veya süspansiyonlarındaki basit ilaçlardan, emülsiyonlara ve daha karmaşık kendiliğinden emülsifiye / mikroemülsifiye / nanoemülsifiye (SEDDS / SMEDDS / SNEDDS) sistemlere kadar değişiklik gösterebilirler (69). Lipid içeren ilaç sistemleri emülsiyon bazlı sistemler, veziküler sistemler (lipozom, niozom) ve partiküler sistemler (katı lipid nanopartiküller, nanoyapılı lipid kapsüller, ilaç-lipid konjugatları) olmak üzere sınıflandırılabilirler (70-72).

2.4. Kendiliğinden Nanoemülsiyeye Olan İlaç Sistemleri

2.4.1. Tanım ve Terminoloji

Kendiliğinden nanoemülsiyeye olan ilaç sistemleri (SNEDDS) hafif çalkalama koşulları altında sulu bir faz ile karşılaştığında kendiliğinden, genellikle 200 nm altında damlacık boyutuna sahip y/s tipi nanoemülsiyonlar oluşturan izotropik karışımlardır. Nanoemülsiyonların oluşumu için gerekli olan çalkalama, *in vivo* ortamdaki GI sistem hareketliliği ile sağlanır. SNEDDS etkin maddenin dışında yağ, yüzey etkin madde, yardımcı yüzey etkin madde ve kosolvan gibi maddeler içerirler (4).

SMEDDS veya SNEDDS formülasyonlarından elde edilen dispersiyonların mikroemülsiyon olarak tanımlanması terminoloji ile ilgili olarak sık karşılaşılan bir hata olup, uygun değildir. Tanıma göre mikroemülsiyonlar kendiliğinden oluşan termodinamik açıdan kararlı sistemlerdir, oysa SMEDDS veya SNEDDS seyreltilmesiyle oluşan mikro veya nano damlacık boyutlu emülsiyonlar, termodinamik açıdan kararlı olmak zorunda değildir ve oluşumları için bir miktar enerji girdisine (hafif karıştırma veya GI sistem hareketliliği gibi) ihtiyaç duyabilirler (69, 73). Bu sistemler küçük damlacık boyutları nedeniyle flokülasyon ve koalesans gibi olaylara karşı dayanıklı olup yapılarının bozulması uzun zaman aldığından kinetik açıdan kararlı kabul edilirler (74). Mikroemülsiyonlar sıcaklık değişimlerine veya dilüsyona karşı oldukça duyarlı olup özelliklerinde önemli değişiklikler gözlenir. Fakat nanoemülsiyon damlacıkları bu gibi fiziksel değişimlerden fazla etkilenmezler. Mikroemülsiyonlar ile nanoemülsiyonlar arasındaki bir diğer önemli fark da formülasyonlar hazırlanırken içerikte bulunan maddelerin karıştırılma sıralarıdır. Nanoemülsiyon hazırlanırken surfaktanlar önce mutlaka yağ fazı ile karıştırılmalıdır. Bu sıraya uyulmadan surfaktanlar önce su ile karıştırıldıkları takdirde ancak makroskopik emülsiyonlar hazırlanabilirken, mikroemülsiyonlarda karıştırma sırasının bir önemi yoktur (73, 74). Tüm bu nedenlerle lipid bazlı ilaç sistemi sınıflandırmasına göre tip IIIB olan formülasyonların SNEDDS olarak adlandırılması karışıklığı önleyecek bir yaklaşım olacaktır (69).

Dikkat edilmesi gereken bir diğer önemli terminolojik özellik SNEDDS ve nanoemülsiyonlar arasındadır. SNEDDS nanoemülsiyon konsantreleri veya susuz nanoemülsiyon öncülü formülasyonlardır. Bileşimlerinde su bulunmaz, ancak su ile karşılaştıklarında nanoemülsiyona dönüşürler (4). Nanoemülsiyonlar ise yüzey etkin madde moleküllerinin bir ara yüzey filmi oluşturarak stabilize ettiği yağ ve su

dispersiyonları olup yapılarında su içerirler (75). Nanoemülsiyonların hazırlanmasında kullanılan yöntemler yüksek enerji gerektiren yöntemler ve düşük enerji gerektiren yöntemler olarak iki ana başlıkta incelenebilir. Yüksek enerji gerektiren yöntemlerde damlacık boyunun küçültülmesi için yüksek basınçlı homojenizatörler veya ultrasonik aletler gibi cihazlar kullanılır. Düşük enerjili yöntemlerde ise nanoemülsiyon damlacıkları, çeşitli fiziksel koşul değişiklikleri sonucunda faz dönüşümü ile oluşur (76). SNEDDS tipi formülasyonlarda nanoemülsiyon oluşumu düşük enerjili yöntemler içinde bulunan faz dönüşüm kompozisyonu (phase inversion composition) veya diğer adıyla kendiliğinden emülsifikasyon yöntemindeki prensibe dayanmaktadır (77).

SNEDDS nanoemülsiyonlar ile kıyaslandıklarında bazı avantajlara sahiptirler. Bu avantajlar aşağıda özetlenmiştir (4):

- i. Uzun süreli saklamada daha yüksek fiziksel ve kimyasal stabiliteye sahiptir.
- ii. Birim dozaj formlarına dönüştürülebilme imkanları vardır.
- iii. İlacın tadı ile ilgili herhangi bir sorun yaşanmaz.
- iv. Hastalar açısından kullanım rahatlığı olduğundan tedaviye uyunç problemi yaşanmaz.

2.4.2. Kendiliğinden Emülsifikasyon Olayı

Kendiliğinden emülsifikasyonun meydana geldiği süreç henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Bununla birlikte, dispersiyonu destekleyen entropi değişiminin, dispersiyonun yüzey alanını artırmak için gereken enerjiden daha büyük olduğunda, kendiliğinden emülsifikasyonun meydana geldiği düşünülmektedir. Klasik emülsiyon oluşumu için gereken serbest enerji, damlacık oluşumuna bağlı olarak yeni yaratılan yüzey alanı ile doğrudan ilişkilidir (78). Bu durum Denklem 2-1’de gösterilmiştir.

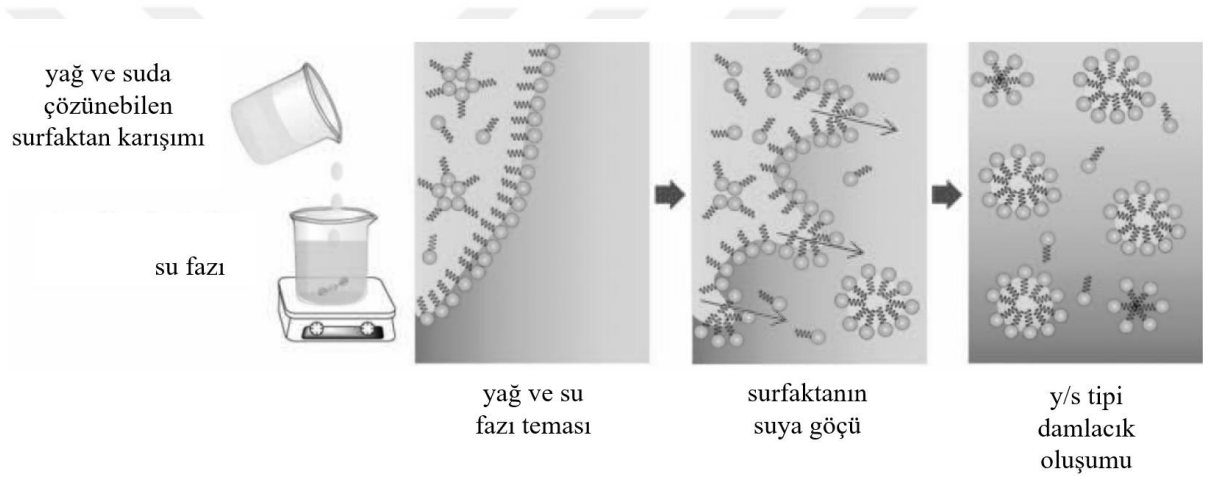
$$\Delta G = \sum_i N_i \pi r_i^2 \delta \quad (2-1)$$

ΔG : serbest enerji, N : yeni oluşan damlacık sayısı, r : oluşan damlacık yarıçapı, δ : yüzeylerarası enerji

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemlerde ΔG ya çok düşük bir pozitif değere ya da negatif bir değere sahiptir. ΔG çok düşük bir pozitif değer ise bu

emülsifikasyon için hafif bir çalkalama veya karıştırmaya ihtiyaç duyulduğu anlamına gelirken, değerin negatif olması emülsifikasyonun doğrudan kendiliğinden gerçekleşeceğini göstermektedir (78). Emülsifikasyon için düşük bir enerjiye gereksinim duyulması endüstriyel ölçekte üretimde de bir avantaj oluşturmaktadır (74).

Birbiri ile karışmayan yağ ve su fazı gibi iki fazdan birinin içerisine (örneğin yağ fazına) her iki fazla da karışabilen amfifilik bir molekül eklenip bu fazlar bir araya getirildiğinde, yağ-su yüzeylerarası alanı artar ve amfifilik molekül ilk içinde bulunduğu fazdan damlacıklar kopararak diğer faza doğru göç eder. Böylece kendiliğinden emülsifikasyon gerçekleşmiş olur (77). Kendiliğinden emülsifikasyon aşamaları Şekil 2-5'te gösterilmiştir.



Şekil 2-5: Kendiliğinden emülsifikasyon olayı (77)

2.4.3. İlaç Emiliminde Nano Boyutun Önemi

Yeni geliştirilen ilaç adaylarının çok büyük kısmı suda zayıf (1-10 µg/mL) çözünürlüğe sahiptir (35). İlaçlar çözünürlük ve membran geçirgenliği özelliklerine göre sınıflara ayrılmışlardır. Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS) adı verilen bu sistem dört alt sınıftan oluşmaktadır (79). Sınıfların özellikleri Tablo 2-6'da gösterilmiştir.

Tablo 2-6: BCS sınıfları (79)

BCS Sınıfı	Çözünürlük	Geçirgenlik
I	Yüksek	Yüksek
II	Düşük	Yüksek
III	Yüksek	Düşük
IV	Düşük	Düşük

Sınıf II ve sınıf IV'te bulunan ilaçların gastrointestinal sistemdeki çözünürlüklerinin ve çözünme hızlarının artırılması biyoyararlanımlarının artmasını sağlayabilmektedir (79). Çözünme hızını etkileyen faktörler Noyes-Whitney eşitliği (Denklem 2-2) ile açıklanabilir. Doymunluk konsantrasyonu, çözünmüş ilaç konsantrasyonu, difüzyon tabakasının kalınlığı, çözünme yüzey alanı ve difüzyon katsayısı çözünme hızı için kritik faktörlerdir (80).

$$\frac{dC}{dt} = \frac{A \times D}{h} \times (C_s - C) \quad (2-2)$$

dC/dt: çözünme hızı, A: yüzey alanı, D: çözünenin difüzyon sabiti, h: difüzyon yüzeyi katman kalınlığı, Cs: çözünürlük, C: herhangi bir andaki konsantrasyon

Çözünme olayı sink koşulda gerçekleştiğinde C_s değeri C'den çok büyük olacaktır. İlaç moleküllerinin sudaki difüzyon katsayısı göreceli olarak yüksek olup ve difüzyon katman kalınlığını değiştirmek mümkün değildir. Bu nedenle çözünme hızını artırmak için yapılan formülasyon stratejileri doymunluk konsantrasyonunu veya yüzey alanını artırmaya yöneliktir (81).

SNEDDS özellikle BCS sınıf II ve IV'e ait olanlar olmak üzere, çözünme hızına bağımlı absorpsiyon sergileyen düşük çözünürlüklü ilaçların verilmesi için en uygun ve ticari olarak geçerli yaklaşımlardan birini oluşturur (82). Kendiliğinden emülsifikasyon ile oluşan nano boyutlu damlacıklar etkin maddenin yüzey alanının artmasını sağlayarak çözünme hızını artırır. Ancak daha düşük damlacık boyutunun her zaman daha iyi biyoyararlanım anlamına gelmeyeceği de unutulmamalıdır (73). Nanoemülsiyon veya kendiliğinden emülsifikasyon yaklaşımının endüstride sık kullanılan bir diğer teknik olan nanokristal teknolojisi ile kıyaslandığında bazı avantajlara sahip olduğu görülmektedir. Bunlar, düşük enerji maliyetli ve az basamaktan oluşan üretim süreci, oküler, topikal gibi farklı uygulama yollarından uygulanabilme, içerdikleri yardımcı maddeler sayesinde ilacın GI kanal permeabilitesini artırabilme olarak kısaca özetlenebilir (83).

SNEDDS formülasyonlarının doymunluk konsantrasyonunun artırılmasıyla Super-SNEDDS veya aşırı doymun SNEDDS adı verilen formülasyonlar hazırlanabilir. Bunlar etkin maddenin SNEDDS konsantresi içindeki aşırı doymun çözeltiler olarak

düşünülebilir (84). Bu tipteki formülasyonlar Noyes-Whitney eşitliğine göre GI kanalda konsantrasyon gradiyentini (C_s-C) artırarak çözünme hızını ve emilimi artırabilirler (85).

2.4.4. SNEDDS Tipi Formülasyonların Dezavantajları ve Avantajları

SNEDDS tipi formülasyonların dezavantajları Tablo 2-7, avantajları Tablo 2-8’de özetlenmiştir.

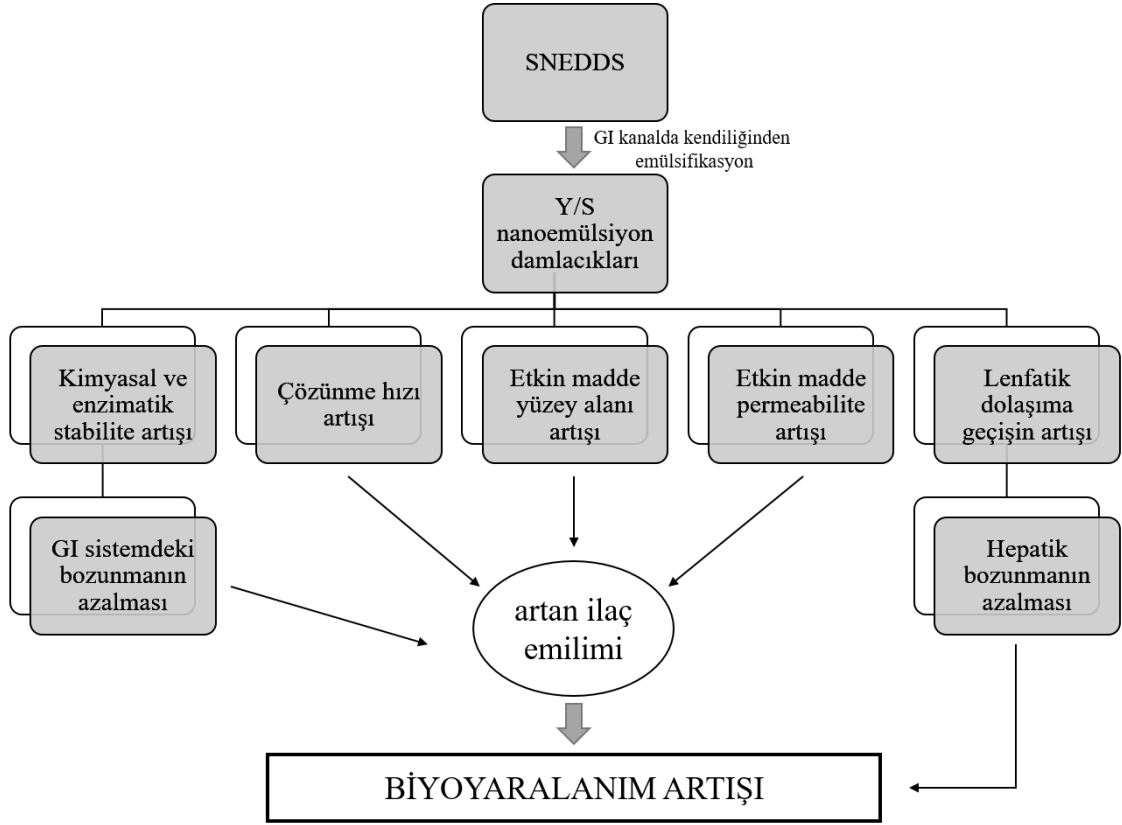
Tablo 2-7: SNEDDS tipi formülasyonların dezavantajları (4, 68, 69)

Dezavantaj	Açıklama
Kapsül tipinde tasarlanan formülasyonlarda çeşitli sorunlarla karşılaşılabilir.	Kapsül gövdesini oluşturan yapı (jelatin veya HPMC gibi) ile formülasyon arasında geçimsizlik yaşanabilir. Sıvı formülasyon kapsülde sızabilir.
Çeşitli stabilite sorunları görülebilir.	Özellikle duyarlı etkin maddelerin sıvı tipteki SNEDDS formülasyonlarında oksidasyon, hidroliz vb. stabilite sorunlarıyla karşılaşılabilir.
Etkin madde çökmesi görülebilir.	Saklama koşullarına bağlı olarak, zaman içerisinde sıvı SNEDDS formülasyonlarında etkin madde kristallenip çökebilir. Etanol gibi uçucu kosolvanlar içeren formülasyonlarda kosolvanın uçmasına veya kapsül kabuğuna göçüne bağlı olarak da bu durum gözlenebilir.
Çok yüksek dozda kullanılan etkin maddeler için uygun olmayabilir.	Çok yüksek dozda kullanılan etkin maddeler SNEDDS formülasyonu içerisinde yeteri miktara çözünemeyebilir.
Genellikle hemen salım yapan ilaç formülasyonlarının hazırlanmasında kullanılırlar.	Kontrollü salım sistemleri geliştirmeye çok uygun olmamakla birlikte bu konuda istisnalar mevcuttur.
GI sistem irritasyonu riski vardır.	Yüksek miktarda yüzey etkin madde içeren formülasyonlar GI kanal irritasyonuna neden olabilir. Bu durum özellikle kronik hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere tasarlanan formülasyonlarda göz önünde bulundurulması gereken bir durumdur.

Tablo 2-8: SNEDDS tipi formülasyonların avantajları (4, 86, 87)

Çözünürlük artışı sağlar.	logP'si 1-3 arasında kalan çoğu etkin madde yağlı maddelerde amfifilik yapılı surfaktan veya kosurfaktanlara göre daha az çözünür. Böyle etkin maddelerin SNEDDS formülasyonlarının hazırlanması yükleme kapasitesini artırır ve yüksek dozdaki ilaçların bile bu şekilde verilebilmesi sağlar. (örneğin Fortovase® 200 mg)
Emilimi ve dolayısıyla biyoyararlanımı artırır.	İlaç zaten SNEDDS formülasyonu içerisinde çözünmüş durumda hastaya verilir. Dolayısıyla çözünme bir hız kısıtlayıcı basamak olmaktan çıkmış olur. Özellikle BCS sınıf II ve IV olan etkin maddelerin biyoyararlanımını artırır. Biyoyararlanımda görülen artış doz azaltımına olanak tanıyacağından yan etkilerde azalma görülebilir.
Yüksek stabiliteye sahiptir.	Bu sistemler su içermediklerinden uzun süreli saklamada fiziksel ve kimyasal stabilite açısından avantaj sağlar. SNEDDS formülasyonları çeşitli tekniklerle kuru forma dönüştürülerek stabiliteyi artırılabilir.
Zayıf geçirgenliğe sahip ilaçların membrandan geçişini artırabilir.	Oleik asit, kaprilik asidin monogliseritleri veya PG esterleri, Labrasol®, Vitamin E TPGS, Tween® 80, PEG 400, Transcutol® gibi SNEDDS formülasyonlarında sıklıkla kullanılan maddeler etkin maddelerin membran geçirgenliğini artırma özelliğine sahiptir. BCS sınıf IV ilaçların biyoyararlanımının artırılmasında önemli bir özelliktir.
Presistemik eliminasyon veya ilk geçiş etkisini azatabilir.	Gelucire® 44/14 ve Labrasol® gibi SNEDDS formülasyonlarında kullanılan maddeler CYP450 inhibitörü/modülatörü etkinliğe sahiptir. Ayrıca özellikle uzun zincirli mono ve trigliserit içeriğine sahip maddeler hidrofobik etkin maddelerin lenfatik geçişini artırma özelliğine sahiptir.
P-gp inhibisyonu yaparak biyoyararlanımı artırabilir.	Vitamin E TPGS, Solutol® HS15, Labrasol®, Cremophor® EL, Gelucire® 44/14, Polysorbate® 80, Imwitor® 742, Akoline® MCM, Peceol™ gibi SNEDDS formülasyonlarında kullanılan maddeler P-gp inhibisyonu yapma özelliğine sahiptir. Bu durum ilacın hücre içinden atılmasını önleyip oral biyoyararlanımın artmasını sağlar.
İlacın emiliminde besin etkisinin önüne geçer.	SNEDDS besinlerle birlikte uygulandığında ilacın emilimi üzerinde bu durumun etkisi ya çok azdır ya da hiç etkisi yoktur. Açlık veya tokluk durumlarında ilaç emilimi değişmez. Böylece birey içi veya bireyler arasında biyoyararlanım farklılıkları önlenmiş olur.
Hızlı etki gösterir.	Enflamasyon, hipertansiyon, angina gibi hızlı etkinin istendiği durumlar için uygundur.
Hastanın tedaviye uyuncu yüksektir.	Bir çok SNEDDS formülasyonu hastaların kolaylıkla alabilecekleri kapsül, tablet gibi katı dozaj formlarına dönüştürülebilir. Böylelikle ilacın istenmeyen tat ve kokusu var ise maskelenmiş olur.
Üretim ve ölçek büyütme kolaydır.	Herhangi bir ilaç sisteminin başarısı, endüstriyel uygulanabilirliğinde yatmaktadır. SNEDDS sadece basit karıştırıcılar ve hacimsel sıvı doldurma ekipmanı gibi oldukça ekonomik üretim tesislerinde üretilebilir. Ölçek büyütmede de herhangi bir sorun çıkarmaz.

SNEDDS tipi formülasyonlarda etkin madde biyoyararlanımını artıran ana faktörler Şekil 2-6'da özetlenmiştir.



Şekil 2-6: SNEDDS formülasyonlarında biyoyararlanımı artıran ana faktörler (88)

2.4.5. SNEDDS Formülasyonlarında Kullanılan Yardımcı Maddeler

SNEDDS formülasyonlarının başarılı bir şekilde geliştirilmesi, kendiliğinden nanoemülsifikasyon olayının tam olarak anlaşılmasına ve kullanılan yardımcı maddelerin özelliklerine bağlıdır. SNEDDS üretimi için kullanılan bileşenlerin (yağlar, yüzey etkin maddeler, yardımcı yüzey etkin maddeler, kosolvanlar) fizikokimyasal ve biyolojik özellikleri, bu maddelerin formülasyon içerisindeki oranları, nanoemülsifikasyonun gerçekleştiği ortam özellikleri (sıcaklık, pH) ve etkin maddeye bağlı özellikler (pKa, logP gibi) kendiliğinden nanoemülsifikasyonu etkileyen özellikler olup formülasyon tasarımında dikkat edilmesi gereken faktörlerdir (4).

2.4.5.1. SNEDDS Formülasyonlarında Kullanılan Yağlar

Yağ fazında kullanılan yağın fizikokimyasal özellikleri (moleküler hacim, polarite, viskozite gibi) nanoemülsifikasyon etkinliğini, damlacık boyutunu, ilaç

çözünürlüğünü, nanoemülsiyonların ve ilacın *in vivo* ortamdaki akibetini önemli ölçüde etkilediği için SNEDDS formülasyonlarında büyük öneme sahiptir (4). Genel olarak, SNEDDS formülasyonlarında değişen derecelerde doygunluğa sahip orta veya uzun zincirli gliseritler kullanılır. Doygun (çift bağ içermeyen) yağlar oksidasyona karşı daha dirençlidir (89). Formülasyonlarda hem yükleme kapasitesi hem de ilaç absorpsiyonundaki etkileri nedeniyle genellikle etkin maddeyi en çok çözme yeteneğine sahip olan yağ tercih edilir (90). Gliseritler, kullanımı güvenli olmaları ve düşük maliyetleri nedeniyle tercih edilmektedir (69). Doğal yenilebilen yağlar da (hint yağı, soya fasulyesi yağı, hindistan cevizi yağı vb.) SNEDDS formülasyonlarında kullanımı olan yağlardır. Ancak çoğu zaman ilaç yükleme kapasiteleri düşük ve emülsifikasyon etkinlikleri zayıf olduğundan tercih edilmezler (86). Modifiye edilmiş orta zincirli trigliseritler ve uzun zincirli trigliseritler formülasyonlarda daha sıklıkla kullanılır. Orta zincirli trigliseritlerin zincir uzunlukları 8-10 karbon arasında değişirken, zincir uzunluğu 10 karbondan büyük olanlar uzun zincirli trigliseritler olarak isimlendirilirler (90). Zincir uzunluğu arttıkça emülsifikasyon etkinliğinde azalma görülmektedir. Bununla birlikte uzun zincirli trigliseritler, ilaçların bağırsaklardan lenfatik dolaşıma alımını artırır (4, 69). İlaç moleküllerinin büyük çoğunluğu sırasıyla enterositler yoluyla mezenterik damarlar, portal ven ve karaciğerden geçerek sistemik dolaşıma katılırlar. Bu yolu takip etmeden doğrudan lenfatik dolaşıma alım, ilk geçiş etkisinin önlenmesi gibi çok önemli bir imkan sağlar (91). Orta zincirli trigliseritler oksidasyona yatkın olmadıklarından, çoğu etkin madde için iyi bir çözücü olduklarından ve emülsifikasyon etkinliklerinin yüksek olmasından dolayı lipid bazlı formülasyonlarda kullanım için daha popüler bir seçimdir (69, 86). Surfaktan özelliklerine sahip amfifilik bileşikler olarak tanımlanabilecek yeni yarı sentetik orta zincir uzunluğuna sahip yağ türevleri, klasik orta zincirli trigliseritlerin yerini almaktadır. Daha az hidrofobik ilaçlar için formülasyonun çözücü kapasitesi, trigliseritlere mono ve digliserit karışımlarını içeren yardımcı maddelerin eklenmesiyle artırılabilir (61). Bazı kaynaklarda bu tip yağlar polar yağlar olarak adlandırılmaktadır (69).

Tek bir yağlı bileşenin optimum özelliklere sahip olması zor olabileceği için belirli durumlarda, yağlı fazın optimum özelliklerini karşılamak için bir yağ karışımı kullanmak da mümkün olabilmektedir (4). SNEDDS formülasyonlarında kullanılabilecek yağlar ve içerikleri Tablo 2-9'da verilmiştir.

Tablo 2-9: SNEDDS formülasyonlarında kullanılabilecek yağlar (92-96)

Yapı	İsim	Bileşim
Kaprilik-Kaprik Trigliseritler	Miglyol® 808	Kaprilik asit (C ₈) > %95
	Captex® 8000	Kaprilik asit (C ₈)
	CremerCOOR® MCT C10	Kaprik asit (C ₁₀) > %96
	Miglyol® 810	Kaprilik asit (C ₈) %65-80 , Kaprik asit (C ₁₀) %20-35
	Miglyol® 812	Kaprilik asit (C ₈) %50-65 , Kaprik asit (C ₁₀) %30-45
	Miglyol® 818	Kaprilik asit (C ₈) %45-65 , Kaprik asit (C ₁₀) %30-45 , Linoleik asit (C _{18:2}) %2-5
	Miglyol® 829	Kaprilik asit (C ₈) %45-55 , Kaprik asit (C ₁₀) %30-40
	Labrafac™ lipophile WL 1349	Kaprilik asit (C ₈) %50-80 , Kaprik asit (C ₁₀) %20-50
	Kollisolv® MCT 70	Kaprilik asit (C ₈) %50-80 , Kaprik asit (C ₁₀) %20-50
	Captex® 300	Kaprilik asit (C ₈) %70 , Kaprik asit (C ₁₀) %25-35
	Captex® 355	Kaprilik asit (C ₈) %55 , Kaprik asit (C ₁₀) %35-45
Yenilebilir Yağlar	Zeytin Yağı	Oleik asit (C _{18:1}) %55-83 , Palmitik asit (C ₁₆) %7,5-10 trigliseritleri
	Ayçiçeği Yağı	Oleik asit (C _{18:1}) %21 , Linoleik asit (C _{18:2}) %66 trigliseritleri
	Hint Yağı	Risinoleik asit (C _{18:1}) %87 trigliseritleri
	Soya Yağı	Oleik asit (C _{18:1}) %17-26 , Linoleik asit (C _{18:2}) %50-57 trigliseritleri
	Yerfıstığı (Araşit) Yağı	Oleik asit (C _{18:1}) %47 , Linoleik asit (C _{18:2}) %32 trigliseritleri
	Kakao Yağı	Palmitik asit (C ₁₆) %26 , Stearik asit (C ₁₈) %34,5 , Oleik asit (C _{18:1}) %34,5 trigliseritleri
	Hindistan Cevizi Yağı	Laurik asit (C ₁₂) %48 , Miristik asit (C ₁₄) %16 , Palmitik asit (C ₁₆) %9,5 trigliseritleri
	Susam Yağı	Oleik asit (C _{18:1}) %45 , Linoleik asit (C _{18:2}) %40 trigliseritleri
Uçucu Yağlar	Nane Yağı	%41 mentol, %23 menton
	Tarçın Yağı	Linalol %36, Metil öjenol %12,8 , Limonen %8,3 , α-terpineol %7,8
	Limon Yağı	Limonen %39,7 , β-Pinene %25,4

Tablo 2-9: SNEDDS formülasyonlarında kullanılabilecek yağlar (devam)

Yağ asitleri	Oleik asit	Oleik asit (C _{18:1}) %100
Yağ Esterleri	Kollicream® IPM	Miristik asit (C ₁₄) izopropil alkol esteri %100
Monogliseritler	CremerCOOR® GC8	Kaprilik asit (C ₈) monogliseritleri (≥ %80)
	CremerCOOR® GMO 90	Oleik asit (C _{18:1}) monogliseritleri (≥ %92)
Kaprilik-Kaprik Gliserit Karışımları	Capmul® 808G	Kaprilik asit (C ₈) ≥ %90 karışık gliseritler / mono- (≥ %80) , di- (≤ %20) , tri- (≤ %5)
	Capmul® MCM C8	Kaprilik asit (C ₈) ≥ %90 karışık gliseritler / mono- (%45-75) , di- (%20-50) , tri- (< %10)
	IMWITOR® 308	Kaprilik asit (C ₈) ≥ %90 karışık gliseritler / mono- (≥ %80) , di- (≤ %20) , tri- (≤ %5)
	IMWITOR® 988	Kaprilik asit (C ₈) ≥ %90 karışık gliseritler / mono- (%45-75) , di- (%20-50) , tri- (≤ %10)
	IMWITOR® 742	Kaprilik asit (C ₈) %50-90 ve Kaprik asit (C ₁₀) %10-50 karışık gliseritler / mono- (%45-55) , di- (%20-50) , tri- (≤ %10)
	Capmul® MCM	Kaprilik asit (C ₈) %50-90 ve Kaprik asit (C ₁₀) %10-50 karışık gliseritler / mono- (%45-75) , di- (%20-50) , tri- (≤ %10)
Oleik-Linoleik Gliserit Karışımları	Peceol™	Oleik asit (C _{18:1}) ≥ %60 ve Linoleik asit (C _{18:2}) ≤ %35 karışık gliseritler / mono- (%32-52) , di- (%30-50) , tri- (%5-20)
	Capmul® GMO-50	Oleik asit (C _{18:1}) ≥ %60 ve Linoleik asit (C _{18:2}) ≤ %35 karışık gliseritler / mono- (%55-65) , di- (%15-35) , tri- (%2-10)
	Maisine® CC	Oleik asit (C _{18:1}) ≥ %50 ve Linoleik asit (C _{18:2}) ≤ %35 karışık gliseritler / mono- (%32-52) , di- (%40-55) , tri- (%5-20)
Kaprilik-Kaprik Propilen Glikol Diesterleri	Miglyol® 840	Kaprilik asit (C ₈) %65-80 ve Kaprik asit (C ₁₀) %20-35 propilen glikol diesterleri
	CremerCOOR® PPG 810	Kaprilik asit (C ₈) %50-80 ve Kaprik asit (C ₁₀) %20-50 propilen glikol diesterleri
	Captex® 200P	Kaprilik asit (C ₈) ve Kaprik asit (C ₁₀) propilen glikol diesterleri
	Labrafac™ PG	Kaprilik asit (C ₈) %50-80 ve Kaprik asit (C ₁₀) %20-50 propilen glikol diesterleri
Diğer	Kollisol® GTA	Triasetin
	Vitamin E	α-tokoferol
	Phosal® 53 MCT	Fosfatidilkolin (≥ %53) ve orta zincirli trigliserit karışımı

2.4.5.2. SNEDDS Formülasyonlarında Kullanılan Surfaktanlar

Lipitlerin yanında, SNEDDS formülasyonlarındaki diğer bir önemli bileşen surfaktanlardır. İstenen kendiliğinden emülsifikasyon özelliklerini sağlamak için formülasyonlarda bulunmaları zorunludur.

SNEDDS formülasyonlarında surfaktan seçimini etkileyen temel iki özellik surfaktanın güvenilirliği ve hidrofilik lipofilik denge (HLB) değeridir. Doğal kaynaklardan elde edilen emülgatörler, sentetik olanlardan çok daha güvenli kabul edilir (97). Noniyonik surfaktanlar iyonik olanlar ile kıyaslandığında daha güvenilir olup, ek olarak daha geniş iyonik şiddet ve pH aralığında stabilizasyon sağlar. HLB değeri 10'dan büyük olan surfaktanlar hidrofilik surfaktanlar, diğerleri ise lipofilik surfaktanlar olarak sınıflandırılır. SNEDDS formülasyonlarında kendiliğinden emülsifikasyon etkinliğini artırmak, y/s damlacıklarının kısa sürede oluşması ve formülasyonun sulu ortamda hızla yayılmasını sağlamak için yüksek HLB (>12) değerine sahip olan hidrofilik özellikteki surfaktanlar tercih edilir (97, 98). HLB değeri 8-12 arasında olan surfaktanlar suda çözünecek kadar hidrofil olmasalar da kendiliğinden emülsifiye olabilecek kadar hidrofilik özelliğe sahiptir ve suda miseller oluşturur. Bu maddeler suda dağılabilen surfaktanlar olarak da isimlendirilebilir. Bu tip surfaktanlar genellikle Tip II formülasyonların içeriğine girse de HLB'si yüksek surfaktanlarla karışım şeklinde SNEDDS tipi formülasyonlarda da kullanılabilir (99).

Formülasyonlarda tek bir surfaktan yerine karışımların kullanılmasıyla sinerjistik etkiler elde edilebilir. Karışımların kullanılması genellikle daha düşük bir kritik misel konsantrasyonu ve daha düşük bir ara yüzey gerilimiyle sonuçlanır (98). Surfaktan karışımı ile hazırlanmış formülasyonun özellikleri karışımın ortalama HLB değerine eşit başka bir surfaktanla hazırlanmış formülasyonun özellikleri ile aynı olmayacaktır. Örnek vermek gerekirse HLB'si 11 olan Span[®] 80 / Tween[®] 80 karışımı ile hazırlanan formülasyon sadece Tween[®] 85 (HLB=11) kullanılarak hazırlanandan farklı özellikler taşıyacaktır. İlki suda çözünen ve çözünmeyen yapıları bir arada içerirken, ikincisi sadece suda çözünmeyen yapılar içereceği için farklı özellikler gösterir (99).

Dayanıklı SNEDDS formülasyonları hazırlamak için genellikle ağırlıkça % 30-60 arasında değişen oranlarda surfaktan kullanılabilir. Büyük miktarda surfaktan kullanımı GI sistem tahrişine neden olabileceğinden, konsantrasyonun doğru şekilde

belirlenmesi ve mümkün olan en az miktarda kullanılması çok önemlidir (100). Sürfaktanlar yüksek oranlarda (> %50) kullanıldıklarında emülsifikasyon sırasında viskoz bir jel tabakası oluşabilir ve bu durum emülsifikasyon süresini uzatabilir (101).

SNEDDS formülasyonlarında kullanılan surfaktan oranı, oluşan damlacıkların boyutunu etkilemektedir. Örneğin bazı durumlarda surfaktan oranı arttıkça, surfaktan moleküllerinin yağ-su ara yüzeyinde birikip yüzey gerilimini daha etkin bir şekilde düşürmesiyle damlacık boyutu azalabilmektedir. Bazı durumlarda ise tam aksine, surfaktan oranı arttıkça damlacık boyutunda artış görülebilmektedir. Bu durum genellikle yüksek surfaktan konsantrasyonuna bağlı olarak yağ damlacıklarına suyun penetrasyonu ile ara yüzey bozulmasının bir sonucu olarak açıklanmaktadır (100).

SNEDDS formülasyonlarında etkin maddelerin biyoyararlanımının artırılmasında surfaktanların rolü büyüktür. Biyoyararlanımın artmasının ana nedeni ilacın çözünme hızındaki artıştır. Sürfaktanlar amfifilik yapıya sahip olup, nispeten yüksek miktarlarda hidrofobik molekülleri çözebilme özelliğine sahiptir. Bu sayede ilaç emiliminin etkin bir şekilde gerçekleşmesi için etkin maddenin GI sistem lümeninde çözünmüş bir şekilde kalmasına yardımcı olur. Ayrıca bazı surfaktanlar GI epitel membranı boyunca ve ayrıca sıkı bağlantı bölgelerinden (tight junctions) etkin maddenin geçirgenliğini artırabilir. Ek olarak SNEDDS formülasyonlarında kullanılan bazı surfaktanlar (Cremophor® EL, Cremophor® RH40, Labrasol®, Gelucire® 44/14, Solutol® HS15, Tween® 80 gibi) p-glikoproteini inhibitörü etki gösterir ve etkin maddenin p-glikoprotein aracılı dışa atımının azaltılmasını sağlar (96, 102).

SNEDDS formülasyonlarında kullanılabilecek surfaktanlar ve özellikleri Tablo 2-10'da verilmiştir.

Tablo 2-10: SNEDDS formülasyonlarında kullanılabilecek surfaktanlar (96, 97, 103, 104)

İsim	Bileşim	HLB
Labrafil® M2130 CS	Laurik (C ₁₂) ve Stearik (C ₁₈) asitlerin PEG-6 esterleri	9
Labrafil® M1944 CS	Oleik (C _{18:1}) asitin PEG-6 esterleri	9
Acconon® AKG-6	Oleik (C _{18:1}) asitin PEG-6 esterleri	9
Labrafil® M2125 CS	Linoleik (C _{18:2}) asitin PEG-6 esterleri	9
Gelucire® 44/14	Laurik (C ₁₂) asitin PEG-32 esterleri	11
Acconon® C-44	Laurik (C ₁₂) asitin PEG-32 esterleri	11
Gelucire® 50/13	Palmitik (C ₁₆) ve Stearik (C ₁₈) asitlerin PEG-32 esterleri	11
Acconon® C-50	Palmitik (C ₁₆) ve Stearik (C ₁₈) asitlerin PEG-32 esterleri	11
Acconon® CC-6	Kaprilik (C ₈) ve Kaprik (C ₁₀) asitlerin PEG-6 esterleri	12,5
Labrasol®	Kaprilik (C ₈) ve Kaprik (C ₁₀) asitlerin PEG-8 esterleri	12
Acconon® MC8-2	Kaprilik (C ₈) ve Kaprik (C ₁₀) asitlerin PEG-8 esterleri	12
Gelucire® 48/16	Palmitik (C ₁₆) ve Stearik (C ₁₈) asitlerin PEG-32 esterleri	12
Brij® O10	Polioksil 10 oleil eter	12,4
Kolliphor® EL/ELP	Polioksil 35 hint yağı	13
Tween® 20	PEG-20 sorbitan monolaurat	16,7
Tween® 60	PEG-20 sorbitan monostearat	14,9
Tween® 80	PEG-20 sorbitan monooleat	15
Tween® 85	PEG-20 sorbitan trioleat	11
Kolliphor® HS15	Polioksil 15 hidrosistearat	15
Kolliphor® CS20	Polioksil 20 setostearil eter	15
Kolliphor® RH40	Polioksil 40 hidrojene hint yağı	15
Cremophor® A25	Polioksil 25 setostearil eter	16
Brij® 58	Polioksil 20 setil eter	15,7
Myrj® 45	Polioksil 8 stearat	11,1
Kollisol® P124	Poloksamer 124	12-18
Kolliphor® P188	Poloksamer 188	> 24
Kolliphor® P407	Poloksamer 407	18-23
Span® 20	Sorbitan monolaurat	8,6
Span® 85	Sorbitan trioleat	13,2
Span® 80	Sorbitan monooleat	4,3
TPGS	D- α - tokoferil PEG-1000 süksinat	13
Tagat TO	PEG-25 trioleate	11
Massocare HCO-54	PEG-54 hidrojene hint yağı	14,4
Massocare HCO-40	PEG-40 hidrojene hint yağı	13
Brij®30	PEG-4 lauril eter	9,7

2.4.5.3. Kosurfaktan ve Kosolvanlar

Amfifilik yapıları nedeniyle, kosurfaktanlar da büyük ölçüde ara yüzey tabakasında birikerek surfaktan moleküllerinin bulunduğu ara yüzey filminin akışkanlığını artırır. Bunlar yüzeyler arası gerilimin azalmasına sebep olur, dispersiyonun entropisini ve yüzey alanını artırıp ve serbest enerjinin minimuma indirilmesini sağlar. Oktanol, pentanol ve heksanol gibi kısa ve orta zincirli alkoller bu amaçla kullanılabilir (103, 104).

SNEDDS formülasyonlarında yüksek çözücü kapasitesine sahip kosolvanlara da ihtiyaç olabilmektedir. Kosolvanlar hidrofobik etkin maddelerin ve yüksek orandaki hidrofilik surfaktanların formülasyon içerisindeki çözünürlüğünü artırır (105). Ancak yüksek polariteleri nedeniyle, formülasyon sulu ortamda dağıldığında sulu faza doğru göç edip seyrelemeye bağlı çözücü kapasitede düşüşe ve etkin maddenin çökmesine yol açabilir. Bu sebeple formülasyon içerisindeki miktarları en aza indirilmelidir (98). Kosolvan olarak etanol, benzil alkol, düşük molekül ağırlıklı PEG, propilen glikol, gliserin gibi tipik çözücüler veya triasetil gliserin (triasetin), dietilen glikol monoetileter (Transcutol®), glukofurol (tetraglikol) gibi yeni nesil çözücüler kullanılabilir (106). Alkoller veya diğer uçucu kosolvanların, zaman içerisinde kapsül kabuğuna hareket edip buharlaşmak gibi dezavantajları vardır. Bu durum ilacın formülasyonun çözücü kapasitesinin azalmasına bağlı olarak etkin maddenin çökmesine yol açabilmektedir (105).

Kullanılacak kosolvanların toksikolojik özellikler ve mevzuata açısından uygun oldukları doğrulanmalıdır (102). SNEDDS formülasyonlarında kullanılabilecek kosurfaktanlar ve içerikleri Tablo 2-11’de verilmiştir.

2.4.5.4. Diğer Maddeler

Formülasyonu oksidasyondan korumak için, α - tokoferol, p-karoten, propil gallat, butil hidroksiltoluen (BHT) veya butil hidroksianisol (BHA) gibi yağda çözünebilir antioksidanlar, formülasyonun yoğunluğunu değiştirmek için kitre, setil alkol, stearik asit veya balmumu gibi maddeler kullanılabilir. Çeşitli polimerik yapıların da formülasyonlara eklenebilmesi mümkündür (104, 107).

Tablo 2-11: SNEDDS formülasyonlarında kullanılabilecek kosurfaktanlar (92-95)

İsim	Bileşim
Lauroglycol™ 90	Laurik asit (C ₁₂) ≥ %95 propilen glikol monoesteri (≥ %90)
Capmul® PG-12	Laurik asit (C ₁₂) ≥ %95 propilen glikol monoesteri (≥ %90)
CremerCOOR® PPG C12	Laurik asit (C ₁₂) ≥ %95 propilen glikol monoesteri (≥ %90)
Lauroglycol™ FCC	Laurik asit (C ₁₂) ≥ %95 propilen glikol mono- (%45-70) ve di- (30-55) ester karışımı
Capmul® PG-2L	Laurik asit (C ₁₂) ≥ %95 propilen glikol mono- (≥ %70) ve di- (≤ %30) ester karışımı
Plurol® Oleique CC 497	Oleik asit (C _{18:1}) %65-88 , Linoleik asit (C _{18:2}) %5-18 mono ve diester karışımı
Caprol® PGE 860	Oleik asit (C _{18:1}) mono ve diester karışımı
Imwitor® 948	Palmitik asit (C ₁₆) <%12 , Stearik asit (C ₁₈) < %6 , Oleik asit (C _{18:1}) > %60 , Linoleik asit (C _{18:2}) < %35 ester karışımı
Softigen® 701	Risinoleik asit (C _{18:1}) monogliseritleri (> %40)
Capmul® PG-8	Kaprilik asit (C ₈) ≥ %90 propilen glikol monoesteri (≥ %90)
Capryol™ 90	Kaprilik asit (C ₈) ≥ %90 propilen glikol monoesteri (≥ %90)
Capmul® PG-8-70	Kaprilik asit (C ₈) ≥ %90 propilen glikol mono- (%55-80) ve di- (20-45) ester karışımı
Capryol™ PGMC	Kaprilik asit (C ₈) ≥ %90 propilen glikol mono- (%55-80) ve di- (20-45) ester karışımı

2.4.6. SNEDDS Şeklinde Formüle Edilebilecek İlaçların Özellikleri

Düşük su çözünürlüğüne sahip BCS sınıf II ve IV olan ilaçların lipid bazlı ilaç sistemleri şeklinde hazırlanması sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Ancak farklı etkin maddeler, farklı fiziksel veya kimyasal özelliklere sahip olarak BCS II veya IV olarak sınıflandırılabilirler (108).

Bir molekülün çözünürlüğü (S) erime derecesi ve logP ile ilişkilidir. Bu ilişki $\log S = 0,5 - 0,01(T_e - 25) - \log P$ eşitliği ile açıklanmaktadır (109). Güçlü bir kristal örgüye sahip oldukları için erime dereceleri yüksek ($T_e > 200^\circ\text{C}$) ve suda çözünürlüğü düşük olan bileşikler “tuğla tozu” olarak nitelendirilirler. Bu tip bileşikler çoğu zaman yağlarda da yeterli derecede çözünmediklerinden lipid bazlı ilaç sistemleri şeklinde hazırlanmaları zorluk oluşturur. Diğer bir bileşik grubu “yağ topu” olarak isimlendirilen daha düşük erime derecesine sahip olup, partiyon katsayıları yüksek ($\log P > 3$) olan bileşiklerdir. Bunlar hidrate olamadıklarından ve su içerisinde kuvvetli bağlar

oluşturamadıklarından dolayı düşük su çözünürlüğüne sahip olan bileşiklerdir (108, 110).

İlaç molekülü “yağ topu” özelliği taşıyorsa, yüzey etkin madde ve / veya lipid bazlı yardımcı maddeler ile çözünürlüğün artırılması faydalı olabilir. Molekül "tuğla tozu" ise, yağlarda düşük bir çözünürlüğe sahip olmakla birlikte, yüzey etkin maddeler veya kosolvanlarda önemli ölçüde daha yüksek çözünürlüğe sahip olabilir. Sonuç olarak, suda zayıf sulu çözünürlüğe sahip olan her etkin madde ile lipid bazlı sistemler hazırlanması kolay olmayacaktır (108). Hem suda hem de yağda sınırlı çözünürlüğe sahip etkin maddeler (logP değerleri 2 civarında) SNEDDS olarak hazırlanması en zor moleküllerdir (104).

Çok yüksek dozda uygulanan (yitiliği düşük) ilaçlar, SNEDDS bileşenlerinden en az birinde son derece iyi çözünürlük sergilemedikçe SNEDDS tipi formülasyonlar için uygun değildir (104).

2.4.7. Katı SNEDDS

SNEDDS formülasyonların yapısına giren yardımcı maddeler oda sıcaklığında genellikle sıvı halde olduğundan, formülasyonlar da sıvı haldedir (111). Sıvı dozaj formları oral absorpsiyonu artırmanın yanı sıra, dozaj tekdüzeliği gibi çeşitli avantajlara sahip olmalarına rağmen genellikle yüksek hacimde kullanılma zorunluluğu, taşıma güçlüğü, etkin madde çökmesi ve kimyasal stabilite sorunları gibi istenmeyen özelliklere de sahiptir (112). Ek olarak sıvı formülasyonun sert veya yumuşak kapsül gövdesiyle etkileşmesi veya kapsül dışına ilaç sızması görülebilecek diğer sorunlardır (113).

SNEDDS formülasyonlarında etkin maddelerin yağlardaki çözünürlüğü genellikle 100 mg/mL'den az olduğundan SNEDDS formülasyonları hastalara yüksek hacimlerde verilir. Sıvı dozaj formlarının stabiliteleri ise katı formülasyonlarla kıyaslandığında daha düşüktür. Bu dezavantajların üstesinden gelinebilmesi için katı SNEDDS (K-SNEDDS) formülasyonları geliştirilmiştir (31, 112). K-SNEDDS formülasyonları kendiliğinden emülsifiye olabilen katı formlar olup kuru emülsiyon, kapsül, tablet, pellet, katı dispersiyon, mikroküre, nanopartikül, supozitivar, implant gibi çok farklı dozaj formları şeklinde üretilebilir (114).

Katı taşıyıcılar üzerine fiziksel adsorpsiyon, püskürterek kurutma, liyofilizasyon, evaporasyon, ekstrüzyon-sferizasyon ve sıcak eriyik granülasyonu en sık kullanılan katılaştırma teknikleridir. Katılaştırılan formülasyonlar tablet, kapsül gibi formlara dönüştürülebilir (115, 116). Bu tekniklerin arasında en kolay olanı fiziksel adsorpsiyon tekniğidir, ancak ilaç yükleme oranı da (maksimum %10 a/a) oldukça sınırlıdır (117). Bunun nedeni, etkin maddenin sıvı formüldeki çözünürlüğünün sınırlı olması ve bu durumun adsorbanlara yüklenebilen ilaç miktarını kısıtlamasıdır. Taşıyıcı olarak kullanılabilen bazı yardımcı maddeler ve özellikleri Tablo 2-12’de gösterilmiştir. Diğer teknikler ile daha yüksek yükleme oranlarına ulaşılması mümkün olabilmektedir.

Uçucu özelliğe sahip kosolvanlar içeren SNEDDS formülasyonlarında katılaştırma teknikleri seçilirken dikkatli olunmalıdır. Kullanılacak tekniğin yüksek sıcaklık (püskürterek kurutma, evaporasyon) veya düşük basınç (liyofilizasyon) içermesi uçucu yardımcı maddelerin formülasyondan uzaklaşmasına neden olabilir (117).

Tablo 2-12: Taşıyıcı olarak kullanılabilen yardımcı maddeler (117)

Silika Bazlı	Polisakkarit Bazlı	Polimer Bazlı	Protein Bazlı
Aerosil 200	Mannitol	Poloksamer 124	Jelatin
Syloid 244 FP	Sorbitol	Poloksamer 188	Glisin
Silysia 350	Sükroz	Mikrokristal selüloz	
Neusilin US2	Laktoz	HPMC	
Neusilin UFL2	Trehaloz	CMC sodyum	
Florite	Maltodekstrin	PVP	
	Siklodekstrin		
	Dekstrin		
	Arap zamkı		

Formülasyon içerisinde erime derecesi yüksek yardımcı maddeler kullanarak, kendiliğinden emülsifiye olabilen doğrudan katı veya yarı katı bir sistem hazırlamak da mümkündür (115). Bu amaçla katı veya yarı katı surfaktanlardan yararlanılabilir. Örneğin Hassan ve Mäder (118) oda sıcaklığında katı bir surfaktan olan Cithrol® DPHS ile, Kanaujia ve ark. (119) TPGS ile, Breitreitz ve ark. Gelucire® 44/14 ile sıvı halde olmayan SNEDDS formülasyonları hazırlamışlardır. Heo ve ark. (120) PEG 6000’i Li ve ark. (121) da yine değişik molekül ağırlıklarındaki katı PEG çeşitlerini (PEG 1500,

PEG 3350, PEG 8000) kullanarak sıvı SNEDDS formülasyonlarını katı veya yarı katı forma çevirmişlerdir.

Oda sıcaklığında katı halde bulunan yağlar (hidrojenlenmiş bitkisel yağlar, uzun zincirli doymuş yağ asitlerinin kısmi gliseritleri ve esterleri gibi) bu amaçla genellikle kullanılmaz. Bunlar katı halde bulunduklarından etkin maddeleri çözmek için uygun değildir. Bu tip yağlarda etkin maddeler yüksek sıcaklıklarda eritilerek çözülsün bile, oda sıcaklığına inildiğinde tekrar kristallenme riski mevcuttur. Bu maddeler daha çok modifiye salım sistemlerinin geliştirilmesinde veya tablet formülasyonlarında lubrikan olarak olarak kullanılır (111).

2.4.8. Aşırı Doygun SNEDDS

Kendiliğinden emülsifiye olan formülasyonların GI sistem sıvıları ile seyrelmesinden sonra ince bağırsakta aşırı doymun bir ortam oluşturmak ve bu durumu uzun süre sürdürebilmek amacıyla çeşitli formülasyonlar geliştirilmiştir. Bu tip formülasyonlar aşırı doymun SNEDDS (A-SNEDDS) olarak isimlendirilir ve etkin madde çökmesi ile mücadele etmek için ilgi çekici bir seçenektir (122). Aşırı doymun formülasyon yaklaşımının arkasındaki mantık, Fick'in birinci yasası (Denklem 2-3) ile açıklanabilen, emilim bölgesinde artan konsantrasyonun GI epitel boyunca ilaç akısını artırabileceğidir.

$$J = P \times C \quad (2-3)$$

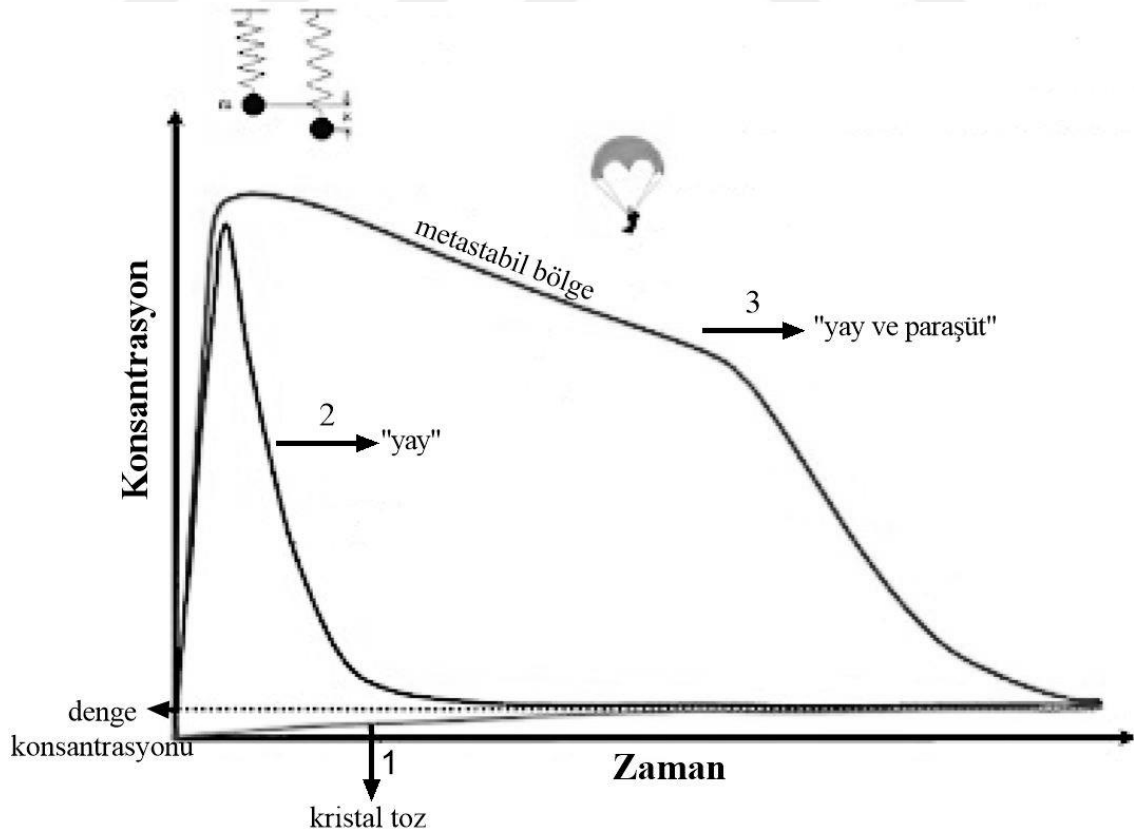
J: GI kanaldan olan ilaç akısı, P: ilacın permeabilite katsayısı,

C: konsantrasyon gradiyenti (sink koşul düşünildiğinde doğrudan ilacın konsantrasyonu)

Aşırı doymunluğun biyolojik membranlardan ilaç taşınımına etki edebileceği ilk olarak Higuchi tarafından açıklanmıştır. Aşırı doymun formülasyon denklemdeki C'yi artıracığından ilaç geçişi de artacaktır (123). Normal olarak etkin maddeler formülasyon içindeki çözünürlük değerlerinin altındaki konsantrasyonlarda (%50-90 arasında) SNEDDS içerisine yüklenir. Fakat her zaman etkin madde formülasyon içerisinde istenen ölçüde çözünmeyebilir. Bu durumda hastaya gerekli dozu verebilmek için daha fazla sıvı formülasyon (dolayısıyla kapsül) kullanmak gerekir. Bu durum hasta uyuncu açısından da endüstriyel perspektif açısından da istenen bir durum değildir. A-SNEDDS formülasyonları bu dezavantajları ortadan kaldırmış olur (124, 125).

Formülasyonun sulu fazdaki teorik ilaç konsantrasyonunun (çökme olmadan), ilacın sulu fazdaki çözünürlüğüne oranı, aşırı doygunluk oranı olarak isimlendirilir ve bu oran ilacın çökme olasılığının bir ölçüsü olarak kullanılabilir. Bu oranın 2,5 üzerinde olması ilacın çökme ihtimalinin yüksek olduğu anlamına gelmektedir (125).

Aşırı doygun halin oluşumu ve korunması “yay” ve “paraşüt” teorisi olarak açıklanır. Aşırı doygun çözelti (yay) ilacın kararlı kristal formu ile kıyaslandığında daha yüksek enerjili formunu içerir. Aşırı doygunluk koşulları oluştuğunda ilaç molekülleri çökme eğilimi gösterir. Aşırı doygunluktan biyoyararlanım açısından faydalanabilmek için bu durumun yeterince bir süre sürdürülebilmesi gereklidir. Bu durum kristalizasyonun ve çökmenin çeşitli kristalizasyon önleyiciler ile geciktirilmesiyle (paraşüt) gerçekleşir (126). Aşırı doygun ilaç sistemlerindeki yay ve paraşüt yaklaşımı Şekil 2-7’de gösterilmiştir. Şekilde 1 nolu çizgi etkin maddenin en stabil kristal formunun zamana bağlı çözünmesini göstermektedir. Etkin maddenin daha yüksek enerjili (“yay”) formunun kristalizasyon inhibitörü içermeyen formülasyonu 2 nolu çizgi, kristalizasyon inhibitörü (“paraşüt”) içeren formülasyonu ise 3 nolu çizgi ile gösterilmiştir.



Şekil 2-7: Aşırı doygun formülasyonlarda yay ve paraşüt yaklaşımı (123)

Literatürde aşırı doygunluk üzerine yapılan çalışmaların çoğu topikal uygulamalar ile ilgili olmakla birlikte, günümüzde düşük çözünürlüğe sahip ilaçların oral yolla verilmesini iyileştirmek için aşırı doymuş formülasyonların kullanılması giderek dikkat çekmektedir. A-SNEDDS klasik SNEDDS formülasyonlarına göre daha fazla etkin maddeyi çözünmüş olarak bünyelerinde barındırır. Bu sayede daha az surfaktan kullanarak daha fazla etkin madde formülasyon içerisinde tutulmuş olur ve hastaya daha az surfaktan ile daha fazla etkin madde verilmiş olur. Böylece daha düşük derecede potent olan ilaçların da SNEDDS formülasyonları şeklinde hazırlanmasının önü açılmış olur (127).

Aşırı doygunluğun sağlanması, kristalizasyonun önlenmesi ve etkin maddenin uzun süre aşırı doymuş durumda kalabilmesini sağlamak için hidroksipropil selüloz (HPC), hidroksipropil metil selüloz (HPMC), hidroksipropil metil selüloz ftalat (HPMC-P), metil selüloz (MC), karboksimetil selüloz sodyum (CMC-Na) gibi selüloz türevleri, polivinilasetat (PVA), polivinilprolidon (PVP) ve bunların karışımları (PVP-VA), çeşitli PEG çeşitleri kullanılabilen polimerlerdir. Polimerler dışında çeşitli surfaktanlar ve siklodekstrinler de çökmeyi önleyici olarak kullanılabilir (123).

Her ne kadar literatürde kristalizasyonun önlenmesiyle ilgili birçok yayın bulunsun da polimerik maddelerin kristallenmeyi önleme mekanizmaları kesin olarak açıklanabilmiş değildir. Kristalizasyonun önlenmesinin ardında çözelti viskozitesinin artması, polimerlerin oluşan ilaç partiküllerinin üzerine adsorbe olup kristal büyümesinin önlenmesi, polimerin kristalizasyona mekanik bir bariyer oluşturması, polimer-ilac arasında hidrojen bağları gibi etkileşimlerin oluşmasına bağlı olarak kristalizasyonun önlenmesi gibi görüşler bulunmaktadır (127-129). Ayrıca kristalizasyonu önleyen bu polimerlerin bazılarının etkin maddenin görünen çözünürlüğünü artırdığı bilinmektedir. Ek olarak, özellikle yüksek konsantrasyonda polimer içeren formülasyonlar viskozitede önemli derecede artışa yol açabilir ve ilaç moleküllerinin difüzyonunu azaltarak aşırı doymuş durumun kinetik stabilizasyonunu sağlayabilir (130). Sayılan bu farklı mekanizmaların nisbi katkısıyla, kristalizasyonun inhibisyonundan stimülasyonuna kadar değişebilen sonuçlar elde edilir. Etkin maddenin çökmesi formülasyondaki diğer yardımcı maddelerin (çözücü ortam, surfaktan) net etkisiyle birlikte belirlenecektir.

Çok farklı dinamiklerin bir arada işlediği bir süreç olduğundan formülasyon için uygun kristalizasyon önleyici madde çoğu zaman önceden kestirilemez, deneme yanılma yolu ile deneysel çalışmaların sonuçlarına bağlı olarak bulunur (123).

A-SNEDDS tipi sistemlerde aşırı doymun durumun sürdürülebilmesi için formülasyonun içerisine eklenen polimerler ile formülasyondaki yüzey etkin madde molekülleri arasında genellikle çeşitli kompleks türleri oluşturmak için güçlü etkileşimler görülebilir. Dolayısıyla aşırı doymun formülasyonların tasarımında buna dikkat edilmelidir (31).

2.4.9. SNEDDS Tipi Formülasyonlarda Yapılan Kontroller

SNEDDS tipi formülasyonların karakterizasyonlarında yapılabilen kontrol çalışmaları Şekil 2-8’da belirtilmiştir.

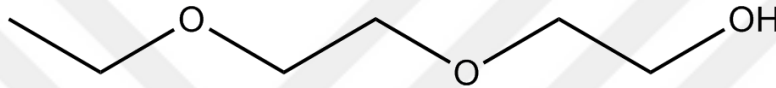
Sıvı Formülasyonlarda Yapılan Kontroller	Katı Formülasyonlarda Yapılan Kontroller
• Türbidite veya Transmittans ölçümü • Viskozite ölçümü • pH ölçümü • Damlacık boyutu ölçümü • Zeta potansiyel ölçümü • % ilaç miktarı tayini • Emülsiyon stabilitesi • Görsel analiz • Santrifüj testi • Isıtma-soğutma çevrimi • Dondurma-çözme çevrimi • Emülsifikasyon süresi • Elektron mikroskopisi (TEM, SEM) • Stabilite çalışmaları • İn vitro çözünme hızı çalışmaları • Lipoliz çalışmaları • İn vivo çalışmalar	• Yığın açısı ölçümü • Küme dansitesi ölçümü • Sıkıştırılmış dansite ölçümü • Hausner oranı - Carr endeksi hesaplanması • Toz partikül boyutu ve dağılımı analizi • X-ışını toz kırınımı analizi (XRPD) • Termal Analiz (DSC, TGA) • Stabilite çalışmaları • İn vitro çözünme hızı çalışmaları • İn vivo çalışmalar

Şekil 2-8: SNEDDS tipi formülasyonların karakterizasyon çalışmaları (131-133)

2.5. SNEDDS Formülasyonlarında Kullanılan Kimyasalların Temel Özellikleri

2.5.1.1. Transcutol® P

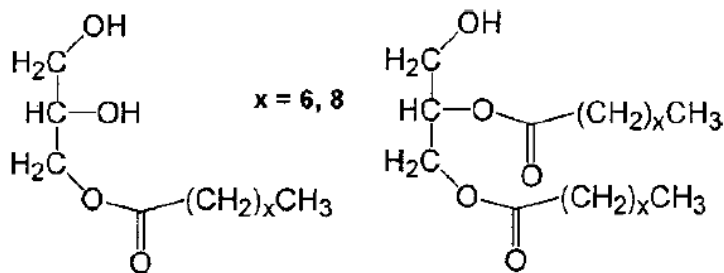
Transcutol® P (Şekil 2-9) kimyasal olarak 2-(2-etoksietoksi) etanol veya dietilen glikol monoetil eter kimyasal yapısıyla bilinen bir molekül olup suda çözünürlüğü düşük olan bir çok etkin madde için iyi bir çözücüdür. Su ile her oranda karışabilen, renksiz, higroskopik, uçucu olmayan bir sıvıdır. logP'si -0,54'tür. Erime noktası -76°C, kaynama noktası saflık derecesine göre 197-205°C arasındadır. Molekül ağırlığı 134 g/mol olup, ticari ürünler safsızlık olarak kabul edilebilir oranlarda etilen glikol içerebilirler. Transcutol® P deri veya mukozal bariyerler yoluyla perkütan emilimi artırır. Ayrıca çeşitli ilaçlarda oral emilimi artırmak için kullanılır (134).



Şekil 2-9: Transcutol® P kimyasal yapısı

2.5.1.2. Imwitor® 988

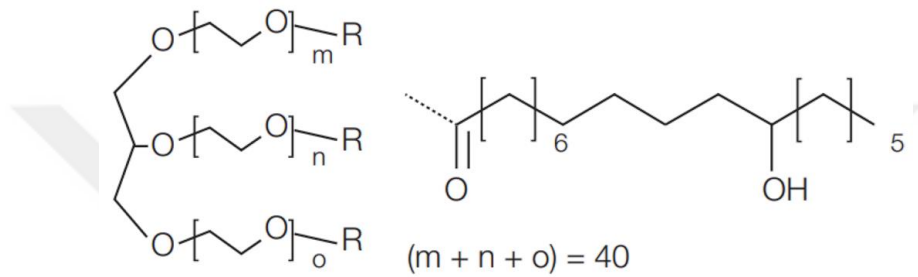
Imwitor® 988 (Şekil 2-10) kaprilik asit ve gliserolün kısmi bir esteridir (gliserol monokaprilat, tip I). Yağ asitleri ve gliserol, bitkisel kaynaklardan elde edilir. Imwitor® 988 kullanılan etkin maddelerin cinsine ve miktarına bağlı olarak oral, topikal, rektal, vajinal ve nazal formülasyonlarda %3-15 oranında kullanılır. Oral formülasyonlarda çözünürlüğü düşük olan ilaçlar için çözücü görevi görür. Imwitor® 988 yüzey aktif özelliğe sahiptir. Tablet kaplamalarında plastifiyan, emülsiyonlarda kosurfaktan ve köpük giderici ajan olarak görev yapar. Imwitor® 988 ayrıca membran geçirgenliğini artırıcı özelliğe sahiptir. Erime derecesi 25°C olup üzerindeki sıcaklıklarda yağlı, sarımsı bir sıvı görüntüsündedir. Doymamış bileşene sahip olmadığından oksidasyona karşı dayanıklı bir maddedir. Çeşitli doğal yağlarda, orta zincirli trigliseritlerde ve etanolde çözünür, %10 konsantrasyona kadar su içerisinde dağılabilir (135).



Şekil 2-10: Imwitor® 988 kimyasal yapısı

2.5.1.3. Kolliphor® RH40

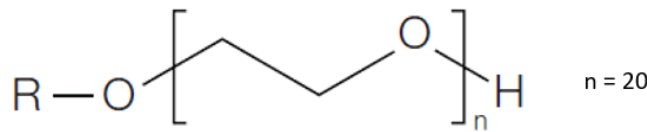
Kolliphor® RH 40 (Şekil 2-11) bir mol hidrojenlenmiş hint yağının 40 mol etilen oksit ile reaksiyona sokulmasıyla elde edilir (polioksil 40 hidrojene hint yağı). Çok çeşitli farmasötik formülasyonlarda çözüldürücü veya primer yüzey etkin madde olarak kullanılabilir. 20°C'de beyaz veya açık sarımsı yarı katı formdadır. Erime derecesi 16-26°C arasındadır. logP değeri -0,76 olup HLB değeri 14-16 arasındadır. 37°C'de kritik misel konsantrasyonu %0,03 (a/a)'dır. Sudaki boş miselleri ortalama 10-15 nm boyutundadır. Ortalama 300°C civarında termal olarak dekompoze olmaya başlar (136).



Şekil 2-11: Kolliphor® RH40 kimyasal yapısı

2.5.1.4. Kolliphor® CS20

Kolliphor® CS20 (Şekil 2-12) hafif kokulu beyaz, mum benzeri, noniyonik bir yüzey etkin maddedir. Setil (C₁₆) ve stearil (C₁₈) alkollerin etoksilasyonu ile elde edilir (polioksil 20 setostearil eter). HLB değeri 15'tir. Erime derecesi 39-41°C, parlama noktası 249-251°C arasındadır. Sudaki çözünürlüğü %10'un üzerindedir (137).

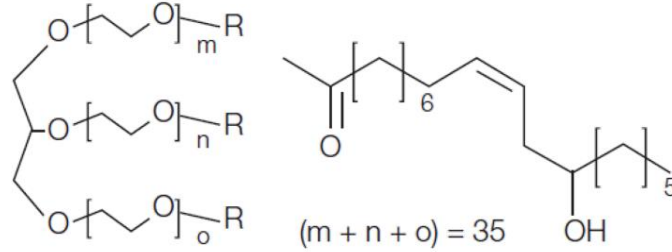


Şekil 2-12: Kolliphor® CS20 kimyasal yapısı

2.5.1.5. Kolliphor® ELP

Kolliphor® ELP (Şekil 2-13) özellikle hassas ilaç etkin maddeleri içeren veya parenteral kullanım için olan çok sayıda farmasötik formülasyonda kullanılan çözüldürücü ve primer yüzey etkin maddedir. Kolliphor® EL'nin daha saflaştırılmış hali olup, hint yağının 35 mol etilen oksit ile reaksiyona sokulmasıyla elde edilen

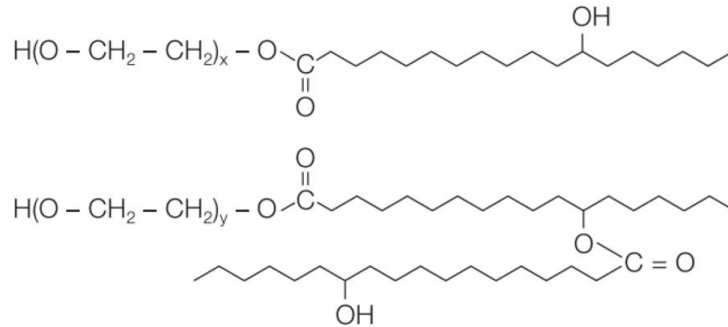
noniyonik yüzey etkin maddedir (polioksil 35 hint yağı). Erime sıcaklığı 4°C civarında olup HLB değeri 12-14 arasındadır. 37°C’de kritik misel konsantrasyonu %0,02 (a/a)’dır (138).



Şekil 2-13: Kolliphor® ELP kimyasal yapısı

2.5.1.6. Kolliphor® HS15

Kolliphor® HS15 (Şekil 2-14) 15 mol etilen oksitin 1 mol 12-hidroksi stearik asit ile reaksiyona sokulmasıyla elde edilen noniyonik bir çözündürücü ve yüzey etkin maddedir (polioksil 15 hidroksistearat). Kolliphor® HS15 oda sıcaklığında yaklaşık 30°C’de sıvı hale gelen sarımsı beyaz yarı katı formunda bir maddedir. HLB değeri 14-16 arasında olup kritik misel konsantrasyonu %0,005-0,02 arasındadır. Suda oluşturduğu misellerin boyutu 10-15nm’dir. Parenteral ve oftalmik formülasyonlar için uygun bir yüzey etkin maddedir (139).

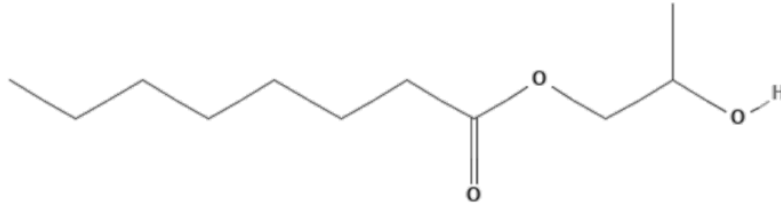


Şekil 2-14: Kolliphor® HS15 kimyasal yapısı

2.5.1.7. Capryol™ 90

Capryol™ 90 (Şekil 2-15) oral lipid bazlı formülasyonlarda yardımcı yüzey aktif madde olarak kullanılan noniyonik, suda çözünmeyen bir yüzey etkin maddedir. HLB değeri 5’tir. Oda sıcaklığında yağlı bir sıvıdır. Kaprilik asitin propilen glikol ile

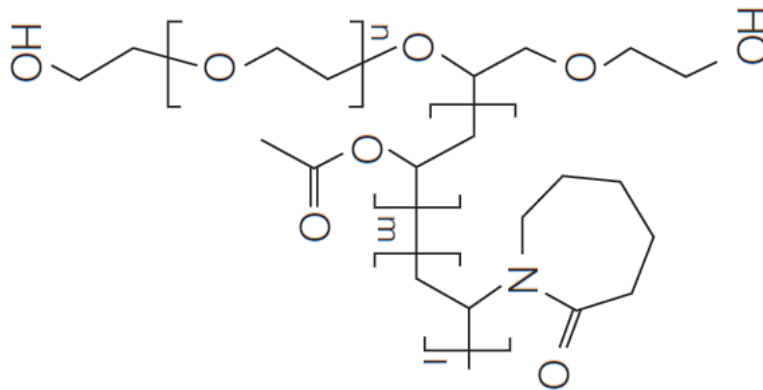
esterleştirilmesi ile elde edilir (propilen glikol kaprilat, tip II). Yapısının çok büyük bölümü (> %90) monoester fraksiyonundan oluşmaktadır (93). Capryol™ 90 hem transselüler hem de paraselüler yolak aracılığı ile Emilimi zayıf ilaçların bağırsak emilimini iyileştirmek için etkili bir absorpsiyon artırıcıdır (140).



