

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

**ZAYIF ASİT BİR İLACIN PH'DAN BAĞIMSIZ SALIM YAPAN MATRİKS
TABLET FORMÜLASYONUNUN GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Mehtap SAYDAM

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Sevgi TAKKA

ANKARA
TEMMUZ 2010

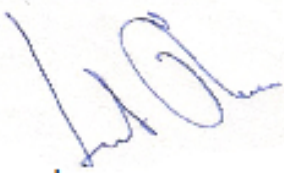
T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

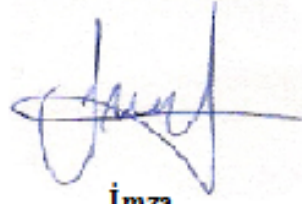
Tez Savunma Tarihi : 15/07/2010



İmza
Prof. Dr. Tuncer DEĞİM
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı



İmza
Prof. Dr. Levent ÖNER
Hacettepe Üniversitesi



İmza
Doç. Dr. Sevgi Takka
Gazi Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Şekiller	viii
Tablolar	xii
Kısaltmalar	vi
1. GİRİŞ	1
1.1. Giriş ve Amaç	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kontrollü Salım Sistemleri	3
2.1.1. Kontrollü Salım Sistemlerinin Diğer İlaç Şekillerine Üstünlükleri	4
2.1.2. Kontrollü Salım Sistemlerinin Sakıncaları	4
2.1.3. Oral Kontrollü Salım Sistemi Tipleri	5
2.1.3.1. Membran (Depo) Kontrollü Sistemler	7
2.1.3.2. Ozmotik Kontrollü Sistemler	8
2.1.3.3. Matriks Kontrollü Sistemler	9
2.1.3.3.1. Hidrofilik Matriks Sistemler	11
2.2. Çözünürlük, Çözünme ve pH İle İlişkisi	12
2.2.1. Absorbsiyon, Çözünürlük ve Çözünme (Biyoyararlanım) Üzerinde Etkili Faktörler	12
2.2.2. pH'nın Çözünürlük ve Çözünme Üzerindeki Etki Mekanizması	14
2.2.3. pKa ve Mide Barsak Sistemi pH Profili	17
2.3. pH'dan Bağımsız Salım	18
2.3.1. pH'dan Bağımsız Salımın Önemi ve Avantajları	18
2.3.2. pH'dan Bağımsız Salım Elde Etme Yöntemleri	19

2.3.2.1. Çekirdeğe Tamponlayıcı Maddelerin Eklenmesi	19
2.3.2.2. İlaç Şeklinin Kaplama Geçirgenliğinin Artırılması	23
2.4.Valsartan Hakkında Genel Bilgiler	27
2.4.1. Fizikokimyasal Özellikler	27
2.4.2. Ölçüm ve Tayin Metotları	28
2.4.3. Farmakolojik özellikler	28
2.4.3.1. Yan Etkiler	32
2.4.4. Farmakokinetik Özellikler	33
2.4.4.1. Absorbsiyon	33
2.4.4.2. Dağılım	34
2.4.4.3. Metabolizma ve Eliminasyon	34
2.4.4.4. İlaç Etkileşimleri	35
2.5. Deney Tasarımı	35
2.5.1. Yüzey Yanıt Tasarımlar	37
2.5.1.1. Merkez Noktası Tekrarlı Faktöriyel Tasarımlar (MTFT)	38
2.6. In Vivo Davranışların Bilgisayar Yazılımları İle Simülasyonu	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM	44
3.1. Gereç	44
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	44
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Valsartan İçeren Ticari Preparat	44
3.1.3. Kullanılan Aletler	45
3.2. Yöntem	46
3.2.1. Etkin Madde Üzerinde Yapılan Fizikokimyasal İncelemeler	46
3.2.1.1. Etkin Maddenin Erime Noktası Tayini	46
3.2.1.2. Partikül Büyüklüğü Analizi	46
3.2.1.3. FT-IR Spektrumu	47
3.2.1.4. UV Spektrumu	47
3.2.1.5. Spektrofotometrik Yöntem Kullanılarak Değişik Ortamlardaki Miktar Tayini İçin Standart Doğruların Hazırlanması	47

3.2.1.6. İn vitro Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu	48
3.2.1.6.1. Doğruluk (accuracy) ve Geri Elde (recovery)	48
3.2.1.6.2. Kesinlik (precision)	48
3.2.1.6.2.1. Tekrar Edilebilirlik (repeatability)	49
3.2.1.6.2.2. Deneyler Arası Kesinlik (intermediate precision)	49
3.2.1.6.2.3. Tekrar Elde Edilebilirlik (reproducibility)	50
3.2.1.6.3. Özgünlük, Seçicilik (specificity, selectivity)	50
3.2.1.6.4. Doğrusallık (linearity)	50
3.2.1.7. Stabilité	51
3.2.1.8. Valsartanın Değişik pH'lardaki Tampon Çözeltilerde Çözünürlüğünün Belirlenmesi	51
3.3. Formülasyon Çalışmaları	52
3.3.1. Ön Formülasyon Çalışması	52
3.3.2. Deney Tasarımı Formülasyon Çalışması	57
3.3.3. Hazırlanan Tabletlerde Yapılan Kontroller	60
3.3.3.1. Çap ve Kalınlık Denetimi	60
3.3.3.2. Ağırlık Sapması Denetimi	61
3.3.3.3. Sertlik Denetimi	61
3.3.3.4. Ufalanma - Aşınma Denetimi	61
3.3.3.5. Miktar Tayini	61
3.3.3.6. Çözünme Deneyleri	62
3.3.3.7. Salım Kinetiği	62
3.3.3.8. İn Vitro Salım Profilleri Arasındaki Benzerlik Faktörünün (f_2) ve Farklılık Etkeninin (f_1) Değerlendirilmesi	63
3.3.3.9. Farklı Sıcaklık ve Nem Ortamlarında Bekletilen Tabletlerin Sertlik, Nem ve Çözünme Testleri	64
3.3.3.10. Etkin Madde ve Yardımcı Maddelerin Etkileşmesinin Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Ölçümleri ile İncelenmesi	64
3.3.3.11. GastroPlus® Yazılımı ile İn Vivo Simülasyon	64

4. BULGULAR	68
4.1. In Vitro Çalışmalar	68
4.1.1. Etkin Madde Üzerinde Yapılan Fizikokimyasal İncelemeler	68
4.1.1.1. Etkin Maddenin Erime Noktası Tayini	68
4.1.1.2. Partikül Büyüklüğü Analizi	68
4.1.1.3. FT/IR Spektrumu	69
4.1.1.4. UV Spektrumu	70
4.1.1.5. Valsartan Çözeltilerinin Kalibrasyon Doğrularının Hazırlanması	72
4.1.1.6. Etkin Maddenin Spektrofotometrik Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu	75
4.1.1.6.1. Doğruluk (accuracy) ve Geri Elde (recovery)	75
4.1.1.6.2. Kesinlik (precision)	77
4.1.1.6.2.1. Tekrar Edilebilirlik (repeatability)	77
4.1.1.6.2.2. Ara Kesinlik	79
4.1.1.6.3. Özgünlük (specifity)	81
4.1.1.6.4. Doğrusallık (linearity)	84
4.1.1.6.5. Stabilité	84
4.1.1.6.6. Valsartanın Değişik pH' lardaki Çözünürlüğünün Tayini	86
4.2. Formülasyon Çalışmaları	87
4.2.1. Ön Formülasyon Çözünme Çalışmaları	87
4.2.1.1. Merkezi Tekrarlı Deney Tasarımı ile Hazırlanan Formülasyonların Çözünme Çalışmaları	89
4.2.2. Merkezi Tekrarlı Deney Tasarımının İstatistiksel Analizi	96
4.2.3. Deney tasarımı sonrasında optimizasyon ile tasarım sahasının oluşturulması	105
4.2.4. In Vitro Salım Profilleri Arasındaki Benzerlik Faktörünün (f_2) ve Fark Etkeninin (f_1) Değerlendirilmesi	106
4.2.5. Formülasyonların Salım Kinetiği	107
4.2.6. Hazırlanan Tabletler Üzerinde Yapılan Farmasötik Denetimler	107

4.2.6.1. Tabletler Üzerinde Yapılan Kalite Kontrol Testleri	107
4.2.6.2. Tabletlerde Etkin Madde Miktar Tayini	109
4.2.6.3. Farklı Sıcaklık ve Nem Ortamlarında Bekletilen Tabletlerin Nem, Sertlik ve Çözünme Profilleri	110
4.2.7. Etkin Madde ve Yardımcı Maddelerin Etkileşmesinin İncelenmesi	112
4.2.7.1. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Ölçümleri	112
4.3.Gastro Plus® Program ile İn Vivo Simülasyon	113
5. TARTIŞMA	115
5.1. Etkin Maddeye İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	115
5.2. Çalışmaların Değerlendirilmesi	118
5.2.1. Ön Formülasyon Çalışmalarının Değerlendirilmesi	118
5.2.2. Deney Tasarımına Göre Hazırlanan Formülasyon Çalışmalarının İn Vitro Salım Bulgularının Değerlendirilmesi	122
5.2.2.1. Deney tasarımı ile hazırlanan formülasyon cevaplarının ANOVA testinin değerlendirilmesi	125
5.2.2.3. İn Vitro Salım Verilerinin Kinetik Olarak Değerlendirilmesi	128
5.2.2.4. Basılan Tabletlerde Yapılan Farmasötik Denetimlerin Değerlendirilmesi	129
5.2.2.5. Tabletlerde Etkin Madde Miktar Tayini	130
5.2.2.6. Farklı Sıcaklık ve Nem Ortamlarında Bekletilen Tabletlerin Nem, Sertlik ve Çözünme Profillerinin Değerlendirilmesi	130
5.2.3. Etkin Madde ve Yardımcı Maddelerin Etkileşimlerinin Değerlendirilmesi	131
5.2.3.1. DSC Analizinin Değerlendirilmesi	131
5.2.4. Gastro Plus® Yazılımı ile Gerçekleştirilmiş İn Vivo Simülasyonun Değerlendirilmesi	132

6. SONUÇ	133
7. ÖZET	136
8.SUMMARY	138
9.KAYNAKLAR	140
10.EKLER	158
11.ÖZGEÇMİŞ	159

Şekiller ve Resimler

	SAYFA
Şekil 1: Hidrofilik ve hidrofobik matriks sistemlerden ilaç salımı	9
Şekil 2: Oral alınmış kapsül veya tabletin in vivo veya in vitro ortamlarda geçirdiği aşamalar	13
Şekil 3: İyonik ilaçların sınıflandırılması	14
Şekil 4: Zayıf asidik ve bazik maddelerin pH değişimi ile çözünürlük profilleri	15
Şekil 5: Mide Barsak sistemi fiziksel özellikleri	18
Şekil 6: Valsartan molekül yapısı	27
Şekil 7: 2 faktörlü MTFT diyagramı	39
Şekil 8: Valsartanın partikül büyüklüğü dağılımı	68
Şekil 9: Valsartanın FT-IR spektrumu	69
Şekil 10: Valsartan'ın 0.1 N HCl ortamında UV spektrumu	70
Şekil 11: Valsartan'ın USP 31, Yöntem A ortamında UV spektrumu	71
Şekil 12: Valsartan'ın pH 4.5 fosfat tamponu ortamında UV spektrumu	71
Şekil 13: Valsartan'ın pH 6.8 fosfat tamponu ortamında UV spektrumu	72
Şekil 14: Valsartanın 0.1 N HCl'deki kalibrasyon grafiği	73
Şekil 15: Valsartanın USP 31, Yöntem A kalibrasyon grafiği	73
Şekil 16: Valsartanın pH 4.5 fosfat tamponundaki kalibrasyon grafiği	74
Şekil 17: Valsartanın pH 6.8 fosfat tamponundaki kalibrasyon grafiği	74
Şekil 18: F9 formülasyonundaki yardımcı maddelerin karışımının 0.1 N HCl'de UV spektrumu	82
Şekil 19: F9 formülasyonundaki etkin madde + yardımcı maddelerin karışımının 0.1 N HCl'de UV spektrumu	82
Şekil 20: F9 formülasyonundaki yardımcı maddelerin karışımının USP 31, Yöntem A ortamı için UV spektrumu	83

Şekil 21: F9 formülasyonundaki etkin madde + yardımcı maddelerin karışımının USP 31, Yöntem A ortamı için UV spektrumu	83
Şekil 22: Valsartanın 0.1 N HCl ortamında 25°C'deki çözelti stabilitesi	84
Şekil 23: Valsartanın 0.1 N HCl ortamında 37°C'deki çözelti stabilitesi	85
Şekil 24: Valsartanın USP 31, Yöntem A ortamında 25°C'deki çözelti stabilitesi	85
Şekil 25: Valsartanın USP 31, Yöntem A ortamında 37°C'deki çözelti stabilitesi	85
Şekil 26: GastroPlus® simülasyon programı ile çizilmiş pH-çözünürlük profili	87
Şekil 27: Farklı seyrelticilerle (S1:Mikrokristalin selüloz, S2:Laktoz, S3:Dibazik kalsiyum fosfat) hazırlanan formülasyonlara ait çözünme profilleri	88
Şekil 28: Farklı hız kontrol edici (P1:Kollicoat MAE 100P, P2:Kollicoat MAE 100P:Methocel K 100LV 1:1 karışımı, P3:Eudragit RL PO, P4:Methocel E4M, P5:Methocel K 100 LV) polimerler kullanılarak hazırlanan formülasyonların çözünme profilleri	88
Şekil 29: Farklı pH değiştirici maddelerle (B1:Magnezyum hidroksit, B2:Magnezyum oksit, B3:Sodyum sitrat, B4:Sodyum karbonat, B5:Sodyum bikarbonat) hazırlanan formülasyonlara ait çözünme profilleri	89
Şekil 30: Deney tasarımı ile hazırlanan formülasyonlara ait merkez noktaların USP 31, Yöntem A metoduna göre çözünme profilleri	91
Şekil 31: Deney tasarımı ile hazırlanan formülasyonlara ait faktöriyel noktaların USP 31, Yöntem A metoduna göre çözünme profilleri	92
Şekil 32: Deney tasarımı ile hazırlanan formülasyonlara ait aksiyal noktaların USP 31, Yöntem A metoduna göre çözünme profilleri	93

Şekil 33: F9 formülünün 1000mL 0.1 N HCl, pH 4.5 fosfat tamponu ve pH 6.8 ortamlarındaki çözünme profilleri	94
Şekil 34: F14 formülünün 1000mL 0.1 N HCl, pH 4.5 fosfat tamponu ve pH 6.8 ortamlarındaki çözünme profilleri	94
Şekil 35: F9 ve F14 formülasyonlarının USP 31, Yöntem A metoduna göre çözünme profilleri	95
Şekil 36: Diovan®80 mg film tabletin 1000mL 0.1 N HCl, pH 4.5 fosfat tamponu ve pH 6.8 ortamlarındaki çözünme profilleri	95
Şekil 37: F9 ve F15 formülüne ait USP 31, Yöntem A çözünme profilleri	96
Şekil 38: 2. saat % Çözünen cevabı için yüzey cevap grafiği	99
Şekil 39: 2. saat % çözünen cevabı için kontur grafiği	99
Şekil 40: 8. saat % çözünen cevabı için yüzey cevap grafiği	101
Şekil 41: 8. saat % çözünen cevabı için kontur grafiği	101
Şekil 42: Tablet sertliği cevabı için yüzey cevap grafiği	103
Şekil 43: Tablet sertliği cevabı için kontur grafiği	103
Şekil 44: Merkezi birleşik tasarımın 2. saat % çözünen madde (y1) cevabı için gözlenen değere karşı tahmin edilen değer karşılaştırılması	104
Şekil 45: Merkezi birleşik tasarımın 8. saat % çözünen madde (Y2) cevabı için gözlenen değere karşı tahmin edilen değer karşılaştırılması	104
Şekil 46: Merkezi birleşik tasarımın tablet sertliği (Y3) cevabı için gözlenen değere karşı tahmin edilen değer karşılaştırılması	105
Şekil 47: Deneysel tasarım sonrası optimizasyon ile geliştirilmiş tasarım sahası	106
Şekil 48: 25±2°C % 60±5 bağıl nemde bekletilen F9 tabletlerinin çözünme profili	111
Şekil 49: 40±2°C % 75±5 bağıl nemde bekletilen F9 tabletlerinin çözünme profili	111
Şekil 50: Farklı sıcaklık ve nem koşullarında bekletilen F9 tabletlerinin nem profili	111

Şekil 51: Farklı sıcaklık ve nem koşullarında bekletilen F9 tabletlerinin sertlik profili	112
Şekil 52: F9 formülasyonuna ait DSC termogramları	113
Şekil 53: 80 mg valsartan içeren farklı ilaç şekillerine ait simülasyon sonucu elde edilen plazma profilleri karşılaştırması	114
Resim 1. GastroPlus® yazılımı Bileşen (compound) tabının görünümü	65
Resim 2. GastroPlus® yazılımı Fizyoloji (physiology) tabının görünümü	65
Resim 3. GastroPlus® yazılımı Farmakokinetik (pharmacokinetic) tabının görünümü	66
Resim 4. GastroPlus® yazılımı Simülasyon (simulation) tabının görünümü	66
Resim 5. GastroPlus® yazılımı Grafik (graph) tabının görünümü	67
Resim 6: F9 formülasyonunun 6 aylık stabilite süresi sonunda tabletlerinin görünümü	112

Tablolar

	SAYFA
Tablo 1: Genel olarak piyasada bulunan uzatılmış salan oral ilaç şekilleri	6
Tablo 2: Doz ve çözünürlüğe bağlı olarak uzatılmış salan sistemin seçimi	7
Tablo 3: Farklı geometrik şekiller için “n” parametresinin değerleri ve salım mekanizmaları	12
Tablo 4: Deney tasarımı metotları	37
Tablo 5: Faktör sayısına göre hesaplanan α değerleri	39
Tablo 6: MTFT Türleri	40
Tablo 7: Formülasyonda kullanılan seyrelticiler ve bazı fizikokimyasal özellikleri	52
Tablo 8: Formülasyonda kullanılan hız kontrol edici polimerler	53
Tablo 9: Formülasyonda kullanılan ph değiştirici maddeler ve bazı fizikokimyasal özellikleri	53
Tablo 10: Hazırlanan tablet formülasyonlarında yer alan yardımcı maddeler ve görevleri	54
Tablo 11: Farklı seyreltici maddeler kullanılarak hazırlanan formülasyonların içeriği	55
Tablo 12: Hız kontrol edici farklı polimerler kullanılarak hazırlanan formülasyonların içeriği	55
Tablo 13: Farklı pH değiştirici maddeler kullanılarak hazırlanan formülasyonların içeriği	55
Tablo 14: Valsartan deney tasarımı formülasyonlarında kullanılan sodyum sitrat ve Lutrol F127 seviyeleri	58
Tablo 15: Design Expert® kullanılarak yapılan deneysel tasarım ile elde edilmiş formülasyonlar (mg, %)	59
Tablo 16: İlave olarak hazırlanan formülasyonların içerikleri	60
Tablo 17: Valsartan IR Spektrum Sonuçları	70

Tablo 18: Etkin maddenin kalibrasyon parametreleri	75
Tablo 19: Etkin maddenin 0.1 N HCl ortamında geri elde ile hesaplanan madde miktarı sonuçları	76
Tablo 20: Etkin maddenin USP 31, Yöntem A ortamında geri elde ile hesaplanan madde miktarı sonuçları	77
Tablo 21: 0.1 N HCl ortamında tekrar edilebilirlik sonuçları	78
Tablo 22: USP 31, Yöntem A ortamında tekrar edilebilirlik sonuçları	79
Tablo 23: 0.1 N HCl ortamında ara kesinlik sonuçları	80
Tablo 24: USP 31, Yöntem A ortamında ara kesinlik sonuçları	81
Tablo 25: Valsartanın 25°C ve 37°C'deki çözelti hal stabilite konsantrasyonları	86
Tablo 26: Valsartan için farklı pH'larda çözünürlük çalışması özet sonuçları	86
Tablo 27: Farklı sodyum sitrat ve Lutrol F127 içerikleri ile deney tasarımı kullanarak hazırlanan formülasyonlara ait faktörler ve cevaplar	97
Tablo 28: Merkezi birleşik tasarımın 2. saatte % çözünen etkin madde cevabı için ANOVA sonuçları	98
Tablo 29: Merkezi birleşik tasarımın 8. saatte % çözünen etkin madde cevabı için ANOVA sonuçları	100
Tablo 30: Merkezi birleşik tasarımın tablet sertliği cevabı için ANOVA sonuçları	102
Tablo 31: Deneysel tasarım sonrası elde edilen cevapların optimizasyon kriterleri	105
Tablo 32: F9 formülasyonunun F14 ve F15 formülasyonları ile USP 31 Yöntem A ortamındaki salım profillerinin birbiri ile olan benzerlik faktörleri (f2) ve fark etkenleri (f1)	107
Tablo 33: Hazırlanan tabletlerin salım verilerinin kinetik incelenmesi	108
Tablo 34: Tabletlerde yapılan farmasötik denetimler	109

Tablo 35: Tabletlerde etkin madde miktar tayini hesaplarının sonuçları	110
Tablo 36: Simülasyon yapılan tüm formülasyonlara ait tahmini farmakokinetik parametreler	114

Kısaltmalar

ACE	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim
AT2	: Anjiyotensin II reseptörü
AUC	:Plazma konsantrasyon- zaman eğrisi altında kalan alan
BSC	: Biyofarmasötik sınıflandırma sistemi
CMC	: Kritik misel konsantrasyonu
C _{max}	: Pik plazma konsantrasyonu
Cl	: Klirens
DSC	: Diferansiyel taramalı kalorimetri
FT-IR	: Fournier Transform Infrared Spektrofotometresi
ICH	: Uluslar arası harmonizasyon kurumu
N	: Newton
HCl	: Hidroklorik asit
HPMC	: Hidroksipropil metilselüloz
t _{max}	: Pik plazma konsantrasyonuna ulaşılan zaman
USP	: Amerikan farmakopesi

1. GİRİŞ

1.1. Giriş ve Amaç

Kontrollü salım sistemleri sentetik veya doğal polimerlerle ilacın kombine edilmesi ile oluşan, taşıdıkları ilacı istenilen hız ve sürede salabilen ilaç şekilleri olup oral ilaç kullanımında önemli bir yer tutmaktadır. Kontrollü salım yapan ilaç şekillerinin etkin maddenin plazma düzeyinin belirlenen süre sabit kalması ve düşük dozlarda tedavinin sağlanarak hasta uyuncunun artırması gibi pek çok üstünlüğü söz konusudur.

Ancak kontrollü salın oral ilaç şekillerinde etkin maddenin pH'ya bağımlı olarak salım yapması, in-vivo değişkenliklere ve biyoyararlanım problemlerine neden olmaktadır. Bu durum özellikle zayıf bazik ve zayıf asit ilaçlar veya tuzlarının, mide barsak sistemindeki pH aralıklarında, pH'ya bağımlı çözünürlüklerinin değişikliği nedeniyle önemli bir parametre durumundadır. Zayıf bazik veya tuzu şeklindeki ilaçların pH'ya bağımlı çözünürlük göstermeleri sonucu pKa değerlerine göre mide barsak kanalında pH arttıkça intestinal sıvılarda protonunu kaybederek daha az çözünen formlarına dönüşmektedirler. Aynı şekilde, zayıf asidik ilaçların ortam pH'sı arttıkça çözünürlüklerinde artış meydana gelmektedir. Bu nedenlerden dolayı pH'dan bağımsız ilaç salımının tahmin edilebilir ve güvenilebilir bir tedavi sağlayabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda hipertansiyon tedavisinde kullanılan yüksek seçiciliğe sahip, oral yoldan aktif ve anjiyotensin II tip 1 reseptör antagonistleri ailesine dâhil bir antihipertansif ilaç olan valsartan etkin madde olarak kullanılmıştır. Valsartan zayıf asit yapısında bir madde olup çözünürlüğü pH'ya bağımlı olarak değişmektedir ve mutlak biyoyararlanımı

%10–35 arasında değişmektedir. Dolayısıyla bu çalışmada valsartanın pH'dan bağımsız kontrollü salım yapan ilaç şekli ile kan basıncının daha etkili kontrol edilebileceği ve yararlılığının daha fazla artacağı düşünülmüştür.

Çalışmamızda doğrudan basım yöntemi ile pH'dan bağımsız kontrollü salım yapan matriks tabletler hazırlanmıştır. Bu yöntem maliyetin düşük olması ve formülasyonu hazırlama kolaylığı nedeniyle tercih edilmiştir.

Bu çalışmada polioksietilen türevi bir yardımcı madde ve zayıf bazik yapıda bir yardımcı madde kullanılarak zayıf asidik yapıdaki valsartanın düşük pH'lardaki çözünürlüğünü artırılması, bununla birlikte polimer kullanımı ile kontrollü salım sağlayan tablet formülasyonlarının geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla;

- Hazırlanması kolay ve ekonomik bir yöntem olan doğrudan basım yöntemi seçilerek tablet formülasyonlarının hazırlanması,
- pH'dan bağımsız kontrollü salım sağlanması amacıyla farklı pH değiştirici maddeler, farklı seyreltici maddeler ve hız kontrol edici farklı polimerler kullanılarak bu maddelerin pH'dan bağımsız kontrollü salım üzerine etkisinin araştırılması,
- Seçilen uygun yardımcı maddeler ile bu yardımcı maddeleri farklı düzeylerde içeren formülasyonlar hazırlanarak deney tasarımı gerçekleştirilmesi ve optimum formülün belirlenmesi,
- Belirlenen optimum formülasyon için GastroPlus[®] bilgisayar yazılımı ile in vivo simülasyon yapılması,
- Hazırlanan in vitro gereksinimleri karşılayan formülasyonun stabilitesinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kontrollü Salım Sistemleri

Uygulama şeklinin kolay olması ve buna bağlı olarak hasta uyuncunun yüksek olması nedeniyle oral ilaç kullanımı en çok tercih edilen yoldur¹. Kontrollü salım sistemleri, taşıdıkları ilacı istenilen hız ve sürede salabilen ilaç şekilleri olup oral ilaç kullanımında önemli bir yer tutmaktadır^{1,2}. Özellikle ilaç sanayinde kontrollü salım sistemleri hazırlanarak etkin maddenin farklı ilaç şekillerindeki patent korumasından muaf olunabilmektedir. Kontrollü salım sistemleri parenteral, transdermal, nazal, pulmoner, oküler, bukkal, oral, rektal, vajinal ve intrauterin sistemler olabilmektedir².