Şekil 2-15: Capryol™ 90 kimyasal yapısı

2.5.1.8. Soluplus®

Soluplus® (Şekil 2-16) amfifilik kimyasal yapıya sahip polimerik bir çözünürlük artırıcıdır. Formülasyonlarda matris polimeri olarak görev yapabilirken aynı zamanda sulu ortamlarda çözünürlüğü düşük olan ilaçların çözünmesi sağlar. Yapı olarak molekül ağırlığı 118.000 g/mol olan polivinil kaprolaktam-polivinil asetat-polietilen glikol graft kopolimeridir. Serbest akışa sahip beyaz ila hafif sarımsı renkli granüller şeklindedir. PEG6000 : vinil kaprolaktam : vinil asetat oranı 13 : 57 : 30'dur. HLB değeri yaklaşık 14 olup kritik misel konsantrasyonu 7,6 mg/mL'dir. Yüksek polimer konsantrasyonlarında koloidal Soluplus® misellerinin oluşması çözeltelerde bulanıklık görülmesine neden olabilir (141). Polimerin lipofilik yan zincirleri içte, hidrofilik ana gövdesi dışta kalacak şekilde miseller oluşturur (142).



Şekil 2-16: Soluplus® kimyasal yapısı

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler Listesi

- Imwitor[®] 988 (*IOI Oleochem*)
- Miglyol[®] 812 (*IOI Oleochem*)
- Miglyol[®] 840 (*IOI Oleochem*)
- Labrafac[™] lipophile WL 1349 (*Gattefossé*)
- Oleik asit (*Sigma*)
- Kollicream[®] IPM (*BASF*)
- Kollicream[®] 3C (*BASF*)
- Plurol[®] Oleique CC 497 (*Gattefossé*)
- Peceol[™] (*Gattefossé*)
- Maisine[®] CC (*Gattefossé*)
- Capryol[™] 90 (*Gattefossé*)
- Labrafac[™] PG (*Gattefossé*)
- Lauroglycol[™] 90 (*Gattefossé*)
- Lauroglycol[™] FCC (*Gattefossé*)
- Labrafil[®] M2130 CS (*Gattefossé*)
- Labrafil[®] M2125 CS (*Gattefossé*)
- Labrafil[®] M1944 CS (*Gattefossé*)
- Kollisolv[®] GTA (*BASF*)
- Witepsol[®] H15 (*Galenik*)
- Hindistan Cevizi Yağı (*Doğa İlaç*)
- Hint Yağı (*Doğa İlaç*)
- Araşit Yağı (*Doğa İlaç*)
- Kakao Yağı (*Doğa İlaç*)
- Nane Yağı (*Art de Huile*)
- Tarçın Yağı (*Art de Huile*)
- Okaliptus Yağı (*Art de Huile*)
- Limon Yağı (*Art de Huile*)

- Zeytin Yağı (*Zade Vital*)
- Susam Yağı (*Zade Vital*)
- Ceviz Yağı (*Zade Vital*)
- Üzüm Çekirdeği Yağı (*Zade Vital*)
- Çörek Otu Yağı (*Zade Vital*)
- Sıvı Parafin (*Sigma*)
- Dimetikon (*Sigma*)
- Gelucire® 44/14 (*Gattefossé*)
- Gelucire® 48/16 (*Gattefossé*)
- Labrasol® (*Gattefossé*)
- Brij O10 (*Sigma*)
- Kolliphor® ELP (*BASF*)
- Kolliphor® RH40 (*BASF*)
- Tween® 20 (*Merck*)
- Tween® 60 (*Merck*)
- Tween® 80 (*Merck*)
- Kolliphor® HS15 (*BASF*)
- Kolliphor® CS20 (*BASF*)
- Cremophor® A25 (*BASF*)
- Kollisolv® P124 (*BASF*)
- Kolliphor® P407 (*BASF*)
- Kolliphor® P338 (*BASF*)
- Kolliphor® P188 (*BASF*)
- PEG 200 (*Sigma*)
- PEG 400 (*Sigma*)
- Propilen Glikol (*Sigma*)
- Transcutol® P (*Gattefossé*)
- Etanol (*Sigma*)
- Metanol (*Merck*)
- Asetonitril (*Merck*)
- o-Fosforik asit (*Merck*)

- Hidroklorik asit (*Sigma*)
- Potasyum klorür (*Merck*)
- Glasiyel asetik asit (*Sigma*)
- Sodyum asetat (*Merck*)
- Monobazik potasyum fosfat (*Merck*)
- Sodyum hidroksit (*Merck*)
- Sodyum lauril sülfat (*Merck*)
- Syloid® XDP 3050 (*Grace*)
- Syloid® XDP 3150 (*Grace*)
- Neusilin® US2 (*Fuji Chemical*)
- Neusilin® UFL2 (*Fuji Chemical*)
- Florite® R (*Tomita Pharmaceutical*)
- Kollidon® K25 (*BASF*)
- Kollidon® VA64 (*BASF*)
- Methocel™ E5 LV (*Colorcon*)
- Soluplus® (*BASF*)
- Klucel™ (*Ashland*)
- Safra Tuzu (*Sigma*)
- Lipoid® S100 (*Lipoid*)
- Pankreatik Ekstre (*Sigma*)
- Trizma Maleat (*Sigma*)
- 4-Bromofenil boronik asit (*Sigma*)
- Kalsiyum klorür dihidrat (*Merck*)
- Sodyum klorür (*Merck*)
- 00 ve 000 Sert Jelatin Kapsül (*Lonza Capsugel*)
- 00 ve 000 Sert HPMC Kapsül (*Lonza Capsugel*)
- RPMI-1640 (*Panbiotech*)
- Fetal Bovine Serum (*Panbiotech*)
- Penisilin / Streptomisin Çözeltisi (*Panbiotech*)
- Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi – PBS (*Panbiotech*)
- Dimetilsülfoksit (*Neofroxx*)

- Tripsin-EDTA Çözeltisi (*Panbiotech*)
- DMEM-HG (*Panbiotech*)
- MTT (*Appllichem*)
- tert-Bütil metil eter (*Sigma*)
- Trifloro asetik asit (*Sigma*)
- Aprepitant (*Platin Kimya*)

3.1.2. Kullanılan Cihazlar Listesi

- HPLC (*Thermo Surveyor*)
- Spektrofotometre (*Shimadzu UV-1601*)
- FT-IR spektrofotometresi (*Perkin Elmer Spectrum Two*)
- Analitik terazi (*Shimadzu AUW220D, Shimadzu ATX224*)
- Vorteks (*Daihan VM-10*)
- Dissolüsyon cihazı (*Pharmatest PTWS 120D*)
- Çalkalamalı su banyosu (*Nüve ST30*)
- Su banyosu (*Daihan Wisd WB-22*)
- Manyetik karıştırıcı (*Weightlab WN-10H, Daihan MSH-20A*)
- Ultrasonik su banyosu (*Daihan WUC*)
- Etüv (*Daihan WON-50*)
- Stabilite kabini (*Daihan ON-105*)
- Santrifüj (*Gyrozen 406*)
- Mikro santrifüj (*Daihan CF-10*)
- Nem tayin cihazı (*Radwag MA 50.R*)
- pH metre (*Mettler Toledo S220*)
- Distile su cihazı (*Elga Purelab Option-Q*)
- Vuruş dansitesi cihazı (*Pharmatest PT-TD1*)
- Damlacık boyut ölçüm cihazı (*Malvern Zetasizer Nano-ZS*)

3.1.3. Kullanılan Malzemeler Listesi

- Waters Symmetry C8 Kolon (4,6mm x 250mm, 5µm)
- Thermo Hypersil™ C18 Kolon (4,6 x 50mm, 3µm)
- Otomatik pipet seti (*CAPP Bravo*)
- Pipet uçları (*CAPP*)

- 0,22µm şırınga ucu filtre - PTFE (*Isolab*)
- 0,45µm şırınga ucu filtre - PTFE, Nylon (*Isolab*)
- 0,45µm Durapore® PVDF membran filtre (*Millipore*)
- HPLC N10 flakon, kapak, septa, 0,3mL insert (*Isolab*)
- Serolojik pipetler (*TPP*)
- Polipropilen tüpler 2mL, 15mL, 50mL (*CAPP*)
- Flask 75cm² (*TPP*)
- Tek kullanımlık steril şırınga (*Hayat*)
- Cam flakon
- Cam laboratuvar malzemeleri (beher, erlen, balon joje, mezür vb.)
- Manyetik balık (*Isolab*)
- Polistiren küvet (*Isolab*)

3.1.4. Kullanılan Bilgisayar Programları Listesi

- Microsoft Office 2016 (Word, Excel, PowerPoint)
- EndNote X9
- GraphPad Prism 8
- Tridraw 2.6
- ImageJ 1.53e
- ChromQuest 4.2
- Zetasizer 7.13

3.2. Yöntemler

3.2.1. Aprepitant Miktar Tayini Yöntemi

HPLC sistemi olarak Thermo Surveyor (USA) kullanılmıştır. Sistem pompa ünitesi (Surveyor LC Pump), otosampler (Surveyor Autosampler) ve dedektörden (Surveyor UV/Vis Detector) oluşmaktadır. Elde edilen kromatogramların analizi ChromQuest 4.2 programı ile yapılmıştır.

Bu tez çalışması boyunca aprepitantın miktar tayini yapılırken Nama ve ark. (143) ile Babu ve ark. (144) geliştirmiş oldukları yöntemler, modifiye edilerek kullanılmıştır. Uyarlanan HPLC yönteminin özellikleri Tablo 3-1’de gösterilmiştir.

Tablo 3-1: HPLC yönteminin özellikleri

Özellik	Açıklama
Kolon	Waters Symmetry C8 (4,6 x 250 mm 5 µm)
Mobil Faz	Metanol:Su (H ₃ PO ₄ ile pH=3’e ayarlı) (80:20) (h/h)
Akış Hızı	0,8 mL / dakika
Enjeksiyon Hacmi	25 µL
Kolon Sıcaklığı	25°C
Dalga Boyu (λ)	210 nm
Analiz Süresi	10 dakika
Alıkonma Süresi	7,3 dakika
Seyreltme Ortamı	Mobil faz
LOD - LOQ	0,3 µg/mL - 0,8 µg/mL

Mobil faz içerisinde aprepitantın maksimum absorbans verdiği dalgaboyunun bulunması için 100 µg/mL konsantrasyondaki çözeltinin 190 - 400 nm dalgaboyları arasında spektrumu alınmıştır.

3.2.2. HPLC Yönteminin Validasyonu

Uluslararası Harmonizasyon Konseyi'nin (ICH) Q2 (R1) kılavuzuna göre analitik çalışmalarda gerçekleştirilen validasyonun amacı, işlemin kullanım amacına uygun olduğunun ispatlanmasıdır (145). ICH kılavuzuna göre etkin maddelerin miktar tayinlerinde kullanılan yöntemlerin valide edilmesi gerekmektedir. Aprepitantın miktar tayininde kullanılan yöntemin validasyonu ICH kılavuzunda açıklanan şekilde gerçekleştirilmiştir.

Validasyon çalışmaları kapsamında özgünlük, doğrusallık, gün içi ve günler arası kesinlik, doğruluk, stabilite, sistem uygunluk testi, tespit limiti (LOD) ve miktar tayin limiti (LOQ) çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.1. Özgünlük (Spesifiklik)

Kullanılan analitik metot sadece istenen madde için sonuç vermeli ve diğer maddeler analize girişim yapmamalıdır (145). HPLC'de etkin madde içermeyen bir numune enjeksiyonu yapıldığında, etkin madde pikinin görüldüğü aralıkta başka pik görülmemelidir. Aprepitant içermeyen (kör) çözeltiler, HPLC'ye verilmiş ve aprepitant pikine girişim yapıp yapmadıkları incelenmiştir.

3.2.2.2. Doğrusallık (Lineerite)

Belirlenen ölçüm aralığında madde konsantrasyonu ile cihazdan alınan yanıt arasında doğrusal bir ilişkinin kurulabilmesi gerekir. Doğrusallık çalışmaları, bir stok çözeltiden seyreltme yoluyla veya maddelerin farklı miktarlarda tartılmasıyla hazırlanan standart çözeltiler ile yapılır. ICH kılavuzuna göre doğrusallığın gösterilmesi için en az 5 konsantrasyon noktası bulunmalıdır (145). Ayrıca tercihen oluşan doğrunun determinasyon katsayısının (r^2) 0,999'dan büyük olması istenir (146).

Standart çözeltiler 1-20 µg/mL ölçüm aralığında, 7 farklı konsantrasyonda (20µg/mL, 15 µg/mL, 10 µg/mL, 7µg/mL, 5µg/mL, 3µg/mL, 1µg/mL) hazırlanmış ve üç tekrarlı (n=3) olarak HPLC'ye verilmiştir. Standartlar hazırlanırken önce 10 mg toz aprepitant bir miktar mobil fazda çözülüp balon jodede 10 mL'ye mobil faz ile tamamlanmıştır. Hazırlanan 1 mg/mL konsantrasyondaki çözeltiden 1 mL alınıp, balon jodede mobil faz ile 10 mL'ye tamamlandıktan sonra stok standart çözelti (100 µg/mL) elde edilmiştir. Stok standart çözeltiden Tablo 3-2'de özetlenen şekilde seri dilüsyon yapılarak HPLC standartları hazırlanmıştır.

Tablo 3-2: Standart doğru hazırlanmasında kullanılan çözeltiler

Standart No	Konsantrasyon	Hazırlanış
#1	20 µg/mL	200µL stok + 800µL mobil faz
#2	15 µg/mL	150µL stok + 850µL mobil faz
#3	10 µg/mL	100µL stok + 900µL mobil faz
#4	7 µg/mL	70µL stok + 930µL mobil faz
#5	5 µg/mL	50µL stok + 950µL mobil faz
#6	3 µg/mL	30µL stok + 970µL mobil faz
#7	1 µg/mL	10µL stok + 990µL mobil faz

3.2.2.3. Kesinlik

Kesinlik aynı çözeltinin tekrar tekrar ölçülmesiyle gösterilir. Kesinlik çalışmaları gün içi veya farklı günler olmak üzere yapılabilir. Yapılan kesinlik çalışmalarında ölçümler arasındaki % standart sapma, bağıl standart sapma ve güven aralığı değerleri gösterilmelidir (145). Ölçüm kesinliğinin sağlanması için bağıl standart sapmanın %2 veya altında olması gerekir (146). Üç ayrı konsantrasyonda çözelti hazırlanıp, üçer kez ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Üç ölçüm sonucunun bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır. Ayrıca günler arası kesinliğin valide edilmesi için üç farklı günde bu çalışma üç kez yinelenmiştir.

3.2.2.4. Doğruluk

Doğruluk, konsantrasyonu bilinen örneklerin doğru şekilde ölçüldüğünün gösterilmesidir. En az üç farklı konsantrasyonda üç tekrarlı olacak şekilde çalışılır. HPLC'den alınan ölçüm değeri, bilinen değer ile kıyaslanarak % geri kazanım hesaplanır. Metodun doğruluğu, kesinlik, doğrusallık ve özgünlük valide edildikten sonra gösterilebilir (145). % geri kazanım değeri 100 ± 2 aralığında olması istenir (146). 20 µg/mL, 7 µg/mL ve 1 µg/mL konsantrasyonda üç ayrı çözelti hazırlanıp % geri kazanılan aprepitant miktarları hesaplanmıştır.

3.2.2.5. Stabilité Çalışması

Miktar tayini çalışması süresince, numuneler içinde analizi yapılacak maddenin bozunmadan kaldığının gösterilmesi için yapılır. 10 µg/mL çözelti hazırlanmış ve 0, 1, 2, 3, 4, 8, 12, 24, 36 ve 48. saatte çözeltilerden örnekler alınarak analizleri yapılmıştır. Bulunan miktarlar için % bağıl standart sapma hesaplanmıştır.

3.2.2.6. Sistem Uygunluk Testi

Bir ölçüm yöntemi için sistem uygunluk testi parametreleri, yöntemin türüne göre değişkenlik gösterir. HPLC için maddenin alıkonma süresi, elde edilen pikin alanı, teorik plaka sayısı, kuyruklanma (tailing) faktörü önemli değerlerdir. Alıkonma süresi ve alan gibi değerlerin bağıl standart sapmasının %1 veya altında olması istenir. Kuyruklanma (tailing) faktörünün 2 veya daha az, teorik plaka sayısının ise en az 2000 olması istenir (146).

3.2.2.7. Tespit (LOD) ve Miktar Tayin (LOQ) Limitleri

ICH Q2 (R1) kılavuzuna göre LOD ve LOQ farklı şekillerde hesaplanabilmektedir (145). Yapılan validasyon çalışmasında LOD Denklem 3-1, LOQ ise Denklem 3-2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$LOD = \frac{3,3 \times \delta}{\text{regresyon doğrusunun eğimi}} \quad (3-1)$$

$$LOQ = \frac{10 \times \delta}{\text{regresyon doğrusunun eğimi}} \quad (3-2)$$

δ: regresyon doğrusunun rezidüel standart sapması

3.2.3. Aprepitantın Çözünürlük Çalışmaları

Biyolojik ortamı taklit eden pH'larda ve formülasyon bileşimine girebilecek aday yardımcı maddelerde çözülen aprepitant miktarı araştırılmıştır. Çözünürlüklerin belirlenmesi Higuchi ve Connors (147) tarafından tanımlanmış çalkalama (shake flask) metoduna benzer şekilde gerçekleştirilmiştir. Öncelikle polipropilen tüplerin içerisine aşırı (excess) oranda katı aprepitant eklenmiştir. Daha sonra bu tüplerin içerisine çözünürlük testinin yapılacağı ortamdan 1 mL eklenmiş ve aprepitantın dağılması için 1 dakika vortekslenmiştir. Test edilecek her madde için bu şekilde üçer tüp hazırlanmıştır.

Hazırlanan tüpler aksi belirtilmedikçe oda sıcaklığında (bu sıcaklıkta sıvı olmayan maddeler 37°C veya 50°C’de) çalkalamalı su banyosunda 100 rpm’de 24 saat boyunca bekletilmiştir. Sürenin sonunda tüplerdeki çözünmeyen katı apremitantın çöktürülmesi için 13.500 rpm (12.225 g)’de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda üstte kalan sıvı ayrılıp, gerekiyorsa mobil faz ile seyreltilerek miktar tayini yapılmıştır. Bulunan değerler ortalama ve standart sapma olarak grafiğe geçirilmiş ve USP’de bulunan çözünürlük tanımlamaları tablosuna (Tablo 3-3) göre yorumlanmıştır.

Tablo 3-3: USP çözünürlük tanımlamaları (148)

Tanımlama	1 Birim Çözücü İçin Gereken Çözücü Miktarı	Karşı Gelen Çözünürlük (mg/mL)
Çok Çözünür	< 1	> 1000
Serbestçe Çözünür	1 - 10	100 - 1000
Çözünür	10 - 30	33 - 100
Biraz Çözünür	30 - 100 arası	10 - 33
Az Çözünür	100 - 1.000 arası	1 - 10
Çok Az Çözünür	1.000 - 10.000 arası	0,1 - 1
Pratik Olarak Çözünmez	> 10.000	< 0,1

GI sistemde ilacın geçeceği bölgeleri temsilen farklı pH değerlerinde tamponlar (pH 1,2 - pH 4,5 - pH 6,8 - pH 7,4) kullanılarak apremitantın bu ortamlardaki çözünürlük değerleri bulunmuştur. Tampon çözeltilerinin hazırlanmasında USP referans alınmış olup, 1 L tampon çözelti hazırlanışında kullanılan miktarlar Tablo 3-4’te gösterilmiştir.

Tablo 3-4: Tampon çözeltilerin hazırlanması

Tampon	Hazırlanış*
pH 1,2	3,73 g KCl + 7 mL derişik HCl 1 L’ye tamamlanır.
pH 4,5	1,80 g CH ₃ COONa + 1,62 mL glasiyel CH ₃ COOH 1 L’ye tamamlanır.
pH 6,8	6,81 g KH ₂ PO ₄ + 0,90 g NaOH 1 L’ye tamamlanır.
pH 7,4	6,81 g KH ₂ PO ₄ + 1,56 g NaOH L’ye tamamlanır.

* pH kontrol edilip gerekli olması durumunda ayarlama yapılır.

3.2.4. Yüzey Etkin Madde Seçimi Çalışmaları

SNEDDS tipi formülasyonlar geliştirilirken en önemli basamaklardan biri de kullanılacak olan yardımcı maddelerin seçimidir. Seçim yapılırken genellikle kullanılacak etkin maddeyi en fazla çözen yağlı madde yağ fazı olarak seçilir (75). Yüzey etkin madde seçiminde ise çözünürlük ikinci planda olup, yağı emülsifiye edebilme yeteneği daha önemli bir seçim kriteridir (149).

Formülasyonlarda kullanılması planlanan surfaktanların emülsifikasyon etkinlikleri Date ve Nagarsenker'in (149) önerdikleri metoda göre yapılmıştır. Kısaca uygun bulunan 300 mg yağ (%50) fazına 300 mg yüzey etkin madde (%50) eklenip 60°C'ye kadar ısıtılarak tam olarak karışmaları sağlanmıştır. Karışımdan 50 mg alınıp balon jode 50 mL'ye kadar distile su ile seyreltilmiştir. Oluşan emülsiyonlar 2 saat bekletilmiş ve süre sonunda türbitelerinin göreceli olarak karşılaştırılabilmesi için spektrofotometrede 638,2 nm dalga boyunda % transmitans değerleri ölçülmüştür. Ölçümde referans (kör) çözelti olarak distile su kullanılmıştır. Transmitans değeri %100'e yaklaştıkça seçilen yağ için test edilen surfaktanın emülsiyon oluşturma yeteneğinin arttığı düşünülmüştür.

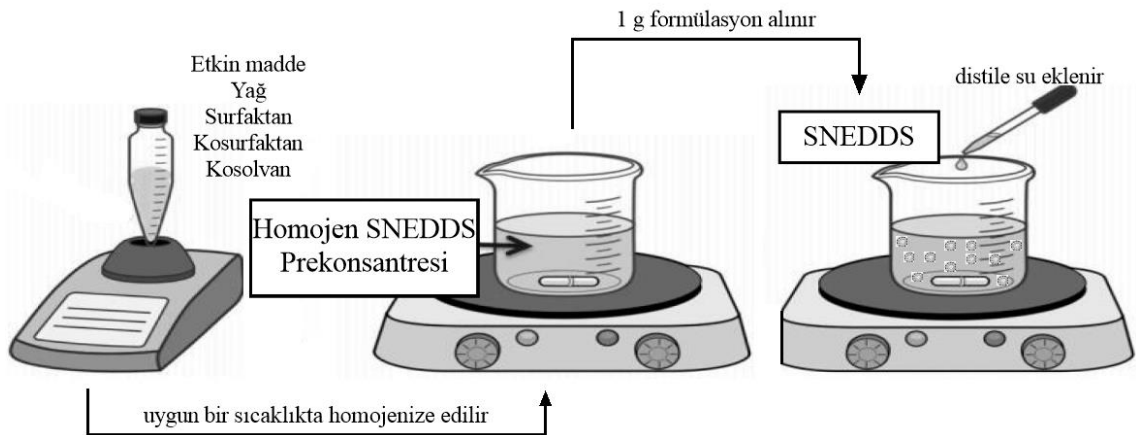
3.2.5. Yardımcı Yüzey Etkin Madde ve Kosolvan Seçimi Çalışmaları

Yüzey etkin madde seçimine benzer şekilde % transmitans ölçümü ile bulanıklığın değerlendirilmesine dayanan bir yöntemle gerçekleştirilmiştir. Önceden seçilen yağlı madde 300 mg (%50) alınıp üzerine uygun bulunan 200 mg yüzey etkin madde (%33,3) eklenmiştir. Bu karışım üzerine değerlendirilecek yardımcı yüzey etkin madde veya kosolvandan 100 mg (%16,7) eklenmiştir. 60°C'ye kadar ısıtılarak karışımın homojenizasyonu sağlanmıştır. Karışımdan 50 mg alınıp balon jode 50 mL'ye kadar distile su ile seyreltilmiştir. Oluşan emülsiyonlar 2 saat bekletilmiş ve süre sonunda türbitelerinin göreceli olarak karşılaştırılabilmesi için spektrofotometrede 638,2 nm dalga boyunda % transmitans değerleri ölçülmüştür. Ölçümde referans (kör) çözelti olarak distile su kullanılmıştır. Değerlendirilecek yardımcı yüzey etkin madde veya kosolvanın yağ ve yüzey etkin madde karışımlarına oranları (3:2:1) eş olduğundan % transmitans değeri yüksek olan emülsiyonda kullanılan kosolvanın emülsifikasyon etkinliğini daha çok artırdığı düşünülmüştür.

3.2.6. Üçgen Faz Diyagramı Çalışmaları

Üçgen faz diyagramları genellikle seçilen yardımcı maddeler için SNEDDS bölgesini tanımlamak için kullanılmaktadır. Üçlü karışımlarda, seçilen yağın, yüzey etkin maddenin veya yardımcı yüzey etkin maddenin konsantrasyonu, diğer iki bileşenin konsantrasyonunun sabitlenmesine göre değiştirilir. Böylece SNEDDS için bileşenlerin optimize edilmiş oranı elde edilebilir (98). Çözünürlük çalışmaları ve yüzey etkin madde seçimi çalışmalarının sonucunda elde edilen bulgular kullanılarak üçgen faz diyagramları oluşturulmuştur. Farklı yağ, yüzey etkin madde, kosolvan oranları denenerek üçgen faz diyagramlarında nanoemülsiyon bölgeleri tespit edilmiştir. Daha sonra oluşan nanoemülsiyonların damlacık büyüklükleri ve polidispersite indeksleri (PDI) tespit edilerek buna göre istenen damlacık boyutundaki formülasyonların yardımcı madde oranları saptanmıştır.

Üçgen faz diyagramlarının oluşturulmasında Şekil 3-1'de gösterilen, su ile titrasyon yöntemi kullanılmıştır. Yağ : yüzey etkin madde ve kosolvan toplamı (S_{mix}) oranları 1:9 , 2:8 , 3:7 , 4:6 , 5:5 , 6:4 , 7:3 , 8:2 , 9:1 oranlarda denenmiş, aynı zamanda S_{mix} karışımını oluşturan yüzey etkin madde : kosolvan oranı olarak da 1:3 , 1:1 , 3:1 oranları denenerek üçgen faz diyagramları oluşturulmuştur. Verilen oranlarda SNEDDS formülasyonu hazırlanmış ve 1 g alınmıştır. Formülasyon oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılırken üzerine yavaş yavaş distile su eklenmiştir (150). Her damladan sonra karışımın şeffaf kaldığı ve bulanıklaştığı bölgeler takip edilerek Tridraw 2.6 programı ile üçgen faz diyagramları çizilmiştir. Üçgen faz diyagramlarından elde edilen alanların hesaplanması ImageJ 1.53e programı ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3-1: Üçgen faz diyagramlarının hazırlanması (su ile titrasyon yöntemi) (131)

3.2.7. Boş Formülasyonlarda Damlacık Boyutu ve PDI Ölçümü

Üçgen faz diyagramlarından elde edilen bulgular göz önünde bulundurularak Tablo 3-5'te gösterilen seri formülasyonlar hazırlanmıştır.

Tablo 3-5: Boyut ve PDI ölçümü yapılacak formülasyonlar ve kodları

Gliserit	Yüzey Etkin Madde	Yardımcı Yüzey Etkin Madde	Kosolvan	Kod
Imwitor® 988 (%10-30)	Kolliphor® CS20 (%10-80)	-	Transcutol® P (%10-80)	IcsT
Imwitor® 988 (%10-30)	Kolliphor® RH40 (%10-80)	-	Transcutol® P (%10-80)	IrhT
-	Kolliphor® CS20 (%10-80)	Capryol™ 90 (%10-30)	Transcutol® P (%10-80)	CcsT

Hazırlanan formülasyonlar 1/100 oranında distile su ile seyreltilmiştir. Oluşan nanoemülsiyonların damlacık boyutu ve polidispersite indeksi ölçümleri 0,3 nm ile 10 µm arasındaki boyutları ölçebilen, dinamik ışık saçılımı (DLS) esasına göre çalışan 633 nm He-Ne lazerine sahip Malvern Zetasizer Nano ZS cihazı kullanılarak 173° geri saçılım modunda gerçekleştirilmiştir. Cihaz kapağında belirtilen aralıkta (10-15 mm yükseklikte) kalacak miktarda numune tek kullanımlık polistiren küvetlere doldurulmuş, ölçümler 25°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Nanoemülsiyon dış fazı su olduğundan dispersiyon ortamı (refraktif indeks: 1,330 ve viskozite: 0,8872) olarak su seçilmiştir. Unimodal dağılım gösteren, PDI değeri 0,25'in altında, ortalama damlacık boyutu (Z-average) 150 nm'nin altında olan formülasyon başarılı olarak sayılmıştır.

3.2.8. Formülasyonlara Etkin Madde Yüklenmesi

Damlacık boyutu ve PDI ölçümü sonuçları uygun bulunan formülasyonlara yüklenebilecek apreptant miktarının bulunabilmesi için çözünürlük çalışması gerçekleştirilmiştir. Çözünürlük çalışması valide edilmiş analitik metot ile "Yöntemler 3.2.3" başlığında detaylı olarak anlatıldığı üzere gerçekleştirilmiştir. Anlatılandan farklı olarak, çalışma yardımcı maddelerin içerisinde değil uygun oranlara göre hazırlanmış SNEDDS formülasyonları içerisinde ve 37°C'de gerçekleştirilmiştir. Kısaca, aşırı miktarda apreptant üzerine hazırlanan formülasyon eklenmiş, 100 rpm'de çalkalamalı

su banyosunda 24 saat bekletilmiştir. Süre sonunda karışım santrifüjlenmiş ve süpernatant uygun oranda seyreltilerek miktar tayini yapılmıştır.

Formülasyon içerisindeki oranlar gliserit veya yardımcı yüzey etkin madde - yüzey etkin madde - kosolvan şeklinde olmak üzere belirtilmiştir.

3.2.9. Aprepitant İçeren Formülasyonlarda Damlacık Boyutu ve PDI Ölçümü

Aprepitant çözünürlükleri bulunmuş olan formülasyonlara farklı miktarlarda aprepitant yüklenerek damlacık boyutu ve PDI ölçümleri “Yöntemler 3.2.7” başlığında detaylı olarak anlatıldığı üzere gerçekleştirilmiştir. Böylece formülasyona yüklenen aprepitant miktarının damlacık boyutu ve PDI değerleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

1 g SNEDDS formülasyonu içerisine en düşük 21 mg en yüksek ise çözünürlük değeri kadar yükleme yapılması hedeflenmiş, çözünürlük değerinin üzerinde çalışma yapılmamıştır. Oluşan nanoemülsiyonların stabilitesinin incelenebilmesi amacıyla 0, 1, 2 ve 4. saatlerde ölçümler alınmış ve oluşan nanoemülsiyonların damlacık boyutu değişimleri incelenmiştir.

3.2.10. Doymuş Formülasyonlarda Etkin Madde Çökme Testi

Etkin maddenin seyreltilmiş formülasyonlardaki çökme testleri Pouton ve Porter’ın (99) açıkladığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Formülasyonlara yüklenebilecek aprepitant miktarının bulunması için yapılan çalışmada (Yöntemler 3.2.8) elde edilen doymuş çözeltiye 100 µL alınmış ve distile su ile 10 mL’ye (1/100 oranında) seyreltilmiştir. Oluşan nanoemülsiyonlar test süresince 37°C’de ve 100 rpm’de çalkalamalı su banyosunda tutulmuştur. 15, 30, 60, 120, 180 ve 240. dakikalarda 0,5 mL numune alınmış ve hacim tamamlaması yapılmamıştır. Elde edilen numuneler 0,45 µm’lik şırınga ucu filtreden süzölmüştür. Süzöntünün ilk yarısı atılmış, geri kalan süzöntüden 100 µL alınıp mobil faz ile 1 mL’ye seyreltilerek valide edilmiş analitik yöntemle miktar tayini yapılmıştır. Böylece 4 saat süresince çözeltide kalan etkin madde miktarı takip edilmiştir.

4. saate kadar çözünmüş halde bulunan aprepitant miktarı Quan ve ark. (151) tarafından kullanılmış bir yöntem olan konsantrasyon-zaman eğrilerinin altındaki alan (EAA) hesaplanarak karşılaştırılmıştır. EAA hesabı, yamuk kuralına göre gerçekleştirilmiş olup, her bir yamuk alanı (alt kenar + üst kenar) / 2 * yükseklik

formülüne göre hesaplanıp, tüm yamuk alanlarının toplanmasıyla yapılmıştır. Bulunan alanın birimi $\text{mg.mL}^{-1}.\text{dk}$ cinsinden verilmiştir.

3.2.11. Polimer Eklenmiş SNEDDS Formülasyonları

Formülasyonlara çözünürlük kapasitelerinin üzerinde aprepitant yükleyebilmek (aşırı doymuş SNEDDS), *in vitro* ortamda veya GI sistem sıvılarıyla seyrelmesinden sonra oluşan nanoemülsiyon damlacıklarının stabilitesini artırmak, etkin maddenin çökme hızını yavaşlatmak ve aşırı doymuşluğu daha uzun bir süre sürdürmek için multimoleküler film yapabilen, liyofilik kolloid özellikteki polimerler eklenmiştir. Polimer olarak Kollidon® 25 (PVP), Kollidon® VA64 (PVP/VA), Methocel™ E5 (HPMC), Soluplus® denenmiştir. Polimerler hazırlanan formülasyonlara ağırlıkça %5 ve %10 oranda eklenerek denemeler gerçekleştirilmiştir.

Aşırı doymuş SNEDDS (A-SNEDDS) formülasyonları hazırlanırken doymuşluk konsantrasyonu seviyesinin üzerine çıkılabilmesi amacıyla ısı kullanılmıştır. Hazırlanmış standart formülasyonlar 60°C'ye kadar ısıtılıp daha fazla aprepitant çözebilmesi sağlanmıştır. A-SNEDDS hazırlanırken çökme testinde en yüksek EAA'ya sahip olan IrhT 20-60-20 ve CcsT 10-50-40 formülasyonları kullanılmıştır.

Çalışılan formülasyonların içerisinde en yüksek aprepitant çözünürlüğüne sahip olan IrhT 30-10-60 formülasyonu da çökme hızı değişiminin incelenmesi amacıyla model formülasyon olarak kullanılmıştır.

Polimerler eklenerek hazırlanmış formülasyon seyreldikten sonra çözeltide kalan aprepitant 4 saat boyunca Yöntemler 3.2.10 başlığında anlatıldığı üzere incelenmiş ve grafiklerin EAA değerleri hesaplanmıştır.

Çalışmalar için formülasyon hazırlanırken önce SNEDDS bileşenleri uygun oranda tartılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan SNEDDS üzerine ağırlığının %5'i veya %10'u kadar polimer eklenmiştir. Eklenen polimer SNEDDS içerisinde tamamen çözüldükten sonra aprepitant eklenmiştir. A-SNEDDS formülasyonları A-IrhT 20-60-20 ve A-CcsT 10-50-40 hazırlanırken aprepitant eklendikten sonra formülasyonlar ağzı kapatılmış flakonlarda 60°C'ye kadar ısıtılıp aprepitantın tamamen çözünmesi sağlanmıştır. A- eki formülasyonların polimer içeren formülasyonlar olduğunu göstermektedir.

A-SNEDDS formülasyonlarına yüklenecek en uygun etkin madde miktarının saptanabilmesi amacıyla 30 mg ila 50 mg arasında değişen miktarlarda aprepitant eklenerek test tekrarlanmış ve EAA değerleri hesaplanmıştır. EAA değeri en yüksek bulunan formülasyonlara eklenen aprepitant miktarının ideal olduğu düşünülmüştür.

Soluplus®'ın aşırı doygun ortamda aprepitantın çökmesini tek başına nasıl etkilediğini görebilmek amacıyla 1 mL etanol içerisine 15 mg aprepitant eklenerek formülasyonsuz bir çözelti hazırlanmıştır. Bu formülasyondan 200 µL alınıp 10 mL dağılma ortamına eklenmiştir. Dağılma ortamı olarak 1 mg/mL Soluplus® sulu çözeltisi kullanılmıştır. Bu konsantrasyon %10 Soluplus® eklenmiş formülasyonlar 1/100 seyreltiğinde ortamda bulunan Soluplus® konsantrasyonudur. Seyreltme sonucu ortamdaki teorik aprepitant konsantrasyonu 0,3 mg/mL olmuştur. Böylece 30 mg aprepitant ve %10 Soluplus® içeren formülasyonların 1/100 seyrelmesine eşdeğer bir test gerçekleştirilmiştir.

3.2.12. *İn vitro* Lipoliz Çalışması

İn vitro lipoliz çalışması Zangenberg ve ark. (152, 153) tarafından bildirilmiş yöntemde çeşitli modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Açlık durumundaki intestinal ortamı taklit etmek üzere hazırlanan lipoliz tamponu (pH 6,5) ve lipoliz ortamı bileşimleri Tablo 3-6'da verilmiştir. Çözeltiler belirlenen konsantrasyonda maddeler içerecek şekilde hazırlanmış olup, gerekmesi halinde pH 6,5 değerine NaOH veya HCl çözeltisi ile ayarlanmıştır. Lipoliz ortamı tampona ek olarak safra tuzu ve fosfolipid içermektedir.

Tablo 3-6: *İn vitro* lipoliz ortamı

Lipoliz Ortamı	Lipoliz Tamponu	Madde	Konsantrasyon
Lipoliz ortamı bileşimi	Lipoliz tamponu bileşimi	Tris-maleat	2 mM
		CaCl ₂ .2H ₂ O	1,4 mM
		NaCl	50 mM
		Safra tuzu	2,95 mM
		Fosfolipid	0,26 mM

Çalışma 37°C'de, dağılma ve sindirim fazı olmak üzere iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. Öncelikle lipoliz ortamı ve 12 mg aprepitanta eşdeğer miktarda

formülasyon behere eklenmiş, formülasyonların lipoliz ortamında dağılması için 15 dakika beklenmiştir. Sıvı pankreatik lipaz ekstresi, domuz pankreasından elde edilen 1 g pankreatin tozunun 5 mL lipoliz tamponu içinde 15 dakika karıştırılması ve ardından bu süspansiyonun 4.000 rpm'de (2.075 g) santrifüjlenmesi ile hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstrenin pH değeri 6,5'a ayarlanmıştır. Pankreatik ekstre 15 dakikalık dağılma süresi sonunda lipoliz ortamına ilave edilmiştir. Enzim aktivitesi kaybını en aza indirmek için, ekstre her testten önce soğuk sindirim tamponu kullanılarak taze olarak hazırlanmıştır. Test sırasında ortam pH değeri 0,4M NaOH çözeltisi kullanılarak $6,5 \pm 0,05$ 'e manuel olarak ayarlanmıştır. Bu ayarlama için test süresince kullanılan çözelti hacmi yok sayılmıştır. Örnekler dağılma fazının 10. ve 15. dakikasında, sindirim fazının ise 5, 15, 30, 45 ve 60. dakikasında alınmıştır. Alınan örneklerle 5 µL 4-bromofenil boronik asit (4-BFBA) eklenerek lipaz aktivitesi hemen inhibe edilmiş, ardından örnekler 13.500 rpm'de (12.225 g) 15 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Süpernatantdaki aprepitant miktarı uygun seyreltme sonrasında valide edilmiş metot kullanılarak HPLC ile ölçülmüştür. Ayrıca sindirim başladıktan sonraki her zaman noktasında ortamı tekrar pH 6,5 değerine getirmek için harcanan 0,4M NaOH çözeltisi miktarı kaydedilmiştir.

3.2.13. Katı SNEDDS Formülasyonları

3.2.13.1. Katı SNEDDS Formülasyonlarının Hazırlanması

Oda sıcaklığında sıvı formda bulunan SNEDDS formülasyonları çeşitli adsorbanlar kullanılarak katı forma dönüştürülmüştür. A-CcsT formülasyonu Kolliphor® CS20'nin göreceli olarak yüksek erime noktası nedeniyle oda sıcaklığında katı haldedir. Bu sebeple formülasyonların katı dozaj formuna çevrilmesi formülasyon erimiş haldeyken (70°C'yi geçmeyen sıcaklıkta) jelatin kapsüllere dolumu yapıp oda sıcaklığında katılaşmasını sağlayarak gerçekleştirilmiştir. A-IrhT formülasyonlarının katı forma dönüştürülmesi ise poröz taşıyıcılar üzerine adsorbe edilerek sağlanmıştır. Bunun için öncelikle uygun adsorban seçilmiştir. Syloid® XDP 3050, Syloid® XDP 3150, Neusilin® UFL2, Neusilin® US2 ve Florite® R olmak üzere beş farklı adsorban ile denemeler gerçekleştirilmiştir. Öncelikle bir gram adsorban porselen havana koyulmuş ve üzerine formülasyonlar damla damla eklenmiştir. Her eklemeden sonra havanın içeriği bir havan eli ile karıştırılmıştır. Böylece her bir adsorban için maksimum sıvı tutma kabiliyeti belirlenmiştir.

3.2.13.2. Katı SNEDDS Formülasyonlarının Akış Özellikleri

Katı forma dönüştürülen formülasyonların akış özelliklerini incelemek üzere küme ve sıkıştırılmış dansite değerleri hesaplanmıştır. Tozun küme dansitesi tıpkı sıvılarda olduğu gibi basitçe tozun kütlesinin hacmine bölünmesiyle bulunmuştur. Ağırlığı bilinen toz örnek uygun boyutlu mezür içerisine, mezür sarsılmadan dikkatlice doldurulmuş ve tozun hacmi bulunmuştur. Aynı mezür daha sonra vuruş dansitesi cihazına yerleştirilmiş ve tozun sıkıştırılmış hacmi ölçülmüştür. Mezürdeki toz numunesine sırayla toplamda 500 ve 1250 vuruş yapılmıştır. Toz hacmi azaldıysa, numune hacmi değişmeyene kadar 1250 vuruş daha yapılmıştır. Değişmeyen son hacim, sıkıştırılmış hacim olarak kaydedilmiştir. Sıkıştırılmış dansite toz ağırlığının sıkıştırılmış hacme bölünmesiyle hesaplanmıştır. Küme dansitesi ve sıkıştırılmış dansiteden hareketle Hausner oranı (Denklem 3-3) ve Carr (basılabilirlik) indeksi (Denklem 3-4) hesaplanmıştır (154).

$$\text{Hausner Oranı} = \frac{\text{Sıkıştırılmış dansite}}{\text{Küme dansitesi}} \quad (3-3)$$

$$\text{Carr İndeksi} = \frac{\text{Sıkıştırılmış dansite} - \text{Küme dansitesi}}{\text{Sıkıştırılmış dansite}} \times 100 \quad (3-4)$$

3.2.14. *İn vitro* Çözünme Hızı Çalışmaları

İn vitro çözünme hızı testleri Pharmatest PTWS 120D çözünme test cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Testler 37°C ve 100 rpm'de USP palet yöntemi (aparat II) ile gerçekleştirilmiştir. Çözünme ortamı olarak FDA (20.01.2006) tarafından önerilen 900 mL %2.2 sodyum lauril sülfat (SLS) çözeltisi kullanılmıştır. Bu ortama ek olarak fizyolojik ortamları taklit edebilmek amacıyla pH 1,2 HCl tamponu, pH 4,5 asetat tamponu ve pH 6,8 fosfat tamponu kullanılarak testler tekrarlanmıştır. 1, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 45 ve 60. dakikalarda beherlerden 1 mL numune alınmıştır. Çözünme ortamının hacminin test süresince sabit tutulması amacıyla beherler taze ortam ile tekrar 900 mL'ye tamamlanmıştır. Alınan numuneler 0,45 µm'lik bir şırınga ucu filtreden süzölmüştür. Aprepitant konsantrasyonları, ek bir seyreltme yapılmadan valide edilmiş HPLC metodu ile belirlenmiştir. Karşılaştırma amacıyla hazırlanan formülasyonların, pazarlanan kapsüllerin (Emend®) ve toz aprepitantın çözünme hızı testleri yapılmıştır.

Aprepitant tozu ve adsorban kullanılarak hazırlanan formülasyonlar (IrhT) çözünme ortamına doğrudan toz olarak, yarı katı formülasyonlar (CcsT) ise sert jelatin kapsüle doldurularak eklenmiştir. Çözünme testlerinde Emend® 80 mg kapsül kullanılmıştır. Çözünme testlerinde kullanılacak kapsüller açılarak mikropelletler boşaltılmış, daha sonra boşaltılan mikropelletlerin 1/4'ü kadar tartılmış (20 mg aprepitanta eşdeğer) ve tekrar aynı kapsüle doldurularak kullanılmıştır. Böylece test sırasında her bir behere 20 mg'a eşdeğer olacak şekilde aprepitant eklenmiştir. Test her bir formülasyon için aynı ortamda üçer kere tekrar edilmiş sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir.

3.2.15. *In vitro* Sitotoksosite Çalışması

In vitro sitotoksosite çalışmaları İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi bünyesinde bulunan hücre kültürü laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. *In vitro* sitotoksosite çalışmalarında kolon epitelyal hücreleri olan ve insan kolorektal adenokarsinomasından elde edilen Caco-2 hücre hattı (Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu, ATCC® HTB-37™) kullanılmıştır.

Hücreler laboratuvara ulaştıktan sonra rutin olarak 75 cm² hücre kültürü kaplarında (TPP, Trasadingen, İsviçre) 37°C, % 5 CO₂ atmosfer koşullarının sağlandığı hücre kültürü için kullanılan inkübatörde (ThermoScientific, Almanya) büyütülmüştür. Hücrelerin büyümesinde gerekli ortamın sağlanması için Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM) (Biosciences, DunLaoghaire, Ireland) besiyerine % 5 fetal bovine serum (FBS, Sigma-Aldrich), 100 U/ml penisilin (Sigma-Aldrich) ve 100 µg/ml streptomisin (Sigma-Aldrich) ilave edilmiştir. Hücrelerin büyütülmesi için ekim yoğunluğu 4 x 10⁴ hücre/cm² olarak belirlenmiş ve hücrelerin büyütüldüğü ortamdaki besiyeri her iki günde bir değiştirilmiştir (155). Hücrelerin büyütüldüğü hücre kültürü kaplarında hücre yoğunluğu % 80 – 85 oranına ulaştığında hücrelerin bulunduğu kap değiştirilmek sureti ile hücreler pasajlanmıştır. Çalışma süresince 9-16 numaralı hücre pasajları kullanılmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda (1-100 µg/mL) aprepitant uygulanan hücreler 24 saat boyunca etkin madde ile inkübe edilmiştir. Bunu takiben üretici firmanın talimatları doğrultusunda hazırlanan 5 mg/mL MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) çözeltisinde kuyucuklara 30 µL/kuyucuk olacak şekilde eklenmiş ve 4 saat boyunca beklenmiştir. Oluşan mor formazan kristallerini çözebilmek

için dimetilsülfoksit çözeltisi eklenmiştir. Sonrasında eksitasyon / emisyon dalgaboyu 600 / 570 nm olacak şekilde ölçüm alınmıştır (BMG Optima, Almanya). Deney grubunda pozitif kontrol olarak Triton X-100 kullanılmıştır.

Hücreleri % canlılık değerleri formülasyon uygulanmayan hücrelerdeki absorbans baz alınarak (%100 canlı kabul edilerek) hesaplanmıştır. GraphPad Prism programı aracılığı ile doğrusal olmayan (nonlinear) regresyon kullanılarak, aprepitant için Caco-2 hücrelerinin yarısının canlılığını kaybetmesini sağlayan konsantrasyon (IC_{50}) değerleri hesaplanmıştır. Bulunan IC_{50} konsantrasyonunda aprepitant içeren farklı bileşenlere sahip formülasyonda sitotoksosite testi tekrarlanmış ve formülasyonların Caco-2 hücre hatlarında göstermiş oldukları sitotoksiteler arasında anlamlı bir farklılık olup olmadığı incelenmiştir.

Formülasyonların sitotoksitelerinin istatistiksel karşılaştırılması tek yönlü ANOVA ile yapılmıştır. Formülasyonlar arası farklılıklar Tukey testi ile değerlendirilmiş olup, $p < 0,05$ olması durumunda farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3.2.16. CcsT 10-50-40 ve A-CcsT 10-50-40 Formülasyonları Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları

A-CcsT 10-50-40 ve onun polimer içermeyen formülasyonunda (CcsT 10-50-40) bir dizi karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

3.2.16.1. Seyreltme Sonrasında Oluşan Dağılımın Özelliği

Elde edilen dispersiyonların yapısı formülasyon içeriğindeki yardımcı maddelerin karıştırma sırası değiştirilerek araştırılmıştır. Formülasyon standart şekilde hazırlanırken önce Capryol™ 90, Kolliphor® CS20 ve Transcutol® P birlikte 60°C'ye kadar ısıtılarak homojenize edilmiştir. Karıştırma sırasının etkisinin araştırılması için alternatif hazırlama yöntemi olarak hidrofilik yardımcı maddeler (Kolliphor® CS20 ve Transcutol® P) önce distile suda çözülmüş, sonra bu sulu faza Capryol™ 90 eklenmiştir (156). Bu iki yöntemle hazırlanan 1/100 seyreltme durumundaki dispersiyonlar DLS metodu kullanılarak değerlendirilmiştir. Ölçümler formülasyonun yapısını incelemek üzere yapıldığından etkin madde içermeyen formülasyonlar ile gerçekleştirilmiştir. Daha sonra Soluplus® içeren A-CcsT 10-50-40 formülasyonunun da boş ve etkin madde yüklü halleri 1/100 oranda seyreltilerek damlacık boyutu ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.16.2. Formülasyonların % Transmittans Ölçümleri

Formülasyonların distile su, pH 1,2, pH 4,5 ve pH 6,8 tampon çözeltilerinde olmak üzere 4 farklı ortamda % transmittans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçümler Yöntemler 3.2.4 ve 3.2.5 başlıklarında açıklandığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Kısaca 50 mg formülasyon tartılıp balon jode 50 mL'ye kadar seyreltilmiş ve 2 saat beklenmiştir. Oluşan dispersiyonların 638,2 nm dalga boyunda % transmittans değerleri ölçülmüştür (149). Ölçümde referans (kör) çözelti olarak su veya ilgili tampon çözeltiler kullanılmıştır.

3.2.16.3. Termodinamik Stabilité Çalışmaları

Hazırlanan formülasyonlar, her aşama sonunda fiziksel görünüşün izlendiği santrifüjleme, ısıtma-soğutma ve dondurma-çözme döngüleri gibi zorlayıcı koşullara tabi tutulmuştur (156).

Hazırlanan formülasyonlara 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj uygulanmıştır. Formülasyonda görsel açıdan herhangi bir değişiklik olup olmadığı incelenmiştir. Formülasyon daha sonra 1/100 oranında seyreltilerek 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj uygulanmıştır. Dispersiyonda herhangi bir faz ayrımı, flokülasyon, kremalaşma gibi stabilité sorunları olup olmadığı incelenmiştir.

Isıtma-soğutma döngülerinde, hazırlanan formülasyonlara 40°C ve 4°C'de 48 saat beklenerek şekilde toplam altı döngü uygulanmıştır. Formülasyonlarda görsel açıdan herhangi bir değişiklik olup olmadığı incelenmiştir.

Dondurma-çözme döngülerinde, hazırlanan formülasyonlara -20°C ve 25 °C'de 48 saat beklenerek şekilde toplam altı döngü uygulanmıştır. Formülasyonlarda görsel açıdan herhangi bir değişiklik olup olmadığı incelenmiştir.

3.2.16.4. Emülsifikasyon Etkinliği ve Süresi Tayini

Emülsifikasyon etkinliği tayini standart dissolüsyon aparat II (palet) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 1 g formülasyon 37°C'de 500 mL distile su içerisine eklenmiş ve ortam 50 rpm'de sürekli olarak karıştırılmıştır. Emülsifikasyon etkinliği ve süresinin yorumlanmasında Tablo 3-7'de açıklanmış olan değerlendirme sistemi kullanılmıştır (157).

Tablo 3-7: Emülsifikasyon etkinliği değerlendirme sistemi

Sınıf	Açıklama
A sınıfı	Şeffaf veya mavimsi görüntüye sahip, 1 dakikadan hızlı oluşan
B sınıfı	Daha az şeffaf ve mavimsi-beyaz görüntüye sahip, 2 dakikadan hızlı oluşan
C sınıfı	Süt görünüşüne sahip, 2 dakikadan hızlı oluşan
D sınıfı	Mat grimsi renge sahip, 2 dakikadan yavaş oluşan
E sınıfı	Zayıf emülsifikasyona bağlı yüzeyde büyük yağ damlacıkları, 3 dakikadan yavaş

3.2.16.5. Seyrelmeye Olan Dayanıklılık Tayini

Aprepitant yüklü A-CcsT 10-50-40 formülasyonunun distile su, pH 1,2, pH 4,5 ve pH 6,8 tampon çözeltilerinde olmak üzere 4 farklı ortamda ve 1/10, 1/50, 1/100, 1/500 ve 1/1000 olmak üzere 5 farklı seyreltmede damlacık boyutu, PDI ve zeta (ζ) potansiyel ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Böylece formülasyonun farklı ortamlarda seyrelmeye olan dayanıklılığı incelenmiştir.

Damlacık boyutu ve PDI ölçümleri Yöntemler 3.2.7 başlığında açıklandığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Zeta potansiyel ölçümleri ise kapiller ölçüm kuvvetlerinde gerçekleştirilmiş olup, yazılım tarafından Helmholtz-Smoluchowski eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır. Dispersiyon ortamı olarak su (refraktif indeks 1,330 ve viskozite 0,8872, dielektrik katsayısı 78,5) seçilmiştir.

3.2.16.6. Bulutlanma Noktası Ölçümü

Formülasyonlar distile su ile 1/100 oranında seyreltildikten sonra kademeli olarak ısıtılmışlardır. Dispersiyon görsel olarak takip edilmiş ve bulutlanma noktası bulanık bir görünümün oluştuğu sıcaklık ölçülerek tespit edilmiştir.

3.2.16.7. pH Ölçümü

Formülasyonlar distile su ile 1/100 oranında seyreltildikten sonra oluşan dispersiyonların pH değerleri Mettler Toledo pH/Ion S220 pHmetre aracılığı ile 37°C’de ölçülmüştür.

3.2.16.8. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FT-IR) Analizi

FT-IR ölçümleri, bir ZnSe kristali ile donatılmış bir kızılötesi spektrofotometre (Perkin Elmer Spectrum Two, ABD) kullanılarak ATR modunda gerçekleştirilmiştir. Ölçümler $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ dalga numarası aralığında ve 2 cm^{-1} aralıklarla gerçekleştirilmiştir. Toz aprepitant ve formülasyonların spektrumları 4 ölçümün ortalaması şeklinde kaydedilmiştir.

3.2.16.9. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi

DSC analizi TA Instruments DSC 250 cihazı (New Castle, USA) ile gerçekleştirilmiştir. 5 mg civarında örnekler hermetik alüminyum panlara (Tzero Hermetic Pan & Lid) tartılıp kapatılmıştır. Hermetik olarak kapatılmış boş bir alüminyum pan referans olarak kullanılmıştır. Örnekler $10^{\circ}\text{C}/\text{dakika}$ hızla $30\text{--}350^{\circ}\text{C}$ arasında ısıtılmışlardır. İnert gaz olarak 50 mL/dakika akış hızında azot gazı kullanılmıştır. Toz aprepitant, boş ve aprepitant yüklü A-CcsT 10-50-40 formülasyonları analiz edilmiş, elde edilen termogramlar TRIOS programı ile incelenmiştir.

3.2.16.10. X-Işını Toz Kırınımı (XRPD) Analizi

XRPD analizi Shimadzu LabX XRD-6100 (Kyoto, Japonya) difraktometresi ile gerçekleştirilmiştir. X-ışını kaynağı Cu anot ($\lambda = 1,54060\text{ Å}$ CuK α) 40 kV voltajda ve 30 mA akımda çalıştırılmıştır. Numuneler bir alüminyum numune tutucusuna yerleştirildikten sonra $0,02^{\circ}$ aralıklarla $5\text{--}60^{\circ}$ 'lik 2θ 'lik bir kırınım açısı aralığında test edilmiştir.

3.2.16.11. Uzun Dönem ve Hızlandırılmış Stabilité Çalışmaları

Jelatin kapsüle doldurulmuş A-CcsT 10-50-40 formülasyonunun uzun dönem ve hızlandırılmış stabilite çalışmaları ICH Q1A(R2) kılavuzuna göre gerçekleştirilmiştir. Türkiye iklimatik bölge açısından Zon II'de bulunduğu uzun dönem stabilite testi $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta ve $\% 60 \pm \% 5$ relatif nemde gerçekleştirilmiştir. Hızlandırılmış stabilite testleri ise $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta ve $\% 75 \pm \% 5$ relatif nemde gerçekleştirilmiştir. 0, 1, 2, 3 ve 6. aylarda alınan numunelerde çözünme hızı testleri gerçekleştirilmiştir. Ek olarak kapsüller açılarak içerisinden alınan numuneler 1/100 seyreltilerek damlacık boyutu ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Böylece takip edilen süre boyunca formülasyonun bu özelliklerindeki değişimler incelenmiştir.

3.2.17. Toz Aprepitantın Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı

Tez çalışmaları süresince kullanılan toz aprepitantın partikül büyüklüğü ve dağılımı lazer difraksiyonu esasına göre çalışan Malvern Mastersizer 3000 cihazı (Malvern, UK) Hydro MV yaş dispersiyon ünitesi kullanılarak bulunmuştur. 40 mL distile su içerisine 25 mg Tween® 80 (%0,06 a/h) eklenerek dispersiyon ortamı hazırlanmıştır. 50 mg toz aprepitant bu dispersiyon ortamına eklenmiştir. Partikül ve dispersant refraktif indeksleri sırasıyla 1,564 ve 1,330 olarak girilmiştir. Programdaki obscuration değeri %3-8 aralığına gelene kadar, hazırlanan dispersiyondan yaklaşık 6 mL cihazın numune haznesine eklenmiştir. Cihazın dispersiyon ünitesinin karıştırıcı hızı 2400 rpm, sonikatör gücü ise %80 olarak ayarlanmış ve 10 dakika açık tutulmuştur. Süre sonunda sonikatör kapatılmış ve 30 saniye sonra ölçüm alınmıştır. Ölçüm sonuçları Dv(10), Dv(50), Dv(90), bunların standart sapmaları ve Span değeri olarak ifade edilmiştir.

3.2.18. *In vivo* Biyoyararlanım Çalışması

Gerçekleştirilen tüm *in vivo* çalışmalar İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (İÜHADYEK) Yönergesi'ne ve laboratuvar hayvanlarını korumaya yönelik uluslararası etik kurallar kılavuzundaki ilkelere uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın yapılabilmesi için İÜHADYEK'e başvurulmuş ve 2019/1 sayılı karar ile etik kurul onayı alınmıştır.

Çalışmada kullanılması planlanan deney hayvanları Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı, Deney Hayvanı Üretim ve Saflaştırma Bölümü'nden temin edilmiştir. Temin edilen deney hayvanları İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Deney Hayvanları Bakım ve Araştırma Birimi'nde (EDEHAB) bakılmış ve işlemler burada uygulanmıştır. Deney hayvanları 4 adeti bir arada olmak üzere uygun büyüklükteki kafeslerde, standart sıcaklık ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), aydınlatma (12 saat aydınlık / 12 saat karanlık) ve uygun nem koşullarında barındırılmıştır. Deney hayvanlarının beslenmesinde standart pellet yem ve çeşme suyu kullanılmıştır.

In vivo çalışmalarda 12-14 haftalık (250-350 g) 16 adet erkek Sprague Dawley soyu sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar rastgele iki gruba (n=8) ayrılmıştır. Birinci gruba %0,5 (a/h)'lik karboksimetil selüloz sodyum (CMC-Na) ile hazırlanmış aprepitant süspansiyonu, ikinci gruba ise A-CcsT 10-50-40 formülasyonu oral gavaj ile 10 mg/kg

dozda uygulanmıştır. Süspansiyon sıçanlara doğrudan uygulanırken, formülasyon gavaj uygulamasının daha rahat ve hatasız gerçekleştirilebilmesi amacıyla distile suda disperse edildikten sonra uygulanmıştır. Uygulanan formülasyonların tam içeriği Tablo 3-8’de gösterilmiştir. Her iki gruba da uygulanan maddelerin 3,33 mg/mL aprepitant içerdiği görülmektedir. Örneğin, 300 g ağırlıktaki bir sıçana 0,9 mL uygulama yapılmıştır.

Tablo 3-8: Deney hayvanlarına uygulanan formülasyonların içeriği

Süspansiyon Grubu (n=8)		Formülasyon Grubu (n=8)	
CMC-Na Aprepitant Distile su	75 mg 50 mg q.s. 15 mL	Capryol™ 90	100 mg
		Kolliphor® CS20	500 mg
		Transcutol® P	400 mg
		Soluplus®	100 mg
		Aprepitant	40 mg
		Distile su (dispersiyon için)	q.s. 12 mL
3,33 mg/mL aprepitanta eşdeğer		3,33 mg/mL aprepitanta eşdeğer	

Besin alımının biyoyararlanımda farklılıklara yol açması ve deneysel verilerin yorumlanmasını zorlaştırması sebebiyle, çalışma başlangıcından önce (süspansiyon veya formülasyon gavaj ile uygulanmadan 10 saat önce) ve ilaç uygulamasını takip eden 2 saat boyunca hayvanların besine erişimi kısıtlanmıştır. Toplamda 12 saatlik bir açlık periyodu uygulanmıştır. Çalışma süresince hayvanların suya erişiminde herhangi bir kısıtlama uygulanmamış ve su *ad libitum* olarak verilmiştir. Her deney hayvanı süspansiyon veya formülasyon uygulanmadan önce tartılmış ve uygulacak ilaç hacmi hayvanın ağırlığına göre bulunmuştur. Deney hayvanının ağırlığına göre 0,74 ile 0,99 mL arasında süspansiyon veya formülasyon insülin enjektörü yardımıyla dikkatle çekilmiş ve gavajla hayvana verilmiştir.

İlaç uygulamasını takiben 0,5 saat, 1, 2, 4, 6, 8 ve 24. saatte olmak üzere sevofluran (Sevorane® Likid %100) anestezisi altında, sıçanların orbital sinüsünden yaklaşık 400 µL kan heparin içeren tüplere alınmıştır. Kan toplama sıçanların bir gözü kullanılarak yapılmış olup diğer göze müdahale edilmemiştir. Kan alımını takiben göz hemen tamponlanmış kanama durdurulmuştur. Alınan kanlar derhal 3500 rpm’de 10

dakika santrifüj edildikten sonra plazmaları kan hücrelerinden ayrılarak polipropilen tüplere alınmıştır. Plazmalar içerdikleri aprepitant miktarı analiz edilene kadar -80°C 'de bekletilmiştir. Plazmalardaki aprepitant miktar tayini, LC-MS/MS ile yapılmıştır.

Deney sonrasında hayvanlara ötenazi uygulanmış olup, sevofluran ile anestezi uygulanıp ardından göğüs açılmış ve kansızlaştırma yöntemi ile deney hayvanları kurban edilmektedir. Son zaman noktasında kan örneği toplanması amaçlandığından ötenazi yöntemi olarak kansızlaştırma tercih edilmiştir. Kansızlaştırmadan sonra önlem olarak servikal dislokasyon uygulanmıştır.

3.2.18.1. Plazmadan Aprepitantın Tayininde Kullanılan Biyoanalitik Metot

Aprepitantın analizinde kullanılacak metodun geliştirilmesi, validasyonu ve plazmadan miktar tayini İstanbul Üniversitesi İlaç Uygulama ve Araştırma Merkezi (İÜ-İLAM) laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Analizler Agilent 6400 Triple Quadrupole LC-MS/MS sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Plazmalardaki aprepitant miktar tayini valide edilmiş LC-MS/MS yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Öncelikle analize kadar -80°C 'de bekletilmiş plazmalar oda sıcaklığında bekletilerek eritilmiştir. Eriyen plazmadan 50 μL alınıp üzerine 50 μL iç standart (sitagliptin) eklenmiş ve vorteksle 30 saniye karıştırılmıştır. Plazma proteinlerinin çöktürülmesi için 350 μL metanol:asetonitril (50:50) karışımı eklenmiş ve 45 saniye vorteksle iyice karıştırılmıştır. Çöktürülmüş plazma proteinlerinin ayrıştırılması için numune 5.000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. 100 μL süpernatant insertli vial içerisine koyularak HPLC sistemine 5 μL enjekte edilmiştir. Ayrıştırma 40°C sıcaklıkta, Hypersil 4,6x50mm 3 μm kolon ile gerçekleştirilmiş olup mobil faz olarak Hyper Grade MeOH : %0,2 formik asit çözeltisi (70:30) kullanılmıştır. Akış hızı 1 mL/dk olarak ayarlanmıştır. Analiz süresi her örnek için 9 dakika olarak belirlenmiş, aprepitant ve sitagliptin için alıkonma süreleri sırasıyla 3,75 dakika ve 6,75 dakika olarak bulunmuştur. Aprepitantın hazırlanmış stok çözeltisi boş sıçan plazmasına eklenerek kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında kullanılan kalibrasyon çözeltileri elde edilmiştir. Kalibrasyon eğrisi 5-1000 ng/mL'nin aralığında hazırlanmıştır. Metodun LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,375 ng/mL ve 1,250 ng/mL'dir. Kütle spektrometresinde gaz sıcaklığı 350°C , gaz akış hızı 12 L/dk, nebulizer 22 psi, kapiler voltaj 6.000 V olarak ayarlanmıştır. Çoklu reaksiyon izleme (MRM) için parçalanma geçişleri, aprepitant için ana iyon 535 m/z $\rightarrow$ kararlı parçalanma iyonu 179 m/z

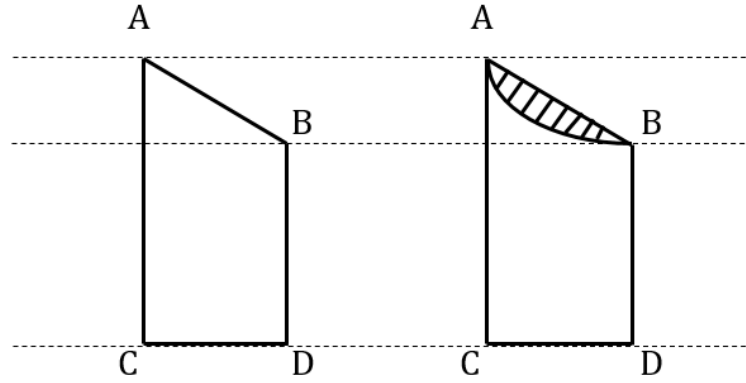
(Fragmentor Voltage: 127 V, Collision Energy: 28, Positive Polarity, Dwell Time 100), sitagliptin için ana iyon 408 m/z → kararlı parçalanma iyonu 174 m/z (Fragmentor Voltage: 135 V, Collision Energy: 25, Positive Polarity, Dwell Time 100) olarak bulunmuştur.

3.2.18.2. Farmakokinetik Parametrelerin Hesaplanması

Farklı zaman noktalarında plazmalarda bulunan aprepitant miktarları LC-MS/MS ile tayin edildikten sonra her bir sıçan için zamana karşı aprepitant plazma konsantrasyonu eğrisi oluşturulmuştur. Oluşturulan plazma konsantrasyonu eğrisinden hareketle bir dizi farmakokinetik parametre hesaplanmıştır. Farmakokinetik parametreler her bir sıçan için ayrı ayrı hesaplanıp daha sonra bunların ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

Eğri altındaki alan (EAA) hesaplamaları gerçeğe daha yakın sonuç vermesi nedeniyle lineer-logaritmik (LinLog) metot ile hazırlanmıştır. EAA hesaplanırken ilacın plazma konsantrasyonunun arttığı bölge (C_{maks} 'a kadar olan kısım) lineer yamuk metodu kullanılarak, ilacın plazma konsantrasyonunun azaldığı bölge (C_{maks} 'tan sonraki kısım) ise logaritmik yamuk metodu kullanılarak hesaplanmıştır (158). Böylece Şekil 3-2'de görülen, logaritmik eliminasyon fazındaki eğrinin altında kalan bölgedeki fazlalıklar (taralı alan) EAA içerisine dahil edilmemiştir. Sırasıyla lineer (sol) ve lineer-logaritmik (sağ) metotta eliminasyon bölgesinde EAA hesabında kullanılan formüller Şekil 3-10'da gösterilmiştir.

$EAA_{0-t_{maks}}$, EAA_{0-24s} , $EAA_{0-\infty}$ olmak üzere üç farklı EAA hesaplanmıştır. Eğrideki 24.saat- ∞ arası alanların hesaplanmasında C_{24s} / K_{el} formülü kullanılmıştır. Süspansiyondan elde edilen toplam $EAA_{0-\infty}$ %100 kabul edilerek formülasyonun relatif biyoyararlanımı hesaplanmıştır.



$$Alan_{lin} = \frac{A + B}{2} \times (D - C) \quad Alan_{log} = \frac{A - B}{\ln A - \ln B} \times (D - C)$$

Şekil 3-2: C_{maks} sonrası bölgede EAA hesabında kullanılan formüller

K_{ab} ve K_{el} değerleri yarı logaritmik grafiklerden hareketle Microsoft Excel programı ile hesaplanmıştır. K_{el} değeri teorik olarak absorpsiyon tamamlandıktan sonraki noktaların (uzak bölge) yarı logaritmik grafikteki regresyon doğrusunun eğiminin işaretinin değiştirilmesi ile hesaplanmış olup, K_{ab} değeri için ise rezidüel metot (soyma metodu) kullanılmıştır. K_{ab} değeri hesabı için yarı logaritmik grafikteki absorpsiyon bölgesinde (yakın bölge) hesaplamalar yapılmıştır. Yukarıda tanımlanmış regresyon doğrusuna yakın bölgedeki apsis değerleri (zaman noktaları) konarak yakın bölgedeki kestirim değerlerinin doğal logaritmaları ($\ln C'$) bulunmuştur. Bu kestirim noktaları uzak bölgeden elde edilmiş regresyon doğrusunun uzantısı üzerinde bulunur. Buradan C' değerlerine geçiş yapıp, bulunan değerler aynı zaman noktasındaki deneysel olarak elde edilen konsantrasyon değerlerinden (C) çıkarılmıştır. Fark ($C' - C$) negatif ise doğal logaritmanın alınabilmesi için mutlak değer alınmıştır. Zamana karşılık fark değerlerinin doğal logaritması ($\ln(C' - C)$) grafiğe geçirildiğinde bir doğru elde edilir. Bu doğrunun eğimin işaretinin değiştirilmesiyle K_{ab} değeri bulunmuştur (159).

Absorpsiyon yarı ömrü ($K_{ab} t_{1/2}$) ve eliminasyon yarı ömürleri ($K_{el} t_{1/2}$) sırasıyla $0,693 / K_{ab}$ ve $0,693 / K_{el}$ formülleri kullanılarak bulunmuştur. C_{maks} ve T_{maks} değerleri için doğrudan plazma konsantrasyonu-zaman eğrilerinde görülen değerler baz alınmıştır. Absorpsiyon gecikme zamanı (t_0) K_{ab} ve K_{el} 'in hesaplandığı doğru denklemlerinin kesiştiği apsis (zaman) değerinin bulunması ile hesaplanmıştır (160).

Gastrointestinal sistemden ortalama geçiş suresi (MTT), ilk moment eğrisinin altındaki toplam alanın ($AUMC_{0-\infty}$) toplam $EAA_{0-\infty}$ 'ya bölnmesi ile bulunmuştur (161).

In vivo verilerin istatistiksel analizi eşleştirilmiş (paired) t-testi ile gerçekleştirilmiştir. Örneklerin normal dağılım gösterdiği D'Agostino-Pearson, Anderson-Darling test, Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov gibi normalite testleri ile gösterilmiş olduğundan parametrik test tercih edilmiştir. P değeri 0,05'ten küçük ise iki grup arasındaki farkın anlamlı olduğu kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler GraphPad Prism programı ile yapılmıştır.



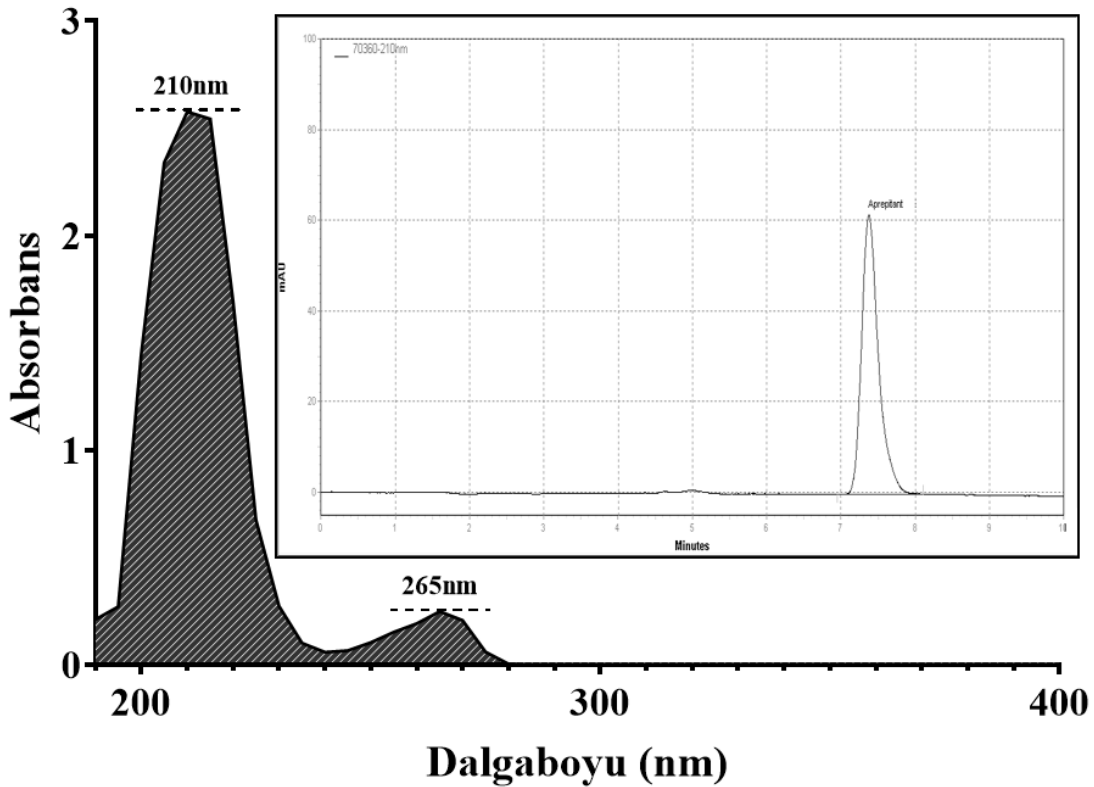
4. BULGULAR

4.1. Aprepitant Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

Tez çalışması süresince aprepitantın miktar tayini için kullanılan HPLC yönteminin validasyonu ICH Q2 (R1) kılavuzuna göre gerçekleştirilmiştir. Validasyon çalışmaları sonucunda yöntemin, aprepitanta özgü, kesinliği ve doğruluğu yüksek ayrıca belirtilen konsantrasyon aralığında doğrusal olduğu gösterilmiştir.

4.1.1. Özgünlük (Spesifiklik) Bulguları

Aprepitantın UV spektrumu ve aprepitant içeren bir çözeltinin örnek kromatogramı Şekil 4-1’de gösterilmiştir. λ_{maks} değeri 210 nm olarak bulunmuştur. Tez çalışması boyunca kullanılan yardımcı maddelerin, analiz numuneleri ile eş konsantrasyonda fakat aprepitant içermeyen çözeltileri (kör) hazırlanarak HPLC’ye verilmiş, böylece miktar tayini sırasında aprepitant pikine herhangi bir girişim yapmadıkları teyit edilmiştir. Oldukça düşük bir dalga boyunda çalışılmasına rağmen, ölçümler öncesinde yapılan 1/100 veya daha yüksek seyreltmelerde, kullanılan yardımcı maddelere ait pikler kromatogramlardan tamamen kaybolmuştur.



Şekil 4-1: Aprepitant UV spektrumu ve örnek bir kromatogram

4.1.2. Doğrusallık Bulguları

Yöntemler kısmında açıklandığı gibi hazırlanmış standart çözeltilerin ölçümleri HPLC’de gerçekleştirilmiş ve her bir standart çözelti konsantrasyonuna karşılık gelen pik alanları Şekil 4-2’de görüldüğü üzere grafiğe geçirilmiştir. Grafik çiziminde, regresyon doğrusu ve doğruya ilişkin parametrelerin hesaplanmasında Microsoft Excel 2016 kullanılmıştır. Elde edilen doğru denklemi $y=53793x+17444$ olarak, determinasyon katsayısı (r^2) ise 0,9999 olarak bulunmuştur.

Doğrusallık Verileri

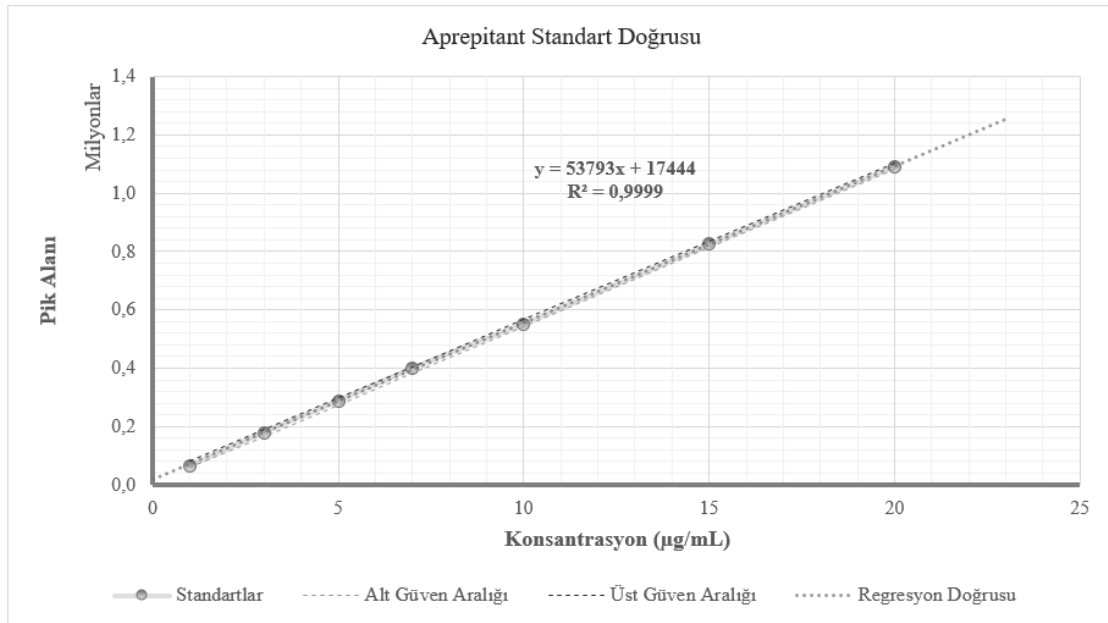
Standart #	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Alan (y)
Standart #1	20	1.090.992
Standart #2	15	826.071
Standart #3	10	552.022
Standart #4	7	400.786
Standart #5	5	289.075
Standart #6	3	178.205
Standart #7	1	66.356

Regresyon İstatistikleri

Nokta Sayısı:	7
Serbestlik Derecesi:	5
Rezidüel Standart Sapma:	4.404,73
R :	0,9999
R ² :	0,9999

Regresyon Doğrusu Bilgileri

Regresyon Doğrusu Eğimi:	53.793,49
Eğimlerin Standart Hatası:	264,45
Regresyon Doğrusu Kesim Noktası:	17.443,53
Kesimlerin Standart Hatası:	2.842,95



Şekil 4-2: Aprepitant standart doğrusu ve ona ait bilgiler

4.1.3. Kesinlik Bulguları

Gün içi ve günler arası kesinlik çalışmaları yöntemler başlığı altında açıklandığı üzere gerçekleştirilmiş olup, üç güne ait bulgular Tablo 4-1’de gösterilmiştir.

Tablo 4-1: Gün içi ve günler arası kesinlik bulguları

Gün içi kesinlik

Ölçüm	Alan	Ortalama Alan	Standart Sapma	Standart Hata	% BSS	GA
Ölçüm-1	1.102.808					
Ölçüm-2	1.113.169	1.101.413	12512,5	7224,1	1,14	31085,2
Ölçüm-3	1.088.261					
Ölçüm-1	408.071					
Ölçüm-2	412.829	408.270	4462,8	2576,6	1,09	11087,2
Ölçüm-3	403.910					
Ölçüm-1	67.767					
Ölçüm-2	68.495	68.461	678,1	391,5	0,99	1684,7
Ölçüm-3	69.122					

Günler arası kesinlik (1. Çalışma)

Gün	Alan	Ortalama Alan	Standart Sapma	Standart Hata	% BSS	GA
Gün-1	1.164.173					
Gün-2	1.166.689	1.164.947	1512,1	873,0	0,13	3756,4
Gün-3	1.163.978					
Gün-1	402.250					
Gün-2	402.513	403.091	1235,3	713,2	0,31	3069,0
Gün-3	404.509					
Gün-1	66.971					
Gün-2	68.255	67.900	812,0	468,8	1,20	2017,2
Gün-3	68.474					

Günler arası kesinlik (2. Çalışma)

Gün	Alan	Ortalama Alan	Standart Sapma	Standart Hata	% BSS	GA
Gün-1	963.595					
Gün-2	979.229	980.091	16942,9	9872,0	1,73	42092,0
Gün-3	997.448					
Gün-1	357.667					
Gün-2	356.966	358.587	2228,9	1286,8	0,62	5537,3
Gün-3	361.129					
Gün-1	60.390					
Gün-2	61.358	60.449	880,5	508,4	1,46	2187,5
Gün-3	59.600					

Günler arası kesinlik (3. Çalışma)

Gün	Alan	Ortalama Alan	Standart Sapma	Standart Hata	% BSS	GA
Gün-1	995.042					
Gün-2	977.485	982.054	11411,5	6588,4	1,16	28350,0
Gün-3	973.635					
Gün-1	345.030					
Gün-2	342.574	343.122	1701,5	982,4	0,50	4227,2
Gün-3	341.762					
Gün-1	57.415					
Gün-2	57.727	57.701	273,9	158,2	0,47	680,5
Gün-3	57.961					

% BSS: % Bağıl standart sapma, GA: %95 Güven aralığı

4.1.4. Doğruluk Bulguları

Doğruluk çalışmaları yöntemler başlığı altında açıklandığı üzere gerçekleştirilmiş olup, bulgular Tablo 4-2’de gösterilmiştir.

Tablo 4-2: Doğruluk bulguları

Teorik Derişim	Alan	Pratik Derişim (µg/mL)	Ortalama Derişim (µg/mL)	% Geri Elde	Standart Sapma	Standart Hata	% BSS	GA
20µg/mL	979.229	20,066						
	976.380	20,007	19,983	99,9	0,098	0,056	0,489	0,243
	969.994	19,875						
7µg/mL	349.328	7,022						
	351.012	7,057	7,062	100,9	0,042	0,024	0,598	0,105
	353.353	7,106						
1µg/mL	58.019	0,990						
	59.600	1,023	1,004	100,4	0,017	0,010	1,699	0,042
	58.462	0,999						

% BSS: % Bağıl standart sapma, GA: %95 Güven aralığı

4.1.5. Stabilité Çalışması Bulguları

Miktar tayini çalışmaları sırasında etkin maddenin ne kadar stabil kaldığının tespiti için yöntemler bölümünde açıklandığı şekilde stabilité çalışmaları gerçekleştirilmiş olup, sonuçları Tablo 4-3’te gösterilmiştir. Çalışma süresi boyunca

ayrıca elde edilen kromatogramlarda bozunma ürünlerinden kaynaklanabilecek farklı bir pik oluşumunun olup olmadığı kontrol edilmiş, yeni bir pik oluşumu gözlenmemiştir.

Tablo 4-3: Stabilite bulguları

Zaman Aralığı	Alan	Örnek (µg/mL)	Ortalama	Standart Sapma	% BSS
0. saat	516.250	10,555			
1. saat	519.138	10,615			
2. saat	521.268	10,659			
3. saat	514.764	10,524			
4. saat	514.487	10,518	10,478	0,125	1,19
8. saat	512.439	10,476			
12. saat	512.604	10,479			
24. saat	516.358	10,326			
36. saat	513.832	10,276			
48. saat	517.861	10,356			

% BSS: % Bağıl standart sapma

4.1.6. Sistem Uygunluk Testi Bulguları

Kullanılan HPLC sistemine ait uygunluk testi bulguları Tablo 4-4'te gösterilmiştir.

Tablo 4-4: Sistem uygunluk testi bulguları

#	Alınma Zamanı	Yükseklik	Alan	Pik Genişliği	USP Teorik Plaka Sayısı	USP Tailing Faktörü
1	7,312	32.710	508.765	0,98	5.511	1,19
2	7,267	32.880	507.771	1,05	5.529	1,19
3	7,285	32.794	507.657	1,02	5.581	1,20
4	7,283	32.644	509.809	1,03	5.491	1,20
5	7,295	32.676	509.823	1,04	5.491	1,20
6	7,316	32.911	508.176	1,05	5.585	1,19
Ortalama	7,293	32.769	508.667	1,03	5.531	1,20
Standart Sapma	0,019	110	971	0,03	42	0,01
% BSS	0,26	0,34	0,19	2,57	0,77	0,46

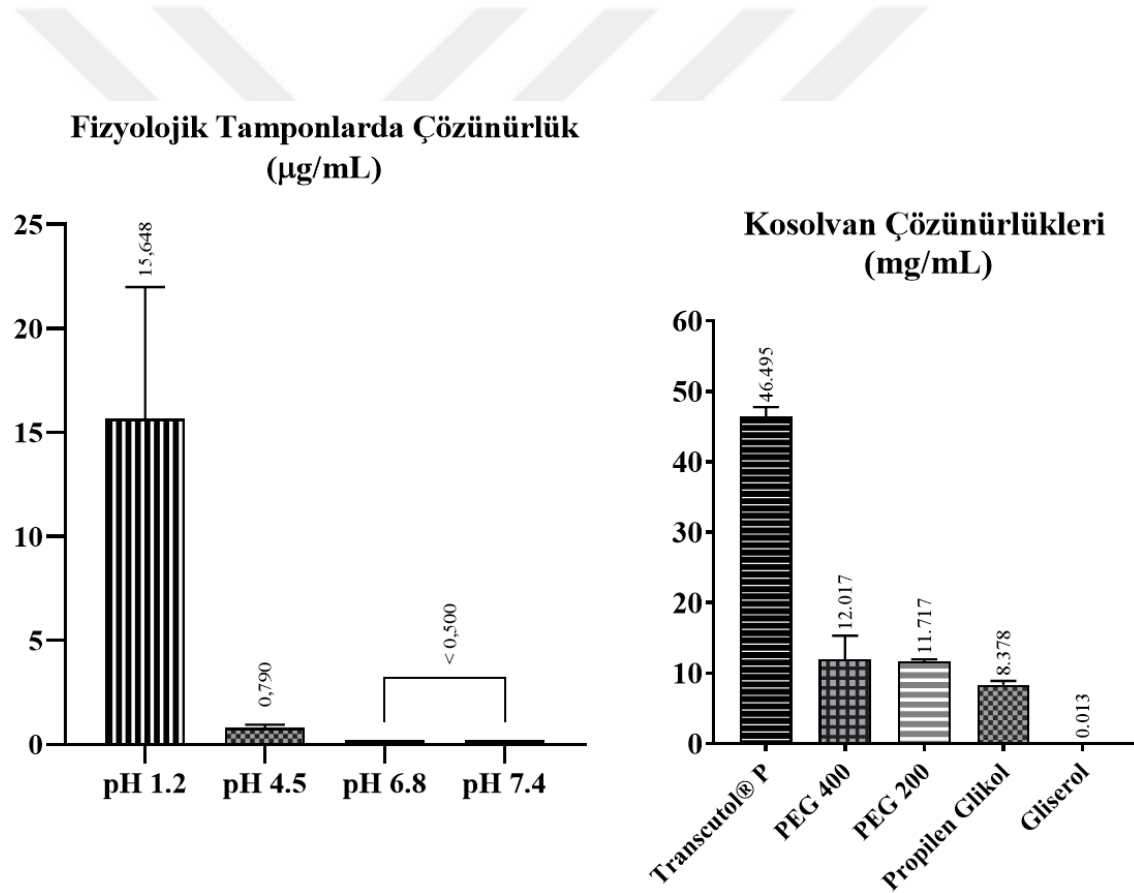
% BSS: % Bağıl standart sapma

4.1.7. Tespit (LOD) ve Miktar Tayin (LOQ) Limitleri Bulguları

Yöntemler bölümünde açıklanan denklemler kullanılarak yapılan hesaplamalar sonucunda kullanılan HPLC metodunun LOD değeri 0,3 µg/mL, LOQ değeri ise 0,8 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

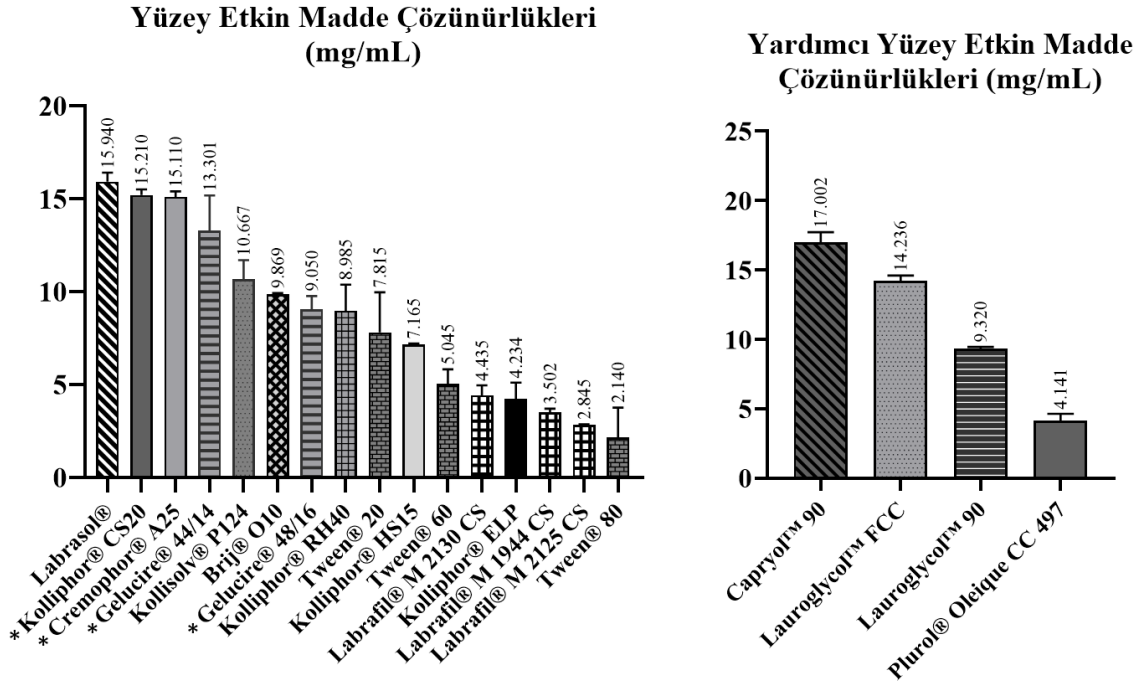
4.2. Aprepitantin Yardımcı Maddelerdeki Çözünürlük Çalışmaları Bulguları

Yöntemler bölümünde açıklandığı şekilde gerçekleştirilen çalışmaların bulguları GraphPad Prism programı ile çizilen grafiklerle gösterilmiştir. Aprepitantin tampon ortamlarındaki ve kosolvan maddeler içerisindeki çözünürlüğü Şekil 4-3'te, yüzey etkin maddeler ve yardımcı yüzey etkin maddeler içerisindeki çözünürlüğü Şekil 4-4'te, yağlı maddeler içerisindeki çözünürlüğü ise Şekil 4-5'te gösterilmiştir.



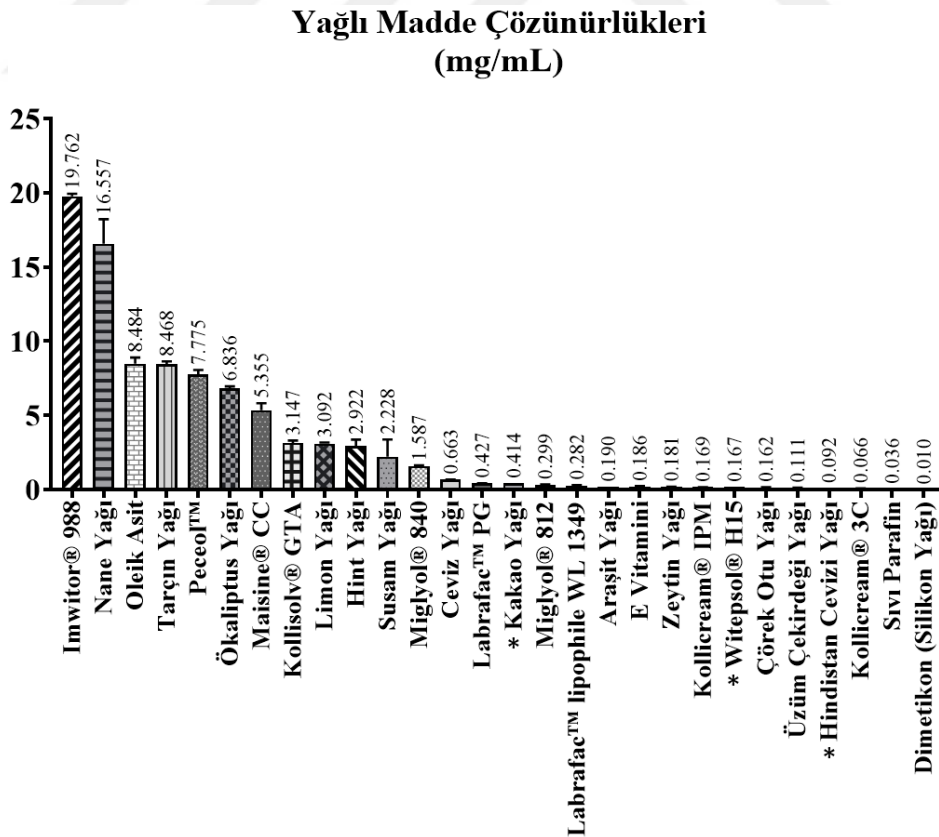
Şekil 4-3: Aprepitantin tamponlarda ve farklı kosolvanlardaki çözünürlüğü

Tamponlardaki çalışmalar 37°C'de, kosolvanlardaki çalışmalar ise oda sıcaklığında yapılmıştır.



Şekil 4-4: Aprepitantin yüzey etkin maddelerdeki çözünürlüğü

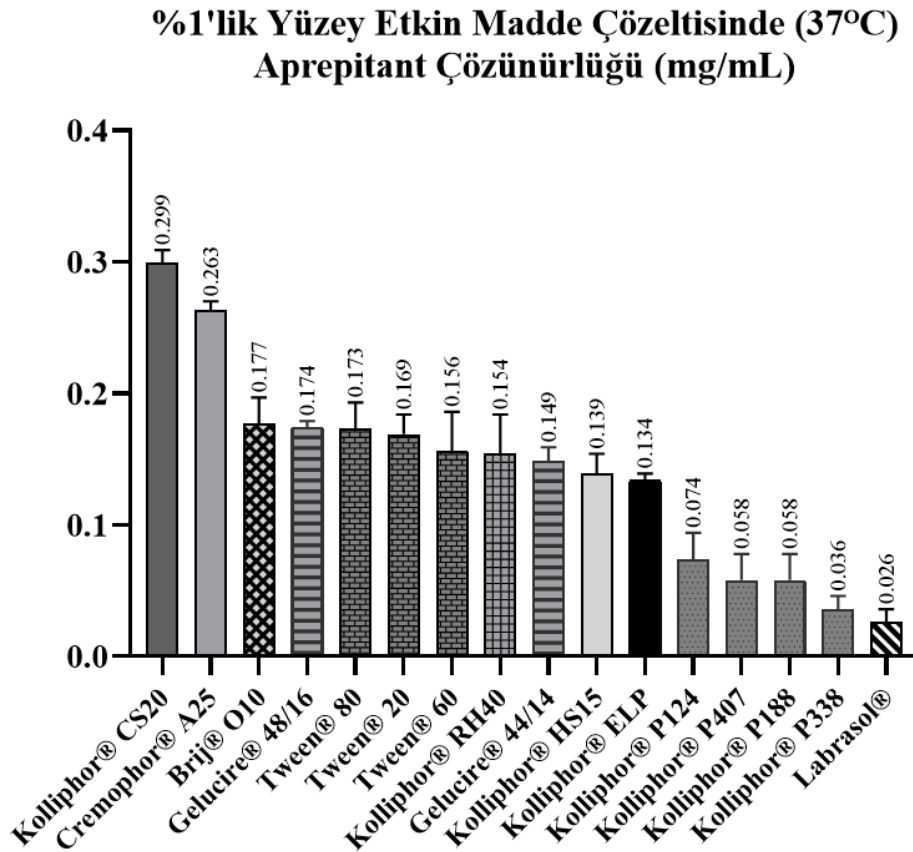
* sembolü ile işaretli maddelerin çözünürlük çalışması 50°C’de, diğerleri oda sıcaklığında yapılmıştır.



Şekil 4-5: Aprepitantin yağlı maddelerdeki çözünürlüğü

* sembolü ile işaretli maddelerin çözünürlük çalışması 37°C’de, diğerleri oda sıcaklığında yapılmıştır.

Aprepitantın doğrudan yüzey etkin maddenin içerisindeki çözünürlüğü bulunduğu gibi bu yüzey etkin maddelerin %1'lik (a/h) çözeltileri hazırlanmış ve bunların içerisindeki aprepitant çözünürlükleri de saptanmıştır. Bulgular Şekil 4-6'da gösterilmiştir.



Şekil 4-6: Aprepitantın %1'lik yüzey etkin madde çözeltilerindeki çözünürlüğü

Çalışma 37°C'de yapılmıştır.

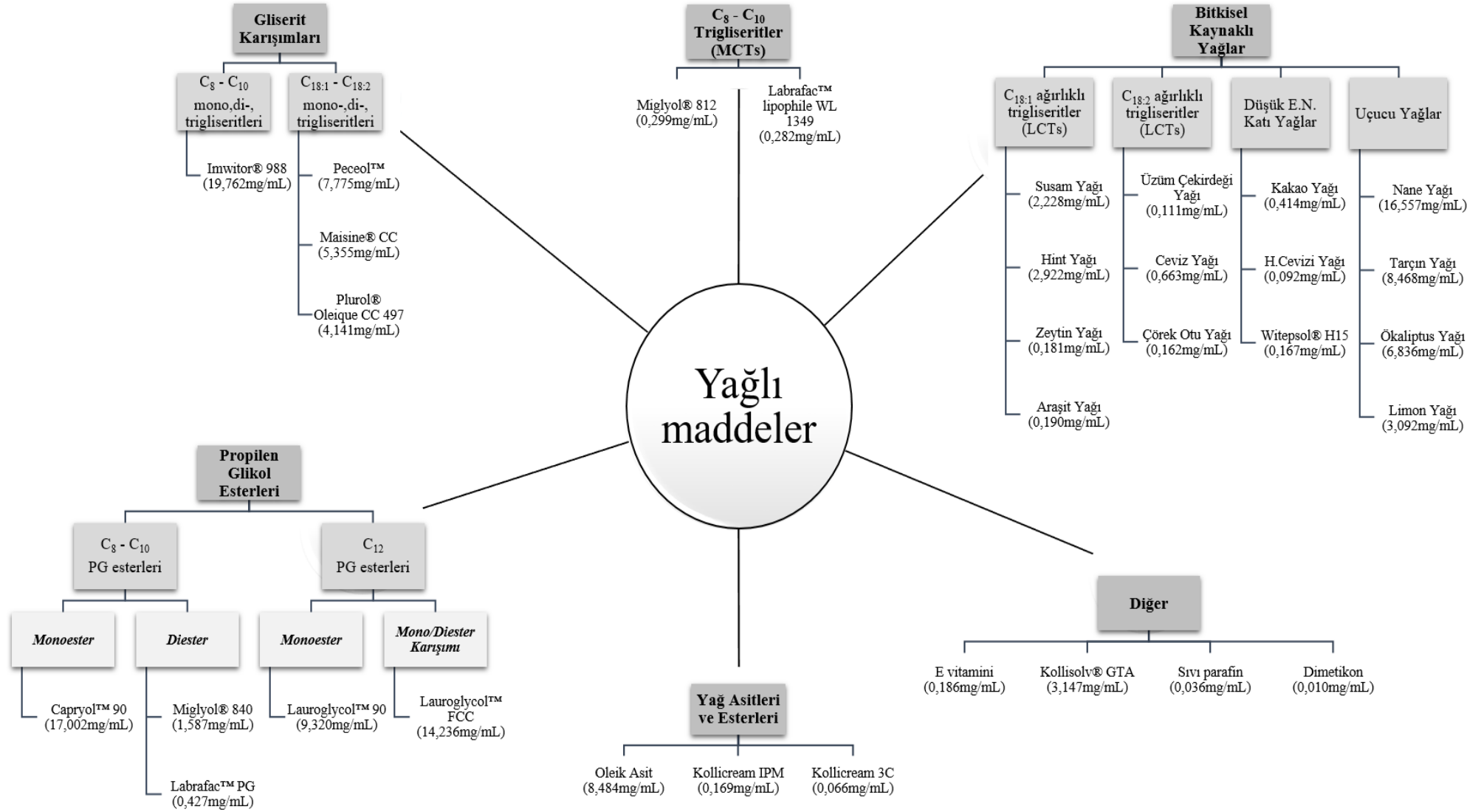
Farklı kosolvanlar ile yapılan çalışmalarda Transcutol® P'nin diğerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde ($p < 0,05$) daha fazla aprepitantı çözebildiği görülmüştür.

Yardımcı maddelerin yüzey etkin madde veya yardımcı yüzey etkin madde olarak ayrılması üreticinin sitesindeki açıklamalara dayanarak gerçekleştirilmiştir. Yüzey etkin maddeler suda çözünme veya dağılma özelliğine sahipken yardımcı yüzey etkin maddeler daha düşük HLB değerlerine sahip olup suda çözünemeyen maddelerdir.

Doğrudan yüzey etkin maddelerin içerisinde gerçekleştirilen çözünürlük çalışmalarında aprepitantın Labrasol®, Kolliphor® CS20, Cremophor® A25 ve Gelucire® 44/14 içerisinde diğerlerine göre daha yüksek miktarda çözündüğü görülmüştür. Labrasol® hariç diğer üç madde oda sıcaklığında katı formda bulunduğundan, çalışmanın daha 50°C’de gerçekleştirilmesinin buna katkı sağladığı da göz önünde bulundurulmalıdır. Yüksek sıcaklıkta çalışılan bu üç yardımcı maddenin kendi arasında aprepitant çözünürlük değerleri açısından anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p > 0,05$). Yardımcı yüzey etkin maddelerin içerisinde en yüksek miktarda aprepitant Capryol™ 90 içerisinde çözünmüştür ($p < 0,05$).

Suda çözülen yüzey etkin maddelerin %1’lik (a/h) çözeltileri içerisinde, 37°C’de yapılan çalışmada aprepitantın polioksietilen alkil eter grubu olan yüzey etkin maddelerin çözeltilerinde daha yüksek konsantrasyonlarda çözündüğü görülmüştür. Kolliphor® CS20, Cremophor® A25 ve Brij® O10 bu grupta yer alan yüzey etkin maddelerdir (162). Kolliphor® CS20’nin diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı olarak daha fazla aprepitantı çözebildiği bulunmuştur ($p < 0,05$).

Aprepitantın yağlı maddeler içerisinde yapılan çözünürlük çalışması verileri incelendiğinde Imwitor® 988’in ve nane yağının diğer yağlı maddelerden daha fazla aprepitantı çözdüğü görülmüştür. Bu iki madde kendi aralarında kıyaslandığında Imwitor® 988’in nane yağına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha çok aprepitant çözdüğü bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu nedenle hazırlanan formülasyonlarda yağlı madde olarak Imwitor® 988 kullanılmıştır. Kısa, orta veya uzun zincirli trigliseritlerde aprepitant yeterli oranda çözünememiştir. Bitkisel yağlar incelendiğinde aprepitantın en yüksek oranda çözündüğü yağın hint yağı (risinoleik asit trigliseritleri) olduğu görülmüştür. Bitkisel yağların içerisinde uçucu özellikteki yağlar (özellikle nane yağı) diğerlerine göre daha iyi çözücü etki göstermiştir. Ancak bu yağların oda sıcaklığında bile uçucu fraksiyonlarını zamanla kaybetmeleri hazırlanacak SNEDDS formülasyonları açısından dezavantaj yaratabileceğinden nane yağı formülasyonlarda tercih edilmemiştir. Uzun zincirli doymamış yağ asidi (oleik, linoleik) gliseritleri içeren yağlı maddelerde 4-8 mg/mL aralığında çözünürlük değerleri bulunmuş, sadece oleik asit gliseritleri içeren yağda (Peceol™) karışıma göre çözünürlüğün daha yüksek olduğu görülmüştür. Şekil 4-7’de bu çözünürlük çalışması yapılan yağlı maddeler kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmış ve çözünürlük değerleri belirtilmiştir.



Şekil 4-7: Kimyasal yapılarına göre yağlı maddelerin sınıflandırılması

4.3. Yüzey Etkin Madde Seçimi Bulguları

Çözünürlük değerleri diğer maddelerden daha yüksek bulunan Imwitor® 988 ve Capryol™ 90'ı iyi emülsifiye edebilen yüzey etkin maddelerin bulunması için yöntemler bölümünde açıklandığı üzere gerçekleştirilen çalışmanın bulguları Tablo 4-5 ve Tablo 4-6'da görülmektedir.

Tablo 4-5: Imwitor® 988 için yüzey etkin madde seçimi

Gliserit (%50)	Surfaktan (%50)	% Transmittans	Görünüş
Imwitor® 988	Kolliphor® CS20	99,55	Şeffaf
Imwitor® 988	Kolliphor® RH40	98,56	Şeffaf
Imwitor® 988	Kolliphor® ELP	97,47	Şeffaf
Imwitor® 988	Kolliphor® HS15	96,00	Şeffaf
Imwitor® 988	Cremophor® A25	91,58	Mavimsi
Imwitor® 988	Tween® 20	87,83	Mavimsi
Imwitor® 988	Tween® 60	84,78	Mavimsi
Imwitor® 988	Gelucire® 48/16	79,69	Açık beyaz
Imwitor® 988	Tween® 80	75,27	Açık beyaz
Imwitor® 988	Gelucire® 44/14	53,52	Açık beyaz
Imwitor® 988	Kolliphor® P124	45,80	Bulanık gri
Imwitor® 988	Brij® O10	45,15	Bulanık gri
Imwitor® 988	Labrafil® M 2130 CS	23,36	Bulanık gri
Imwitor® 988	Labrafil® M 2125 CS	19,25	Bulanık gri
Imwitor® 988	Labrasol®	16,92	Bulanık gri
Imwitor® 988	Labrafil® M 1944 CS	11,18	Bulanık gri

Imwitor® 988 için yapılan çalışmada en yüksek % transmittans değerleri sırasıyla Kolliphor® CS20, Kolliphor® RH40, Kolliphor® ELP ve Kolliphor® HS15 yüzey etkin maddeleri ile bulunmuştur.

Tablo 4-6: Capryol™ 90 için yüzey etkin madde seçimi

Kosurfaktan (%50)	Surfaktan (%50)	% Transmittans	Görünüş
Capryol™ 90	Kolliphor® RH40	99,62	Şeffaf
Capryol™ 90	Kolliphor® ELP	99,11	Şeffaf
Capryol™ 90	Kolliphor® HS15	98,25	Şeffaf
Capryol™ 90	Kolliphor® CS20	96,48	Şeffaf
Capryol™ 90	Tween® 80	94,64	Mavimsi
Capryol™ 90	Brij® O10	93,51	Mavimsi
Capryol™ 90	Cremophor® A25	93,08	Mavimsi
Capryol™ 90	Tween® 60	92,85	Mavimsi
Capryol™ 90	Tween® 20	90,97	Mavimsi
Capryol™ 90	Gelucire® 48/16	86,02	Mavimsi
Capryol™ 90	Kolliphor® P124	73,25	Açık beyaz
Capryol™ 90	Gelucire® 44/14	57,15	Açık beyaz
Capryol™ 90	Labrafil® M 2130 CS	41,56	Bulanık gri
Capryol™ 90	Labrasol®	41,21	Bulanık gri
Capryol™ 90	Labrafil® M 2125 CS	37,40	Bulanık gri
Capryol™ 90	Labrafil® M 1944 CS	32,60	Bulanık gri

Capryol™ 90 için yapılan çalışmada en yüksek % transmittans değerleri sırasıyla Kolliphor® RH40, Kolliphor® ELP, Kolliphor® HS15 ve Kolliphor® CS20 yüzey etkin maddeleri ile bulunmuştur.

Üretici tarafından Capryol™ 90'ın fonksiyonu yardımcı yüzey etkin madde olarak bildirilmiştir. Capryol™ 90 ile tip IV formülasyonlar hazırlanabileceği için bu çalışma gerçekleştirilmiştir.

4.4. Yardımcı Yüzey Etkin Madde ve Kosolvan Seçimi Bulguları

Formülasyonlara eklenen yardımcı yüzey etkin madde ve kosolvanların emülsifikasyon etkinliğine olan etkilerini incelemek için yapılan çalışmaların bulguları Tablo 4-7 ve Tablo 4-8'de gösterilmiştir. 4 adet yardımcı yüzey etkin madde (Capryol™ 90, Lauroglycol™ 90, Lauroglycol™ FCC, Plurol® Oleique CC) ve 4 adet kosolvan (Transcutol® P, PEG 400, PEG 200, propilen glikol) ile çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Eklenen bu maddelerin bulanıklığı nasıl etkilediğinin daha net anlaşılabilmesi için yüzey etkin madde seçimi bulgularında elde edilen sonuçlar da tabloda gölgeli şekilde gösterilmiştir.

Tablo 4-7: Imwitor® 988 için yardımcı yüzey etkin madde ve kosolvan seçimi

Gliserit (%50)	Surfaktan (%33,3)	Kosurfaktan-Kosolvan (%16,7)	Ortalama % Transmittans	Görünüş
Imwitor® 988	Kolliphor® CS20	*Kolliphor® CS20	99,55	Şeffaf
		PEG 200	96,61	Şeffaf
		Transcutol® P	79,31	Açık beyaz
		Propilen Glikol	77,53	Açık beyaz
		PEG 400	75,71	Açık beyaz
		Plurol® Oleique CC	58,81	Açık beyaz
		Capryol™ 90	55,58	Açık beyaz
		Lauroglycol™ 90	32,19	Bulanık gri
		Lauroglycol™ FCC	25,77	Bulanık gri
	Kolliphor® RH40	Capryol™ 90	99,68	Şeffaf
		PEG 200	99,62	Şeffaf
		Lauroglycol™ 90	99,33	Şeffaf
		Transcutol® P	99,28	Şeffaf
		Propilen Glikol	98,91	Şeffaf
		PEG 400	98,90	Şeffaf
		Plurol® Oleique CC	98,88	Şeffaf
		*Kolliphor® RH40	98,56	Şeffaf
		Lauroglycol™ FCC	97,33	Şeffaf
	Kolliphor® ELP	PEG 200	99,77	Şeffaf
		PEG 400	99,62	Şeffaf
		Capryol™ 90	99,48	Şeffaf
		Lauroglycol™ FCC	99,08	Şeffaf
		Propilen Glikol	99,05	Şeffaf
		*Kolliphor® ELP	97,47	Şeffaf
		Transcutol® P	97,30	Şeffaf
		Lauroglycol™ 90	95,58	Şeffaf
		Plurol® Oleique CC	70,13	Açık beyaz
	Kolliphor® HS15	PEG 200	99,90	Şeffaf
		Transcutol® P	99,74	Şeffaf
		PEG 400	99,55	Şeffaf
		Propilen Glikol	99,46	Şeffaf
		Capryol™ 90	98,93	Şeffaf
		Lauroglycol™ FCC	97,51	Şeffaf
		*Kolliphor® HS15	96,00	Şeffaf
		Lauroglycol™ 90	85,46	Mavimsi
		Plurol® Oleique CC	75,66	Açık beyaz

* %50 yağlı madde %50 yüzey etkin madde içeriğine sahip formül (yüzey etkin madde seçimi bulguları)

Tablo 4-8: Capryol™ 90 için yardımcı yüzey etkin madde ve kosolvan seçimi

Kosurfaktan (%50)	Surfaktan (%33,3)	Kosurfaktan-Kosolvan (%16,7)	Ortalama % Transmittans	Görünüş
Capryol™ 90	Kolliphor® RH40	PEG 200	99,96	Şeffaf
		Propilen Glikol	99,95	Şeffaf
		PEG 400	99,82	Şeffaf
		Transcutol® P	99,62	Şeffaf
		*Kolliphor® RH40	99,62	Şeffaf
		Imwitor® 988	99,51	Şeffaf
		Plurol® Oleique CC	99,10	Şeffaf
		Lauroglycol™ FCC	97,39	Şeffaf
		Lauroglycol™ 90	96,50	Şeffaf
	Kolliphor® ELP	Propilen Glikol	99,98	Şeffaf
		PEG 200	99,96	Şeffaf
		Transcutol® P	99,93	Şeffaf
		PEG 400	99,90	Şeffaf
		*Kolliphor® ELP	99,11	Şeffaf
		Imwitor® 988	97,57	Şeffaf
		Lauroglycol™ 90	94,78	Mavimsi
		Lauroglycol™ FCC	93,07	Mavimsi
		Plurol® Oleique CC	85,97	Mavimsi
	Kolliphor® HS15	PEG 400	99,51	Şeffaf
		Imwitor® 988	98,50	Şeffaf
		*Kolliphor® HS15	98,25	Şeffaf
		Propilen Glikol	98,14	Şeffaf
		PEG 200	97,99	Şeffaf
		Transcutol® P	97,69	Şeffaf
		Lauroglycol™ FCC	78,15	Açık beyaz
		Plurol® Oleique CC	15,37	Bulanık gri
		Lauroglycol™ 90	11,91	Bulanık gri
	Kolliphor® CS20	*Kolliphor® CS20	96,48	Şeffaf
		Transcutol® P	94,14	Mavimsi
		PEG 200	93,13	Mavimsi
		PEG 400	92,36	Mavimsi
		Propilen Glikol	91,72	Mavimsi
		Imwitor® 988	69,02	Açık beyaz
		Lauroglycol™ 90	64,01	Açık beyaz
		Plurol® Oleique CC	54,96	Açık beyaz
		Lauroglycol™ FCC	35,68	Bulanık gri

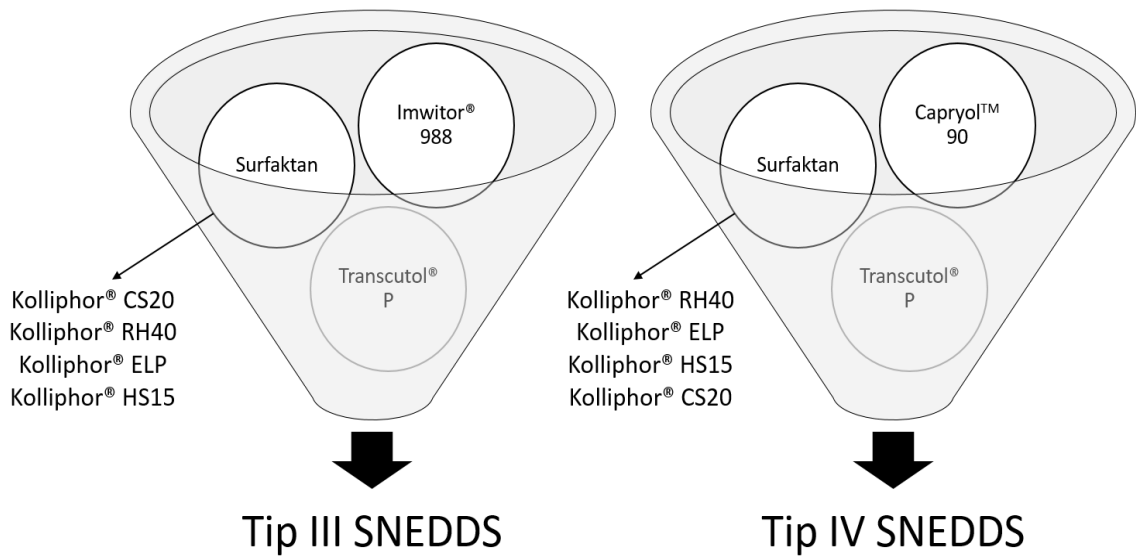
* %50 yağlı madde %50 yüzey etkin madde içeriğine sahip formül (yüzey etkin madde seçimi bulguları)

4.5. Formülasyon Bileşiminin Belirlenmesi

SNEDDS tipi formülasyonlar geliştirilirken şüphesiz uygun özelliklere sahip bir nanoemülsiyonun oluşturulabilmesi hedeflenmektedir. Ancak istenen özellikte nanoemülsifiye olan formülasyonun içerisinde, etkin maddenin terapötik dozunun da çözülebilmesi gerekmektedir. Dolayısı ile uygun formülasyon tasarımında çözünürlük ve nanoemülsifikasyon arasında bir dengenin sağlanması gerekmektedir.

Formülasyonların yükleme kapasiteleri, etkin maddenin yardımcı maddeler içerisindeki çözünürlüğü ile bunların formülasyondaki ağırlık yüzdelerinin çarpımları toplanarak hesaplanabilir. Diğer bir deyişle yardımcı maddeler formülasyon çözünürlüğüne ağırlıkları oranında katkı sağlarlar (163).

Formülasyon bileşiminin belirlenmesinde ilk yapılan seçim yağlı madde seçimidir. Tip III formülasyonlar geliştirmek üzere Imwitor® 988 gliserit olarak, tip IV formülasyonlar geliştirmek üzere ise yardımcı yüzey etkin madde Capryol™ 90 aprepitant çözünürlüğü en yüksek olan maddeler olarak seçilmiştir. Hazırlanacak formülasyon katı forma dönüştürüleceği için uçucu bileşenlere sahip nane yağı ile formülasyon geliştirilmemiştir. Aprepitant Transcutol® P dışında test edilen yardımcı maddelerin hiçbirinde yüksek bir çözünürlüğe sahip değildir. Dolayısıyla formülasyonların yükleme kapasitesinin artırılması için Transcutol® P tüm formülasyonlarda kosolvan olarak seçilmiştir. Formülasyon geliştirme kapsamında yapılan denemeler Şekil 4-8’de özetlenmiştir.



Şekil 4-8: Formülasyon geliştirmede kullanılan yardımcı maddeler

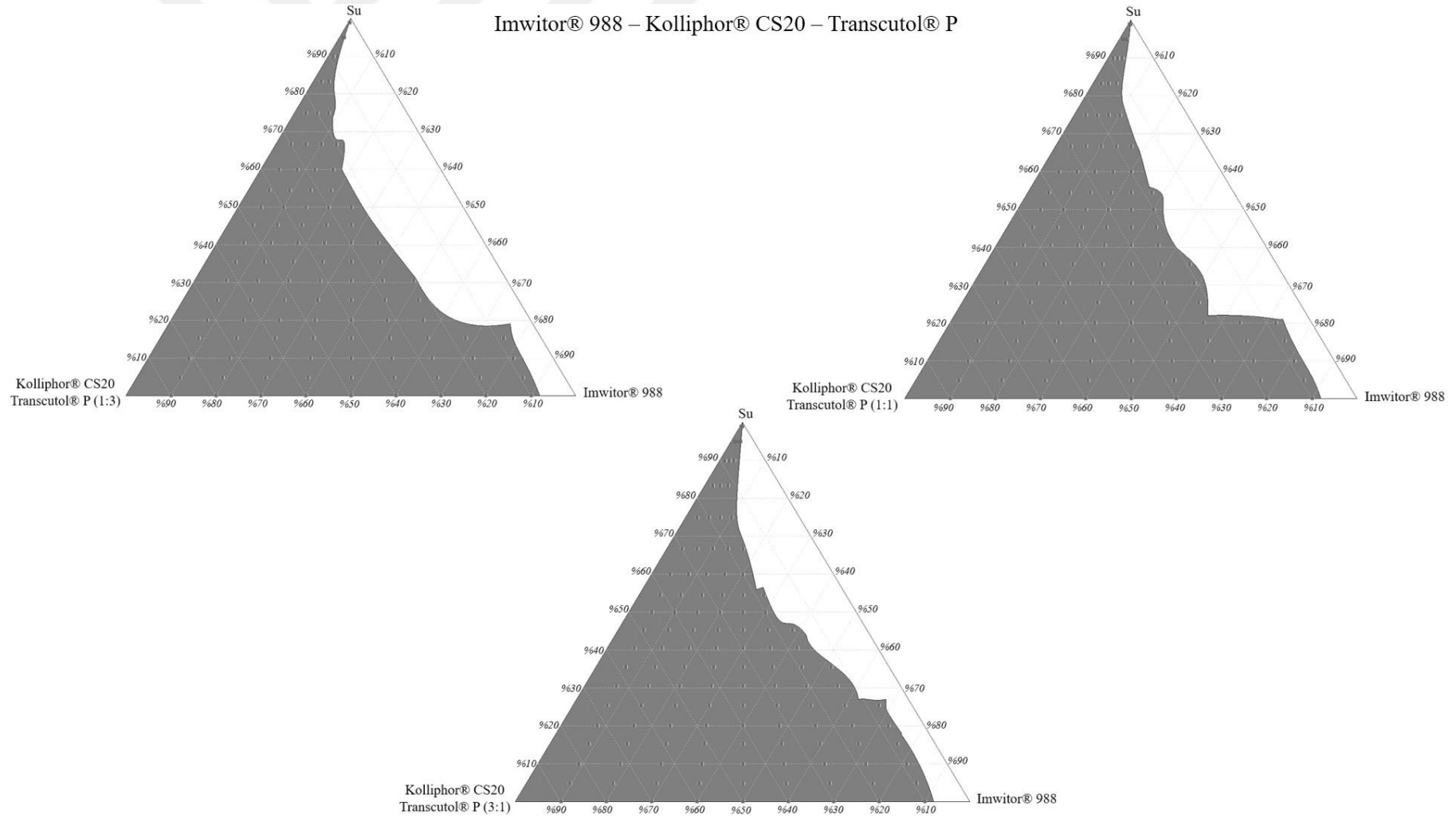
4.6. Üçgen Faz Diyagramı Çalışmalarının Bulguları

Üçgen faz diyagramlarının oluşturulması yöntemler bölümünde anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Imwitor® 988'in gliserit olarak kullanıldığı tip III SNEDDS ve Capryol™ 90'ın yardımcı yüzey etkin madde olarak kullanıldığı tip IV SNEDDS formülasyonları için Kolliphor® CS20, Kolliphor® RH40, Kolliphor® ELP ve Kolliphor® HS15 kullanılarak üçgen faz diyagramları hazırlanmıştır. Kosolvan olarak tüm denemelerde Transcutol® P kullanılmıştır. Üçgen faz diyagramlarının şeffaf olan alan bulguları birim kare (br²) olarak Tablo 4-9'da özetlenmiş, üçgen faz diyagramları ise Şekil 4-9 ve 4-16 arasında gösterilmiştir.

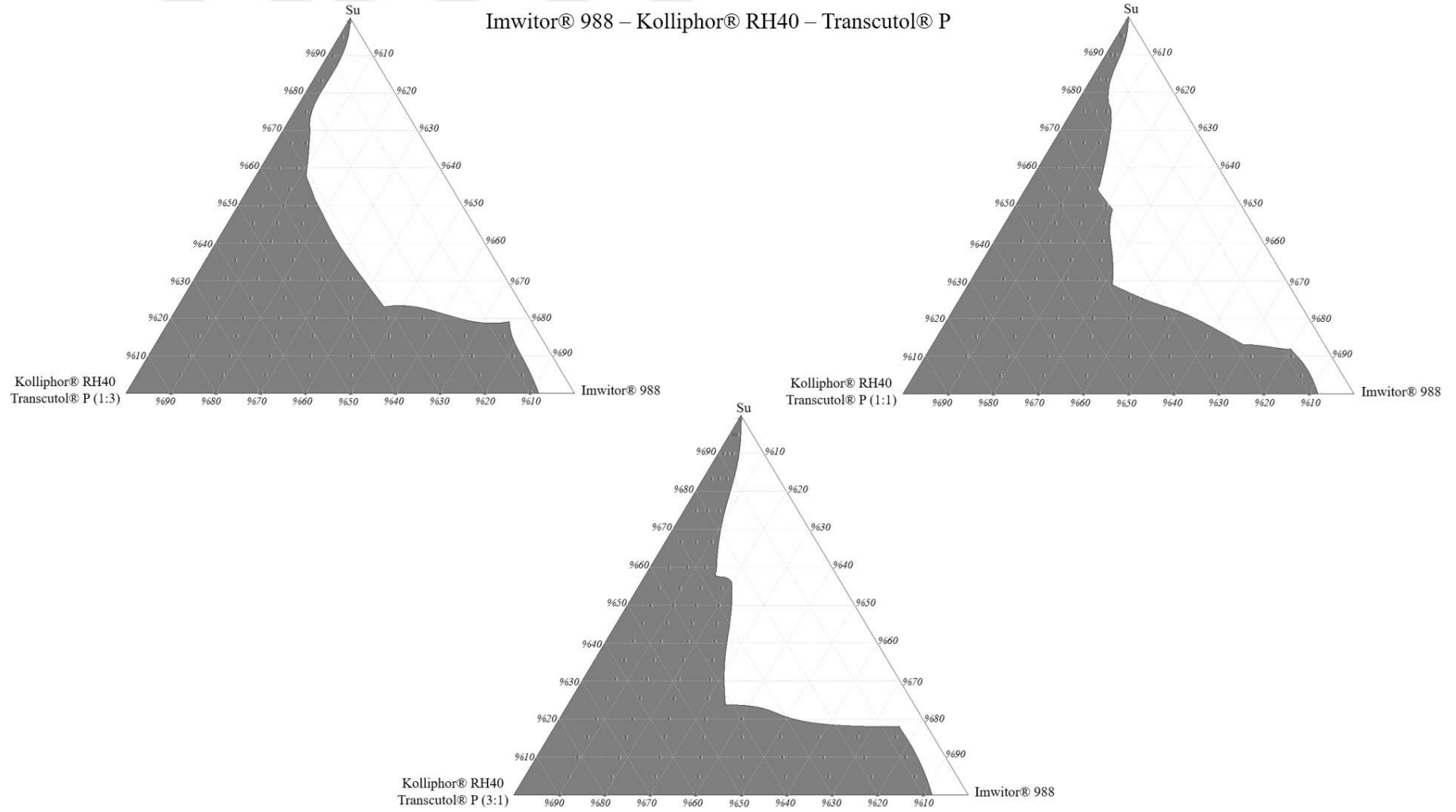
Tablo 4-9: Üçgen faz diyagramlarının şeffaf alan bulguları (br²)

Yağ Fazı	Surfaktan	Kosolvan	S _{mix} (Surfaktan : Kosolvan)			Toplam (br ²)
			1 : 1	3 : 1	1 : 3	
Imwitor® 988	Kolliphor® CS20	Transcutol® P	423,7	450,6	402,9	1277,2
	Kolliphor® RH40		335,1	352,5	343,8	1031,4
	Kolliphor® ELP		337,2	307,3	328,4	972,9
	Kolliphor® HS15		321,8	280,8	320,2	922,8
Capryol™ 90	Kolliphor® CS20		365,8	363,2	319,2	1048,2
	Kolliphor® RH40		234,8	284,2	259,3	778,3
	Kolliphor® ELP		250,8	265,2	239,7	755,7
	Kolliphor® HS15		220,9	199,4	236,8	657,1

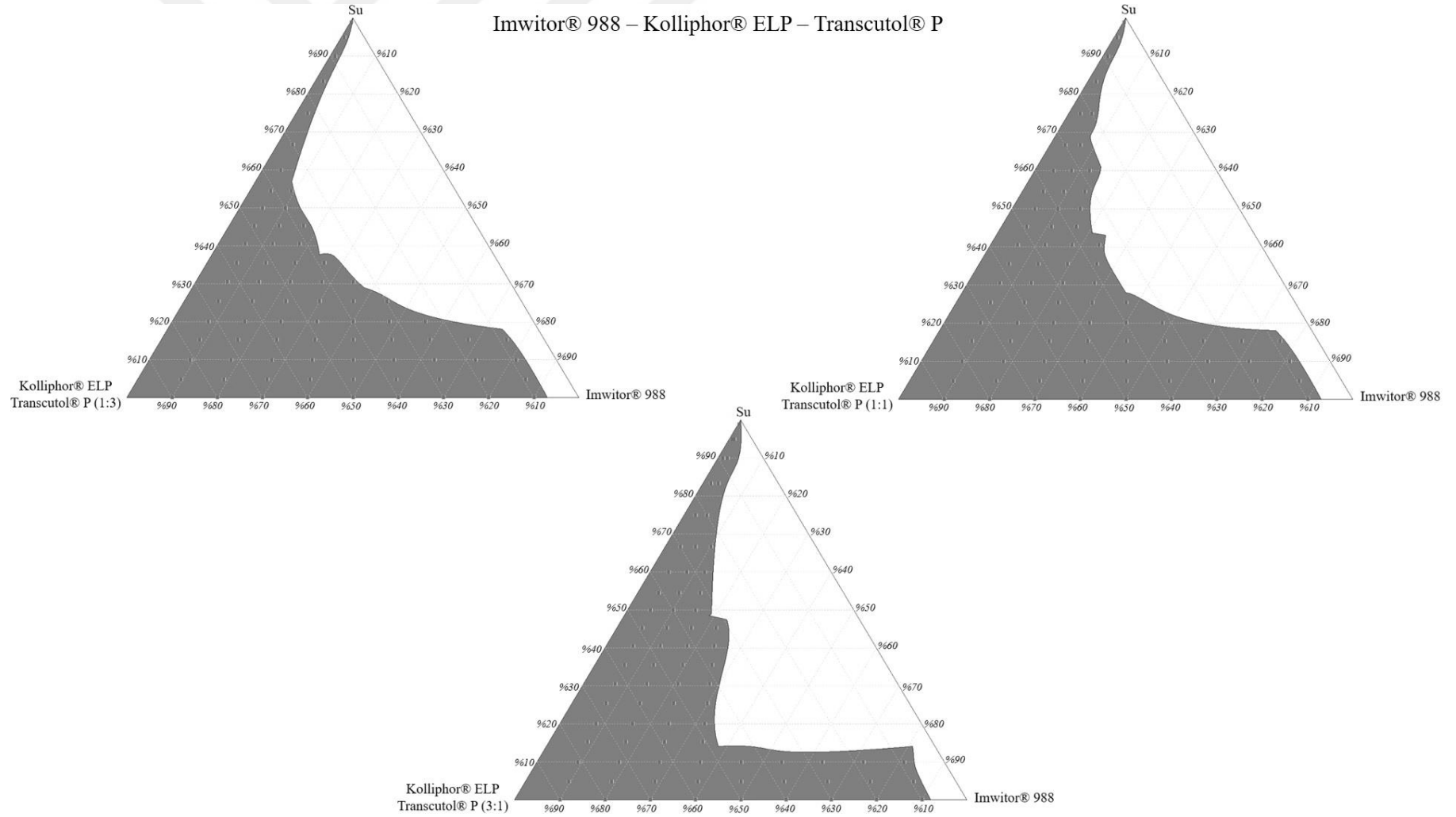
Üçgen faz diyagramlarından elde edilen sonuçlara göre en yüksek toplam alana sahip olan yardımcı madde üçlüsünün Imwitor® 988 – Kolliphor® CS20 – Transcutol® P, Imwitor® 988 – Kolliphor® RH40 – Transcutol® P ve Capryol™ 90 – Kolliphor® CS20 – Transcutol® P oldukları görülmüş ve bu üçlüler ile üretilmiş formülasyonların boş ve etkin madde yüklenmiş hallerinin damlacık boyutu ve polidispersite indeksi ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ek olarak diyagramlardan elde edilen bulgulara göre Imwitor® 988 ve Capryol™ 90'ın %30'a kadar formülasyonlarda kullanılabileceği görülmektedir.



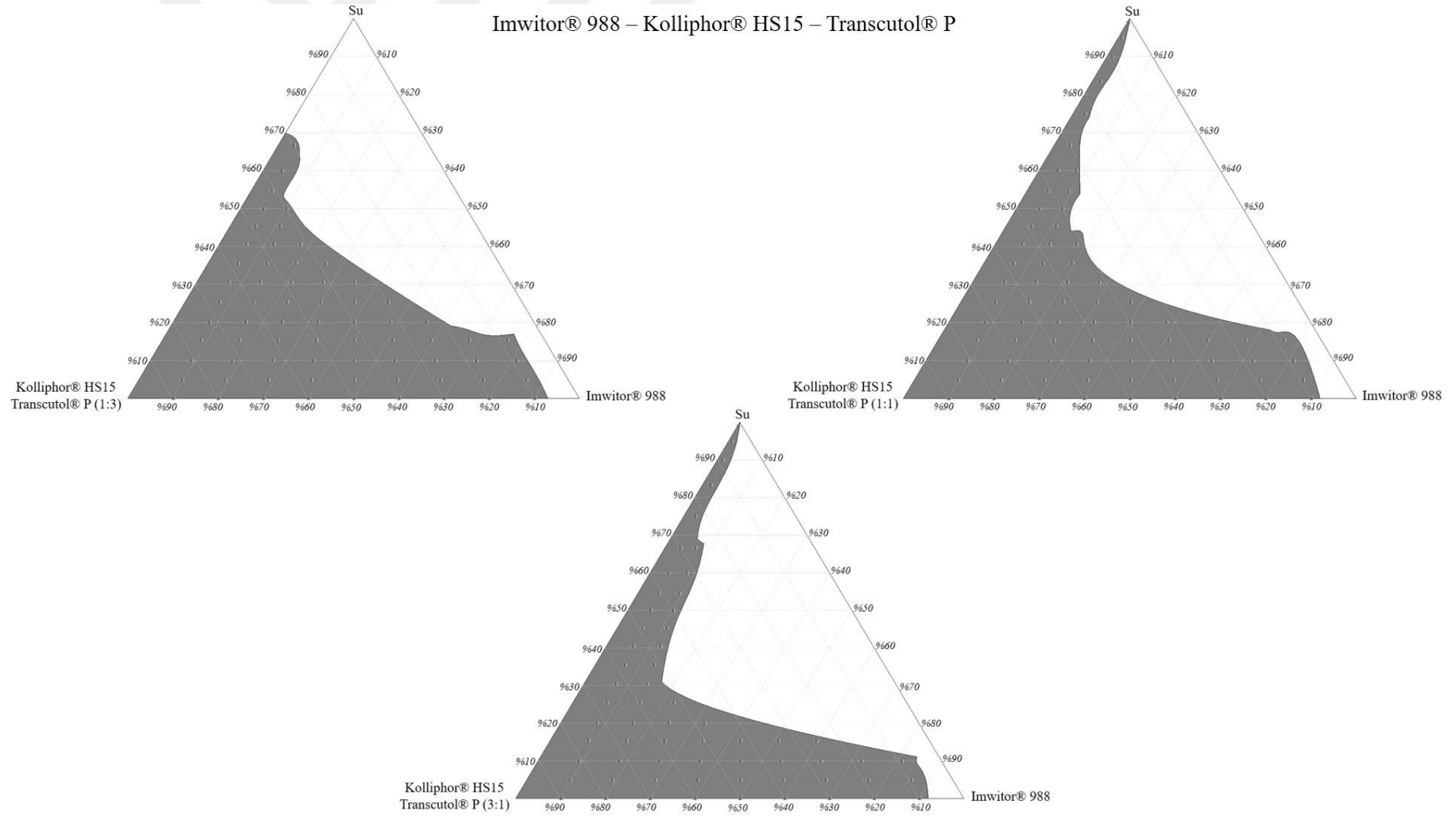
Şekil 4-9: Imwitor® 988 – Kolliphor® CS20 – Transcutol® P üçgen faz diyagramları



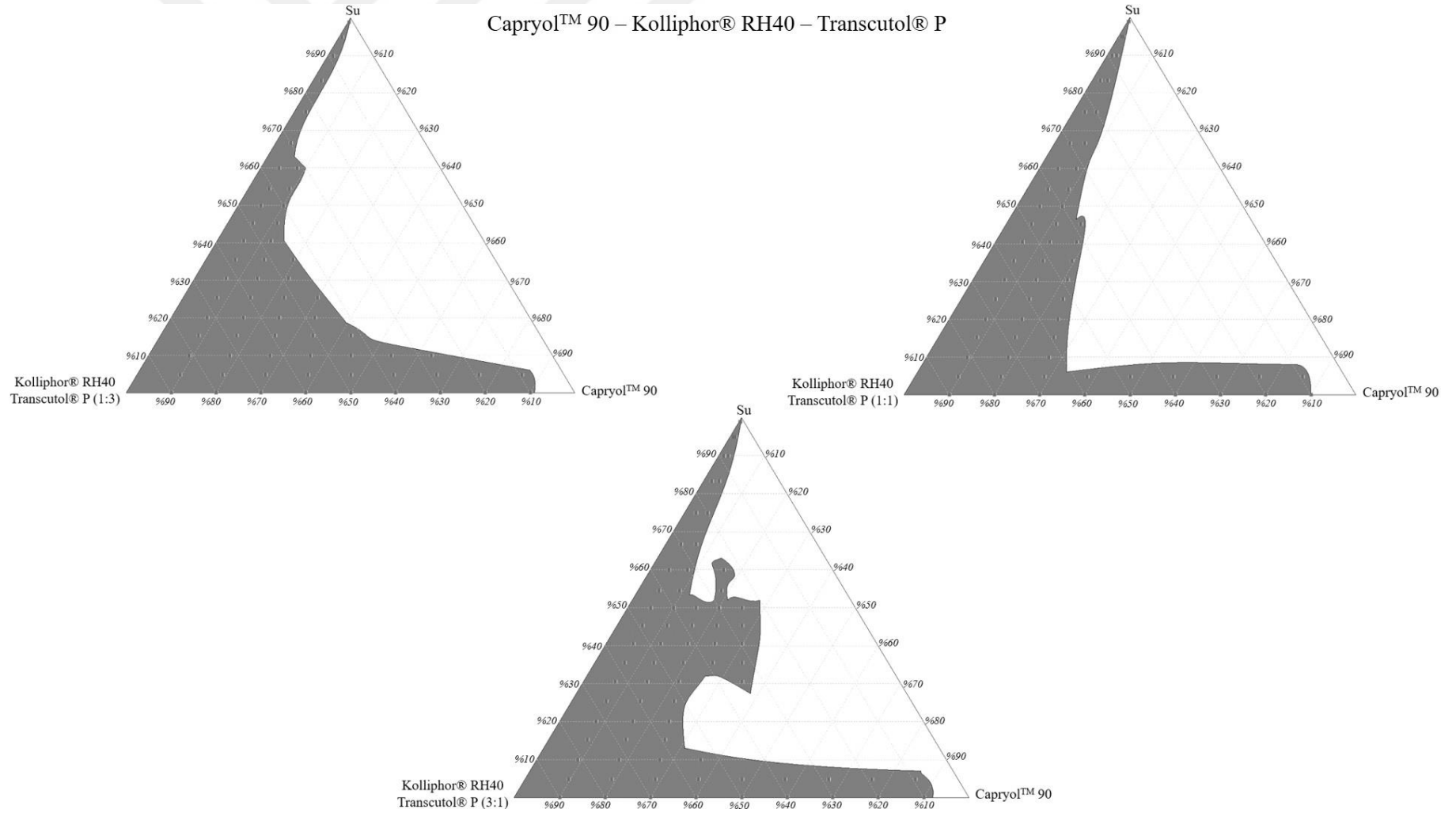
Şekil 4-10: Imwitor® 988 – Kolliphor® RH40 – Transcutol® P üçgen faz diyagramları



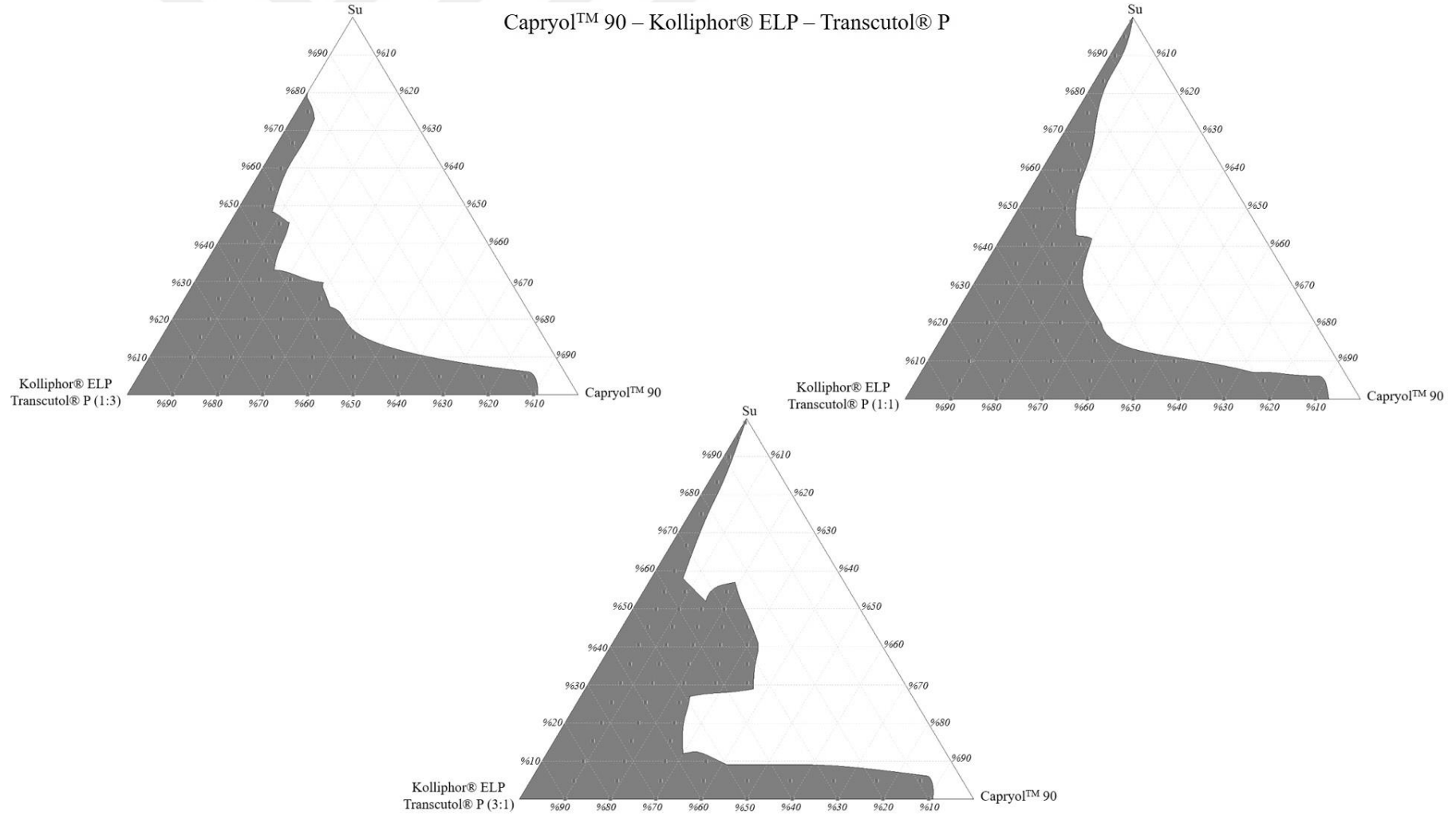
Şekil 4-11: Imwitor® 988 – Kolliphor® ELP – Transcutol® P üçgen faz diyagramları



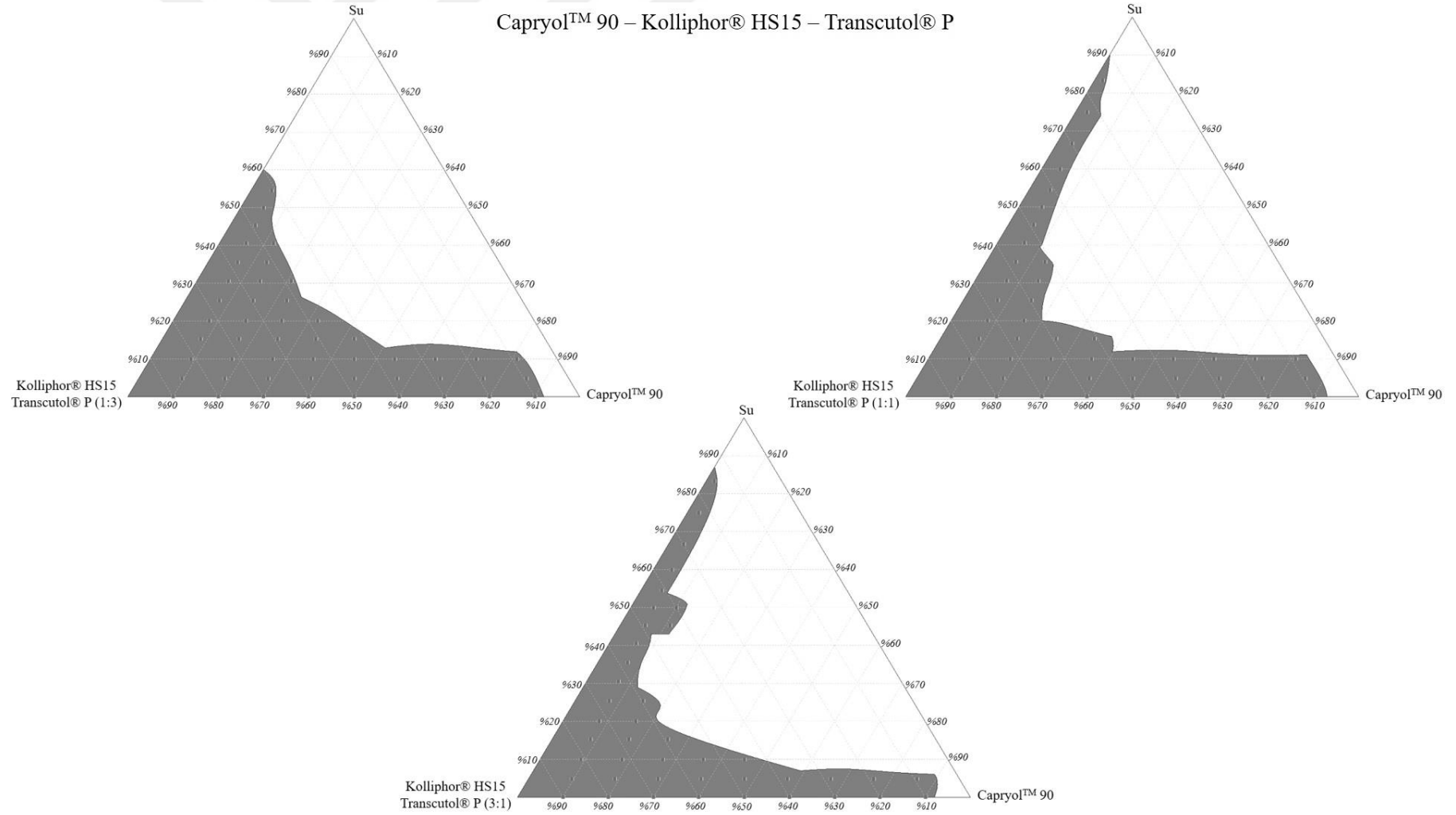
Şekil 4-12: Imwitor® 988 – Kolliphor® HS15 – Transcutol® P üçgen faz diyagramları



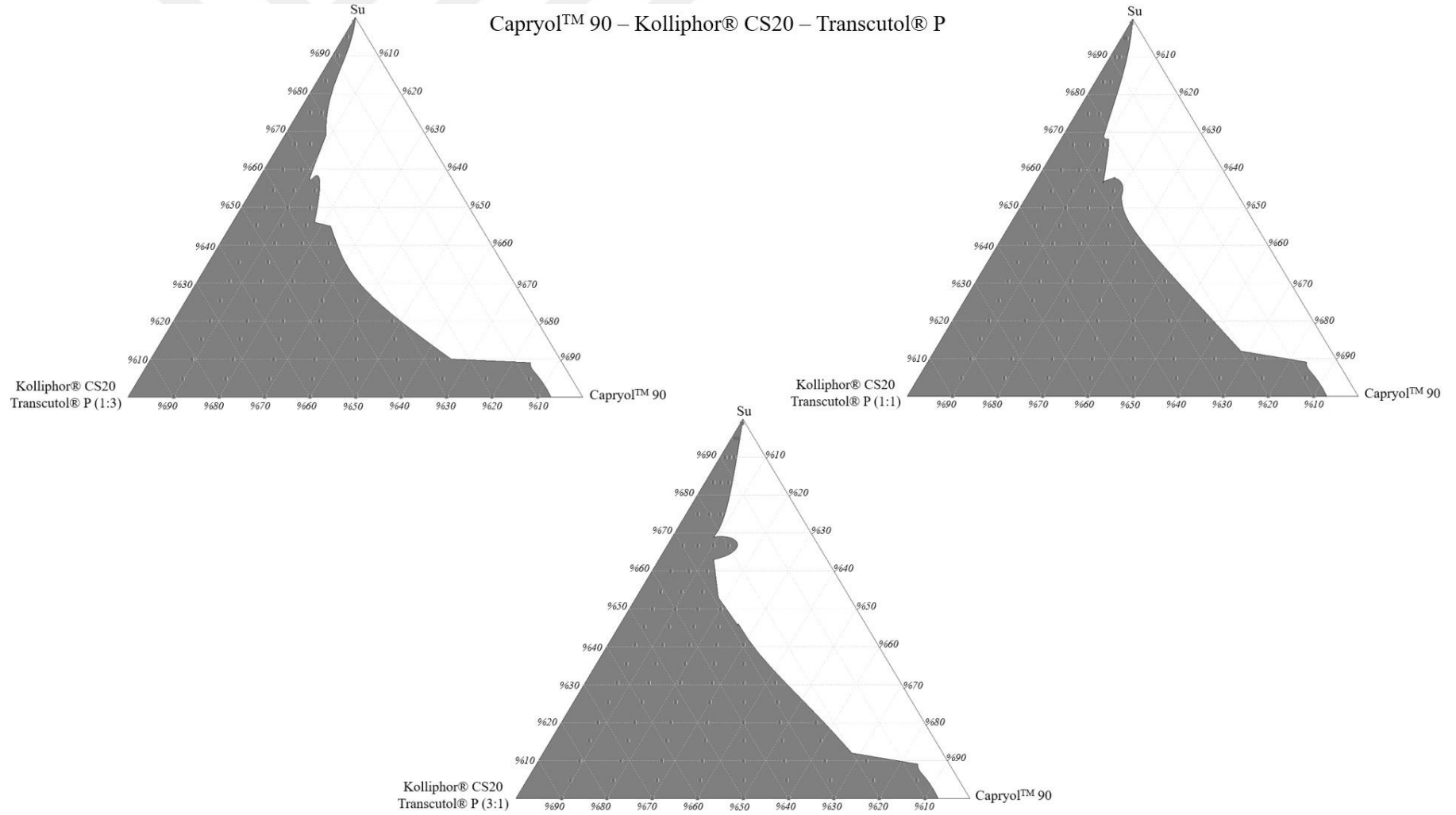
Şekil 4-13: Capryol™ 90 – Kolliphor® RH40 – Transcutol® P üçgen faz diyagramları



Şekil 4-14: Capryol™ 90 – Kolliphor® ELP – Transcutol® P üçgen faz diyagramları



Şekil 4-15: Capryol™ 90 – Kolliphor® HS15 – Transcutol® P üçgen faz diyagramları



Şekil 4-16: Capryol™ 90 – Kolliphor® CS20 – Transcutol® P üçgen faz diyagramları

4.7. Boş Formülasyonlarda Damlacık Boyutu ve PDI Ölçümü Bulguları

Dinamik ışık saçılımı genellikle mikron altı bölgede damlacıkların ve partiküllerin boyut ve boyut dağılımını ölçmek için kullanılan, invazif olmayan, başarılı bir tekniktir. Bir süspansiyondaki parçacıkların veya emülsiyondaki damlacıkların rastlantısal hareketleri (Brown hareketi) lazer ışığının farklı yoğunluklarda saçılmasına neden olur. Saçılmadaki değişimler, partikülün Brown hareketinin hızı, dolayısı ile partikülün difüzyon katsayısı ile orantılıdır. Difüzyon katsayısı cihaz tarafından saptanıp Stokes-Einstein eşitliği (Denklem 4-1) kullanılarak hidrodinamik çap hesaplanır (164). Bu eşitlikte d hidrodinamik çapı, k Boltzmann sabitini, T sıcaklığı (K), η viskoziteyi, D ise difüzyon katsayısını gösterir (80).

$$d = \frac{k T}{3 \pi \eta D} \quad (4-1)$$

Yöntemler bölümünde açıklandığı üzere gerçekleştirilen ölçümlerin bulguları Tablo 4-10, Tablo 4-11 ve Tablo 4-12’de gösterilmiştir. İstenen özelliklere sahip olan formülasyonlar (unimodal dağılım, PDI < 0,25 ve Z-average < 150nm) gri gölgeli şekilde gösterilmiştir. Elde edilen bulgular incelendiğinde IcsT formülasyonlarının hiçbirinin unimodal bir dağılım göstermediği görülmüştür. IrhT formülasyonlarının 14 tanesinin CcsT formülasyonlarının ise 7 tanesinin istenen özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Uygun bulunan IrhT formülasyonlarının 13-38 nm arasında CcsT formülasyonlarının ise 10 nm civarında bir boyuta sahip oldukları görülmüştür. Seçilen IrhT ve CcsT formülasyonlarının PDI değerlerinin 0,1 civarında olduğu görülmüş, dolayısıyla nanoemülsiyonu oluşturan damlacıkların oldukça monodispers bir yapıya sahip oldukları sonucuna varılmıştır.