Kontrollü salım sistemlerinin tasarlanmasında mide barsak kanalına ve ilaca ait fizikokimyasal ve farmakokinetik özelliklerin dikkate alınması gerekmektedir. Mide barsak sisteminden ilacın geçiş süresi, hastanın pozisyonu, kişiye bağlı absorpsiyon ve metabolizasyon özelliklerine bağlı olarak kişiler arası farklılıklar göstermektedir. İlaçların mide barsak sisteminden absorpsiyonunu en çok etkileyen faktörler gastrik ve intestinal geçiş profili, yiyecek ve içecek alımı, ortam sıvıları ve pH değerleri ile birlikte ilacın çözünürlüğü, iyonizasyonu ve lipofilisitesidir. İdeal kontrollü salım sistemlerinde ilaç salımının ilacın fizikokimyasal ve farmakokinetik özellikleri ve GI kanal özelliklerinden etkilenmemesi istenmektedir^{3,4}.

Oral kontrollü salın sistemlerin tasarlanmasındaki en büyük zorluk, GI sistem içeriğinin mideden kolona doğru değişmesi nedeniyle in vivo in vitro korelasyonun yapılamamasıdır. Hızlı salın ilaç şekillerinde ilaç absorpsiyonu büyük oranda ince barsağın üst kısımlarında gerçekleşirken, kontrollü salın ilaç şekillerinde absorpsiyon ince barsakta hatta bazı

durumlarda kolonda meydana gelmektedir. Bölgeye bağlı absorbsiyon, bu tür ilaç şekillerinde in vitro- in vivo korelasyonu karmaşık hale getirmekte, geçiş süresinde meydana gelebilecek değişikliklere bağlı olarak değişken absorbsiyon nedeniyle birey içi ve bireyler arası varyasyonlara sebep olmaktadır⁴.

2.1.1. Kontrollü Salım Sistemlerinin Diğer İlaç Şekillerine Üstünlükleri

- Etkin maddenin plazma düzeyinin belirlenen süre dalgalanmaksızın (fluctuation) sabit kalması ve tedavi konsantrasyonundaki ilaç düzeyini belirlenen süre boyunca koruması^{2,5}
- Düşük dozlarla tedavi sağlanabilmesi dolayısıyla etkin maddenin yan ve toksik etkilerinin çok azalması veya tamamen ortadan kalkması^{2,5,6}
- İn vivo yarılanma ömrü kısa olan etkin maddelerin parçalanmasının önlenmesi ve yarılanma ömrünün uzaması^{2,5,6}
- Kontrollü salım sistemlerinin hedeflendirilebilmesi^{2,5}
- Hastaların yaşam kalitesinin artması ve hasta bakımının kolaylaşması^{2,5,6}

2.1.2. Kontrollü Salım Sistemlerinin Sakıncaları

- Polimerin kendisinin veya parçalanma ürününün toksik etki veya biyolojik uyumsuzluk gösterme ihtimali^{2,5}
- Sistem vücuda verildikten veya yerleştirildikten sonra istenildiği an ilaç salımının durdurulamaması^{2,5}
- Yüksek dozda etkili olan ve yarılanma ömrü kısa maddelerin hazırlanmasının güç olması ve yutulamayacak büyüklükte preparatlar ortaya çıkması⁶

- Özellikle difüzyonla kontrol edilen sistemlerde etkin maddenin suda yeterli ölçüde çözünmesi gerekmesi⁶
- İçerisindeki dozu bir anda verme riskinin bulunması (dose dumping)

2.1.3. Oral Kontrollü Salım Sistemi Tipleri

Mide barsak kanalında kontrollü salım profili elde etmek için çeşitli fiziksel ve kimyasal yaklaşımlar uzun yıllardır başarılı bir şekilde uygulanmaktadır. Bugün kullanılan uzatılmış salım teknolojilerinin pek çoğu polimerik sistemlerdir⁷.

Kontrollü salım sistemleri USP 31'de değiştirilmiş salım sistemleri (modified release systems) olarak isimlendirilmiş ve iki grup altında toplanmıştır^{5,8}.

1.Geciktirilmiş salım sistemleri (Delayed release systems): Etkin maddenin sistemden salımı belli bir bölgede olmaktadır. Genellikle Enterik kaplı tabletler için kullanılır. Tekrarlanan doz içeren sistemlerde (repeat action systems) ilaç şekli içinde etkin maddenin birden fazla dozu vardır ve bu dozlar belli zaman aralıkları ile salınırlar.

2.Uzatılmış salım sistemleri (Extended release systems):

a)*Kontrollü salım sistemleri (controlled release systems)*: Bu sistemlerin salım hızları önceden planlanabilir ve sıfırıncı derece kinetikle etkin madde salımını gerçekleştirebilirler.

b)*Sürekli salım sistemleri (sustained release systems)*: Bu sistemler etkin maddenin plazma veya doku düzeyini alışılmış şekillere göre çok daha uzun süre devam ettirmektedir. Ancak bu sistem bulunduğu

ortam şartlarından etkilenebildiği için salım mekanizmasını önceden belirlemek güçtür. Genelde salım hızı birinci derece kinetik uyumludur^{5,8}.

Uzatılmış salan oral katı sistemler genel olarak incelendiğinde matriks sistemler, rezervuar (depo) sistemler ve ozmotik sistemler olmak üzere 3 ana başlık altında toplanabilmektedir (Tablo 1)¹.

Tablo 1: Genel olarak piyasada bulunan uzatılmış salan oral ilaç şekilleri¹

	Matriks	Rezervuar	Ozmotik
Sistemler	Hidrofilik Matriks • Erozyon/ Difüzyon kontrollü • Şişme/ Erozyon kontrollü Hidrofobik Matriks • Homojen matriks • Heterojen matriks	Membran kontrollü Membran-matriks kombinasyonu	Basit ozmotik pompa Mikroporlu ozmotik pompa Tabakalı ozmotik pompa (örn. Push-Pull®, Push-Stick®)
İlaç Şekilleri	Monolitik tablet Çoklu üniteli tabletler Tabakalı tablet Basınçla kaplanmış tablet	Çoklu üniteli kaplı boncuklar Çoklu üniteli kaplı mini tabletler Monolitik kaplı tabletler	Kaplı monolitik tabletler Kaplı tabakalı tabletler

Uzatılmış salım sistemlerinden ilaç salımı genellikle aşağıdaki mekanizmaların biri veya kombinasyonu şeklinde olmaktadır¹;

- İlaç difüzyonu (bariyer porlarından, eğri büğrü kanallardan veya polimer zincirlerinin aralarındaki viskoz jel tabakadan)
- Sistemin şişmesi (devamında difüzyon ve/veya erozyon ve çözünme meydana gelmektedir)
- Ozmotik basınç etkili salım (ilaç çözeltisi, süspansiyonu veya ıslanmış kütle sistemin dışına itilir)

Uzatılmış salan sistem tipinin etkin maddenin çözünürlük ve doz miktarına bağlı olarak seçim tablosu Tablo 2’de görülmektedir.

Tablo 2: Doz ve çözünürlüğe bağlı olarak uzatılmış salan sistemin seçimi⁷

Sistem	YÇ/ YD	YÇ/ OD	YÇ/ DD	OÇ/ YD	OÇ/ OD	OÇ/ DD	DÇ/ YD	DÇ/ OD	DÇ/ DD
Hidrofilik Matriks Tablet	0	+	+	+	+	+	+	+	+
Hidrofobik Matriks Tablet	+	+	+	-	0	+	-	-	-
Hidrofobik Matriks Pellet	-	-	-	-	+	+	-	+	+
Kaplı Matriks Pellet	+	+	+	-	0	+	-	-	-
Kaplı Pellet	-	+	+	-	+	+	-	-	-
Ozmotik Pompa	-	0	0	-	+	+	-	+	+

Not: (1) YÇ: Yüksek çözünür, OÇ: Orta çözünür, DÇ: Düşük çözünür; YD: Yüksek doz, OD: Orta doz, DD: Düşük doz **(2)** “+”: Uygun, “-”: Uygun değil, “0”: Belirsiz durum (sistem değişikliği gerekebilir.)

Tüm uzatılmış salan sistemlerin performanslarına, uygulanabilirliklerine, üretilebilirliklerine, maliyetlerine, kontrol edilebilirliklerine ve geliştirme sürelerine göre avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır⁷. Günümüzde bu tekniklerle hazırlanmış çok sayıda preparat dünya ilaç pazarında bulunmaktadır⁶.

2.1.3.1. Membran (Depo) Kontrollü Sistemler

Bu tip preparatlarda etkin madde katı halde veya yüksek

konsantrasyonda çözeltisi halinde hız sınırlayıcı bir film veya membran ile kaplıdır. Bu sistemlerde salım hızını sınırlayan basamak ilacın deponun etrafındaki polimer tabakadan difüzyonudur⁹.

Bu sistemlerde ilacı sistemden iten güç, depo ve dış sulu ortam arasındaki konsantrasyon gradyentidir. İlaç difüzyonunu etkileyen en önemli faktörler membran kaplamada kullanılan polimerler ve por oluşturucular, etkin madde yükleme miktarı ve çözünürlüğüdür. Tercih edilen depo sistemler genel olarak boncuk, pellet veya mini tabletler gibi çoklu ünitelerin kaplanması ile elde edilen sistemlerdir¹.

Matriks sistemlerde olduğu gibi, etkin madde pH'ya bağımlı çözünürlüğe sahipse, sistemden ilaç salımı pH'ya bağımlı olmaktadır. pH'dan bağımsız salım elde edebilmek için sistem çekirdeğinde etkin madde çözünürlüğünün (C_s) sabit tutulması gerekmektedir. Bu amaçla sistemlerde tamponlayıcı maddeler kullanılarak pH'dan bağımsız salım elde edilen çalışmalar vardır⁷.

2.1.3.2. Ozmotik Kontrollü Sistemler

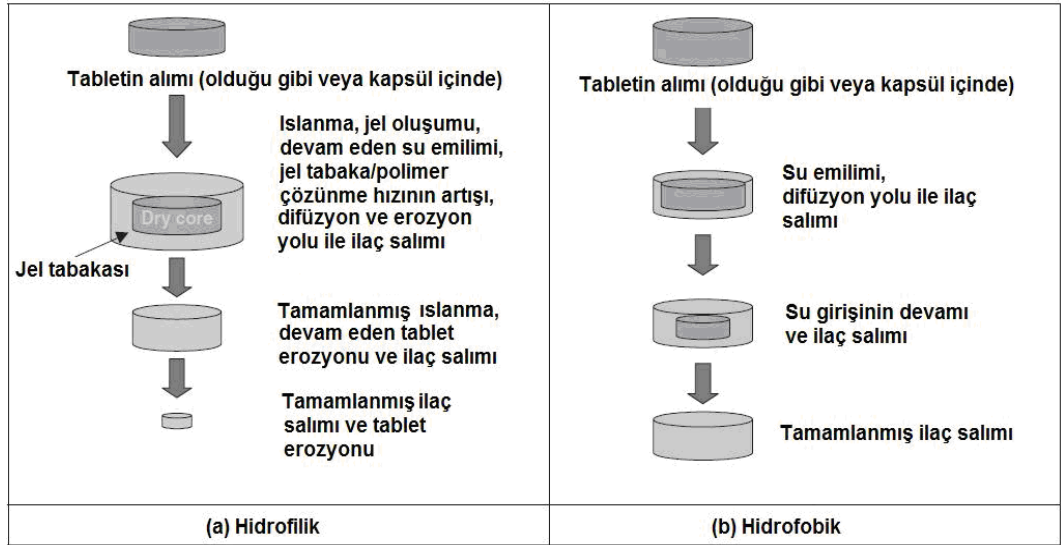
Ozmotik pompa sistemler depo sistemlere benzerler ancak farklı olarak dışarıdaki suyu yarı geçirgen bir zardan sistem içerisine çekecek ozmotik ajan içerirler. Sistemden ilaç salımı, yarı geçirgen zardan geçen suyun miktarı ile kontrol edilir. Sistem içinde meydana gelen ozmotik basıncın etkisi ile ilaç, sistemde açılmış bir delikten dışarı itilir. Ozmotik pompa sistemler basit ozmotik pompa denilen tek bölmeli veya iki bölmeli tipte olabilir^{1,6,9}.

2.1.3.3. Matriks Kontrollü Sistemler

Matriks tipi preparatlarda etkin madde hız kontrol eden bir polimerin oluşturduğu yapı içinde homojen bir şekilde çözünmüş veya dağılmıştır. İlaç salımı matriks sistemden ilaç difüzyonu veya erozyonu sonucu meydana gelmektedir^{1,10}.

Hız kontrol edici materyalin karakteristiğine göre matriks sistemler hidrofilik matriks ve hidrofobik matriks sistemler olmak üzere 2 grup altında incelenmektedir (Şekil 1)⁷. Hidrofilik matrikslerde matriks oluşturucu materyal suda çözünür veya şişerken, hidrofobik matrikslerde matriks oluşturucu materyal suda çözünmez ve şişmez^{6,9}.

İyon değiştirici reçineler kullanılarak da matriks sistemler hazırlanabilmektedir. Bu sistemlerden ilaç salımı, mide barsak sistemi sıvılarındaki iyonların etkin madde ile yer değiştirmesi suretiyle meydana gelmektedir^{1,6,9}.



Şekil 1: Hidrofilik ve hidrofobik matriks sistemlerden ilaç salımı⁷.

Hidrofilik matrikslerde etkin maddenin çözünürlüğü bağlı olarak fazlaysa, salım difüzyon kontrollü olarak meydana gelmektedir. Yüzey alanın zamanla küçülmesi ve difüzyon uzaklığının sistemde zaman içinde artması nedeniyle sistemlerden salım sıfır derece kinetik ile olmamaktadır. Sıfır derece veya sıfır dereceye yakın salım elde edebilmek için matriks erozyonu, yüzey alan ve şişmenin kontrol edilmesi ve matriks-membran kombinasyonlarının kullanılması gerekmektedir. Bununla birlikte bu tasarımlar genel olarak üretilebilirliği zor ve yüksek maliyetli olmaktadır¹.

Matriks sistemlerde pH'ya bağımlı ilaç salımı, sistemden etkin madde salımını sınırlayan başlıca faktörlerden biridir. Bu amaçla hidrofilik ve hidrofobik matriks sistemler üzerinde pek çok çalışma yapılmıştır. Bu yaklaşımlardan bazıları fonksiyonel olarak kaplı tabletler, tabakalı tabletler, basınçla kaplı tabletler, birden fazla polimerin birlikte kullanımı ve fonksiyonel yardımcı maddelerin kullanımı olabilmektedir. Hem hidrofilik hem de hidrofobik hız sınırlayıcı maddeleri birlikte içeren matriks sistemler daha avantajlı olabilmektedir⁹.

Matriks sistemlerde salımı değiştirmek amacıyla kullanılan maddeler genel olarak hidrofilik ve hidrofobik polimerler ve uzun zincirli hidrokarbonlar olmaktadır. Sıklıkla kullanılan hidrofilik polimerler aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir¹;

1. Non-iyonik ve çözünebilir selüloz eterleri: Hidroksipropil metil selüloz (HPMC, örn. Methocel K 100 LV, K4M, K15M, K100M), hidroksipropil selüloz (HPC, örn. Klucel GXF, MXF, HXF), hidroksietil selüloz (HEC, örn. Natrosol 250 HHX, HX, M, G)

2. Non-iyonik etilen oksit homopolimerleri: Polietilen oksit (örn. Lutrol, Polyox WSR N-12K, WSR N-60 K, WSR-301, WSR-coagulant, WSR-303, WSR-308)
3. Suda çözünebilen doğal polisakkaritler: Ksantan zımkı, aljinat
4. Suda çözünemeyen ancak şişebilen yüksek moleköl ağırlıklı akrilik asit ve kimyasal olarak çapraz bağlanmış poli alkenil alkollerin homopolimerleri ve kopolimerleri: Carbopol® 71 G NF, 97 G NF, 971P, 974P
5. Polivinil asetat ve povidon karışımları: Kollidon SR
6. Çapraz bağlanmış mısır nişatası
7. İyonik metakrilat kopolimerleri: Eudragit L30D, FS30D

Ürün gelişiminde matriks sistemler düşük maliyetli olması, ölçek büyütmenin ve üretiminin kolay olması açısından avantajlı sistemlerdir. Bununla birlikte matriks sistemlerin salım karakteristiği genel olarak etkin maddeye bağlıdır. Farklı salım profillerini elde etmek için çift tabakalı kaplama teknikleri gibi daha kompleks tasarımlara ihtiyaç duyulabilmektedir^{1,7}.

2.1.3.3.1. Hidrofilik Matriks Sistemler: Hidrofilik matriks sistemlerde etkin madde salımı difüzyon, polimer erozyonu veya her iki mekanizmanın kombinasyonu ile gerçekleşmektedir. Birincil hız kontrol eden materyaller polimerlerdir. Polimerler sulu ortamda hızlı bir şekilde ıslanır ve şişerek sistem üzerinde jel tabakası oluşmasını sağlarlar. Viskoz jel tabakasından difüzyon veya erozyon ile salım gerçekleşir¹. Ayrıca etkin madde salımı Fick kanunundan sapma göstermekte ve Fick'e uymayan (anomali) davranış görölmektedir. Fick kanunundan sapmaları tanımlamak amacıyla Peppas ve arkadaşları tarafından şişebilen ya da şişmeyen sistemler için geometrik şekil göz önüne alınmaksızın aşağıdaki yarı ampirik eşitlik önerilmiştir^{3,9}.

$$Q=kt^n$$

Eşitlik 1

Q: t zaman içinde salınmış ilaç fraksiyonu.

k: ilaç ve makro moleküler ağ sisteminin karakteristiğine bağlı hız sabiti.

n: Difüzyon mekanizmasını belirleyen üs.

Eşitlik 1 camsı polimerlerden şişme ve ilaç salımını açıklayan, Fick difüzyonu ve Case II transportunun genellemesidir. Eşitlik 1, ilaç şeklinin geometrik şekline bakılmaksızın salım verilerinin %60'ını analiz etmek için kullanılabilmektedir. Eşitlik 1'deki üs (n), etkin maddenin polimerden salım davranışını açıklayan önemli bir parametredir³. Tablo 3'de farklı geometrik şekiller için n parametresinin değerleri ve bunlarla ilişkili salım mekanizmaları görülmektedir³.

Tablo 3: Farklı geometrik şekiller için “n” parametresinin değerleri ve salım mekanizmaları³.

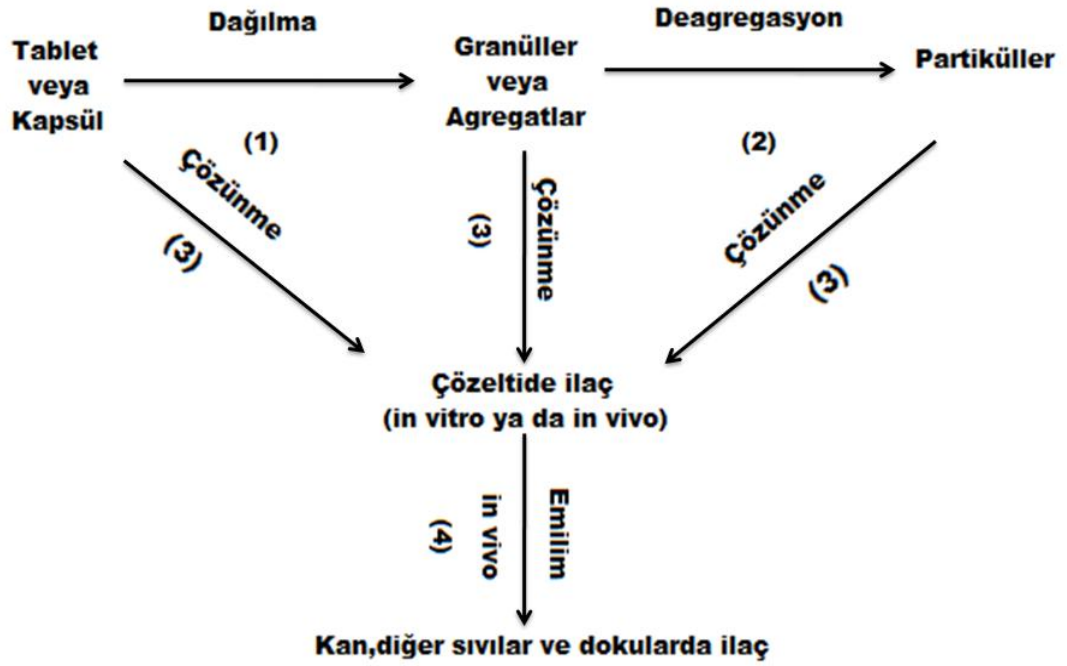
n			İlacın Salım Mekanizması
İnce Film	Silindir	Küre	
0.5	0.45	0.43	Fick'e uygun difüzyon (Case I)
0.5 < n < 1	0.45 < n < 0.89	0.43 < n < 0.85	Fick'e uymayan (Anomali) geçiş
1	0.89	0.85	Case II geçiş
n > 1			Super-Case II geçiş

2.2. Çözünürlük, Çözünme ve pH ile ilişkisi

2.2.1. Absorbsiyon, Çözünürlük ve Çözünme (Biyoyararlanım) Üzerinde Etkili Faktörler

Oral yoldan verilen tablet, kapsül, granül gibi ilaç şekilleri mideye ulaştıktan sonra önce ıslanırlar, sonra da dağılırlar. Oluşan topak veya granüllerden etkin madde ortam sıvısında çözünmeye başlar (Şekil

2). Çözünme işlemi dağılma, topakların açılması ve absorpsiyon işlemlerinden daha yavaşsa, çözünmenin hız saptayan adım olduğu söylenebilir. Dağılma, deagregasyon ve çözünme işlemleri ilaç şeklinin formülasyonuna bağlıdır. Absorpsiyon ise etkin maddenin bir farmakokinetik parametresi olup formülasyondan bağımsızdır¹¹.

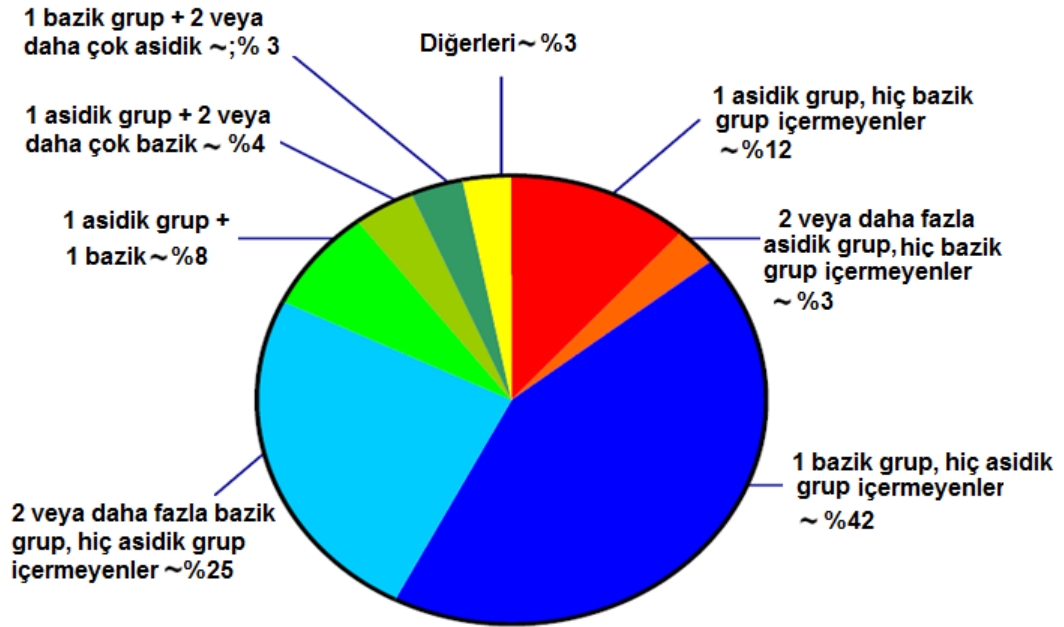


Şekil 2: Oral alınmış kapsül veya tabletin in vivo veya in vitro ortamlarda geçirdiği aşamalar¹¹.

Şekil 2’de de görüldüğü gibi herhangi bir ilacın emilmesi için öncelikle çözünmesi gerekmektedir. Çözünürlük bir etkin maddenin bir çözücünde normal şartlarda, belli bir sıcaklık derecesinde çözünebildiği en fazla miktardır. Buna doygunluk konsantrasyonu da denilmektedir. Çözünme ise belli bir zaman diliminde çözünen madde miktarıdır ve dinamik bir olaydır. Çözünürlük ve çözünme üzerinde sıcaklık, ortam pH’sı, molekül ve partikül boyutu gibi pek çok parametre etkilidir¹².

2.2.2. pH'nın Çözünürlük ve Çözünme Üzerindeki Etki Mekanizması

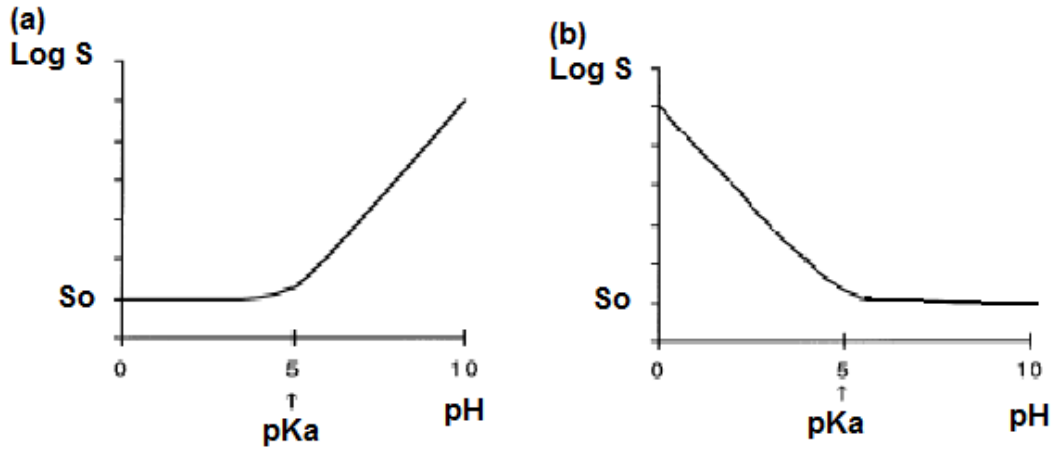
Dünya piyasasında kullanımda olan etkin maddeler yüklerine göre sınıflandırıldığında, iyonik bileşiklerin oranının % 63 ve iyonik olmayan bileşiklerin oranının ise % 37 olduğu bildirilmektedir. İyonik ilaçlar kendi aralarında sınıflandırıldığında ise tek bazik grup içeren moleküller daha büyük bir oranı kapsamaktadır(Şekil 3)¹³.



Şekil 3: İyonik ilaçların sınıflandırılması¹³.

Dünya piyasasında bulunan etkin maddelerin yüksek oranının iyonik yapıda oldukları ve çözünürlüklerinin pH'dan etkilendiği bilinmektedir. pH'dan bağımsız salım ile ilacın mide barsak sistemindeki tüm pH'larda ve pH değişimleri sırasında eşit miktarda çözünmesi ve salınması, yiyecek etkisi nedeniyle meydana gelen pH değişikliklerinden çözünürlüğünün etkilenmemesi beklenmektedir¹³.

Zayıf asit ve zayıf baz yapısındaki maddelerin çözünürlükleri iyonizasyon sabitlerine ve ortam pH'larına bağlıdır. Zayıf asitler için pKa değerinin üstündeki pH'larda iyonize form artmakta ve çözünürlük yüksek olmaktadır. Zayıf bazik ilaçlar içinse tam tersi durum söz konusudur¹⁴. Bu pH değişimleri zayıf elektrolit özellikteki etkin maddelerin çözünürlüklerini ve çözünme hızlarını önemli ölçüde etkilemektedir¹⁵. Şekil 4a ve 4b zayıf asit ve zayıf bazik yapıdaki maddeler için pH-çözünürlük ilişkisini göstermektedir¹⁴.



Şekil 4: (a). Zayıf asit etkin maddenin pH artışı ile çözünürlüğü artmaktadır. (b). Zayıf bazik etkin maddenin pH artışı ile çözünürlüğü azalmaktadır. S: Etkin maddenin bulunduğu ortamdaki çözünürlük değeri, S₀: Etkin maddenin pH'dan bağımsız olarak çözünürlük değeri¹⁴

İyonize olan ve iyonize olmayan ilaç konsantrasyonlarının hesaplanması Henderson-Hasselbach eşitliği ile olmaktadır^{12,16}. Asit veya alkali bir ilacın çözünürlüğü büyük ölçüde ilacın pKa değerine bağlıdır. pKa'nın fonksiyonu olarak¹⁶;

Asitler için çözünürlüğünü tanımlayan eşitlik;

$$S = S_0 [1 + K_a / [H^+]]$$

Eşitlik 2

Bazlar için çözünürlüğü tanımlayan eşitlik;

$$S=S_0[1+[H^+]/K_a] \quad \text{Eşitlik 3}$$

S: İlacın hidrojen iyon konsantrasyonundaki çözünürlüğü.

S₀: İyonize olmamış asit veya bazın çözünürlüğü.

Bu eşitliklere göre de çözeltinin pH'sı artırıldıkça zayıf asitin çözünürlüğü artarken zayıf baz özellikteki maddenin çözünürlüğü azalmaktadır¹⁶.

pH'nın çözünme üzerindeki etkisi Henderson-Hasselbach denklemlerinden türetilmiş aşağıdaki denklemlerle ifade edilmektedir¹⁵;

Zayıf bazik bir maddenin pH'ya bağımlı çözünme ;

$$\frac{dM}{dt} = \frac{DS}{h} \left\{ Cs \left(1 + \frac{[H^+]}{K_a} \right) - Cg \right\} \quad \text{Eşitlik 4}$$

Zayıf asit yapıdaki bir maddenin pH'ya bağımlı çözünme;

$$\frac{dM}{dt} = \frac{DS}{h} \left\{ Cs \left(1 + \frac{K_a}{[H^+]} \right) - Cg \right\} \quad \text{Eşitlik 5}$$

Cs: Etkin maddenin doyum konsantrasyonu (çözünürlük değeri).

Cg: Çözünme ortamında (mide barsak kanalında) maddenin çözünürlüğü.

Ka: Zayıf elektrolitin iyonizasyon sabiti.

[H⁺]: Mide barsak kanalının (çözünme ortamının) hidrojen iyonu konsantrasyonudur.

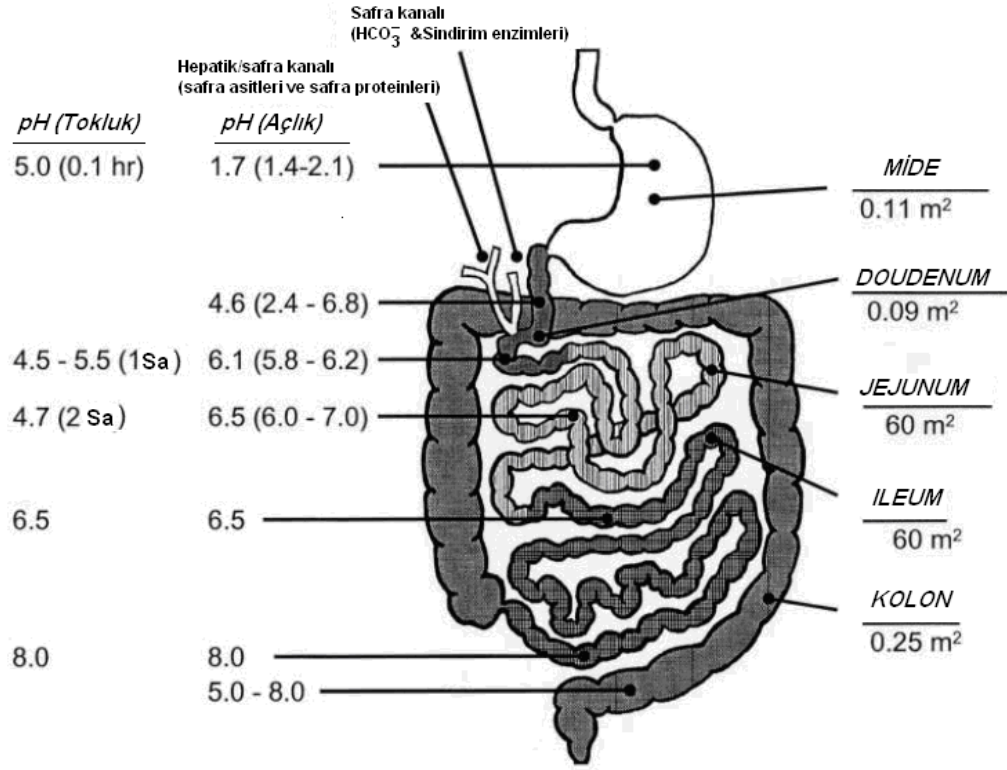
Henderson-Hasselbach eşitliği kullanılarak çözünürlükteki değişikliklerin saptanması ile pKa tayin edilmesi, uygun tuz oluşturan

bileşiklerin seçiminin kolaylaştırılması ve tuzların çözünürlük ve pH'sının belirlenmesi mümkün olabilmektedir¹⁶.

2.2.3. pKa ve Mide Barsak Sistemi pH Profili

İyonize olan etkin maddeler için mide barsak sıvısı pH'sı, doyumluk çözünürlüğü açısından en önemli faktörlerden biridir¹⁴. Mide barsak kanalındaki pH, alıkonma zamanı, barsak hareketliliği ve mide barsak içerikleri gibi fizyolojik değişkenler kontrollü salınan ilaç şekillerinden in vivo ilaç salımını değiştirebilmektedir¹⁷. Açlık ve tokluk durumlarında mide barsak sisteminde büyük pH değişiklikleri meydana gelmektedir. Yiyeceklerin sindirilmesi esnasında tamponlama etkisi nedeniyle ilk olarak pH artmakta daha sonra buna cevap olarak gastrik asit salgısında artış meydana gelmektedir ve yaklaşık 3–4 saat sonra tekrar açlık durumu pH'sına dönüşmektedir¹⁴.

Mide barsak sisteminde açlık ve tokluk durumlarına göre bölgelere özgü pH ve geçiş süreleri Şekil 5'de gösterildiği gibidir. Açlık durumunda mide sıvısı pH'sı 1.7'dir. Pilonik sfinkter mide ve duodenumu birbirinden ayırır ve geçiş sırasında pH 4.6 olur. Proksimal jejunum ve distal ileum arasında pH 6.0'dan 8.0'a kadar artarken kolonda pH mikrobiyal sindirim ile birlikte 5.0'a kadar düşmektedir^{18,19}. Bitmiş ürünün absorpsiyonu esas olarak pH'nın 4.5–8.0 arasında değiştiği 3–5 saatlik periyodu kapsayan jejunum ve ileum bölgelerinde meydana gelir. Bu durum zayıf asitlerin jejunumda, zayıf baz yapısındaki maddelerin ise ileumda daha fazla emileceğini göstermektedir¹⁸.



Şekil 5: Mide barsak sistemi fiziksel özellikleri¹⁸

2.3. pH'dan Bağımsız Salım

2.3.1. pH'dan Bağımsız Salımın Önemi ve Avantajları

Kontrollü salan oral ilaç şekillerinde gözlenen pH'ya bağımlı salım, in-vivo değişkenliklere ve biyoyararlanım problemlerine neden olmaktadır. Bu durum özellikle zayıf bazik ve zayıf asit ilaçlar veya tuzlarının, mide barsak sistemindeki pH aralıklarında, pH'ya bağımlı çözünürlüklerinin değişikliği nedeniyle önemli bir parametre durumundadır. Yapılan çalışmalarda ilacın, pH 1 ile 7 arasındaki çözünürlüğü 10 mg/mL'den az ise, biyolojik ortamdaki absorpsiyonunda da problem olacağı düşünülmektedir¹². Aynı şekilde suda çözünürlüğü 100 µg/ml olan

etkin maddeler için çözünmenin absorpsiyonda hız sınırlayıcı basamak olduğu belirtilmektedir¹⁴.

Zayıf bazik veya tuz şeklindeki ilaçların pH'ya bağımlı çözünürlük göstermeleri sonucu pKa değerlerine göre mide barsak kanalında pH arttıkça intestinal sıvılarda protonunu kaybederek daha az çözünen formlarına dönüşmektedirler. Aynı şekilde, zayıf asidik ilaçların ortam pH'sı arttıkça çözünürlüklerinde artış meydana gelmektedir^{17,20-23}. Bu nedenlerden dolayı pH'dan bağımsız ilaç salımının tahmin edilebilir ve güvenilebilir bir tedavi sağladığı düşünülmektedir^{20,24,25}.

2.3.2. pH'dan Bağımsız Salım Elde Etme Yöntemleri

pH'dan bağımsız salım elde etmek için başlıca iki farklı yaklaşım kullanılmaktadır²⁶;

- Birincisi matriks çekirdeğe tamponlayıcı ajanların eklenmesi ve ilaç şeklinin etrafında sabit pH ve çözünürlük elde edilmesidir
- İkinci yaklaşım ise ilaç şeklinin kaplanarak geçirgenliğinin artırılması ve azalan çözünürlüğün artırılmasıdır

2.3.2.1. Çekirdeğe Tamponlayıcı Maddelerin Eklenmesi

Yapılan pek çok çalışmada tamponlayıcı ajanlar kullanılarak sistemin mikro çevre pH'sı ve dolayısıyla salım hızı sabit tutulmak istenmiştir. Ancak kullanılan pek çok tamponlayıcı ajan küçük molekül ağırlığına sahip ve yüksek çözünürlükteki maddelerdir ve sistemden istenen süreden daha erken çıkabilmektedir. Bu yaklaşımın etkinliği büyük oranda tamponlayıcı ajanın tamponlama kapasitesine, miktarına,

çözünürlüğüne ve molekül ağırlığına bağlıdır. pH ayarlayıcı maddeler olarak zayıf bazik ilaçlar için etkili asitlik kuvvetine sahip organik asitler (fumarik, süksinik, adipik, tartarik veya sitrik asit) veya zayıf asidik ilaçlar için magnezyum oksit gibi alkali maddeler veya disodyum hidrojen orto fosfat/ sitrik asit karışımları ilaç çekirdeğine eklenerek sabit mikro çevre pH'sı sağlanmaya çalışılmıştır. Bu yaklaşım matriks tabletlerde olduğu gibi kaplı ilaç şekillerinde de uygulanmaktadır^{20,26}. Bunlarla birlikte aljinat, metakrilik asit veya ftalat fonksiyonel grup içeren anyonik polimerler, dimetil amino metakrilat vb. gibi katyonik polimerler de kullanılarak matriks sistemlerde sabit mikro çevre pH'sı sağlanabilmektedir^{17,27,28}. Kullanılan tamponlayıcı ajanların etkin madde veya hız kontrol edici polimer ile etkileşmemesi gerekmektedir⁷. pH değiştirici maddelerin minimum konsantrasyonda etkili olmaları istenmektedir. Yüksek konsantrasyonlarda ester ve amidin hidrolizi gibi bozunma reaksiyonları meydana gelmektedir²⁹. Bu tip etkileşimler yavaş ilaç salımı veya jel özelliğinin bozulması gibi beklenmeyen etkilere neden olmaktadır⁷.

pH'dan bağımsız salım elde etmek amacıyla yapılan bir çalışmada, Methocel E4M ve Methocel K4M kullanılarak matriks tabletler hazırlanmıştır. Alkali özellikte sodyum sitrat kullanılarak zayıf asit felbinak etkin maddesi için pH 1.2 ve pH 7.5'de pH'dan bağımsız salım elde edilmeye çalışılmıştır. Methocel E4M içeren matriks tabletlerden salımın daha hızlı gerçekleşmesi ile birlikte her iki polimer ile de pH'dan bağımsız kontrollü salımın elde edildiği gözlenmiştir³⁰.

Streubel ve ark.²⁰ pH'dan bağımsız Verapamil HCl salan matriks tabletler hazırlamak amacıyla etil selüloz (EC) ve hidroksipropil metil selüloz(HPMC) ile birlikte formülasyona fumarik asit, sorbik asit ve adipik asit ilave etmişlerdir. Ayrıca 0.1 N HCl'de çözünmeyerek tablet içinde kalan ancak pH 6.8'de çözünerek por oluşturan bir madde olan

hidroksipropilmetilselülozasetatı (HPMCAC)'da çalışmalarında kullanmışlardır. Ancak sadece fumarik asit ilave edilen formülasyonda pH'dan bağımsız salım elde edildiği gözlenmiştir. Verapamil HCl kullanılarak yapılan bir başka çalışmada ise Eudragit RS ve Eudragit RL içeren matriks tabletlerden pH'dan bağımsız salım süksinik asit/potasyum dihidrojen fosfat karışımı ile sağlandığı bildirilmiştir³¹.

Kranz ve ark.³² ise zayıf bazik bir ilaç için suda kısmen çözünen ve zayıf şişme özelliği gösteren kollidon SR, suda çözünen ve iyi şişme özelliğine sahip HPMC ve suda çözünmeyen ve şişmeyen EC kullanarak matriks tabletler ve multipartikler mini matriks tabletler hazırlamışlardır. Etkin madde salımının fumarik asit, tartarik asit, adipik asit, glutarik asit ve sorbik asit gibi organik asit eklenmesiyle yüksek pH'larda arttığı gözlenmiştir. Bununla birlikte pH'dan bağımsız salımın düşük pKa değerine sahip olması ve sudaki çözünürlüğünün daha düşük olması nedeniyle sadece fumarik asit eklenmesiyle elde edildiği bildirilmiştir. Fumarik asit, tablet içinde asidik bir mikro çevre oluşturarak yüksek pH'larda zayıf bazik ilacın çözünürlüğünü artırmaktadır ve böylece pH'dan bağımsız salım sağlanmaktadır.

Benzer bir gözlem de Siepe ve ark.³³ tarafından yapılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda fumarik, süksinik, sitrik ve askorbik asit gibi pH değiştirici maddelerin HPMC matriks tabletten salıma etkileri incelenmiştir. Fumarik asit, yüksek asitlik kuvveti ve düşük suda çözünürlük değeri ile tablet etrafına sabit pH oluşturmuş ve böylelikle pH'dan bağımsız salım sağlanmıştır. Buna karşılık süksinik asit, sitrik asit ve askorbik asit gibi organik asitlerin yüksek çözünürlükleri nedeniyle tabletten hızlıca salınması ve bu nedenle tamponlama kapasitesinin oldukça düşük olması nedeniyle pH'dan bağımsız salımın elde edilemediği bildirilmektedir.

Bir diğerk çalışmada Espinoza ve ark.³⁴ zayıf bazik bir madde olan Pelanserın HCl'i suda özüneabilen asidik bir madde olan sitrik asit ve HPMC ile karıştırarak matriks tabletler hazırlayarak etkin madde salımı ve salım mekanizmasındaki değişiklikleri incelemişlerdir. Çözünmenin difüzyon/şişme mekanizması ile gerçekleştiği ve sitrik asit miktarı arttıkça difüzyon mekanizmasının daha etkili olduğu gözlenmiştir. Sitrik asitin salım artırmadaki etki mekanizmasının pH'yı düşürmek yerine por oluşturarak sağladığı bildirilmektedir.

Takka ve ark.³⁵ tarafından yapılan çalışmada ise propranolol HCl'in HPMC matriks tabletten anyonik polimerler varlığında salımı incelenmiştir. Anyonik polimer olarak Eudragit L100–55, Eudragit S 100 ve sodyum karboksi metil selüloz (NaCMC) kullanılarak hazırlanan matriks tabletler incelendiğinde Eudragit L 100–55 ile katyonik özellikteki madde arasındaki etkileşimden dolayı pH'dan bağımsız salım elde edildiği bildirilmiştir.

Yapılan bir diğerk çalışmada ise, zayıf çözünürlüğe sahip ve zayıf asit yapısındaki 8-Prenilnaringenin etkin maddesi ile birlikte polivinil alkol / polivinil prolidon kullanılarak mini matriks tabletler hazırlanmıştır. Zayıf asit ilacın düşük pH'da çözünürlüğünün artırılması için suda özüneabilen sodyum karbonat ve sodyum sitrat ve suda az çözünen bazlar magnezyum hidroksit, magnezyum oksit ve magnezyum trisilikat gibi bazik maddeler kullanılmıştır. Suda özüneabilen tuzlar ile belirlenen süre içinde istenen salım seviyesine ulaşılmadığı, düşük çözünürlüğe sahip bazlar kullanıldığında ise daha iyi sonuçlar elde edildiği bildirilmiřtir²¹.

Rao ve ark.¹⁷ ise zayıf asidik yapıda bir ilaç olan divalproeks sodyumun pH'dan bağımsız salımını elde etmek için asidik ortamda

çözünen alkali veya nötr ortamda çözünmeyen Eudragit E veya dibazik kalsiyum fosfat (Fujicalin) kullanılarak kontrollü salın matriks tabletler hazırlamışlardır. Eudragit E kullanılarak hazırlanan formülasyonlarda polimerin yüksek pH'lardaki çözünürlüğü sayesinde pH'dan bağımsız salım elde edilmiştir. Bununla birlikte dibazik kalsiyum fosfat kullanıldığında ise asit ortamda daha yüksek çözünürlük göstermesi, tamponlama kapasitesinin sınırlı olması ve düşük molekül ağırlığından dolayı pH'dan bağımsız salım elde edilmediği bildirilmiştir.

2.3.2.2. İlaç Şeklinin Kaplama Geçirgenliğinin Artırılması

Bu yaklaşımda ilaç şeklinin kaplama geçirgenliği artırılarak ilaç çözünürlüğünde meydana gelen azalma dengelenmektedir. Bu amaçla suda çözünmeyen polimerler (örn. etil selüloz) veya enterik polimerler (örn. hidroksipropil metil selüloz ftalat veya asetat süksinat) ile ilaç taşıyan pelletler kaplanmaktadır. Örneğin bazik yapıda bir ilaç için enterik polimer, etkin maddenin çözünürlüğünün yüksek olduğu yerde yani asidik pH'da çözünmemekte iken pH artışı ile çözünerek geçirgenliği artmakta ve ilaç çözünürlüğü azalmış bile olsa pellet dışına çıkması kolaylaşmaktadır²⁶. Bu amaçla pek çok araştırmacı enterik polimerleri karışımlar halinde veya birkaç tabaka halinde kullanarak salımı değiştirmek için pellet ilaç şekilleri hazırlamışlardır^{26,36}.

Guthmann ve ark.²² zayıf bazik bir etkin maddeyi önce metakrilik asit ve etil akrilat kopolimeri ile (Kollicoat MAE 30 DP) kaplamış daha sonra ise poli vinil asetat/poli vinil prolidon (Kollidon SR 30 D) polimer ile kaplayarak multi partiküler pellet formülasyonları hazırlamışlardır. Ozmotik ajan olarak iyonik sodyum klorür ve potasyum klorür, non iyonik olarak ise süktroz kullanılmıştır. pH 1'deki salım hem

uzatılmış salım tabakasından hem de enterik tabakadan difüzyon ile oluşurken, pH 6.8’de enterik tabaka çözünerek uzaklaşmakta ve salım sadece uzatılmış salım tabakasından difüzyon yolu ile olmaktadır. Formülasyona ozmotik ajan eklenmesinin pellet içine sıvı girişini artırdığı, bu da pellet çekirdeğindeki ilaç konsantrasyonunu artırarak çözünmenin artmasına neden olduğu bildirilmektedir.

Yapılan bir diğer çalışmada ise Verapamil HCl maddesi Kollicoat® SR 30 D ve Kollicoat® MAE 30 DP karışımları ile kaplanarak pH’dan bağımsız salım elde etmek amaçlanmıştır. Her iki polimer ayrı tabakalar halinde veya polimer karışımı halinde kullanılmıştır. Kollicoat MAE ve Kollicoat SR 90:10 oranında karışım halinde kullanıldığında pH’dan bağımsız salım elde edildiği bildirilmiştir²⁶.

Thoma ve ark.³⁷ zayıf bazik bir ilaç olan fenoldopamin yüksek pH’larda çözünürlüğünü artırmak ve pH’dan bağımsız salım elde etmek amacıyla farklı oranlarda süksinik asit kullanarak pelletler hazırlamışlardır. Daha sonra elde edilen pelletler %1,5–12 a/a oranında surelease polimeri ile kaplanmıştır. Süksinik asit/fenoldopam oranının salım üzerindeki etkisi, kaplama tabakasının kalınlığından daha yüksek bulunmuştur. Süksinik asit/fenoldopam oranı 5’ten büyük olan pellet formülasyonunun 6–8 saat boyunca pH’dan bağımsız salım yaptığı gözlenmiştir.

Bir diğer çalışmada poli(vinil asetat) (PVAc) ve poli(vinil alkol)-poli(etilen glikol) (PVA-PEG) polimer karışımı ile klorfeniramin maleat pelletlerini kaplayarak pH’dan bağımsız salım elde etmek amaçlanmıştır. Yapılan çalışma sonucu her iki polimerin oranının ve film kaplama kalınlığının salım üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Film

kaplama kalınlığı ve PVAc miktarı arttıkça salımın geciktiği ve polimer oranları ve film kaplama kalınlığı değiştirilerek pH'dan bağımsız salım elde edilebileceği bildirilmektedir³⁸.

pH'dan bağımsız salım elde edilmesinde aşağıda bulunan farklı yaklaşımlar da kullanılmaktadır.

Rao ve ark.³⁹ çözünürlüğü olmayan bir ilacın çözünürlüğünü artırmak amacıyla siklodekstrin ilave edilerek hazırlanan HPMC matriks tabletlerinin pH'dan bağımsız salım yaptığını gözlemişlerdir.

Bu yaklaşımlardan farklı olarak, propranolol HCl içeren doğrudan basım yöntemi ile basılmış tabletlere, daldırma-çöktürme tekniği ile yüksek poroziteye sahip asimetrik membran kaplama yapılmıştır. Bu membranlar su ile temas ettiğinde çözünen ve ayrıldığında poröz bir yapı meydana getirerek ilaç çözeltisini dışarı pompalayan özelliktedir. Bu sistemlerden salımın sadece pH'dan bağımsız değil, aynı zamanda çözünme aletinin karıştırma hızından da bağımsız olması nedeniyle sabit bir salım elde edebilmek için daha elverişli bir sistem olduğu gözlenmiştir⁴⁰.