IcsT, IrhT ve CcsT formülasyonları içerisinde uygun bulunanların içerdikleri yardımcı madde bileşimleri üçgen faz diyagramı üzerinde Şekil 4-17’de gösterilmiştir.

Tablo 4-10: Boş İcsT formülasyonlarında damlacık boyutu ve PDI bulguları

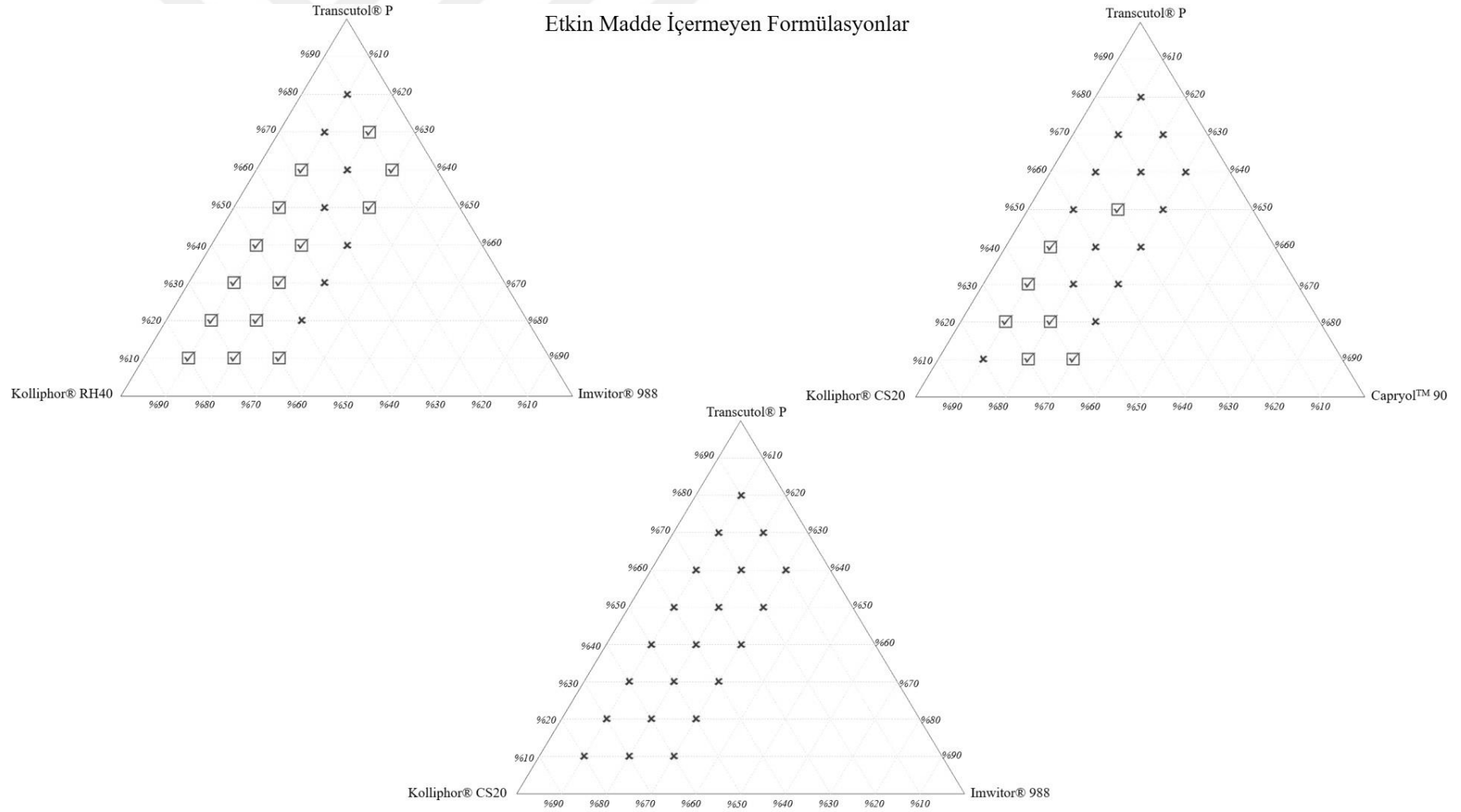
Imwitor® 988 (%)	Kolliphor® CS20 (%)	Transcutol® P (%)	Z-Average (nm)	PDI	Pik-1 (nm)	Pik-2 (nm)	Pik-3 (nm)	Pik-1 (%)	Pik-2 (%)	Pik-3 (%)
10	10	80	34,12 ± 10,93	0,410	33,55	282,6	4578	75,3	22	2,4
10	20	70	20,83 ± 8,34	0,640	11,93	234,5	5392	59	39,9	1,1
10	30	60	15,15 ± 4,95	0,427	11	227,7	0	70,4	29,6	0
10	40	50	13,13 ± 4,14	0,397	10,38	203,3	5306	80,2	17,9	1,9
10	50	40	12,50 ± 3,45	0,305	9,977	227,6	5423	87,3	11,3	1,4
10	60	30	35,00 ± 8,52	0,237	10,27	240,6	5560	76,1	22,9	1
10	70	20	12,80 ± 4,00	0,391	10,36	395,8	5136	77,6	21,3	1,1
10	80	10	10,95 ± 2,89	0,278	10,38	1100	0	86,8	13,2	0
20	10	70	110,60 ± 29,69	0,288	165,3	35,3	0	88,1	11,9	0
20	20	60	31,51 ± 10,26	0,424	26,97	150,8	4973	68,6	29	2,3
20	30	50	19,07 ± 6,77	0,505	13,57	221,6	0	65,5	34,5	0
20	40	40	14,43 ± 4,58	0,403	11,63	244,8	4840	78,3	17,7	4
20	50	30	13,93 ± 4,43	0,404	11,2	293,7	4943	77	20,7	2,3
20	60	20	375,90 ± 138,35	0,542	260	9,127	0	73,9	26,1	0
20	70	10	13,30 ± 4,16	0,391	10,77	438,8	0	75,7	24,3	0
30	10	60	227,10 ± 75,40	0,441	348,8	0	0	100	0	0
30	20	50	65,07 ± 22,33	0,471	159,2	26,6	4390	72,4	26,3	1,3
30	30	40	24,33 ± 7,56	0,387	23,59	288,2	0	77,3	22,7	0
30	40	30	18,08 ± 5,62	0,386	14,01	230,2	0	71,6	28,4	0
30	50	20	15,60 ± 4,72	0,366	12,33	265,8	0	75,5	24,5	0
30	60	10	109,30 ± 20,91	0,146	10,55	158,7	0	81,7	18,3	0

Tablo 4-11: Boş İrhT formülasyonlarında damlacık boyutu ve PDI bulguları

Imwitor® 988 (%)	Kolliphor® RH40 (%)	Transcutol® P (%)	Z-Average (nm)	PDI	Pik-1 (nm)	Pik-2 (nm)	Pik-3 (nm)	Pik-1 (%)	Pik-2 (%)	Pik-3 (%)
10	10	80	30,27 ± 8,55	0,319	27,42	264	0	79,1	20,9	0
10	20	70	20,44 ± 5,65	0,305	18,91	634	0	83,5	16,5	0
10	30	60	15,02 ± 2,43	0,105	16,86	0	0	100	0	0
10	40	50	15,05 ± 2,63	0,122	16,59	0	0	100	0	0
10	50	40	13,81 ± 1,98	0,083	15,13	0	0	100	0	0
10	60	30	13,36 ± 1,48	0,049	14,24	0	0	100	0	0
10	70	20	14,22 ± 2,28	0,102	15,85	0	0	100	0	0
10	80	10	14,57 ± 2,23	0,094	16,07	0	0	100	0	0
20	10	70	30,44 ± 4,35	0,082	32,91	0	0	100	0	0
20	20	60	30,60 ± 9,08	0,352	27,97	287,3	4219	79,3	18,2	2,5
20	30	50	22,45 ± 6,40	0,325	20,81	355,2	0	81,4	18,6	0
20	40	40	16,12 ± 2,25	0,078	17,54	0	0	100	0	0
20	50	30	15,38 ± 2,32	0,091	16,85	0	0	100	0	0
20	60	20	14,41 ± 2,07	0,083	15,82	0	0	100	0	0
20	70	10	14,47 ± 2,55	0,124	15,98	0	0	100	0	0
30	10	60	38,66 ± 4,36	0,051	41,22	0	0	100	0	0
30	20	50	27,44 ± 5,01	0,133	30,08	0	0	100	0	0
30	30	40	45,31 ± 15,98	0,498	25,83	229,7	4437	51,6	45,7	2,7
30	40	30	48,62 ± 17,93	0,543	203,4	23,18	4165	53,8	42,7	3,6
30	50	20	24,09 ± 7,48	0,386	19,59	343,4	0	73,2	26,8	0
30	60	10	16,42 ± 2,56	0,097	18,23	0	0	100	0	0

Tablo 4-12: Boş CcsT formülasyonlarında damlacık boyutu ve PDI bulguları

Capryol™ 90 (%)	Kolliphor® CS20 (%)	Transcutol® P (%)	Z-Average (nm)	PDI	Pik-1 (nm)	Pik-2 (nm)	Pik-3 (nm)	Pik-1 (%)	Pik-2 (%)	Pik-3 (%)
10	10	80	111,30 ± 43,16	0,601	241	10,72	51,09	74,4	19,3	4,9
10	20	70	12,92 ± 4,08	0,400	10,39	256,9	5368	80,4	18,2	1,4
10	30	60	10,11 ± 2,17	0,183	10,68	4576	0	97,1	2,9	0
10	40	50	47,49 ± 8,03	0,114	14,35	439,7	5388	88,4	9,4	2,3
10	50	40	10,14 ± 1,83	0,130	11,23	0	0	100	0	0
10	60	30	9,789 ± 1,583	0,105	10,83	0	0	100	0	0
10	70	20	9,767 ± 1,277	0,068	10,51	0	0	100	0	0
10	80	10	13,07 ± 3,39	0,268	12,97	2094	0	88,3	11,7	0
20	10	70	193,50 ± 39,23	0,165	221,8	0	0	100	0	0
20	20	60	137,50 ± 36,91	0,288	182,5	0	0	100	0	0
20	30	50	10,98 ± 1,93	0,123	12,24	0	0	100	0	0
20	40	40	13,52 ± 3,54	0,275	13,68	1127	4199	90,5	5,1	4,4
20	50	30	10,19 ± 2,23	0,191	10,76	4506	0	96,8	3,2	0
20	60	20	9,400 ± 1,099	0,055	10,07	0	0	100	0	0
20	70	10	9,437 ± 1,586	0,113	10,59	0	0	100	0	0
30	10	60	152,80 ± 33,68	0,194	188,3	0	0	100	0	0
30	20	50	89,26 ± 20,16	0,204	12,93	398,1	5468	72,8	25,4	1,8
30	30	40	10,44 ± 1,95	0,139	11,38	4651	0	99,0	1,0	0
30	40	30	16,17 ± 4,95	0,375	13,47	522,9	4996	82,1	14,5	3,4
30	50	20	10,43 ± 2,60	0,249	10,30	4749	627,1	93,7	4,2	2,1
30	60	10	9,840 ± 1,311	0,071	10,71	0	0	100	0	0

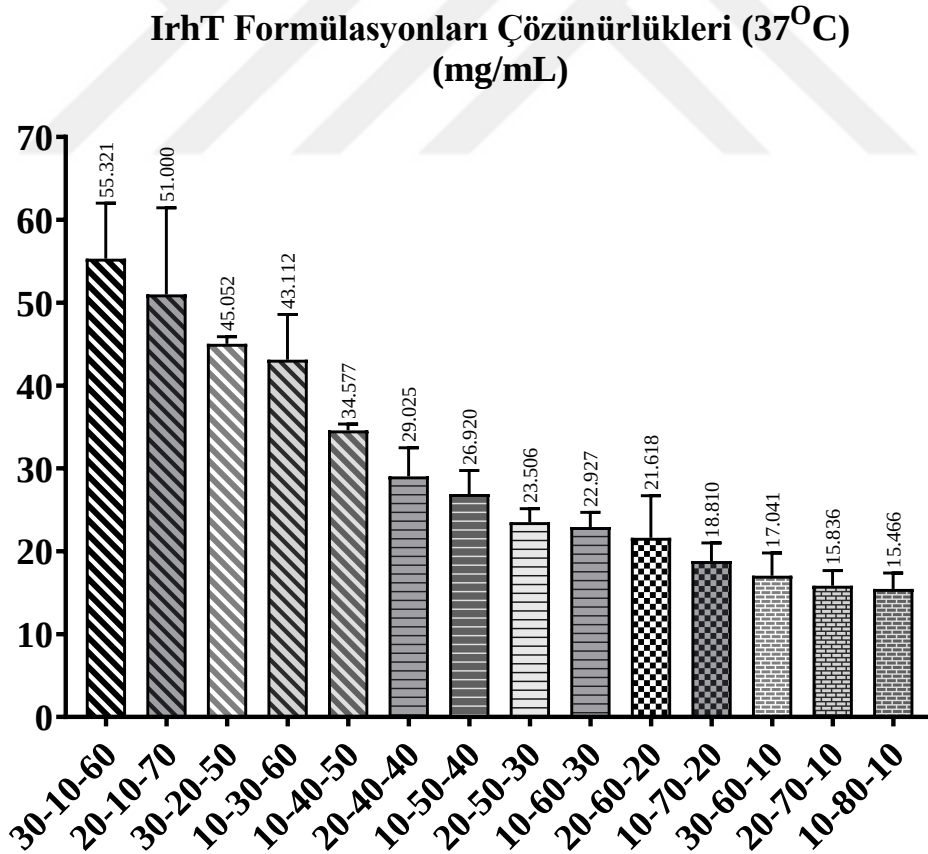


Şekil 4-17: Uygun partikül boyutu ve dağılımına sahip etkin madde içermeyen formülasyonların bileşimleri

4.8. Formülasyonlara Etkin Madde Yüklenmesi Bulguları

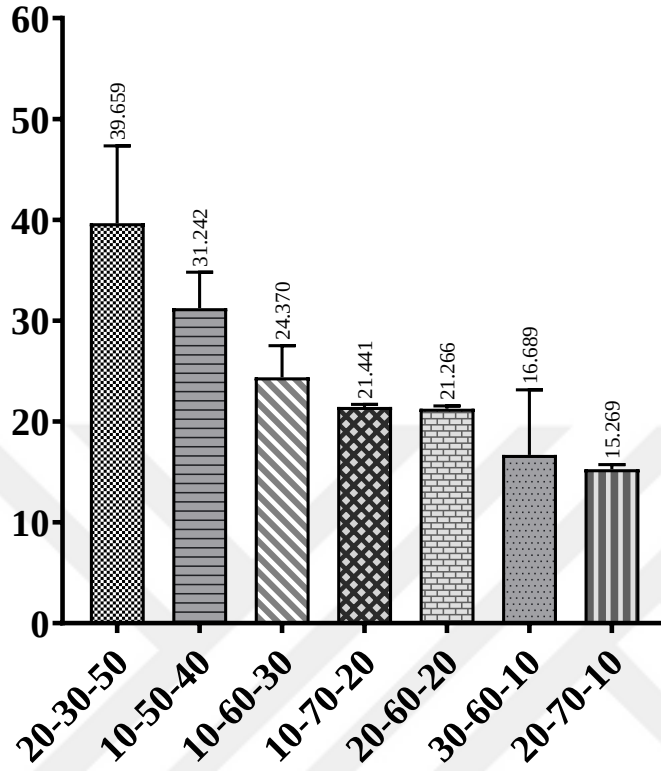
Damlacık boyutu ve PDI değerleri uygun bulunan formülasyonlarda çözünürlük çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular IrhT formülasyonları için Şekil 4-18'de CcsT formülasyonları için ise Şekil 4-19'da gösterilmiştir.

IrhT formülasyonlarında 15-55 mg/mL, CcsT formülasyonlarında ise 15-40 mg/mL aralıklarında çözünürlük değerleri elde edilmiştir. Hem IrhT hem de CcsT formülasyonları içerisindeki aprepitant çözünürlüğünü belirleyen temel faktörün formülasyonlar içerisindeki kosolvan miktarı olduğu görülmektedir. Genel olarak formülasyon içerisindeki Transcutol® P miktarı arttıkça formülasyonun çözebildiği aprepitant miktarı da artmaktadır. Aynı oranlarda yağ - yüzey etkin madde - kosolvan içeren IrhT veya CcsT formülasyonlarının çözünürlük sonuçlarının da benzer oldukları görülmüştür.



Şekil 4-18: Aprepitantın IrhT formülasyonlarındaki çözünürlüğü

CcsT Formülasyonları Çözünürlükleri (37⁰C) (mg/mL)



Şekil 4-19: Aprepitantın CcsT formülasyonlarındaki çözünürlüğü

4.9. Aprepitant İçeren Formülasyonlarda Damlacık Boyutu ve PDI Bulguları

Etkin madde yüklenmeden uygun özelliklere sahip formülasyonlara 21 mg, 25 mg, 30 mg ve 40 mg aprepitant eklenmiştir. Test süresince elde edilen damlacık boyutu ve PDI bulguları IrhT formülasyonları için Tablo 4-13 , CcsT formülasyonları için ise Tablo 4-14’te gösterilmiştir. 40 mg aprepitant yüklenebilmiş formülasyonlarda hızla çökme görüldüğünden bu veriler tabloda gösterilmemiştir.

IrhT 30-10-60, 30-20-50, 10-40-50, 10-50-40, 20-50-30, 10-60-30 ve 20-60-20 bileşimine sahip formülasyonlara 21 mg aprepitant yüklendiğinde en az 4 saat boyunca ortalama damlacık boyutu ve PDI değerlerinin fazla değişmeden kalabildiği görülmektedir. Yüklenen aprepitant miktarı 25 mg’a yükseltildiğinde yukarıda sayılan formülasyonlarda 4. saatin sonunda damlacık boyutu değişmeyen formülasyon bulunmamaktadır. 30-10-60, 30-20-50 ve 10-40-50 formülasyonlarında 4. saatin

sonunda, 10-50-40 formülasyonunda ise 2. saatin sonunda ciddi boyut farklılıkları görülmüştür. Yüklenen aprepitant miktarı 30 mg'a yükseltildiğinde, 30-10-60 formülasyonunda 2. saatin sonunda 30-20-50 formülasyonunda ise 4. saatin sonunda ciddi farklılıklar görülmüştür.

10-70-20, 30-60-10, 20-70-10 ve 10-80-10 formülasyonlarına formülasyonların çözme kapasitesi yeterli gelmediğinden istenilen miktarda aprepitant yüklenememiştir.

Tablo 4-13: Aprepitantlı IrhT formülasyonlarında damlacık boyutu ve PDI bulguları

Yüklü Aprepitant		21 mg		25 mg		30 mg	
Oranlar (a/a)	Ölçüm Saati	Z-Average (nm)	PDI	Z-Average (nm)	PDI	Z-Average (nm)	PDI
30-10-60	0sa	48,06 ± 5,10	0,045	49,77 ± 3,73	0,022	52,24 ± 5,56	0,045
	1sa	48,20 ± 5,53	0,053	49,52 ± 6,78	0,075	52,97 ± 8,69	0,108
	2sa	47,52 ± 25,04	0,035	53,99 ± 24,73	0,266	96,28 ± 24,67	0,288
	4sa	48,97 ± 8,53	0,121	124,8 ± 28,22	0,204	130,8 ± 33,3	0,260
20-10-70	0sa	36,69 ± 2,19	0,014	38,21 ± 4,16	0,047	38,96 ± 4,24	0,047
	1sa	38,40 ± 5,34	0,077	38,97 ± 5,32	0,074	39,84 ± 7,25	0,133
	2sa	36,87 ± 4,91	0,071	44,60 ± 9,35	0,176	63,63 ± 12,88	0,164
	4sa	161,2 ± 45,02	0,312	546,5 ± 214,2	0,614	674,1 ± 322,0	0,913
30-20-50	0sa	28,08 ± 2,08	0,022	29,19 ± 3,79	0,068	28,96 ± 3,23	0,050
	1sa	28,18 ± 1,63	0,013	28,17 ± 2,14	0,023	28,77 ± 2,28	0,025
	2sa	28,03 ± 3,22	0,053	27,95 ± 3,43	0,060	30,77 ± 8,01	0,271
	4sa	29,14 ± 6,75	0,215	118,4 ± 26,10	0,194	3059 ± 1530	1
10-30-60	0sa	23,16 ± 5,96	0,265	20,07 ± 5,48	0,298	496,7 ± 248,4	1
	1sa	16,55 ± 2,73	0,109	2686 ± 1343	1	649,6 ± 275,6	0,720
	2sa	205,3 ± 57,75	0,317	1054 ± 508	0,927	4637 ± 2319	1
	4sa	1897 ± 949	1	2568 ± 1284	1	4673 ± 2337	1
10-40-50	0sa	14,40 ± 2,23	0,096	15,36 ± 3,02	0,154	14,27 ± 1,43	0,040
	1sa	14,54 ± 1,98	0,083	16,29 ± 3,76	0,213	75,08 ± 14,99	0,160
	2sa	14,60 ± 1,86	0,062	26,51 ± 5,57	0,177	728,9 ± 327,3	0,806
	4sa	14,66 ± 1,70	0,048	194,8 ± 59,85	0,377	1118 ± 559	0,969
20-40-40	0sa	21,25 ± 5,84	0,302	24,33 ± 7,49	0,379	Çözünmedi	
	1sa	20,36 ± 5,24	0,265	22,76 ± 6,75	0,352		
	2sa	22,13 ± 6,29	0,323	22,68 ± 6,99	0,380		
	4sa	103,0 ± 19,14	0,138	1828 ± 898	0,964		
10-50-40	0sa	13,99 ± 2,38	0,116	13,54 ± 1,22	0,033	Çözünmedi	
	1sa	14,01 ± 3,66	0,123	14,56 ± 2,65	0,133		
	2sa	15,03 ± 1,07	0,141	445 ± 178,4	0,643		
	4sa	15,26 ± 3,00	0,154	856,6 ± 400,9	0,876		

Tablo 4-13: Aprepitantlı IrhT formülasyonlarında damlacık boyutu ve PDI bulguları (devam)

Yüklü Aprepitant		21 mg		25 mg		30 mg	
Oranlar (a/a)	Ölçüm Saati	Z-Average (nm)	PDI	Z-Average (nm)	PDI	Z-Average (nm)	PDI
20-50-30	0sa	15,46 ± 2,26	0,086	Çözünmedi		Çözünmedi	
	1sa	15,52 ± 2,05	0,071				
	2sa	15,60 ± 1,90	0,062				
	4sa	15,58 ± 1,86	0,057				
10-60-30	0sa	13,67 ± 1,82	0,071	Çözünmedi		Çözünmedi	
	1sa	13,71 ± 1,61	0,055				
	2sa	13,74 ± 1,47	0,046				
	4sa	13,80 ± 1,59	0,053				
20-60:20	0sa	14,48 ± 1,80	0,061	Çözünmedi		Çözünmedi	
	1sa	14,78 ± 1,84	0,065				
	2sa	14,85 ± 1,89	0,068				
	4sa	15,14 ± 2,03	0,072				
10-70-20	0sa	Çözünmedi		Çözünmedi		Çözünmedi	
	1sa						
	2sa						
	4sa						
30-60-10	0sa	Çözünmedi		Çözünmedi		Çözünmedi	
	1sa						
	2sa						
	4sa						
20-70-10	0sa	Çözünmedi		Çözünmedi		Çözünmedi	
	1sa						
	2sa						
	4sa						
10-80-10	0sa	Çözünmedi		Çözünmedi		Çözünmedi	
	1sa						
	2sa						
	4sa						

Tablo 4-14'ten görülebileceği üzere CcsT 10-50-40 ve 10-60-30 formülasyonlarına 21 mg ve 25 mg aprepitant yüklendiğinde damlacıkların en az 4 saat boyunca istenen özellikte (PDI değeri 0,25'in altında, ortalama damlacık boyutu 150 nm'nin altında) kaldıkları görülmüştür. 30 mg aprepitant yüklendiğinde 10-50-40 formülasyonunda 2. saatin sonunda damlacık boyunda ciddi farklılık olduğu gözlenmiştir. 10-60-30 formülasyonunda ise 30 mg aprepitant çözünmemiştir.

Tablo 4-14: Aprepitantlı CcsT formülasyonlarında damlacık boyutu ve PDI bulguları

Yüklü Aprepitant		21 mg		25 mg		30 mg	
Oranlar (a/a)	Ölçüm Saati	Z-Average (nm)	PDI	Z-Average (nm)	PDI	Z-Average (nm)	PDI
20-30-50	0sa	17,25 ± 6,36	0,543	188,6 ± 56,9	0,364	278,6 ± 102,3	0,432
	1sa	15,99 ± 4,54	0,322	269,3 ± 76,2	0,320	362,3 ± 84,3	0,359
	2sa	11,26 ± 1,97	0,123	693,5 ± 302,1	0,759	833,5 ± 412,5	0,789
	4sa	11,90 ± 2,86	0,231	1411 ± 705	0,997	1811 ± 906	1
10-50-40	0sa	10,62 ± 2,18	0,169	11,05 ± 2,36	0,183	10,01 ± 2,07	0,171
	1sa	10,55 ± 2,08	0,155	13,42 ± 3,30	0,242	9,757 ± 1,038	0,045
	2sa	10,02 ± 1,60	0,103	10,21 ± 1,90	0,139	42,87 ± 8,16	0,145
	4sa	10,13 ± 2,00	0,156	12,36 ± 2,17	0,135	872,2 ± 424,6	0,948
10-60-30	0sa	9,547 ± 1,815	0,145	36,57 ± 5,23	0,082	Çözünmedi	
	1sa	10,16 ± 1,87	0,136	9,855 ± 1,569	0,101		
	2sa	9,991 ± 1,623	0,106	10,30 ± 1,85	0,128		
	4sa	10,30 ± 2,10	0,166	12,88 ± 2,61	0,222		
20-60-20	0sa	11,66 ± 3,23	0,306	Çözünmedi		Çözünmedi	
	1sa	29,23 ± 6,39	0,191				
	2sa	10,00 ± 2,07	0,171				
	4sa	9,950 ± 2,306	0,215				
10-70-20	0sa	135,1 ± 31,6	0,218	Çözünmedi		Çözünmedi	
	1sa	241,3 ± 73,1	0,367				
	2sa	238,8 ± 71,9	0,362				
	4sa	125,5 ± 32,1	0,261				
30-60-10	0sa	11,15 ± 2,95	0,281	Çözünmedi		Çözünmedi	
	1sa	10,65 ± 2,20	0,171				
	2sa	10,61 ± 2,36	0,198				
	4sa	12,56 ± 3,54	0,318				
20-70-10	0sa	Çözünmedi		Çözünmedi		Çözünmedi	
	1sa						
	2sa						
	4sa						

4.10. Doymun Formülasyonlarda Etkin Madde Çökme Testi Bulguları

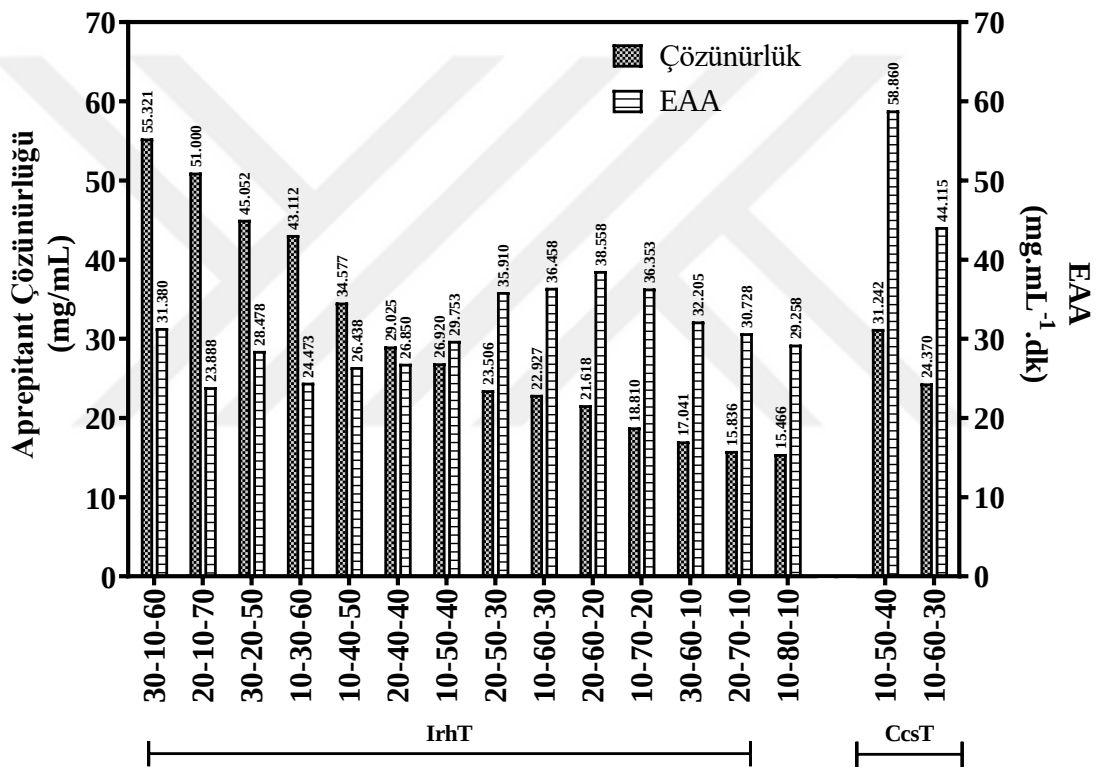
Farklı oranlarda yardımcı madde ve doymunluk konsantrasyonunda etkin madde içeren farklı formülasyonlarda aprepitantın çökme hızının karşılaştırılması için yapılan çalışmanın bulguları Şekil 4-20 ve Şekil 4-21’de gösterilmiştir.

Kosolvan oranının yüksek olduğu IrhT formülasyonlarında grafiklerin yüksek konsantrasyonlardan başladığı, ancak konsantrasyonun hızla azaldığı görülmektedir. Kosolvan oranı azalıp (< %40) yüzey etkin madde oranı arttıkça (> %50) aprepitant derişiminin azalma hızı yavaşlamakta ve daha yatay bir eğri elde edildiği görülmektedir. Bileşimlerinde yüksek oranda kosolvan içeren IrhT formülasyonları 4 saat sonunda 0,10

mg/mL civarında bir konsantrasyonda dengelenirken daha düşük oranda kosolvan içeren formülasyonlar 0,15 mg/mL civarında bir konsantrasyonda dengelenmişlerdir.

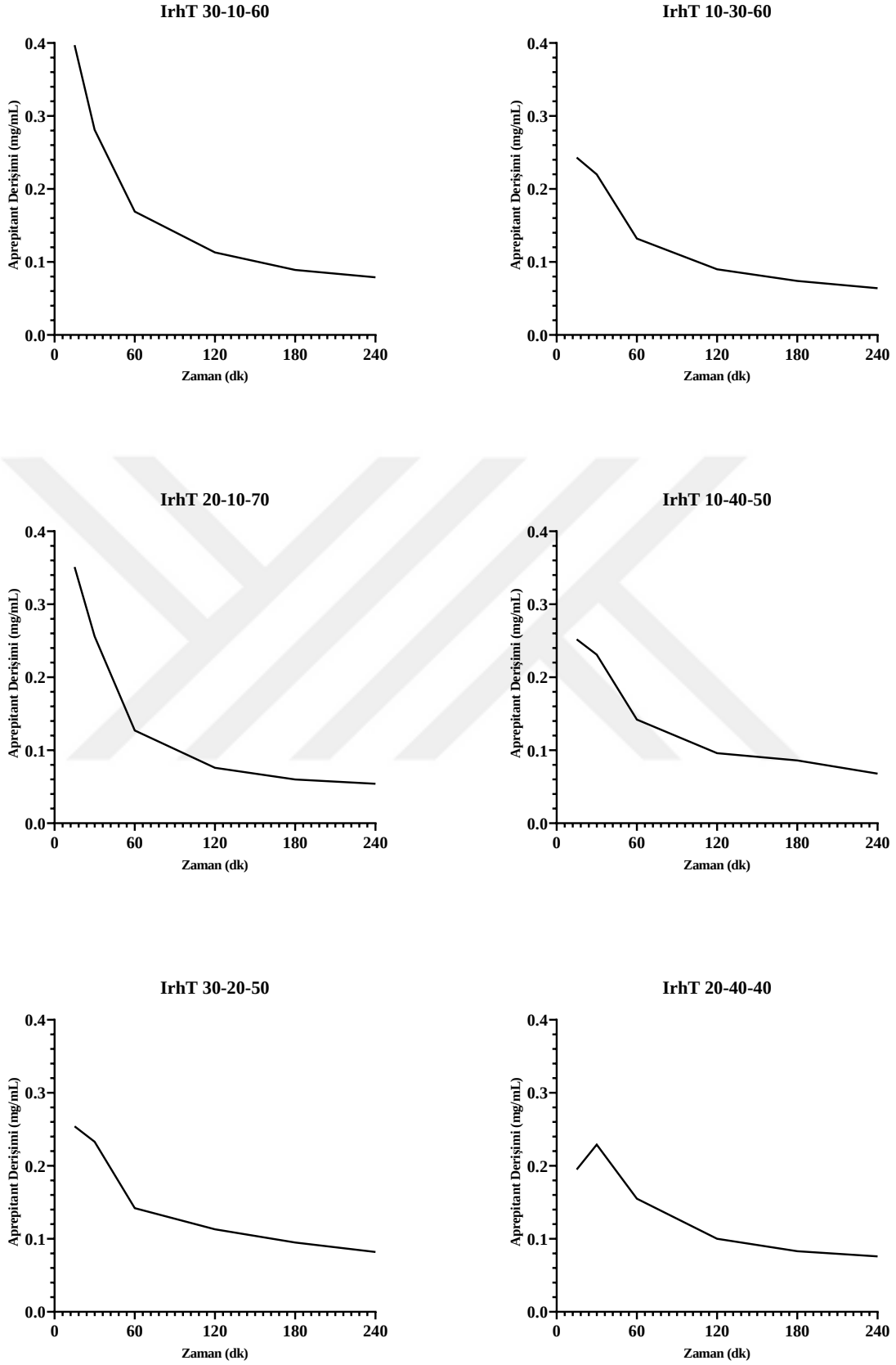
Önceki çalışmalar sonucunda uygun bulunan CcsT formülasyonları bileşim açısından benzer olmakla birlikte daha yüksek oranda kosolvan içeren CcsT 10-50-40 formülasyonu daha yüksek bir konsantrasyonda dengelenmiştir. Her iki CcsT formülasyonunda da seyreltme sonrası, hızlı bir etkin madde çökmesi görülmüştür.

Şekil 4-20 ve Şekil 4-21’de elde edilen grafiklerdeki EAA’lar yöntemler bölümünde açıklandığı üzere hesaplanmış ve Şekil 4-20’de gösterilmiştir.

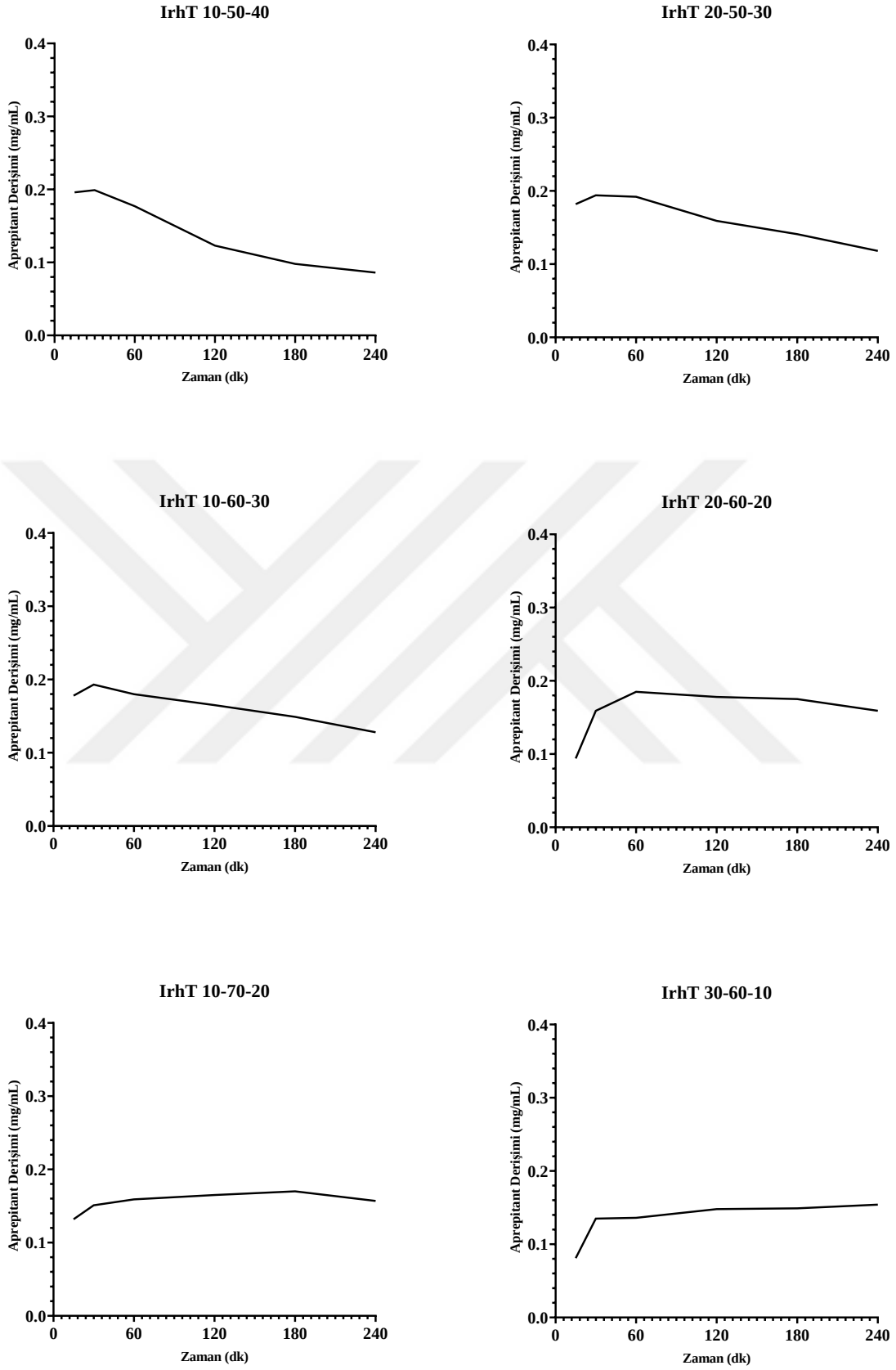


Şekil 4-20: Formülasyonların çözünürlük ve çökme testi sonrası EAA verileri

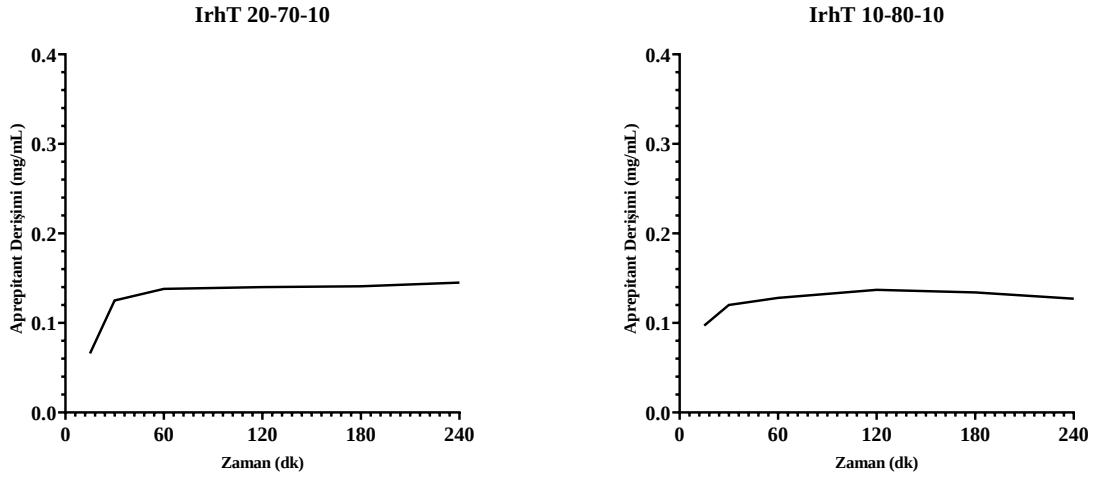
Yukarıdaki şekilden görüldüğü üzere formülasyonların çözebildikleri aprepitant miktarıyla grafiklerde oluşan EAA değerleri arasında bir korelasyon olmadığı görülmektedir. Yüksek çözünürlük Şekil 4-21 ve Şekil 4-22’de görülebileceği gibi grafiğin başlangıç konsantrasyonlarının yüksek olmasını sağlasa da, ilerleyen zamanlarda çözünmüş etkin madde miktarının hızla azalması kümülatif EAA’ı sınırlandırıcı bir etki yapmaktadır. En yüksek EAA değerine eğrinin uzun süre sabit kalabildiği formülasyonlarda (IrhT 20-60-20 ve CcsT 10-50-40) ulaşıldığı görülmüştür.



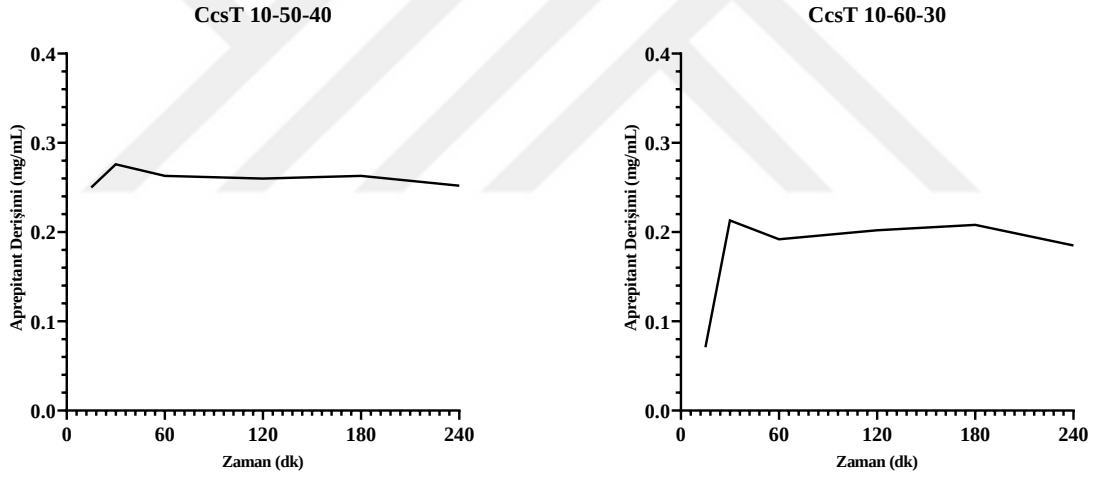
Şekil 4-21: 1/100 seyreltilmiş IrhT formülasyonlarında çözeltide kalan aprepitant



Şekil 4-21: 1/100 seyreltilmiş IrhT formülasyonlarında çözeltide kalan aprepitant (devam)



Şekil 4-21: 1/100 seyreltilmiş IrhT formülasyonlarında çözeltide kalan aprepitant (devam)



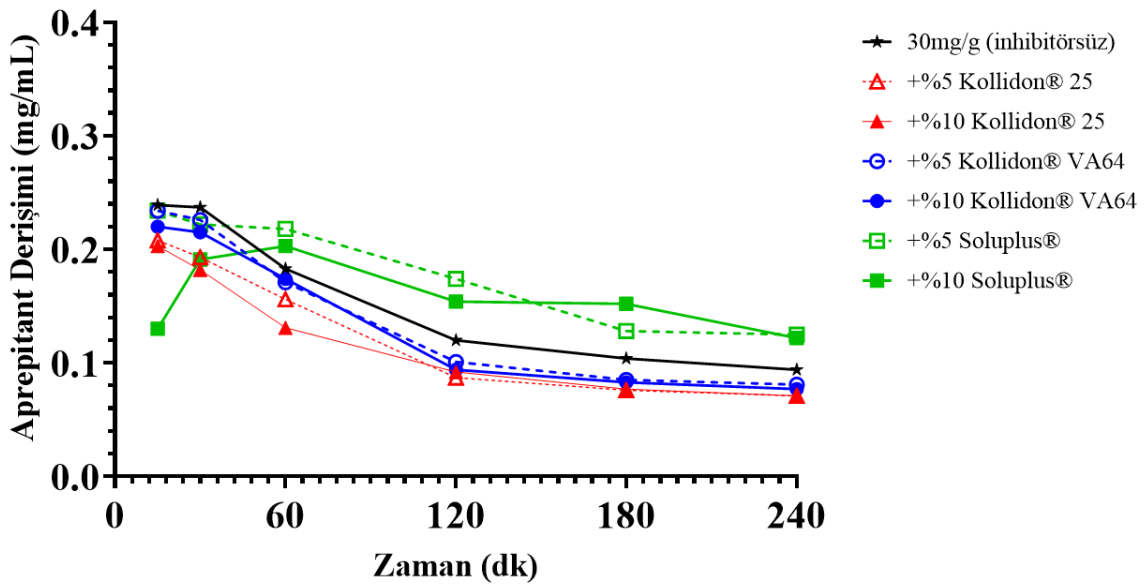
Şekil 4-22: 1/100 seyreltilmiş CcsT formülasyonlarında çözeltide kalan aprepitant

4.11. Polimer Eklenmiş SNEDDS Formülasyonları Bulguları

Seyreltme sonrasında etkin maddenin daha uzun süre kolloidal yapıda kalmasını sağlamak amacıyla farklı polimerler kullanılmıştır. Kollidon® 25 (PVP), Kollidon® VA64 (PVP/VA), Methocel™ E5 (HPMC), Soluplus® bu amaçla denenmiştir. Methocel™ E5 IrhT formülasyonlarında eklenen miktarlarda tam olarak çözünmediği için kullanılamamıştır.

Polimerler IrhT 30-10-60, IrhT 20-60-20 ve CcsT 10-50-40 olmak üzere üç farklı formülasyona eklenmiştir. IrhT 20-60-20 ve CcsT 10-50-40 önceden gerçekleştirilen çökme testi bulgularında farklı içeriğe sahip en başarılı bulunan formülasyonlardır. IrhT 30-10-60 formülasyonu ise çalışılan formülasyonlar içerisinde aprepitant yükleme kapasitesi en yüksek olan formülasyondur. Aprepitant yüklenmiş formülasyonlar için elde edilen konsantrasyon-zaman eğrileri ve bu eğriler altında kalan alanlar Şekil 4-23 ile Şekil 4-25 arasında gösterilmiştir.

IrhT 30-10-60

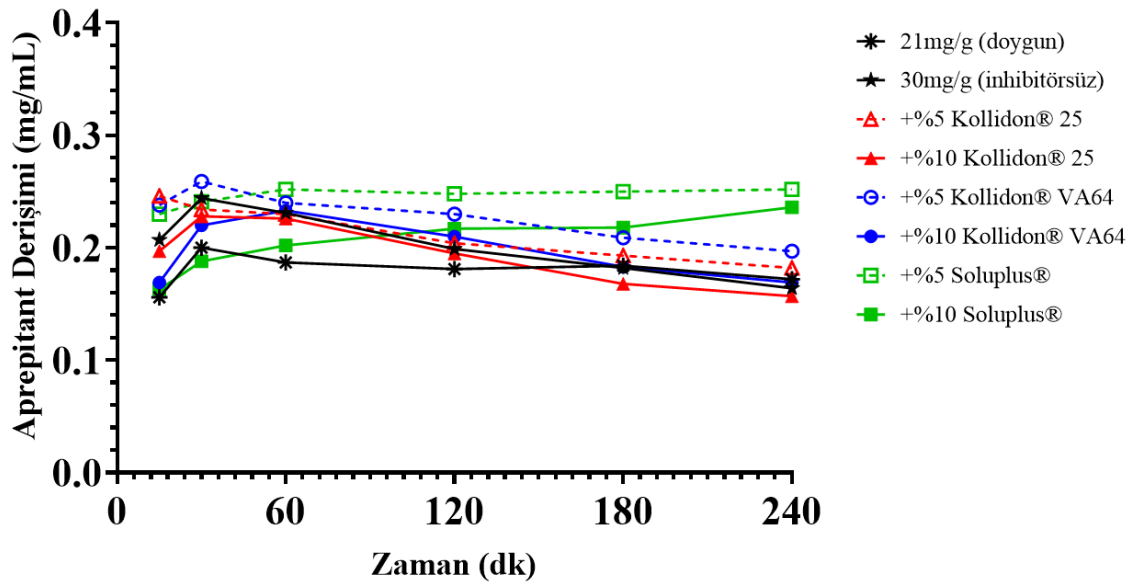


Formülasyon	EAA (mg.dk.mL ⁻¹)
+5% Soluplus®	38,430
+10% Soluplus®	36,392
30mg/g (inhibitörsüz)	31,620
+5% Kollidon® VA64	28,125
+10% Kollidon® VA64	27,248
+5% Kollidon® 25	24,833
+10% Kollidon® 25	23,783

Şekil 4-23: 30 mg yüklü IrhT 30-10-60 formülasyonlarına polimerlerin etkisi

30 mg aprepitant yüklenmiş IrhT 30-10-60 formülasyonlarının içerisinde etkin madde çökmesini en çok geciktiren yardımcı maddenin Soluplus® olduğu görülmüştür. Soluplus®'ın formülasyonlara %5 veya %10 eklendiği durumlarda EAA'da sırasıyla %21,5 ve %15,1 artış olduğu görülmüştür. Diğer yardımcı maddelerin EAA'yı artırmada başarısız olduğu, hatta EAA'yı azalttığı görülmüştür.

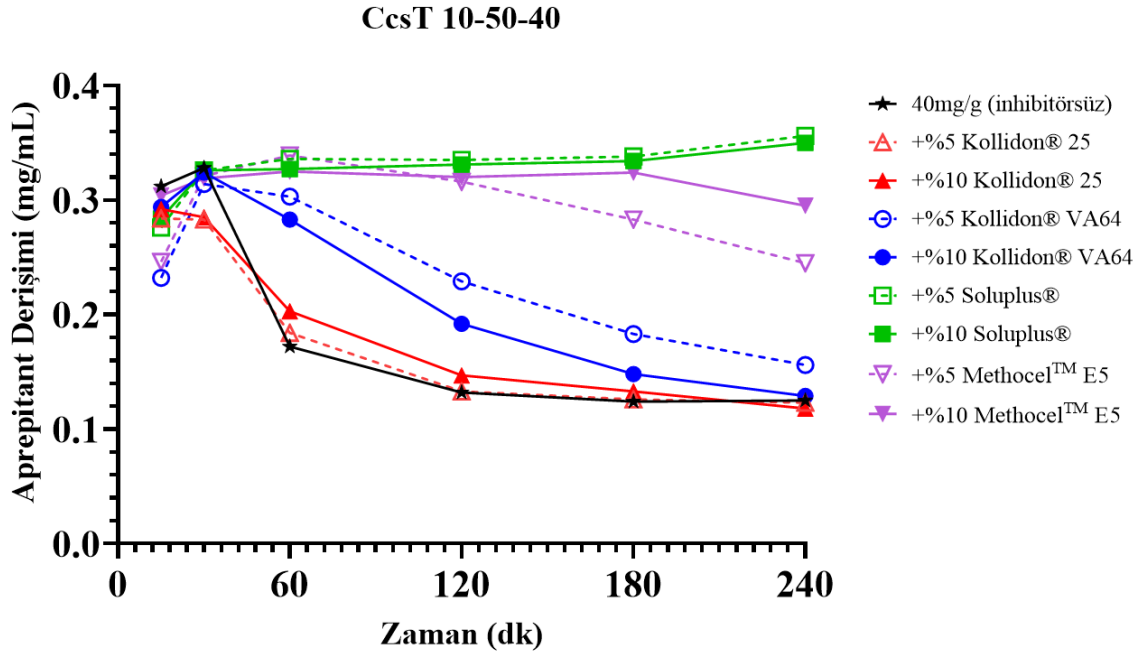
IrhT 20-60-20



Formülasyon	EAA (mg.dk.mL ⁻¹)
+5% Soluplus®	55,916
+5% Kollidon® VA64	50,702
+10% Soluplus®	47,676
+5% Kollidon® 25	46,705
+10% Kollidon® VA64	45,353
30mg/g (inhibitörsüz)	45,206
+10% Kollidon® 25	43,324
21mg/g (doygun)	41,145

Şekil 4-24: 30mg yüklü A-IrhT 20-60-20 formülasyonlarına polimerlerin etkisi

30 mg aprepitant yüklenmiş A-IrhT 20-60-20 formülasyonlarının içerisinde etkin madde çökmesini en çok geciktiren yardımcı maddenin Soluplus® olduğu görülmüştür. Formülasyona %5 oranında Soluplus® eklendiğinde çözünmüş halde kalan aprepitant miktarının en az 4 saat boyunca sabit kalabildiği görülmüştür.



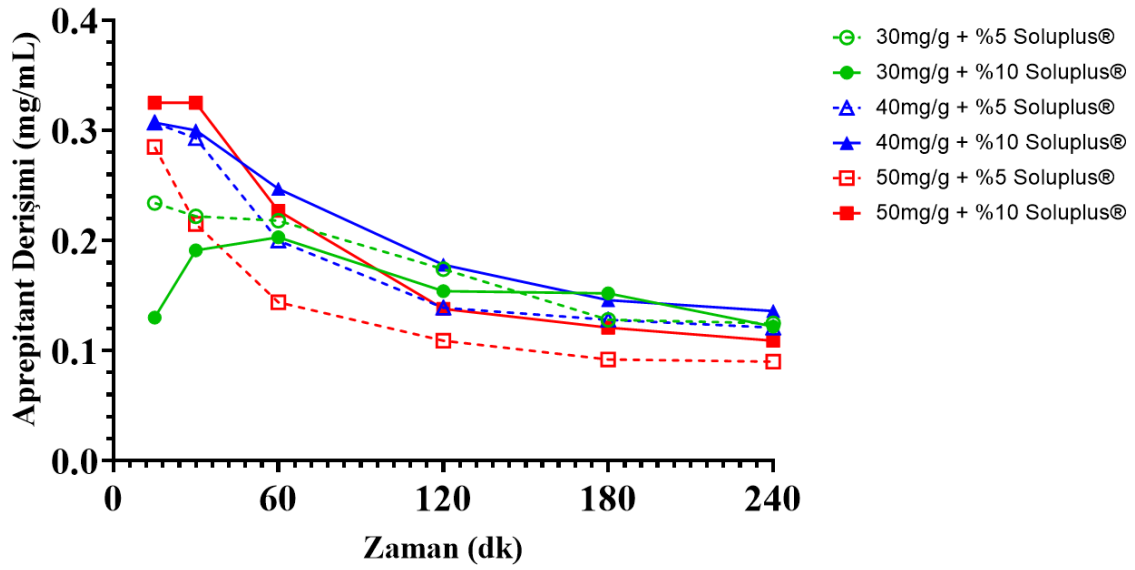
Formülasyon	EAA (mg.dk.mL ⁻¹)
+5% Soluplus®	75,585
+10% Soluplus®	74,580
+10% Methocel™ E5	71,573
+5% Methocel™ E5	67,613
+5% Kollidon® VA64	51,840
+10% Kollidon® VA64	46,500
+10% Kollidon® 25	38,078
40mg/g (inhibitörsüz)	36,570
+5% Kollidon® 25	36,008

Şekil 4-25: 40mg yüklü CcsT 10-50-40 formülasyonlarına polimerlerin etkisi

40 mg aprepitant yüklenmiş CcsT 10-50-40 formülasyonlarının içerisinde etkin madde çökmesini en çok geciktiren yardımcı maddenin yine Soluplus® olduğu görülmüştür. Formülasyonlara %5 veya %10 oranında Soluplus® eklendiğinde çözünmüş halde kalan aprepitant miktarının en az 4 saat boyunca sabit kalabildiği görülmüştür. Kollidon® 25 dışında kullanılan polimerlerin etkin madde çökme hızını belirgin şekilde azalttığı EAA değerlerinden görülmüştür. Farklı yardımcı madde içeriklerine ve bileşimlerine sahip olan 3 farklı formülasyon içerisinde en yüksek EAA değerlerine CcsT 10-50-40 formülasyonunda ulaşılmıştır.

Tüm bu bulgular göz önünde bulundurulduğunda Soluplus®'ın polimer olarak formülasyonlarda kullanılmasına karar verilmiştir. Soluplus® içeren formülasyonlara farklı miktarda etkin maddeler yüklenmiş testler tekrarlanmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4-26 ve Şekil 4-27 arasında gösterilmiştir.

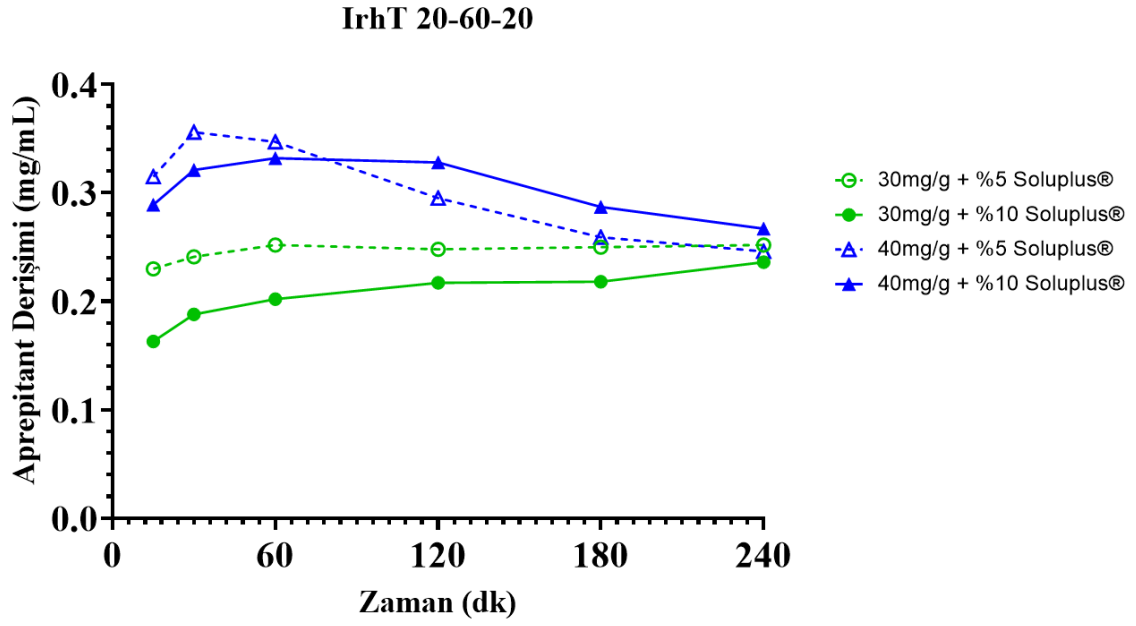
Irht 30-10-60



Şekil 4-26: Soluplus® içeren Irht 30-10-60 formülasyonlarında aprepitant miktarının çökelmeye etkisi

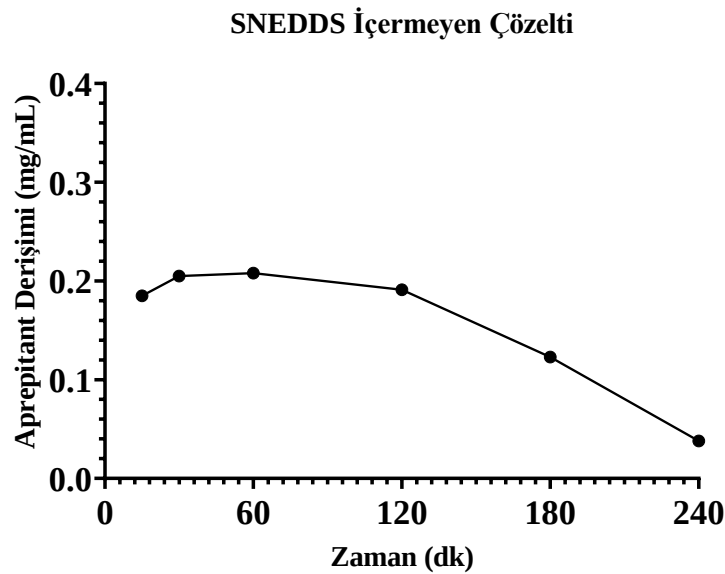
Irht 30-10-60 formülasyonuna 30 mg ila 50 mg yükleme yapıldığında, en yüksek EAA değerine 40 mg aprepitant yüklü ve % 10 Soluplus® içeren formülasyonda ulaşılmıştır. En düşük EAA %5 oranda Soluplus® eklenmiş yüksek dozda etkin madde içeren formülasyonda görülmüştür.

Benzer bir çalışma A-Irht 20-60-20 formülasyonu için de yapılmıştır. Irht 20-60-20 formülasyonuna 21,618 mg/mL aprepitant yükleme kapasitesine sahiptir. 30 mg ve 40 mg aprepitant yüklenerek sırasıyla yaklaşık %150 ve %200 oranda aşırı doygun formülasyonlar hazırlanmıştır. 40 mg aprepitant yüklenmiş formülasyonlarda EAA'nın daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu formülasyonlara ait gerçekleştirilen test sonucu elde edilen konsantrasyon-zaman grafikleri ve EAA değerleri Şekil 4-27'de gösterilmiştir.



Şekil 4-27: Soluplus® içeren A-IrhT 20-60-20 formülasyonlarında aprepitant miktarının çökelmeye etkisi

Formülasyon içermeyen çözeltiden gerçekleştirilen test sonucu Şekil 4-28’de gösterilmiştir.



Şekil 4-28: SNEDDS içermeyen ortamda kalan çözünmüş aprepitant miktarı

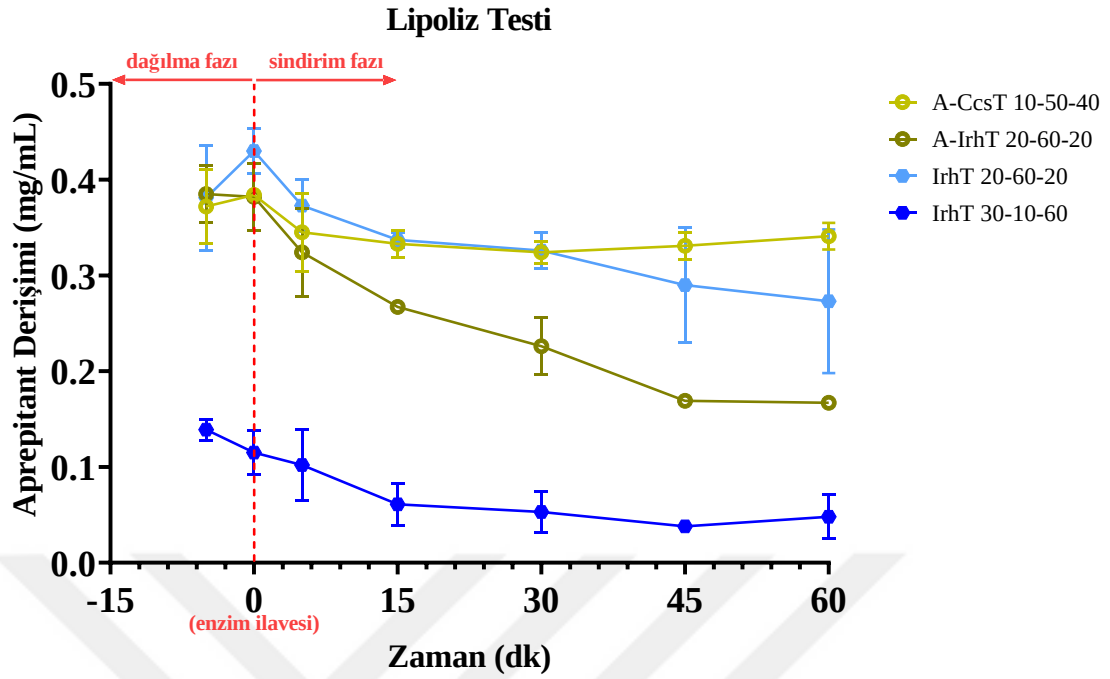
Şekilde görüldüğü gibi formülasyon olmadan, sadece Soluplus® aprepitantın çökmesini 1 saate kadar geciktirmiştir. 1 saat sonunda çözeltide kalan aprepitant miktarında düşüş başlamıştır. Elde edilen konsantrasyon-zaman grafiğinin EAA değeri 35,340 olarak hesaplanmıştır. Formülasyonsuz EAA değerinin IrhT 30-10-60 formülasyonu ile yakın olduğu görülmüştür. Aprepitant ve Soluplus® içeriği aynı formülasyonların karşılaştırılabilmesi için elde edilen bulgular Tablo 4-15'te özetlenmiştir.

Tablo 4-15: SNEDDS bileşiminin EAA'ya olan etkisi

SNEDDS Bileşimi	Ek İçerik	Aprepitant	EAA
IrhT 30-10-60	+ %10 Soluplus	30 mg	36,392
IrhT 20-60-20	+ %10 Soluplus	30 mg	47,676
CcsT 10-50-40	+ %10 Soluplus	30 mg	52,028
-	+ %10 Soluplus	30 mg	35,340

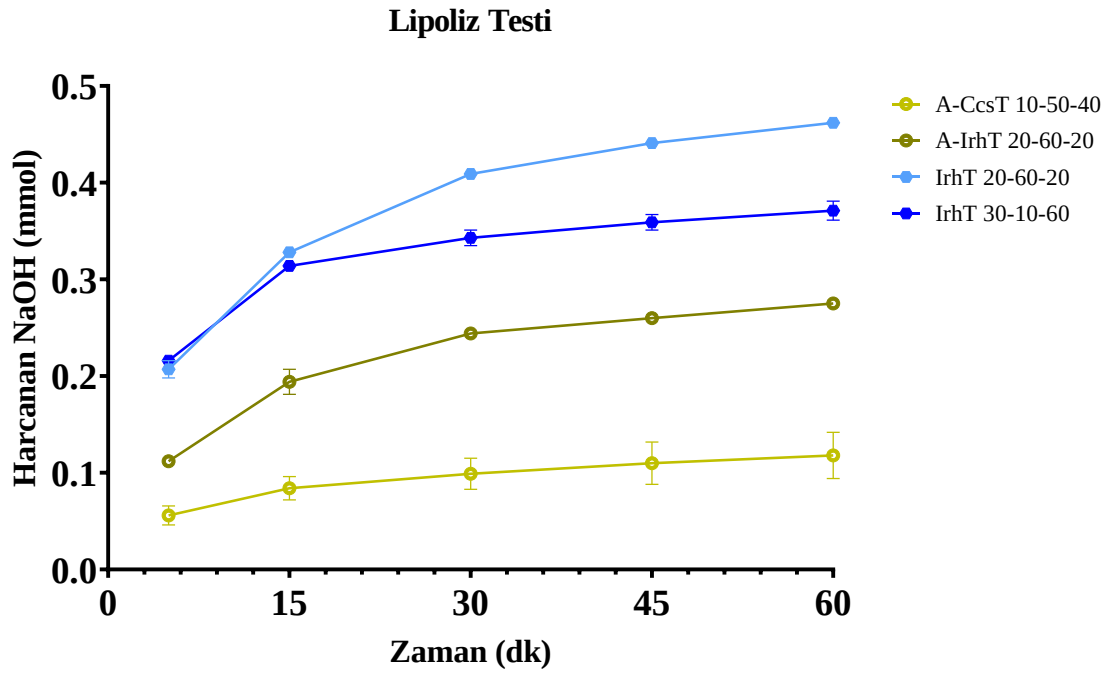
4.12. *İn vitro* Lipoliz Çalışması Bulguları

20 mg aprepitant yüklü SNEDDS (~%90) ve 40 mg aprepitant yüklü A-SNEDDS (~%200) lipoliz ortamında test edildi. *İn vitro* lipoliz çalışmasıyla formülasyonların pankreatik lipaz içeren ortamdaki davranışları incelenmiştir. Bu sayede *in vivo* ortam daha gerçekçi olarak taklit edilmeye çalışılmıştır. Lipid bazlı formülasyonlarda yapılan lipoliz çalışmalarında numune santrifüj edildikten sonra üç farklı faz görülebilmektedir. Bunlar üstte yağlı bir faz, ortada sulu kolloidal bir faz ve altta bir çökelti şeklindedir (165). Yağ fazı sindirilmemiş ve emülsifiye olmamış yağlardan, kolloidal sulu faz emülsiyon damlacıkları ve misellerden, çökelti fazı ise çöken etkin madde, sindirilmiş yağlardan oluşan yağ asitlerinin kalsiyum tuzları ve sindirim enzimlerinden oluşur (166). En üst fazın oluşumu lipid bazlı formülasyonun tipine bağlıdır. Tip I, II ve IIIA formülasyonlarında yağ fazı görülürken, tip IIIB ve IV formülasyonda bu faz genellikle görülmez. Yapılan lipoliz çalışmalarında santrifüj sonrasında sulu kolloidal faz ve çökelti fazları görülmüştür. Sulu fazdaki aprepitant miktarı HPLC ile tayin edilmiştir. Böylece sulu fazda serbestçe çözünmüş halde ve kolloidal yapılar içerisinde bulunan etkin madde miktarı tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular Şekil 4-29'da gösterilmiştir.



Şekil 4-29: Lipoliz ortamında çözünmüş olarak kalan aprepitant konsantrasyonu

In vitro lipoliz çalışmasının gerçekleştirildiği her bir formülasyon için test süresi boyunca açığa çıkan serbest yağ asitlerini nötralleştirmek amacıyla kullanılan NaOH miktarı Şekil 4-30'da gösterilmiştir.



Şekil 4-30: Lipoliz testi süresince harcanan toplam NaOH miktarı

4.13. Katı SNEDDS Formülasyonları

Öncelikle her bir adsorbanın formülasyon yüklenmeden önceki küme dansitesi ve sıkıştırılmış dansiteleri bulunarak akış özellikleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 4-16’da gösterilmiştir.

Tablo 4-16: Formülasyon yüklenmemiş adsorbanların akış özellikleri

Adsorban	Küme Dansitesi	Sıkıştırılmış Dansite	Hausner Oranı	Carr İndeksi	Akış Özelliği
Syloid® XDP 3050	0,233	0,286	1,23	18,53	Güzel
Syloid® XDP 3150	0,244	0,278	1,14	12,23	İyi
Neusilin® UFL2	0,104	0,179	1,72	41,90	Çok, çok zayıf
Neusilin® US2	0,179	0,213	1,19	15,96	Güzel
Florite® R	0,077	0,127	1,65	39,37	Çok, çok zayıf

Ardından her 1 g adsorban üzerine A-IrhT 20-60-20 formülasyonu eklenmiş ve maksimum sıvı tutma kapasitesi belirlemiştir. 1 g adsorban için maksimum sıvı formülasyon tutma kapasitesi Syloid® çeşitleri için 1,5 g, Neusilin® çeşitleri için 2 g ve Florite® R için 5 g olarak bulunmuştur. Belirtilen maksimum miktarların üzerinde tozların yapışıp çamurlaşmaya başladığı görülmüştür. Adsorbanların dissolüsyon ortamında etkin madde salımını etkilemediği görülmüştür (Bulgular 4.14). Bu nedenle sıvı formülasyon tutma kapasitesi daha yüksek olan Neusilin® türleri ve Florite® R ile formülasyonlar hazırlanmış, akış özellikleri incelenmiştir. 1 g A-IrhT 20-60-20 formülasyonu 35,09 mg aprepitant içerdiğinden toz formülasyonların aprepitant içerikleri de Tablo 4-17’de gösterilmiştir.

Neusilin® US2, tatmin edici bir yükleme kapasitesine ve kabul edilebilir bir akıcılığa sahip olduğundan adsorban olarak seçilmiştir. Neusilin® US2’ye yüklenen formülasyon arttıkça akış özelliğinin kötüleştiği görülmüştür. Bu nedenle ideal adsorban:formülasyon oranı olarak 1:1,5 olarak belirlenmiştir. Daha sonraki çalışmalarda A-IrhT 20-60-20 formülasyonunun 1:1,5 oranında Neusilin® US2’ye adsorbe ettirilmiş toz formülasyonu kullanılacaktır.

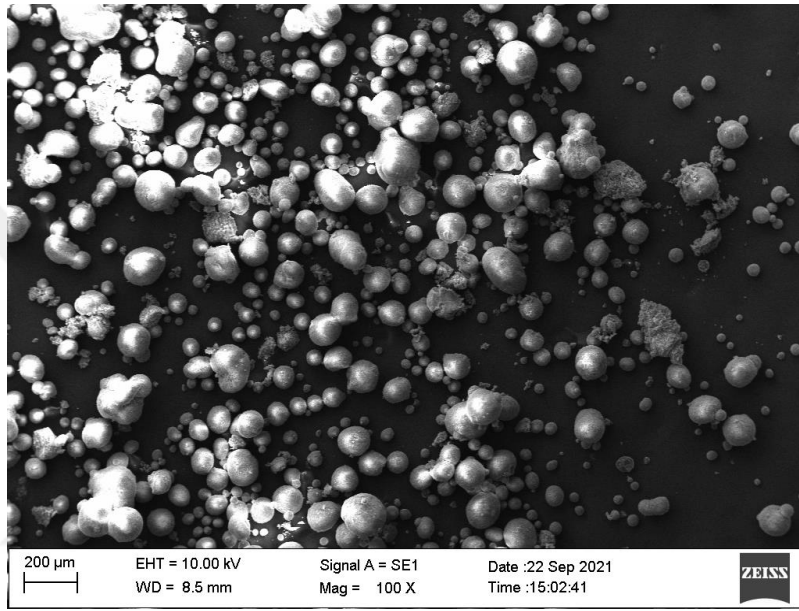
Tablo 4-17: Formülasyon yüklü adsorbanların akış özellikleri

Adsorban	Oran	Etkin Madde (mg)	Küme Dansitesi	Sıkıştırılmış Dansite	Hausner Oranı	Carr İndeksi	Akış Özelliği
Irht 20-60-20 Neusilin® US2	2 1	41,1	0,334	0,484	1,45	30,95	Zayıf
Irht 20-60-20 Neusilin® US2	1,5 1	30,9	0,352	0,438	1,24	19,64	Güzel
A-Irht 20-60-20 Neusilin® US2	2 1	70,2	0,409	0,573	1,40	28,62	Zayıf
A-Irht 20-60-20 Neusilin® US2	1,5 1	52,6	0,390	0,476	1,22	18,07	Güzel
A-Irht 20-60-20 Neusilin® UFL2	2 1	70,2	0,359	0,511	1,42	29,75	Zayıf
A-Irht 20-60-20 Florite® R	5 1	175,5	0,243	0,532	2,19	54,32	Çok, çok kötü
A-Irht 20-60-20 Florite® R	3 1	105,3	0,298	0,474	1,59	37,13	Çok kötü

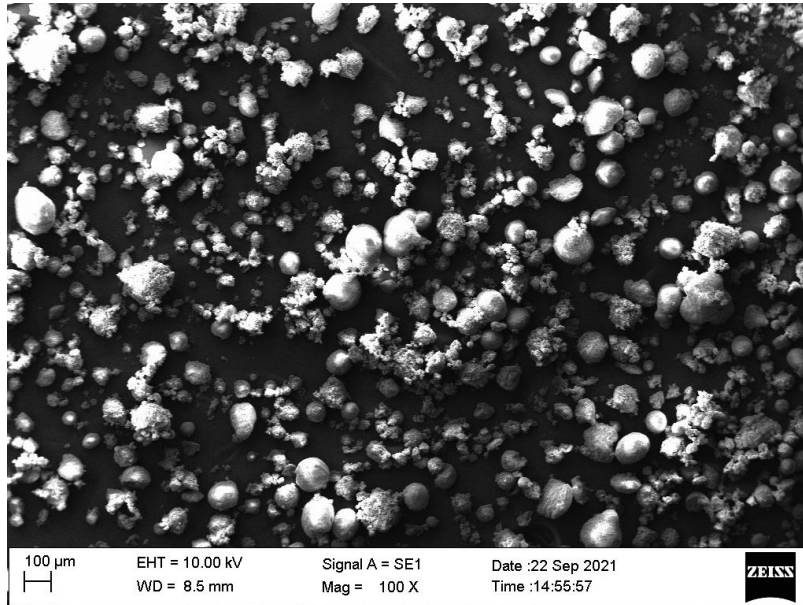
Şekil 4-31’de adsorbana yüklenerek katı forma dönüştürülen A-Irht 20-60-20 (sol) ve kapsüle dolumu gerçekleştirilen A-CcsT 10-50-40 (sağ) formülasyonları görülmektedir.

**Şekil 4-31: Farklı yöntemlerle katı forma çevrilen SNEDDS formülasyonları**

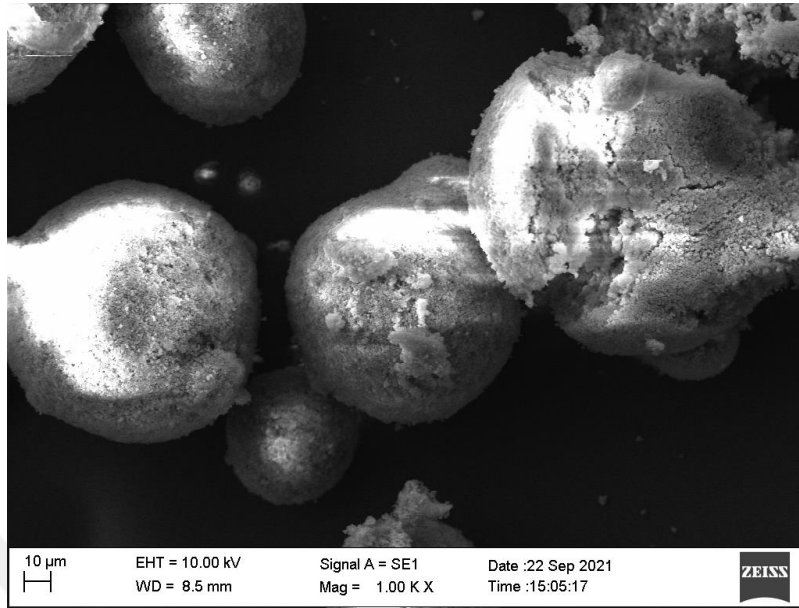
Neusilin® US2 ve A-IrhT 20-60-20 ile yüklenmiş (1:1,5 oranda) katı SNEDDS formülasyonunun morfolojilerinin incelenmesi için SEM kullanılmıştır. Toz numuneler metal numune tutucular üzerine yapıştırılan çift taraflı karbon bantlar üzerine eklenmiş ve fazla tozlar uzaklaştırılmıştır. Numuneler cihaza koyulmuş ve 40 saniye boyunca altın kaplanmıştır. Altın kaplanmış numuneler Zeiss EVO® LS10 marka SEM ile incelenmiştir. Görüntüleme 10 kV hızlanma voltajı altında yapılmış ve görüntülerin x100, x1000 ve x5000 büyütmede fotoğrafları (Şekil 4-32 - 37 arası) çekilmiştir.



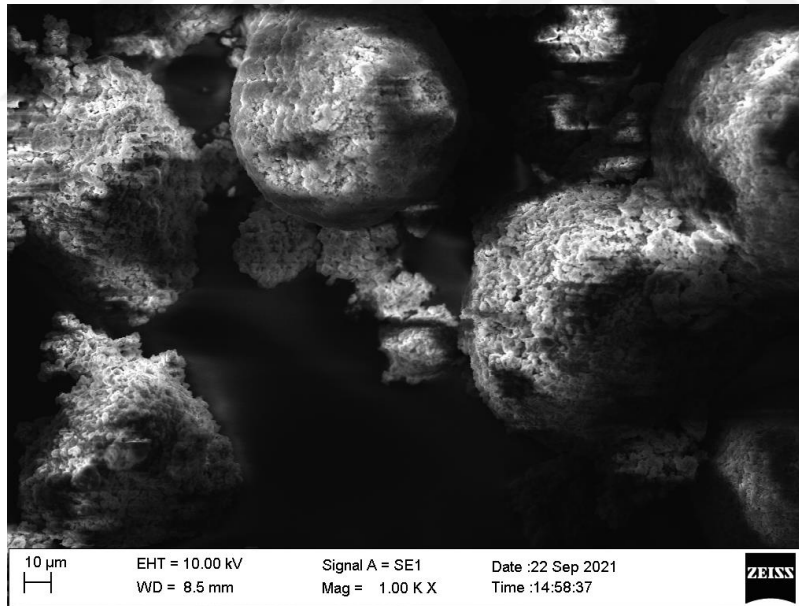
Şekil 4-32: Neusilin® US2 (x100 büyütme)



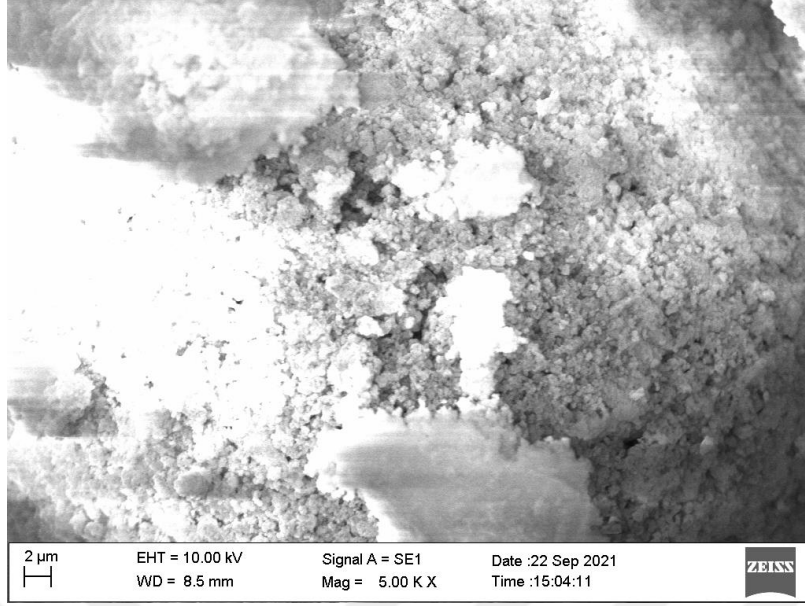
Şekil 4-33: Katı A-IrhT 20-60-20 (x100 büyütme)



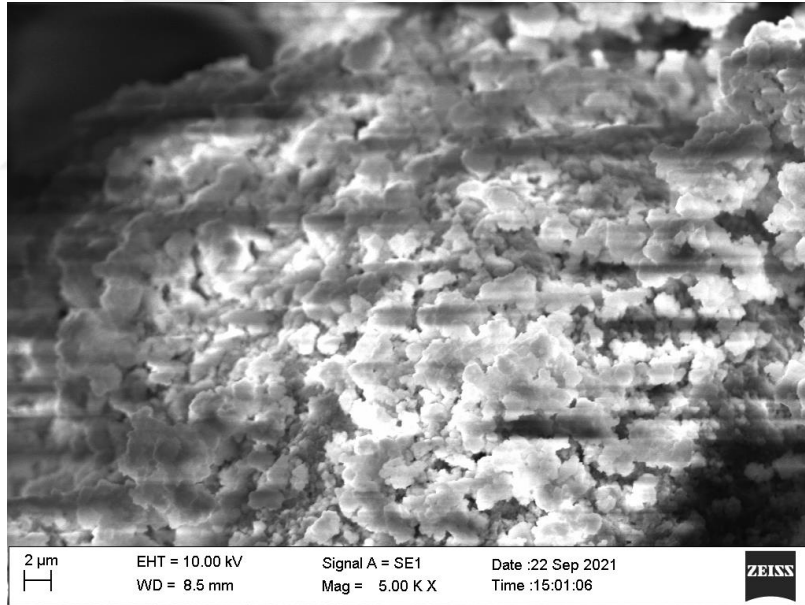
Şekil 4-34: Neusilin® US2 (x1000 büyütme)



Şekil 4-35: Katı A-IrhT 20-60-20 (x1000 büyütme)



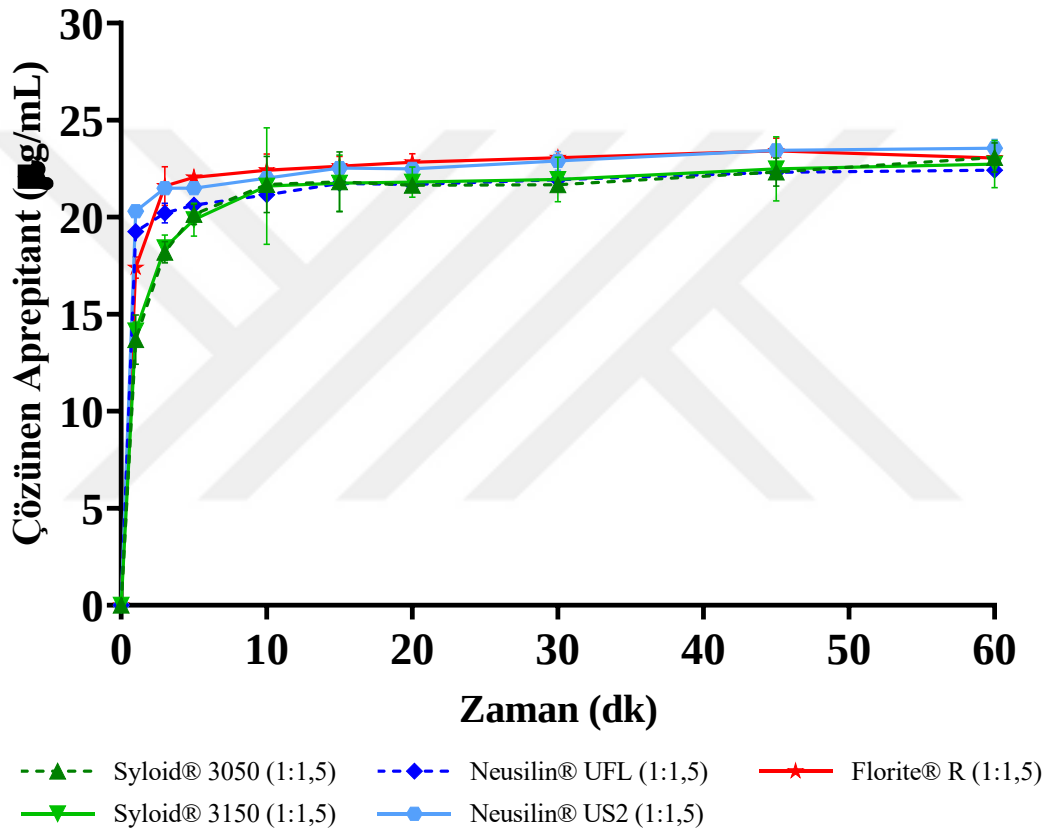
Şekil 4-36: Neusilin® US2 (x5000 büyütme)



Şekil 4-37: Katı A-IrhT 20-60-20 (x5000 büyütme)

4.14. *İn vitro* Çözünme Hızı Çalışmaları Bulguları

Adsorban kullanılarak katı forma çevrilmiş formülasyonlarda, adsorbanların ilaç salımı üzerindeki olası etkisini inceleyebilmek amacıyla çözünme hızı çalışması gerçekleştirilmiştir. IrhT 20-60-20 formülasyonu farklı adsorbanlar üzerine eklenip Yöntemler 3.2.13 bölümünde açıklandığı üzere basit şekilde karıştırılarak toz forma çevrilmiştir. Adsorban : formülasyon oranı 1:1,5 olarak sabitlenmiştir. %2,2 SLS içerisinde farklı adsorbanların çözünme hızına olan etkileri Şekil 4-38’de gösterilmiştir.

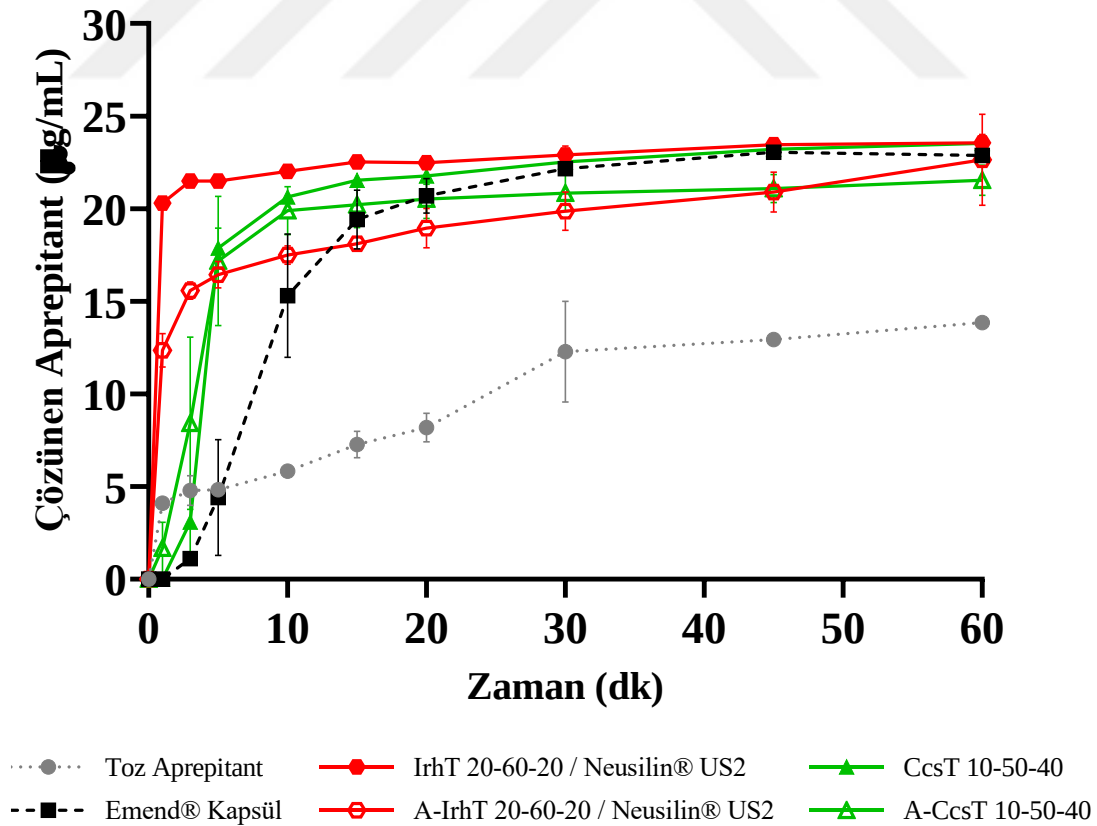


Şekil 4-38: Farklı adsorbanların aprepitant salımına etkisi

Şekil 4-38'den görüldüğü üzere başlangıçta küçük farklar olsa da 5. dakikadan itibaren çözünen aprepitant miktarında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür. Çözünme hızı profillerinin karşılaştırılması f_2 benzerlik faktörüne göre yapılmıştır. İlk 15 dakikada çözülmüş etkin madde miktarı %85'in üzerinde olduğundan tüm profiller benzer kabul edilmiştir (167). Dolayısı ile adsorban türünün çözünme hızı üzerinde bir etkisi olmadığı düşünülmüş ve adsorban seçimi maksimum sıvı tutma kapasiteleri göz önüne alınarak gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4-39'da %2,2 SLS içeren ortamda Neusilin® US2'ye adsorbe ettirilen IrhT 20-60-20 ve A-IrhT 20-60-60 (aşırı doygun formülasyon), CcsT 10-50-40 ve A-CcsT 10-50-40 (aşırı doygun formülasyon), toz aprepitant ve Emend® kapsül için gerçekleştirilen çözünme hızı testinin bulguları bulunmaktadır.

Emend® 80 mg kapsül içerisinde $215,4 \pm 3,5$ mg mikropellet bulunmaktadır. Dolayısı ile Emend® kapsülleri boşaltıldıktan sonra her bir kapsül içerisine 54 mg mikropellet doldurulup çözünme hızı testi gerçekleştirilmiştir.

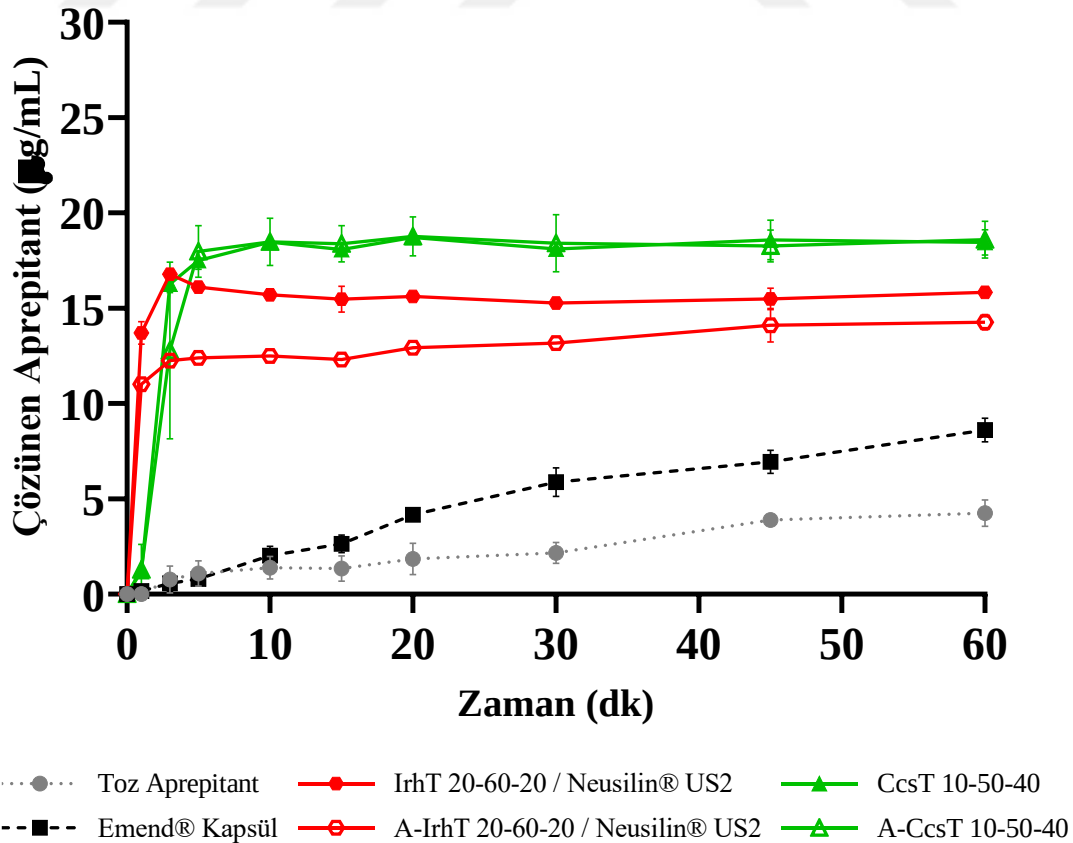


Formül / Zaman	1	3	5	10	15	20	30	45	60
Toz Aprepitant	4,1 ±0,3	4,8 ±0,8	4,8 ±0,1	5,8 ±0,1	7,3 ±0,7	8,2 ±0,8	12,3 ±2,7	12,9 ±0,1	13,8 ±0,1
Emend® kapsül	0,0 ±0,0	1,1 ±0,1	4,4 ±3,1	15,3 ±3,3	19,4 ±1,6	20,7 ±0,9	22,2 ±0,2	23,1 ±0,2	22,9 ±0,4
Irht 20-60-20 / Neusilin® US2	20,3 ±0,3	21,5 ±0,1	21,5 ±0,3	22,0 ±0,2	22,5 ±0,2	22,5 ±0,3	22,9 ±0,5	23,5 ±0,4	23,6 ±0,5
A-Irht 20-60-20 / Neusilin® US2	12,4 ±0,9	15,6 ±0,5	16,4 ±0,7	17,5 ±0,5	18,1 ±0,2	19,0 ±1,1	19,9 ±1,0	20,9 ±1,1	22,6 ±2,5
CcsT 10-50-40	0,0 ±0,0	3,1 ±1,9	17,9 ±1,1	20,6 ±0,3	21,5 ±0,2	21,8 ±0,5	22,5 ±0,3	23,2 ±0,3	23,5 ±0,4
A-CcsT 10-50-40	1,7 ±1,4	8,4 ±4,6	17,2 ±3,5	19,9 ±1,3	20,2 ±1,2	20,5 ±1,1	20,8 ±1,0	21,1 ±0,8	21,5 ±0,8

* 0,0 ±0,0 değerleri ilgili zaman noktasındaki konsantrasyonun LOQ altında kaldığını göstermektedir.

Şekil 4-39: %2,2 SLS içeren ortamda gerçekleştirilen çözünme hızı testi

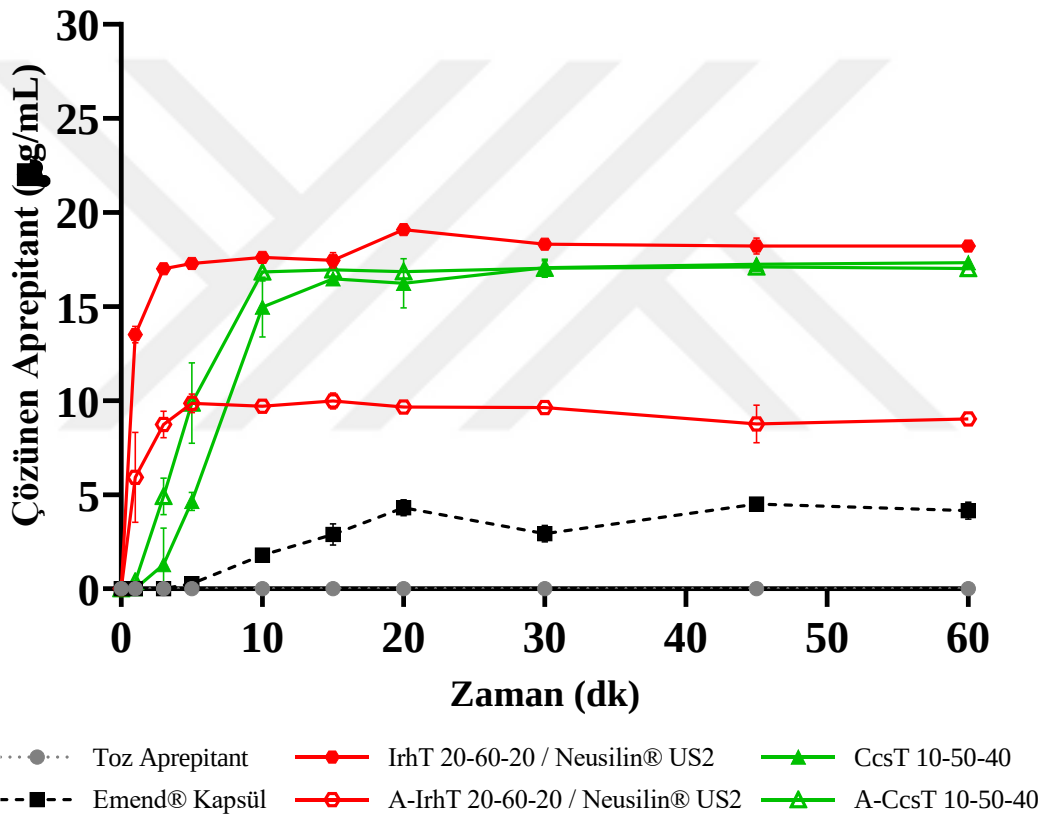
Şekil 4-39'daki bulgulara göre FDA metoduna göre gerçekleştirilen çalışmada 15 dakika sonunda toz aprepitant hariç her formülasyonda etkin maddenin %80'inden fazlasının salındığı görülmüştür. Toz aprepitantta bu oran ancak %33 olabilmıştır. Farklı fizyolojik pH değerlerindeki tampon çözeltilerde bu çalışma tekrarlanmıştır. pH 1,2 pH 4,5 ve pH 6,8'de gerçekleştirilen çözünme hızı çalışmalarına ait bulgular sırasıyla Şekil 4-40, Şekil 4-41, ve Şekil 4-42'de gösterilmiştir.



Formül / Zaman	1	3	5	10	15	20	30	45	60
Toz Aprepitant	0,0 ±0,0	0,8 ±0,7	1,1 ±0,7	1,4 ±0,6	1,3 ±0,7	1,9 ±0,8	2,2 ±0,5	3,9 ±0,3	4,3 ±0,7
Emend® kapsül	0,2 ±0,2	0,6 ±0,4	0,8 ±0,4	2,0 ±0,5	2,6 ±0,5	4,2 ±0,2	5,9 ±0,7	6,9 ±0,6	8,6 ±0,6
IrhT 20-60-20 / Neusilin® US2	13,7 ±0,6	16,8 ±0,3	16,1 ±0,1	15,7 ±0,1	15,5 ±0,7	15,6 ±0,3	15,3 ±0,3	15,5 ±0,6	15,8 ±0,1
A-IrhT 20-60-20 / Neusilin® US2	11,0 ±0,2	12,3 ±0,2	12,4 ±0,2	12,5 ±0,1	12,3 ±0,1	12,9 ±0,1	13,2 ±0,2	14,1 ±0,9	14,3 ±0,4
CcsT 10-50-40	1,2 ±1,4	16,3 ±0,5	17,5 ±0,5	18,5 ±0,1	18,1 ±0,3	18,7 ±0,3	18,1 ±0,2	18,6 ±1,0	18,4 ±0,7
A-CcsT 10-50-40	1,3 ±0,3	12,8 ±4,6	18,0 ±1,4	18,5 ±1,2	18,4 ±0,9	18,8 ±1,0	18,4 ±1,5	18,3 ±0,8	18,6 ±1,0

* 0,0 ±0,0 değerleri ilgili zaman noktasındaki konsantrasyonun LOQ altında kaldığını göstermektedir.

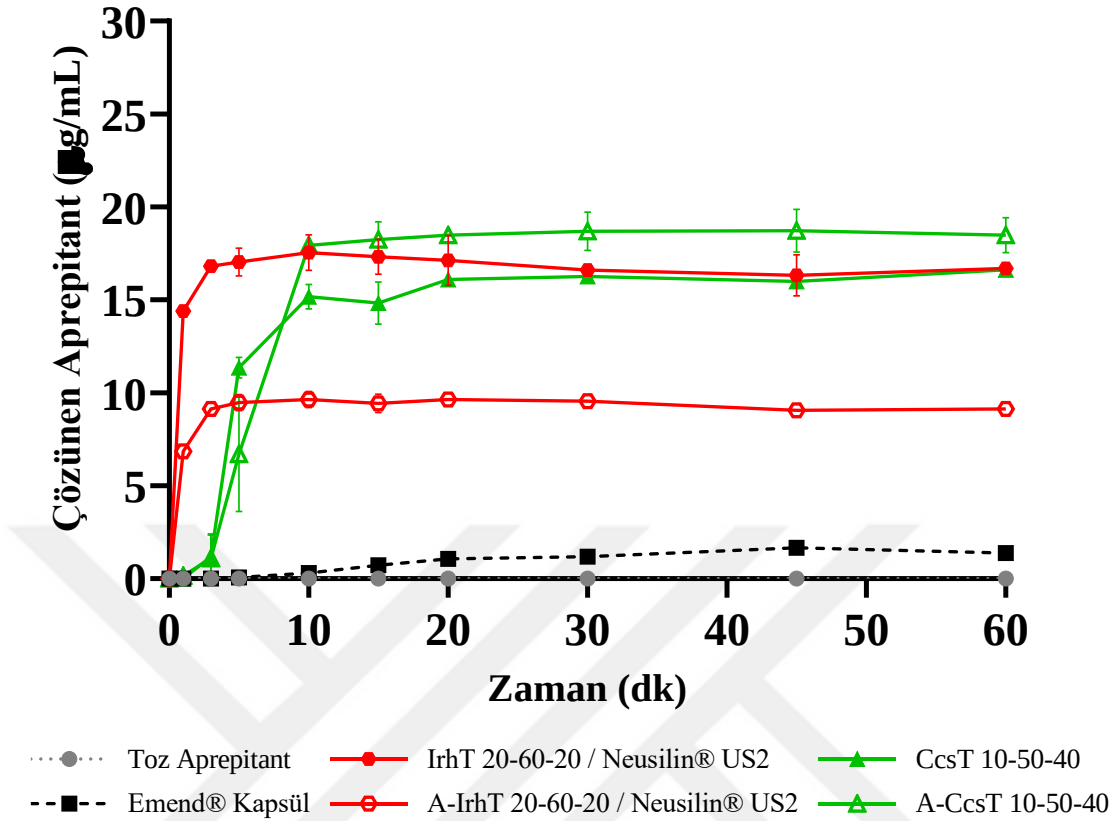
Şekil 4-40: pH 1,2 tampon ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı testi



Formül / Zaman	1	3	5	10	15	20	30	45	60
Toz Aprepitant	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0
Emend® kapsül	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,3 ±0,1	1,8 ±0,2	2,9 ±0,6	4,3 ±0,4	2,9 ±0,4	4,5 ±0,1	4,1 ±0,5
IrhT 20-60-20 / Neusilin® US2	13,5 ±0,4	17,0 ±0,1	17,3 ±0,1	17,6 ±0,1	17,5 ±0,4	19,1 ±0,3	18,3 ±0,2	18,2 ±0,4	18,2 ±0,1
A-IrhT 20-60-20 / Neusilin® US2	5,9 ±2,4	8,7 ±0,7	9,9 ±0,5	9,7 ±0,2	10,0 ±0,4	9,7 ±0,1	9,6 ±0,1	8,8 ±1,0	9,0 ±0,1
CcsT 10-50-40	0,0 ±0,0	1,3 ±1,9	4,6 ±0,5	15,0 ±1,6	16,5 ±0,1	16,2 ±1,3	17,1 ±0,4	17,2 ±0,3	17,3 ±0,1
A-CcsT 10-50-40	0,4 ±0,2	4,9 ±1,0	9,9 ±2,1	16,8 ±0,5	17,0 ±0,1	16,9 ±0,2	17,0 ±0,5	17,1 ±0,1	17,0 ±0,2

* 0,0 ±0,0 değerleri ilgili zaman noktasındaki konsantrasyonun LOQ altında kaldığını göstermektedir.

Şekil 4-41: pH 4,5 tampon ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı testi



Formül / Zaman	1	3	5	10	15	20	30	45	60
Toz Aprepitant	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0
Emend® kapsül	0,0 ±0,0	0,0 ±0,0	0,1 ±0,1	0,3 ±0,1	0,7 ±0,2	1,1 ±0,3	1,2 ±0,2	1,7 ±0,1	1,4 ±0,1
IrhT 20-60-20 / Neusilin® US2	14,4 ±0,1	16,8 ±0,4	17,0 ±0,8	17,5 ±1,0	17,3 ±1,0	17,1 ±1,3	16,6 ±0,3	16,3 ±1,1	16,7 ±0,4
A-IrhT 20-60-20 / Neusilin® US2	6,9 ±0,3	9,1 ±0,1	9,5 ±0,4	9,6 ±0,4	9,4 ±0,5	9,6 ±0,2	9,6 ±0,2	9,1 ±0,1	9,1 ±0,3
CcsT 10-50-40	0,0 ±0,0	1,2 ±1,2	11,4 ±0,6	15,2 ±0,7	14,8 ±1,1	16,1 ±0,1	16,3 ±0,4	16,0 ±0,1	16,6 ±0,4
A-CcsT 10-50-40	0,2 ±0,2	1,1 ±1,3	6,7 ±3,1	17,9 ±0,1	18,2 ±1,0	18,5 ±0,1	18,7 ±1,0	18,7 ±1,2	18,5 ±0,9

* 0,0 ±0,0 değerleri ilgili zaman noktasındaki konsantrasyonun LOQ altında kaldığını göstermektedir.

Şekil 4-42: pH 6,8 tampon ortamında gerçekleştirilen çözünme hızı testi

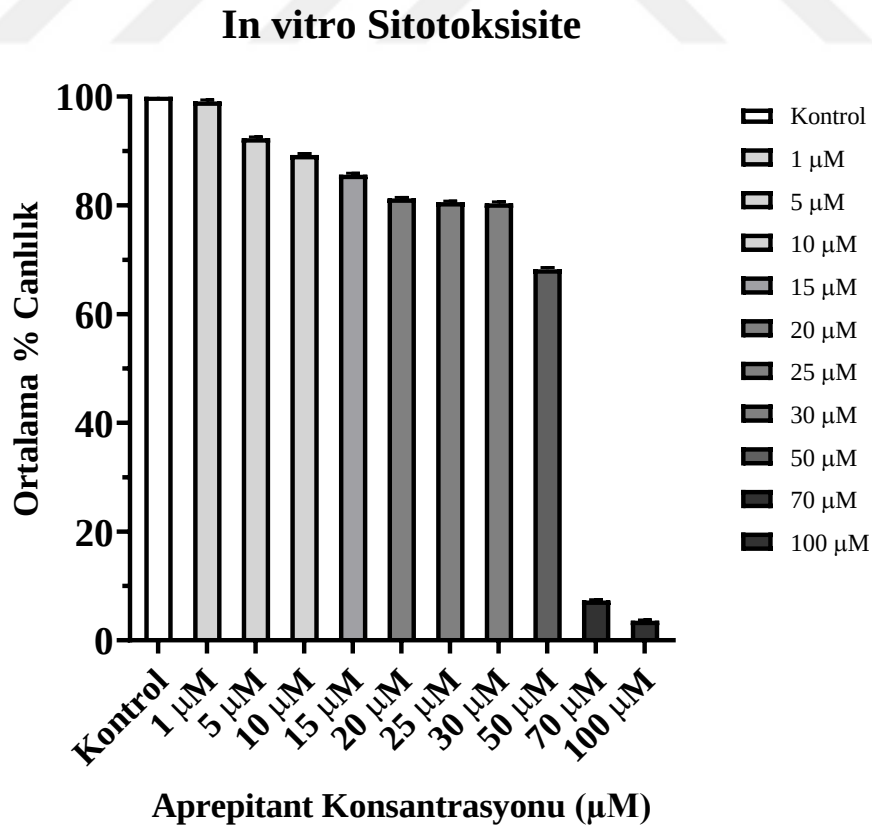
Çözünme hızı testinin gerçekleştirildiği ortamlarda, 15 ve 60 dakika sonunda ortalama çözünmüş aprepitant yüzdeleri (%Ç_{15dk} ve %Ç_{60dk}) Tablo 4-18'de özetlenmiştir. Tabloya göre asidik ortamdan bazik ortama gidildikçe toz aprepitant ve Emend® kapsülde çözünme hızında belirgin bir azalma görülmektedir. Bazı SNEDDS formülasyonlarında da azalma görülmekle birlikte bu durum toz aprepitant veya Emend® kapsülde olduğu kadar belirgin değildir. Bazı formülasyonlarda ise çözünme hızı ortamdan bağımsız aynı kalmayı başarmıştır.

Tablo 4-18: 15 ve 60 dakika sonunda ortalama çözünmüş aprepitant yüzdeleri

Formül / Ortam	%2,2 SLS		pH 1,2		pH 4,5		pH 6,8	
	%Ç _{15dk}	%Ç _{60dk}	%Ç _{15dk}	%Ç _{60dk}	%Ç _{15dk}	%Ç _{60dk}	%Ç _{15dk}	%Ç _{60dk}
Toz Aprepitant	32,9	62,1	5,9	19,4	-	-	-	-
Emend® kapsül	87,3	103,1	11,7	38,7	13,1	18,5	3,2	6,3
IrhT 20-60-20 / Neusilin® US2	101,3	106,2	69,8	71,1	78,8	81,9	77,9	75,2
A-IrhT 20-60-20 / Neusilin® US2	81,5	101,7	55,4	64,4	45,0	40,5	42,3	41,0
CcsT 10-50-40	96,8	105,8	81,5	82,8	74,3	77,9	66,6	74,7
A-CcsT 10-50-40	90,9	96,8	82,8	83,7	76,5	76,5	81,9	83,3

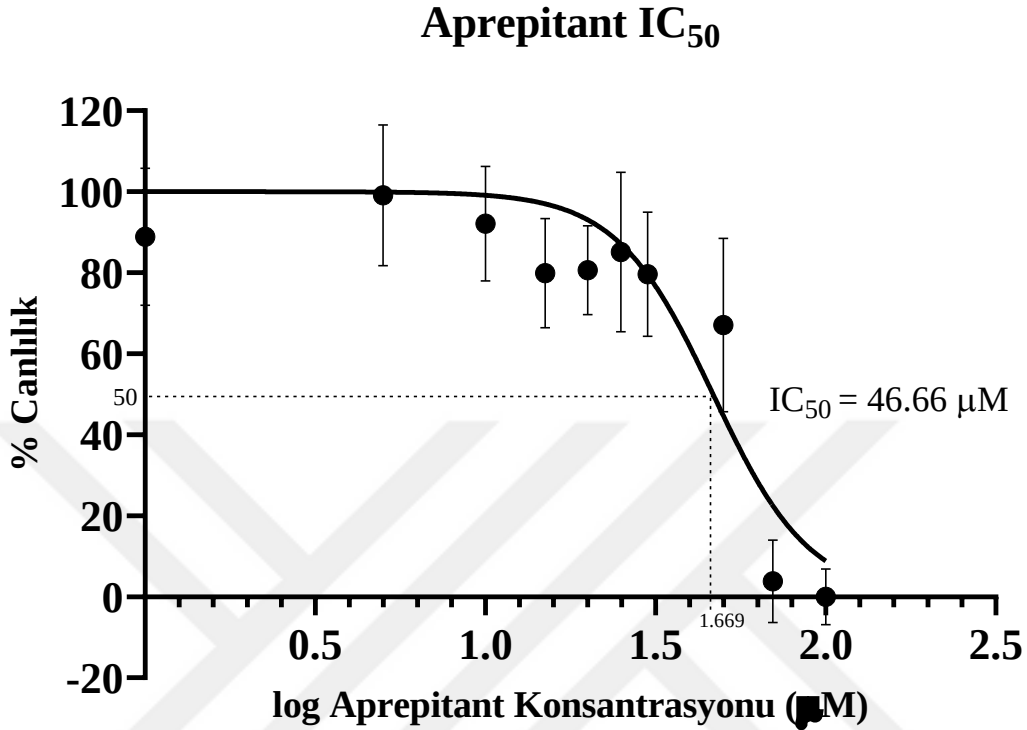
4.15. *İn vitro* Sitotoksosite Çalışması Bulguları

İn vitro sitotoksosite çalışmaları kapsamında ilk olarak aprepitantın Caco-2 hücre hattı üzerindeki toksisitesi belirlenmiştir. 1-100 µM arasında değişen konsantrasyonlarda aprepitant hücre hattına uygulanmış ve uygulama yapılmayan hücrelerin verdiği absorbands %100 canlı kabul edilerek % canlılık değerlerine geçiş yapılmıştır. Ortalama % canlılık değerleri Şekil 4-43'te gösterilmiştir.



Şekil 4-43: Farklı konsantrasyonlarda ortalama % canlılık değerleri

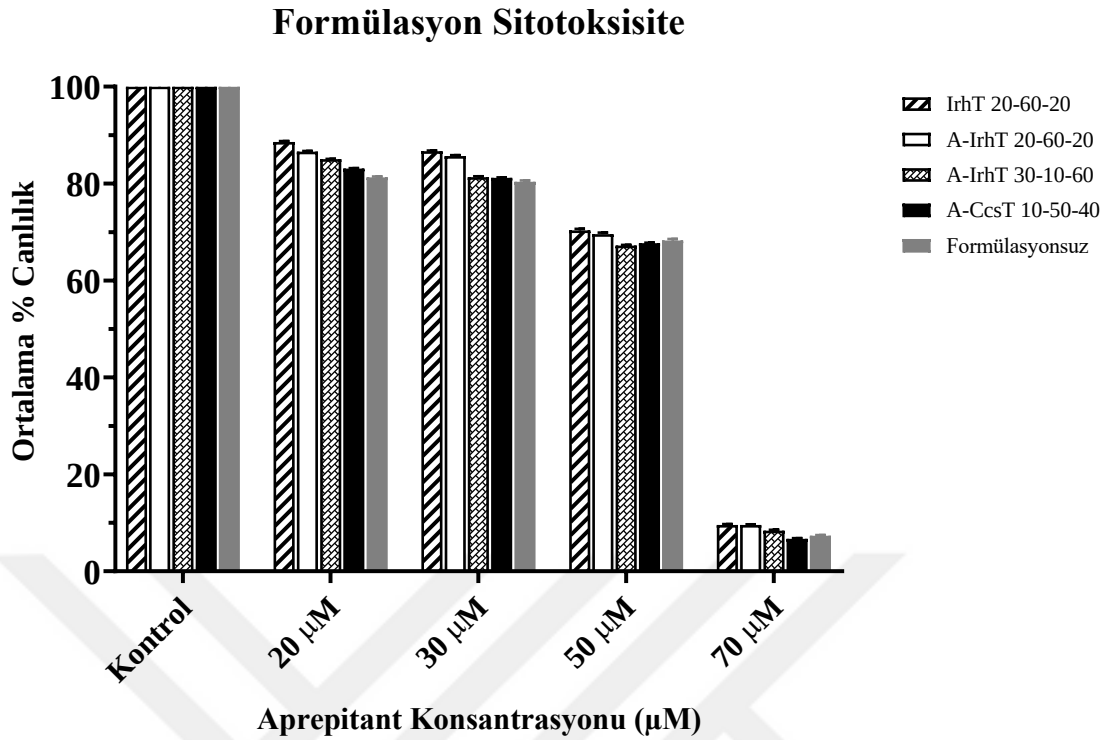
Aprepitant konsantrasyonunun logaritmasına karşılık ortalama % canlılık değeri grafiğe geçirilerek (Şekil 4-44) GraphPad programında nonlinear regresyon yapılmıştır.



Şekil 4-44: Aprepitantın Caco-2 hücre hattındaki IC₅₀ değeri

Gerçekleştirilen nonlinear regresyon verilerine göre %50 canlılık değerine gelen log konsantrasyon değeri GraphPad programı tarafından 1,669 µM olarak hesaplanmıştır. Bu değerden hareketle IC₅₀ değeri 46,66 µM bulunmuştur. Grafiğin Hill eğimi -3,059 olarak hesaplanmıştır.

Farklı formülasyonlarla tekrarlanan sitotoksosite sonuçlarından elde edilen bulgular Şekil 4-45'te gösterilmiştir. Test edilen tüm formülasyonlarda 30 µM ve altındaki konsantrasyonlarda %80'in üzerinde canlılık gözlenmiş olup bu formülasyonların Caco-2 hücre hattına göstermiş oldukları sitotoksistide anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p < 0,05$). Ayrıca aynı molar konsantrasyonda aprepitant içeren formülasyonlar ile formülasyonsuz aprepitant çözeltisi sitotoksiteleri de benzer % canlılık değerlerine sahip olduğu görülmüştür.



Şekil 4-45: Farklı formülasyonların Caco-2 hücre hattı üzerindeki sitotoksitesisi

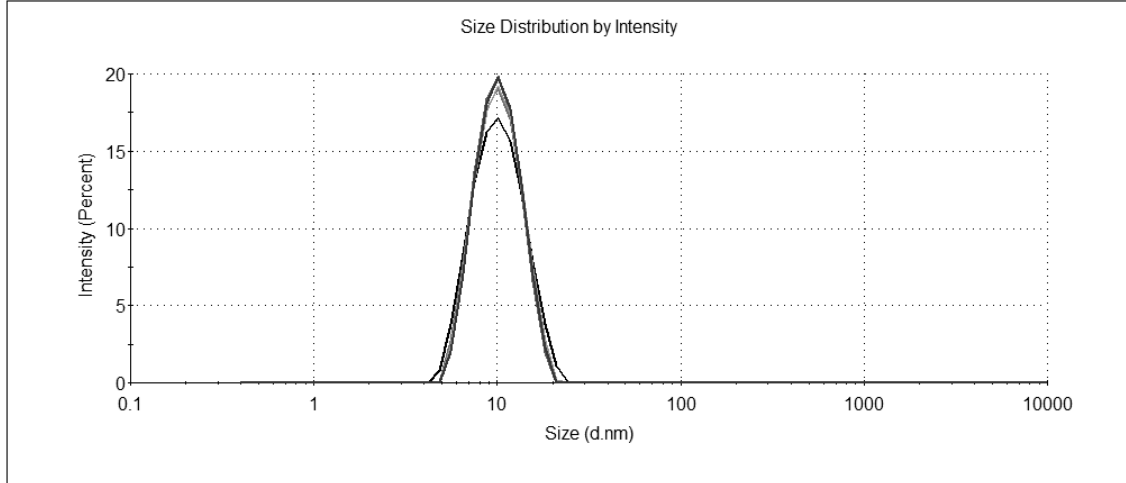
4.16. CcsT 10-50-40 ve A-CcsT 10-50-40 Formülasyonları Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları Bulguları

4.16.1. Seyreltme Sonrasında Oluşan Dağılımın Özelliği

CcsT 10-50-40 formülasyonu yöntemler bölümünde açıklandığı şekilde tüm maddeler karıştırılıp 60°C’de homojen hale gelene kadar karıştırılarak hazırlandığında ortalama damlacık boyutu 9,775 nm ve PDI değeri 0,056 olarak (Şekil 4-46) ölçülmüştür. Suda çözünen bileşenler olan Kolliphor® CS20 ve Transcutol® P suda çözülüp Capryol™ 90 sulu faza eklendiğinde bu değerler sırası ile 183,5 nm ve 0,293 olarak (Şekil 4-47) ölçülmüştür.

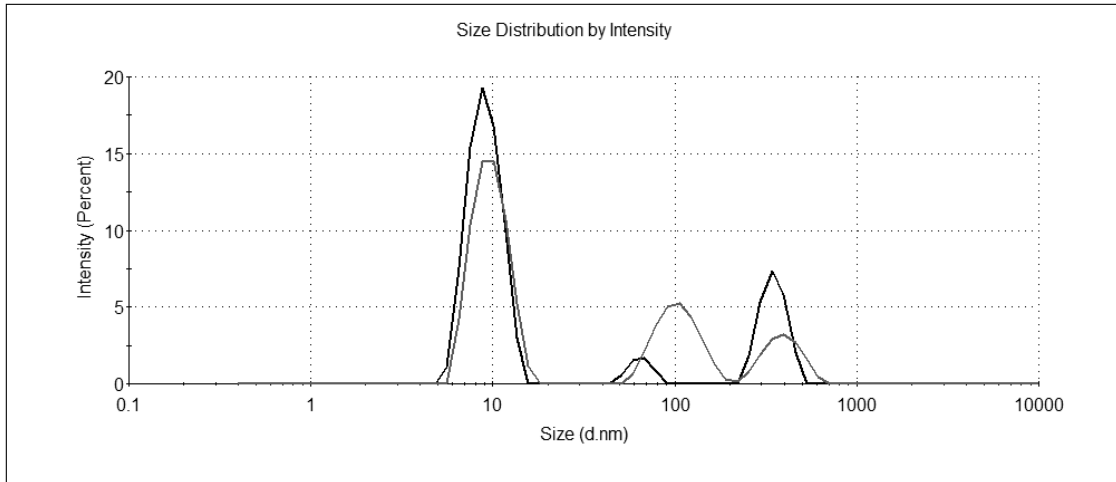
Boş A-CcsT 10-50-40 formülasyonu yöntemler bölümünde açıklandığı şekilde hazırlandığında damlacık boyutu 113,2 nm ve PDI değeri 0,199 olarak (Şekil 4-48) ölçülmüştür. Bu formülasyona 40 mg aprepitant yüklenmesiyle elde edilen formülasyonda bu değerler sırası ile 87,37 nm ve 0,148 olarak (Şekil 4-49) ölçülmüştür.

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 9,775	Peak 1: 10,46	100,0	2,831
Pdl: 0,056	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,909	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality : Good			



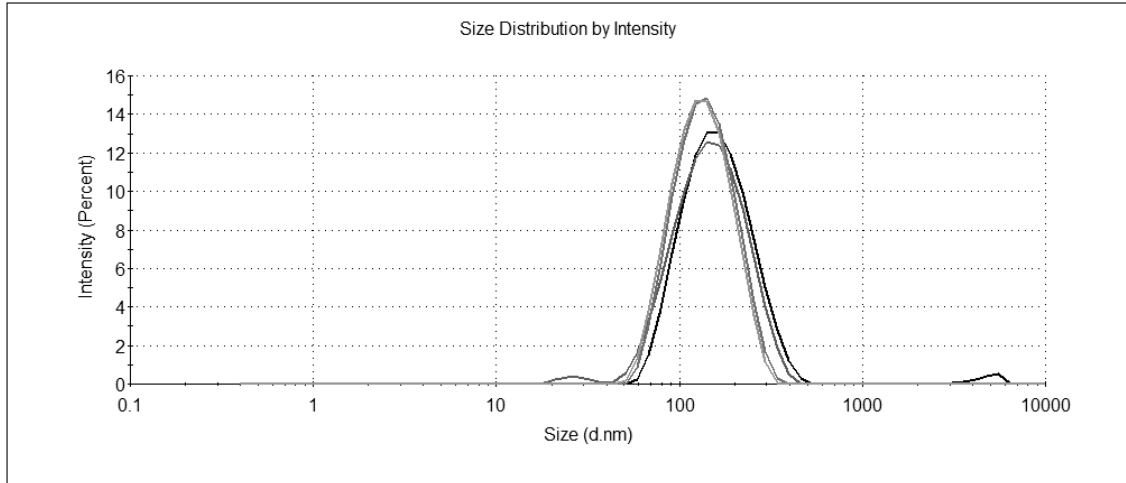
Şekil 4-46: CcsT 10-50-40 damlacık boyutu ve dağılımı (önceden karıştırılınca)

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 183,5	Peak 1: 9,769	60,5	2,106
Pdl: 0,293	Peak 2: 106,2	25,9	29,18
Intercept: 0,892	Peak 3: 395,8	13,7	89,33
Result quality : Refer to quality report			



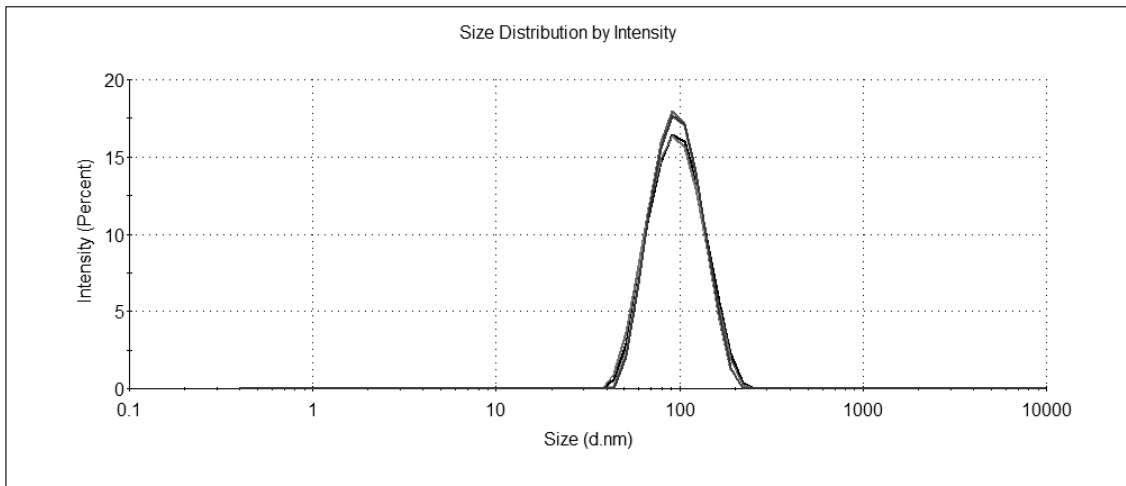
Şekil 4-47: CcsT 10-50-40 damlacık boyutu ve dağılımı (Capryol™ 90 sonradan eklenince)

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 113,2	Peak 1: 139,4	100,0	50,44
Pdl: 0,199	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,950	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality : Good			



Şekil 4-48: A-CcsT 10-50-40 damlacık boyutu ve dağılımı (boş)

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 87,37	Peak 1: 101,4	100,0	33,28
Pdl: 0,148	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,948	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality : Good			



Şekil 4-49: A-CcsT 10-50-40 damlacık boyutu ve dağılımı (aprepitant yüklü)

4.16.2. Formülasyonların % Transmittans Ölçümü Bulguları

Formülasyonların farklı ortamlarda gerçekleştirilmiş % transmittans ölçümü bulguları Tablo 4-19’da gösterilmiştir.

Tablo 4-19: Çeşitli seyreltme ve farklı ortamlarda ölçülmüş % transmittans değerleri

Formülasyon	Su	pH 1,2	pH 4,5	pH 6,8
A-CcsT 10-50-40 (boş)	99,99	99,90	89,12	99,66
A-CcsT 10-50-40 (40 mg)	98,93	99,32	96,75	94,21

4.16.3. Termodinamik Stabilité Çalışmaları Bulguları

A-CcsT 10-50-40 formülasyonunda gerçekleştirilmiş olan termodinamik stabilité çalışmaları sonucundaki görsel değışiklikler Tablo 4-20’de gösterilmiştir.

Tablo 4-20: Termodinamik stabilité çalışmaları sonucundaki görsel değışimler

Test	Sonuç
Santrifüj (4000 rpm)	Görsel değışim yok.
Isıtma (40°C) – Soğutma (4°C)	Görsel değışim yok.
Dondurma (-20°C) – Çözme (25°C)	Görsel değışim yok.

4.16.4. Emülsifikasyon Etkinliğı ve Süresi Tayini Bulguları

CcsT 10-50-40 formülasyonu 1 dakika içinde hızla emülsifiye olmuş ve tamamen şeffaf görünüşte bir dispersiyon oluşturmuştur. Emülsifikasyon etkinliğı değerlendirme sistemine göre A sınıfı bir dispersiyona işaret etmektedir.

A-CcsT 10-50-40 formülasyonu 2 dakika içinde emülsifiye olmuş ve daha az şeffaf ve mavimsi-beyaz görüntüye sahip bir dispersiyon oluşturmuştur. Emülsifikasyon etkinliğı değerlendirme sistemine göre B sınıfı bir dispersiyona işaret etmektedir.

4.16.5. Seyrelmeye Olan Dayanıklılık Tayini Bulguları

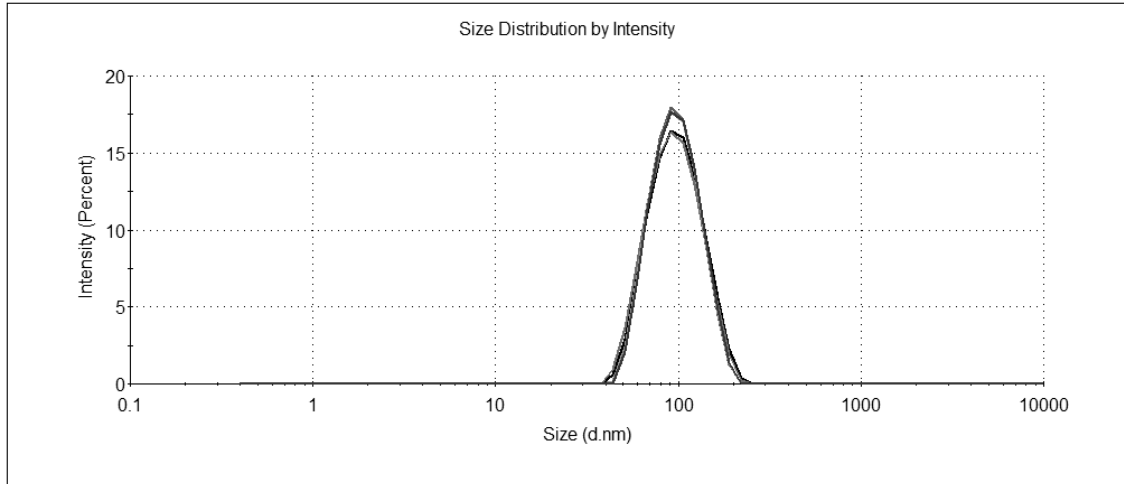
Aprepitant yüklü A-CcsT 10-50-40 formülasyonunun farklı ortamlarda seyrelmeye olan dayanıklılığını incelemek için damlacık boyutu, PDI ve zeta potansiyel ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bu ölçümlere ait bulgular Tablo 4-22’de gösterilmiştir.

Tablo 4-21: Çeşitli seyreltme ve farklı ortamlarda ölçülmüş parametreler

Ortam	Seyreltme	Boyut (nm)	PDI	ζ potansiyel (mV)
Su	1/50	104,9 ± 24,53	0,176	-1,57
	1/100	87,10 ± 15,85	0,157	-1,60
	1/500	81,31 ± 23,47	0,237	-4,10
	1/1000	86,17 ± 31,29	0,265	-3,46
pH 1,2	1/50	70,67 ± 12,31	0,145	3,06
	1/100	64,96 ± 12,42	0,149	4,90
	1/500	66,42 ± 15,42	0,205	5,39
	1/1000	69,74 ± 17,23	0,200	6,55
pH 4,5	1/50	106,5 ± 19,72	0,135	-0,14
	1/100	83,43 ± 15,18	0,140	-0,48
	1/500	92,02 ± 18,77	0,161	-0,69
	1/1000	78,34 ± 19,94	0,205	-0,38
pH 6,8	1/50	156,9 ± 42,59	0,212	0,22
	1/100	98,89 ± 18,04	0,140	-1,54
	1/500	90,43 ± 15,94	0,136	-1,93
	1/1000	101,6 ± 30,71	0,236	-3,89

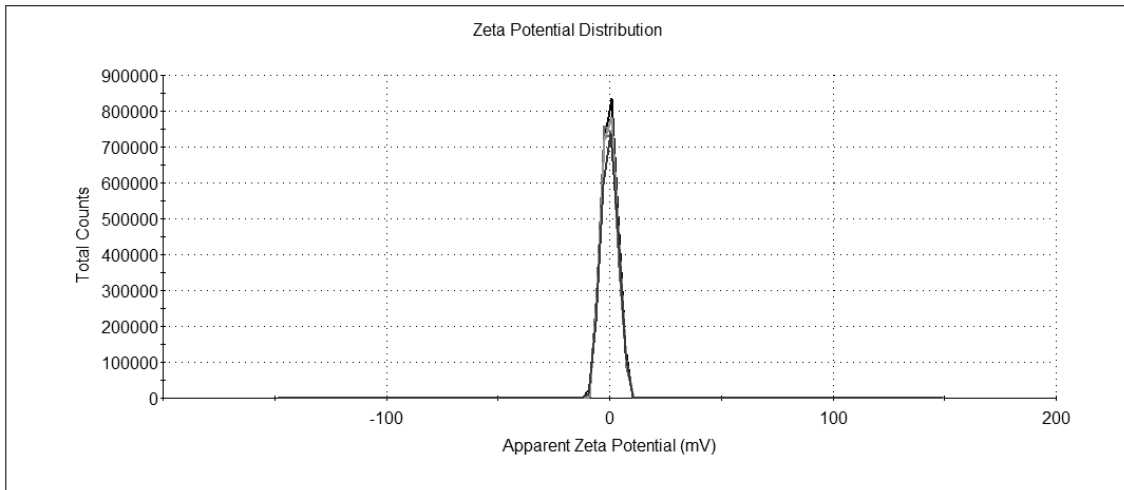
Aprepitant yüklü A-CcsT 10-50-40 formülasyonunun 1/100 oranda distile su ile seyreltilmesiyle elde edilen dispersiyonun damlacık boyutu, dağılımı ve zeta potansiyel ölçümleri sırasıyla Şekil 4-50 ve Şekil 4-51’de gösterilmiştir.

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
Z-Average (d.nm): 87,37	Peak 1: 101,4	100,0	33,28
Pdl: 0,148	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,948	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality : Good			



Şekil 4-50: A-CcsT 10-50-40 damlacık boyutu ve dağılımı (1/100 distile suda)

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -0,0325	Peak 1: -0,0325	100,0	3,62
Zeta Deviation (mV): 3,62	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,157	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality : See result quality report			



Şekil 4-51: A-CcsT 10-50-40 zeta potansiyel (1/100 distile suda)

4.16.6. Bulutlanma Noktası Ölçümü Bulguları

CcsT 10-50-40 formülasyonu ile gerçekleştirilen testte 70°C üzerine çıkıldığı halde dispersiyonda herhangi bir bulanıklaşma görülmemiştir. Bu formülasyona ağırlıkça %10 Soluplus® ilavesiyle hazırlanmış etkin maddesiz A-CcsT 10-50-40 formülasyonunda 40°C üzerinde bulanıklaşma görülmüştür. Etkin madde içeren formülasyonda da benzer şekilde 40°C üzerinde bulanıklaşma görülmüştür.

4.16.7. pH Ölçümü Bulguları

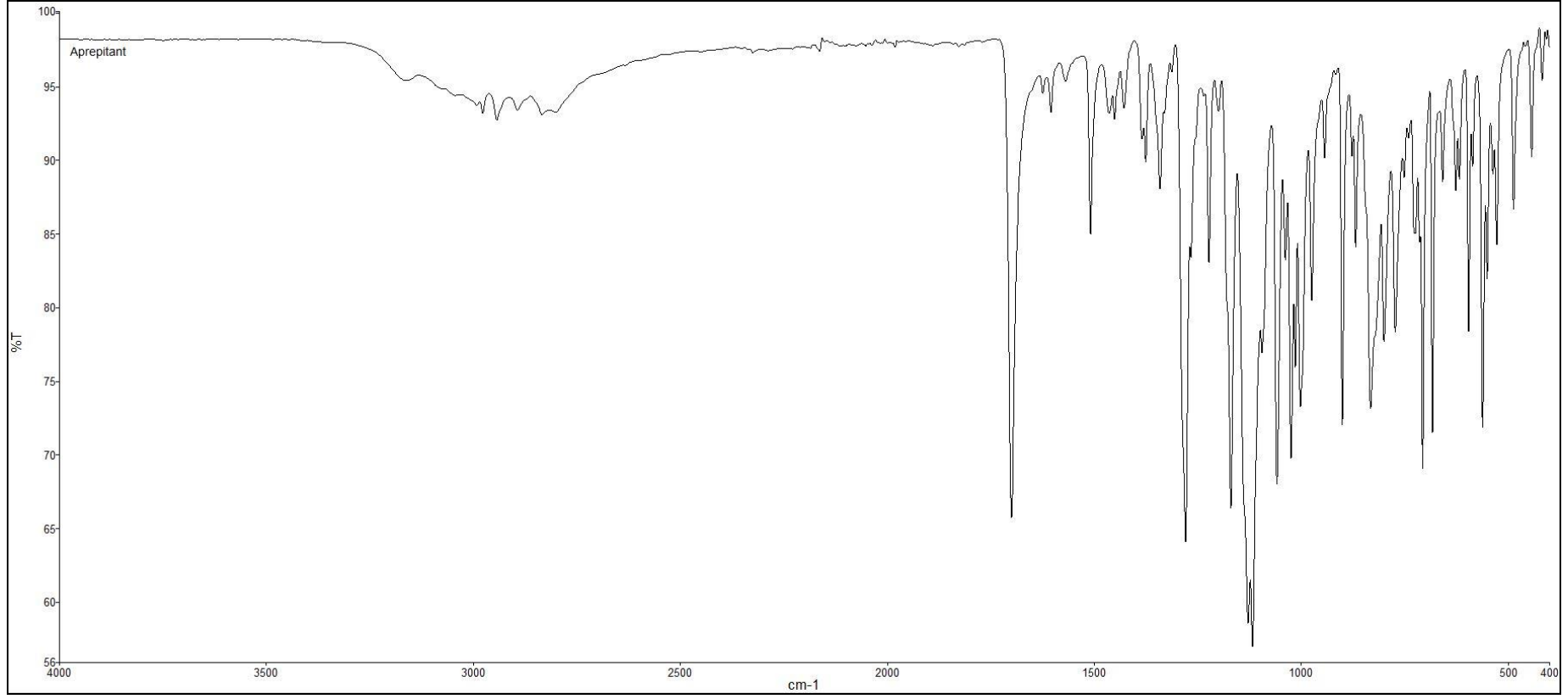
CcsT 10-50-40 formülasyonunun distile su ile 1/100 oranında seyreltildikten sonra oluşan dispersiyonun pH değeri 37°C'de $5,27 \pm 0,05$ olarak ölçülmüştür. Formülasyona ağırlıkça %10 Soluplus® ilavesiyle aynı koşullarda bu değer $4,12 \pm 0,03$ olarak ölçülmüştür. Bu formülasyona aprepitant yüklenmesiyle elde edilen dispersiyonun pH değeri ise $4,92 \pm 0,02$ olarak ölçülmüştür.

4.16.8. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FT-IR) Analizi Bulguları

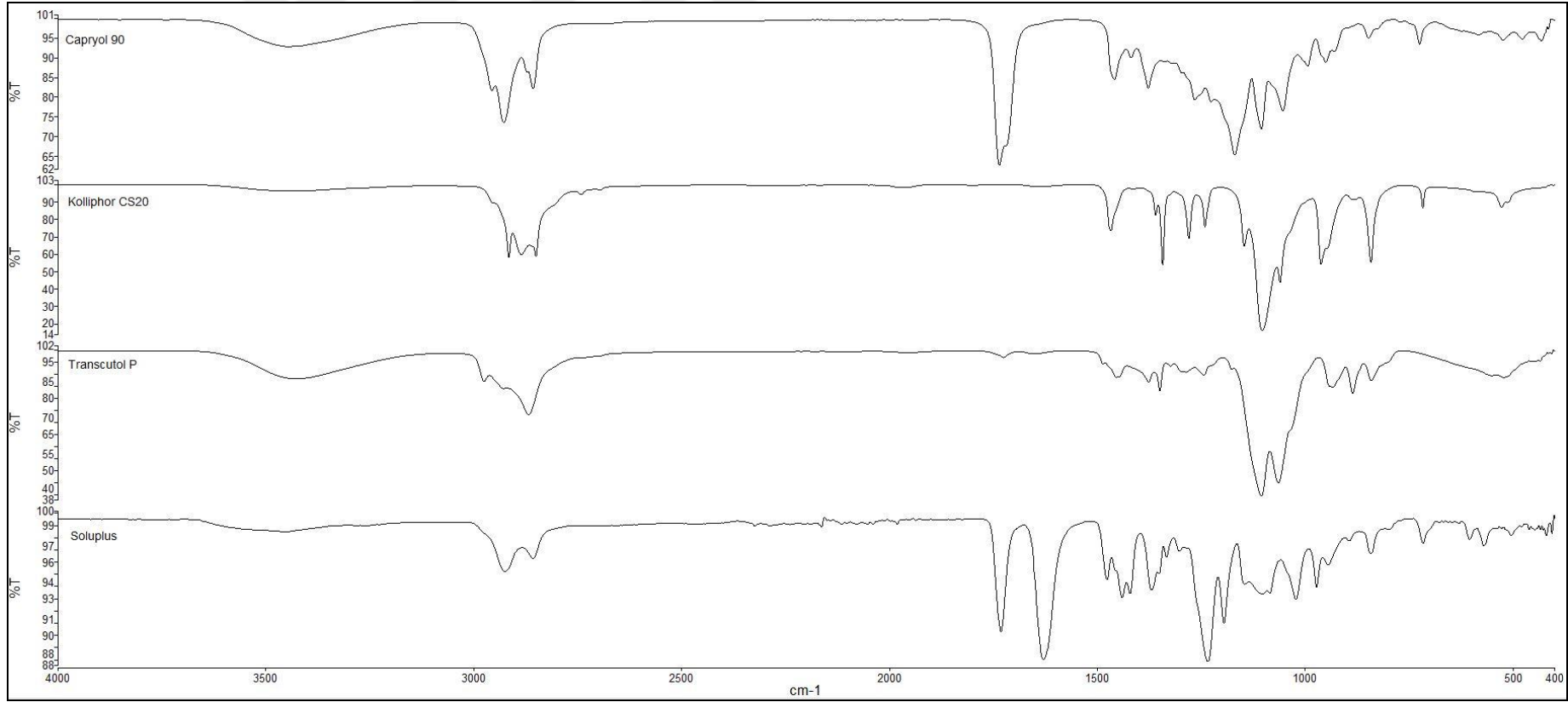
Tez süresince çalışılan toz aprepitantın (Şekil 4-52), optimize edilmiş A-CcsT 10-50-40 formülasyonunda kullanılan yardımcı maddelerin (Şekil 4-53), boş CcsT 10-50-40, A-CcsT 10-50-40 ve aprepitant yüklü A-CcsT 10-50-40 formülasyonunun (Şekil 4-54) FT-IR spektrumları sırasıyla gösterilmiştir.

Aprepitantın spektrumunda karakteristik pikler olarak 3159 cm^{-1} 'de N-H gerilimi, 1700 cm^{-1} 'de C=O gerilimi, 1605 cm^{-1} ve 1508 cm^{-1} 'de C=C gerilimi, 1279 cm^{-1} , 1170 cm^{-1} ve 1059 cm^{-1} 'de C-O gerilimi, 1128 cm^{-1} ve 1118 cm^{-1} 'de ise C-F gerilimi pikleri görülmüştür. (14, 17, 168)

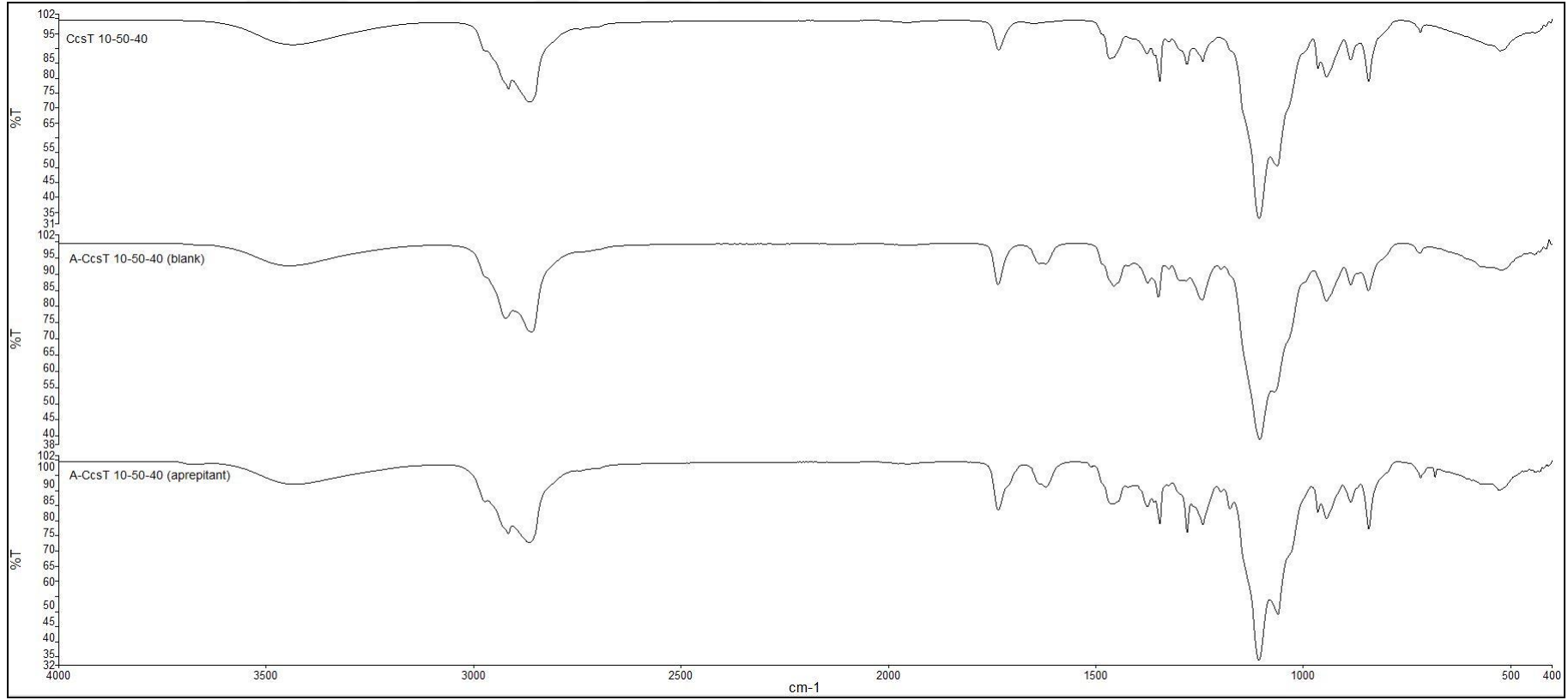
Yardımcı madde spektrumları incelendiğinde Capryol™ 90 spektrumunda 3443 cm^{-1} 'de O-H gerilimi, 2928 cm^{-1} ve 2857 cm^{-1} 'de alifatik C-H gerilimi, 1736 cm^{-1} 'de C=O gerilimi ve 1169 cm^{-1} 'de C-O gerilimi pikleri görülmüştür. Kolliphor® CS20 spektrumunda 2915 cm^{-1} , 2885 cm^{-1} ve 2850 cm^{-1} 'de alifatik C-H gerilimi ve 1103 cm^{-1} 'de C-O gerilimi pikleri görülmüştür. Transcutol® P spektrumunda 3429 cm^{-1} 'de O-H gerilimi, 2968 cm^{-1} 'de alifatik C-H gerilimi, 1105 cm^{-1} ve 1064 cm^{-1} 'de C-O gerilimi pikleri görülmüştür (169). Soluplus® spektrumunda 2925 cm^{-1} ve 2857 cm^{-1} 'de alifatik C-H gerilimi, 1732 cm^{-1} C=O (ester) gerilimi, 1630 cm^{-1} C=O (amit) gerilimi, 1234 cm^{-1} 'de C-O gerilimi pikleri görülmüştür (170).