Katı dispersiyon yönteminin çözünme üzerindeki artırıcı etkisi bilinmektedir. Tran ve ark.⁴¹ katı dispersiyon yöntemini kullanarak zayıf asit bir etkin maddenin asit ortamdaki çözünmeyi artırmayı hedeflemişlerdir. Bu amaçla düşük pH'larda ve suda çok düşük çözünürlüğe sahip aklofenak zayıf asit etkin maddesi ile Gelucire 44/14 'in katı dispersiyonlarını hazırlayarak alkali madde ve polimerlerin çözünme değiştirici etkilerini incelemiştir. Alkali madde olarak sodyum karbonat, sodyum bikarbonat, meglümin, arjinin, magnezyum oksit, kalsiyum

karbonat, bentonit ve disodyum hidrojen fosfat kullanılırken polimer olarak Poloksamer 407, PEG 6000 ve Kremofor RH40 kullanılmıştır. pH 1.2’de çözünmeyi en fazla artırdığı görülen alkali maddelerden sodyum karbonat ve sodyum bikarbonat daha sonra katı dispersiyonda çökmeye neden olurken eklenen Poloksamer 407 polimeri bu çökmeyi engellemiştir. Yapılan mikro çevre pH’sı ölçümlerinde alkali maddelerin pH’yı değiştirdiği ancak polimerin mikro çevre pH’sı üzerinde etkisi olmadığı belirtilmiştir.

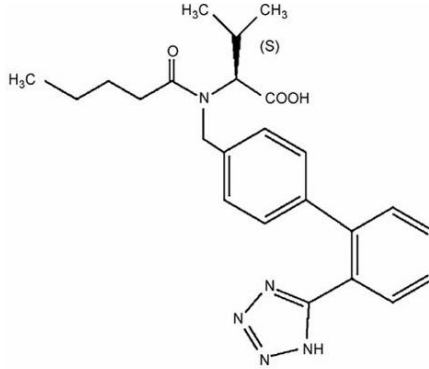
Benzer bir gözlem yine Tran ve ark.⁴² tarafından yapılmıştır. İyonize bir madde olan telmisartanın pH’dan bağımsız salım yapılabilmesi için PEG 6000’in taşıyıcı olarak kullanıldığı katı dispersiyonuna farklı alkali madde ilave edilmiş ve çözünme üzerindeki etkisi incelenmiştir. Alkali madde olarak magnezyum oksit, sodyum hidroksit, potasyum hidroksit, sodyum karbonat, sodyum bikarbonat, bentonit, disodyum hidrojen fosfat, potasyum fosfat ve arjinin kullanıldığında telmisartan’ın çözünürlüğünün ve çözünmenin belirgin şekilde arttığı gözlenmiştir.

Kolestiramin anyonik reçinesinin kullanıldığı bir çalışmada ise zayıf asit yapısında maddeler olan ibuprofen, ketoprofen ve mefenamik asitin yapay mide sıvısındaki salım hızları incelenmiştir. Reçine partikül boyutu küçüldükçe veya çapraz bağ oranı arttıkça salım hızının arttığı bununla birlikte reçine yükleme sıcaklığı arttıkça salım hızının düştüğü gözlenmiştir. Çalışma sonucunda düşük çözünürlüğe sahip zayıf asit maddelerin iyon değiştirici reçinelerle çözünürlüğünün artırılabilceği bildirilmektedir⁴³.

2.4.Valsartan Hakkında Genel Bilgiler

2.4.1. Fizikokimyasal Özellikler

Valsartan (N- valeril-N[[2-(1H-tetrazol-5-il) bifenil-4- il] metil] valin), kapalı formülü $C_{24}H_{29}N_5O_3$ olan 435.5 g/mol molekül ağırlığına sahip⁴⁴⁻⁴⁶ ve S-enantiomeri halinde bulunan beyaz kristal özellikte bir maddedir (Şekil 6). Erime derecesi 105–110°C olarak bilinmektedir⁴⁴.



Şekil 6: Valsartan molekül yapısı⁴⁴.

Partisyon katsayısı (P) 0.033'tür(Log P=1.499) ve bileşik fizyolojik pH'da hidrofilik özellik göstermektedir. Kuru şartlarda saklandığında bileşik stabildir. Nötral pH'larda stabil sulu çözeltileri hazırlanabilmektedir. Valsartan pKa değerleri 3.9 ve 4.7 olan iki zayıf asit gruba ve 1 asimetrik merkeze sahiptir⁴⁴. pH'nın 4'ten 6'ya artması valsartan çözünürlüğünün 1000 kat artışına sebep olmaktadır. Bu durum anyonik formun artışına ve lipofilisitenin azalmasına neden olmaktadır. Çözünürlük pH 5.0 ve üstünde yüksek iken pH 3.0 ve altında düşüktür. Çözünürlüğün arttığı pH'larda lipofilisite de azalmaktadır. Dolayısıyla valsartanın absorpsiyon hızı mide barsak sisteminde intestinal pH değişimleri boyunca değişmektedir⁴⁷.

Biyofarmasötik sınıflandırma sistemine (BCS) ve biyofarmasötik ilaç dağılım sınıflandırma sistemine göre (BDDCS), valsartan düşük permeabilite, düşük metabolizasyon ve yüksek çözünürlüğe sahip olması nedeniyle Class III ilaç olarak değerlendirilmektedir^{48,49}. Ancak etkin maddenin düşük pH'larda çözünürlüğünün çok düşük olması ve tüm pH'larda iyi çözünmemesi nedeniyle Class IV ilaç olarak değerlendirmek gerekmektedir.

Valsartan tamponlanmış çözeltilerde dianyon tuzu oluşturduğundan çözünürlüğü artmaktadır. Sudaki çözünürlüğü 0.18 g/L (25°C) olup, pH 8.0 fosfat tamponunda 25°C'de çözünürlüğü 16.8 g/L 'ye kadar çıkmaktadır⁴⁴.

2.4.2. Ölçüm ve Tayin Metotları

Valsartanın biyolojik analizinde genel olarak HPLC metotları kullanılmaktadır⁵⁰⁻⁶⁵. Valsartanın yapısında bulunan bifenil, tetrazol, imidazol ve benzimidazol gibi flüoresent gruplar valsartanın biyolojik sıvılardan analizinde HPLC-floresan metot gelişimini mümkün kılmaktadır^{50,66}. HPLC metotları fotometrik^{67,68}, flurometrik^{47,50,55,69,70} veya kütle spektrometrik dedeksiyon⁷¹ kullanılarak uygulanmaktadır. Valsartanın ilaç şeklinden veya biyolojik ortamlardan analizinde çok az sayıda spektrofotometrik metot⁷⁰ ve LC-MS/MS metodu⁷²⁻⁷⁴ bulunmaktadır. Bununla birlikte elektrokimyasal bir metot da literatürde görülmektedir⁴⁵.

2.4.3. Farmakolojik özellikler

Kardiyovasküler vakaların pek çoğu yüksek kan basıncında

meydana gelmektedir⁷⁵. Miyokardial infarktüs, böbrek yetmezlikleri ve hipertansiyon kontrol edilmediği durumlarda ciddi ve ölümcül yan etkiler meydana gelebilmektedir⁷⁶.

Hipertansiyon kontrolünün ülkelere göre dağılımına bakıldığında İngiltere % 40–55, Kanada % 47, Rusya % 33, Yunanistan % 20–33, Almanya % 30, Arjantin % 29, Brezilya % 29, Çin % 20–29, İtalya % 28, İsviçre % 21, İspanya % 19 ve Türkiye’de % 8 olduğu görülmektedir⁷⁷.

Hipertansiyon, diyastolik kan basıncının sürekli olarak 90 mm Hg’den yüksek olması ve buna yüksek sistolik kan basıncının (> 140 mmHg) eşlik etmesi şeklinde tanımlanmaktadır. Hipertansiyon arteriyoler direncin artmasına ve venöz sistem kapasitesinin azalmasına neden olan periferik damar düz kas tonusunun artması sonucu ortaya çıkmaktadır^{78,79}.

Hipertansiyon esansiyel (primer) ve sekonder olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Temel nedeni belli olmayan esansiyel hipertansiyon, olguların yaklaşık % 95’ini oluşturmaktadır. Olguların geri kalan % 5’inde, hipertansiyon; başta bazı böbrek hastalıkları, renovasküler hastalıklar ve bazı endokrin hastalıklar olmak üzere arteryel kan basıncını yükselttiği bilinen primer patolojik bozukluklara bağlıdır. Kombinasyon tipi oral kontraseptif haplar, kortikosteroidler, siklosporin, eritropoietin ve sempatomimetik ilaçlara veya efervesan haplar içinde aşırı sodyum alınmasına bağlı olarak ilaca bağımlı geçici sekonder hipertansiyon gelişebilmektedir⁸⁰. Antihipertansif tedavi, kardiyovasküler yan etkilerin meydana gelme riskini azaltmaktadır^{75,77,81–85}.

Arteriyel kan basıncı, dokulara yeterli perfüzyonu sağlarken damar sistemine, özellikle arter intimasına zarar vermeyecek şekilde dar bir aralıkta kontrol edilmektedir. Arteriyel kan basıncı kardiyak debi ile periferik vasküler rezistansın çarpımıyla doğru orantılıdır. Çoğu antihipertansif ilaç kardiyak debiyi düşürerek ve/veya periferik direnci azaltarak kan basıncını düşürmektedir. Hem normal hem de hipertansif kişilerde kardiyak debi ve periferik direnç birbirleriyle iç içe iki mekanizma olan baroreseptörler - sempatik sinir sistemi ve renin - anjiyotensin-aldosteron sistemi tarafından kontrol edilmektedir⁷⁸.

Valsartan yeni, potent, yüksek seçiciliğe sahip, oral yoldan aktif ve anjiyotensin II tip 1 reseptör antagonistleri ailesine dahil bir antihipertansif ilaçtır. Anjiyotensin II, renin anjiyotensin sistemindeki en baş baskılayıcı ajandır. Etkisini vazokonstriksiyon, aldosteron sentezi, kardiyak stimulasyonu ve renal sodyum reabsorbsiyonunu artırarak göstermektedir⁴⁶. Anjiyotensin (All)'nin kardiyovasküler ve diğer yapılardaki etkisine aracılık eden AT₁ ve AT₂ adı verilen başlıca 2 tür reseptör vardır. Kardiyovasküler sistem üzerindeki etkilerinin çoğuna AT₁ reseptörler aracılık etmektedir. Halen tedavide kullanılan All reseptör blokörleri AT₁ reseptörlerin selektif antagonistidir. Anjiyotensinle yarışmaya girerek onun reseptöre bağlanmasını ve dolayısıyla etkilerini, terapötik konsantrasyon aralığında yarışmalı olarak inhibe etmektedirler⁸⁰. Anjiyotensin antagonistleri spesifik etkileri, azaltılmış yan etkileri ve uzun süren etkinliği ile iyi bir tedavi sağlamaktadır⁸⁶⁻⁹⁰. Dünya sağlık örgütü (91,1999) esansiyel hipertansiyon tedavisinde ilk basamak tedavi olarak anjiyotensin II inhibitörlerini tavsiye etmektedir⁹¹.

Valsartanın anjiyotensin II reseptörlerini inhibisyonu, kan damarlarının gevşemesine ve genişlemesine, bu sayede de kan basıncının düşmesine yol açmaktadır^{75,69,92-94}. Valsartanın anjiyotensin II

tip 1 reseptörüne afinitesi, tip 2 reseptörüne olan afinitesinden yaklaşık 20.000 kat daha fazladır^{44,46}. Valsartan anjiyotensin II'nin vazokonstriktör ve aldosteron salım etkisini, vasküler damar kaslarında, adrenal bezlerde ve pek çok hücrede seçici olarak anjiyotensin II tip 1 reseptörüne anjiyotensin II bağlanmasını engelleyerek inhibe eder. Etkinliği anjiyotensin II sentezi ile ilgili değildir⁴⁶. Valsartan 400 mg kadar tekli dozlamada veya günde 200 mg'a kadar çoklu dozlamalarda iyi tolere edilmektedir⁴⁷. Valsartanın tek doz olarak 1, 3 ve 10 mg/kg dozları oral verildiğinde, sistolik kan basıncını düşürücü etkisinin doz ile orantılı olduğu bulunmuştur. Etkili limit doz 1 mg/kg'dır. Kan basıncındaki 30 mmHg düşüşün 1.4 mg/kg dozlama ile sağlandığı ve maksimum kan basıncındaki düşüşün uygulamadan 4 saat sonra gözlemlendiği belirtilmektedir⁴⁴.

Günlük 200 mg 'a kadar tekrarlanan tedavilerde valsartanın herhangi bir akümülyasyon veya tolerans problemi meydana gelmeden her gün benzer seviyede kan basıncını düşürdüğü belirtilmektedir⁴⁴.

Tek dozlu çalışmalarda, doza bağımlı plazma renin aktivitesinde ve AT₂ seviyesinde artış gözlenmiştir. Valsartan için plazmada maksimum görüldüğü konsantrasyon (t_{max}) 2 saat içinde gerçekleşirken, plazma renin aktivitesinde ve AT₂ seviyesinde pik dozlamadan 4 veya 6 saat sonra gözlenmektedir. 200 mg valsartanın 8 gün boyunca tekrarlı uygulamasından sonra, farmakokinetiğinde değişim olmaksızın AT₂ seviyesindeki etkisinin kümülatif olduğu bildirilmektedir⁴⁴.

Yapılan çalışmalarda sadece 160 mg valsartan ile 24 saat süren AT₂ tip 1 blokajının sağlandığı bildirilmektedir⁷⁹. Valsartan alım zamanı ve antihipertansif etkinlik ilişkisini araştırmak için 160 mg valsartan ile yapılan bir çalışmada valsartanın etkinliğinin, ilaç alım zamanından

bağımsız olarak 24 saat sürdüğü gözlenmektedir⁹⁵.

Literatürde valsartan ile diğer anjiyotensin II inhibitörleri arasında pek çok etki karşılaştırması çalışması bulunmaktadır^{96–105}. Kandesartan ve irbesartan yarışmalı olmayan antagonizma ile reseptör blokajı yaparken, losartan, valsartan ve erprosartan yarışmalı antagonizma yapmaktadır. Yarılanma ömürleri dikkate alındığında, losartan, valsartan ve erprosartan kısa etkili sayılırken, kandesartan sileksetil ve irbesartan uzun etkili olarak belirtilmektedir⁹⁷.

Yapılan bir çalışmada, günde 160 mg valsartan ve 80 mg telmisartan'ın antihipertansif etkileri karşılaştırılmış ve valsartanın arteriyel basıncı düşürmede daha etkili olduğu bulunmuştur⁹⁸. Valsartanın losartan ve telmisartan ile karşılaştırıldığı diğer bir çalışmada ise valsartanın 2 haftalık ve 4 haftalık tedavide her iki ilaçtan da daha erken, etkili ve güçlü bir şekilde kan basıncını düşürdüğü bildirilmektedir¹⁰⁵.

Literatürde pek çok kombinasyon ilaç şekli bulunmaktadır^{76,90,96,99,106–112}. Yapılan bir kombinasyon çalışmasında valsartanın benazapril ile birlikte kullanıldığı 6 haftalık tedavi sonrası sistolik ve diyastolik kan basıncını düşürme etkisinin tek başına kullanımına oranla belirgin olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur¹¹².

2.4.3.1. Yan Etkiler

Sağlıklı gönüllülerde valsartanın tekli veya çoklu dozlaması sonrasında iyi tolere edildiği bildirilmiştir^{47,69}. Hiçbir yan etki veya belirti,

kl nik laboratu r bulgularında değişiklik gözlenmemiştir. Baş ağrısı, öksürük, baş dönmesi ve yorgunluk en çok bilinen belirtilerdir. İlaç alımı ile kreatinin klerensi, elektrolit atılımı ve ürik asit atılımı gibi böbrek fonksiyonları etkilenmemektedir⁴⁴. Valsartanın hamilelikte kullanımından ka ınılmalıdır^{113,114}.

2.4.4. Farmakokinetik  zellikler

2.4.4.1. Absorbsiyon

Valsartan oral alımdan sonra hızla absorbe olur^{69,94,106}.  l lebilir konsantrasyonuna dozlamadan 15–30 dakika sonra ulařılmaktadır⁴⁷. Oral alımdan sonra plazma pik seviyesine 2–4 saat sonra ulaşılır^{46,69,94,106,115} ve daha sonra 6–9 saat'lik bir terminal yarı ömürle d şer^{46,47,51,69,94,116}. Yapılan bir doz doğrusallığı çalışmasında dozun iki katına çıkarılması AUC ve C_{max} değerinde 1.8 kat artışa neden olmaktadır⁹⁴. Valsartanın 40 mg, 80 mg ve 160 mg dozları arasında doza bağlı plazma konsantrasyondaki artış, yaklaşık olarak doğrusal olmakla beraber, varyasyon y ksektir^{46,94,106}.

Oral uygulamadan sonra AUC değerlerine göre biyoyararlanım kapsül için % 23, çözelti için % 39 olarak bulunmuřtur⁶⁹. Mutlak biyoyararlanım ise %10–35 arasında değişmektedir^{46,56,69,94,106}. Birey içi ve bireyler arası varyasyonun (CV) C_{max} için % 30 ve AUC için % 44 gibi yüksek bir değer olduğu bildirilmektedir^{47,94}. Yiyecek etkisiyle AUC'de yaklaşık % 40, C_{max} 'ta ise yaklaşık % 50 düşüş g zlenmektedir^{46,117}. Bu nedenle valsartan kullanan hastalara valsartanı yemeklerden 1–2 saat önce veya sonra alması gerektiği belirtilmelidir¹¹⁸.

Kalp rahatsızlığı olan bireylerde AUC ve C_{max} değerlerinin

sağlıklı gönüllülere oranla 1.3–2 kat fazla olduğu görülmüştür. Bununla birlikte $t_{1/2}$ değerleri her iki grup için benzerdir. Ayrıca her iki grupta da farmakokinetik parametrelerde varyasyon yüksek bulunmuştur⁹⁴.

Hafif-orta şiddetli karaciğer yetmezliği olan kişilerde AUC değerinin iki kat olarak gözleendiği, bununla birlikte böbrek yetmezliği olan bireylerde farmakokinetik özelliklerde fark olmadığı gözlenmektedir^{94,115}. 40 mg, 80 mg ve 160 mg valsartan için yaşı farmakokinetik özellikler üzerindeki etkisi incelendiğinde, yaşı hiçbir doz seviyesinde etkili olmadığı bildirilmektedir^{94,116}.

2.4.4.2. Dağılım

Valsartanın dağılım hacmi ve plazma klerensi sırasıyla 17 L ve 2.2 L/saattir. Valsartan plazma proteinlerine % 85 oranında bağlanmaktadır. Renal klerens 0.62 L/ saattir ve total klerensin yaklaşık % 30'unu oluşturmaktadır^{46,69,106}.

2.4.4.3. Metabolizma ve Eliminasyon

Valsartan ve inaktif metaboliti safra yolu ile % 70 oranında elimine edilmektedir¹¹⁹. Renal eliminasyon büyük oranda dozlama sonrasında 2 gün içinde gerçekleşir fakat feçesten eliminasyon 4–7 gün devam eder^{51,106}. Valsartan oral çözelti halinde verildiğinde, feçesten yaklaşık % 83 ve idrardan yaklaşık % 13 oranında geri elde edilir. Geri elde edilen esas olarak değişmemiş ilaç ve % 20 oranında metabolitleridir. Primer metaboliti valeril–4-hidroksi valsartandır (M1) ve hipertansiyonda inaktif olup dozun % 9'unu oluşturur^{46,51,106}. M1'in ATI reseptörüne afinitesi valsartandan 200 kat daha zayıftır^{44,46,51}. Böbrek yetmezliği valsartan

klerensini değiştirmemektedir^{51,94}. Bununla birlikte karaciğer-safra yetmezliği valsartan farmakokinetiğini etkilemektedir^{94,119}.

Yapılan bir çalışmada, 80 mg valsartan içeren tablet ve kapsülün farmakokinetik parametreleri karşılaştırılmıştır. Bu alışmada AUC değerleri tablet ve kapsül için sırasıyla 44.893 $\mu\text{g/mL.h}$ ve 44.963 $\mu\text{g/mL.h}$; C_{max} değerleri 6430.3 $\mu\text{g/mL}$ ve 5831.4 $\mu\text{g/mL}$; t_{max} değerleri ise 2 saat ve 2.5 saat olarak bulunmuş olup, iki ilaç şekli için farmakokinetik parametrelerin istatistiksel olarak farklı olmadığı bildirilmektedir⁵⁶.

2.4.4.4. İlaç Etkileşimleri

Randomize, açık ve 3 yollu yapılan çapraz çalışmada 12 sağlıklı erkek gönüllü üzerinde tek dozlu simetidin ve valsartanın farmakokinetikleri ve simetidin ve valsartanın absorpsiyon hızı üzerindeki etkisi incelenmiştir. Valsartana ait tek dozlu farmakokinetik parametreleri simetidin ile birlikte alındığında elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmış ve C_{max} artışı dışında değişiklik olmadığı gözlenmiştir. C_{max} 'taki bu artışın önemli olmadığı ve valsartanın simetidin ile birlikte veya tek alınmasının klinik olarak herhangi bir farklılığa yol açmayacağı belirtilmektedir⁴⁷.

2.5. Deney Tasarımı

Farmasötik rn gelişimi, etkin maddeler, yardımcı maddeler ve üretim işlemi değişkenlerinin birbiriyle komplike bir etkileşim içinde olduğu bir gelişim sürecidir. Bu süreçte istenen kalitenin ve ürün özelliklerinin sağlanması tüm değişkenlerin optimum düzeyde olması için deney tasarımı ve optimizasyon çalışmaları yapılır. Yapılan deney tasarımı çalışmalarında minimum süre ve deney sayısında

formülasyonların geliştirilmesi hedeflenir. Bu amaçla farmasötik geliştirme sürecinde uzun yıllardır deney tasarımlarından faydalanılmaktadır. Deney tasarımı, gün geçtikçe pahalılaşan araştırma ve geliştirme giderlerini en düşük seviyede tutmak için “en az” deney yapma prensibine dayanmaktadır^{120,121}.

Günümüzde hızla gelişen teknoloji ile birlikte farmasötik ürün gelişim yöntemleri de değişikliğe uğramıştır. Uluslararası harmonizasyon kuruluşunun ilaç üreticilerini yeni üretim tekniklerini kullanmaya ve daha kaliteli ürün üretimine teşvik etmek amacıyla (ICH) 2004 yılında yayınladığı ‘ICH-Q8, Farmasötik Gelişim’ kılavuzu ve ardından 2006 yılında yayınladığı ‘ICH-Q9, Kalite Risk Yönetimi’ ve 2008 yılında yayınladığı ‘ICH-Q10, Farmasötik Kalite Sistemleri’ kılavuzları ile birlikte ‘“Tasarımda Kalite (Quality by Design, QbD)” yaklaşımı gündeme gelmiştir. Bu yaklaşıma göre kalite üründe test edilmemekte ve kalite tasarım ile sağlanmaktadır¹²². Bu yeni yaklaşımda ürün gelişiminde risk yönetimi, proses analitik teknolojileri (PAT) araçları, çoklu değişken analizleri ile birlikte özellikle matematiksel modellemelerden faydalanılan deneysel tasarımlar ön plana çıkmıştır¹²²⁻¹²⁴.

Farmasötik deney tasarımı işlemlerinde genel olarak iki parametre önemlidir¹²⁴;

1. Bağımsız değişkenler ve formülasyon cevapları arasındaki ilişkinin tanımlanması ve tayin edilmesi
2. Bu formülasyon değişkenlerinin en iyi cevabı oluşturabilecek seviyelerinin belirlenebilmesi

Konvansiyonel deney tasarımları, tek seferde tek faktörün

değiştirildiği, diğer faktörlerin sabit tutulduğu ve basamak basamak ilerleyen sistemlerdir. Ancak bu sistemlerde faktörler arası etkileşimler incelenememekte ve çok fazla zaman ve deney sayısına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla daha az zaman, deneme sayısı ve maliyetle daha iyi bir tasarım yapılması amacıyla Tablo 4’de bulunan sistematik deney tasarımı metotları geliştirilmiştir¹²⁵.

Tablo 4: Deney tasarımı metotları

1. Tamamıyla randomize tasarım
2. Randomize blok tasarım 2.1.Latin kare 2.2.Greko-Latin kare 2.3.Hiper-Greko-Latin kare
3. Tam faktöriyel tasarım 3.1.İki seviyeli tam faktöriyel tasarım 3.2.Üç seviyeli tam faktöriyel tasarım
4. Kısmi faktöriyel tasarım
5. Plaket-Burmen tasarımlar
6. Cevap Yüzey (ikinci derece) tasarımlar 6.1.Merkez noktası tekrarlı faktöriyel tasarım 6.2.Box-Behnken tasarım

2.5.1. Cevap Yüzey Tasarımlar

Cevap yüzey metotları, birden çok faktörün aynı anda cevap üzerindeki etkisinin incelendiği, istatistiksel ve matematiksel temellere dayanan ve pek çok çalışmada kullanılan bir tekniktir^{124,126–130}. Gerçek yanıt fonksiyonu optimum nokta etrafında önemli bir eğrilik göstermektedir. Bu eğriliğin tahmin edilmesinde lineer olmayan modeller, genellikle ikinci dereceden polinomiyal modeller, üssel modeller veya eksponensiyel modeller kullanılır. Uygun bir model elde edildikten sonra, bu model optimum noktanın araştırılmasında kullanılır¹³¹. Cevap yüzey

tasarımlarının aşağıdaki avantajları bulunmaktadır¹²⁴;

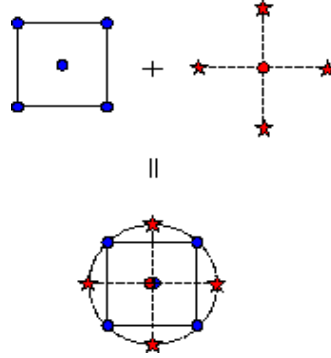
1. Bir seri deney tasarımı ile cevap üzerinde meydana gelen değişikliklerin izlenebilmesi
2. Model üzerinde matematiksel bir model oluşturulabilmesi ve istatistiksel testlerle en iyi modelin belirlenebilmesi
3. En iyi cevabı veren optimum bağımsız değişken seviyesinin belirlenmesi

Cevap yüzey tasarımları iki grup altında incelenmektedir¹³⁰;

- 1.Box-Behnken tasarımlar
2. Merkez noktası tekrarlı faktöriyel tasarımlar (MTFT)

2.5.1.1. Merkez Noktası Tekrarlı Faktöriyel Tasarımlar (MTFT)

2 seviyeli faktöriyel tasarımda her faktöre yıldız noktalar adı verilen 2 ek deneyin eklenmesiyle oluşan optimizasyon için en popüler deney tasarımı tipidir (Şekil 7). Yıldız noktalar en düşük ve en yüksek düzey noktalarıdır. Bir faktör değişiklik gösterirken, diğer faktör merkez noktasında sabit tutulmaktadır. Merkez noktalar, her faktör için yüksek ve düşük seviyenin ortasıdır¹³⁰. MTFT, 2^k faktör değerinden oluşan bir ikinci derece tasarımıdır¹³². K bağımsız değişken sayısı olup, $2k$, aksiyel ve merkez değerleri gösterir. Aksiyel değerler $\alpha=(F)^{1/4}$ ile hesaplanır. F faktöriyel değerleri gösterirken, α da aksiyel değerlerin tasarımın merkezinden uzaklığını gösterir¹³³. 2 faktörlü MTFT tasarım diyagramı Şekil 7'deki gibi gösterilmektedir¹³⁴;



Şekil 7: 2 faktörlü MTFT diyagramı¹³⁴

Eğer tasarımın merkezinden her bir faktör için faktöriyel uzaklık ± 1 birim ise, tasarımın merkezinden yıldız noktalara uzaklık $\pm \alpha$ 'dır ve mutlak α değeri birden büyüktür. α 'nın tam değeri, tasarım için istenen belirli özelliklere ve içerdiği faktör sayısına bağlıdır (Tablo 5).