Şekil 4-52: Aprepitantın FT-IR spektrumu



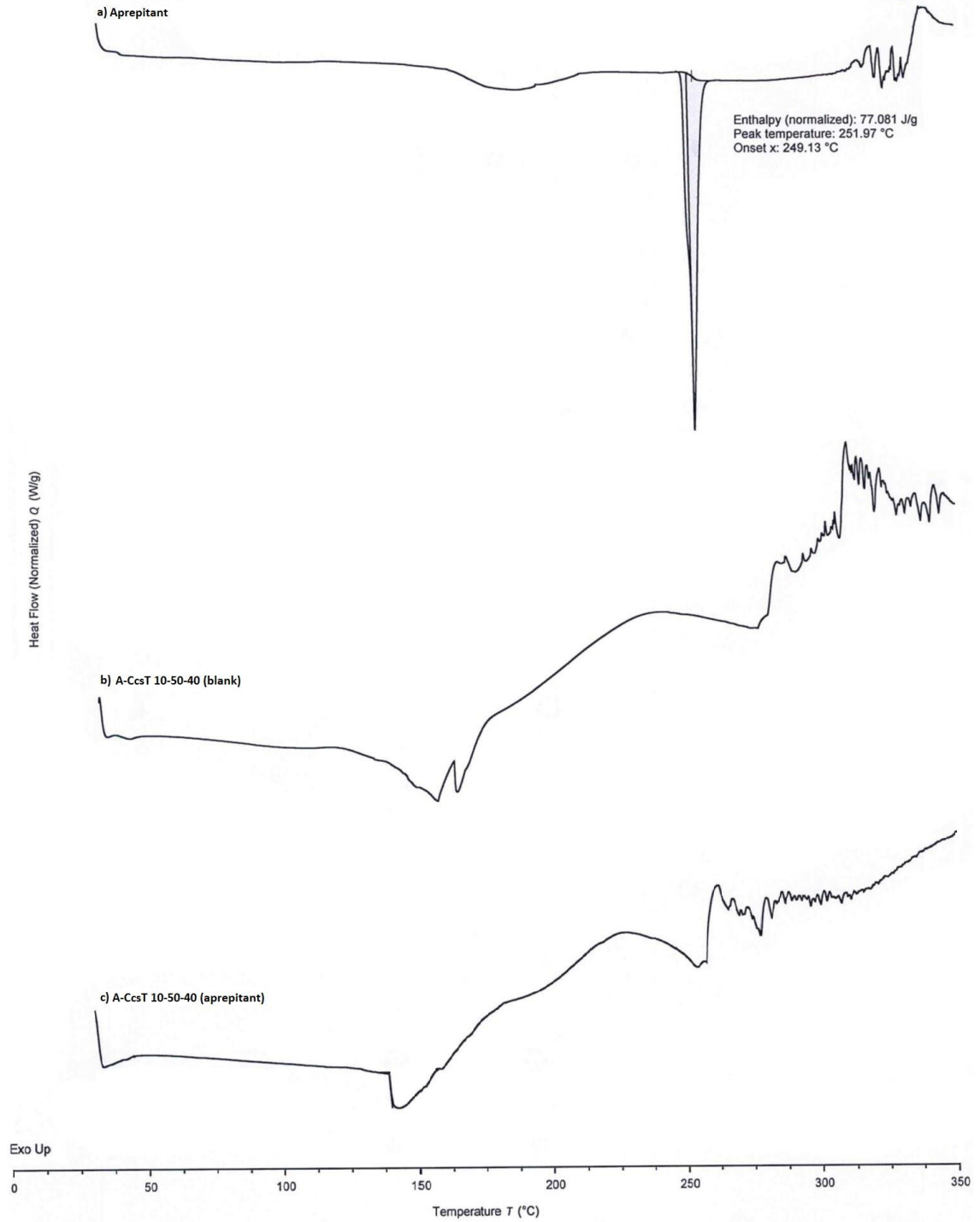
Şekil 4-53: A-CcsT formülasyonunda kullanılan yardımcı maddelerin FT-IR spektrumları



Şekil 4-54: Formülasyonların FT-IR spektrumları

4.16.9. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi Bulguları

Toz aprepitant, aprepitant içermeyen ve aprepitant yüklenmiş A-CcsT 10-50-40 formülasyonunun 30-350°C arasındaki DSC termogramları Şekil 4-55'te gösterilmiştir.



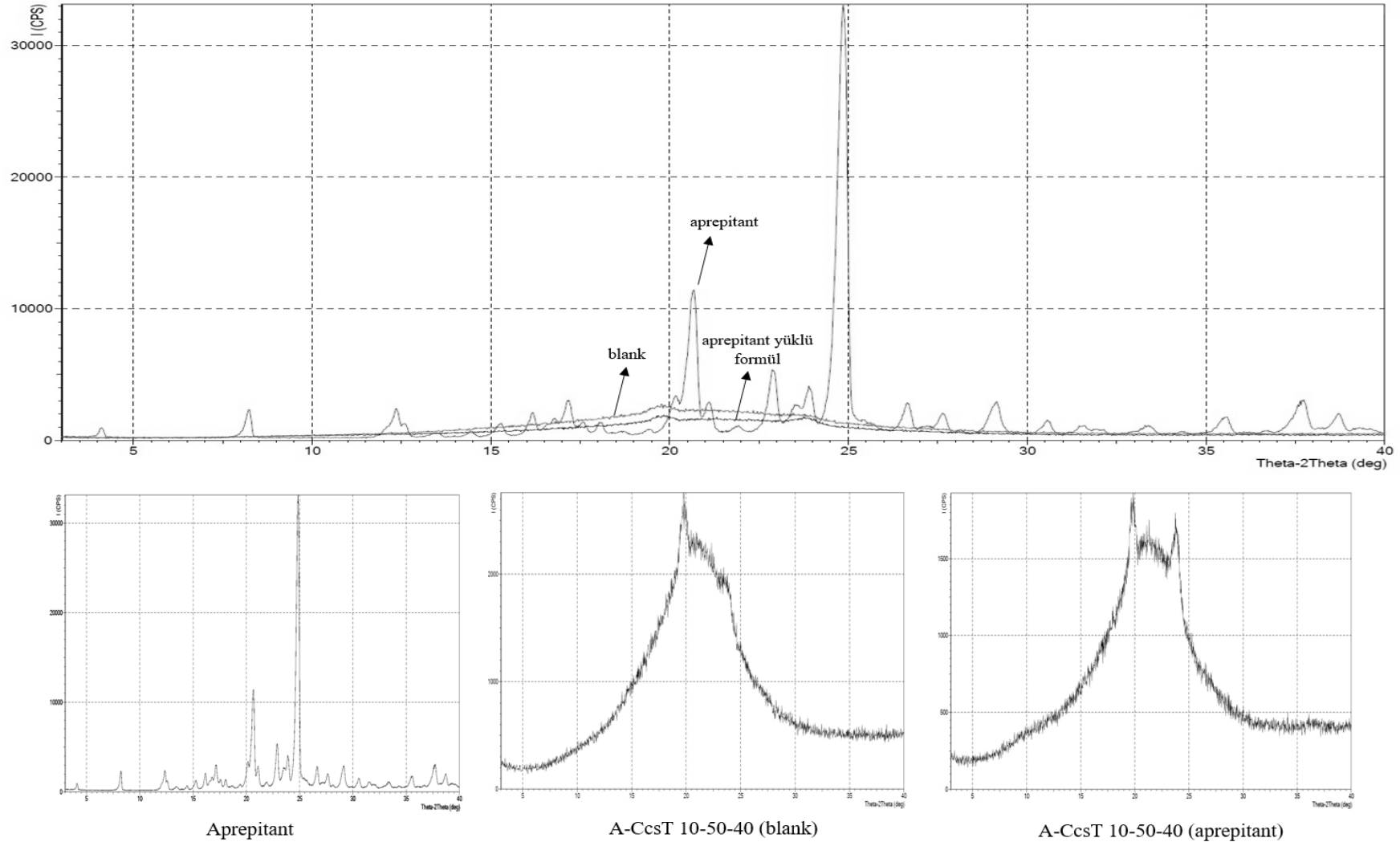
Şekil 4-55: Aprepitant, boş ve aprepitant yüklü formülasyonların DSC termogramları

Şekil 4-55'te sunulan termogramlarda yukarı pikler ekzotermik olayları (kristalizasyon, oksidasyon, dekompozisyon) aşağı pikler ise endotermik olayları (erime, buharlaşma, camsı geçiş) göstermektedir. Aprepitantın DSC termogramında 251,97°C'de (normalize entalpi 77,081 J/g) keskin bir endotermik pik görülmüştür. Bu sıcaklık aprepitantın erime derecesini ve tozun kristal yapıda olduğunu göstermektedir. Pikin keskinliği tozun yüksek saflıkta olduğunu düşündürmektedir. Boş veya aprepitant yüklü formülasyonda keskin bir erime piki görülmemiş olmakla birlikte 150°C ve 250°C civarlarında yayvan endotermik pikler görülmüştür. Yüksek sıcaklıklardaki ekzotermik olayların ise dekompozisyon kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

4.16.10. X-Işını Toz Kırınımı (XRPD) Analizi Bulguları

Toz aprepitant difraktogramında 2θ açıda 5°–60° aralığında keskin ve yoğun pikler görülmüştür. Bu durum aprepitantın kristal formda olduğunu göstermektedir (171). Aprepitant form I ve form II olmak üzere iki polimorfa sahiptir (172). Difraktogramda görülen piklerin yerlerinden tozun içerisindeki farklı polimorflar hakkında bilgi sahibi olmak mümkündür. Difraktogramın özellikle 15°–25° aralığından bu ayırım yapılabilir. Örneğin 20,9°–21,3° aralığında pik maksimumu yaklaşık 21,1°'de olan bir pik görülmesi toz karışım içerisinde form II kristalin olduğuna işaret etmektedir. Form I'de bu alanda herhangi bir pik görülmemektedir (173). Form I için 15,6°, 17,7° ve 22,2° form II için ise 18,3° ve 21,1°'de görülen pikler karakteristiktir. Literatürdeki XRPD sonuçlarını inceleyen Braun ve ark. aprepitant için form II'nin saf olarak elde edilemediğini ve her zaman toz karışımında önemli oranda form I bulunduğunu raporlamışlardır (174). Elde edilen difraktogram Sawant ve ark. patent dosyasında yer alan 6 nolu şekil ile oldukça benzerlik göstermektedir. Bu şekildeki toz karışımının ağırlıkça yaklaşık %69 form I ve %31 form II'den oluşmakta olduğu bildirilmiştir (175). Dolayısıyla tez kapsamında çalışılan tozun ağırlıklı olarak form I'den oluşan bir karışım olduğu düşünülmektedir.

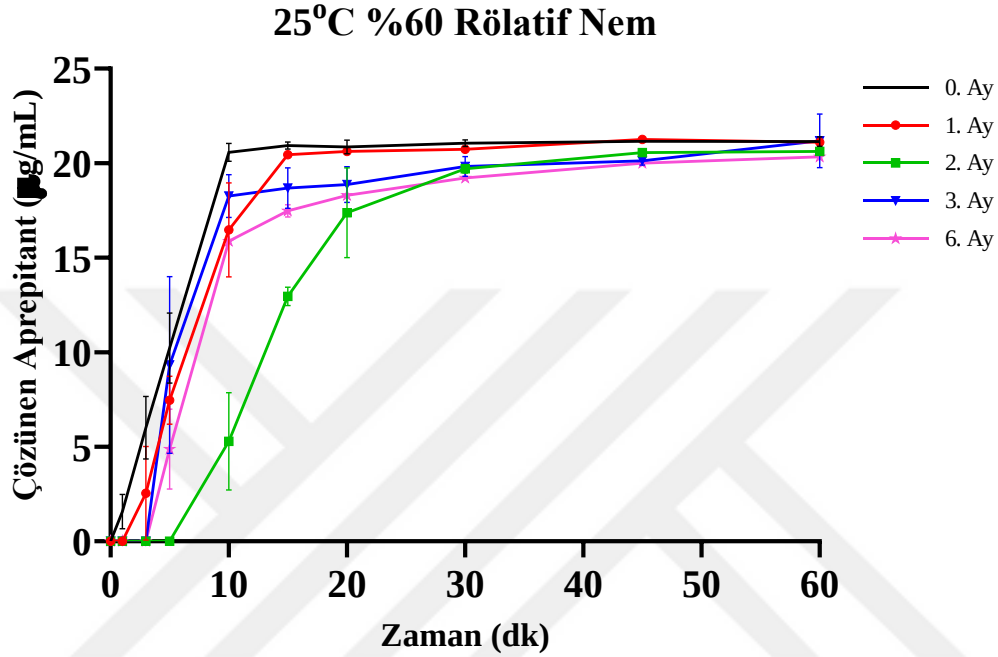
Boş A-CCsT 10-50-40 formülasyonu ve aprepitant yüklü formülasyonun difraktogramlarında keskin piklerin görülmemesi ve klasik “halo” deseninin görülmesi aprepitantın formülasyon içerisinde büyük çoğunlukla amorf formda bulunduğunu düşündürmektedir (171). Boş formülasyon difraktogramından farklı olarak formülasyon difraktogramında “halo” deseni üzerinde 25° (2θ) civarında görünen pik az miktarda kristal yapının da bulunduğuna işaret etmektedir.



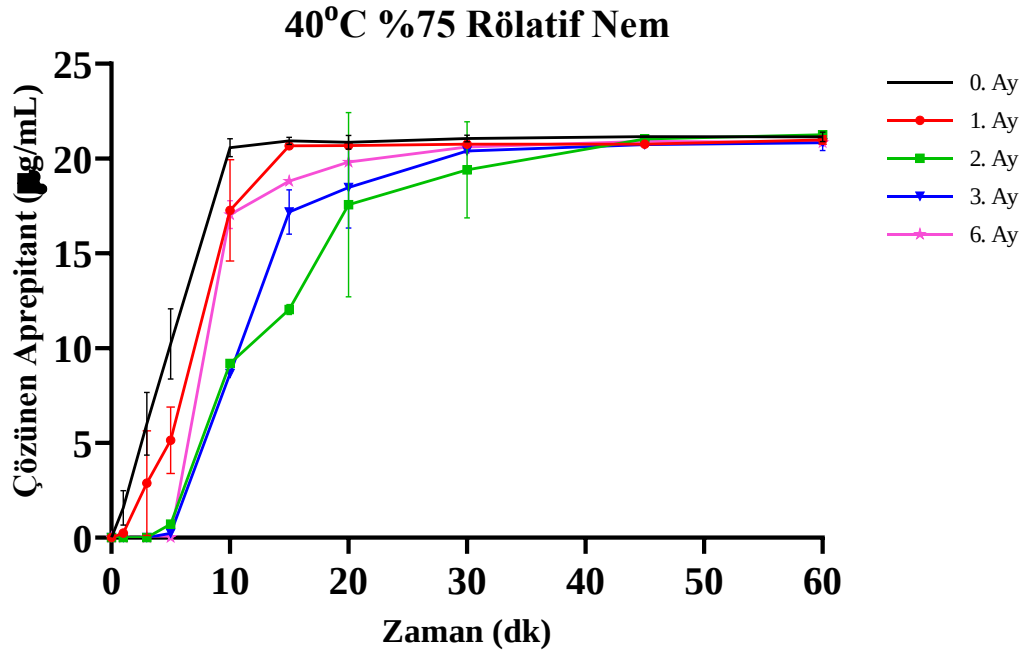
Şekil 4-56: Aprepitant, boş ve aprepitant yüklü formülasyonların XRPD difraktogramları

4.16.11. Uzun Dönem ve Hızlandırılmış Stabilité Çalışmaları Bulguları

Uzun dönem ve hızlandırılmış stabilite koşullarında bekletilen formülasyonlardan 0, 1, 2, 3 ve 6. aylarda alınan numunelerde gerçekleştirilen çözünme hızı testi sonuçları sırasıyla Şekil 4-57 ve Şekil 4-58’de gösterilmiştir.



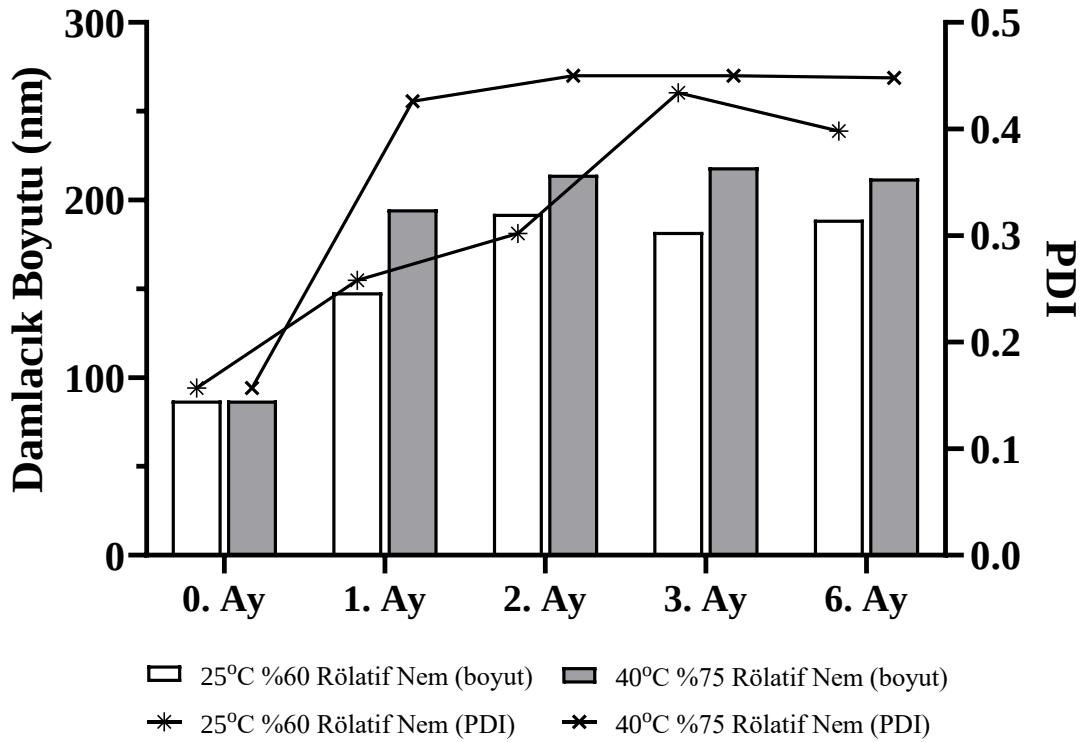
Şekil 4-57: 25°C ve %60 rölatif nemde tutulan formülasyonların çözünme hızı testleri



Şekil 4-58: 40°C ve %75 rölatif nemde tutulan formülasyonların çözünme hızı testleri

12. ay verileri için uzun dönem stabilite testi halen devam etmektedir. Stabilite çalışmalarının ilk 6 ayı sonucunda elde edilen bulgular incelendiğinde formülasyonların çözünme hızında belirgin bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Tüm zaman periyotlarında etkin maddenin %85'inden (Q+%5) fazlasının ilk 30 dakika içerisinde çözündüğü görülmüştür. Gözlenen değişikliklerin sert jelatin kapsüllerin dağılma süresi ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Jelatin kapsüllerin çözünme ortamında testin ilk 10 dakikasında açılıp formülasyonu ortama saldıgı görülmüştür. 37°C'de sıvı hale geçmiş formülasyon, kapsül bütünlüğünün bozulmasıyla çözünme ortamına kolayca dağılmış ve aprepatant hızla çözünmüştür. Çözünme süreci hızlı gerçekleştiğinden kapsüllerin açılma süreleri arasındaki birkaç dakikalık farklılığın çözünme hızı profilini kaydirdığı görülmüştür. Çözünme profillerindeki ötelenmenin aylardan bağımsız olarak rastgele gerçekleşmesi de bu durumun formülasyon kaynaklı olmaktan ziyade kapsül dağılma süresi ile ilgili olduğu fikrini desteklemektedir.

İki farklı stabilite koşullarında bekletilen formülasyonlar distile su ile 1/100 seyreltildikten sonra oluşan dispersiyonun damlacık boyutu incelenmiştir. Elde edilen bulgular Şekil 4-59'da gösterilmiştir.

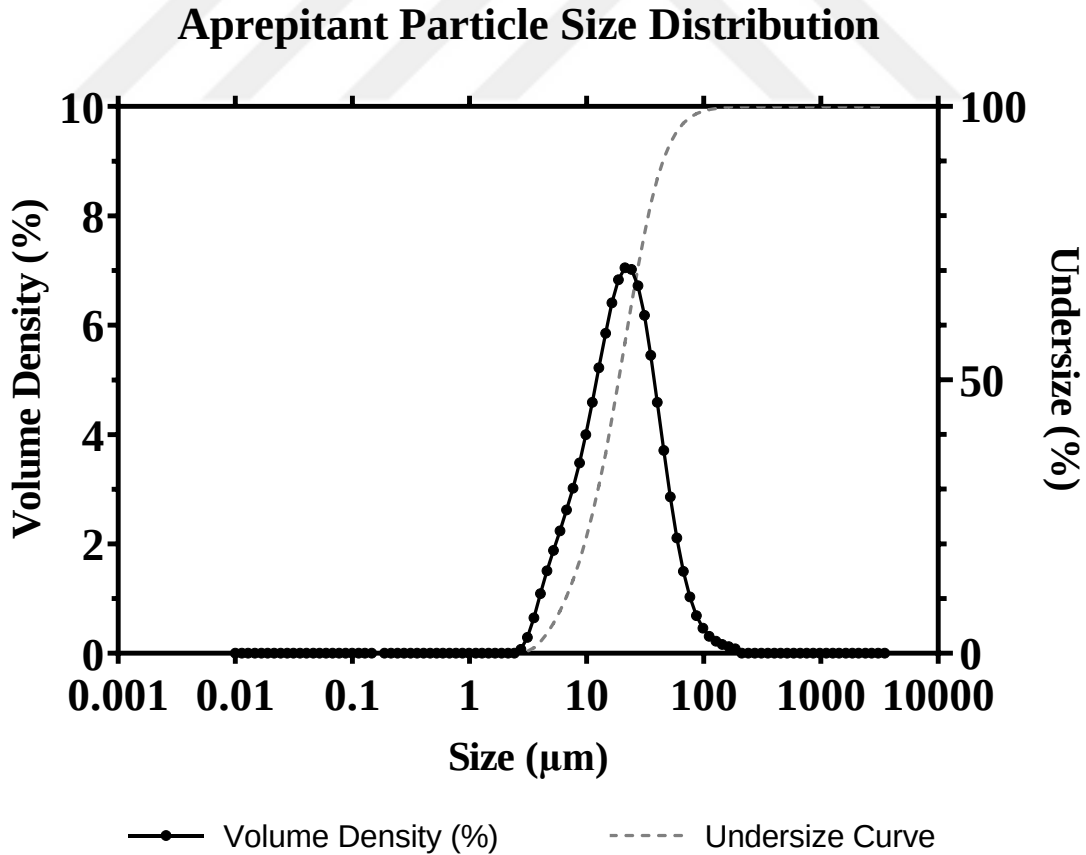


Şekil 4-59: Stabilite koşullarında elde edilen boyut ve PDI değişimi

Stabilite çalışmaları sonucunda hem damlacık boyutunda hem de PDI değerlerinde değişimler gözlenmiştir. Başlangıçta sırasıyla 100 nm ve 0,15 civarında olan boyut ve PDI değerleri, altıncı aya kadar 200 nm ve 0,45 civarına yükselmiştir. Değişim aylara göre düzenli şekilde gerçekleşmemiştir. Hızlandırılmış stabilite koşullarında bekletilen formülasyonların boyut ve PDI değerlerinde ilk ayın sonundan 6. ayın sonuna kadar olan sürede belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir. Uzun süreli stabilite koşullarında bekletilen formülasyonda 2. ay sonuna kadar damlacık boyutunda kademeli artı görülmüştür. 2. ay sonundan itibaren damlacık boyutunun 200 nm civarında sabit kaldığı görülmüştür.

4.17. Toz Aprepitantın Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Bulguları

Tez çalışması süresince kullanılan toz aprepitantın ortalama partikül boyutu ölçümü Malvern Mastersizer 3000 cihazı, Hydro MV yaş dispersiyon ünitesi aracılığı ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen partikül boyutu dağılımı grafiği Şekil 4-60'da gösterilmiştir.



Şekil 4-60: Toz aprepitantın partikül boyutu ve dağılımı

Toz aprepitantın partikül boyutu ve dağılımı ölçümleri lazer obscuration %5,19 seviyesindeyken gerçekleştirilmiştir. İnce partikül boyutuna sahip numunelerde yapılan yaş ölçümde %5-10 arası obscuration seviyesi uygundur. Hacimsel dağılım (Dv) şeklinde ifade edilen sonuçlara göre, Dv(10) değeri 7,51 µm, Dv(50) değeri 21,3 µm ve Dv(90) değeri 51,0 µm olarak bulunmuştur. Dv(10), Dv(50), Dv(90) değerleri sırasıyla numune hacminin %10, %50 ve %90'ına eşit veya daha küçük olan partikül boyutunu göstermektedir. Bu verilerden hareketle numunenin Span parametresi 2,042 olarak hesaplanmıştır. Yüzey alanı bazlı ortalama partikül çapı olan D[3,2] değeri 15,7 µm, hacim bazlı ortalama partikül çapı olan D[4,3] ise 26,6 µm olarak bulunmuştur. Toz numunenin spesifik yüzey alanı Mastersizer v3.81 programı tarafından 254,3 m²/kg olarak hesaplanmıştır.

4.18. *In vivo* Biyoyararlanım Çalışması Bulguları

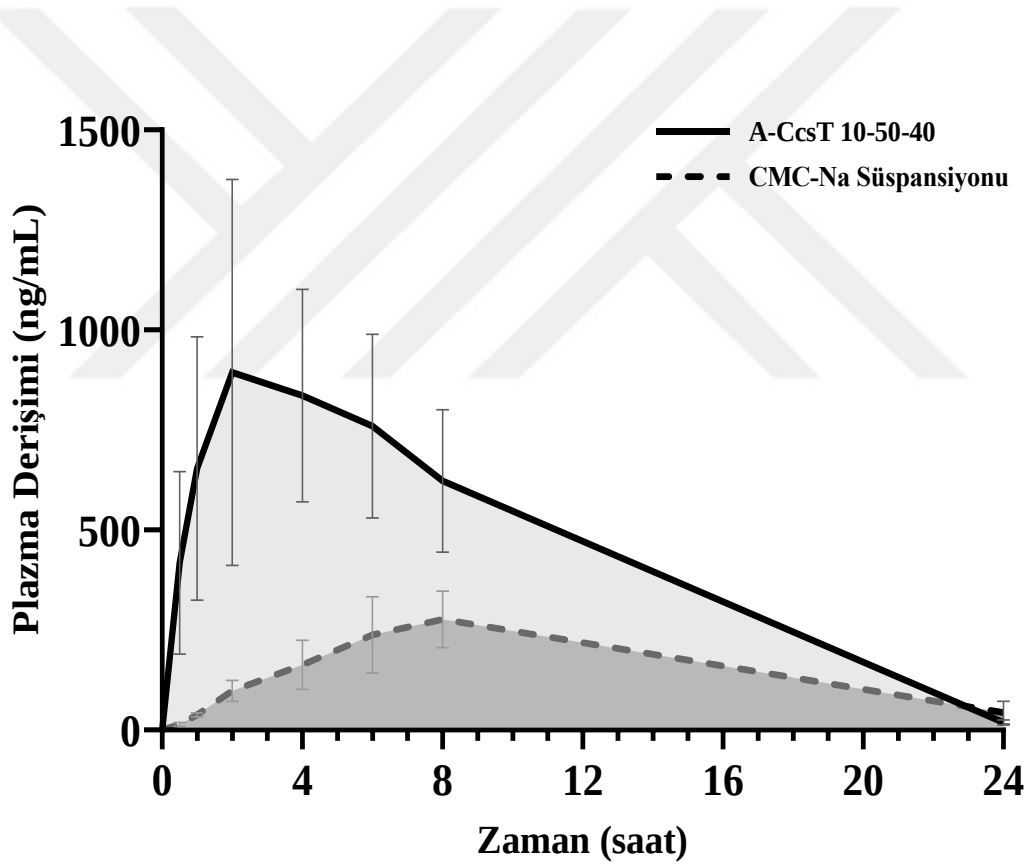
Yöntemler 3.2.18 bölümünde açıklandığı üzere gerçekleştirilen biyoyararlanım çalışmasında, süspansiyon ve formülasyon gruplarında bulunan sıçanlardan elde edilen plazmalardan, zaman karşı aprepitant plazma konsantrasyonu eğrileri çizilmiştir. Aprepitantın plazma konsantrasyonu tayininde kullanılan ikinci dereceden (quadratic) doğru denklemi $y = -9,024294 \cdot 10^{-7} x^2 + 0,004995x - 0,002475$ ($r^2 = 0,99992$) olarak bulunmuştur.

Süspansiyon grubunun 8. hayvanı ve formülasyon grubunun 3. hayvanı, bazı zaman noktalarında kan alınamadığından dolayı çalışmadan dışlanmışlardır. Bu hayvanlarda yöntemler bölümünde açıklanan farmakokinetik parametreler hesaplanamamış ve plazma konsantrasyonu eğrisi oluşturulurken de bu hayvanlar değerlendirme dışı tutulmuştur. Bu nedenle yapılan tüm hesaplamalar her iki grupta kalan 7'şer (n=7) hayvan üzerinden gerçekleştirilmiştir. Elde edilen plazma konsantrasyonu ve standart sapma değerleri Tablo 4-22'de ve eğrileri Şekil 4-61'de gösterilmiştir.

Tablo 4-22: Ortalama plazma konsantrasyonu verileri

Zaman (saat)	CMC-Na Süspansiyonu (ng/mL)	A-CcsT 10-50-40 (ng/mL)
0,5	13,51 ± 5,39	417,77 ± 228,34
1	37,68 ± 4,81	653,26 ± 329,62
2	97,68 ± 26,17	893,51 ± 482,61
4	162,96 ± 61,92	835,71 ± 265,70
6	237,75 ± 95,27	759,86 ± 229,53
8	276,27 ± 71,05	622,62 ± 178,41
24	43,32 ± 28,09	18,73 ± 6,11

* Ortalama ± standart sapma



Şekil 4-61: Zamana karşı aprepitant kan plazma konsantrasyonu eğrileri

* Ortalama ± standart sapma

Kontrol amacıyla bazı sıçanlardan 48. saatte de kan alınmış ve plazmalarındaki aprepitant miktarları analiz edilmiştir. Bazı sıçanlarda biyoanalitik metodun LOQ değeri altında kalındığından miktar tayini gerçekleştirilememiş, tayin edilebilenlerde ise

süspansiyon grubunda 4,94 ng/mL ve formülasyon grubunda 3,09 ng/mL gibi değerler bulunmuştur. Bazı hayvanlarda miktarların tayin edilememesi, tayin edilebilenlerin ise çok düşük olması sebebiyle çalışmanın 24. saatte sonlandırılmasının uygun olduğu görülmüştür.

İn vivo verilerin istatistiksel analizi eşleştirilmiş (paired) t-testi ile gerçekleştirilmiştir. D'Agostino-Pearson, Anderson-Darling test, Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov gibi normalite testlerinde p değeri 0,05'ten büyük olduğundan verilerin normal dağılıma sahip oldukları gösterilmiş ve parametrik test tercih edilmiştir. P değeri 0,0058 olarak bulunmuş ve 0,05'ten küçük olduğundan iki grup arasındaki farkın anlamlı olduğu kabul edilmiştir. A-CcsT 10-50-40 formülasyonunun CMC-Na süspansiyonu ile kıyaslandığında biyoyararlanımı istatistiksel açıdan anlamlı olacak şekilde artırdığı gösterilmiştir.

Yöntemler 3.2.18.3 bölümünde detaylı olarak açıklandığı üzere hesaplanan bazı önemli farmakokinetik parametreler Tablo 4-23'te verilmiştir.

Tablo 4-23: Hesaplanan bazı önemli farmakokinetik parametreler

Farmakokinetik Parametre	CMC-Na Süspansiyonu	A-CcsT 10-50-40 Formülasyonu
EAA _{0-tmaks} (ng.sa.mL ⁻¹)	1007 ± 206	1999 ± 831
EAA ₀₋₂₄ (ng.sa.mL ⁻¹)	3164 ± 386	8545 ± 2484
EAA _{0-∞} (ng.sa.mL ⁻¹)	3764 ± 709	8642 ± 2463
K _{ab} (sa ⁻¹)	0,2822 ± 0,0661	0,6635 ± 0,3107
t _{1/2 (ab)} (sa)	2,6 ± 0,6	1,2 ± 0,4
K _{el} (sa ⁻¹)	0,1367 ± 0,0447	0,2033 ± 0,0288
t _{1/2 (el)} (sa)	5,6 ± 2,0	3,5 ± 0,5
C _{maks} (ng.mL ⁻¹)	282,76 ± 75,36	958,24 ± 410,15
t _{maks} (sa)	7,1 ± 1,1	3,4 ± 1,9
T _{lag} (dk)	29 ± 7	4 ± 21
Ortalama Geçiş Süresi -MTT (sa)	11,6 ± 3,0	6,7 ± 0,7
Relatif Oral Biyoyararlanım	% 100	% 230

5. TARTIŞMA

5.1. Aprepitant Miktar Tayini Yöntemi

HPLC farmasötik endüstride konsantrasyonları bilinmeyen örneklerin miktarının tayininde en sık kullanılan yöntemlerdendir. Literatürde aprepitantın miktar tayinini gerçekleştirmek için kullanılan HPLC metotlarında organik faz olarak metanol veya asetonitrilin kullanılabildiği bildirilmiştir. Gerçekleştirilen denemelerde her iki çözücünün de kullanılmasının bazı avantajları ve dezavantajları olduğu görülmüştür. Aprepitantın maksimum absorbands gösterdiği dalgaboyu olan 210 nm, UV spektrumun alt sınırlarında bulunduğundan kullanılan organik çözücüler de belirli oranlarda absorbands gösterir. (Merck LiChrosolv® metanolün 225 nm’de absorbandsı $\leq 0,170$ olarak verilmiştir) Asetonitrilin UV cut-off değeri 190 nm olup, metanolün 205 nm olan değerine kıyasla daha düşüktür (176). Bu durum çalışılan 210 nm’de asetonitrilin metanole göre daha az ışık absorpladığını göstermekte olup asetonitrilin avantajıdır. Ancak ön denemeler sırasında analiz edilecek lipofilik yardımcı maddelerin metanolde daha kolay çözülüp seyreltilebildiği görülmüştür. Analizler sırasında yapılacak seyreltmelerin mobil faz ile gerçekleştirilmesi daha uygun olacağından organik faz olarak metanol tercih edilmiştir. Yağlarla çalışılırken özellikle çift faz oluşumuna dikkat edilmelidir. Bir örnek vialinde yağlı ve sulu kısım olmak üzere iki fazın oluşması HPLC şırıngasının çektiği örnekler arasında farklılıklar görülmesine ve miktar tayininde yüksek sapmalar olmasına neden olur.

Kullanılan HPLC yöntemi ICH Q2 (R1) kılavuzuna göre valide edilmiştir. Yöntemin özgünlüğü kör çözeltilerin sisteme analiz numuneleri ile birlikte verilerek test edilmiştir. Kör çözeltilerde aprepitant pikinin başlangıç ve bitiş noktaları arasında herhangi bir pik gözlenmemesi aprepitantın kolondan tek başına çıktığını ve dedektörde sadece aprepitant sinyalinin ölçüldüğünü göstermektedir. Rutin çalışmalar için analiz süresi 10 dakika olarak belirlenmiştir. Ancak özellikle lipofilik yağlı maddelerin çözünürlük çalışmaları gerçekleştirilirken iki analiz arası süre uzatılarak bu maddelerin kolondan tamamen çıkması sağlanmıştır. Böylece önceki analize ait piklerin sonraki kromatogramlara taşınması (hayalet pikler) önlenmiştir.

HPLC’ye 1-20 µg/mL aralığında 7 farklı standart çözelti verilmiş ve en küçük kareler yöntemine göre standart doğru çizilmiştir. Oluşan doğrunun r^2 değeri 0,9999

olarak bulunduğundan belirtilen konsantrasyon aralığında bu yöntemin doğrusal olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yine regresyon doğrusunun istatistiksel (ANOVA) sonuçlarına göre eksen kesim noktası ve eğim için p değerleri 0,05'ten küçük olarak bulunmuştur. Bu sonuca göre regresyon doğrusu eğim değerinin %95 olasılıkla sıfırdan farklı doğru olduğu gösterilmiştir. %95 güven aralığı limitleri içerisinde standart doğrunun tam ifadesi $y = (53793 \pm 680)x + (17444 \pm 7308)$ şeklindedir.

Doğrusallık sağlandıktan sonra yöntem kesinlik açısından incelenmiş hem gün içi hem de günler arasında gerçekleştirilen hesaplamalarda hesaplanan % bağıl standart sapma değerleri %2'nin altında kaldığı için yöntem gün içi ve günler arası kesinlik açısından valide edilmiştir.

Yüksek (20µg/mL), orta (7µg/mL), düşük (1µg/mL) olmak üzere 3 farklı konsantrasyonda yapılan doğruluk çalışmalarında hesaplanan % geri kazanım değeri $\%100 \pm 2$ arasında kaldığı için metot doğruluk açısından da valide edilmiştir.

Gerçekleştirilen stabilite çalışmalarında 48 saat boyunca yapılan ölçümlerde % bağıl standart sapma %2'yi geçmediği için aprepitantın mobil faz içinde en az 48 saat stabil kaldığı sonucuna varılmıştır.

Yönteme ait gerçekleştirilen sistem uygunluk testinde aynı çözeltiye ait alıkonma zamanı, pik yüksekliği, pik alanı, pik genişliği gibi çeşitli parametrelerin tekrarlanabilirlikleri ölçülmüştür. Bu parametrelerin değişkenliklerinin ölçüsü olarak % bağıl standart sapmaları hesaplanmış ve sapmaların düşük olduğu görülmüştür. Ayrıca HPLC yazılımı tarafından Amerikan Farmakopesi (USP) yöntemine göre hesaplanan teorik plaka sayısı 2000 değerinin üzerinde, kuyruklanma faktörü ise 2'nin altında bulunmuştur. 1,2 olarak bulunan kuyruklanma faktörüne göre aprepitant piki hafif düzeyde bir kuyruklanma göstermektedir. Sonuç olarak bu yöntem sistem uygunluk testinden başarıyla geçmiştir.

Son olarak analitik yöntemin LOD ve LOQ değerleri bulunmuştur. ICH kılavuzuna göre bu değerler analistin görsel değerlendirmesine bağlı olarak, sinyal/gürültü oranı baz alınarak veya regresyon doğrusundan hareketle bulunabilmektedir (145). Daha objektif olması açısından regresyon doğrusunun rezidüel standart sapmasından ve eğiminden hareketle sayısal metot kullanılarak hesaplama gerçekleştirilmiştir.

5.2. Aprepitantin Yardımcı Maddelerdeki Çözünürlük Çalışmaları

Yöntemler kısmında açıklanmış olduğu üzere gerçekleştirilen çalışmaların sonucunda, SNEDDS tipi formülasyonların bileşeni olabilecek çeşitli yardımcı maddelerde aprepitantın çözünürlük değerleri bulunmuştur. Elde edilen veriler aprepitantın ilgili maddelerdeki nihai çözünürlük değerleri olmayıp, 24 saat sonraki “görünür çözünürlük” (apparent solubility) değerlerini temsil etmektedir. Görünür çözünürlük bir çözücü sisteminde çözünen maddenin deneysel olarak belirlenmiş çözünürlüğü olup, geçici aşırı doygunluk, eksik çözünme, yetersiz süre gibi nedenlerden denge çözünürlüğünden (equilibrium solubility) daha yüksek veya daha düşük olabilir (177). Her çalışmada aynı yöntemin kullanılmasıyla 24 saat sonunda elde edilen konsantrasyonlar birbiri ile kıyaslanarak göreceli bir sonuç elde edilmek hedeflenmiştir. Bu aşamada tam olarak kesin termodinamik çözünürlük değerlerine ihtiyaç duyulmamakta, mevcut yardımcı maddelerin elenebilmesi için görünür çözünürlük yaklaşımı yeterli olmaktadır (178). Çözünürlük çalışmalarında yardımcı maddenin viskozitesi sonuca etki edebilmektedir (179). Elde edilen görünür çözünürlük bulgusu çalkalanma (karışma) güçlüğünden dolayı olduğundan az veya santrifüjde çöktürülme güçlüğünden dolayı olduğundan fazla çıkabilmektedir.

Bir etkin maddenin çözünürlüğü ve çözünme hızı, ilacın kimyasal yapısı, iyonize olabilen grupların varlığı, kristal formu ve partikül boyutu, formülasyon tipi, çözünme ortamının pH'ı gibi çeşitli faktörlerden etkilenir. pKa mide veya bağırsak gibi farklı fizyolojik ortamlarda ilacın farklı çözünürlük davranışı göstermesine neden olabilir. Örneğin zayıf bazik yapılı ilaçlar midede hızla çözünebilirken daha yüksek pH'lı bağırsak ortamında çökebilir. Ayrıca pH ile ilgili olmayan faktörler, örneğin safra tuzları ve lesitin gibi bağırsakta çözündürücü maddelerin varlığı, iyonize olmayan ilaçların suda çözünürlüğünü artırabilir (180).

Fizyolojik ortamda aprepitant çözünürlüğünü saptamak için tampon çözeltilerde yapılan çalışmalarda aprepitantın pH'ya bağımlı çözünürlük gösterdiği ve asidik ortamlarda daha yüksek çözünürlüğe sahip olduğu görülmüştür. Aprepitant zayıf bazik özellikte bir molekül olduğundan bu beklenen bir durumdur (181). Bazik yapılı ilaçlar asidik ortamlarda iyonize olurlar ve bu şekilde çözünürlükleri artar (182, 183). Aprepitantin 37°C'de, fizyolojik pH değerlerinde en iyi çözünürlüğe sahip olduğu ortam pH 1,2 (mide ortamı) olmuştur. Bu ortamda bulunan çözünürlük 15,6 µg/mL

(0,016 mg/mL) olup, bu değer aprepitantın düşük pH şartlarında bile pratik olarak çözünmediğini göstermektedir. Daha yüksek pH değerlerine çıkıldıkça aprepitantın çözünürlük değeri azalmış, pH 6,8 ve pH 7,4 ortamlarında HPLC'nin tespit limitinin altına düştüğünden tam olarak saptanamamıştır. Literatürde aprepitant suda pratik olarak çözünmeyen bir molekül olarak geçmekte olup, çözünürlük çalışması ile bulunan sonucun literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür (184).

Uygun bir SNEDDS formülasyonunun geliştirilebilmesi için aprepitantın seçilecek yardımcı maddeler içerisinde belirli miktarda çözünmesi gerekmektedir. Nihai formülasyon hazırlandığında bu formülasyonun içerisinde hedeflenen miktarda etkin maddenin çözünebilir olması gerekmektedir. Dolayısı ile yardımcı madde seçimi açısından önemli kriterlerden biri de etkin maddenin yardımcı maddelerdeki çözünürlüğüdür (4). Kosolvanlar arasında Transcutol® P'nin diğerlerinden oldukça yüksek miktarda etkin madde çözebilme yeteneğine sahip olması tez kapsamında üretilen formülasyonların bir çoğunda yer almasına neden olmuştur.

Transcutol® P suda çözünürlüğü düşük olan çok sayıda etkin madde için iyi bir çözücü olduğundan literatürde kosolvan veya doğrudan çözücü olarak sıklıkla kullanılan bir yardımcı maddedir. Literatürde mikroemülsiyon, nanoemülsiyon veya kendiliğinden emülsifiye olabilen çeşitli formülasyonların yapısında sıklıkla kullanılmaktadır (20, 113, 120, 185, 186).

SNEDDS tipi formülasyonlarda yüzey etkin maddelerin ve yardımcı yüzey etkin maddelerin seçiminde çözünürlükten çok emülsifikasyon etkinliği daha önemli bir rol oynamaktadır (187). Ancak benzer emülsifikasyon etkinliğine sahip yüzey etkin maddelerin hangisinin tercih edilebileceği konusunda çözünürlük verileri yardımcı olabilmektedir. Doğrudan yüzey etkin maddelerin içerisinde yapılan çözünürlük çalışmalarından elde edilen bulgular daha çok formülasyona yüklenebilecek aprepitant miktarı konusunda bir fikir elde edilmesini sağlar. Düşük çözünürlüğe sahip ilaçlar genellikle doğrudan yüzey etkin maddelerin içerisinde 20 mg/g'dan daha az bir çözünürlüğe sahiplerdir (188). Aprepitantın da bu genellemeye uyduğu çalışma bulgularından görülmektedir.

Literatürde doğrudan yüzey etkin maddenin içerisinde gerçekleştirilen çalışmalar olduğu gibi yüzey etkin maddenin sulu çözeltisi içerisinde yapılan çalışmalar da bulunmaktadır (189, 190). Bu çalışmalar yüzey etkin maddenin, aprepitantın ne

kadarını çözeltide tutulabileceği konusunda bilgi vermektedir. Yapılan çözünürlük çalışmaları aprepitantı en fazla çözebilen yüzey etkin maddenin, aprepitantı sulu çözeltide en fazla tutabilen yüzey etkin madde olmadığını açık bir şekilde göstermiştir. Hatta elde edilen bulgular aprepitantın en fazla çözündüğü yüzey etkin madde olan Labrasol®'ün, aprepitantı çözeltide tutma açısından en başarısız yüzey etkin madde olduğunu göstermektedir. Bu veriler formülasyonun *in vivo* ortamda seyrelmesini takiben etkin maddenin çökme oranlarını kıyaslamak için bir fikir vermektedir.

Yağlı maddelerle gerçekleştirilen çözünürlük çalışmaları sonucunda, orta zincir uzunluğundaki kısmi (parsiyel) gliseritler uzun zincirli doymamış türevleri ile kıyaslandığında, orta zincir uzunluğuna sahip olanların daha yüksek oranda aprepitant çözdüğü görülmüştür. Aprepitantın çözünürlüğü gliseritlerin zincir uzunluğu arttıkça azalmaktadır. Benzer durum propilen glikol esterleri için de geçerlidir. Orta veya uzun zincirli bitkisel trigliseritler gibi yüzey aktif özelliğe sahip olmayan yağlı maddelerin içerisinde aprepitant çözünürlüğünün oldukça düşük olduğu görülmüştür. SNEDDS tipi formülasyonların geliştirilmesinde sıklıkla kullanılan orta zincirli trigliseritler (MCTs) içerisinde aprepitantın oldukça az miktarda (0,3 mg/mL civarında) çözünebildiği görülmüştür. Aprepitant tuğla tozu (brick dust) benzeri bir molekül olduğundan orta zincirli trigliseritlerdeki çözünürlüğünün düşük olması beklenen bir sonuçtur (184). Yağlı maddeler ile yapılan çözünürlük çalışmasında, aprepitant çözünürlüğünün en yüksek olduğu madde Imwitor® 988 olarak bulunmuştur. Imwitor® 988 yapı olarak kaprilik (C₈) ve kaprik (C₁₀) asidin gliserol esteridir. Bu karışımın büyük kısmı (> %90) kaprilik asit ağırlıklıdır. Ester kısım da ağırlıklı olarak mono- (%47-57) ve digliserit (%20-50) fraksiyonundan oluşmaktadır. Trigliserit fraksiyonu %10'un altındadır (92). Mono- ve digliserit fraksiyonları tamamen esterleşmediğinden yüzey aktif özelliğe sahiptir ve çözünürlük açısından trigliseritlerden farklılık gösterir (61). Gliseritlerin polarite sıralaması monogliserit > digliserit > trigliserit şeklindedir. Gliseritler açısından incelendiğinde polarite arttıkça aprepitant çözünürlüğünün de arttığı görülmüştür. Tip II polar lipit olarak sınıflandırılan monogliseritler aprepitantın en çok çözündüğü yağlı madde grubu olmuştur (191). Aprepitantın erime sıcaklığın 150°C'nin oldukça üstünde olmasının, gliseritler içerisindeki çözünürlüğü kısıtlayan bir durum olduğu düşünülmektedir (163). Aprepitantın Imwitor® 988 içerisinde daha yüksek miktarda çözünmesinin nedeninin, yapısındaki mono- ve digliseritlerin yüzey aktif özellik göstermesi olduğu düşünülmektedir. Benzer durum kaprilik asitin monoesteri yapısında

olan Capryol™ 90 için de geçerlidir. Capryol™ 90 yüzey aktif özelliğe sahip, HLB'si 5 olan, asıl olarak yardımcı yüzey etkin madde fonksiyonu olan bir maddedir. Imwitor® 988'den sonra en fazla aprepitant Capryol™ 90'ın içerisinde çözünmüştür. Bu iki maddenin yağlı faz olarak kullanıldığı çok sayıda çalışma literatüre kayıtlıdır.

Uçucu yağlar içerik olarak çeşitli yağ asitlerinin trigliseritlerini bulunduran sabit yağlardan farklılık gösterir. Çok farklı bileşen içerebildikleri için genelleme yapmak zordur. Uçucu yağlar içerisinde en fazla aprepitant çözen madde nane yağı olmuştur. Bunu içerdiği yüksek orandaki mentol (%41) ve menton (%23) isimli maddelerin sağladığı düşünülmektedir. Uçucu olmak gibi bir dezavantaja sahip olması sebebiyle, özellikle de katı forma dönüştürülecek SNEDDS formüllerinde tercih edilmemesi daha uygun olacaktır (118). Bununla birlikte literatürde çeşitli uçucu yağların yağ fazı olarak kullanıldığı çok sayıda araştırma mevcuttur. Örneğin Balakumar ve ark. (192) tarçın yağı ile rosuvastatin kalsiyumun, AboulFotouh ve ark. (156) nane yağı ile kandesartan sileksetilin, Nazzal ve ark. (193) limon yağı ile ubikinonun SNEDDS formülasyonlarını hazırlamışlardır.

Oleik asit (C_{18:1}) yağ asidi yapısı nedeniyle zayıf bazik özellikteki maddeler için uygun bir çözücü olabilmektedir (194). Aprepitantın oleik asit içindeki çözünürlüğü 8,484 mg/mL olarak bulunmuş olup bu diğer maddeler ile kıyaslandığında ortalama bir değer ifade etmektedir. Aprepitantın uzun zincirli yağlar ile kıyaslandığında orta zincir uzunluğundaki yağlarda daha yüksek çözünürlük göstermesi oleik asitteki çözünürlüğünün beklenenden düşük olmasının sebebi olarak açıklanabilir.

Alskär ve ark. (163) suda az çözünen 35 farklı ilaç molekülünün lipid bazlı formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddeler içerisindeki çözünürlüklerini araştırmışlardır. Genel olarak ilaç çözünürlüklerinin kosolvanlar > yüzey etkin maddeler > orta zincirli trigliseritler (MCTs) > uzun zincirli trigliseritler (LCTs) şeklinde olduğunu bulmuşlar ve gliserit karışımlarının çözücü kapasitesinin trigliseritlere göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmanın bulguları ile tez kapsamında gerçekleştirilen çözünürlük çalışmalarının bulguları birbiri ile örtüşmektedir.

Sonuç olarak farklı özellikteki yağlı maddeler içerisinde aprepitant çözünürlüğünün 0,01-20 mg/mL arasında değiştiği görülmüştür. Tablo 3-3 referans alındığında, çalışılan maddeler içerisinde aprepitantın en iyi çözüldüğü yağlı maddede bile “biraz çözünür” olduğu görülmüştür. 4,8 gibi nispeten yüksek bir logP'ye sahip

olmasına rağmen yağlar içerisinde rahatça çözünmemesinin sebebinin maddenin sıkı kristal örgüsünden kaynaklandığı düşünülmektedir (191). Erime sıcaklığının (254°C) oldukça yüksek olması da aprepitantın kristal yapısının sıkılığını göstermektedir.

5.3. Yüzey Etkin Madde Seçimi Çalışmaları

ASTM (Uluslararası Amerikan Test ve Materyalleri Topluluğu) bulanıklığı (türbidite) ışığın bir numune boyunca düz çizgiler halinde iletilmek yerine, dağılmasına ve emilmesine neden olan, sıvının optik bir özelliği olarak tanımlamıştır. Bulanıklık ölçümleri türbidimetre denilen araçlar ile yapılır (195).

Tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen bulanıklık ölçümleri gerçek bulanıklık değerlerini bulmak amacıyla değil, seyreltilmiş formülasyonların sudaki bulanıklıklarının kıyaslanması amacı taşıdığından spektrofotometrede % transmitans ölçümleri yapılmıştır. % transmitansın azalması gelen ışığın numune tarafından daha fazla absorplandığı veya kırıldığını göstermekte, numunenin bulanıklığının arttığı anlamına gelmektedir. Kullanılan yardımcı maddelerin absorbans vermemesi için 1/1000 gibi yüksek oranda bir seyreltme uygulanmıştır.

Literatürde farklı amaçlar için 620-820 nm dalga boyları arasında türbidimetrik çalışmaların gerçekleştirilebildiği görülmektedir (196, 197). Çalışma, görünür bölgenin kızılötesi kısmına yakın 638,2 nm’de gerçekleştirilmiştir. Işığın dalga boyu damlacık boyutuna yaklaştıkça, nanoemülsiyonun ışığı daha belirgin olarak kırmaya başladığı bilinmektedir (198). Kullanılan bu yöntem ile çok sayıda yüzey etkin madde ve kosolvan arasından en uygun olabileceklerin seçimi hızlıca gerçekleştirilmiştir.

Imwitor[®] 988 için yapılan çalışmada en uygun yüzey etkin maddelerin HLB değerlerinin 14-16 aralığında olduğu görülmektedir. Benzer durum Capryol[™] 90 için de geçerlidir. Labrasol[®], Labrafil[®] ve Gelucire[®] çeşitleri gibi HLB değeri daha düşük olan yüzey etkin maddeler emülsifikasyon etkinliği açısından daha zayıf bir performans göstermiştir. Bulgulara göre emülsifikasyon etkinliği açısından üst sıralarda aynı yüzey etkin maddelerin yer aldığı görülmüş, dolayısı ile Imwitor[®] 988 ve Capryol[®] 90’ın emülsifikasyon özelliklerinin birbirine benzer olduğu düşünülmüştür.

Literatürde Imwitor[®] 988 ve Capryol[™] 90 ile yapılan çalışmalar incelendiğinde Deshmukh ve Kulkarni (199), Shazly ve Mohsin (200), Kazi ve ark. (201) Imwitor[®] 988 ile Cremophor[®] (Kolliphor) EL ve RH40’ı kullanarak çeşitli SNEDDS formülasyonları

geliştirmiştir. Capryol™ 90 ile yapılan çalışmalarda emülsifikasyon etkinliğinin yüksek olması nedeniyle genellikle yüzey etkin madde olarak Kolliphor® EL/ELP veya Kolliphor® RH40'ın tercih edildiği görülmüştür (202-205). Bu durumun yüzey etkin madde seçim çalışmalarının bulguları ile uyumlu olduğu görülmektedir.

5.4. Yardımcı Yüzey Etkin Madde ve Kosolvan Seçimi Çalışmaları

Yöntemler bölümünde açıklandığı üzere gerçekleştirilen çalışma sonucunda yağlı madde – yüzey etkin madde ikilileri için en uygun olabilecek yardımcı yüzey etkin maddeler veya kosolvanlar tespit edilmiştir. Imwitor® 988 – Kolliphor® CS20 ikilisi için test edilen yardımcı maddelerden hiçbirinin bulanıklığı azaltmadığı, aksine artırdıkları görülmüştür. Benzer bir durum Capryol™ 90 – Kolliphor® CS20 ikilisi için de geçerlidir. Diğer tüm yağ – yüzey etkin madde ikililerinde en az bir kaç yardımcı yüzey etkin maddenin veya kosolvanın bulanıklığı azalttığı görülmektedir. Yardımcı yüzey etkin madde veya kosolvan kullanımına bağlı olarak bulanıklığın azalması bu maddelerin emülsifikasyonu iyileştirdiği anlamına gelmektedir.

Yardımcı yüzey etkin madde ve kosolvan seçiminde kullanılabilecek iki farklı kriter bulunmakta olup bunlar emülsifikasyon etkinliği ve etkin madde çözünürlüğüdür. Eğer etkin madde yağın içerisinde yeterli miktarda çözünemiyorsa yüksek miktarda çözündüğü kosolvan tercih edilerek formülasyonun içerisine yüklenebilecek etkin madde miktarı artırılabilir. Burada göz önünde bulundurulması gereken nokta, yüzey etkin maddeler ve kosolvanlar etkin maddenin formülasyonda çözünmesine büyük ölçüde katkı sağlıyorsa, SNEDDS'in GI kanalda seyrelmesi çözücü kapasitenin azalmasına yol açacağından, etkin maddenin çökme riskinin oluşmasıdır (104).

Bulgular 4.5 başlığında açıklanan teorik hesaptan hareketle yardımcı yüzey etkin madde veya kosolvan seçiminde emülsifikasyon etkinliği baz alınırsa formülasyona yüklenebilecek aprepitant miktarı sınırlı olacaktır. Yükleme kapasitesinin yükseltilebilmesi amacıyla, test edilmiş tüm yardımcı maddeler içerisinde en fazla miktarda aprepitantı çözebilen Transcutol® P, emülsifikasyon etkinliğinden bağımsız olarak tüm formülasyonlarda kosolvan olarak seçilmiştir.

5.5. Üçgen Faz Diyagramı Çalışmaları

SNEDDS formülasyonlarının içerisinde kullanılacak yardımcı maddelerin birbiri ile karışabilirliği mutlaka araştırılmalıdır. Formülasyon içerisine koyulacak uygun

oranların bulunabilmesi için üçgen faz diyagramları oluşturulur. Faz diyagramlarının oluşturulması en az çözünürlük verileri kadar önemli bir aşamadır (178). Asıl olarak faz diyagramı terimi, termodinamik olarak kararlı bir mikroemülsiyon sisteminde olduğu gibi dengede olan farklı fazları ifade eder. Bu nedenle, üçgen faz diyagramları ortaya çıkan mikroemülsiyonun faz davranışını incelemek için oluşturulur. Nanoemülsiyonlar termodinamik olarak kararsız sistemler olduklarından aslında farklı fazlar arasında bir denge söz konusu değildir. Dolayısıyla bu çalışmada sadece bir nanoemülsiyon oluşumu ile sonuçlanabilen yağ, yüzey etkin madde, kosolvan oranlarını belirleyebilmek amacıyla faz diyagramları oluşturulmuştur (156).

Üçgen faz diyagramları iki farklı metot ile hazırlanabilir. İlk metot su ile titrasyon yöntemi olup, üçgen faz diyagramının iki köşesi birer maddeyi ve bir köşesi de suyu temsil eder (206). İki den fazla madde kullanıldığı zamanlarda birbiri ile karışabilen maddeler (örneğin yüzey etkin madde ile kosolvan) bir köşede gruplanabilir (194). Diğer bir metot sabit oranda su ile seyreltme yöntemidir. Çeşitli oranlarda karışımlar hazırlanarak, sabit oranda seyreltme yapılarak (1/50 veya 1/100 gibi) oluşan nanoemülsiyonun durumu incelenir (207). Her iki yöntemde de emülsiyon bölgeleri belirlenir. Üçgen faz diyagramlarına ek olarak, Box-Behnken tasarımları da SNEDDS formülasyonlarının bileşimlerini optimize etmek için kullanılabilmektedir (98).

Üçgen faz diyagramlarında elde edilen bölgeler sabit olmayıp çeşitli dış koşullara (pH, iyon konsantrasyonu, yüklenen etkin madde miktarı vb.) göre değişkenlik gösterebilmektedir. Örneğin Date ve Nagarsenker (149) ilacın (sefpodoksim proksetil) SNEDDS'lere dahil edilmesinin, sulu faz su olduğunda nano emülsifikasyon bölgesini azalttığını gözlemlemiştir. Bununla birlikte, sulu fazın pH'ı 1,2'ye değiştirildiğinde, nanoemülsiyon bölgesi ilacın pH'ya bağımlı çözünürlüğü nedeniyle artmıştır. Tez çalışmasında tüm üçgen faz diyagramları distile su ile seyreltme yapılarak hazırlanmıştır.

Üçgen faz diyagramlarından elde edilen bulgular incelendiğinde hem Imwitor® 988 hem de Capryol™ 90 için en geniş alanların Kolliphor® CS20 ile elde edildiği görülmüştür. Bu yüzey etkin maddenin kullanıldığı formülasyonlarda, %30 orana kadar yağ fazının emülsifiye edilebildiği ve üçgen faz diyagramlarında bulanıklık görülmeden su köşesine ulaşılabilirdiği gözlenmiştir. Kolliphor® RH40 ve Imwitor® 988 ile hazırlanmış formülasyonlarda da benzer durum olduğu görülmüştür. Kolliphor® ELP ve

Kolliphor® HS15 ile kullanılarak hazırlanan üçgen faz diyagramlarının alanlarının ve nanoemülsiyon bölgesinin daha küçük olduğu görülmüştür.

Üçgen faz diyagramlarının oluşturulmasında kullanılan dört farklı noniyonik yüzey etkin madde temelde hidrofilik polioksil yapısına sahiptir. Yapıları benzer olmakla birlikte moleküller zincir uzunlukları ve doymamış bağ içerikleri açısından farklılık göstermektedir. Örneğin Kolliphor® RH40 yapısında doymamış bağlar bulunmazken, Kolliphor® ELP doymamış bağlar içerir. Kolliphor® HS15 ise diğerleri ile kıyaslandığında daha az polioksil grubuna sahiptir. Elde edilen nanoemülsiyon alanlarındaki farklılığın sayılan bu yapısal farklılıklara bağlı olduğu düşünülmektedir.

Yüzey etkin madde : kosolvan (S_{mix}) oranının üçgen faz diyagramı alanına etkisi formülasyonda kullanılan yardımcı maddelere göre değişkenlik göstermektedir. Örneğin Kolliphor® CS20 kullanılarak hazırlanan diyagramlarda S_{mix} oranı arttıkça alanın da arttığı görülmektedir. Buna sebep olarak daha fazla yüzey etkin maddenin yüzey gerilimini daha çok düşürmesi ve daha dayanıklı bir emülsiyon oluşumu sağlaması gösterilebilir (208). Ancak bu olayın aksinin, yani S_{mix} oranının artması ile üçgen faz diyagramındaki alanın küçüldüğü durumlar da görülmüştür. SNEDDS formülasyonlarında kullanılan yardımcı maddeler bazı oranlarda bir araya geldiklerinde jelimsi veya kremimsi viskoz, dağılması daha uzun süren yapılar oluşturabilirler (206). Bu durumlarda yardımcı yüzey etkin madde veya kosolvan kullanılması nanoemülsiyonların oluşumuna yardımcı olan ara yüzeyin bükülme gerilimini azaltabilir (207). Dolayısı ile Transcutol® P oranının artması bu durumda üçgen faz diyagramındaki alanın artmasına neden olabilmektedir (209). Etkin madde yükleme kapasitesinin artırılabilmesi amacıyla kosolvan olarak sadece Transcutol® P kullanıldığı için farklı kosolvanların üçgen faz diyagramı alanlarına olan etkisi bilinmemektedir.

Aday formülasyonlarda kullanılan kaprilik asit gliseritleri (Imwitor® 988) veya propilen glikol esterleri (Capryol™ 90), Kolliphor® RH40, Transcutol® P gibi yardımcı maddeler membran geçirgenliğini artırma özelliğine sahiptir. Böylece bu maddelerin çözünme hızı artışının yanısıra, aprepitantın ince barsaktan emiliminin de artmasını sağlayarak biyoyararlanım artışına katkı sağlamaları beklenebilir (4, 210).

5.6. Boş Formülasyonlarda Damlacık Boyutu ve PDI Ölçümü

Damlacık boyutunun ölçülmesi küçük açılı X-ışını (SAXS) veya nötron saçılması (SANS) gibi farklı tekniklerle gerçekleştirilebilse de rutin ölçümler için

genellikle DLS tercih edilmektedir (211). Kompleks yapıya sahip örneklerde DLS sonuçlarının güvenilirliği tartışmalı olmakla birlikte seçilen formülasyonlar unimodal dağılım gösterdiklerinden ve polidispersiteleri düşük olduğundan DLS sonuçlarının güvenilirliğinin yüksek olduğu düşünülmektedir (212).

Uygun bulunan IrlhT formülasyonlarında oranlar değiştikçe genel olarak ortalama partikül boyutu ve PDI değeri bundan çok etkilenmemektedir. Örneğin %10 Imwitor® 988 içeren formüller incelendiğinde, Kolliphor® RH40 oranı %30'dan %80'e kadar değiştiğinde partikül boyutunun 14 ± 1 nm ve PDI'nın 0,1 civarında neredeyse sabit kaldığı görülmüştür. %10-20 gibi düşük oranda Kolliphor® RH40 içeren formülasyonlar bu durumun istisnası olarak kabul edilebilir. Yüzey etkin madde oranının bu kadar azalması damlacık boyutunda belirgin bir artış meydana getirmiş ve damlacık boyutu yaklaşık 2 katına çıkmıştır. Damlacık boyutu artsa da PDI'da bir farklılık meydana gelmemiştir. Damlacık boyutundaki bu artışın sebebinin yüzey etkin madde konsantrasyonunun azalmasına bağlı olarak, yüzey geriliminin daha az düşürülebilmesi olduğu düşünülmektedir (208).

İstenen özellikteki CcsT formülasyonlarının elde edilebilmesi için %50'nin üzerinde bir Kolliphor® CS20'ye ihtiyaç duyulduğu görülmektedir. Kolliphor® CS20 bu oranın altında kullanıldığında genellikle uygun bir nanoemülsiyon yapısı elde edilememiştir. Bu oran üzerinde ise ortalama boyutu 10 nm ve PDI'ı 0,1 civarında olan nanoemülsiyonlar elde edilebilmiştir. Kolliphor® CS20 oda sıcaklığında katı halde bulunan bir madde olduğundan formülasyonlardaki oranı %20'nin üzerine çıktıkça, formülasyonlar oda sıcaklığına geldiğinde yarı katı hale geçmektedir. Yarı katı halin viskozitesi oran artışına bağlı olarak kremi yapıdan mumsu katıya kadar değişkenlik göstermektedir. Katı veya yarı katı formülasyonlar suda hızla dağılarak nanoemülsiyon damlacıklarını oluşturmaktadır.

IcsT formülasyonları ile istenen özellikte nanoemülsiyonlar elde edilememiştir. Imwitor® 988 ve Kolliphor® CS20 yüzey etkin madde seçimi ve üçgen faz diyagramı çalışmalarında oldukça olumlu sonuçlar verse de uygun özellikte nanonemülsiyonlar oluşturamamıştır. Bu çalışmalarda yüksek % transmittans ve şeffaf alanlar elde edilmiş olmasının sebebi oluşan nanoemülsiyon damlacıklarının boyutlarının küçük olmasından kaynaklanmaktadır. Ortalama damlacık boyutu küçük olmakla birlikte damlacıkların oldukça polidispers yapıda (multimodal dağılım) olması emülsifikasyonun tam olarak

gerçekleşemediğini düşündürmektedir. Bu sonuç aynı zamanda sadece % transmittans ve üçgen faz diyagramlarından elde edilebilecek şeffaf alan bilgisinin başarılı bir SNEDDS formülasyonu geliştirmek için yeterli olmayacağını da göstermektedir.

5.7. Formülasyonlara Etkin Madde Yüklenmesi

Çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular, IrhT ve CcsT formülasyonlarına yüklenebilecek maksimum aprepitant miktarını formülasyonlar içerisindeki Transcutol® P miktarının belirlediğini göstermektedir. Bu formülasyonlarda bulunan yardımcı maddelerin içerisinde aprepitantın en çok çözündüğü madde de Transcutol® P olduğundan bu beklenen bir durumdur. Genel olarak formülasyon içerisindeki Transcutol® P miktarı arttıkça formülasyonun çözebildiği aprepitant miktarı da artmaktadır.

Formülasyonlara yüklenebilecek aprepitant miktarı, aprepitantın saf yardımcı maddelerin içerisindeki çözünürlüğü ile bunların formülasyondaki ağırlık yüzdelerinin çarpımları toplanarak hesaplanabilir (163). Bu teorik hesaplarda elde edilen çözünürlük sıralaması ile çalışma sonucu elde edilen bulguların çözünürlük sıralamasının uyumlu oldukları görülmektedir. IrhT formülasyonlarında elde edilmiş değerlerin teorik değerlerden yüksek olmasının ana nedeninin yardımcı madde çözünürlük çalışmalarının oda sıcaklığında, formülasyon çözünürlük çalışmalarının ise 37°C’de gerçekleştirilmesi olduğu düşünülmektedir. Sıcaklık artışı çözünürlüğün artmasına sebep olmuştur. Ek olarak sıcaklık artışı formülasyonların viskozitesinde değişikliğe sebep olmakta, dolayısı ile karışma, santrifüjleme gibi işlemlerden kaynaklı farklılıkların da oluşabileceği düşünülmektedir (213). CcsT formülasyonlarında elde edilen değerler ile teorik değerler arasında görülen farklılıkların sebebinin de, benzer şekilde, Kolliphor® CS20’nin çözünürlük çalışmasının 50°C’de (oda koşullarında katı olması sebebiyle) gerçekleştirilmiş olması olduğu düşünülmektedir.

Aynı oranlarda yağ - yüzey etkin madde - kosolvan içeren IrhT veya CcsT formülasyonlarının çözünürlük bulgularının yakın olması Imwitor® 988 – Kolliphor® RH40 çözünürlük toplamı ile Capryol™ 90 – Kolliphor® CS20 çözünürlük toplamının benzer olmasına bağlanmıştır.

5.8. Aprepitant İçeren Formülasyonlarda Damlacık Boyutu ve PDI Ölçümü

Etkin madde yüklenmeden damlacık boyutu ve PDI ölçümü yapılan uygun özellikteki formülasyonlara doygunluk konsantrasyonunu altında etkin madde eklenmiş ve damlacık boyutu ve PDI değerlerinin değişimi incelenmiştir.

Boş ve doygunluk konsantrasyonunun altında etkin madde yüklü formülasyonlar kıyaslandığında başlangıç anlarında (0sa) genellikle önemli farklılıklar görülmemiştir. Örneğin boş IrhT 20-60-20 formülasyonu $14,41 \pm 2,07$ nm boyuta sahipken 21 mg aprepitant yüklenmiş formülasyon $14,48 \pm 1,80$ nm boyuta sahiptir. Bulgular bölümünde tablo olarak sunulan birçok formülasyonda da benzer durum görülmektedir. Boş IrhT formülasyonlarında yüzey etkin madde : yağ oranı 2'den düşük olan formülasyonların damlacık büyüklüğünün diğerlerinden daha yüksek olduğu görülmektedir. Aynı durum aprepitant yüklü IrhT formülasyonları için de geçerlidir.

Aprepitant yüklü bazı formülasyonlarda (IrhT 10-30-60 veya CcsT 10-70-20 gibi) su ile seyreltmenin sonucunda zamanla damlacık boyutu ve dağılımında bozulmalar görülmüştür. Bozulma şiddeti yüklenen etkin madde miktarı arttıkça artış göstermektedir. Örneğin IrhT 10-40-50 formülasyonuna 21 mg aprepitant yüklendiğinde 4 saat boyunca damlacık boyutunda bir değişim gözlenmezken, 25 mg aprepitant yüklendiğinde 4. saatin sonunda damlacık boyutunun ortalama 14 nm civarından 195 nm civarına çıktığı görülmektedir. IrhT 30-10-60, 30-20-50 ve 10-50-40 benzer durumun gözlemlendiği diğer formülasyonlardır. Yüklü aprepitant miktarının artması dilüsyon sonrası oluşan ortamın aşırı doygunluk seviyesinin de artmasına sebep olacaktır. Aşırı doygunluğun korunması aprepitant miktarı arttıkça zorlaşacağı için daha kısa sürede çökme görülecektir (156).

Etkin madde eklenmesinin damlacık boyutunda ve üçgen faz diyagramlarındaki nanoemülsiyon bölgelerinde değişimlere neden olması bilinen bir durumdur. Date ve Nagarsenker (149), AboulFatouh ve ark. (156) bu durumu çalışmalarında göstermişlerdir. Etkin madde ilavesinin damlacık boyutuna etkisi, etkin maddenin fizikokimyasal yapısına göre olumlu veya olumsuz olabilmektedir. Etkin madde yağ-su ara yüzeyinde birikip yüzey gerilimini azaltabiliyorsa genellikle damlacık boyutunda azalma görülmektedir. Damlacık boyutundaki değişikliğin bir diğer sebebi de yüzey etkin maddenin kritik misel konsantrasyonunun değişmesidir. Ortama etkin madde ilavesi yüzey etkin maddenin agregasyon sayısını artırıp kritik misel konsantrasyonunu

azaltıyorsa, bu çoğu zaman damlacık boyutunda azalma olarak kendini göstermektedir (214). Bu durumun tam aksinin gözleendiği durumlar da bulunmaktadır. Örneğin Kang ve ark. (203) simvastatinin SNEDDS formülasyonlarını geliştirmiş ve formülasyona eklenen simvastatin miktarı arttıkça 30 nm'den 180 nm'ye kadar artan damlacık boyutları elde etmişlerdir. Yukarıda sayılan etkilerin dışında etkin maddenin tam çözünmemiş olması veya zamanla kristallerin oluşumu ve çökme görülmesi de elde edilecek damlacık boyutu sonuçlarını etkileyecektir.