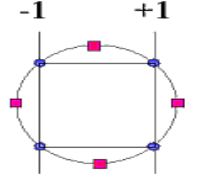
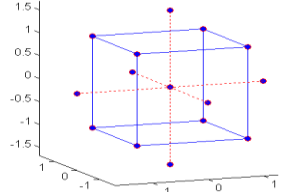
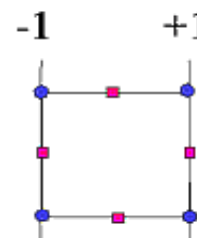
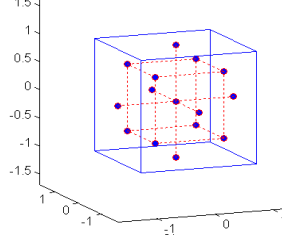
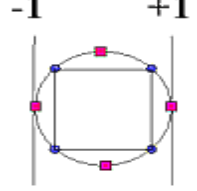
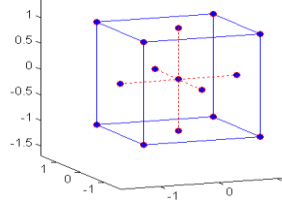
Tablo 5: Faktör sayısına göre hesaplanan α değerleri¹³⁴

Faktör Sayısı	Faktöriyel Miktar	' α ' Değeri
2	2^2	$2^{2/4}=1.414$
3	2^3	$2^{3/4}=1.682$
4	2^4	$2^{4/4}=2.000$

Yıldız noktalar tasarımda her bir faktör için yeni değerleri ("düşük" ve "yüksek") göstermektedir. Bir MTFT, her zaman tasarımdaki faktör sayısının iki katı kadar yıldız noktası içerir¹³⁴.

Tasarım denemelerinden de görüldüğü gibi tasarımda her faktör 5 seviye $(-\alpha, -1, 0, 1, \alpha)$ içerir¹³⁵. MTFT'nin yıldız noktalarının yerleşim yerine bağlı olarak üç farklı tipi bulunmaktadır (Tablo 6)¹³⁴. Bizde çalışmamızda en geniş çalışma alanı imkânı veren daire içinde merkez noktası tekrarlı (DMTFT) faktöriyel tasarım yöntemi uyguladık.

Tablo 6: MTFT Türleri^{128,134}

MTFT Tipi	Faktör Seviyesi	Kestirimlerin kesinliği	Deney Alanı Genişliği	Açıklama	2 Faktörlü MTFT Yıldız Noktalarının Yerleşimi	MTFT Tasarım 3 Boyutlu Görünüm
Daire içinde merkez noktası tekrarlı faktöriyel tasarım (DMTFT)	5	Tasarım sahası içerisinde iyi.	En geniş alan.	Yıldız noktalar merkezden eşit uzaklıktadır. Bu tasarımlar dairesel, küresel veya hiperküresel simetrik özellik taşırlar.		
Limit içinde merkez noktası tekrarlı faktöriyel tasarım (LMTFT)	5	Tasarım sahasında merkeze yakın noktalarda iyi.	En dar alan.	Bu tasarımda faktör seviyeleri limitlidir. Başka bir deyişle LMTFT tasarımlar DMTFT tasarımların ölçek küçültülmüş şeklidir.		
Yüzeyde toplanmış merkez noktası tekrarlı faktöriyel tasarım (YMTFT)	3	Tasarım sahası dışında kötü, kesinlik daha zayıf.	Deney alan genişliği orta	Bu tasarımda yıldız noktalar faktöriyel alanda her yüzeyin merkezine yerleştirilmiştir.		

2.6. In Vivo Davranışların Bilgisayar Yazılımları İle Simülasyonu

İlaç araştırma ve geliştirme çalışmalarında in vitro ve in vivo çalışmalar önemli yer tutmaktadır. Laboratuvar şartlarında canlı organizma kullanılmaksızın gerçekleştirilen in vitro çalışmalar, canlı organizmadaki ilaç davranışı hakkında yol gösterici nitelikte olmaktadır. Bununla beraber yapılan çalışmanın in vivo çalışmalar ile tamamlanması gerekmektedir.

Kontrollü salım sistemlerinde etkin maddenin organizmaya belirlenen süre sabit hızda salınması hedeflenir. Bu sayede plazma ilaç konsantrasyonunun dalgalanma yaşanmaksızın sabit tutulması amaçlanır. Bu amaçla geliştirilen formülasyonların öncelikli olarak in vitro çözünme profilleri çıkartılır ve formülasyon gelişimi bu profillerin yorumu ile sürdürülerek optimum çözünmeye sahip formülasyonun in vivo şartlarda da, yani insan mide barsak sisteminde de benzer salım özelliklerini gösterip sabit plazma ilaç konsantrasyonu sağlaması beklenir. Ancak yapılan çalışmalarda bunun her zaman sağlanamadığı gözlenmektedir. İn vitro deney koşullarında optimum davranış gösteren formülasyon, in vivo şartlarda beklenmeyen bir profil gösterebilmektedir. İn vitro deneyler in vivo şartları taklit etmek üzere tasarlanmış olsalar bile, bazı durumlarda in vivo koşulları tam olarak yansıtmayabilmektedir.

Bir formülasyondaki etkin maddenin in vivo plazma konsantrasyonundaki davranışının belirlenmesinde in vitro çözünme davranışı yetersiz kalmaktadır. Plazma ilaç konsantrasyonunda etkin maddeye ait t_{max} , C_{max} , AUC, klirens ve dağılım hacmi gibi farmakokinetik parametreler ve metabolizasyon özellikleri ile birey içi ve bireyler arası varyasyon gösterebilme özelliği çok büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle bir ilaç şeklinin insan plazmasındaki davranışının belirlenmesinde in vivo

deneylere ihtiyaç duyulmaktadır.

İn vivo insan deneylerindeki bazı sınırlamalar, bilgisayar tabanlı simülasyon yazılımları kavramının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu tür yazılımlar ile in vitro verilerden ve literatürden elde edilebilen parametrelerden yola çıkılarak in vivo insan plazma konsantrasyon profili, in vitro in vivo korelasyon, organlarda dağılım ve metabolizasyon başarılı bir şekilde tahmin edilebilmektedir. Özellikle jenerik ilaç firmaları için in vitro çözünme verilerine dayanarak inovatör ürün ile biyoeşdeğer olduğu düşünülen optimum formülasyonun seçiminde bu tip simülasyonlardan faydalanmak, hem zaman hem de maliyet açısından oldukça fayda sağlamaktadır.

Gastro Plus® in vivo simülasyon amacıyla başarılı şekilde kullanılmakta olan bir yazılımdır. Program kapsamında klinik çalışmalar (çapraz tasarımlar dahil), zamana karşı plazma profili tahmini, açlık ve tokluk durumlarında fizyolojik modelleme, ilaç şekilleri arasında karşılaştırma (IV, oral), ilaç-ilac etkileşiminin tahmini, enterohepatik sirkülasyon ve kontrollü salımlar için in vitro-in vivo korelasyon gibi pek çok simülasyon gerçekleştirilebilmektedir¹³⁶.

Yapılan bir çalışmada 10 mg montelukast sodyum içeren tabletler (Singulair®) için oral absorpsiyonun tahmin edilebilmesi amacıyla çözünme test metodu geliştirilmesi için GastroPlus® bilgisayarla simülasyon yazılımından faydalanılmış ve in vivo-in vitro korelasyon yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonrası sürekli akış hücresinde yapılan çözünme çalışmasının en fazla biyoyoumlu ortam olduğu ve daha sonra ise USP Aparat II, 100rpm ve 500mL FASSIF ortamının biyoyoumlu olduğuna karar verilmiştir¹³⁷.

Yayınlanmış başka bir yayında, GastroPlus® simülasyon yazılımı kullanılarak etorikoksib hızlı salan tablet (Arcoxia®) için farklı çözünme ortamları ile in vitro- in vivo korelasyon geliştirilmiş ve biyouyumlu ortam seçimi yapılmıştır¹³⁸.

Bizim çalışmamızda GastroPlus® simülasyon yazılımı ile in vitro parametreler kullanılarak in vivo plazma profili tahmin edilecektir. Simülasyon programı kullanılarak hızlı salan Diovan® tablet ile pH'dan bağımsız kontrollü salan optimum formülasyon plazma verileri ile karşılaştırılarak elde edilen farklılıklar değerlendirilecektir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Valsartan	Teva, İsrail
Magnezyum hidroksit	Magnesia, Almanya
Magnezyum oksit	Magnesia, Almanya
Sodyum sitrat dihidrat	Yılmaz Kimya, Türkiye
Sodyum karbonat	Yılmaz Kimya, Türkiye
Sodyum bikarbonat	Yılmaz Kimya, Türkiye
Poloksamer 407 (Lutrol® F127)	BASF, Almanya
Hidroksipropil metil selüloz E4M	Colorcon, İngiltere
Hidroksipropil metil selüloz K100 LV	Colorcon, İngiltere
Etil akrilat/Metakrilik asit kopolimeri (Kollicoat MAE 100P®)	BASF, Almanya
Amonyumalkil metakrilat kopolimeri (Eudragit RL PO®)	Evonik, Almanya
Mikrokristalin selüloz (Avicel® PH 200)	FMC Biopolymer, Norveç
Laktoz (Laktopress anhydrous® 250)	Domo, Hollanda
Dibazik kalsiyum fosfat anhidrat (Fujicalin®)	Fuji Chemical, Japonya
Magnezyum stearat	Rielsen Haen, Almanya

Kullanılan tüm diğer kimyasal maddeler analitik saflıktadır.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Valsartan İçeren Ticari Preparat

- Diovan 80 mg Film Tablet, seri no:022008K0018 üretim tarihi: 02.2008, Novartis, TÜRKİYE.

3.1.3. Kullanılan Aletler

Tablet makinesi	Korsh-Erweka GmbH, Almanya
Çözünme testi	PharmaTest GmbH, Almanya
Sertlik tayin aleti	CGS, Hardness Tester HDT 1V–3, Almanya
Ufalanma aşınma aleti	Roche Friabilitör, Almanya
UV spektrofotometre	Schimadzu, UV–170, Japonya
Ultrasonik banyo	Branson 221, Almanya
Etüv	Heraeus, Fransa
Partikül büyüklüğü cihazı	Sympatec GmbH System, Almanya
pH metre	Schott GC 840, Almanya
Nem tayin cihazı	Sartorius MA 150, Almanya
Erime noktası analiz cihazı	Electrothermal 9300 Thomas-Hoover, İngiltere
FT/IR Spektrofotometresi	Jasco FT/IR–420, Amerika
Çoklu manyetik karıştırıcı	Variomag, Amerika
Termostat	Haake D1, Almanya
Su banyosu	Nüve, Türkiye

BİLGİSAYAR PROGRAMLARI

- Design Expert®
- Gastro Plus ® 6.1

3.2. Yöntem

3.2.1. Etkin Madde Üzerinde Yapılan Fizikokimyasal İncelemeler

3.2.1.1. Etkin Maddenin Erime Noktası Tayini

Valsartanın erime noktası tayini Thomas-Hoover Capillary Melting Point Apparatus 9300 erime derecesi tayin cihazında saptanmıştır. Etkin maddenin ortalama erime noktası ve % 95 olasılıklı± güven aralıkları ile bağıl sapması hesaplanmıştır.

3.2.1.2. Partikül Büyüklüğü Analizi

Etkin maddenin partikül büyüklüğünün tayini için Laser-X Diffraction Particle Sizer cihazı kullanılmıştır. Cihazın ölçme bölgesine etkin maddenin çözünmediği ortam olan 0.1 N HCl konulmuş, belli miktarda toz halindeki etkin madde bu ortama ilave edilerek doyurulmuş 0.1 N HCl ortamı sağlanmıştır. Ölçüm işlemi hacim sayı cinsinden olup 3 defa tekrarlanarak değerlerin ortalaması alınmış ve standart sapma değerleri hesaplanmıştır. Lazer difraksiyon yönteminin esası, saçılmadan gönderilen lazer ışığının, toz partiküllerinin yüzeyine çarpmasını takiben oluşan saçılma ve penetrasyon gibi optik olaylara dayanmaktadır. Dağılma (difraksiyon) ise gönderilen ışık demetinin saçılma ve penetrasyonu sonrasında kalan ışık fraksiyonunda gözlemlenir. Sistem sırasıyla, lazer kaynağı, ışın artırıcı, ölçüm noktası, lens odaklayıcılar ve çok noktalı fotodedektörlerden oluşmuştur. Ölçme zonu ve lenslerin odaklanma aralığı fotodedektördeki spektrumu belirler. Fotodedektör lensin odak uzaklığına göre ayarlanmıştır. Numunenin partikül büyüklüğüne ve dağılımına bağlı olarak dairesel ve simetrik görüntüler oluşur. Merkezden uzaklaştıkça

enerji yoğunluğu azalır. Çok elementli fotodedektör, 31 adet yarım çember şeklindeki zonlu ölçebilme kabiliyetine sahiptir. Işık yoğunluğu ile orantılı olarak elektrik akımına çevrilir ve sayısal olarak ifade edilir. Daha sonra bu sayısal veriler kaydedilerek bilgisayarda değeriendirilir.

3.2.1.3. FT-IR Spektrumu

Valsartan az miktarda alınarak Jasco FT/IR-420 (Fourier Transform Infrared Spektroskopisi) cihazı ile KBr disk yöntemi uygulanarak spektrumu alınmıştır.

3.2.1.4. UV Spektrumu

Valsartanın USP 31 tampon çözeltiler bölümünde belirtilen 0.1 N HCl, pH 4.5 ve pH 6.8 fosfat tamponları ve USP 31’de geciktirilmiş salım yapan preparatların çözünme çalışması için Yöntem A’da belirtilmiş olan pH ilk iki saat 0.1 N HCl daha sonra pH 6.8 fosfat tamponu (USP 31, Yöntem A) ortamları kullanılarak 10 µg/ml derişimindeki çözeltileri hazırlanmıştır. 200–400 nm arasındaki dalga boylarında 1 cm’lik kuvarz kuvet kullanılarak köre karşı spektrumları alınmış ve λ_{maks} değeri hesaplanmıştır.

3.2.1.5. Spektrofotometrik Yöntem Kullanılarak Değişik Ortamlardaki Miktar Tayini İçin Standart Doğruların Hazırlanması

Valsartanın 0.1 N HCl, pH 4.5, pH 6.8 fosfat tamponları ve USP 31, Yöntem A ortamları kullanılarak 100 µg/ml konsantrasyonlarındaki stok çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan stok

çözeltiden hareketle, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10 µg/ml konsantrasyonunda çözeltiler hazırlanmış, bu konsantrasyonlarda 6 farklı seriden kalibrasyon doğruları çizilerek regresyon ve varyasyon analizleri yapılmıştır. Bu işlem her bir ortam için tekrarlanmıştır.

3.2.1.6. İn vitro Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

Validasyon, etkin maddenin miktar tayini için kullanılan yöntemin, doğru ve kesin bir şekilde güvenilirliğini göstermek amacıyla yapılması gereken bütün işlemleri kapsar. Valsartanın in vitro miktar tayini validasyonunda 0.1 N HCl ve USP 31, Yöntem A kullanılarak doğrusalılık, doğruluk, kesinlik (tekrar edilebilirlik, ara kesinlik), özgünlük ve stabilite gibi parametreler esas alınmış ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

3.2.1.6.1. Doğruluk (accuracy) ve Geri Elde (recovery)

Miktar tayini yönteminin doğruluğunu gösterir. Geri elde ile hesaplanır. Yöntemin doğruluğu bu geri kazanım yüzdesine bağlıdır.

Valsartan formülasyonlarında etkin maddeyi % 80–100–120 oranında içeren 3 farklı konsantrasyonda tabletler hazırlanmıştır. Bu tabletlerden 5 farklı seri çözelti hazırlanarak analiz yapılmış ve buradan yüzde geri elde, standart sapma, bağıl sapma (varyasyon katsayısı) ve güven aralığı hesaplamaları yapılmıştır.

3.2.1.6.2. Kesinlik (precision)

Miktar tayininde kullanılan spektrofotometrik yöntemin

birbirini izleyen ölçümler arasındaki yakınlık derecesidir. Kesinlik üç düzeyde değerlendirilmektedir; tekrar edilebilirlik (repeatability), ara kesinlik (intermediate precision) ve tekrar elde edilebilirlik (reproducibility). Standart sapma ve bağıl sapma (varyasyon katsayısı) ile ifade edilir.

3.2.1.6.2.1. Tekrar Edilebilirlik (repeatability)

Tekrar edilebilirlik deney içi kesinlik olarak da ifade edilir. 100 µg/mL derişiminde hazırlanan stok çözeltisinden hareketle üç farklı konsantrasyonda çözelti (4, 5, 6 µg/mL) hazırlanmış ve her bir çözeltinin spektrofotometrede çalışılan dalga boyunda art arda 10 kez ölçümü yapılmış ve elde edilen absorbanlara karşılık gelen konsantrasyonların ortalaması, standart ve bağıl sapmaları (varyasyon katsayısı) hesaplanmıştır. Bağıl sapmanın % 2'den küçük olması yöntemin tekrar edilebilirliğini göstermektedir.

3.2.1.6.2.2. Ara Kesinlik (intermediate precision)

Ara kesinlik laboratuvar içi kesinlik olarak da bilinir. Valsartanın 0.1 N HCl ve pH 6.8 fosfat tamponu (USP 31, Yöntem A) stok çözeltisinden (100 µg/mL) hareketle üç farklı derişimde (4, 5, 6 µg/mL) ve her derişimden de 10 adet çözelti hazırlanmıştır. Birbirini takip eden 3 gün içinde 3'er kez ölçüm yapılarak absorbanlara karşılık gelen konsantrasyonlar hesaplanmıştır. Konsantrasyonların standart sapması ve bağıl sapması hesaplanmıştır.

3.2.1.6.2.3. Tekrar Elde Edilebilirlik (reproducibility)

Tekrar elde edilebilirlik laboratuvarlar arası kesinlik olarak bilinmektedir. Farklı laboratuvarlarda kullanılan aynı yöntemle kabul edilebilir sonuçlar elde edilebilirliğinin gösterilmesidir. Yöntemin standardizasyonu için laboratuvarlar arası çalışmalar uygulanır. Özellikle kalite kontrol laboratuvarlarına yöntem transferi gereken yöntemlerin validasyonunda bu ölçütün incelenmesi gerekmektedir. Bu nedenle tez kapsamında geliştirilen yöntemin validasyonunda bu ölçüt incelenmemiştir.

3.2.1.6.3. Özgünlük (specificity)

Bir yöntemin özgünlüğü örnek içinde bulunabilecek maddelerin (safsızlık, parçalanma, bozunma ürünleri) varlığında, analiti doğru bir şekilde ölçme yeteneğinin derecesini gösterir. Kullanılan spektrofotometrik miktar tayini yönteminin sadece istenen kimyasal yapıyı saptayabildiğini değerlendirmek amacıyla etkin madde dışındaki tüm bileşenlerin karışımının ve etkin maddenin 200–400 nm arasındaki dalga boyunda spektrumu alınmıştır.

3.2.1.6.4. Doğrusallık (linearity)

Yöntemin doğrusallığı, deney bulgularının örnek içindeki madde konsantrasyonu ile belli bir aralıkta orantılı olduğunun gösterilmesi amacıyla yapılır. Bunun için konsantrasyona karşılık gelen absorbans değerlerinin doğrusal regresyon yöntemi ile regresyon doğrusu hesaplanmıştır. Bu amaçla valsartanın 100 µg/ml konsantrasyonda stok çözeltileri hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden hareketle on farklı seyreltme yapılmıştır. Her konsantrasyon ve buna karşılık gelen absorbans değerleri

en küçük kareler yöntemine göre grafiğe geçirildikten sonra standart doğru denklemi elde edilmiştir.

3.2.1.7. Stabilité

Valsartanın çalışma süresi boyunca çözelti içindeki stabilitesini göstermek amacıyla 5 µg/ml konsantrasyondaki 0.1 N HCl ve USP 31, Yöntem A ortamlarındaki çözeltileri hazırlanarak, 25±0.5°C ve 37±0.5°C sıcaklığındaki etüvlerde kapalı balon jöjeler içerisinde 24 saat süreyle bekletilmiş ve belirli saatlerde alınan örnekler ölçülerek absorban değerlerinde ve spektrumunda bir değişiklik olup olmadığı incelenmiştir.

3.2.1.8. Valsartanın Değişik pH'lardaki Tampon Çözeltilerde Çözünürlüğünün Belirlenmesi

Valsartanın 0.1 N HCl ve USP 31, Yöntem A ortamlarındaki çözünürlük değerleri hesaplanmıştır. Bunun için her ortama, çözüneceğinden daha fazla miktarlarda valsartan eklendikten sonra çalkalanarak süspande edilmiştir. Bu süspande çözeltiler, 37±0.5°C' de termostatlı ısıtıcısı bulunan manyetik karıştırıcılı su banyosunda 0.1 N HCl için 24 saat, USP 31, Yöntem A ortamı için 96 saat bekletilmiştir. Belli zaman aralıklarında numuneler süzülerek alınmıştır. Alınan numuneler, uygun seyreltmeler yapılarak spektrofotometrik analize tabi tutulmuş ve içerisinde çözünmüş olan valsartan miktarı bulunmuştur.

Deneysel çalışmanın yanı sıra, GastroPlus® simülasyon programı ile çözünürlük ve pKa değerlerinden hareketle pH-çözünürlük profili çizdirilmiştir.

3.3. Formülasyon Çalışmaları

3.3.1. Ön Formülasyon Çalışması

Valsartan formülasyonları doğrudan basım yöntemi ile hazırlanmıştır. pH'dan bağımsız kontrollü salın tablet formülasyonlarını hazırlamak için tablet mikro çevre pH'sını yükseltmek amacıyla farklı pH değiştirici maddeler, etkin madde çözünürlüğünü artırmak için poloksamer türevi bir madde, kontrollü salımın sağlanması amacıyla farklı polimerler ve farklı fizikokimyasal özelliklere sahip seyrelticiler kullanılmıştır.

Ön formülasyon çalışmalarında farklı molekül ağırlıklarına, çözünürlüğe, yüzey alanına ve pH özelliklerine sahip seyreltici maddelerin de pH'dan bağımsız kontrollü salım üzerindeki etkisi incelenmiştir. Tablo 7'de çalışmalarda kullanılan seyreltici maddeler bulunmaktadır.

Tablo 7: Formülasyonda Kullanılan Seyrelticiler ve Bazı Fizikokimyasal Özellikleri¹³⁹

	Mikrokristalin Selüloz (Avicel® PH 200)	Laktoz Anhidrat (Laktopress Anhydrous® 250)	Dibazik Kalsiyum Fosfat Anhidrat (Fujicalin®)
Molekül Ağırlığı (g/mol)	36000	342.30	136.06
Çözünürlük	Suda çözünmez, %5 NaOH'da hafifçe çözünür.	Suda çözünür. (21.6 g/ 100 mL)	Suda çözünmez, zayıf asitte çözünür.
Yüzey alan	0.78–1.18 m ² /g	0.47–0.31 m ² /g	35 m ² /g
pH	5.0-7.5	5.0-7.5	6.1–7.2 (% 5 bulamaç).

Ön formülasyon çalışmalarında ayrıca kontrollü salımı sağlamak amacıyla Tablo 8’de gösterilen farklı hız kontrol edici polimerlerle formülasyonlar hazırlanmıştır.

Tablo 8: Formülasyonda kullanılan hız kontrol edici polimerler¹³⁹

	HPMC E4M	HPMC K100 LV	Kollicoat MAE 100P	Eudragit RL PO
pH-Bağımlılık	pH’dan bağımsız çözünür ve şişer	pH’dan bağımsız çözünür ve şişer	pH >5.5’de çözünür	pH’dan bağımsız şişer, çözünmez

Ön formülasyon çalışmalarında pH’dan bağımsız salımın elde edilmesinde tablet mikro çevre pH’sını artırmak amacıyla Tablo 9’ da görülen farklı molekül ağırlığı, çözünürlük ve pH değerlerine sahip pH değiştirici maddeler kullanılarak formülasyonlar hazırlanmıştır.