Damlacık boyutunun *in vivo* ortamda ilaç Emilimi boyunca hedeflenen aralıkta kalması istenen bir durumdur. Literatür kaynaklarından aprepitantın farmakokinetik özellikleri incelendiğinde T_{maks} değerinin yaklaşık 4 saat olduğu görülmektedir (26). Bu durumda formülasyon vücuda alındığında 4 saat boyunca absorpsiyon fazının eliminasyon fazından daha baskın olduğu söylenebilmektedir. Bu sebeple seyreltilmiş formülasyonların stabilite takibi 4 saat boyunca gerçekleştirilmiş ve bu süre boyunca damlacık boyutunun ve dağılımının çok bozulmadığı veya etkin maddenin çökmediği formülasyonlar çalışmanın daha ileri aşamalarına taşınmıştır.

5.9. Doygun Formülasyonlarda Etkin Madde Çökme Testi

SNEDDS formülasyonları seyreltikten sonra oluşan nanoemülsiyonlar termodinamik açıdan kararlı olmadığından zamanla etkin maddelerin çökmesi beklenen bir durumdur. Tip IIIB ve tip IV sistemlerde etkin maddenin çökme hızının tip II ve tip IIIA sistemlere göre genellikle daha yüksek olduğu gösterilmiştir (99). Nanoemülsiyondaki etkin maddenin çökmeden kalması ilacın Emilimi için avantaj yaratabilecektir. Çeşitli formülasyonlarda etkin maddenin çökme hızının karşılaştırılabilmesi amacıyla doymuş formülasyonlarda çökme testi gerçekleştirilmiştir.

Çökme testleri dissolüsyon benzeri testler olup, onlardan farklı olarak sink olmayan koşullarda gerçekleştirilirler. Ortam olarak distile su (99) veya çeşitli tamponlar kullanılabilmektedir. Literatürde tampon kullanıldığında genellikle gastrik ortamı taklit eden tamponların kullanıldığı görülmektedir (215, 216). Aprepitant zayıf bazik özellikte bir etkin madde olduğundan dolayı asidik ortamlarda daha yüksek çözünürlüğe sahiptir. Bu durum tampon çözeltielerde yapılan çözünürlük çalışmaları (Bulgular 4.2) ile de gösterilmiştir. Boyut ölçümleri gibi tez çalışması kapsamında yapılan diğer çalışmalarda seyreltmenin distile suyla yapılması nedeniyle ve koşulların

daha zorlayıcı (çökme lehine) olması amacıyla ortam olarak distile su kullanılmıştır. Çalışmaların başında ve sonunda ortam pH'sı ölçülmüştür. Ortam pH değerlerinin IrhT formülasyonları ile yapılan çalışmalarda 3,5 – 4,5 arasında, CcsT formülasyonları ile yapılan çalışmalarda ise 4 – 5 arasında olduğu görülmüştür.

Çökme testinden elde edilen bulgular incelendiğinde yüksek oranda etkin madde içeren formülasyonların grafiklerinin genellikle daha yüksek konsantrasyonlardan başladığı görülmüştür. Fakat burada önemli olan başlangıç konsantrasyonu kadar yüksek etkin madde konsantrasyonunun ne kadar süre devam edebildiğidir. EAA yönteminin kullanılması çözünmüş durumdaki (emilime hazır) aprepitanta maruziyetin tespitini sağlamıştır. EAA arttıkça belirli bir sürede çözünmüş haldeki aprepitanta maruziyetin yüksek olduğu düşünülür. Çalışma süresi boyunca göreceli olarak sabit bir eğriye sahip olan formülasyonlarda daha yüksek EAA değerleri elde edilmiştir.

Kosolvan oranının yüksek olduğu IrhT formülasyonlarında grafiklerin yüksek konsantrasyonlardan başladığı, ancak konsantrasyonun hızla azaldığı görülmektedir. Bunun sebebinin seyrelmeye bağlı olarak Transcutol® P'nin su fazına diffüze olması ve çözücü kapasitenin hızla azalması olduğu düşünülmektedir (217). Seyrelmeye bağlı çözücü kapasitenin azalmasının kosolvan oranının yüksek olduğu IrhT formülasyonlarında, kosolvan oranının yüksek olduğu CcsT formülasyonlarına göre daha belirgin olmasının sebebi, Kolliphor® CS20'nin Kolliphor® RH40 ile kıyaslandığında sulu fazda daha fazla aprepitant tutabilmesinden kaynaklandığı (Bulgular 4.2) düşünülmektedir.

Etkin maddenin çökmesi istenen bir durum olmamakla birlikte, etkin madde amorf formda çöküyorsa bu durum her zaman dezavantaj olmayabilir. Bu durum Thomas ve ark. tarafından gösterilmiştir (84). Yaptıkları çalışmada halofantrinin amorf olarak çökmesinin emilim bölgesinde lokal olarak bir aşırı doygunluk durumu oluşturduğunu ve bu durumun da emilimi artırdığını göstermişlerdir. Çöken amorf formların kristal formlardan hızlı çözünmesinin, çökelmenin potansiyel olumsuz etkilerini geçersiz kılabileceği şeklinde bir sonuç ortaya çıkmıştır.

5.10. Polimer Eklenmiş SNEDDS Formülasyonları

Oral yoldan alınan bir ilaç ancak çözünmüş halde emilebileceği için etkin maddenin absorpsiyon bölgesinde mümkün olabildiğince çözünür durumda kalması gerekmektedir. Etkin madde çökmesi, çekirdeklenme ve kristal büyümesi olmak üzere iki aşamada gerçekleşir. İlk aşamada çözeltide çözünmüş olarak bulunan etkin madde kristalleri kümecikler oluşturmaya başlar. İkinci aşamada ise oluşan kümecikler birleşerek daha büyük kristalleri oluşturur (151). Polimerik maddeler, kristal büyümesinin önlenmesi, mekanik bariyer oluşumu, polimer-ilâç arasında hidrojen bağları gibi etkileşimlerin oluşumu gibi çeşitli mekanizmalar ile kristallenmeyi önleyebilir (127, 218). Kristallenmenin azaltılması, çözeltinin aşırı doygunluk derecesinin azaltılması veya etkin madde kristalizasyonunun geciktirilmesi yoluyla da gerçekleştirilebilir (219). Sayılan bu mekanizmalardan biri veya birkaçı beraber rol oynayabileceğinden mekanizmayı tam olarak açıklamak her zaman mümkün değildir.

Test edilen tüm formülasyonlar için Soluplus®'ın nanoemülsiyon damlacıklarının stabilitesini artırmada, etkin maddenin çökme hızını yavaşlatmakta ve aşırı doygunluğu daha uzun bir süre sürdürmede daha başarılı olduğu görülmüştür. Soluplus® amfifilik kimyasal yapıya sahip polimerik bir madde olup, su çözünürlüğü düşük olan ilâçların sulu ortamdaki çözünürlüklerini artırma yeteneğine sahiptir. Yapısında hidrofilik polietilen glikol ve hidrofobik polikaprolaktam gruplarına sahiptir. Soluplus® kritik misel konsantrasyonunun (7.6 mg/L) üzerinde 70 – 100 nm çapında miseller oluşturabilir (141). Test ortamlarındaki Soluplus® konsantrasyonları (0,5 g/L veya 1 g/L), kritik misel konsantrasyonunun oldukça üzerinde olduğundan oluşan miseller, aprepitant çözünürlüğünü artırmaya yardımcı olabilir ve aşırı doygunluk derecesini azaltarak etkin madde çökmesini önleyebilir. Soluplus® ayrıca liyofilik özellikte bir polimer olup, emülsiyon damlacıkları etrafında multimoleküler film oluşturarak da damlacık stabilitesine katkıda bulunabilir.

Çekirdeklenme olayının aktivasyon enerjisi, etkin madde ve kullanılan polimer arasında hidrojen bağı oluşması durumunda artmaktadır. Bu durum çekirdeklenme ve kristalizasyonun önlenmesini veya geciktirilmesini sağlamaktadır (220). Aprepitantın yapısında hidrojen bağı alıcısı bir karbonil grubu bulunmaktadır. Soluplus® yapısında iki adet, Methocel™ E5 ise bir adet hidrojen bağı donörü olan hidroksil grubuna sahip olduğundan bu iki madde ile aprepitant arasında hidrojen bağı oluşumundan

bahsedilebilir. Bu iki yardımcı maddenin aprepitant kristalizasyonunu daha başarılı olarak önlemesinin sebebi bu şekilde açıklanabilmektedir. Kollidon® 25 ve Kollidon® VA64 karbonil grupları (hidrojen bağı alıcısı) açısından zengin maddeler olup aprepitant ile hidrojen bağı oluşturma eğilimleri daha düşüktür (151). Bu sebeple Kollidon® 25 ve Kollidon® VA64'ün mekanik bariyer oluşturmak gibi diğer mekanizmalar ile kristalizasyonu geciktirdikleri düşünülmektedir. Kristalizasyonu önleyen yardımcı maddelerin kimyasal yapıları da önemlidir. Örneğin HPMC, PVP ile kıyaslandığında içerdiği metil grupları nedeniyle daha hidrofobik bir polimerdir. Metil gruplarının çekirdeklenme aşamasında oluşmakta olan partikül yüzeyine adsorbe olarak kristal yapı yerine amorf yapı oluşmasını sağladığı düşünülmektedir (221).

Çözünürlük değerlerinin üzerinde aprepitant yüklenerek hazırlanmış olan A-SNEDDS formülasyonları içerisinde de (seyreltilmemiş haldeyken) etkin maddenin bekledikçe çökmemesi gereklidir. Eklenen polimerlerin sadece formülasyon seyreltildikten sonra değil, seyreltilmeden önce de yukarıda açıklanan mekanizmalarla etkin maddenin kristallenmesini önlediği düşünülmektedir. Yukarıdaki mekanizmalara ek olarak, özellikle Soluplus®'ın SNEDDS viskozitesini artırmasının kristalizasyonu geciktirmeye etkili olduğu düşünülmektedir (123). Kollidon® 25 ve Kollidon® VA64 ile kıyaslandığında Soluplus® içeren SNEDDS formülasyonlarının belirgin şekilde daha viskoz bir yapıya sahip oldukları görülmüştür. Yüksek viskozitenin kendiliğinden emülsifikasyonu ve formülasyonlardan etkin madde salımını etkileyebileceği göz ardı edilmemelidir (222).

Çözünmüş durumda kalan aprepitant miktarlarının kıyaslanması konsantrasyon-zaman grafiklerinin EAA değerlerinin hesaplanması ile yapılmıştır. SNEDDS içermeyen çözeltide bulunan 35,340 alan değerinin %10 Soluplus® eklenmiş IrhT 30-10-60 formülasyonu ile elde edilen 36,392 alana oldukça benzer olduğu görülmüştür. Bu durum IrhT 30-10-60 formülasyonunun seyreltilmiş ortamda etkin madde kristalizasyonunu önlemede bir katkısının olmadığını göstermiştir. Aynı yardımcı maddelerin farklı oranlarda kullanıldığı A-IrhT 20-60-20 formülasyonunda alanın SNEDDS içermeyen çözeltiye göre yaklaşık %35 arttığı görülmüştür. Formülasyonlar içindeki yüzey etkin madde : kosolvan oranının yüzey etkin madde lehine değişmesinin bu etkiye sebep olduğu düşünülmüştür. Artan yüzey etkin madde oranı çözeltinin aşırı doygunluk derecesinin azaltılmasını ve etkin maddenin bir bölümünün miseller

içerisinde çözünmüş halde kalmasını sağlamıştır. CcsT 10-50-40 formülasyonu da EAA değerinin SNEDDS içermeyen çözeltiye göre yaklaşık %50 fazla oranda çözünmesini sağlamıştır ve en yüksek EAA değerine bu formülasyonla ulaşılmıştır. Aprepitanti sulu ortamda çözünmüş olarak tutmada Kolliphor® CS20'nin Kolliphor® RH40 ile kıyaslandığında daha başarılı olduğu görülmektedir. %1'lik (10 mg/mL) yüzey etkin madde çözeltileri içerisinde yapılan çözünürlük çalışmasında en fazla aprepitantın Kolliphor® CS20 çözeltisinde çözündüğü görülmüştür. Dolayısıyla iki farklı çalışmada elde edilen sonuçların birbirini desteklediği görülmektedir.

Çökme testlerinin sonuçları aynı zamanda kristallenmenin önlenmesi için kullanılacak polimer oranının da formülasyona bağlı olarak değişebileceğini göstermiştir. Formülasyonlara eklenen polimer miktarı ile EAA arasında belirgin bir ilişki olmadığı görülmüştür. Bu sebeple en uygun polimer konsantrasyonunun ancak deneysel çalışmalar sonucunda bulunabileceği düşünülmektedir. Polimer oranının artmasıyla her zaman EAA'nın artmayabileceği hem bu çalışma ile hem de Chen ve ark. (222) , Wei ve ark. (218) gibi literatürdeki diğer çalışmalar ile gösterilmiştir.

5.11. *In vitro* Lipoliz Çalışması

In vitro lipoliz testi *in vivo* ortamı taklit edebilmek amacıyla gerçekleştirildiğinden ortama eklenen maddeler ve konsantrasyonları önemlidir. İnce bağırsak sıvısı, suda az çözünen bir çok ilaç için çözünürlüğün artmasını sağlayan ve miseller oluşturan safra tuzları ve fosfolipidler gibi çeşitli endojen yüzey etkin maddeler içerir (223). Benzer ortamı *in vitro* ortamda sağlayabilmek için kuru safra ekstresi ve soya fosfotidilkolini lipoliz tamponuna eklenmiştir. Tampon olarak 2 mM'lık pH 6,5 Tris tamponu (trizma maleat) seçilmiştir. Bu tampon sindirim koşullarını sağlamak için uygun olmakla birlikte açığa çıkan yağ asitlerinin de pH'yı düşürmesini engellemektedir (165). Tampon lipaz aktivitesinin yüksek olması sebebiyle pH 6,5'e ayarlanmıştır. Tampon ek olarak 50 mM sodyum klorür ve 1,4 mM kalsiyum klorür içermektedir. Literatürde kalsiyum klorürün ortama, test süresince bir pompa aracılığı ile devamlı şekilde (224) veya tamamının önceden (225) ilave edilmesi olmak üzere, iki farklı şekilde eklenebildiği görülmüştür. Ortama kalsiyum klorür eklenmesinin ana nedeni lipoliz sonrası açığa çıkan yağ asitlerinin kalsiyum tuzları şeklinde çöktürülüp ortamdaki uzaklaşmasını sağlamaktır. Aksi taktirde ortamda biriken yağ asitleri lipolizi

yavaşlatacak ve sonunda tamamen durmasına sebep olacaktır (226). Tez kapsamında yürütülen çalışmalarda kalsiyum klorür tampona önceden eklenmiştir.

Lipoliz çalışmasının sindirim fazına geçildikten sonra çözünmüş aprepitant miktarında azalma görülmüştür. Bu azalma IrhT formülasyonlarında daha belirgindir. Kolliphor® CS20 ile hazırlanan formülasyonda başlangıçta bir düşüşün ardından aprepitant konsantrasyonunun azalmadığı görülmektedir. IrhT ve CcsT formülasyonlarının lipoliz testindeki farklı davranışlarının sebebi SNEDDS formülasyonlarını oluşturan farklı yardımcı maddelerin farklı derecede sindirilmeleridir. Arnold ve ark. (227) lipid bazlı sistemlerde sıklıkla kullanılan çeşitli yardımcı maddelerin sindirim kinetiklerini incelemişlerdir. Üç saatin sonunda yapıcı Imwitor® 988 ile çok benzer Imwitor® 742'nin %93,6'sının, Capryol™ 90'ın %72,2'sinin Kolliphor® RH40'ın ise %34,7'sinin sindirildiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmanın sonuçlarından da anlaşılabileceği gibi yağ bazlı, daha hidrofobik yardımcı maddelerin daha fazla sindirildikleri ve daha fazla NaOH harcanmasına sebep oldukları görülmüştür. Dolayısıyla yağ içerikleri düşük tip IV (CcsT formülasyonları gibi) formülasyonlarda sindirimin sınırlı kalması beklenmelidir.

Lipoliz testi gerçekleştirilirken teorik konsantrasyonların aynı olmasını sağlamak için her ortama eklenen aprepitant miktarı 12 mg olacak şekilde eşit tutulmuştur. Test başlangıcında SNEDDS formülasyonlarını içeren beherlerde A-SNEDDS formülasyonlarını içeren beherlerin iki katı kadar yardımcı madde bulunmaktadır. Başka bir deyişle, yardımcı madde / aprepitant oranı, SNEDDS için A-SNEDDS için olduğundan daha yüksektir. Dolayısı ile beherlerin içerisinde bulunan sindirilebilir yardımcı madde miktarı farklı olduğundan, harcanan NaOH miktarının formülasyonların kendi aralarında kıyaslanması daha doğru olacaktır. A-CcsT ve A-IrhT formülasyonları kıyaslandığında test sonunda A-IrhT formülasyonuna harcanan NaOH miktarının yaklaşık 2,5 kat fazla olduğu görülmüştür. A-CcsT formülasyonu tip IV yapıda olduğundan bu beklenen bir sonuçtur. Transcutol® P büyük oranda sindirilmeyen bir yardımcı maddedir. IrhT 20-60-20 formülasyonunda IrhT 30-10-60 formülasyonuna göre daha fazla NaOH harcanmasının sebebi daha fazla sindirilebilir yardımcı madde içermesidir.

Test sonucunda çözeltide kalan aprepitant konsantrasyonunun en az düştüğü formülasyon A-CcsT 10-50-40 formülasyonu olmuştur. Bu sonuç daha önce

gerçekleştirilen çökme testi bulguları ile de uyumludur. Formülasyon tip IV olduğundan sınırlı bir sindirim gerçekleşmiş olup, aprepitantın çözündüğü damlacıklar bozulmadan kalabilmiştir. Ayrıca Kolliphor® CS20, Kolliphor® RH40'a göre daha fazla aprepitantı çözünmüş olarak sulu fazda tutabilmektedir. (Bulgular 4.2.) IrhT 20-60-20 formülasyonu iki kat daha fazla yardımcı madde içermesine rağmen test sonunda A-CcsT 10-50-40 formülasyonuna göre daha düşük miktarda aprepitantın çözünmüş fazda kalmasını sağlayabilmiştir. IrhT 20-60-20 formülasyonu aşırı doygun türevi ile kıyaslandığında tüm test boyunca daha yüksek bir aprepitant konsantrasyonu elde edildiği görülmüştür. IrhT 20-60-20 beherinde daha fazla yardımcı maddenin hidrolize edilmeden kalması (özellikle Kolliphor® RH40), A-IrhT 20-60-20 beherine göre daha fazla aprepitantın çözünmüş olarak kalmasını sağlamıştır. In vitro lipoliz testinin ve çökme testi sonuçlarına göre, A-CcsT 10-50-40 formülasyonunun diğerlerine üstünlük sağladığı görülmüştür. IrhT 30-10-60 formülasyonu ise başlangıçtan itibaren en düşük aprepitant konsantrasyonunun görüldüğü formülasyon olmuştur. Bunun sebebinin formülasyondaki yüzey etkin madde miktarının düşük olması ve yağ içeriğinin hızla sindirilmesi olduğu düşünülmektedir.

Lipoliz testi *in vivo* ortamı taklit eden şartlarda gerçekleştirildiği için SNEDDS tipi formülasyonların *in vitro* değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılır. Buna rağmen elde edilen sonuçlar her zaman *in vivo* sonuçlar ile uyumlu olmayabilir. Thomas ve ark. (84) lipoliz sonucunda etkin maddenin amorf formda çökmesi ve bu amorf formun tekrar hızla çözünmesi halinde biyoyararlanımının kötü yönde etkilenmeyebileceğini göstermişlerdir.

5.12. Katı SNEDDS Formülasyonları

Sıvı SNEDDS formülasyonları ciddi avantajlarının yanı sıra, ilaçların kapsül materyali ile geçimsizliği, düşük ilaç stabilitesi, ilaç sızıntısı gibi önemli dezavantajlara sahiptir (113). Katı forma dönüştürülen SNEDDS formülasyonları bu istenmeyen durumların üstesinden gelinmesini sağlayabilir. Katı forma dönüştürmek üzere çeşitli üreticilerden temin edilen adsorbanlar test edilmiştir. Üretici kaynaklarından alınan bilgilere göre Syloid® XDP 3050, Syloid® XDP 3150 ve Neusilin® US2 granüler yapıda Neusilin® UFL2 ve Florite® R ise toz yapısında olup, sayılan bu adsorbanların ortalama partikül çapları sırasıyla 50µm, 150µm, 106µm, 3,1µm ve 30µm olarak bulunmuştur (228-230).

Akış özelliklerinin değerlendirildiği çalışmada granüler yapıda adsorbanların akış özelliklerinin daha iyi olduğu gözlenmiştir. Partikül şekillerinin küresele yakın olması sebebiyle partiküller birbirinin üzerinden kolayca kayabilmekte, bu durum akış özelliklerini olumlu olarak etkilemektedir. Adsorbanlara sıvı formülasyon yüklendiğinde genellikle akış özelliklerinin olumsuz olarak etkilendiği gözlenmiştir. Sıvı formülasyon oranı belirli bir seviye üzerine çıktığında bu durum daha da belirginleşmektedir. Örneğin Neusilin® US2'ye 1:1,5 oranında yükleme yapıldığında akıcı bir toz elde edilirken, oran 1:2'ye çıkarıldığında akıcılığın oldukça azaldığı gözlenmektedir. Bu durumun nedeni olarak tozun belirli bir limit üzerinde nemlenmesinin akışı kötü etkilemesi olduğu düşünülmektedir. Toz yüzeyinde kalan sıvı formülasyon bileşenleri tozların birbirine yapışmasına sebep olarak partiküllerin birbiri üzerinden kaymasını kötü yönde etkilemektedir. Patel ve ark. (113) sıvı formülasyonları çeşitli adsorbanlar kullanarak katı formlara çevirip bunların akış özelliklerini kendi geliştirdikleri bir eğimli tabla kullanarak incelemişlerdir. Akıcılık kötüleştikçe tozların daha büyük açılı eğimlerde akmadan kalabildiğini gözlemlemişlerdir. Tez çalışması kapsamında akışın incelenmesi vuruş dansitesi cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

SEM ile yapılan görüntüleme çalışmalarında Neusilin® US2'nin 50-150 µm arasında değişen küresel granüllerden oluştuğu görülmüştür. Elde edilen bu bulguların üreticinin vermiş olduğu bilgiler ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bu adsorbana 1:1,5 oranında sıvı formülasyon yüklenerek elde edilen SEM sonuçlarında küresel granüllerde anlamlı bir partikül boyutu değişikliği gözlenmemiştir. x5000 büyütmede yapılan görüntülemelerde Neusilin® US2'ye formülasyon yüklenmesinin yüzey pürüzlülüğünü artırdığı gözlenmiştir. Az da olsa akışkanlıkta görülen kötüleşme buna bağlanmıştır. Yüzey pürüzlülüğünün artmasının diğer bir sebebinin adsorban-formülasyon karıştırma işleminde porselen havan ve havan eli kullanılması olabileceği düşünülmektedir. Havan yüzeylerine sürtünmenin adsorban partiküllerinin şekillerinde deformasyonlara ve partikül yüzeylerinde pürüzlülüğe sebep olması olasıdır. Yapılan görüntülemelerde yağ veya sıvı damlacıkların bulunmaması sıvı formülasyonun yüzeyde kalmadığı ve adsorbanın porları içerisine hapsediğini göstermektedir.

Sıvı SNEDDS formülasyonlarını katı forma dönüştürmek için literatürde bir çok yöntem bulunmaktadır. Katı taşıyıcılar üzerine adsorpsiyon, püskürterek kurutma, eriyik granülasyonu, ekstrüzyon-sferizasyon, liyofilizasyon, sert kapsüllere dolum gibi

yöntemler kullanılabilir. Katı taşıyıcılar üzerine adsorpsiyon en sık kullanılan ve en kolay yöntemdir (90, 231).

Adsorpsiyon, bir adsorbatın (bir bileşiğin molekülleri) bir adsorban yüzeyinde biriktiği ekzotermik bir işlemdir. Fiziksel adsorpsiyon Van der Waals kuvvetleri ve elektrostatik etkileşimler gibi zayıf kuvvetler ile gerçekleşir. Yöntemin en büyük avantajı ucuz ve kolay bir yöntem olmasıdır. Sıvı adsorbe edilmiş katı taşıyıcının sıkıştırılması sırasında (örneğin tablet basımı) sıvı içeriğin dışarı sızması, yumuşak tabletlere, yapışmaya, ufalanmaya ve sertlik değişimine neden olması, bazı dozaj formları için büyük miktarlarda katı adsorban gereksiminin nihai dozaj formunun hacmini artırması, yöntemin dezavantajları olarak sayılabilir (231).

Tez çalışması kapsamında kullanılan diğer bir yöntem ise sert kapsüllere dolum metodudur. Bu yöntem sıvı SNEDDS formülasyonlarının doğrudan sert kapsüllere doldurulması ile kolayca gerçekleştirilebilir. Ancak bu yöntemde kapsül gövdesini oluşturan yapı (jelatin veya HPMC) ile formülasyon arasında geçimsizlik yaşanması veya sıvı formülasyonun kapsülden sızması gibi problemler ortaya çıkabilir (4, 69). Sert kapsüller yumuşak kapsüllere göre daha düşük geçirgenlik, sıcaklığa dayanıklılık, kullanım ve üretim kolaylığı gibi çeşitli avantajlara sahip olmakla birlikte özellikle sıvı formülasyonlarda sızıntıya neden olabilirler. Mikrospreyleme veya bantlama gibi çeşitli tekniklerle bu durumun üstesinden gelmek mümkün olabilmektedir (232). Buna rağmen yumuşak kapsüller genellikle sıvılar için, sert kapsüller ise doldurulduktan sonra katılaştıran formülasyonlar için daha iyi bir seçenek olabilir (31). Sızma sorunlarının çözülebilmesi için Licaps® kapsülleri gibi sıvıların ve yarı katıların güvenli bir şekilde tutulması için özel olarak tasarlanmış kapsüller de kullanılabilir.

Kapsüllere doldurulacak formülasyonların dolum yapıldıktan sonra oda sıcaklığında katılaşacak şekilde tasarlanması da sızma sorunlarının çözülmesi için farklı bir yaklaşımdır. Bu amaçla erime sıcaklığı nispeten yüksek ve oda sıcaklığında katı olan çeşitli yardımcı maddeler SNEDDS formülasyonları içerisinde kullanılabilirler. Literatür çalışmaları incelendiğinde Hassan ve Mäder (118) Cithrol® DPHS, Patel ve ark. (233) Acconon® C-50 ve Gelucire® 50/13, Breitzkreitz ve ark. (185) Gelucire® 44/14, Heo ve ark. (120) PEG 6000, Kanaujia ve ark. (119) TPGS, PEG 6000, Gelucire® 44/14, Li ve ark. (121) PEG 3350, Shah ve Serajuddin (111) Poloksamer 188, Nepal ve ark. (234) Witepsol® H35, Vithani ve ark. (235) Gelucire® 44/14, Gelucire®

48/16 ve Poloksamer 188, Ganesh ve ark. (236) Gelucire® 48/16 ve Compritol® HD5 ATO gibi yardımcı maddeleri kullanarak bu yaklaşımla başarılı katı veya yarı katı SNEDDS formülasyonları hazırlamışlardır. Görüldüğü üzere katı veya yarı katı yağlı maddeler veya yüzey etkin maddeler kullanılarak çeşitli SNEDDS formülasyonları hazırlanabilmektedir. Tez çalışması kapsamında katı bir yüzey etkin madde olan Kolliphor® CS20 kullanılmıştır. Kolliphor® CS20'nin erime derecesinin 39-41°C arasında olması ve formülasyonda %50 gibi bir oranda kullanılması nedeniyle kapsüle dolum sonrasında formülasyon akışkan olmayan yarı katı bir hale dönüşür. Erime derecesinin vücut sıcaklığına yakın olması, kapsül oral yoldan alındığında içeriğin kolayca sıvılaşmasını ve formülasyonunun hızla dağılmasını sağlamıştır.

5.13. *In vitro* Çözünme Hızı Çalışmaları

In vitro çözünme hızı testi, ilaçların GI sistemde çözünmesinin bir göstergesi olarak, suda az çözünen ilaçların absorpsiyon oranını tahmin etmek için rutin olarak kullanılır (90). *In vitro* ortamdaki yüksek çözünme hızı genellikle *in vivo* ortamda da çözünme hızında artış olarak etki göstermektedir (186). İlacın çözünme hızı, ıslanma derecesi, bağırsak içeriğindeki ilaç çözünürlüğü, ortam viskozitesi, pH, emülsiyon damlacık boyutu ve bağırsak içeriğinin hacmi gibi birçok faktöre bağlıdır. Genel olarak, SNEDDS formülasyonlarında *in vitro* çözünme hızı, partikül boyutundaki azalma ve yüzey alanındaki artış nedeniyle etkin maddenin tozuna kıyasla daha hızlıdır (90). SNEDDS tipi formülasyonlar bazen katı veya yarı katı halde olup bunlar bazı kaynaklarda katı dispersiyonlar olarak da kabul edilebilmektedir (188). Katı dispersiyonlarda olduğu gibi yarı katı SNEDDS formülasyonlarında da aprepatantın daha hızlı çözünmesi, çözünme ortamında ilacın ıslanmasının iyileşmesine ve yüzey alanının artmasına ek olarak etkin maddenin kristal formundan amorf forma dönüşümü ile de açıklanabilir. Çözünme işlemi sırasında kristal örgüleri parçalamak için herhangi bir enerji gerekmediğinden amorf halin çözünme hızı daha yüksek olma eğilimindedir (181).

Tez çalışmaları kapsamında ilk olarak eldeki adsorbanların etkin madde salımına olan etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada test edilen her adsorban için ilk 15 dakika içerisinde etkin madde salımının %95'in üzerinde olduğu görülmüş olup adsorban türünün çözünme hızı üzerinde belirleyici bir etkisi olmadığı düşünülmüştür. Adsorbanın türü, etkin maddenin çözünme hızı üzerinde bir etkiye sahip olmadığından,

adsorban seçimi sıvı tutma kapasitesi ve elde edilen toz formülasyonun akış özellikleri değerlendirilerek yapılmıştır. Adsorbanlardan ilaç salımı, ilacın adsorban ile ortam arasındaki fiziksel etkileşimine göre şekillenmektedir. Çözünme ortamı-SNEDDS arasındaki etkileşim adsorban-SNEDDS arasındaki etkileşimden daha güçlü olduğunda salım gerçekleşmektedir (237).

Çözünme ortamı olarak, aprepitant kapsülleri için FDA çözünme hızı testi metotları veritabanında önerilen 900 mL %2,2 SLS çözeltisi kullanılmıştır. Bu sayede sink koşul sağlanmıştır. %2,2 SLS ortamında gerçekleştirilen test sonunda toz aprepitant haricinde kalan tüm formülasyonlarda ve Emend® kapsülde ortamda bulunan etkin maddenin neredeyse %100'ünün çözündüğü ve teorik konsantrasyona (22,22 µg/mL) ulaştığı görülmüştür. Emend® kapsülde aprepitantın %85'inden (Q+%5) fazlası ilk 30 dakika içinde çözünmüş ve formülasyon farmakope (USP 42–NF 37) kriterini yerine getirmiştir. Toz aprepitant için bu oran ancak %62 olabilmıştır. IrhT formülasyonları ortama eklendikten hemen sonra etkin madde salımına başlarken CcsT formülasyonları ve Emend® kapsülde salım kısa bir süre sonra başlamıştır. Bunun nedeni kapsül gövdesinin dağılması için geçen süredir. IrhT formülasyonları kapladıkları hacim (2-5 mL) sebebiyle kapsül içerisine doldurulamamıştır. Dolayısıyla bu formülasyonlarda kapsülün dağılması için bir süre gerekmediğinden tozlar ortama eklenir eklenmez çözünen etkin madde konsantrasyonu hızla artmaya başlamıştır. IrhT ve A-IrhT formülasyonları arasındaki salım hızı farkı nedeninin, ortamdaki yardımcı madde miktarının farklı olması ve polimerik Soluplus®'ın salım hızını geciktirebilecek olması olduğu düşünülmektedir.

Tüm tampon ortamlarında hazırlanan formülasyonların toz aprepitanttan ve Emend® kapsülden daha hızlı çözündüğü görülmüştür. Çözünürlük çalışmasından elde edilen bulgulara (Bulgular 4.2) aprepitantın bazik ortamlarda çözünürlüğünün daha düşük olduğu görülmüştür. Bu sebeple ortam bazikleştikçe çözünme hızı buna bağlı olarak azalmaktadır. pH 4,5 ve pH 6,8 ortamlarında aprepitant tozunun konsantrasyonu LOQ altında kaldığından çözünme ortamındaki miktarı tayin edilememiştir. Çalışılan tozun ortalama partikül boyutu lazer kırınımı metoduna göre 26,6 µm olarak bulunmuştur. Emend® kapsülde bu boyut ortalama 0,12 µm'dir (34). Partikül boyutunun azalması çözünme hızının artmasını sağlamıştır. Aprepitantın çözünürlüğü pH 1,2 tamponunda 15,65 µg/mL, pH 4,5 tamponunda 0,79 µg/mL olarak bulunmuştur. 900

mL ortamda sırasıyla 14,1 mg ve 0,71 mg aprepitant çözünebileceği anlamına gelmektedir. %2,2 SLS ortamının aksine çalışılan tampon ortamları sink koşulu sağlamamaktadır. Formülasyonların içerisindeki çözünürlük artırıcı maddelerin katkısıyla daha fazla aprepitant dissolüsyon ortamlarında çözülebilmektedir. Tüm tampon ortamlarında SNEDDS formülasyonları Emend® kapsülden belirgin şekilde daha hızlı ve daha yüksek oranda çözünmüşlerdir. IrhT 20-60-20, CcsT 10-50-40 ve A-CcsT 10-50-40 formülasyonları her tampon ortamında A-IrhT 20-60-20 formülasyonundan daha başarılı bulunmuştur. A-IrhT 20-60-20 formülasyonunun IrhT 20-60-20 formülasyonuna göre daha zayıf performansa sahip olmasının nedeninin çözünme ortamı içerisindeki formülasyon miktarının daha düşük olmasıdır. A-IrhT aşırı doygun formülasyon olduğundan, aynı miktarda etkin madde normal IrhT formülasyonuna göre daha az SNEDDS içerisinde çözünmüştür. Bu sebeple ortamda çözünürlüğü ve dolayısıyla çözünme hızını artıracak yardımcı maddelerin miktarı daha azdır. CcsT 10-50-40 ve A-CcsT 10-50-40 formülasyonlarının ise birbirine benzer çözünme hızına sahip oldukları görülmüştür.

Literatürde aprepitantın çözünme hızını artırma amacıyla yapılan çok sayıda çalışma bulunmaktadır. En sık karşılaşılan yöntemler nanokristal ve katı dispersiyon teknikleri olup son yıllarda bu alandaki çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Attari ve ark. (2) bilyalı değirmen+yüksek basınçlı homojenizasyon ve çöktürme+yüksek basınçlı homojenizasyon şeklinde ardışık teknikler kullanarak aprepitantın partikül boyutunu azaltmaya çalışmışlardır. SLS, Tween® 80, polivinil alkol, poloksamer 188 ve poloksamer 407 gibi farklı yüzey etkin maddeler veya polimerik stabilizatörler kullanmışlardır. %1 Tween® 80 + %3 poloxamer 188 içeren formülasyon bilyalı değirmen+yüksek basınçlı homojenizasyon işlemlerinden geçirildikten sonra 120 nm boyutunda (PDI 0,268) nanosüspansiyon elde edilmiştir. Elde edilen süspansiyon mannitolle liyofilize edilmiştir. Yapılan çözünürlük çalışmasına göre formülasyonun aprepitantın su çözünürlüğünü 40,2 kat artırdığı, ayrıca yapılan dissolüsyon çalışmasında 45 dakika içinde aprepitantın %99'unun salındığı bildirilmiştir.

Kalvakuntla ve ark. (18) yüksek basınçlı homojenizasyon ve liyofilizasyon+yüksek basınçlı homojenizasyon tekniklerini kullanarak aprepitantın nanosüspansiyon formülasyonlarını hazırlamışlardır. Partikül boyutu küçültme işlemleri

sırasında stabilizatör olarak farklı konsantrasyonlarda Tween® 80, poloksamer 188, PVA ve SLS kullanmışlardır. Sadece yüksek basınçlı homojenizasyonun kullanıldığı yöntemde kullanılan stabilizatör maddeye bağlı olarak 300-1500 nm aralığında partiküller elde edilmiştir. Önceden liyofilize edilmiş aprepitanta yüksek basınçlı homojenizasyon uygulandığında 35-260 nm aralığında partiküller elde edilebilmiştir. İkinci yöntem ile %1 Tween 80 ve %3 poloksamer 188 karışımı stabilizatör olarak kullanıldığında elde edilen 35,78 nm boyutundaki (PDI 0,257) formülasyon optimum formül olarak kabul edilmiştir. Bu formülasyon ile yapılan dissolüsyon çalışmalarında aprepitantın çözünme hızında 2 kat civarında artış görüldüğü bildirilmiştir.

Sodeifian ve ark. (238) süperkritik çözücülerin hızla genleşmesi (RESS) yöntemini kullanarak aprepitant nanokristalleri üretmişlerdir. Sıcaklık (308,2-338,2 K), basınç (15-33 MPa), püskürtme uzaklığı (1-10 cm), püskürtme başlığının boyutu (150-450 µm) gibi koşullar değiştirilerek denemeler yapılmıştır. Yöntemde mentol katı kosolvan olarak kullanılmıştır. Koşulların değiştirilmesiyle 23-523 nm arasında değişen nanokristaller elde edilmiştir. 23 nm boyutundaki nanokristaller ile 25,6 µm boyutundaki işlem görmemiş tozun çözünme hızları pH 6,8 fosfat tamponunda kıyaslanmış ve nanoboyutlu kristallerin çözünme hızı katsayısının 8,2 kat arttığı bildirilmiştir.

Chandrasekhara ve ark. (239) hidroksil propil selüloz ve noniyonik, yarı katı bir yüzey etkin madde olan TPGS ile aprepitantın katı dağılımlarını sıcak eriyik ekstrüzyonu yöntemiyle hazırlamışlardır. Elde edilen formülasyon PEG 4000, SLS ve magnezyum stearat eklenerek kapsüllere doldurulmuştur. Elde edilen bu formülasyonun *in vitro* dissolüsyon çalışmalarında çözünme hızını artırdığı gösterilmiştir.

Penumetcha ve ark. (17) sıcak eriyik ekstrüzyonu yöntemiyle aprepitantın Soluplus® içerisindeki katı dağılımlarını hazırlamışlardır. Uygun ilaç : polimer oranını 1:4 olarak belirlemişlerdir. Yapılan dissolüsyon çalışmasında elde edilen sonuçlara göre hazırlanan formülasyonun çözünme hızının toz aprepitanta göre 6-7 kat arttığını bildirmişlerdir.

Pappa ve ark. (240) sodyum montmorillonit kili (Cloisite-Na+) ve polietilenoksit kullanarak sıcak eriyik ekstrüzyonu yöntemiyle aprepitantın katı dağılımlarını hazırlamışlardır. PEO içerisinde %5 aprepitant içeren formülasyonda etkin maddenin tamamen amorf forma döndüğü %10 ve %20 gibi daha yüksek oranlarda ise

kristalinitenin azaldığı gösterilmiştir. PEO içerisine %5 kil eklenmesinin dissolüsyon hızını artırdığı, %10 kil ilavesinin ise azalttığı bildirilmiştir. Tüm formülasyonların toz aprepitanta göre daha hızlı çözündükleri raporlanmıştır.

Nanaki ve ark. (19) Soluplus® ve poloksamer 188'i tek tek veya belli oranlarda karışım halinde kullanarak, eritme yöntemiyle aprepitantın katı dağılımlarını hazırlamışlardır. Aprepitant-Soluplus® karışımına eklenen poloksamer 188'in aprepitantın matriks içinde tam olarak erimesi için gereken sıcaklığı düşürdüğü raporlanmıştır. Hazırlanan tüm katı dağılımların, aprepitantın çözünme hızını belirgin şekilde artırdığı gösterilmiştir.

Yeo ve ark. (14) yaptığı bir çalışmada aprepitantın fosfotidilkolin bazlı katı dağılımları çözücü uçurma tekniği ile hazırlanmıştır. Katı dağılımın fiziksel özelliklerini iyileştirmek için Neusilin® ve Syloid® adsorban olarak, kroskarmelloz sodyum ve Kollidon® CL dağıtıcı olarak denenmiştir. Bunun yanında karşılaştırma yapmak amacıyla PEG 6000 ve PVP K30 ile klasik katı dağılımlar da hazırlanmıştır. Yapılan çözünürlük çalışmaları, fosfotidilkolin bazlı katı dispersiyonların aprepitantı suda daha iyi çözebildiğini göstermiştir. Dissolüsyon çalışmalarında ise hem adsorban hem de dağıtıcı içeren fosfolipit bazlı katı dispersiyonların test edilen tüm formülasyonlar arasında en yüksek çözünme hızına sahip olduğu gösterilmiştir.

Barmpalexis ve ark. (184) katı dozaj formunda aprepitantın çözünme profilini iyileştirmek için Aerosil®, mikrokristal selüloz, Soluplus®, PVP, HPMC, poloksamer 407 ve Kolliphor® ELP ile formülasyonlar geliştirmişlerdir. Aprepitant çözülürken çözücü olarak 2-pirolidon, aseton ve %5 SLS çözeltisi karışımı kullanılmıştır. Kurutma işlemi akışkan yatakta gerçekleştirilmiştir. Dissolüsyon sonuçları göz önüne alınarak poloksamer 407'nin kullanıldığı sıvı formül optimum olarak seçilmiştir. Bu formülasyonun 0,1N HCl ortamında orjinal ilaç olan Emend®'den daha hızlı salım yaptığı gösterilmiştir.

Nanokristallerin hazırlandığı çalışmalarda partikül boyutunun küçülmesine bağlı olarak çözünme hızının arttığı görülmüştür. Hazırlanmış olan katı dağılımlarda ise kullanılan polimer veya yüzey etkin maddelere bağlı olarak çözünme hızı artışı görülmüştür.

5.14. *İn vitro* Sitotoksosite Çalışması

Formülasyonların biyogüvenliği uygulanmadan önce dikkate alınmalıdır. Caco-2 hücreleri, insan bağırsak epitelini simüle etmek için hücresel bir model olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (151). MTT yöntemi hücre canlılığını ölçmek amacı ile kullanılan yöntemlerden biridir. Yöntem mitokondrilerde bulunan dehidrogenazların aktivitesinin hızlı bir şekilde ölçülmesini sağlar. Temelde çoğalan ve canlı olan hücrelerin tetrazolyum tuzları ile mor renkli formazan kristalleri oluşturmaya dayanır (241, 242). Hücre hattındaki canlı hücre sayısı arttıkça oluşan formazan miktarı artacaktır. Test sonunda meydana gelen renk değişiminin şiddeti absorbans ölçümü yapılarak bulunur. Absorbans arttıkça hücrelerin daha fazla formazan oluşturduğu ve canlı hücre sayısının arttığı anlamına gelmektedir (243).

Gerçekleştirilen *in vitro* sitotoksosite çalışmalarında ilk olarak değişen konsantrasyonlarda aprepitant Caco-2 hücre hattına uygulanmış ve beklendiği şekilde konsantrasyon arttıkça sitotoksitenin arttığı görülmüştür. Bu artışın özellikle 50 μM konsantrasyonun üzerinde keskin şekilde belirginleştiği gözlenmiştir. Nonlineer regresyon sonucunda IC_{50} değeri 46,66 μM olarak bulunmuştur. Farklı araştırma grupları çeşitli hücre hatlarında aprepitantın IC_{50} değerini 20-40 μM arasında bulmuştur (244-246). Dolayısıyla bulunan IC_{50} değerinin literatürde bulunan değerler ile uyumlu olduğu görülmektedir. Hill eğiminin küçük olması da (-3,059) doz arttıkça daha hızlı yanıt alındığını göstermektedir.

Formülasyonların sitotoksitelerinin kıyaslandığı çalışmada elde edilen bulgulara göre formülasyon içeriklerine göre sitotoksitenin fazla değişkenlik göstermediği görülmüştür. Formülasyonların olası toksisitelerinin ana olarak yüzey etkin maddeler (Kolliphor® RH40 ve Kolliphor® CS20) ve kosolvan (Transcutol® P) kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Bu iki yardımcı madde grubu test edilen formülasyonların %80-90'ını oluşturmaları sebebiyle formülasyonların toksisitelerinin de benzer oldukları düşünülmektedir. Ek olarak aynı konsantrasyonlarda formülasyonsuz aprepitant çözeltisi ve aprepitant içeren formülasyonlarda görülen sitotoksitenin de oldukça benzer olduğu görülmüştür. Ujhelyi ve ark. (247) geliştirmiş oldukları SNEDDS formülasyonlarında kullandıkları Capryol™ 90, Kolliphor® RH40, Transcutol® P gibi yardımcı maddelerin HeLa hücre hattında sitotoksosite testlerini gerçekleştirmişlerdir. Bu yardımcı maddelerin IC_{50} değerlerinin % 0,2-5 (h/h) arasında

değiştirdiğini ve Transcutol® P'nin Kolliphor® RH40 ile kıyaslandığında sitotoksik özelliğinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Çoğu noniyonik yüzey etkin maddenin intravenöz ve oral kullanımdaki LD₅₀ değerleri sırasıyla 5 g/kg ve 50 g/kg değerlerinin üzerindedir. Dolayısıyla 1 g civarında surfaktan kullanımının vücut tarafından kolaylıkla tolere edilebileceği düşünülmektedir. Günümüzde piyasada mevcut Agenerase®, Kaletra® veya Norvir® gibi HIV proteaz inhibitörlerinin çoğu günde 2-4 kere birkaç kapsül olacak şekilde reçete edildiği düşünüldüğünde hastaların 2-3 g Cremophor® türevlerini ve TPGS aldıkları görülmektedir (99).

5.15. İdeal Formülasyon Seçimi

Tez çalışmalarında ideal formülasyonun seçilebilmesi amacıyla çeşitli önformülasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Kendiliğinden emülsifiye olan formülasyonlarla ilgili çalışmalarda yalnızca bir faktörü değiştirerek kıyaslama yapmak zordur. Örneğin, yağ türlerindeki bir değişiklik yapıldığında bu aynı zamanda damlacık boyutunu, ilacın formülasyondaki çözünürlüğünü, formülasyonun sindirilme davranışını ve muhtemelen lenfatik taşınmayı da etkiler. Bu nedenle, kendiliğinden emülsifiye formülasyonların tasarımı hakkında birçok tartışma yapılmış olsa da, sonuçların genelleştirilmesi zordur. Sonuçların etkililiği formülasyona ve kullanılan ilaca büyük ölçüde bağımlılık gösterir (31).

Önformülasyon çalışmaları kapsamında gerçekleştirilen ilk çalışmalar çözünürlük çalışmaları olmuştur. Başarılı bir SNEDDS formülasyonu geliştirilmesinde ilk aşama uygun bir yağın seçimidir. Yağlı maddeler seçilirken etkin maddenin en fazla çözündüğü yağ tercih edilir. Bu sebeple kaprilik asit mono-, di- ve trigliserit karışımı olan Imwitor® 988 yağ fazı olarak seçilmiştir. Emülsifikasyon etkinliği çalışmaları gerçekleştirilerek Imwitor® 988'i nanoemülsifiye olmasını sağlayan ve şeffaf kolloidal dispersiyonlar oluşturan yüzey etkin maddeler seçilmiştir. Imwitor® 988 için bu maddeler Kolliphor® CS20, Kolliphor® RH40, Kolliphor® ELP ve Kolliphor® HS15 olmuştur. Formülasyona yüklenebilecek aprepitant miktarının artırılabilmesi için kosolvan seçiminde yardımcı maddelerin emülsifikasyon etkinliği yerine etkin maddeyi çözme yetenekleri göz önünde bulundurulmuş ve Transcutol® P kosolvan olarak kullanılmıştır. Böylece bir gliserit, yüzey etkin madde ve kosolvandan oluşan lipid bazlı ilaç sınıflandırma sistemine göre tip IIIB olan sistemler hazırlanmıştır.

Tez çalışmaları kapsamında tip IV sistemler de hazırlanmıştır. Bu sistemlerin hazırlanmasında gliserit kullanılmamış, formülasyonlar yüzey etkin madde, yardımcı yüzey etkin madde ve kosolvanlar ile hazırlanmıştır. HLB değeri düşük yardımcı yüzey etkin madde olarak, diğerleri ile kıyaslandığında daha yüksek aprepitant çözme kapasitesine sahip Capryol™ 90 tercih edilmiştir. Kolliphor® RH40, Kolliphor® ELP, Kolliphor® HS15 ve Kolliphor® CS20 ile berrak kolloidal dispersiyonların oluştuğu gözlemlendiğinden bu maddeler yüzey etkin maddeler olarak seçilmişlerdir. Aprepitantı çözme kapasitesi göz önünde bulundurularak kosolvan olarak yine Transcutol® P kullanılmıştır.

Tip IIIB ve tip IV formülasyonlar için uygun yardımcı maddeler seçildikten sonra, seçilen yardımcı maddelerin formülasyon içerisindeki uygun oranları araştırılmıştır. Üçgen faz diyagramları oluşturularak şeffaf nanoemülsiyon bölgelerinin alanları belirlenmiş ve en yüksek alana sahip yardımcı madde grupları ile çalışmalara devam edilmiştir. Tip IIIB formülasyonlar için Imwitor® 988 – Kolliphor® RH40 – Transcutol® P (IrhT) ve tip IV formülasyonlar için Capryol™ 90 – Kolliphor® CS20 – Transcutol® P (CcsT) ile istenilen damlacık boyutu ve polidispersiteye sahip özellikte nanoemülsiyonlar elde edilmiştir.

Uygun özellikte nanoemülsiyon oluşturabilen formülasyonlara yüklenebilecek aprepitant miktarları tespit edilmiş, farklı miktarlarda aprepitant yüklenmesinin damlacık boyutuna ve PDI değerine olan etkileri incelenmiştir. Etkin madde yüklü formülasyonların oluşturduğu nanoemülsiyonların kısa süreli (4 saat boyunca) stabiliteleri incelenmiş, etkin maddenin daha uzun süre çökmeden kalabildiği formülasyonlar tercih edilmiştir. Oluşan nanoemülsiyonlarda dispersiyon içerisinde çökmeden kalabilen aprepitant miktarının tayin edilebilmesi amacıyla 4 saat boyunca, sink olmayan koşullarda, etkin madde çökme testleri gerçekleştirilmiştir. Test süresinin belirlenmesi aprepitantın *in vivo* ortamdaki t_{maks} değeri düşünülerek gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmaları boyunca aprepitant çözme kapasitesi en yüksek formülasyon (55,321 mg/mL) olan IrhT 30-10-60 kodlu formülasyon ve etkin madde çökme testi çalışmaları sonucunda en fazla miktarda aprepitantın çökmeden kalabildiği formülasyonlar olan IrhT 20-60-20 ve CcsT 10-50-40 formülasyonları ile araştırmalara devam edilmiştir.

Tezin bir sonraki aşamasında IrhT 30-10-60 formülasyonunda çökme hızının yavaşlatılabilmesi, IrhT 20-60-20 ve CcsT 10-50-40 formülasyonlarına ise doygunluk konsantrasyonunun üzerinde (aşırı doygun SNEDDS) aprepitant yüklenebilmesi amacıyla polimerik yardımcı maddeler seçilmiştir. Formülasyonlara eklenen polimerlerin etkinlikleri zamana karşılık çözeltide kalan aprepitant eğrisinin altında kalan alan hesaplanarak bulunmuştur. Soluplus®'ın tüm formülasyonlarda kristalizasyonu önlemede diğer polimerlerden daha etkili olduğu görülmüştür. Bu çalışmalar sonucunda 40 mg'a kadar aprepitant içerebilen aşırı doygun SNEDDS formülasyonları (A-IrhT ve A-CcsT) hazırlanmıştır.

In vitro lipoliz çalışmalarında formülasyonların *in vivo* ortamda pankreatik lipaz ve safra tuzları karşısında sindirilme oranları incelenmiştir. Sindirimin farklı formülasyonlara olan etkisi ve çözünmüş fazda kalan aprepitant miktarları incelenmiştir. Lipoliz ortamında tip IV A-CcsT 10-50-40 formülasyonu, aprepitantın en yüksek konsantrasyonda çözünmüş olarak kaldığı formülasyon olmuştur. Lipoliz testindeki en başarısız formülasyon A-IrhT 30-10-60 formülasyonu olup, bu formülasyon daha ileri çalışmalarda kullanılmamıştır.

Lipoliz çalışmalarında başarılı bulunan formülasyonlar katı dozaj formuna dönüştürülmüştür. Sıvı SNEDDS (IrhT) formülasyonlarının katı dozaj formuna çevrilmesinde farklı adsorbanlar test edilmiştir. Adsorbanların yükleme kapasiteleri ve elde edilen toz formülasyonun mikromeritik özellikleri bir arada değerlendirildiğinde Neusilin® US2 en uygun adsorban olarak bulunmuştur. CcsT formülasyonları oda sıcaklığında yarı katı özellikte olduğundan, ısıtılıp sıvılaştırıldıktan sonra jelatin kapsüllere dolum yapılarak katı dozaj formuna dönüştürülmüştür.

Katı forma dönüştürülen formülasyonlarda *in vitro* çözünme hızı testleri gerçekleştirilmiştir. Farklı çözünme ortamlarında elde edilen sonuçlara göre A-IrhT 20-60-20 formülasyonunun diğerlerinden daha yavaş çözünme hızına sahip olduğu ve özellikle bazik ortamlarda daha az çözündüğü görülmüştür. Toz formülasyonlar yarı katı formülasyonlar ile kıyaslandıklarında formülasyonun toz hacminin yüksekliği bir dezavantaj oluşturmaktadır. 80 mg aprepitant içeren A-IrhT 20-60-20 formülasyonu 9,74 mL, IrhT 20-60-20 formülasyonu 19,40 mL hacim kaplamaktadır. Bu durum, bu formülasyonların ideal bir farmasötik dozaj formu olması önündeki engel olarak

düşünülebilir. Bununla birlikte A-CcsT 10-50-40 formülasyonu 2 adet 00 kapsüle (1,9 mL) doldurularak 80 mg aprepitant dozuna ulaşmak mümkün olabilmektedir.

Son olarak bu formülasyonların sitotoksosite açısından birbirlerine üstünlükleri olup olmadıkları araştırılmıştır. Yapılan MTT testlerinde bu formülasyonların sitotoksosite açısından birbirlerinden farklı olmadıkları görüldüğünden, katı farmasötik dozaj formuna dönüşümü daha uygun olan A-CcsT 10-50-40 formülasyonu *in vivo* çalışmalarda kullanılmak üzere seçilmiş ve ek karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

5.16. CcsT 10-50-40 ve A-CcsT 10-50-40 Formülasyonları Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları

Tez çalışması sonucunda istenen özelliklere sahip en uygun formülasyon olarak elde edilen formülasyonun karakterizasyonu için çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

İlk olarak etkin madde eklenmeden hazırlanan formülasyonun seyrilmesi ile oluşan dağılımın özelliği incelenmiştir. Yöntemler bölümünde açıklandığı üzere iki farklı şekilde hazırlık gerçekleştirilmiştir. CcsT 10-50-40 formülasyonu tüm yardımcı maddelerin önceden çözülmesi ile gerçekleştirilen ilk hazırlama yönteminde monomodal bir dağılım elde edildiği görülmüştür. CapryolTM 90 sulu faza sonradan eklendiğinde ise multimodal bir dağılım elde edilmiş, damlacık boyutunun ve PDI değerinin arttığı gözlenmiştir. Dolayısı ile sulu dispersiyonun oluşumunda ortamdaki yardımcı maddelerin eklenme sırasının dispersiyonun özelliğini etkilediği gösterilmiştir.

Nanoemülsiyonlar kendisini oluşturan bileşenlerin karıştırılma sırasına duyarlı olduklarından, sadece yüzey etkin maddeler sulu faz eklenmeden önce yağ fazı ile karıştırıldığında oluşurlar (248). Nanoemülsiyonların aksine, mikroemülsiyonlar termodinamik açıdan kararlı formülasyonlar olduklarından bileşenlerin karıştırılma sırası ne olursa olsun aynı özellikte olurlar (249). Sonuç olarak elde edilen bulgular oluşan dispersiyonun bir nanoemülsiyon yapısında olduğunu ve mikroemülsiyon olmadığını göstermektedir. Niederquell ve Kuentz (250) belirli bir boyutun üzerinde termodinamik olarak kararlı dispersiyonlar elde edebilmek için, ara yüzey geriliminin farmasötik formülasyonlar için ulaşılması çok da mümkün olmayan aşırı düşük değerlerde (10^{-3} mN/m gibi) olması gerektiğini belirtmişlerdir. Bu sebeple 50-100 nm arasında damlacık boyutuna sahip ve PDI değeri 0,1'den büyük dispersiyonlar termodinamik olarak kararsız nanoemülsiyonlar olarak sınıflandırılabilirler.

Soluplus®'ın eklenmesiyle hazırlanmış A-CcsT 10-50-40 formülasyonundan oluşan nanoemülsiyon damlacık boyutunun, aynı yardımcı madde oranına sahip klasik SNEDDS formülasyonlarına kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Bannow ve ark. (130) SNEDDS içerisinde doygunluk çözünürlüğünün üzerinde simvastatinin yüklendiğinde damlacık boyutunun önemli oranda arttığını göstermişlerdir. Ek olarak, SNEDDS içerisindeki polimerik maddelerin damlacık boyutu üzerinde belirgin bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bu sonuç, Soluplus® kullanımının damlacıkların büyümesine neden olduğunu düşündürmektedir. Su içerisinde Soluplus®'ın 70-100 nm boyuta sahip miseller oluşturduğu bilinmektedir (141). Damlacık boyutunun 10 nm'den 100 nm civarına yükselmesinde, oluşan Soluplus® misellerinin de etkisi olduğu düşünülmektedir. Quan ve ark. (151) fenofibratin SNEDDS formülasyonunu geliştirmişlerdir. Formülasyon etil oleat, Cremophor® RH40, Transcutol® HP içermekte olup, amorf mezoporöz silika ile katı forma dönüştürülmüştür. Çökmenin önlenmesi için Soluplus® eklenmiş olan formülasyonun damlacık boyutu yaklaşık 130 nm olarak ölçülmüştür. Bir başka çalışmada Lee ve ark. (251) Capryol™ 90, Cremophor® EL, Transcutol® HP ve Soluplus® kullanarak 90-100 nm arasında damlacık boyutuna sahip çeşitli formülasyonlar hazırlamışlardır. Soluplus® içeren farklı formülasyonlar bulunan bu çalışmalarda bulgular tezdeki ölçüm sonuçlarıyla yakınlık göstermektedir.

Etkin madde yüklenmesiyle damlacık boyutunda bir miktar düşüş görülmüştür. Etkin madde eklenmesinin damlacık boyutuna etkisi etkin maddenin fizikokimyasal özelliğine ve formülasyon bileşimine göre değişkenlik gösterebilmektedir. Sudaki çözünürlüğünün yanında yağ çözünürlüğü de düşük olan etkin maddeler ara yüzeyde birikip yüzey gerilimini düşürücü etki gösterebilir. Ayrıca bazı durumlarda etkin madde eklenmesiyle yüzey etkin maddenin kritik misel konsantrasyonunun düşmesine bağlı olarak da damlacık boyutu azalabilmektedir (214).

Formülasyonların farklı ortamlarda gerçekleştirilmiş olan transmitans ölçümlerinde her ortamda yüksek % transmitans değerleri elde edilmiştir. Seyreltilen formülasyonlar şeffaf bir görünüme sahip olduğundan bu durum beklenen bir sonuçtur. Damlacık boyutunun oldukça küçük boyutlarda olması bu şeffaf görüntünün temel nedenidir (90). Yapılan termodinamik stabilite çalışmalarında da görsel açıdan formülasyonlarda ve oluşan dispersiyonlarda görsel yönden bir değişiklik gözlenmemiştir.

Emülsifikasyon etkinliği testinde formülasyonun hızla emülsifiye olup ortamda dağıldığı görülmüştür. A-CcsT 10-50-40 formülasyonunun test ortamında tamamen şeffaf değil de mavimsi-beyaz bir görünüşe sahip olmasının sebebi içerisindeki Soluplus®'dır. Soluplus® yüksek konsantrasyonlarda ve sıcaklıklarda daha büyük boyutlu miseller oluşturması nedeniyle türbid dispersiyonlar oluşturmaktadır. Bu durum 40°C üzerinde daha belirgin olmakta olan geri dönüşümlü bir olaydır (141). A-CcsT 10-50-40 formülasyonunun bulutlanma noktasının yaklaşık 40°C olarak bulunmasının sebebinin de bu olduğu düşünülmüştür. Soluplus® içermeyen CcsT 10-50-40 formülasyonunda 70°C'nin üzerine çıkılmasına rağmen çözeltide herhangi bir bulanıklaşma görülmemiştir. Bulutlanma noktası üzerinde dispersiyonun bulanıklaşması, dispersiyon içerisindeki polietilen oksit zincirlerinin dehidratasyonunun bir sonucudur. Bu durum yüzey etkin maddenin HLB değerinin azalmasına ve dispersiyonun stabilitesinin azalmasına neden olur (252). Bulutlanma noktası vücut sıcaklığından daha yüksek olan formülasyonlar kullanılarak GI sistemde oluşabilecek stabilite sorunundan da kaçınılmış olur (252).

Formülasyonların 1/50, 1/100, 1/500 ve 1/1000 gibi farklı seyreltme derecelerinde elde edilen dispersiyonlarında benzer damlacık boyutuna ve PDI değerine sahip oldukları görülmüştür. Genel olarak en yüksek damlacık boyutu 1/50 seyreltme değerinde görülmüştür. Bunun sebebinin ortamın daha yoğun olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. 1/50 seyreltmede formülasyonlar daha grimsi-beyaz ve opak bir görüntüye sahiptir. DLS tekniği kullanılarak gerçekleştirilecek ölçümlerde, ölçülecek dispersiyonun görsel olarak şeffaf veya hafif mavimsi (bluish) bir türbiditede olması tercih edilmektedir. 1/100 seyreltme oranından itibaren tam şeffaf görünüş elde edilmiş ve tez boyunca genel olarak bu seyreltme oranı tercih edilmiştir. 1/100, 1/500 ve 1/1000 oranlarında elde edilen damlacık boyutu ve PDI değerlerinin birbirleri ile oldukça benzer oldukları görülmüştür. Dolayısı ile seyreltme oranına göre dispersiyonların damlacık boyutunda fazla bir değişim olmadığı gösterilmiştir.

Formülasyonların distile su, pH 1,2, pH 4,5 ve pH 6,8 gibi farklı ortamlarda da damlacık boyutu ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Damlacık boyutları ortam pH'sına göre fazla değişkenlik göstermemekle birlikte, asidik ortamda daha küçük damlacık boyutları ölçülmüştür. Distile su dispersiyonlarının pH'sı da 4-5 arasında olduğundan, pH 4,5 ortamında elde edilen damlacık boyutunun distile sudakilerle benzerlik gösterdiği

görülmüştür. Ortalama olarak en yüksek damlacık boyutu pH 6,8 ortamında ölçülmüştür. Asidik ortamlarda damlacık boyutunun daha küçük olmasının sebebinin aprepitantın bu ortamlardaki çözünürlüğünün daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. AboulFatouh ve ark. (156) kandesartan sileksetil ile hazırlamış oldukları SNEDDS formülasyonunun, kandesartanın daha yüksek çözünürlüğe sahip olduğu pH 6,8 ortamındaki damlacık boyutlarının pH 1,2 ortamlarıyla kıyaslandığında daha küçük olduğunu bildirmişlerdir.

Zeta potansiyel kolloidal dispersiyonların stabilitesini belirlemede önemli bir gösterge olup +30 mV üzerinde veya -30 mV altında olduğunda dispersiyonun stabilitesinin iyi olduğu düşünülür (253). Dispersiyonların zeta potansiyel değerlerinin farklı ortamlarda ve farklı seyreltme oranlarında 0 mV civarında oldukları görülmüştür. Damlacıkların asidik ortamlarda düşük pozitif zeta potansiyele, bazik ortamlarda ise zayıf negatif zeta potansiyele sahip oldukları görülmüştür. Formülasyon bileşiminde kullanılan yüzey etkin maddenin noniyonik karakterde olması ve diğer yardımcı maddelerin de iyonlaşabilen gruplara sahip olmaması nedeniyle zeta potansiyelin 0 mV civarında olması beklenen bir durumdur. SNEDDS formülasyonlarının *in vivo* ortamda nanoemülsifiye olduğu düşünüldüğünde, uzun süreli kolloidal stabilite endişe sebebi değildir. Bu nedenle 0 mV civarında olan zeta potansiyelin stabilite açısından sorun oluşturmayacağı düşünülmektedir.

Formülasyonların sulu ortamda seyrelmesiyle oluşan dispersiyonların pH değerlerinin, GI sistem için katlanılabilir değerlerde olması gerekmektedir. Elde edilen dispersiyonların pH değerleri 4-5 aralığında olduğundan GI sistem için herhangi bir sorun oluşturması beklenmemektedir.

Aprepitant FT-IR spektrumu incelendiğinde etkin maddeye ait tüm karakteristik pikler ilgili dalga numaralarında görülmüştür. FT-IR spektrumu literatürdeki spektrumlarla uyum içerisindedir (14, 17, 168). Formülasyon FT-IR spektrumları incelendiğinde CcsT 10-50-40'ın içeriğindeki tüm yardımcı maddeleri karakteristik piklerini içerdiği görülmüştür. Bu formülasyona Soluplus® eklenerek elde edilen A-CcsT 10-50-40 formülasyonuna ait spektrumda 1621 cm⁻¹'de ek bir pik görülmüştür. Bu pik Soluplus® C=O (amit) gerilimi pikidir (170). Formülasyona etkin madde eklenmesiyle spektrumda belirgin bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Dolayısı ile

kullanılan yardımcı maddelerin birbirleriyle ve etkin maddenin kendisiyle herhangi bir kimyasal geçimsizlik göstermediği düşünülmüştür.

XRPD ve DSC analizleri birbirlerini tamamlayıcı çalışmalar olarak düşünülmelidir. Kristal bir madde XRPD’de kendini Bragg pikleri ile, DSC’de ise erime endotermi ile gösterir. Ancak formülasyonlar içerisindeki düşük orandaki kristal yapının dahi ortaya çıkarılmasında DSC XRPD’ye göre daha hassas bir tekniktir (171). DSC analizi, erime ve kristallenme gibi birinci dereceden geçişleri analiz etmek için en çok kullanılan yöntemlerden biridir (240). DSC’de programlanmış bir ısıtma analizinin başlangıcında, numunenin ve referansın ısı kapasitesindeki farklılıklara bağlı olarak endotermik bir olay görülebilir. Alınan üç termogramda da bulunan bu olay endotermik başlangıç kancası (start-up hook) olarak isimlendirilir. Bu durum ısıtma hızı ile genellikle artış gösterir. Aprepitantın DSC termogramında 251,97⁰C’de keskin endotermik bir pik görülmüştür. Literatürde aprepitantın erime derecesini 250-257⁰C arasında gösteren DSC verileri bulunmaktadır (18, 181, 184, 186). Elde edilen bulguların literatür ile de uyumlu olduğu görülmektedir. Boş formülasyonda ve aprepitant yüklü formülasyonda ise keskin bir endotermik pik görülmemiştir. 140-160⁰C aralığında görülen yayvan endotermik pikin hem boş hem de aprepitant içeren formülasyonda görülmesi sebebiyle yardımcı madde kaynaklı bir endotermik olay (Transcutol® P’nin buharlaşması gibi) olabileceği düşünülmektedir. Formülasyon termogramında 250⁰C civarında görülen endotermik olay formülasyon içerisinde amorf formun yanında kristal formda da aprepitantın olabileceği (kristalinite azalma) şeklinde yorumlanmıştır. Bu yorum XRPD verileri ile de desteklenmiştir. Toz aprepitant ile yapılan XRPD çalışmalarında elde edilen difraktogramda birçok keskin pik görülmüştür. Bu kullanılan toz aprepitantın kristal yapıda olduğunu göstermektedir. Difraktogram detaylı olarak incelendiğinde toz aprepitantın form I ve form II kristallerin karışımı şeklinde olduğu sonucuna varılmıştır. Aprepitant yüklü A-CcsT 10-50-40 formülasyonu ile yapılan XRPD çalışmalarında, keskin piklerin görülmeyp klasik “halo” deseninin görülmesi aprepitantın formülasyon içerisinde büyük oranda amorf formda bulunduğunu düşündürse de, “halo” deseni üzerinde 25° (2θ) civarında görülen küçük pik kristal yapıda aprepitantın varlığına da işaret etmektedir. Elde edilen bu bulgulara göre XRPD ve DSC verilerinin birbiri ile uyum içerisinde olduğu görülmüştür.

Seçilen ideal formülasyonda uzun dönem ve hızlandırılmış stabilite çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Stabilite alışmaları ICH Q1A(R2) kılavuzuna (254) göre gerçekleştirilmiştir. Bu kılavuza göre dünya üzerinde 5 ayrı iklimatik bölge tanımlanmıştır. Bunlar Zon I (ılıman iklim), Zon II (Akdeniz, subtropik), Zon III (sıcak, kuru iklim), Zon IVa (sıcak, nemli tropik iklim), Zon IVb (sıcak ve çok yüksek nemli iklim) iklim kuşaklarıdır. Türkiye Zon II’de yer almaktadır. Bu sebeple uzun dönem stabilite çalışmaları $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ve $\%60 \pm 5$ rölatif nemde 12 ay, hızlandırılmış stabilite çalışmaları ise $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ve $\%75 \pm 5$ rölatif nemde 6 ay olarak planlanmıştır. Stabilite alışmaları sonucunda etkin maddenin $\%85$ ’inden ($Q+\%5$) fazlasının ilk 30 dakika içerisinde çözündüğü görölmüştür. Çözünme hızı profillerinde görölen değişikliklerin sert jelatin kapsüllerin dağılma süresi ile ilgili olduğu düşünölmektedir.

Marvola ve ark. (255) jelatinden yapılmış boş kapsüllerin suda ve 0,1M HCl özeltilisinde ortalama 1-2 dakikada dağıldığını göstermişlerdir. Benzer bir sonuç Chiwele ve ark. (256) alışması ile de gösterilmiştir. pH değeri 5’ten küçük çözünme ortamlarında SLS bulunması, suda özünörlüğü daha az olan bir jelatin çökeltisinin oluşması nedeniyle, sert jelatin kapsöl kabuklarının çözünmesinin yavaşlamasına neden olmaktadır (257). Kullanılan $\%2,2$ SLS içeren dissolüsyon ortamının pH değeri $7,2 \pm 0,1$ olarak ölçölmüştür. Yeni hazırlanmış kapsüllerin ilk 3 dakika içerisinde dağıldıkları gözlenmiş olup, bu nedenle SLS kaynaklı bir gecikme yaşanmadığı düşünölmektedir. Literatürde hem sert hem de yumuşak jelatin kapsüller için çapraz bağlanmanın jelatin kapsöl kabuklarının fizyokimyasal özelliklerini değiştirdiğı ve jelatin kapsöl kabuğunun iç veya dış yüzeyinde suda çözünmeyen bir film veya zar oluşturduğu gibi gözlemleri içeren çalışmalar mevcuttur. Kapsöl formülasyonlarının çözünme hızları, çapraz bağlanma meydana geldiğinde gecikebilmektedir (258). Stabilite alışması yapılan jelatin kapsüllerin içerisindeki formülasyon ile arasındaki sınırlı etkileşimin kapsöl dağılma süresindeki sapmayı artırdığı ve ortalama 1-3 dakikadan 4-6 dakika aralığına çıkardığı görölmüştür. İki değer arasında oluşan zaman farkının çözünme hızı profillerinin kaymasına sebep olduğu düşünölmektedir.

Stabilite alışmaları sonucunda hem damlacık boyutunda hem de PDI değerlerinde değişimler olduğu görölmüştür. 25°C ve $\%60$ rölatif nemde gerçekleştirilen stabilite testi bulgularından, iki ayın sonunda PDI değerinin 0,15’ten 0,40-0,45 aralığına ve damlacık boyutunun ise 100 nm’den 200 nm’ye kademeli olarak

yükseldiği görülmüştür. Takip eden aylarda ve hızlandırılmış stabilite çalışmalarından elde edilen sonuçlar incelendiğinde damlacık boyutunun 200 nm civarında sabit kaldığı görülmüştür. Başlangıç durumuna göre damlacık boyutunda görülen artış, formülasyonun çözünme hızı performansında belirgin bir değişime yol açmamıştır.

5.17. Toz Aprepitantın Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı

Toz aprepitantta gerçekleştirilen partikül boyutu ve dağılımı ölçümlerine göre numunedeki partiküllerin %10'unun 7,51 μm 'den, %50'sinin 21,3 μm 'den ve %90'ının da 51,0 μm 'den küçük olduğu görülmüştür. Span parametresi bu boyutlardan hesaplanmış ve dağılımın genişliğini veya yayılımını gösteren bir parametredir. $D_v(90)-D_v(10)$ farkının $D_v(50)$ 'ye bölünmesi ile hesaplanır. Dağılımdaki %10 ve %90 noktalarının birbirinden ne kadar uzakta olduğunun bir göstergesi olup, fark %50 noktasına göre normalize edilir.

Dağılımın yüzey alanı bazlı Sauter ortalama çapı ($D[3,2]$) 15,7 μm olarak bulunmuştur. Hesaplanmış bir diğer ortalama çap, hacim bazlı De Brouckere ortalama çapı ($D[4,3]$) olup 26,6 μm olarak bulunmuştur. Sauter ortalaması dağılımdaki ince partiküllere duyarlıyken, De Brouckere ortalaması dağılımdaki kaba partiküllere daha duyarlıdır. Amaç, toz numunesinin büyük kısmını oluşturan kaba partiküllerin boyutunu incelemek ise $D[4,3]$ değerini kullanmak uygunken, numunedeki küçük partiküllerin oranı daha önemliyse $D[3,2]$ değerini kullanmak daha uygun olmaktadır.

5.18. *In vivo* Biyoyararlanım Çalışması

Fare, sıçan gibi küçük laboratuvar hayvanlarının kendiliğinden emülsifiye olabilen formülasyonların değerlendirilmesinde sıklıkla sorunlarla karşılaşılabilir. Bu hayvanlara sert veya yumuşak kapsül yutturmak pek mümkün olmadığından, bu tip formülasyonların *in vivo* değerlendirilmesi için Beagle cinsi köpekler gibi daha büyük hayvanların kullanılması tavsiye edilmektedir (31). Ancak büyük hayvanların barındırılmaları veya bakımları güçlük oluşturmakta ve temini her zaman mümkün olamamaktadır. Bu sebeple tez kapsamında gerçekleştirilen *in vivo* biyoyararlanım çalışmaları sıçanlarda gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonuçlarının anlamlı olabilmesi açısından her grubun 8 hayvandan oluşmasının uygun olduğu düşünülmüştür. Bu sayı aynı zamanda çalışma sırasında karşılaşılabilecek herhangi bir olumsuzluk nedeniyle sayının azalması riskine karşı çalışmayı tehlikeye atmayacak yeterliliktedir.