Tablo 9: Formülasyonda Kullanılan pH Değiştirici Maddeler ve Bazı Fizikokimyasal Özellikleri¹³⁹

	Magnezyum hidroksit ¹⁴⁰	Magnezyum oksit ¹⁴⁰	Sodyum sitrat dihidrat	Sodyum karbonat ¹⁴⁰	Sodyum bikarbonat ¹⁴⁰
Kapalı Formül	Mg(OH) ₂	MgO	C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ ·2H ₂ O	Na ₂ CO ₃	NaHCO ₃
Molekül Ağırlığı (g/mol)	58.32	40.30	294.10	105.99	84.01
Çözünürlük (Su, 25°C)	1.2g/100 mL	8.6 g /100 mL	6.67g/100 mL	9.1 g/100 mL	10g/100 mL
pH (%1, Su)	10.55	10.66	8.37	11.41	8.32

Formülasyona giren etkin madde ve yardımcı maddeler 10 dakika süreyle karıştırılmış, ardından magnezyum stearat ilave edilerek 2–3 dakika daha karıştırılmıştır. Daha sonra tablet makinesinde doğrudan basım yöntemi ile basılmıştır. Hazırlanan tablet formülasyonlarında yer alan yardımcı maddeler ve görevleri Tablo 10’de belirtilmiştir. Hazırlanan formülasyonlardaki maddeler ve içerdikleri miktarlar Tablo 11-Tablo 13’de gösterilmiştir.

Tablo 10: Hazırlanan tablet formülasyonlarında yer alan yardımcı maddeler ve görevleri

Yardımcı Madde	Formülasyondaki Görevi
Magnezyum hidroksit	pH değiştirici madde
Magnezyum oksit	pH değiştirici madde
Sodyum sitrat dihidrat	pH değiştirici madde
Sodyum karbonat	pH değiştirici madde
Sodyum bikarbonat	pH değiştirici madde
Poloksamer 407 (Lutrol® F127)	Çözünürlük artırıcı madde
Hidroksipropilmetilselüloz E4M	Hız kontrol edici polimer
Hidroksipropilmetilselüloz K100 LV	Hız kontrol edici polimer
Etil akrilat/Metakrilik asit kopolimeri (Kollicoat MAE 100P®)	Hız kontrol edici polimer
Amonyumalkil metakrilat kopolimeri (Eudragit RL PO®)	Hız kontrol edici polimer
Mikrokristalin selüloz (Avicel® PH 200)	Seyreltici
Laktoz (Laktopress anhydrous® 250)	Seyreltici
Dibazik kalsiyum fosfat anhidrat (Fujicalin®)	Seyreltici
Magnezyum stearat	Kaydırıcı - kayganlaştırıcı

Tablo 11: Farklı seyreltici maddeler kullanılarak hazırlanan formülasyonların içeriği

	S1	S2	S3
Valsartan	80.0	80.0	80.0
Mikrokristalin selüloz PH 200 (Avicel® PH 200)	39.2	-	-
Laktoz (Lactopress anhydrous® 250)	-	39.2	-
Dibazik kalsiyum fosfat anhidrat (Fujicalin®)	-	-	39.2
Amonyum alkil metakrilat kopolimeri (Eudragit RL PO®)	40.0	40.0	40.0
Magnezyum stearat	0.8	0.8	0.8
Toplam tablet ağırlığı (mg)	160	160	160

Tablo 12: Hız kontrol edici farklı polimerler kullanılarak hazırlanan formülasyonların içeriği

	P1	P2	P3	P4	P5
Valsartan	80.0	80.0	80.0	80.0	80.0
Etil akrilat/Metakrilik asit kopolimeri (Kollicoat MAE 100 P®)	40.0	-	-	-	-
Etil akrilat/Metakrilik asit kopolimeri: HPMC K100 LV 1:1 Karışımı (Kollicoat MAE100 P®: Methocel K100LV®,1:1)	-	40.0	-	-	-
Amonyumalkil metakrilat kopolimeri (Eudragit RL PO®)	-	-	40.0	-	-
HPMC E4M (Methocel E4M®)	-	-	-	40.0	-
HPMC K100 LV (Methocel K 100 LV®)	-	-	-	-	40.0
Mikrokristalin selüloz PH 200 (Avicel PH 200®)	39.2	39.2	39.2	39.2	39.2
Magnezyum Stearat	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
Toplam tablet ağırlığı (mg)	160	160	160	160	160

Tablo 13: Farklı pH değıştirici maddeler kullanılarak hazırlanan formülasyonların içeriği

	B1	B2	B3	B4	B5
Valsartan	80.0	80.0	80.0	80.0	80.0
Magnezyum hidroksit	24.0	-	-	-	-
Magnezyum oksit	-	24.0	-	-	-
Sodyum sitrat dihidrat	-	-	24.0	-	-
Sodyum karbonat	-	-	-	24.0	-
Sodyum bikarbonat	-	-	-	-	24.0
Etil akrilat/Metakrilik asit kopolimeri (Kollicoat MAE 100 P®)	13.2	13.2	13.2	13.2	13.2
HPMC K100 LV (Methocel K 100 LV®)	26.2	13.1	13.1	26.2	13.1
Mikrokristalin selüloz PH 200 (Avicel PH 200®)	15.8	-	28.9	15.8	-
Dibazik kalsiyum fosfat anhidrat (Fujicalin®)	-	28.9	-	-	28.9
Magnezyum stearat	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
Toplam tablet ağırlığı (mg)	160	160	160	160	160

3.3.2. Deney Tasarımı Formülasyon Çalışması

Ön formülasyon çalışmaları sonucunda seçilen seyreltici madde, pH değiştirici madde, polimer ve çözünürlük artıcı maddenin kullanıldığı formülasyonlardaki tüm yardımcı maddelerin uygun oranlarının belirlenebilmesi amacıyla merkez noktası tekrarlı faktöriyel tasarım metodu kullanılmıştır. Bu amaçla Design Expert® bilgisayar programından faydalanılmıştır. Bu tasarımda bağımsız parametre olarak kullanılan pH değiştirici madde ve etkin madde çözünürlüğünü artırıcı madde için Tablo 14’de belirtilen seviyeler kullanılmıştır.

Tablo 15’de Design Expert® kullanılarak yapılan deneysel tasarım ile elde edilmiş formülasyonların içeriği görülmektedir. Deneysel tasarım formülasyonlarında hız kontrol edici polimer ve magnezyum stearat miktarları sabit tutulmuştur.

Tablo 14: Valsartan deney tasarımı formülasyonlarında kullanılan sodyum sitrat ve Lutrol F127 seviyeleri

Formülasyon	Nokta Yerleşimi	KODLANMIŞ SEVİYELER		NORMAL SEVİYELER	
		% Sodyum Sitrat	% Lutrol F 127	% Sodyum Sitrat	% Lutrol F 127
F1	Merkez Noktalar	0	0	20	12,5
F2		0	0	20	12,5
F3		0	0	20	12,5
F4		0	0	20	12,5
F5		0	0	20	12,5
F6	Aksiyal Noktalar	0	-1,414	20	1,9
F7		1,414	0	34,1	12,5
F8		0	1,414	20	23,1
F9		-1,414	0	5,9	12,5
F10	Faktöriyel Noktalar	-1	-1	10	5
F11		-1	1	10	20
F12		1	-1	30	5
F13		1	1	30	20

Tablo 15: Design Expert® kullanılarak yapılan deneysel tasarım ile elde edilmiş formülasyonlar (mg, %)

Forml. No.	Tip	Sodyum sitrat		Lutrol F 127		Valsartan		Methocel E4M		Avicel		Mg-Stearat		TABLET AĞIRLIĞI
		mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	
F1	Merkez	46.4	20.0	29.0	12.5	80.0	34.5	34.8	15.0	40.6	17.5	1.2	0.5	232
F2	Merkez	46.4	20.0	29.0	12.5	80.0	34.5	34.8	15.0	40.6	17.5	1.2	0.5	232
F3	Merkez	46.4	20.0	29.0	12.5	80.0	34.5	34.8	15.0	40.6	17.5	1.2	0.5	232
F4	Merkez	46.4	20.0	29.0	12.5	80.0	34.5	34.8	15.0	40.6	17.5	1.2	0.5	232
F5	Merkez	46.4	20.0	29.0	12.5	80.0	34.5	34.8	15.0	40.6	17.5	1.2	0.5	232
F6	Aksiyal	46.4	20.0	4.4	1.9	80.0	34.5	34.8	15.0	65.2	28.1	1.2	0.5	232
F7	Aksiyal	79.1	34.1	29.0	12.5	80.0	34.5	34.8	15.0	7.9	3.4	1.2	0.5	232
F8	Aksiyal	46.4	20.0	53.6	23.1	80.0	34.5	34.8	15.0	16.0	6.9	1.2	0.5	232
F9	Aksiyal	13.7	5.9	29.0	12.5	80.0	34.5	34.8	15.0	73.3	31.6	1.2	0.5	232
F10	Faktöriyel	23.2	10.0	11.6	5.0	80.0	34.5	34.8	15.0	81.2	35.0	1.2	0.5	232
F11	Faktöriyel	23.2	10.0	46.4	20.0	80.0	34.5	34.8	15.0	46.4	20.0	1.2	0.5	232
F12	Faktöriyel	69.6	30.0	11.6	5.0	80.0	34.5	34.8	15.0	34.8	15.0	1.2	0.5	232
F13	Faktöriyel	69.6	30.0	46.4	20.0	80.0	34.5	34.8	15.0	0.0	0.0	1.2	0.5	232

Deneysel tasarım sonrasında elde edilen optimum formülasyon (F9) ile karşılaştırmak amacıyla pH değiştirici madde ve çözünürlük artırıcı maddenin olmadığı F14 formülasyonu hazırlanmıştır. Ayrıca optimum formülasyonun doz orantısallığını incelemek için 2 katı doz olacak şekilde 160 mg valsartan içeren F15 formülasyonu hazırlanmıştır. İlave edilen formüllerin içerikleri Tablo 16'da görülmektedir.

Tablo 16: İlave olarak hazırlanan formülasyonların içerikleri

	F9 (%)	F14 (%)	F15 (%)
Valsartan	34.50	34.50	34.50
Sodyum sitrat	5.86	-	5.86
Poloksamer 407 (Lutrol F 127 [®])	12.50	-	12.70
HPMC E4M (Methocel E4M [®])	15.00	15.00	15.00
Mikrokristalin selüloz PH 200 (Avicel PH 200 [®])	31.64	50.00	31.64
Magnezyum stearat	0.50	0.50	0.50
TOPLAM TABLET AĞIRLIĞI (mg)	231.88	231.88	464

3.3.3. Hazırlanan Tabletlerde Yapılan Kontroller

3.3.3.1. Çap ve Kalınlık Denetimi

Amerikan Farmakopesinde (USP 31) verilen yönetime göre yapılmıştır. Duyarlılığı 0.01 mm olan mikrometre ile 10 tabletin çap ve kalınlığı ölçülmüştür. Elde edilen değerlerin ortalaması ve standart sapması hesaplanmıştır.

3.3.3.2. Ağırlık Sapması Denetimi

On tablet tek tek tartılarak ortalama ağırlık ve standart sapması hesaplanmıştır.

3.3.3.3. Sertlik Denetimi

Erweka sertlik tayini aletinde 10 tabletin sertlikleri Newton (N) cinsinden ölçülerek bulunan değerlerin ortalaması ve standart sapması hesaplanmıştır.

3.3.3.4. Ufalanma - Aşınma Denetimi

Tabletler tartılarak Roche Friabilitörde 25 devir/dakika hızında 4 dakika çalıştırılmıştır. Bu süre sonunda tabletler tekrar tartılarak meydana gelen ağırlık kaybı belirlenerek % ufalanma-aşınma hesaplanmıştır.

3.3.3.5. Miktar Tayini

Hazırlanan tabletlerin miktar tayinlerini yapmak için seçilen formülasyona ait 6 adet tablet toz haline getirilerek oluşan toz karışımından tek bir tablet ağırlığı kadar toz madde tartılarak USP 31, Yöntem A ortamı ile 100 ml'ye tamamlanmış ve ultrasonik su banyosunda çözünmesi için bekletilmiştir. Daha sonra uygun seyreltmeler yapılarak spektrofotometrik miktar tayini yapılmıştır.

3.3.3.6. Çözünme Deneyleri

Çözünme deneyleri Amerikan Farmakopesinde yer alan (USP 31) palet yöntemiyle $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 'de 75 rpm'de yapılmıştır¹⁴¹. Deneylerde kullanılan çözünme ortamları şunlardır:

- 1) USP 31 Yöntem A: USP 31'de¹⁴¹geciktirilmiş salım yapan preparatlar için belirtilmiş ortamdır. USP 31'de " <<711>> Dissolution" monografında verilen iki yöntemden Yöntem A seçilerek uygulanmıştır. 750 mL 0.1 N HCl'de 2 saat deney yapıldıktan sonra ortama 250 mL 0.2 M $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ eklenerek ortamın pH'sı 6.8'e getirilir. Eğer pH değeri istenen değerden farklı ise 2 N HCl veya 2 N NaOH kullanılarak pH 6.8'e getirilir ve bu ortamda etkin madde salımı tamamlanıncaya kadar deney devam edilir.
- 2) 900 mL pH 6.8 fosfat tamponu
- 3) 900 mL 0.1 N HCl
- 4) 900 mL pH 4.5 fosfat tamponu

Deneye başlandıktan sonra 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 ve 12. saatlerde 5 ml örnek alınıp yerine aynı sıcaklıkta 5 ml çözünme ortamından ilave edilmiştir. Alınan örnekler 41 μm 'lik filtrelerden (Whatman) süzülerek köre karşı UV spektrofotometresinde 1 cm'lik kuvvetlerde 206 nm'de absorbansları okunmuştur. Gerekli hesaplamalar yapılarak çözünme profilleri çizilmiştir.

3.3.3.7. Salım Kinetiği

Tüm formülasyonların in vitro salım verilerinin kinetik değerlendirmesi yapılmıştır. Kinetik değerlendirme için sıfır derece, birinci

derece ve $Q\sqrt{t}$ (Higuchi) salım kinetik modelleri incelenmiştir. Salım verileri ayrıca Peppas tarafından önerilen üssel eşitlik ($Q=kt^n$) ile de incelenmiştir³.

3.3.3.8. In Vitro Salım Profilleri Arasındaki Benzerlik Faktörünün (f_2) ve Farklılık Etkeninin (f_1) Değerlendirilmesi

İki çözünme profili arasındaki benzerliğin araştırılması amacıyla benzerlik testi (f_2) yapılmıştır. f_2 değerinin hesaplanması için;

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\} \quad \text{Eşitlik 6}$$

f_2 = Benzerlik faktörü

n = Alınan nokta sayısı

t = Zaman

R_t = Her nokta için referans tabletten salınan % yığılmalı miktar

T_t = Her nokta için test tabletten salınan % yığılmalı miktar

f_2 değerinin 50–100 arasında olması salım profillerinin benzer olduğunu gösterir. Çalışmamızda tabletlerin farklı sıcaklık ve nem koşullarında bekletilme süresi sonunda ve farklı pH'lardaki çözünme profillerinin farklı olup olmadığını görmek amacıyla f_2 değeri hesaplanmıştır.

Diğer taraftan iki çözünme profili arasındaki benzerliğin araştırılması amacıyla fark etmeni (f_1) hesaplanmaktadır. Bu faktörün hesaplanması için;

$$f_1 = \left\{ \left[\sum_{t=1}^n |R_t - T_t| \right] / \left[\sum_{t=1}^n n R_t \right] \right\} \times 100 \quad \text{Eşitlik 7}$$

f_1 faktörünün 0–15 arasında olması salım profillerinin benzerliğini gösterir.

3.3.3.9. Farklı Sıcaklık ve Nem Ortamlarında Bekletilen Tabletlerin Sertlik, Nem ve Çözünme Testleri

Belirlenen formülasyonlara ait tabletler $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ % 60 ± 5 bağıl nem ve $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ % 75 ± 5 bağıl nem ortamında bekletilerek, 1., 2., 4. ve 6. aylarda numuneler alınarak çözünme, sertlik ve nem analizleri yapılmıştır.

3.3.3.10. Etkin Madde ve Yardımcı Maddelerin Etkileşmesinin Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Ölçümleri ile İncelenmesi

Örneklerin erime sıcaklıklarını gözlemlemek amacıyla 2 mg madde tartılıp tablet basılarak alüminyum hücre içine konulmuş ve bu örneğe karşı referans olarak boş alüminyum hücre kullanılmıştır. Dakikada 50 ml azot akımı altında sıcaklık 10 dakikada 10°C artırılarak, 25°C 'den 200°C 'ye çıkarılmıştır. Formülasyona giren yardımcı maddeler etkin madde ve toz karışımının termogramları ölçülmüştür.

3.3.3.11. GastroPlus® Yazılımı ile İn Vivo Simülasyon

Valsartana ait farmakokinetik parametreler, fizikokimyasal parametreler ve kontrollü salın formülasyonlar için çözünme verileri girilerek GastroPlus® programı ile in vivo simülasyon Resim 1-5'de özetlendiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu simülasyon yazılımı ile in vivo plazma profili simülasyonu yapılmış ve in vivo plazma profilleri ve farmakokinetik parametreler karşılaştırılmıştır.

Öncelikle programa etkin maddeyle ilgili bilinen fizikokimyasal parametreler ve ilaç şekli ile ilgili bilgiler girilmiştir.

Compound | Physiology | Pharmacokinetics | Simulation | Graph

Selected Compound

Current: 1; Total: 1

Molecular Formula: C24H29N5O3

Molecular Weight (g/mol): 435.5

Reference logD: 1.499 @ pH: 7.2

pKa Table

Enzyme Table

Transporter Table

SI Trans Time (h) = 3.209 Mean Abs Time (h) = 1.603

Longest Diss. Time (h) is @ pH 1.0 = 0.028 hours

Max Abs Dose (S+) = 6.647E+4 mg Max Abs Dose (lit) = 4.821E+4 mg

Support Files

Dosage Form: [R] Tablet

Initial Dose (mg): 80

Subsequent Doses (mg): 0

Dosing Interval (h): 0

Dose volume (mL): 250

pH for Reference Solubility: 8

Solubility (mg/mL @ pH=8): 16.9

Mean Precipitation time (sec): 900

Diff. Coeff. (cm²/s x 10⁻⁵): 0.75

Drug Particle Density (g/mL): 0.2

Particle Size: R=15, D=30

Effective Permeability

Source: Human

Peff (cm/s x 10⁻⁴): 1

Sim Peff x 10⁻⁴ (Human): 1.0

Convert from User Data

Biorelevant Solubilities

Dose No. = 0.9617

Absorption No. = 2.002

Dissolution No. = 1.165E+2

Notes

Sol Model: 6.1 logD Model: Emp-6.1 Diss Model: Johnson SolPartSize: OFF SolFileSak: OFF DiffFileSak: OFF

Resim 1. GastroPlus® yazılımı Bileşen (compound) tabının görünümü

Ardından fizyoloji tabında yine bilinen parametrelerle birlikte açlık durumu seçilmiştir.

Compound | **Physiology** | Pharmacokinetics | Simulation | Graph

Compartmental Parameters

Valsartan

☐ Excrete all un-absorbed drug at the end of gut transit time

☐ Zero-order gastric emptying

Enzyme and Transporter Regional Distributions

Compartment	Peff	ASF	pH	Transit Time (h)
Stomach	0	0.0	1.20	0.25
Duodenum	0	2.831	6.00	0.26
Jejunum 1	0	2.765	6.20	0.93
Jejunum 2	0	2.732	6.40	0.74
Ileum 1	0	2.696	6.60	0.58
Ileum 2	0	2.642	6.90	0.42
Ileum 3	0	2.579	7.40	0.29
Caecum	0	0.019	6.40	4.19
Asc Colon	0	0.034	6.80	12.57

C1-C4: 0.06944 0.43028 0.12147 0.46632

Qh (L/min): 1.5

Physiology: Human - Physiological - Fasted

Percent Fluid in SI: 40. Colon: 10.

ASF Model: Opt logD Model SAV 6.1

Resim 2. GastroPlus® yazılımı Fizyoloji (physiology) tabının görünümü

Daha sonra bilinen farmakokinetik parametreler programa girilmiştir.

PK Parameters

PK Model:

Body Weight (kg):

FPE (if fixed) [%]

Oral: Intestinal: Liver:

Blood/plasma concentration ratio:

☒ Use Exp Plasma Fup [%]:

☐ Use Adj Plasma Fup [%]:

Renal Clearance CL_r (L/h/kg):

CL (L/h): or (L/h/kg):

V_c (L/kg):

T 1/2 (h):

K₁₂ (1/h): K₁₃ (1/h):

K₂₁ (1/h): K₃₁ (1/h):

V₂ (L/kg): V₃ (L/kg):

Observed Values

Fa %: CMax (µg/mL):

FDp %: Tmax (h):

F %: AUC (ng-h/mL):

Hepatic Clearance (L/h):

Metabolism/Transporter Scale Factors

Enzymes

	Gut	Liver
Vmax SF:	1	1
Km SF:	1	1

Gut Transporters

	Apical	Basolateral
Influx Vmax SF:	1	1
Influx Km SF:	1	1
Efflux Vmax SF:	1	1
Efflux Km SF:	1	1

Transfer Scale Factors to Enz/Trans tables

Resim 3. GastroPlus® yazılımı Farmakokinetik (pharmacokinetics) tabının görünümü

Simülasyon tabından start ile simülasyon başlatılmıştır.

. Single Simulation Output: Simulation Time Elapsed (h): . A table comparing Observed (Obs) and Calculated (Calc) values for various parameters. A diagram of the human gastrointestinal tract is shown on the right, with labels for Colon, Liver, Stomach, Duodenum, Jejunum, and Ileum. A button 'Select [Simulation Setup-Animation] for a graphic animation display of dissolved and undissolved drug material in each compartment and as' is at the bottom. A caption 'Figure (c) Capsugel' is at the bottom right."/>

Simulation

Stop Start

Single Simulation Input

Simulation Length (h):

Single Simulation Output

Simulation Time Elapsed (h):

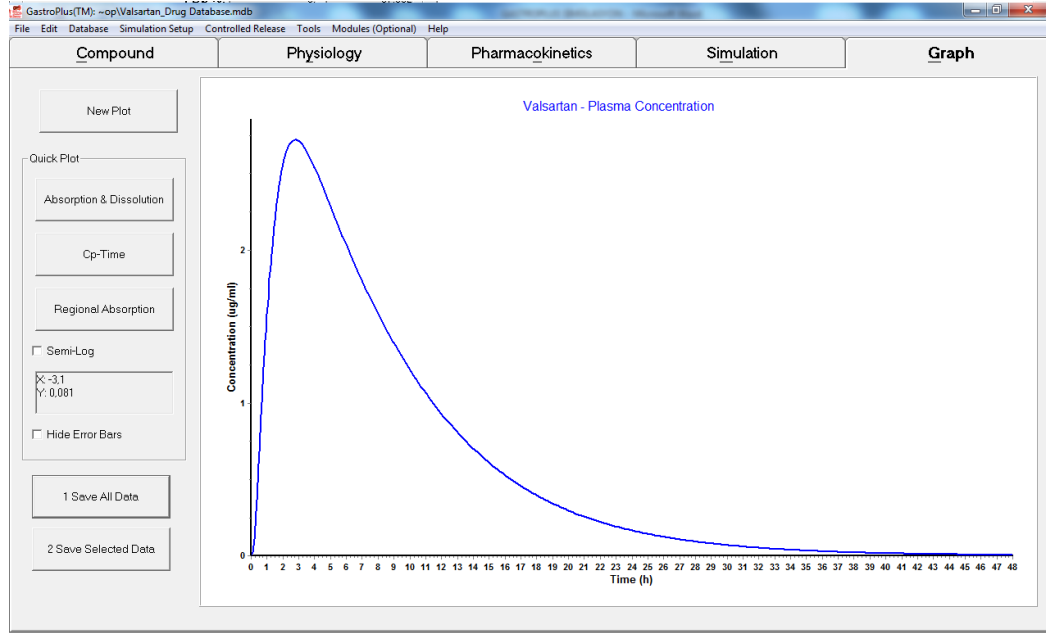
	Obs	Calc
Fa %:	0	97.935
FDp %:	0	97.932
F %:	0	97.932
Cmax (ug/ml):	3.95	2.7253
TMax (h):	2.5	2.82
AUC 0-inf (ug-h/ml):	25.94	27.785
AUC 0-t (ug-h/ml):	25.94	27.752
CMax Liver (ug/ml):		2.8185

Select [Simulation Setup-Animation] for a graphic animation display of dissolved and undissolved drug material in each compartment and as

Figure (c) Capsugel

Resim 4. GastroPlus® yazılımı Simülasyon (simulation) tabının görünümü

Son olarak Grafik tabından elde edilen grafik gözlemlenmiştir



Resim 5. GastroPlus® yazılımı Grafik (graph) tabının görünümü

4. BULGULAR

4.1. In Vitro Çalışmalar

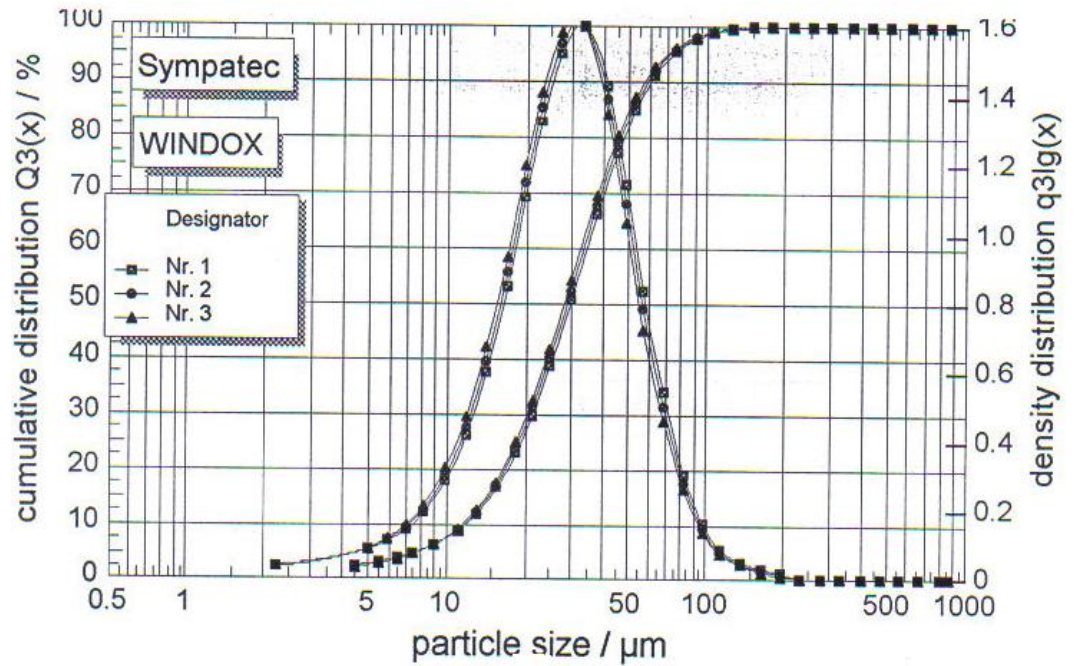
4.1.1. Etkin Madde Üzerinde Yapılan Fizikokimyasal İncelemeler

4.1.1.1. Etkin Maddenin Erime Noktası Tayini

Valsartanın erime noktası $103 \pm 1^\circ\text{C}$ olarak bulunmuştur.

4.1.1.2. Partikül Büyüklüğü Analizi

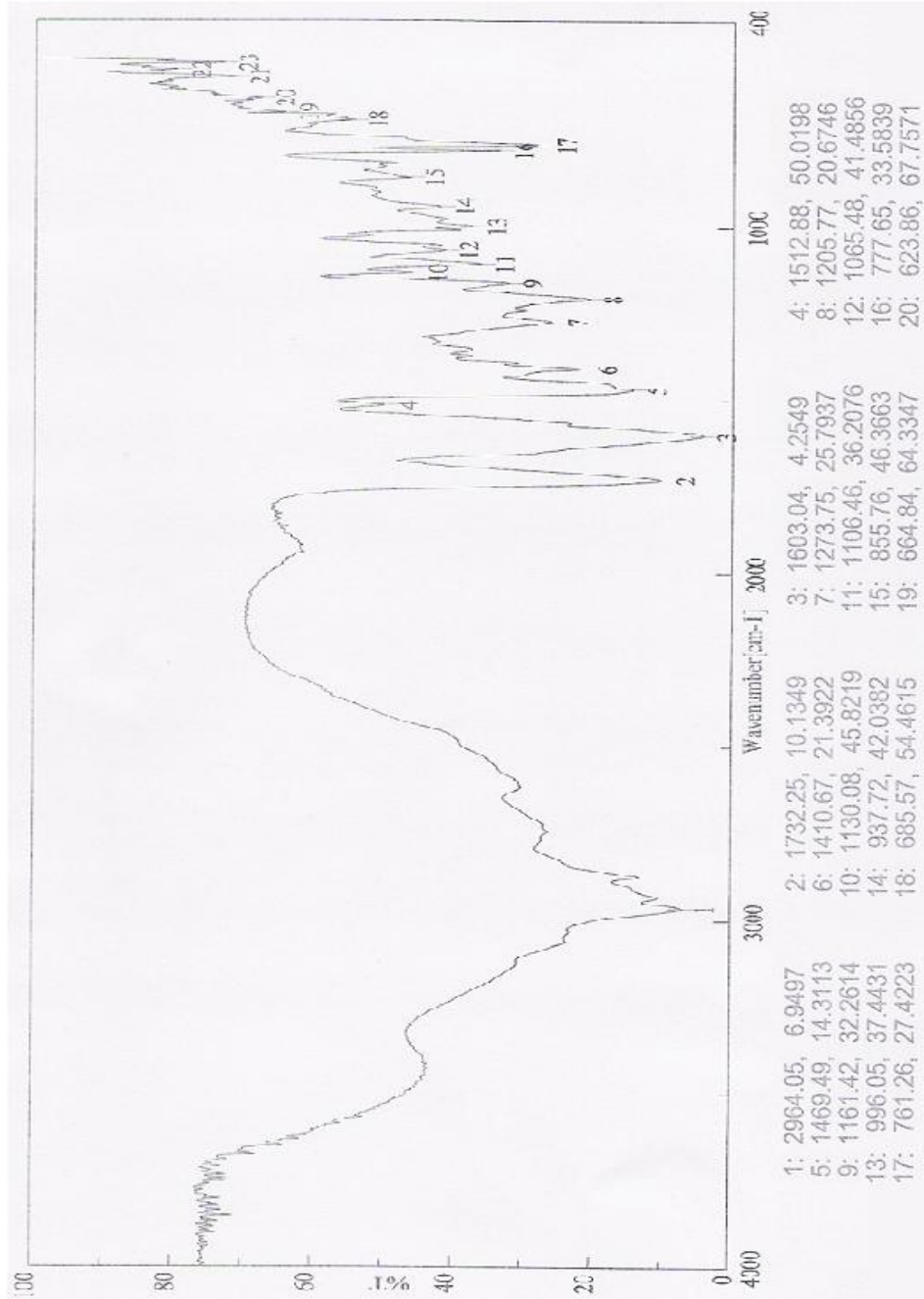
Valsartana ait partikül büyüklüğü dağılımı Şekil 8'de gösterilmiştir. Bu dağılıma göre valsartanın ortalama partikül büyüklüğü $29.2 \pm 1.0 \mu\text{m}$ olarak bulunmuştur.



Şekil 8: Valsartanın partikül büyüklüğü dağılımı

4.1.1.3. FT/IR Spektrumu

Valsartana ait FT/IR spektrumu Şekil 9'da gösterilmiştir. Ayrıca elde edilen IR spektrumunun dalga sayıları Tablo 17'de gösterilmiştir.



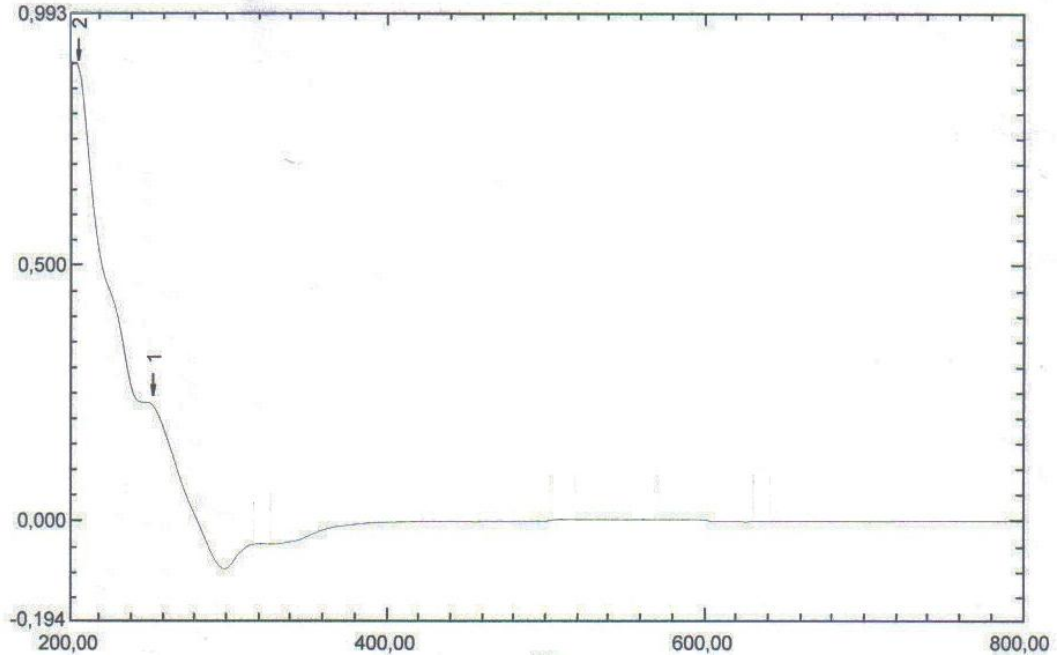
Şekil 9: Valsartanın FT-IR spektrumu

Tablo 17: Valsartan IR Spektrum Sonuçları¹⁴²

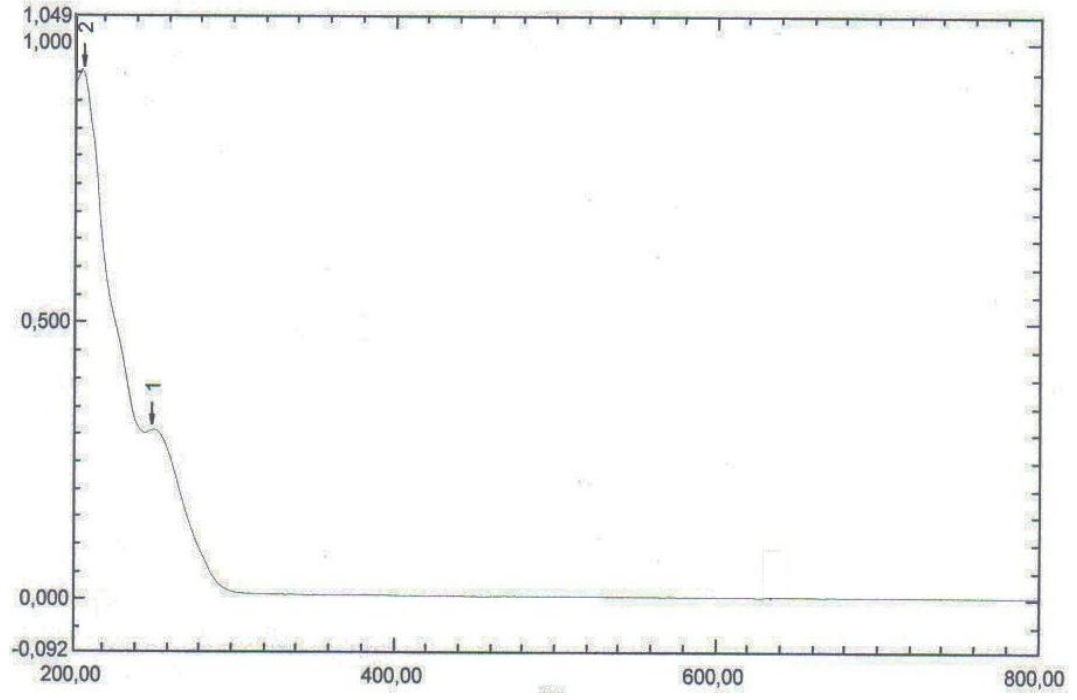
Valsartan Yapısında Bulunan Kimyasal Bağlar	Infrared Absorbsiyon frekans Aralıkları ¹⁴³	Valsartan FT-IR Spektrum sonuçları
Alifatik C-H gerilmeleri	2700–3800 cm ⁻¹	2964
Karboksil C=O gerilmeleri	1500–1900 cm ⁻¹	1732
Amid C=O gerilmeleri	1500–1900 cm ⁻¹	1603

4.1.1.4. UV Spektrumu

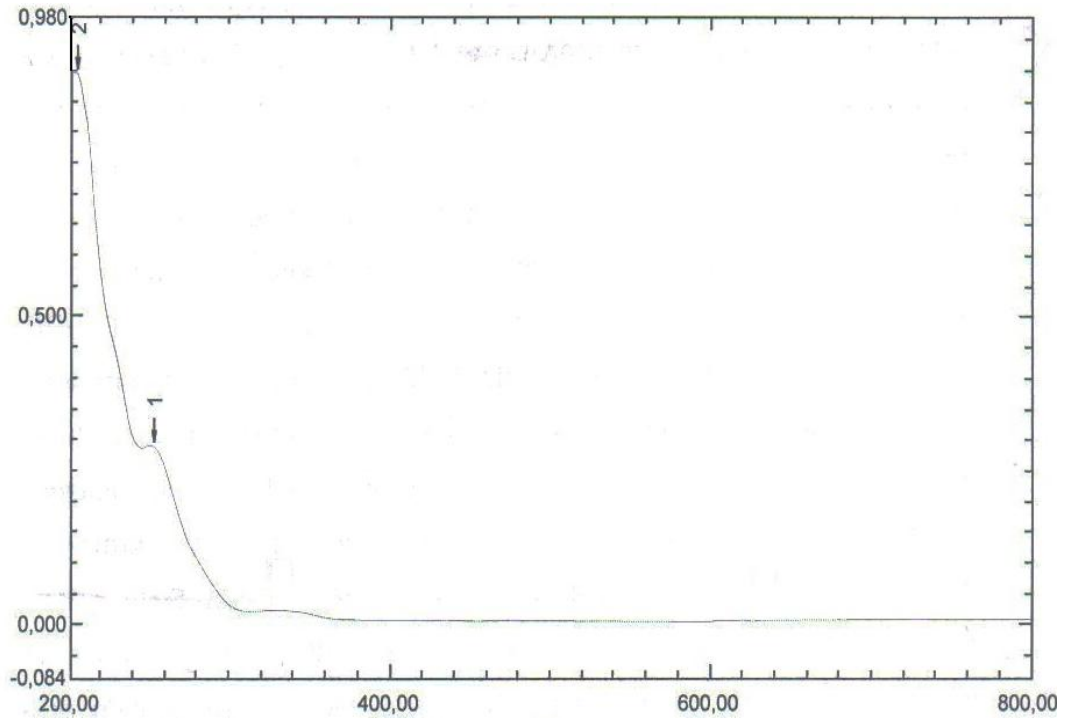
Valsartanın 0.1 N HCl, pH 6.8 fosfat tamponu (USP 31, Yöntem A) ortamlarında çekilmiş spektrumlar Şekil 10-13'de gösterilmiştir. Bu spektrumlara göre valsartanın maksimum absorbands verdiği dalga boyu değeri tüm ortamlar için 206 nm olarak bulunmuştur.



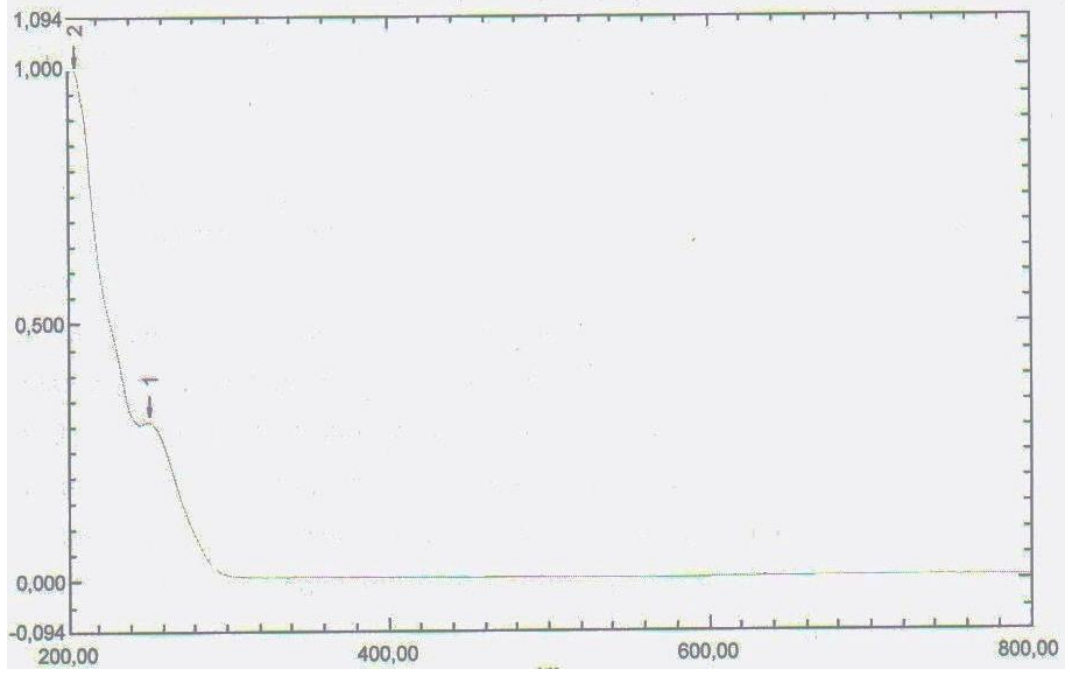
Şekil 10: Valsartan'ın 0.1 N HCl ortamında UV spektrumu



Şekil 11: Valsartan'ın USP 31, Yöntem A ortamında UV spektrumu



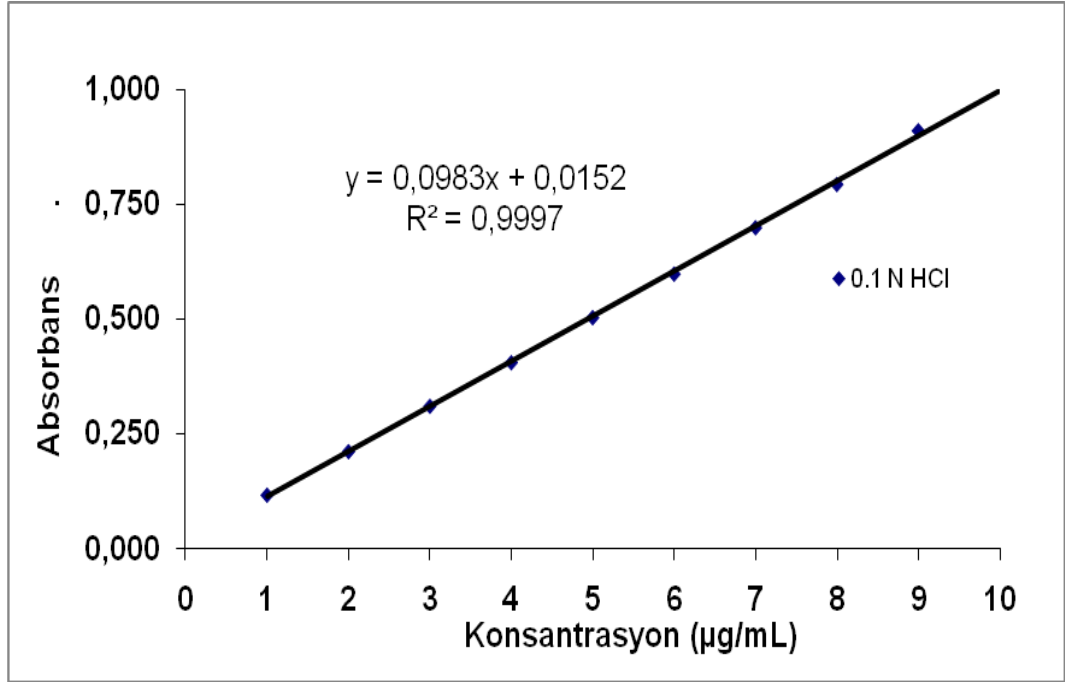
Şekil 12: Valsartan'ın pH 4.5 fosfat tamponu ortamında UV spektrumu



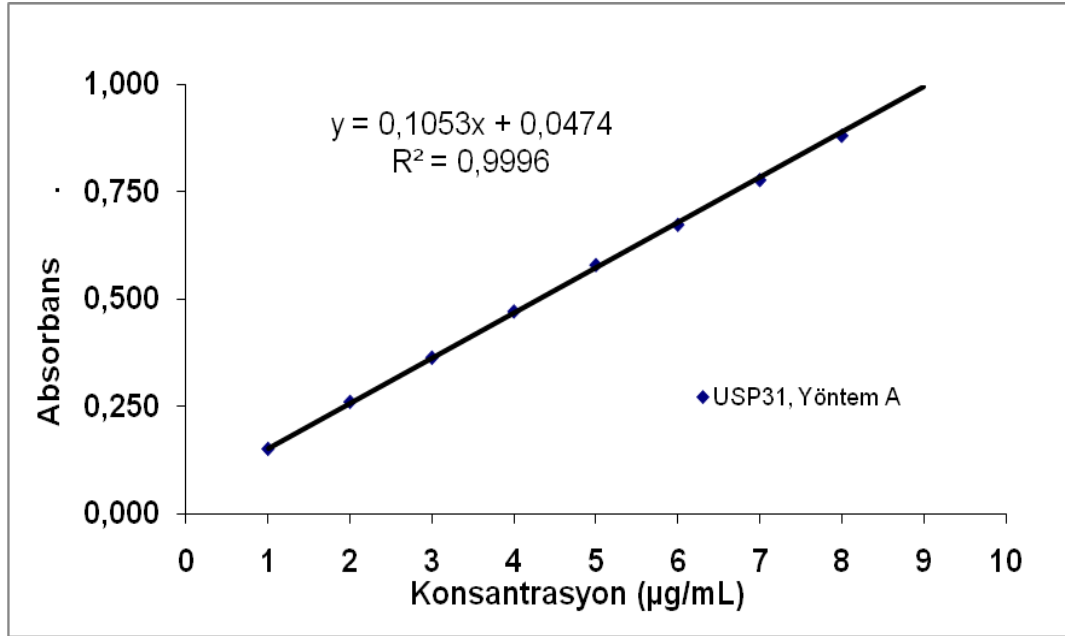
Şekil 13: Valsartan'ın pH 6.8 fosfat tamponu ortamında UV spektrumu

4.1.1.5. Valsartan Çözeltilerinin Kalibrasyon Doğrularının Hazırlanması

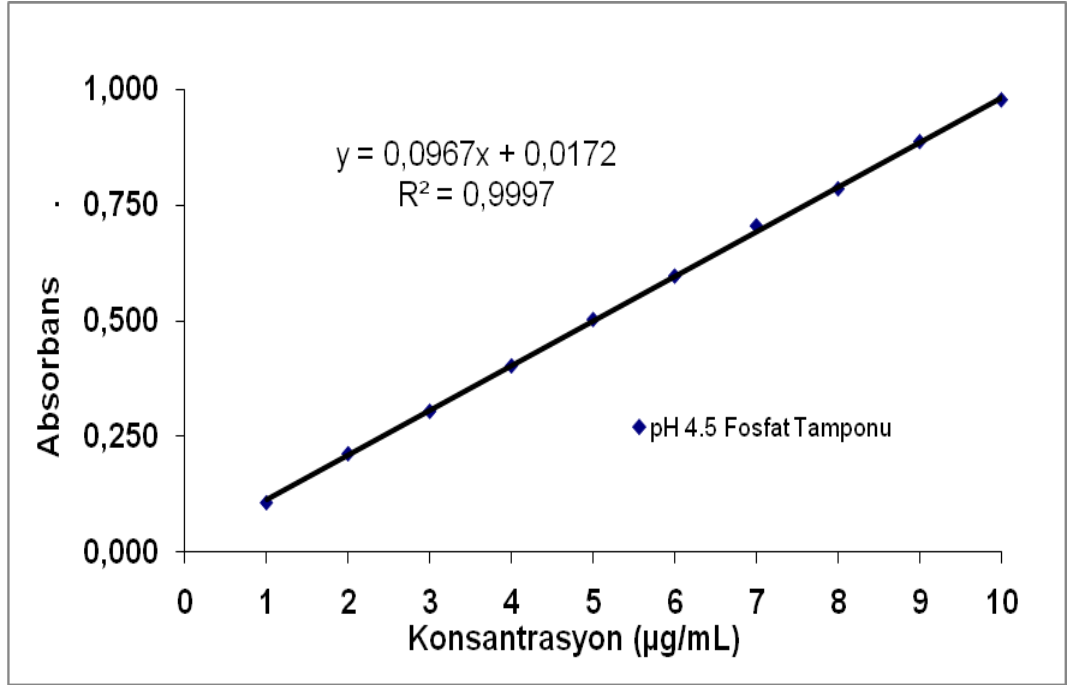
Valsartanın 0.1 N HCl, USP pH 4.5 ve pH 6.8 fosfat tamponları ve USP 31, Yöntem A metoduna göre çözeltilerinde standart doğruları hazırlanarak tespit edilen maksimum dalga boyunda (206 nm) elde edilen kalibrasyon grafikleri ve doğru denklemleri Şekil 14–17 arasında verilmiştir. Etkin maddenin kalibrasyon parametreleri Tablo 18'de gösterilmiştir.



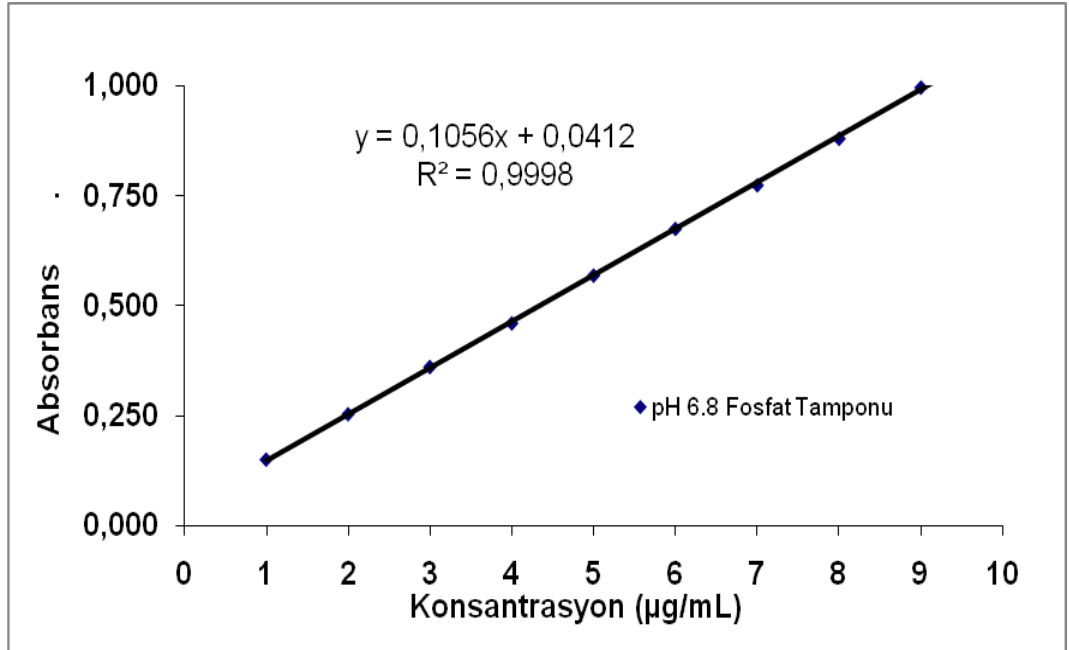
Şekil 14: Valsartanın 0.1 N HCl'deki kalibrasyon grafiği



Şekil 15: Valsartanın USP 31, Yöntem A kalibrasyon grafiği



Şekil 16: Valsartanın pH 4.5 fosfat tamponundaki kalibrasyon grafiği



Şekil 17: Valsartanın pH 6.8 fosfat tamponundaki kalibrasyon grafiği

Tablo 18: Etkin maddenin kalibrasyon parametreleri

Çözünme Ortamı	0.1 N HCl	USP 31, Yöntem A	pH 4.5 Fosfat Tamponu	pH 6.8 Fosfat Tamponu
Determinasyon katsayısı (r^2)	0.9997	0.9996	0.9997	0.9998
Eğim±Güven aralığı	0.098± 0.001	0.106± 0.001	0.096± 0.001	0.106± 0.001
Kesişim±Güven aralığı	0.015± 0.497	0.045± 0.499	0.017± 0.498	0.041± 0.496
SKT (Sapma kareleri toplamı)	0.0003	0.056	0.001	0.048
ASKT (Ağırlıklı Sapma Kareleri Toplamı)	0.0005	0.087	0.002	0.075
Akaike Bilgi Ölçütü	-70.4	-21.9	-58.1	-23.3
Schwartz Ölçütü	-70.0	-21.5	-57.7	-22.9
RUNS Denetimi	3	1	5	1

4.1.1.6. Etkin Maddenin Spektrofotometrik Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

4.1.1.6.1. Doğruluk (accuracy) ve Geri Elde (recovery)

Deneyler bölüm 3.2.1.6.1’de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Etkin maddeye ait geri elde sonuçları Tablo 19 ve Tablo 20’de gösterilmiştir. Bu deneyde optimum formülasyon olan F9 formülasyonunun bileşimi kullanılmıştır.