Sıçanlara kapsül yutturmak mümkün olmadığı için hazırlanan formülasyonların doğrudan verilmesi planlanmıştır. FDA İlaç Değerlendirme ve Araştırma Merkezi (CDER) tarafından yayınlanmış kılavuza göre insan dozunun sıçana dönüşümünde 6,2 katsayısı dikkate alınmıştır. Ortalama insan ağırlığının 60 kg alındığı kılavuza göre 80-125 mg aralığı aprepitant dozu 1,33-2,08 mg/kg'a eşdeğerdir. Dönüşüm katsayısı göz önüne alındığında sıçan dozu 8,27-12,92 mg/kg olarak hesaplanmıştır. Bu veriler baz alınarak 10 mg/kg dozun uygun olduğu sonucuna varılmıştır (259). Ek olarak yapılan literatür taramalarında da Sprague Dawley sıçanlarda 10 mg/kg dozun kullanılmış olduğu görülmüş olup hem süspansiyon hem de formülasyon bu dozda uygulanmıştır (260). 3,33 mg/mL konsantrasyonda aprepitant içeren süspansiyon, sıçanlara ağırlıkları ile orantılı olarak 0,74-0,99 mL arasında uygulanmıştır. Belirtilen dozda formülasyonların sıçanlara uygulanabilmesi için alınması gereken formülasyon miktarı oldukça düşük olduğundan formülasyonlar deney hayvanlarına verilmeden önce seyreltilebilmektedir (261). Doz denkliğinin sağlanabilmesi amacıyla formülasyon uygulamadan önce sulandırılmış, 3,33 mg/mL aprepitant içeren bir dispersion elde edilmiştir. Bu dispersiyon sıçanlara ağırlıkları ile orantılı olarak 0,76-0,93 mL arasında uygulanmıştır.

Hesaplanan farmakokinetik parametreler kıyaslandığında, eğri altında kalan alanlardan hareketle, formülasyon grubunun biyoyararlanımının süspansiyon grubunun 2,3 katı (relatif biyoyararlanım %230) olduğu görülmüştür. Formülasyonun absorpsiyon sabiti de benzer şekilde süspansiyon grubunun 2,4 katı bulunmuştur. Absorpsiyon yarılanma ömrü formülasyon grubunda ortalama 71 dakika, süspansiyon grubunda ise 155 dakika olarak bulunmuştur. Bu durum sıçanlara uygulanmış formülasyonun çok daha hızlı şekilde emildiğini göstermektedir. Formülasyondan oluşan dispersiyondaki damlacıkların ortalama 90 nm, süspansiyon içerisindeki partiküllerin ise ortalama 26,6 µm olduğu bilinmektedir. Emilim hızındaki farklılığın ana nedeninin, partikül boyutuna bağlı olarak çözünme hızında görülen değişim olduğu düşünülmektedir. Hızlı emilime bağlı olarak formülasyon grubunda plazma doruk konsantrasyonu süspansiyon grubunun 3,4 katı kadar bulunmuştur. Böylelikle çözünürlüğün biyoyararlanımda hız kısıtlayıcı olduğu bir etkin madde olan aprepitantın çözünme hızını iyileştiren bir formülasyon geliştirilerek biyoyararlanım artışı sağlanmıştır.

Aprepitantın biyoyararlanımını artırma amacıyla gerçekleştirilen çok sayıda çalışma ve formülasyon literatürde bulunmaktadır. Bu formülasyonların çoğunda temel yaklaşım çözünme hızını artırmak üzerinedir. Siklodekstrin, nanokristal, katı dispersiyon formülasyonları en sık kullanılan formülasyon tasarımlarıdır. Örneğin, Angi ve ark. (16) anti-çözücü ilavesiyle, stabilizatör içeren organik çözeltisinden aprepitantın kontrollü çöktürülmesine dayanan, sürekli akış yöntemiyle nanosüspansiyon üretmişlerdir. Organik çözücü olarak etanol, anti-çözücü olarak su, stabilizatör olarak ise Soluplus® ve SLS kullanmışlardır. Optimize edilmiş formül hazırlanırken kullanılan çözelti konsantrasyonları (etanol içinde) 14 mg/mL aprepitant, 70 mg/mL Soluplus®, 2,8 mg/mL SLS olarak bulmuşlardır. Çözücü : anti-çözücü oranı 1:20 olarak belirtilmiştir. Elde edilen kolloidal dağılım püskürtmeli kurutucuda kurutularak katı forma dönüştürülmüştür. Bu yöntem sonucunda elde edilen formülasyonun partikül boyutu 100 nm civarında bulunmuştur. Beagle cinsi köpeklerde yapılan *in vivo* çalışmalar bu formülasyonun biyoyararlanımının Emend® ile oldukça benzer olduğunu göstermiştir. Emend® içerisindeki aprepitantın da ortalama 120 nm olduğu düşünüldüğünde bu beklenen bir sonuçtur. Partikül boyutunun küçültülmesine yönelik bir diğer çalışma Zhang ve ark. (262) tarafından gerçekleştirilmiştir. Ekip öğütme yöntemiyle aprepitantın nanokristal (224,5 nm) formunu hazırlamış ve bunun dissolüsyon hızını ve biyoyararlanımını farklı partikül boyutuna sahip aprepitant tozları (20 µm, 1 µm) ile kıyaslamıştır. 20 µm boyutundaki kristallerle nanokristallerin su çözünürlüğü kıyaslandığında 110,4 kat artış görüldüğü bildirilmiştir. Açlık koşullarında yapılan *in vivo* çalışmalarda nanokristallerin aprepitant biyoyararlanımını 20 µm'lik kristallere göre 2,05 kat 1 µm'lik kristallere göre ise 1,43 kat artırdığı bildirilmiştir. Bu çalışma partikül boyutu azalmasının çözünme hızına ve biyoyararlanıma olan etkisini açıkça ortaya koymaktadır. Ayrıca elde edilen bulguların tez çalışmasının bulguları ile de uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Çalışmada 224,5 nm ve 20 µm partiküller kıyaslandığından biyoyararlanımın 2,05 katına çıktığı bildirilmektedir. 90 nm damlacık boyutuna sahip nanoemülsiyon ile 26,6 µm boyutundaki kristallerin kıyaslandığı tez biyoyararlanım çalışmasında ise biyoyararlanımın 2,3 katına çıktığı görülmektedir.

Ridhurkar ve ark. (172) aprepitantın β-siklodekstrin kompleksini üretmişlerdir. Üretim yöntemi olarak yoğurma (kneading) ve çözücü uçurma yöntemleri kullanılmıştır. Elde edilen toz komplekse Avicel® PH 200, SLS ve Aerosil® 200 eklenmiş ve toz formülasyon kapsüle doldurulmuştur. Yapılan dissolüsyon

çalışmalarının sonucunda yoğurma yöntemiyle üretilen formülasyonlarla devam edilmesine karar verilmiştir. *In vivo* çalışmalar 18 sağlıklı gönüllü insanda yapılmış, referans ürünle (Emend®) kıyaslandığında biyoyararlanımın istatistiksel açıdan benzer olduğu bildirilmiştir.

Ren ve ark. (30) aprepitantın sülfobutil eter- β -siklodekstrin ile inklüzyon kompleksini hazırlamışlardır. Siklodekstrinin sulu çözeltisi aprepitantın etanollü çözeltisiyle karıştırılıp pH 2'ye ayarlanmıştır. Çözelti 55°C'de karıştırılıp çözücülerin uçması sağlanmış, vakumlu etüvde kurutma yapılarak kuru toz elde edilmiştir. Test edilen tüm dissolüsyon ortamlarında (%2,2 SLS, pH 1 HCl çözeltisi, pH 4,5 asetat tamponu, pH 6,8 fosfat tamponu) referans üründen daha hızlı bir çözünme hızı görüldüğü bildirilmiştir. Beagle cinsi köpeklerde yapılan *in vivo* çalışmalarda formülasyon biyoyararlanımının Emend® ile neredeyse aynı olduğu gösterilmiştir.

Liu ve ark. (181) aprepitant : Soluplus® oranı 1:3-6 arasında değişen katı dağılımlar hazırlamışlardır. Hazırlama yöntemi olarak çözücü (aseton) uçurma yöntemi kullanılmıştır. Hazırlanan tüm katı dağılımların çözünme hızını artırdığı bildirilmiştir. En yüksek artış 1:6 formülasyonunda olmuş ve 30 dakika içerisinde toz aprepitanta göre 9 kat artış olduğu bildirilmiştir. 1:6 ve 1:5 katı dağılımların salım profilleri çok benzer olduğundan *in vivo* çalışmalarda 1:5 formülasyonu kullanılmış ve bu formülasyonun biyoyararlanımı toz aprepitanta göre 2,4 kat artırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmada ayrıca katı dağılımların referans ilaç olan Emend® ile istatistiksel olarak benzer biyoyararlanıma sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Yukarıda belirtilen üç çalışmada kullanılan formülasyonlarla elde edilen biyoyararlanımların Emend® kapsül ile benzer olduğu bildirilmiştir. Partikül boyutunun azalmasına bağlı olarak elde edilen çözünme hızı artışının biyoyararlanıma etkisinin bir noktada limit değere ulaştığı düşünülmektedir. Emend® kapsülün ötesinde bir biyoyararlanım elde edebilmek için çözünme hızı artışının yanında aprepitantın GI membranlardan geçirgenliğini de artıracak formülasyonların faydalı olabileceği düşünülmektedir. Örneğin, Kamboj ve ark. (20) Capmul® MCM C10, Tween® 80 ve Transcutol® kullanarak damlacık boyutu 143-175 nm olan (PDI 0,20-0,23) aprepitant mikroemülsiyonu geliştirmişlerdir. Aerosil® 200 etanolde dağıtılıp üzerine hazırlanan mikroemülsiyon eklenmiş ve bu süspansiyon püskürtmeli kurutucu kullanılarak serbestçe akan toz forma çevrilmiştir. Dissolüsyon çalışmaları ve tavşanlarda

gerçekleştirilen *in vivo* çalışmalarda ilacın çözünme hızında ve biyoyararlanımında 1,5-2 kat artış olduğu bildirilmiştir. Ayrıca yapılan *ex vivo* çalışmalar etkin madde geçirgenliğinin formülasyona bağlı olarak 2-2,5 kat arttığı gösterilmiştir. Bu formülasyon içerisinde kullanılan Tween® 80 ve Transcutol® gibi yardımcı maddeler, etkin maddelerin membran permeabilitesini artırma özelliği olduğu bilinen maddelerdir. Damlacık boyutunun azalmasının yanında, membran permeabilitesi de artırılarak biyoyararlanım farklı yollar ile yükseltilmeye çalışılmıştır. Kamboj ve Rana (186) Capmul® MCM C8, Tween® 80 ve Transcutol® içeren oldukça benzer bir formülasyon hazırlayarak bunu mısırdan elde edilen bir çeşit zatk ve magnezyum silikat ile hazırladıkları yeni bir taşıyıcı adsorban üzerine eklemişlerdir. Yöntem olarak püskürterek kurutma, liyofilizasyon veya etüvde kurutma yöntemlerini denemişlerdir. Yapılan dissolüsyon çalışmaları ve tavşanlarda yapılan *in vivo* çalışmalarda ilacın çözünme hızında ve biyoyararlanımında %10 artış görüldüğü bildirilmiştir. Ayrıca aprepitantın membran permeabilitesinde artış olduğu bildirilmiştir. Bu iki çalışmanın bulgularından hareketle tez çalışması sırasında sıçanlara uygulanan SNEDDS formülasyonunda kullanılan Capryol™ 90 ve Transcutol® P'nin aprepitantın membrandan geçişini artıracığı öngörülmektedir. Ancak bunun kanıtlanması için permeabilite çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

Erdoğan ve ark. (263) 9 karbonlu alkil zincirlerine sahip yeni bir amfifilik siklodekstrin ile nano çöktürme yöntemini kullanarak aprepitantın nanopartikül ve nanokapsüllerini hazırlamışlardır. Bu nanotaşıyıcılar kitosan-PEG ile kaplanmışlardır. Elde edilen nano yapıların 400-550 nm aralığında olduğu bildirilmiştir. Hazırlanan nano taşıyıcıların aprepitant geçirgenliğini 2-3 kat artırdığı gösterilmiştir. Sıçanlarda gerçekleştirilen *in vivo* çalışmalarda nanokapsül formülasyonunun ticari ürünle benzer bir biyoyararlanıma sahip olduğu gösterilmiştir. Bu siklodekstrin formülasyonunda hem partikül boyutunun küçültülmesine bağlı olarak çözünürlük artışının, hem de membran geçirgenliği artışının biyoyararlanım artışında birlikte rol oynadıkları söylenebilir.

Aprepitantın biyoyararlanımını artırmak için geliştirilen farklı bir formülasyon tasarımı da ağızda dağılan film formülasyonlarıdır. Örneğin, Sharma ve ark. (264) %30 pullulan, %70 demirhindi pektini karışımına plastizer olarak %0,1 sıvı glukoz ekleyerek ağızda dağılan bir film formülasyonu hazırlamışlardır. Elde edilen aprepitant yüklü filmin 18 saniyede dağıldığı bildirilmiştir. Hazırlanmış olan bu formülasyonun

aprepitantın dissolüsyon hızını ve tavşanlardaki biyoyararlanımını anlamlı ölçüde (1,15 kat) artırdığı gösterilmiştir. Benzer şekilde, Bala ve ark. (265) pullulan, PEG 400, sitrik asit, Tween® 80, mannitol ve su kullanarak aprepitantın çözünen film formülasyonlarını hazırlamışlardır. İdeal formülasyonda pullulan oranı %42,92 ve PEG 400 oranı % 7,92 olarak bulunmuştur. 10 dakika içinde yüklenen etkin maddenin %85'i çözündüğü görülmüştür. Tavşanlarda yapılan *in vivo* biyoyararlanım çalışmasında, geliştirilen formülasyonun pazarlanan ürünle kıyaslandığında biyoyararlanımın %11 arttığını bildirmişlerdir.

Literatürde bulunan ve özetlenen bu çalışmaların tamamı çeşitli mekanizmalarla aprepitantın çözünme hızını artırmış ve böylece GI sistemde emilmeye hazır hale gelen etkin madde miktarının artmasını sağlamıştır. Bu formülasyonların bir kısmı çözünme hızını artırmaya ek olarak aprepitantın permeabilitesini de artırmıştır. Literatürde başarılı sonuçlar elde edilen bu yöntemlerin özellikle bazılarının tekniksel olarak zorluklar içerdiği ve gerek formülasyon üretimi sırasında gerekse ölçek büyütme sırasında sorunlar yaşayabileceği düşünülmektedir. Tez çalışması sonucunda üretilen formülasyon, sadece basit karıştırıcıların ve kapsüle dolum aletlerinin bulunduğu nispeten düşük maliyetli tesislerde dahi büyük ölçekte üretilebilir olmak gibi bir avantaja sahiptir. Siklodekstrinler veya maliyeti yüksek öğütme tekniklerinin kullanılmamasının geliştirilen formülasyonun önemli bir avantaj olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, bu tez çalışması kapsamında aprepitantın kendiliğinden emülsifiye olan formülasyonu geliştirilmiştir. Geliştirilen formülasyonun *in vitro* ve *in vivo* özellikleri araştırılmıştır. Böylece amaçlandığı üzere, ticari olarak pazarlanan mevcut dozaj formuna bir alternatif olabilecek, başta kanser hastaları olmak üzere, bulantı ve kusma nedeniyle yaşam kaliteleri azalan hasta gruplarının kullanabileceği yenilikçi bir ilaç formülasyonu geliştirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Jaskirat S, Manpreet W, Harikumar SL. Solubility Enhancement By Solid Dispersion Method: A Review. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics* 2013; **3** (5): 148-155.
2. Attari Z, Kalvakuntla S, Reddy MS, Deshpande M, Rao CM, Koteshwara KB. Formulation and characterisation of nanosuspensions of BCS class II and IV drugs by combinative method. *J Exp Nanosci* 2016; **11** (4): 276-288.
3. Kim D, Park C, Meghani NM, Tran TTD, Tran PHL, Park JB, Lee BJ. Utilization of a fattigation platform gelatin-oleic acid sodium salt conjugate as a novel solubilizing adjuvant for poorly water-soluble drugs via self-assembly and nanonization. *Int J Pharm* 2020; **575**: 118892.
4. Date AA, Desai N, Dixit R, Nagarsenker M. Self-nanoemulsifying drug delivery systems: Formulation insights, applications and advances. *Nanomedicine* 2010; **5** (10): 1595-1616.
5. Curran MP, Robinson DM. Aprepitant: A Review of its Use in the Prevention of Nausea and Vomiting. *Drugs* 2009; **69** (13): 1853-1878.
6. Aapro MS, Walko CM. Aprepitant: drug-drug interactions in perspective. *Ann Oncol* 2010; **21** (12): 2316-2323.
7. Junyaprasert VB, Morakul B. Nanocrystals for enhancement of oral bioavailability of poorly water-soluble drugs. *Asian J Pharm Sci* 2015; **10** (1): 13-23.
8. Rahman M, Arevalo F, Coelho A, Bilgili E. Hybrid nanocrystal-amorphous solid dispersions (HyNASDs) as alternative to ASDs for enhanced release of BCS Class II drugs. *Eur J Pharm Biopharm* 2019; **145**: 12-26.
9. Nazli H, Mesut B, Özsoy Y. Çözünürlüğü Düşük Olan Etken Maddeler İçin Farmasötik Yaklaşımlar ve Aprepitantın Çözünürlüğü. *FABAD J Pharm Sci* 2021; **46** (3): 325-344.
10. Savjani KT, Gajjar AK, Savjani JK. Drug solubility: importance and enhancement techniques. *ISRN Pharm* 2012; **2012**: 195727.
11. Chen ML, John M, Lee SL, Tyner KM. Development Considerations for Nanocrystal Drug Products. *AAPS J* 2017; **19** (3): 642-651.
12. McPherson S, Perrier J, Dunn C, Khadra I, Davidson S, Ainousah B, Wilson CG, Halbert G. Small scale design of experiment investigation of equilibrium solubility in simulated fasted and fed intestinal fluid. *Eur J Pharm Biopharm* 2020; **150**: 14-23.
13. Madsen CM, Feng KI, Leithead A, Canfield N, Jorgensen SA, Mullertz A, Rades T. Effect of composition of simulated intestinal media on the solubility of poorly soluble compounds investigated by design of experiments. *Eur J Pharm Sci* 2018; **111**: 311-319.

14. Yeo S, An J, Park C, Kim D, Lee J. Design and Characterization of Phosphatidylcholine-Based Solid Dispersions of Aprepitant for Enhanced Solubility and Dissolution. *Pharm* 2020; **12** (5): 407-427.
15. Shono Y, Jantratid E, Kesisoglou F, Reppas C, Dressman JB. Forecasting in vivo oral absorption and food effect of micronized and nanosized aprepitant formulations in humans. *Eur J Pharm Biopharm* 2010; **76** (1): 95-104.
16. Angi R, Solymosi T, Otvos Z, Ordasi B, Glavinas H, Filipcsei G, Heltovics G, Darvas F. Novel continuous flow technology for the development of a nanostructured Aprepitant formulation with improved pharmacokinetic properties. *Eur J Pharm Biopharm* 2014; **86** (3): 361-368.
17. Penumetcha SS, Gutta LN, Dhanala H, Yamili S, Challa S, Rudraraju S, Rudraraju S, Rudraraju V. Hot melt extruded Aprepitant-Soluplus solid dispersion: preformulation considerations, stability and in vitro study. *Drug Dev Ind Pharm* 2016; **42** (10): 1609-1620.
18. Kalvakuntla S, Deshpande M, Attari Z, Kunnatur BK. Preparation and Characterization of Nanosuspension of Aprepitant by H96 Process. *Adv Pharm Bull* 2016; **6** (1): 83-90.
19. Nanaki S, Eleftheriou RM, Barmpalexis P, Kostoglou M, Karavas E, Bikiaris D. Evaluation of Dissolution Enhancement of Aprepitant Drug in Ternary Pharmaceutical Solid Dispersions with Soluplus® and Poloxamer 188 Prepared by Melt Mixing. *Sci* 2019; **1** (1).
20. Kamboj S, Sharma R, Singh K, Rana V. Aprepitant loaded solid preconcentrated microemulsion for enhanced bioavailability: A comparison with micronized Aprepitant. *Eur J Pharm Sci* 2015; **78**: 90-102.
21. Benet LZ, Broccatelli F, Oprea TI. BDDCS applied to over 900 drugs. *AAPS J* 2011; **13** (4): 519-547.
22. Dando TM, Perry CM. Aprepitant: A Review of its Use in the Prevention of Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting. *Drugs* 2004; **64** (7): 777-794.
23. Munoz M, Covenas R. The Neurokinin-1 Receptor Antagonist Aprepitant: An Intelligent Bullet against Cancer? *Cancers (Basel)* 2020; **12** (9).
24. EMA. Emend Product Information 2021 [Erişim Tarihi: 11.03.2021]. Erişim: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/emend-epar-product-information_en.pdf.
25. Junghanns JU, Muller RH. Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications. *Int J Nanomedicine* 2008; **3** (3): 295-309.
26. Patel L, Lindley C. Aprepitant – a novel NK1-receptor antagonist. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 2003; **4** (12): 2279-2296.
27. Dushenkov A, Kalabalik J, Carbone A, Jungsuwadee P. Drug interactions with aprepitant or fosaprepitant: Review of literature and implications for clinical practice. *J Oncol Pharm Pract* 2017; **23** (4): 296-308.

28. Schoffelen R, Lankheet AG, van Herpen CML, van der Hoeven JJM, Desar IME, Kramers C. Drug-drug interactions with aprepitant in antiemetic prophylaxis for chemotherapy. *Neth J Med* 2018; **76** (3): 109-114.
29. Merisko-Liversidge E, Liversidge GG. Nanosizing for oral and parenteral drug delivery: a perspective on formulating poorly-water soluble compounds using wet media milling technology. *Adv Drug Deliv Rev* 2011; **63** (6): 427-440.
30. Ren LL, Zhou Y, Wei P, Li M, Chen GG. Preparation and Pharmacokinetic Study of Aprepitant-Sulfobutyl Ether-beta-Cyclodextrin Complex. *AAPS PharmSciTech* 2014; **15** (1): 121-130.
31. Kawakami K. Modification of physicochemical characteristics of active pharmaceutical ingredients and application of supersaturatable dosage forms for improving bioavailability of poorly absorbed drugs. *Adv Drug Deliv Rev* 2012; **64** (6): 480-495.
32. Olver I, Shelukar S, Thompson KC. Nanomedicines in the treatment of emesis during chemotherapy: focus on aprepitant. *Int J Nanomedicine* 2007; **2** (1): 13-18.
33. EMA. European public assessment report (EPAR) for Emend - Scientific Discussion 2021 [Erişim Tarihi: 15.03.2021]. Erişim: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/emend-epar-scientific-discussion_en.pdf.
34. Tovey GD. Pharmaceutical Formulation The Science and Technology of Dosage Forms. Thurston D, editor. United Kingdom: Royal Society of Chemistry; 2018. 409 p.
35. Kesiosoglou F, Mitra A. Crystalline nanosuspensions as potential toxicology and clinical oral formulations for BCS II/IV compounds. *AAPS J* 2012; **14** (4): 677-687.
36. FDA. Emend Drug Approval Package 2021 [Erişim Tarihi: 12.03.2021]. Erişim: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2003/21-549_Emend.cfm.
37. FDA. Cinvanti Drug Approval Package 2021 [Erişim Tarihi: 06.04.2021]. Erişim: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2017/209296Orig1s000SummaryR.pdf.
38. EMA. European public assessment report (EPAR) for Emend 2021 [Erişim Tarihi: 12.03.2021]. Erişim: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/emend#authorisation-details-section>.
39. TITCK. TITCK Ruhsatlı Ürünler Listesi (05.03.2021) 2021 [Erişim Tarihi: 12.03.2021]. Erişim: <https://www.titck.gov.tr/dinamikmodul/85>.
40. Navari RM. Fosaprepitant (MK-0517): a neurokinin-1 receptor antagonist for the prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting. *Expert Opin Investig Drugs* 2007; **16** (12): 1977-1985.

41. Van Belle SJ, Cocquyt V. Fosaprepitant dimeglumine (MK-0517 or L-785,298), an intravenous neurokinin-1 antagonist for the prevention of chemotherapy induced nausea and vomiting. *Expert Opin Pharmacother* 2008; **9** (18): 3261-3270.
42. Popa SL, Chiarioni G, David L, Golea GI, Dumitrascu DL. Functional Emesis. *J Gastrointestin Liver Dis* 2019; **28** (3): 319-325.
43. Babic T, Browning KN. The role of vagal neurocircuits in the regulation of nausea and vomiting. *Eur J Pharmacol* 2014; **722**: 38-47.
44. Lacy BE, Parkman HP, Camilleri M. Chronic nausea and vomiting: evaluation and treatment. *Am J Gastroenterol* 2018; **113** (5): 647-659.
45. Kenward H, Pelligand L, Savary-Bataille K, Elliott J. Nausea: current knowledge of mechanisms, measurement and clinical impact. *Vet J* 2015; **203** (1): 36-43.
46. Singh P, Yoon SS, Kuo B. Nausea: a review of pathophysiology and therapeutics. *Therap Adv Gastroenterol* 2016; **9** (1): 98-112.
47. Kovac AL. Postoperative Nausea and Vomiting: A Practical Guide. Gan TJ, Habib AS, editors. Cambridge: Cambridge University Press; 2016.
48. Sanger GJ, Andrews PLR. A History of Drug Discovery for Treatment of Nausea and Vomiting and the Implications for Future Research. *Front Pharmacol* 2018; **9**: 913.
49. Sanger GJ, Andrews PLR. Treatment of nausea and vomiting: Gaps in our knowledge. *Auton Neurosci-Basic* 2006; **129** (1-2): 3-16.
50. Andrews PL, Sanger GJ. Nausea and the quest for the perfect anti-emetic. *Eur J Pharmacol* 2014; **722**: 108-121.
51. Navari RM. The safety of antiemetic medications for the prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting. *Expert Opin Drug Saf* 2016; **15** (3): 343-356.
52. Navari RM, Aapro M. Antiemetic Prophylaxis for Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting. *N Engl J Med* 2016; **374** (14): 1356-1367.
53. Navari RM. Treatment of Breakthrough and Refractory Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting. *Biomed Res Int* 2015; **2015**: 595894.
54. Hargreaves R, Ferreira JC, Hughes D, Brands J, Hale J, Mattson B, Mills S. Development of aprepitant, the first neurokinin-1 receptor antagonist for the prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting. *Ann N Y Acad Sci* 2011; **1222**: 40-48.
55. Rojas C, Raje M, Tsukamoto T, Slusher BS. Molecular mechanisms of 5-HT(3) and NK(1) receptor antagonists in prevention of emesis. *Eur J Pharmacol* 2014; **722**: 26-37.
56. Jordan K, Gralla R, Jahn F, Molassiotis A. International antiemetic guidelines on chemotherapy induced nausea and vomiting (CINV): content and implementation in daily routine practice. *Eur J Pharmacol* 2014; **722**: 197-202.

57. Tageja N, Groninger H. Chemotherapy-induced nausea and vomiting: an overview and comparison of three consensus guidelines. *Postgrad Med J* 2016; **92** (1083): 34-40.
58. Rapoport BL. Delayed Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting: Pathogenesis, Incidence, and Current Management. *Front Pharmacol* 2017; **8**: 19.
59. Rojas C, Slusher BS. Mechanisms and latest clinical studies of new NK1 receptor antagonists for chemotherapy-induced nausea and vomiting: Rolapitant and NEPA (netupitant/palonosetron). *Cancer Treat Rev* 2015; **41** (10): 904-913.
60. Navari RM. Profile of netupitant/palonosetron (NEPA) fixed dose combination and its potential in the treatment of chemotherapy-induced nausea and vomiting (CINV). *Drug Des Devel Ther* 2015; **9**: 155-161.
61. Rahman MA, Harwansh R, Mirza MA, Hussain S, Hussain A. Oral lipid based drug delivery system (LBDDS): Formulation, characterization and application: A review. *Curr Drug Deliv* 2011; **8** (4): 330-345.
62. Bikiaris DN. Solid dispersions, Part II: new strategies in manufacturing methods for dissolution rate enhancement of poorly water-soluble drugs. *Expert Opin Drug Deliv* 2011; **8** (12): 1663-1680.
63. Kalepu S, Nekkanti V. Insoluble drug delivery strategies: review of recent advances and business prospects. *Acta Pharm Sin B* 2015; **5** (5): 442-453.
64. Porter CJH, Pouton CW, Cuine JF, Charman WN. Enhancing intestinal drug solubilisation using lipid-based delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2008; **60** (6): 673-691.
65. Hauss DJ. Oral Lipid-Based Formulations (Enhancing the Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs). Swarbrick J, editor. USA2007.
66. David JH. Oral Lipid-Based Formulations (Enhancing the Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs). Swarbrick J, editor. USA2007.
67. Pouton CW. Lipid formulations for oral administration of drugs: non-emulsifying, self-emulsifying and 'self-microemulsifying' drug delivery systems. *Eur J Pharm Sci* 2000; **11**: S93-S98.
68. Pouton CW. Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. *Eur J Pharm Sci* 2006; **29** (3-4): 278-287.
69. Cerpnjak K, Zvonar A, Gasperlin M, Vrečer F. Lipid-based systems as a promising approach for enhancing the bioavailability of poorly water-soluble drugs. *Acta Pharm* 2013; **63** (4): 427-445.
70. Niu ZG, Conejos-Sanchez I, Griffin BT, O'Driscoll CM, Alonso MJ. Lipid-based nanocarriers for oral peptide delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2016; **106**: 337-354.
71. Singh D. Lipid Based Drug Delivery System: A Review. *International Journal of Life Sciences and Review* 2015; **1** (11): 308-315.

72. Shrestha H, Bala R, Arora S. Lipid-Based Drug Delivery Systems. *Journal of Pharmaceutics* 2014; **2014**: 801820.
73. Chatterjee B, Almurisi SH, Dukhan AAM, Mandal UK, Sengupta P. Controversies with self-emulsifying drug delivery system from pharmacokinetic point of view. *Drug Deliv* 2016; **23** (9): 3639-3652.
74. Anton N, Vandamme TF. Nano-emulsions and Micro-emulsions: Clarifications of the Critical Differences. *Pharm Res* 2011; **28** (5): 978-985.
75. Shafiq S, Shakeel F, Talegaonkar S, Ahmad FJ, Khar RK, Ali M. Development and bioavailability assessment of ramipril nanoemulsion formulation. *Eur J Pharm Biopharm* 2007; **66** (2): 227-243.
76. Banasaz S, Morozova K, Ferrentino G, Scampicchio M. Encapsulation of Lipid-Soluble Bioactives by Nanoemulsions. *Molecules* 2020; **25** (17).
77. McClements DJ, Rao J. Food-Grade Nanoemulsions: Formulation, Fabrication, Properties, Performance, Biological Fate, and Potential Toxicity. *Crit Rev Food Sci* 2011; **51** (4): 285-330.
78. Gershanik T, Benita S. Self-dispersing lipid formulations for improving oral absorption of lipophilic drugs. *Eur J Pharm Biopharm* 2000; **50** (1): 179-188.
79. Kawabata Y, Wada K, Nakatani M, Yamada S, Onoue S. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: basic approaches and practical applications. *Int J Pharm* 2011; **420** (1): 1-10.
80. Horter D, Dressman JB. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2001; **46**: 75-87.
81. Jain S, Patel N, Lin S. Solubility and dissolution enhancement strategies: current understanding and recent trends. *Drug Dev Ind Pharm* 2015; **41** (6): 875-887.
82. Shah P, Bhalodia D, Shelat P. Nanoemulsion: A pharmaceutical review. *Systematic Reviews in Pharmacy* 2010; **1** (1).
83. Lu Y, Park K. Polymeric micelles and alternative nanonized delivery vehicles for poorly soluble drugs. *Int J Pharm* 2013; **453** (1): 198-214.
84. Thomas N, Holm R, Mullertz A, Rades T. In vitro and in vivo performance of novel supersaturated self-nanoemulsifying drug delivery systems (super-SNEDDS). *J Control Release* 2012; **160** (1): 25-32.
85. Mirza RM, Ahirrao SP, Kshirsagar SJ. A Nanocrystal Technology: To Enhance Solubility Of Poorly Water Soluble Drugs. *Journal of Applied Pharmaceutical Research* 2017; **5** (1): 1-13.
86. Khan AW, Kotta S, Ansari SH, Sharma RK, Ali J. Potentials and challenges in self-nanoemulsifying drug delivery systems. *Expert Opin Drug Deliv* 2012; **9** (10): 1305-1317.
87. Nikolakakis I, Partheniadis I. Self-Emulsifying Granules and Pellets: Composition and Formation Mechanisms for Instant or Controlled Release. *Pharm* 2017; **9** (4).

88. Zanchetta B, Chaud MV, Santana MHA. Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDS) in Pharmaceutical Development. *Advanced Chemical Engineering* 2015; **5** (3): 1-7.
89. Saxena S, Singh HN, Agrawal VK, Chaturvedi S. Lipid Excipients in Self Emulsifying Drug Delivery Systems. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences* 2013; **3** (22): 16-22.
90. Buya AB, Beloqui A, Memvanga PB, Preat V. Self-Nano-Emulsifying Drug-Delivery Systems: From the Development to the Current Applications and Challenges in Oral Drug Delivery. *Pharm* 2020; **12** (12).
91. Fricker G, Kromp T, Wendel A, Blume A, Zirkel J, Rebmann H, Setzer C, Quinkert RO, Martin F, Muller-Goymann C. Phospholipids and Lipid-Based Formulations in Oral Drug Delivery. *Pharm Res* 2010; **27** (8): 1469-1486.
92. IOI-Oleochemical. Lipid-based excipients 2021 [Erişim Tarihi: 21.04.2021]. Erişim: <https://www.ioioleo.de/en/products/pharma/>.
93. Gattefossé. Pharmaceutical Product Finder 2021 [Erişim Tarihi: 21.04.2021]. Erişim: <https://www.gattefosse.com/pharmaceuticals-product-finder/product-finder-pharmaceutical>.
94. Abitec. Lipid Based Excipients 2021 [Erişim Tarihi: 21.04.2021]. Erişim: <https://www.abiteccorp.com/en/pharmaceutical/>.
95. CremerOleo. Fatty Acid Esters 2021 [Erişim Tarihi: 21.04.2021]. Erişim: <https://www.cremeroleo.de/en/products/Esters.html>.
96. Garg V, Gupta R, Bhupinder K, Singh SK, Gulati M. Application of self-emulsifying delivery systems for effective delivery of nutraceuticals. *Emulsions* 2016; **3**: 479-518.
97. Singh B, Bandopadhyay S, Kapil R, Singh R, Katare O. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS): formulation development, characterization, and applications. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 2009; **26** (5): 427-521.
98. Li L, Zhou CH, Xu ZP. Self-Nanoemulsifying Drug-Delivery System and Solidified Self-Nanoemulsifying Drug-Delivery System. Mohapatra SS, Ranjan S, Dasgupta N, Mishra RK, Thomas S, editors: Elsevier; 2019 2019.
99. Pouton CW, Porter CJ. Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: materials, methods and strategies. *Adv Drug Deliv Rev* 2008; **60** (6): 625-637.
100. Gursoy RN, Benita S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. *Biomed Pharmacother* 2004; **58** (3): 173-182.
101. Pouton CW. Formulation of self-emulsifying drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews* 1997; **25**: 47-58.
102. Kuentz M. Oral self-emulsifying drug delivery systems, from biopharmaceutical to technical formulation aspects. *J Drug Deliv Sci Technol* 2011; **21** (1): 17-26.

103. Rahman MA, Hussain A, Hussain MS, Mirza MA, Iqbal Z. Role of excipients in successful development of self-emulsifying/microemulsifying drug delivery system (SEDDS/SMEDDS). *Drug Dev Ind Pharm* 2013; **39** (1): 1-19.
104. Patel D, Sawant KK. Self micro-emulsifying drug delivery system: formulation development and biopharmaceutical evaluation of lipophilic drugs. *Curr Drug Deliv* 2009; **6** (4): 419-424.
105. Gupta S, Kesarla R, Omri A. Formulation strategies to improve the bioavailability of poorly absorbed drugs with special emphasis on self-emulsifying systems. *ISRN Pharm* 2013; **2013**: 848043.
106. Wadhwa J, Nair A, Kumria R. Emulsion forming drug delivery system for lipophilic drugs. *Acta Pol Pharm* 2012; **69** (2): 179-191.
107. Kalepu S, Manthina M, Padavala V. Oral lipid-based drug delivery systems – an overview. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 2013; **3** (6): 361-372.
108. Mu H, Holm R, Mullertz A. Lipid-based formulations for oral administration of poorly water-soluble drugs. *Int J Pharm* 2013; **453** (1): 215-224.
109. Bergstrom CAS, Charman WN, Porter CJH. Computational prediction of formulation strategies for beyond-rule-of-5 compounds. *Adv Drug Deliv Rev* 2016; **101**: 6-21.
110. Bergstrom CAS, Avdeef A. Perspectives in solubility measurement and interpretation. *Admet Dmpk* 2019; **7** (2): 88-105.
111. Shah AV, Serajuddin ATM. Development of Solid Self-Emulsifying Drug Delivery System (SEDDS) I: Use of Poloxamer 188 as Both Solidifying and Emulsifying Agent for Lipids. *Pharm Res* 2012; **29** (10): 2817-2832.
112. Tang B, Cheng G, Gu JC, Xu CH. Development of solid self-emulsifying drug delivery systems: preparation techniques and dosage forms. *Drug Discov Today* 2008; **13** (13-14): 606-612.
113. Patel J, Dhingani A, Garala K, Raval M, Sheth N. Quality by design approach for oral bioavailability enhancement of irbesartan by self-nanoemulsifying tablets. *Drug Deliv* 2014; **21** (6): 412-435.
114. Wadhwa J, Nair A, Kumria R. Self-emulsifying therapeutic system: a potential approach for delivery of lipophilic drugs. *Braz J Pharm Sci* 2011; **47** (3): 447-465.
115. Feeney OM, Crum MF, McEvoy CL, Trevaskis NL, Williams HD, Pouton CW, Charman WN, Bergstrom CAS, Porter CJH. 50 years of oral lipid-based formulations: Provenance, progress and future perspectives. *Adv Drug Deliv Rev* 2016; **101**: 167-194.
116. Mandic J, Zvonar Pobirk A, Vrecer F, Gasperlin M. Overview of solidification techniques for self-emulsifying drug delivery systems from industrial perspective. *Int J Pharm* 2017; **533** (2): 335-345.
117. Tan A, Rao S, Prestidge CA. Transforming Lipid-Based Oral Drug Delivery Systems into Solid Dosage Forms: An Overview of Solid Carriers,

- Physicochemical Properties, and Biopharmaceutical Performance. *Pharm Res* 2013; **30** (12): 2993-3017.
118. Hassan TH, Mäder K. Novel semisolid SNEDDS based on PEG-30-di-(polyhydroxystearate): Progesterone incorporation and in vitro digestion. *Int J Pharm* 2015; **486** (1-2): 77-87.
 119. Kanaujia P, Ng WK, Tan RBH. Solid self-emulsifying drug delivery system (S-SEDDS) for improved dissolution rate of fenofibrate. *J Microencapsulation* 2014; **31** (3): 293-298.
 120. Heo MY, Piao ZZ, Kim TW, Cao QR, Kim A, Lee BJ. Effect of solubilizing and microemulsifying excipients in polyethylene glycol 6000 solid dispersion on enhanced dissolution and bioavailability of ketoconazole. *Arch Pharmacol Res* 2005; **28** (5): 604-611.
 121. Li P, Hynes SR, Haefele TF, Pudipeddi M, Royce AE, Serajuddin ATM. Development of Clinical Dosage Forms for a Poorly Water-Soluble Drug II: Formulation and Characterization of a Novel Solid Microemulsion Preconcentrate System for Oral Delivery of a Poorly Water-Soluble Drug. *J Pharm Sci* 2009; **98** (5): 1750-1764.
 122. Abo Enin HA, Abdel-Bar HM. Solid super saturated self-nanoemulsifying drug delivery system (sat-SNEDDS) as a promising alternative to conventional SNEDDS for improvement rosuvastatin calcium oral bioavailability. *Expert Opin Drug Deliv* 2016; **13** (11): 1513-1521.
 123. Brouwers J, Brewster ME, Augustijns P. Supersaturating drug delivery systems: the answer to solubility-limited oral bioavailability? *J Pharm Sci* 2009; **98** (8): 2549-2572.
 124. Michaelsen MH, Wasan KM, Sivak O, Mullertz A, Rades T. The Effect of Digestion and Drug Load on Halofantrine Absorption from Self-nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS). *AAPS J* 2016; **18** (1): 180-186.
 125. Thomas N, Richter K, Pedersen TB, Holm R, Müllertz A, Rades T. In vitro lipolysis data does not adequately predict the in vivo performance of lipid-based drug delivery systems containing fenofibrate. *AAPS J* 2014; **16** (3): 539-549.
 126. Fong SY, Bauer-Brandl A, Brandl M. Oral bioavailability enhancement through supersaturation: an update and meta-analysis. *Expert Opin Drug Deliv* 2017; **14** (3): 403-426.
 127. Gao P, Morozowich W. Development of supersaturatable self-emulsifying drug delivery system formulations for improving the oral absorption of poorly soluble drugs. *Expert Opin Drug Deliv* 2006; **3** (1): 97-110.
 128. Dokania S, Joshi AK. Self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS)--challenges and road ahead. *Drug Deliv* 2015; **22** (6): 675-690.
 129. Schittny A, Huwyler J, Puchkov M. Mechanisms of increased bioavailability through amorphous solid dispersions: a review. *Drug Deliv* 2020; **27** (1): 110-127.

130. Bannow J, Yorulmaz Y, Lobmann K, Mullertz A, Rades T. Improving the drug load and in vitro performance of supersaturated self-nanoemulsifying drug delivery systems (super-SNEDDS) using polymeric precipitation inhibitors. *Int J Pharm* 2020; **575**: 118960.
131. Kuruvila FS, Mathew F, Kuppuswamy S. Solid Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (Snedds) Development, Applications and Future Perspective: A Review. *Indo Am J Pharm Sci* 2017; **4** (3): 651-669.
132. Agrawal S, Giri TK, Tripathi DK, Ajazuddin, Alexander A. A Review on Novel Therapeutic Strategies for the Enhancement of Solubility for Hydrophobic Drugs through Lipid and Surfactant Based Self Micro Emulsifying Drug Delivery System: A Novel Approach. *American Journal of Drug Discovery and Development* 2012; **2** (4): 143-183.
133. Kohli K, Chopra S, Dhar D, Arora S, Khar RK. Self-emulsifying drug delivery systems: an approach to enhance oral bioavailability. *Drug Discovery Today* 2010; **15** (21-22): 958-965.
134. European Commission. Opinion On Diethylene Glycol Monoethyl Ether Scientific Committee On Consumer Products. 2007.
135. IOI-Oleochemical. Imwitor® 988 Technical Data Sheet 2020 [Erişim Tarihi: 02.06.2021]. 3]. Erişim: https://www.ioioleo.de/wp-content/uploads/2020/03/IOI_Oleo_Pharma_EXCIPIENTS.pdf.
136. BASF. Kolliphor® RH40 Technical Information 2020 [Erişim Tarihi: 02.06.2021]. 1-6]. Erişim: <https://pharmaceutical.basf.com/global/en/drug-formulation/downloads.html#%7B%220%22%3A%5B%5B%22productId%22%2C%5B%22%2F8801045414030%22%5D%5D%2C%5B%22facet%3AcontentLanguage%22%2C%5B%22en%22%5D%5D%5D%2C%22page%22%3A%20%22%2C%22id%22%3A%22result-0%22%7D>.
137. BASF. Kolliphor® CS20 Technical Information 2014 [Erişim Tarihi: 02.06.2021]. 1-6]. Erişim: <https://pharmaceutical.basf.com/global/en/drug-formulation/downloads.html#%7B%220%22%3A%5B%5B%22productId%22%2C%5B%22%2F8813119144078%22%5D%5D%2C%5B%22facet%3AcontentLanguage%22%2C%5B%22en%22%5D%5D%5D%7D>.
138. BASF. Kolliphor® ELP Technical Information 2019 [Erişim Tarihi: 02.06.2021]. 1-6]. Erişim: <https://pharmaceutical.basf.com/global/en/drug-formulation/downloads.html#%7B%220%22%3A%5B%5B%22productId%22%2C%5B%22%2F8801044758670%22%5D%5D%2C%5B%22facet%3AcontentLanguage%22%2C%5B%22en%22%5D%5D%5D%2C%22page%22%3A%20%22%2C%22id%22%3A%22result-0%22%7D>.
139. BASF. Kolliphor® HS15 Technical Information 2019 [Erişim Tarihi: 02.06.2021]. 1-5]. Erişim: <https://pharmaceutical.basf.com/global/en/drug-formulation/downloads.html#%7B%220%22%3A%5B%5B%22productId%22%2C%5B%22%2F8801044824206%22%5D%5D%2C%5B%22facet%3AcontentLanguage%22%2C%5B%22en%22%5D%5D%5D%2C%22page%22%3A%20%22%2C%22id%22%3A%22result-0%22%7D>.

140. Ukai H, Imanishi A, Kaneda A, Kimura E, Koyama M, Morishita M, Katsumi H, Yamamoto A. Absorption-Enhancing Mechanisms of Capryol 90, a Novel Absorption Enhancer, for Improving the Intestinal Absorption of Poorly Absorbed Drugs: Contributions to Trans- or Para-Cellular Pathways. *Pharm Res* 2020; **37** (12).
141. BASF. Soluplus® Technical Information 2019 [Erişim Tarihi: 02.06.2021]. 1-14]. Erişim: <https://pharma.basf.com/products/soluplus>.
142. Alam MA, Al-Jenoobi FI, Al-Mohizea AM. Commercially bioavailable proprietary technologies and their marketed products. *Drug Discov Today* 2013; **18** (19-20): 936-949.
143. Nama S, Chandu BR, Awen BZ, Khagga M. Development and Validation of a New RP-HPLC Method for the Determination of Aprepitant in Solid Dosage Forms. *Trop J Pharm Res* 2011; **10** (4): 491-497.
144. Babu BS, Natraj K, Kumar VA, Raviteja KH, Sreenivasulu MK. Method development and validation for the estimation of aprepitant in pharmaceutical dosage forms by RP-HPLC. *J Chem Pharm Res* 2013; **5** (8): 181-187.
145. Validation of Analytical Procedures: Text And Methodology Q2(R1), (2005).
146. Shabir GA. Step-by-Step Analytical Methods Validation and Protocol in the Quality System Compliance Industry. *Institute of Validation Technology* 2004: 1-14.
147. Higuchi T, Connors KA. Phase-solubility techniques. *Adv Anal Chem Instr* 1965; **4**: 117-212.
148. EP7.0. European Pharmacopoeia 7.0.
149. Date AA, Nagarsenker MS. Design and evaluation of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for cefpodoxime proxetil. *Int J Pharm* 2007; **329** (1-2): 166-172.
150. Qureshi MJ, Mallikarjun C, Kian WG. Enhancement of solubility and therapeutic potential of poorly soluble lovastatin by SMEDDS formulation adsorbed on directly compressed spray dried magnesium aluminometasilicate liquid loadable tablets: A study in diet induced hyperlipidemic rabbits. *Asian J Pharm Sci* 2015; **10** (1): 40-56.
151. Quan G, Niu B, Singh V, Zhou Y, Wu CY, Pan X, Wu C. Supersaturable solid self-microemulsifying drug delivery system: precipitation inhibition and bioavailability enhancement. *Int J Nanomedicine* 2017; **12**: 8801-8811.
152. Zangenberg NH, Mullertz A, Kristensen HG, Hovgaard L. A dynamic in vitro lipolysis model. I. Controlling the rate of lipolysis by continuous addition of calcium. *Eur J Pharm Sci* 2001; **14** (2): 115-122.
153. Zangenberg NH, Mullertz A, Kristensen HG, Hovgaard L. A dynamic in vitro lipolysis model. II: Evaluation of the model. *Eur J Pharm Sci* 2001; **14** (3): 237-244.

154. Alhasani KF, Kazi M, Ibrahim MA, Shahba AA, Alanazi FK. Self-nanoemulsifying ramipril tablets: a novel delivery system for the enhancement of drug dissolution and stability. *Int J Nanomedicine* 2019; **14**: 5435-5448.
155. ATCC. Thawing, Propagating, and Cryopreserving Protocol NCI-PBCF-HTB37 (Caco-2) Colorectal Adenocarcinoma (ATCC® HTB-37™). *Physical Sciences-Oncology Center Network Bioresource Core Facility* 2012; **Version 1.0**: 1-25.
156. AboulFotouh K, Allam AA, El-Badry M, El-Sayed AM. Development and in vitro/in vivo performance of self-nanoemulsifying drug delivery systems loaded with candesartan cilexetil. *Eur J Pharm Sci* 2017; **109**: 503-513.
157. Panner SR, Kulkarni PK, Naga SKVV. Porous polystyrene spheres loaded self nano-emulsifying systems of rosuvastatin calcium. *RSC Adv* 2015; **5** (85): 69642-69650.
158. Chiou WL. Critical Evaluation of the Potential Error in Pharmacokinetic Studies of Using the Linear Trapezoidal Rule Method for the Calculation. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 1978; **6** (6): 539-546.
159. Acartürk F, Ağabeyoğlu İ, Çelebi N, Değim T, Değim Z, Doğanay T, Takka S, Tırnaksız F. Temel Farmakokinetik. Modern Farmasötik Teknoloji. Ankara:TEB Eczacılık Akademisi Yayını; 2009. p. 183-226.
160. Jambhekar SS, Breen PJ. Extravascular routes of drug administration. Basic Pharmacokinetics:Pharmaceutical Press; 2012.
161. Shargel L, Yu ABC. Empirical Models, Mechanistic Models, Statistical Moments, and Noncompartmental Analysis. Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics:McGraw-Hill Education.; 2016. p. 840.
162. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Handbook of Pharmaceutical Excipients 6th Edition. 6th Edition ed. UK: Pharmaceutical Press; 2009. 888 p.
163. Alskar LC, Porter CJ, Bergstrom CA. Tools for Early Prediction of Drug Loading in Lipid-Based Formulations. *Mol Pharm* 2016; **13** (1): 251-261.
164. Krstic M, Popovic M, Dobricic V, Ibric S. Influence of Solid Drug Delivery System Formulation on Poorly Water-Soluble Drug Dissolution and Permeability. *Molecules* 2015; **20** (8): 14684-14698.
165. Williams HD, Sassene P, Kleberg K, Bakala-N'Goma JC, Calderone M, Jannin V, Igonin A, Partheil A, Marchaud D, Jule E, Vertommen J, Maio M, Blundell R, Benameur H, Carriere F, Mullertz A, Porter CJH, Pouton CW. Toward the establishment of standardized in vitro tests for lipid-based formulations, part 1: Method parameterization and comparison of in vitro digestion profiles across a range of representative formulations. *J Pharm Sci* 2012; **101** (9): 3360-3380.
166. Berthelsen R, Klitgaard M, Rades T, Mullertz A. In vitro digestion models to evaluate lipid based drug delivery systems; present status and current trends. *Adv Drug Deliv Rev* 2019; **142**: 35-49.
167. Diaz DA, Colgan ST, Langer CS, Bandi NT, Likar MD, Van Alstine L. Dissolution Similarity Requirements: How Similar or Dissimilar Are the Global Regulatory Expectations? *AAPS J* 2016; **18** (1): 15-22.

168. Zhang XY, Wei Y, Cao ZJ, Xu Y, Lu C, Zhao MQ, Gou JX, Yin T, Zhang Y, He HB, Wang YJ, Tang X. Aprepitant Intravenous Emulsion Based on Ion Pairing/Phospholipid Complex for Improving Physical and Chemical Stability During Thermal Sterilization. *AAPS PharmSciTech* 2020; **21** (3).
169. Ibrahim TM, Abdallah MH, El-Megrab NA, El-Nahas HM. Upgrading of dissolution and anti-hypertensive effect of Carvedilol via two combined approaches: self-emulsification and liquisolid techniques. *Drug Dev Ind Pharm* 2018; **44** (6): 873-885.
170. Lan Y, Ali S, Langley N. Characterization of Soluplus® by FTIR and Raman Spectroscopy. CRS 2010 Annual Conference; Portland, Oregon, USA2010.
171. Dedroog S, Pas T, Vergauwen B, Huygens C, Van den Mooter G. Solid-state analysis of amorphous solid dispersions: Why DSC and XRPD may not be regarded as stand-alone techniques. *J Pharm Biomed Anal* 2020; **178**: 112937.
172. Ridhurkar DN, Ansari KA, Kumar D, Kaul NS, Krishnamurthy T, Dhawan S, Pillai R. Inclusion complex of aprepitant with cyclodextrin: evaluation of physico-chemical and pharmacokinetic properties. *Drug Dev Ind Pharm* 2013; **39** (11): 1783-1792.
173. Helmy R, Zhou GX, Chen YW, Crocker L, Wang T, Wenslow RM, Jr., Vailaya A. Characterization and quantitation of aprepitant drug substance polymorphs by attenuated total reflectance fourier transform infrared spectroscopy. *Anal Chem* 2003; **75** (3): 605-611.
174. Braun DE, Gelbrich T, Kahlenberg V, Laus G, Wieserd J, Griesser UJ. Packing polymorphism of a conformationally flexible molecule (aprepitant). *New J Chem* 2008; **32**: 1677-1685.
175. Sawant MS, Dixit G, Pradhan NSC, Khan MA, Sinha S, inventors; Glenmark Pharmaceuticals Limited, assignee. Amorphous And Crystalline Forms Of Aprepitant And Processes For The Preparation Thereof. USA2016.
176. Meyer RV. Practical High-Performance Liquid Chromatography. 4 ed. Great Britain: John Wiley & Sons, Ltd; 2004. 357 p.
177. Mosharraf M, Nystrom C. Apparent solubility of drugs in partially crystalline systems. *Drug Dev Ind Pharm* 2003; **29** (6): 603-622.
178. Kuentz M. Lipid-based formulations for oral delivery of lipophilic drugs. *Drug Discov Today* 2012: 8.
179. Liu X, Müllertz A, Bar-Shalom D, Berthelsen R. Effect of centrifugation speed on the measured equilibrium solubility of poorly water-soluble compounds in viscous solvents. *J Drug Deliv Sci Technol* 2020; **59**.
180. Khadra I, Zhou Z, Dunn C, Wilson CG, Halbert G. Statistical investigation of simulated intestinal fluid composition on the equilibrium solubility of biopharmaceutics classification system class II drugs. *Eur J Pharm Sci* 2015; **67**: 65-75.

181. Liu JW, Zou MJ, Piao HY, Liu Y, Tang B, Gao Y, Ma N, Cheng G. Characterization and Pharmacokinetic Study of Aprepitant Solid Dispersions with Soluplus. *Molecules* 2015; **20** (6): 11345-11356.
182. Manallack DT, Prankerd RJ, Yuriev E, Oprea TI, Chalmers DK. The significance of acid/base properties in drug discovery. *Chemical Society Reviews* 2013; **42** (2): 485-496.
183. Akula P, Lakshmi PK. Effect of pH on weakly acidic and basic model drugs and determination of their ex vivo transdermal permeation routes. *Braz J Pharm Sci* 2018; **54** (2).
184. Barmapalexis P, Grypioti A, Eleftheriadis GK, Fatouros DG. Development of a New Aprepitant Liquisolid Formulation with the Aid of Artificial Neural Networks and Genetic Programming. *AAPS PharmSciTech* 2018; **19** (2): 741-752.
185. Breitzkreitz MC, Sabin GP, Polla G, Poppi RJ. Characterization of semi-solid Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDS) of atorvastatin calcium by Raman image spectroscopy and chemometrics. *J Pharm Biomed Anal* 2013; **73**: 3-12.
186. Kamboj S, Rana V. Formulation optimization of aprepitant microemulsion-loaded silicated corn fiber gum particles for enhanced bioavailability. *Drug Dev Ind Pharm* 2016; **42** (8): 1267-1282.
187. Elnaggar YSR, El-Massik MA, Abdallah OY. Self-nanoemulsifying drug delivery systems of tamoxifen citrate: Design and optimization. *Int J Pharm* 2009; **380** (1-2): 133-141.
188. Kawakami K. Theory and practice of supersaturatable formulations for poorly soluble drugs. *Ther Deliv* 2015; **6** (3): 339-352.
189. Mustapha O, Kim KS, Shafique S, Kim DS, Jin SG, Seo YG, Youn YS, Oh KT, Lee BJ, Park YJ, Yong CS, Kim JO, Choi HG. Development of novel cilostazol-loaded solid SNEDDS using a SPG membrane emulsification technique: Physicochemical characterization and in vivo evaluation. *Colloid Surface B* 2017; **150**: 216-222.
190. Patel J, Patel A, Raval M, Sheth N. Formulation and development of a self-nanoemulsifying drug delivery system of irbesartan. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research* 2011; **2** (1): 9-16.
191. Mu HL, Holm R, Mullertz A. Lipid-based formulations for oral administration of poorly water-soluble drugs. *Int J Pharm* 2013; **453** (1): 215-224.
192. Balakumar K, Raghavan CV, Selvan NT, Prasad RH, Abdu S. Self nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) of Rosuvastatin calcium: Design, formulation, bioavailability and pharmacokinetic evaluation. *Colloid Surface B* 2013; **112**: 337-343.
193. Nazzal S, Smalyukh II, Lavrentovich OD, Khan MA. Preparation and in vitro characterization of a eutectic based semisolid self-nanoemulsified drug delivery

- system (SNEDDS) of ubiquinone: mechanism and progress of emulsion formation. *Int J Pharm* 2002; **235** (1-2): 247-265.
194. Patel M, Patel S, Patel N, Patel M. A Review: Novel Oral Lipid Based Formulation for Poorly Soluble Drugs. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology* 2011; **3** (4): 1182-1192.
 195. ASTM. Standard Test Method for Determination of Turbidity Below 5 NTU in Static Mode (D6855-17). *ASTM International*.
 196. Morales-Luna G, Contreras-Tello H, Garcia-Valenzuela A, Barrera RG. Experimental Test of Reflectivity Formulas for Turbid Colloids: Beyond the Fresnel Reflection Amplitudes. *J Phys Chem B* 2016; **120** (3): 583-595.
 197. Dai WG, Pollock-Dove C, Dong LC, Li S. Advanced screening assays to rapidly identify solubility-enhancing formulations: high-throughput, miniaturization and automation. *Adv Drug Deliv Rev* 2008; **60** (6): 657-672.
 198. Mason TG, Wilking JN, Meleson K, Chang CB, Graves SM. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: Condensed Matter* 2006; **18**: 635-666.
 199. Deshmukh A, Kulkarni S. Solid self-microemulsifying drug delivery system of ritonavir. *Drug Dev Ind Pharm* 2014; **40** (4): 477-487.
 200. Shazly G, Mohsin K. Dissolution improvement of solid self-emulsifying drug delivery systems of fenofibrate using an inorganic high surface adsorption material. *Acta Pharm* 2015; **65** (1): 29-42.
 201. Kazi M, F AN, Noman O, Alharbi A, Alqahtani MS, Alanazi FK. Development, Characterization Optimization, and Assessment of Curcumin-Loaded Bioactive Self-Nanoemulsifying Formulations and Their Inhibitory Effects on Human Breast Cancer MCF-7 Cells. *Pharm* 2020; **12** (11).
 202. Nasr A, Gardouh A, Ghorab M. Novel Solid Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (S-SNEDDS) for Oral Delivery of Olmesartan Medoxomil: Design, Formulation, Pharmacokinetic and Bioavailability Evaluation. *Pharm* 2016; **8** (3).
 203. Kang BK, Lee JS, Chon SK, Jeong SY, Yuk SH, Khang G, Lee HB, Cho SH. Development of self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) for oral bioavailability enhancement of simvastatin in beagle dogs. *Int J Pharm* 2004; **274** (1-2): 65-73.
 204. Okawa S, Sumimoto Y, Masuda K, Ogawara KI, Maruyama M, Higaki K. Improvement of lipid solubility and oral bioavailability of a poorly water- and poorly lipid-soluble drug, rebamipide, by utilizing its counter ion and SNEDDS preparation. *Eur J Pharm Sci* 2021; **159**: 105721.
 205. Imada C, Takahashi T, Kuramoto M, Masuda K, Ogawara K, Sato A, Wataya Y, Kim HS, Higaki K. Improvement of Oral Bioavailability of N-251, a Novel Antimalarial Drug, by Increasing Lymphatic Transport with Long-Chain Fatty Acid-Based Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System. *Pharm Res* 2015; **32** (8): 2595-2608.

206. Silva AE, Barratt G, Cheron M, Egito ES. Development of oil-in-water microemulsions for the oral delivery of amphotericin B. *Int J Pharm* 2013; **454** (2): 641-648.
207. Larsen AT, Ogbonna A, Abu-Rmaileh R, Abrahamsson B, Ostergaard J, Mullertz A. SNEDDS Containing Poorly Water Soluble Cinnarizine; Development and in Vitro Characterization of Dispersion, Digestion and Solubilization. *Pharm* 2012; **4** (4): 641-665.
208. Alghananim A, Ozalp Y, Mesut B, Serakinci N, Ozsoy Y, Gungor S. A Solid Ultra Fine Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (S-SNEDDS) of Deferasirox for Improved Solubility: Optimization, Characterization, and In Vitro Cytotoxicity Studies. *Pharmaceuticals-Base* 2020; **13** (8).
209. Chen Y, Li G, Wu XG, Chen ZY, Hang JG, Qin B, Chen S, Wang RH. Self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) of vinpocetine: Formulation development and in vivo assessment. *Biol Pharm Bull* 2008; **31** (1): 118-125.
210. Abou Assi R, I MA, Seok Ming T, Siok Yee C, H AW, Asif SM, Darwis Y. Liquid and Solid Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDs) as Carriers for the Oral Delivery of Azithromycin: Optimization, In Vitro Characterization and Stability Assessment. *Pharm* 2020; **12** (11).
211. Ujhelyi Z, Vecsernyes M, Feher P, Kosa D, Arany P, Nemes D, Sinka D, Vasvari G, Fenyvesi F, Varadi J, Bacsikay I. Physico-chemical characterization of self-emulsifying drug delivery systems. *Drug Discov Today Technol* 2018; **27**: 81-86.
212. Nielsen FS, Gibault E, Ljusberg-Wahren H, Arleth L, Pedersen JS, Müllertz A. Characterization of prototype self-nanoemulsifying formulations of lipophilic compounds. *J Pharm Sci* 2007; **96** (4): 876-892.
213. Liu XN, Mullertz A, Bar-Shalom D, Berthelsen R. Effect of centrifugation speed on the measured equilibrium solubility of poorly water-soluble compounds in viscous solvents. *J Drug Deliv Sci Technol* 2020; **59**.
214. Buyukozturk F, Benneyan JC, Carrier RL. Impact of emulsion-based drug delivery systems on intestinal permeability and drug release kinetics. *J Control Release* 2010; **142** (1): 22-30.
215. Dash RN, Mohammed H, Humaira T, Reddy AV. Solid supersaturatable self-nanoemulsifying drug delivery systems for improved dissolution, absorption and pharmacodynamic effects of glipizide. *J Drug Deliv Sci Technol* 2015; **28**: 28-36.
216. Morozowich W, Gao P. Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory and Practice. United States of America: Elsevier; 2009. 921 p.
217. Kamel AO, Mahmoud AA. Enhancement of human oral bioavailability and in vitro antitumor activity of rosuvastatin via spray dried self-nanoemulsifying drug delivery system. *J Biomed Nanotechnol* 2013; **9** (1): 26-39.

218. Wei YH, Ye XL, Shang XG, Peng X, Bao Q, Liu MC, Guo MM, Li FZ. Enhanced oral bioavailability of silybin by a supersaturable self-emulsifying drug delivery system (S-SEDDS). *Colloid Surface A* 2012; **396**: 22-28.
219. Xu S, Dai WG. Drug precipitation inhibitors in supersaturable formulations. *Int J Pharm* 2013; **453** (1): 36-43.
220. Balani PN, Wong SY, Ng WK, Widjaja E, Tan RBH, Chan SY. Influence of polymer content on stabilizing milled amorphous salbutamol sulphate. *Int J Pharm* 2010; **391** (1-2): 125-136.
221. Mobarak D, Salah S, Ghorab M. Improvement of dissolution of a class II poorly water-soluble drug, by developing a five-component self-nanoemulsifying drug delivery system. *J Drug Deliv Sci Technol* 2019; **50**: 99-106.
222. Chen ZQ, Liu Y, Zhao JH, Wang L, Feng NP. Improved oral bioavailability of poorly water-soluble indirubin by a supersaturable self-microemulsifying drug delivery system. *Int J Nanomedicine* 2012; **7**: 1115-1125.
223. Fatouros DG, Walrand I, Bergenstahl B, Müllertz A. Colloidal structures in media simulating intestinal fed state conditions with and without lipolysis products. *Pharm Res* 2009; **26** (2): 361-374.
224. Siqueira SDVS, Mullertz A, Graeser K, Kasten G, Mu HL, Rades T. Influence of drug load and physical form of cinnarizine in new SNEDDS dosing regimens: in vivo and in vitro evaluations. *AAPS J* 2017; **19** (2): 587-594.
225. Tran T, Chakraborty A, Xi X, Bohets H, Cornett C, Tsinman K, Rades T, Mullertz A. Using Potentiometric Free Drug Sensors to Determine the Free Concentration of Ionizable Drugs in Colloidal Systems. *J Pharm Sci* 2018; **107** (1): 103-112.
226. Sassene P, Kleberg K, Williams HD, Bakala-N'Goma JC, Carriere F, Calderone M, Jannin V, Igonin A, Partheil A, Marchaud D, Jule E, Vertommen J, Maio M, Blundell R, Benameur H, Porter CJ, Pouton CW, Mullertz A. Toward the establishment of standardized in vitro tests for lipid-based formulations, part 6: effects of varying pancreatin and calcium levels. *AAPS J* 2014; **16** (6): 1344-1357.
227. Arnold YE, Imanidis G, Kuentz M. In vitro digestion kinetics of excipients for lipid-based drug delivery and introduction of a relative lipolysis half life. *Drug Dev Ind Pharm* 2012; **38** (10): 1262-1269.
228. Grace. Syloid® XDP Silica Technical Data Sheet 2020 [Erişim Tarihi: 02.10.2021]. 1-4]. Erişim: <https://grace.com/products/syloid-silica/>.
229. TomitaPharmaceutical. Florite® Technical Data Sheet 2018 [Erişim Tarihi: 02.10.2021]. 1-8]. Erişim: <http://www.tomitaph.co.jp/english/data/FLORITE.pdf>.
230. FujiChemical. Neusilin® Technical Data Sheet 2015 [Erişim Tarihi: 02.10.2021]. 1-20]. Erişim: https://www.fujichemical.co.jp/english/medical/medicine/neusilin/neusilin_brochure.pdf.

231. Almeida SRD, Tippavajhala VK. A Rundown Through Various Methods Used in the Formulation of Solid Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (S-SEDDS). *AAPS PharmSciTech* 2019; **20** (8): 323.
232. Jannin V, Musakhanian J, Marchaud D. Approaches for the development of solid and semi-solid lipid-based formulations. *Adv Drug Deliv Rev* 2008; **60** (6): 734-746.
233. Patel N, Dalrymple DM, Serajuddin ATM. Development of solid SEDDS, III: application of Acconon® C-50 and Gelucire® emulsifying agents for medium chain triglycerides. *Journal of Excipients and Food Chemicals* 2012; **3** (2): 83-92.
234. Nepal PR, Han HK, Choi HY. Preparation and in vitro-in vivo evaluation of Witepsol (R) H35 based self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) of coenzyme Q(10). *Eur J Pharm Sci* 2010; **39** (4): 224-232.
235. Vithani K, Goyanes A, Jannin V, Basit AW, Gaisford S, Boyd BJ. A Proof of Concept for 3D Printing of Solid Lipid-Based Formulations of Poorly Water-Soluble Drugs to Control Formulation Dispersion Kinetics. *Pharm Res* 2019; **36** (7): 102.
236. Ganesh M, Chandra Shekar B, Madhusudan Y. Design and Optimization of Rivaroxaban Lipid Solid Dispersion for Dissolution Enhancement using Statistical Experimental Design. *Asian J Pharm* 2016; **10** (1): 59-64.
237. Beg S, Swain S, Singh HP, Patra CN, Rao MEB. Development, Optimization, and Characterization of Solid Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems of Valsartan Using Porous Carriers. *AAPS PharmSciTech* 2012; **13** (4): 1416-1427.
238. Sodeifian G, Sajadian SA, Daneshyan S. Preparation of Aprepitant nanoparticles (efficient drug for coping with the effects of cancer treatment) by rapid expansion of supercritical solution with solid cosolvent (RESS-SC). *J Supercrit Fluid* 2018; **140**: 72-84.
239. Chandrasekhara Rao B, Vidyadhara S, Sasidhar RLC, Chowdary YA. Dissolution enhancement of poorly soluble drug aprepitant by hot melt extrusion method using hydrophilic polymer: A solid dispersion technique. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 2014; **5** (3): 1469-1485.
240. Pappa C, Nanaki S, Giliopoulos D, Triantafyllidis K, Kostoglou M, Avgeropoulos A, Bikiaris D. Nanostructured Composites of Sodium Montmorillonite Clay and PEO Used in Dissolution Improvement of Aprepitant Drug by Melt Mixing. *Applied Sciences* 2018; **8** (5).
241. Ciapetti G, Cenni E, Pratelli L, Pizzoferrato A. In vitro evaluation of cell/biomaterial interaction by MTT assay. *Biomaterials* 1993; **14** (5): 359-364.
242. Ökçesiz A, Bucurgat ÜÜ. Sitotoksikite Çalışmalarında Kök Hücre. *J Fac Pharm Ankara* 2017; **41** (2): 1-14.

243. Yavuz B, Pehlivan SB, Vural I, Unlu N. In Vitro/In Vivo Evaluation of Dexamethasone--PAMAM Dendrimer Complexes for Retinal Drug Delivery. *J Pharm Sci* 2015; **104** (11): 3814-3823.
244. Matalinska J, Lipinski PFJ, Kosson P, Kosinska K, Misicka A. In Vivo, In Vitro and In Silico Studies of the Hybrid Compound AA3266, an Opioid Agonist/NK1R Antagonist with Selective Cytotoxicity. *Int J Mol Sci* 2020; **21** (20).
245. Munoz M, Rosso M. The NK-1 receptor antagonist aprepitant as a broad spectrum antitumor drug. *Invest New Drugs* 2010; **28** (2): 187-193.
246. Munoz M, Gonzalez-Ortega A, Salinas-Martin MV, Carranza A, Garcia-Recio S, Almendro V, Covenas R. The neurokinin-1 receptor antagonist aprepitant is a promising candidate for the treatment of breast cancer. *Int J Oncol* 2014; **45** (4): 1658-1672.
247. Ujhelyi Z, Kalantari A, Vecsernyes M, Roka E, Fenyvesi F, Poka R, Kozma B, Bacsakay I. The enhanced inhibitory effect of different antitumor agents in self-microemulsifying drug delivery systems on human cervical cancer HeLa cells. *Molecules* 2015; **20** (7): 13226-13239.
248. Rehman FU, Shah KU, Shah SU, Khan IU, Khan GM, Khan A. From nanoemulsions to self-nanoemulsions, with recent advances in self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS). *Expert Opin Drug Deliv* 2017; **14** (11): 1325-1340.
249. McClements DJ. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft Matter* 2012; **8** (6): 1719-1729.
250. Niederquell A, Kuentz M. Proposal of stability categories for nano-dispersions obtained from pharmaceutical self-emulsifying formulations. *Int J Pharm* 2013; **446** (1-2): 70-80.
251. Lee DH, Yeom DW, Song YS, Cho HR, Choi YS, Kang MJ, Choi YW. Improved oral absorption of dutasteride via Soluplus(R)-based supersaturable self-emulsifying drug delivery system (S-SEDDS). *Int J Pharm* 2015; **478** (1): 341-347.
252. Bandyopadhyay S, Katare OP, Singh B. Optimized self nano-emulsifying systems of ezetimibe with enhanced bioavailability potential using long chain and medium chain triglycerides. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2012; **100**: 50-61.
253. Mohd Izham MN, Hussin Y, Aziz MNM, Yeap SK, Rahman HS, Masarudin MJ, Mohamad NE, Abdullah R, Alitheen NB. Preparation and Characterization of Self Nano-Emulsifying Drug Delivery System Loaded with Citraland Its Antiproliferative Effect on Colorectal Cells In Vitro. *Nanomaterials (Basel)* 2019; **9** (7).
254. Stability Testing of New Drug Substances and Products Q1A(R2), (2003).
255. Marvola M, Hannula AM, Westermarck E, Happonen I, Kopra T. Disintegration of Hard Gelatin Capsule Formulations in the Dog Stomach - a Radiological Study. *Int J Pharm* 1988; **44** (1-3): 159-167.

256. Chiwele I, Jones BE, Podczeczek F. The shell dissolution of various empty hard capsules. *Chem Pharm Bull* 2000; **48** (7): 951-956.
257. Zhao F, Malayev V, Rao V, Hussain M. Effect of sodium lauryl sulfate in dissolution media on dissolution of hard gelatin capsule shells. *Pharm Res* 2004; **21** (1): 144-148.
258. Lu XJ, Shah P. Dissolution of Gelatin Capsules: Evidence and Confirmation of Cross-Linking. *Dissolut Technol* 2017; **24** (3): 6-21.
259. FDA. Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers 2005.
260. Darbalaei S, Zhang X, Wang N, Qin Y, Han X, Rang Y, Zhai X, Lu Y. Effects of aprepitant on the pharmacokinetics of imatinib and its main metabolite in rats. *Pharmazie* 2018; **73** (6): 329-334.
261. Michaelsen MH, Siqueira Jorgensen SD, Abdi IM, Wasan KM, Rades T, Mullertz A. Fenofibrate oral absorption from SNEDDS and super-SNEDDS is not significantly affected by lipase inhibition in rats. *Eur J Pharm Biopharm* 2019; **142**: 258-264.
262. Zhang X-Y, Li Q, Sun J-X, Qu C-H, Zheng A-P. Influences of Nanometer Effects on the Characters of Water-Insoluble Drug Aprepitant in Vivo and in Vitro. *Chin Pharm J (China)* 2014; **49** (14): 1226-1232.
263. Erdoğar N, Akkın S, Nielsen TT, Özçelebi E, Erdoğdu B, Nemutlu E, İskit AB, Bilensoy E. Development of oral aprepitant-loaded chitosan–polyethylene glycol-coated cyclodextrin nanocapsules: formulation, characterization, and pharmacokinetic evaluation. *J Pharma Invest* 2021; **51** (3): 297-310.
264. Sharma R, Kamboj S, Singh G, Rana V. Development of aprepitant loaded orally disintegrating films for enhanced pharmacokinetic performance. *Eur J Pharm Sci* 2016; **84**: 55-69.
265. Bala R, Sharma S. Formulation optimization and evaluation of fast dissolving film of aprepitant by using design of experiment. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University* 2018; **56** (2): 159-168.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

ÇÖZÜNÜRLÜĞÜ DÜŞÜK ETKEN MADDENİN KENDİLİĞİNDEN EMÜLSİFİYE OLAN YENİ FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ VE İN VİTRO KARAKTERİZASYON ÇALIŞMALARI

ORJİNALLİK RAPORU

%**4**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**4**

İNTERNET KAYNAKLARI

%**1**

YAYINLAR

%

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

nek.istanbul.edu.tr:4444

İnternet Kaynağı

<%**1**

2

www.mdpi.com

İnternet Kaynağı

<%**1**

3

www.docstoc.com

İnternet Kaynağı

<%**1**

4

www.msd.com.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

5

forum.gidagundemi.com

İnternet Kaynağı

<%**1**

6

www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

<%**1**

7

docplayer.biz.tr

İnternet Kaynağı

<%**1**

8

openaccess.hacettepe.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

<%**1**