Tablo 19: Etkin maddenin 0.1 N HCl ortamında geri elde ile hesaplanan madde miktarı sonuçları

% 80 Valsartan İçeren Formülasyon	Olması Gereken (µg/mL)	Bulunan Miktar (µg/mL)	% Geri Elde	Standart Sapma	Bağıl Sapma
	4	4.09	102	0.04	0.01
	4	4.17	104		
	4	4.15	104		
	4	4.19	105		
	4	4.12	103		
%100 Valsartan İçeren Formülasyon	Olması Gereken (µg/mL)	Bulunan Miktar (µg/mL)	% Geri Elde	Standart Sapma	Bağıl Sapma
	5	5.26	105	0.05	0.01
	5	5.27	105		
	5	5.27	105		
	5	5.25	105		
	5	5.18	104		
%120 Valsartan İçeren Formülasyon	Olması Gereken (µg/mL)	Bulunan Miktar (µg/mL)	% Geri Elde	Standart Sapma	Bağıl Sapma
	6	6.26	104	0.02	0.00
	6	6.29	105		
	6	6.31	105		
	6	6.32	105		
	6	6.28	105		

Tablo 20: Etkin maddenin pH 6.8 fosfat tamponu (USP 31, Yöntem A) ortamında geri elde ile hesaplanan madde miktarı sonuçları

% 80 Valsartan İçeren Formülasyon	Olması Gereken (µg/mL)	Bulunan Miktar (µg/mL)	% Geri Elde	Standart Sapma	Bağıl Sapma
	4	3.96	99.1	0.05	0.01
	4	3.89	97.2		
	4	3.84	96.0		
	4	3.94	98.4		
	4	3.92	97.9		
%100 Valsartan İçeren Formülasyon	Olması Gereken (µg/mL)	Bulunan Miktar (µg/mL)	% Geri Elde	Standart Sapma	Bağıl Sapma
	5	4.84	96.8	0.36	0.00
	5	4.82	96.5		
	5	4.86	97.2		
	5	4.83	96.6		
	5	4.81	96.3		
%120 Valsartan İçeren Formülasyon	Olması Gereken (µg/mL)	Bulunan Miktar (µg/mL)	% Geri Elde	Standart Sapma	Bağıl Sapma
	6	5.99	99.9	0.06	0.01
	6	5.92	98.6		
	6	5.88	98.0		
	6	5.84	97.4		
	6	5.87	97.9		

4.1.1.6.2. Kesinlik (precision)

4.1.1.6.2.1. Tekrar Edilebilirlik (repeatability)

Bölüm 3.2.1.6.2.1.'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 21-22'de gösterilmiştir.

Tablo 21: 0.1 N HCl ortamında tekrar edilebilirlik sonuçları

Konsantrasyon	4 µg/mL	5 µg/mL	6 µg/mL
Ölçüm No			
1	4.12	5.23	6.03
2	3.95	5.22	5.97
3	4.18	5.15	6.14
4	3.93	5.20	6.13
5	3.97	5.17	5.96
6	4.04	5.14	6.08
7	4.03	5.15	6.23
8	4.11	5.17	6.04
9	4.17	5.16	6.04
10	4.01	5.19	5.95
Ortalama	4.05	5.17	6.05
Standart Sapma	0.09	0.03	0.09
Bağıl Sapma	0.02	0.01	0.02

Tablo 22: USP 31, Yöntem A ortamında tekrar edilebilirlik sonuçları

Konsantrasyon	4 µg/mL	5 µg/mL	6 µg/mL
Ölçüm No			
1	3.97	4.90	6.03
2	3.76	4.91	6.01
3	3.85	4.91	6.22
4	4.01	4.95	6.00
5	4.09	4.91	6.02
6	3.76	4.86	6.07
7	3.93	4.93	6.23
8	4.06	4.93	5.99
9	3.79	4.93	5.90
10	4.08	4.86	6.02
Ortalama	3.93	4.91	6.05
Standart Sapma	0.13	0.03	0.10
Bağıl Sapma	0.03	0.01	0.02

4.1.1.6.2.2. Ara Kesinlik

Bölüm 3.2.1.6.2.2.'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 23-24'de gösterilmiştir.

Tablo 23: 0.1 N HCl ortamında ara kesinlik sonuçları

GÜN	1. GÜN			2.GÜN			3.GÜN		
Konsantrasyon	4	5	6	4	5	6	4	5	6
Ölçüm No	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL
1	4.11	5.05	6.08	4.02	5.07	5.91	4.08	5.10	5.95
2	4.09	5.06	6.01	4.04	5.09	6.02	4.07	5.06	5.99
3	4.02	4.99	5.95	4.03	5.08	5.98	4.06	5.07	6.07
4	4.20	5.00	5.90	4.09	5.08	5.96	4.11	5.07	5.98
5	4.11	5.06	6.01	4.11	5.05	6.04	4.08	5.03	5.98
6	4.04	4.99	5.99	4.10	5.10	5.99	4.06	5.03	5.96
7	4.21	5.02	6.09	4.09	5.10	5.96	4.10	5.06	5.96
8	4.18	5.05	6.01	4.03	5.06	6.00	4.07	5.04	6.06
9	4.16	5.10	6.05	4.03	5.01	5.94	4.05	5.09	5.95
10	4.16	5.00	5.99	4.11	5.01	5.99	4.03	4.98	5.99
Ortalama	4.13	5.03	6.01	4.07	5.064	5.98	4.07	5.05	5.99
Standart Sapma	0.06	0.04	0.06	0.04	0.034	0.04	0.02	0.03	0.04
Bağıl Sapma	0.02	0.01	0.01	0.01	0.007	0.01	0.01	0.01	0.01

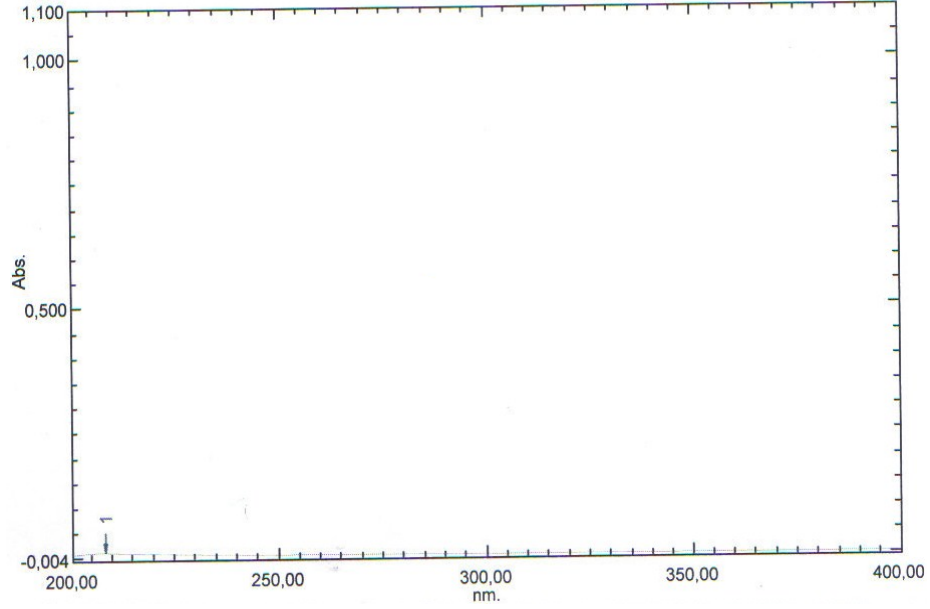
Tablo 24: USP 31, Yöntem A ortamında deneyler arası kesinlik sonuçları

GÜN	1. GÜN			2.GÜN			3.GÜN		
Konsantrasyon	4	5	6	4	5	6	4	5	6
Ölçüm No	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL
1	3.93	4.98	5.97	3.94	4.96	6.01	3.93	5.04	5.95
2	3.92	5.01	6.00	3.94	4.96	6.03	3.96	4.96	6.00
3	4.02	5.02	5.95	4.01	5.01	5.95	3.93	4.97	5.98
4	3.93	5.00	6.02	3.93	5.04	5.99	4.02	4.96	6.01
5	4.02	5.00	5.95	3.96	4.99	6.04	3.93	4.96	6.04
6	3.96	5.01	6.00	3.93	5.00	5.98	4.03	4.96	5.97
7	3.95	4.96	6.02	3.94	4.96	6.01	3.97	5.00	6.01
8	3.93	5.02	6.04	3.95	4.98	5.99	4.01	4.96	6.02
9	3.93	5.04	6.03	3.93	4.97	5.95	3.98	4.98	6.01
10	3.96	5.03	5.97	3.92	4.97	6.02	3.92	4.97	5.97
Ortalama	3.95	5.01	5.99	3.94	4.98	5.99	3.97	4.98	5.99
Standart Sapma	0.04	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.03	0.03
Bağıl Sapma	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

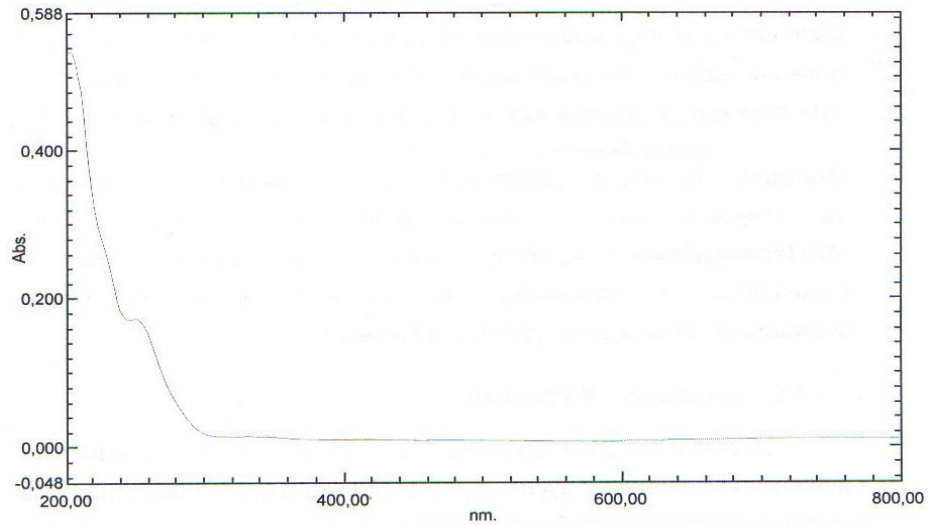
4.1.1.6.3. Özgünlük (specifity)

Formülasyonda kullanılan tüm yardımcı maddelerin karışımlarının 200–400 nm arasındaki tüm dalga boyları taranarak UV spektrofotometresinde spektrumları alınmıştır. Bu yardımcı maddelerin

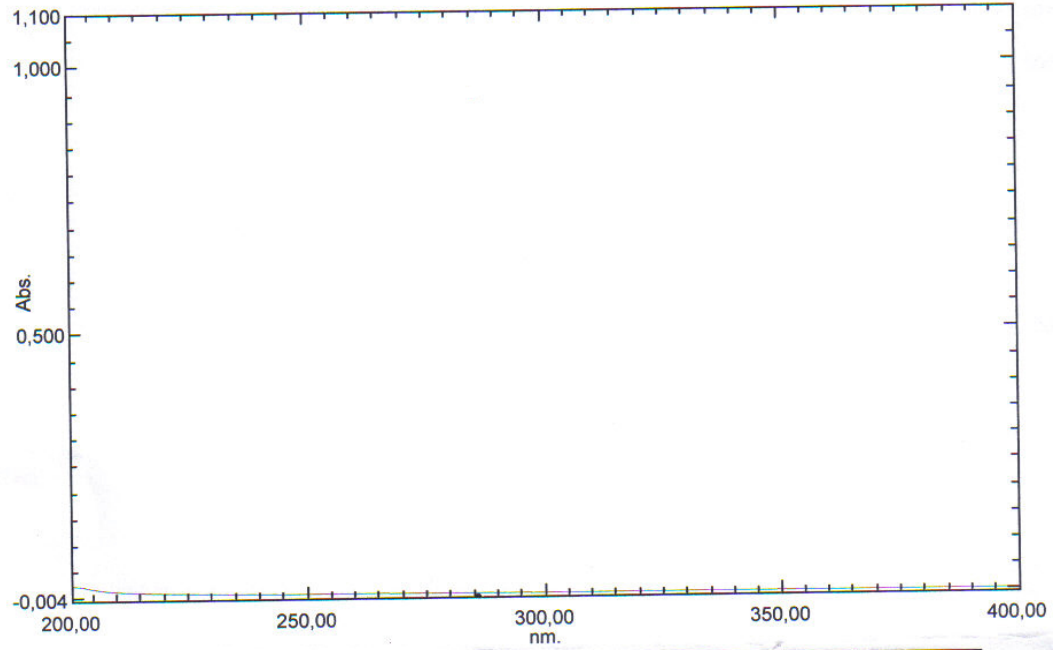
206 nm’de herhangi bir pik vermediği görülmüştür. Elde edilen spektrumlar Şekil 18-21’de gösterilmiştir.



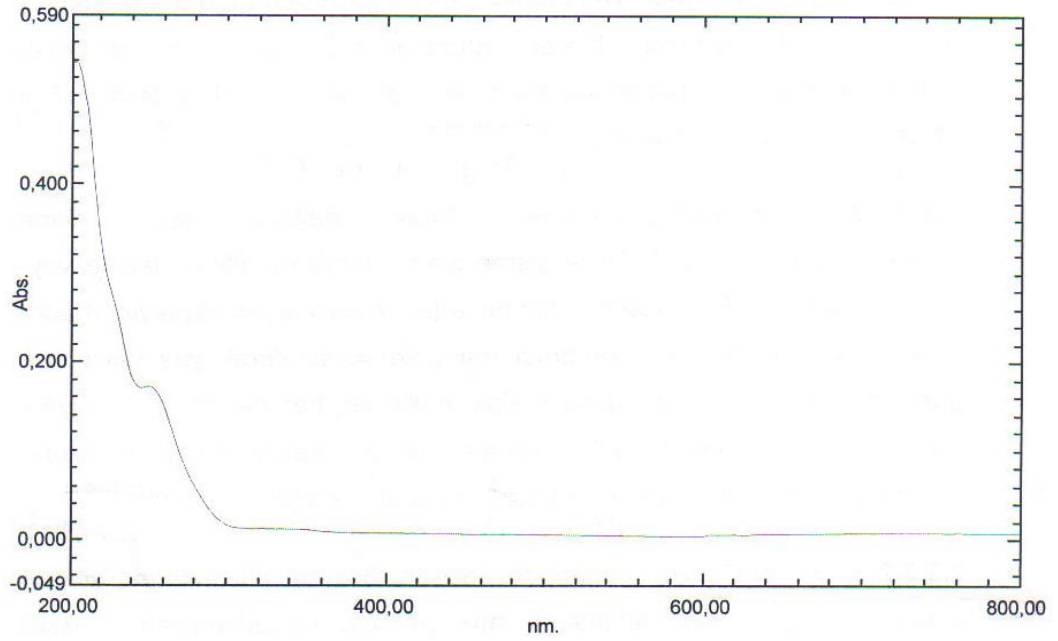
Şekil 18: F9 formülasyonundaki yardımcı maddelerin karışımının 0.1 N HCl’de UV spektrumu



Şekil 19: F9 formülasyonundaki etkin madde + yardımcı maddelerin karışımının 0.1 N HCl’de UV spektrumu



Şekil 20: F9 formülasyonundaki yardımcı maddelerin karışımının USP 31, Yöntem A ortamı için UV spektrumu



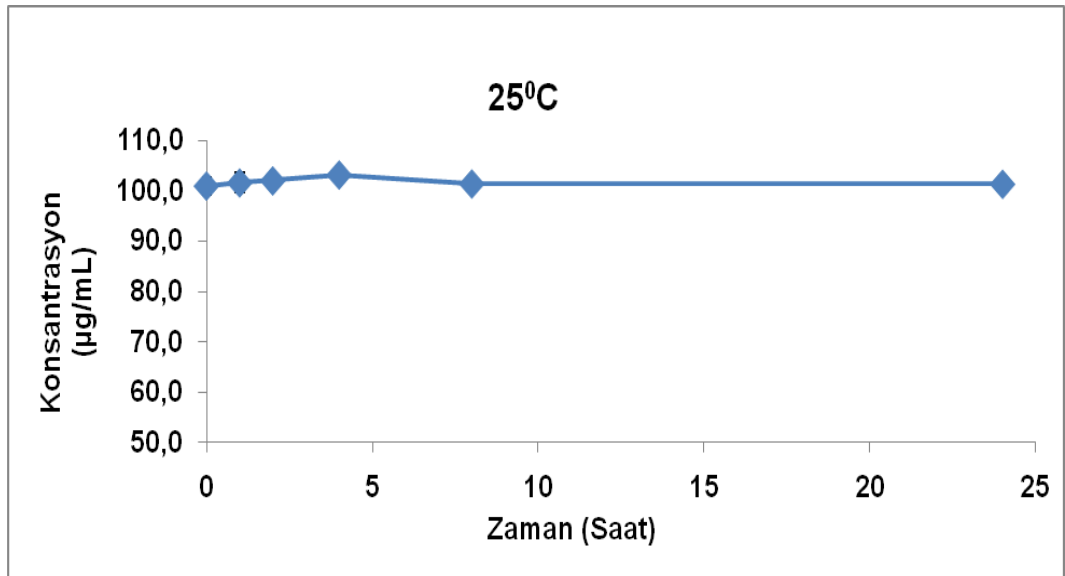
Şekil 21: F9 formülasyonundaki etkin madde + yardımcı maddelerin karışımının USP 31, Yöntem A ortamı için UV spektrumu

4.1.1.6.4. Doğrusallık (linearity)

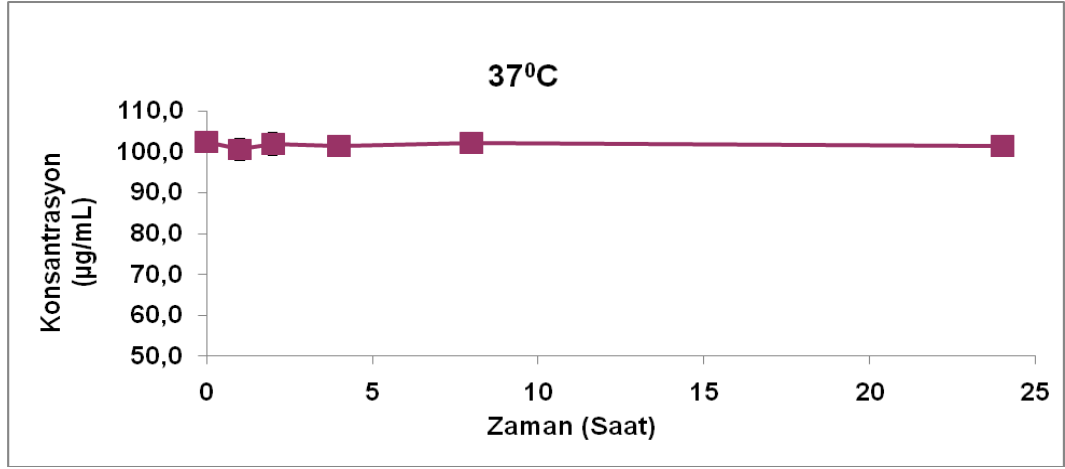
Bölüm 3.2.1.6.4'de anlatıldığı gibi hesaplanmıştır. Konsantrasyonlara karşılık gelen absorbanlar grafiğe yerleştirilmiş ve Şekil 14-17'deki doğrular elde edilmiştir. Söz konusu doğruların denklemi ve determinasyon katsayısı (r^2) hesaplanmıştır.

4.1.1.6.5. Stabilité

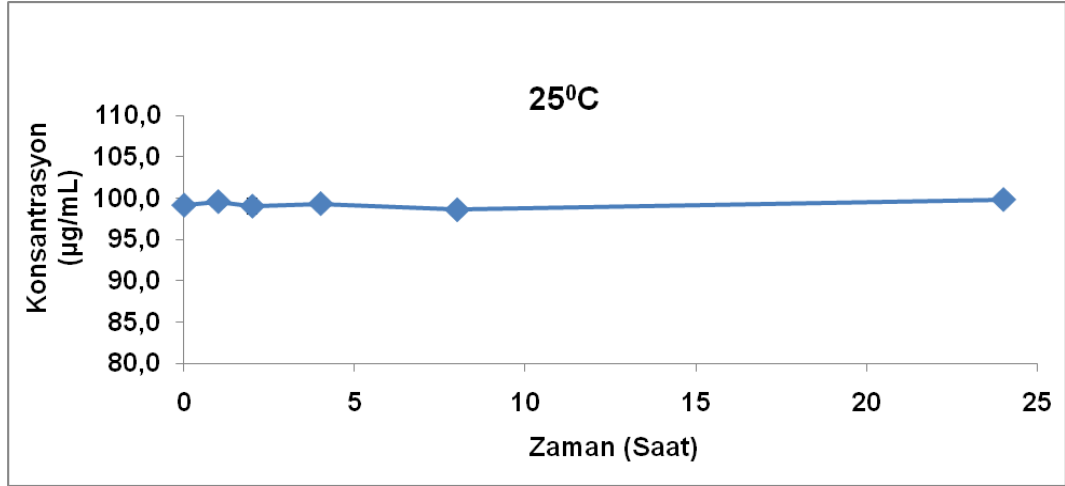
Valsartan'ın 0.1 N HCl ve USP 31, Yöntem A ortamındaki stabilitesi bölüm 3.2.1.7'de anlatıldığı gibi incelenmiştir. Şekil 22-23'de 0.1 N HCl ortamında, Şekil 24-25'de USP 31, Yöntem A ortamında 24 saat süreyle izlenen zaman – konsantrasyon grafikleri görülmektedir. Tablo 25'de valsartanın absorban değerlerine karşılık gelen konsantrasyonlar ve % bağıl sapma görülmektedir.



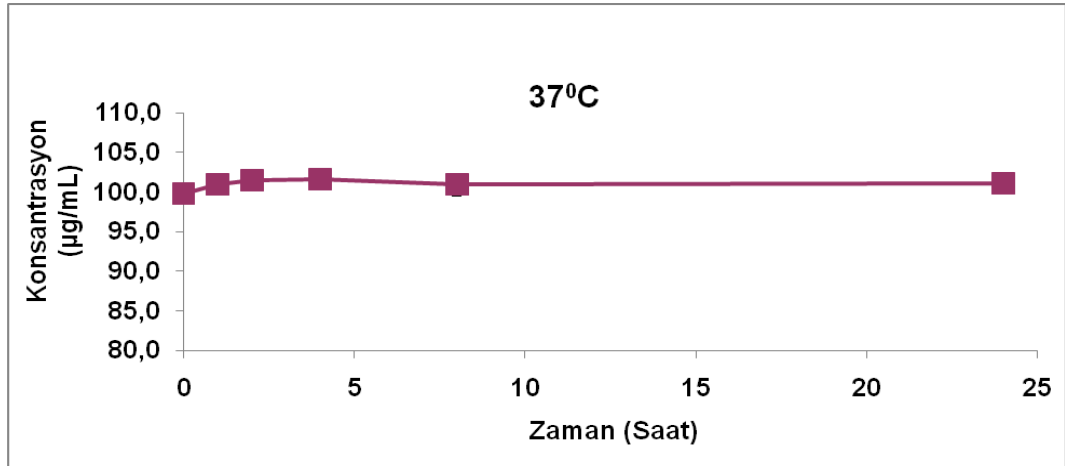
Şekil 22: Valsartanın 0.1 N HCl ortamında 25°C'deki çözelti hal stabilitesi



Şekil 23: Valsartanın 0.1 N HCl ortamında 37°C'deki çözelti hal stabilitesi



Şekil 24: Valsartanın USP 31, Yöntem A ortamında 25°C'deki çözelti hal stabilitesi



Şekil 25: Valsartanın USP 31, Yöntem A ortamında 37°C'deki çözelti hal stabilitesi

Tablo 25: Valsartanın 25°C ve 37°C’deki çözelti hal stabilite konsantrasyonları

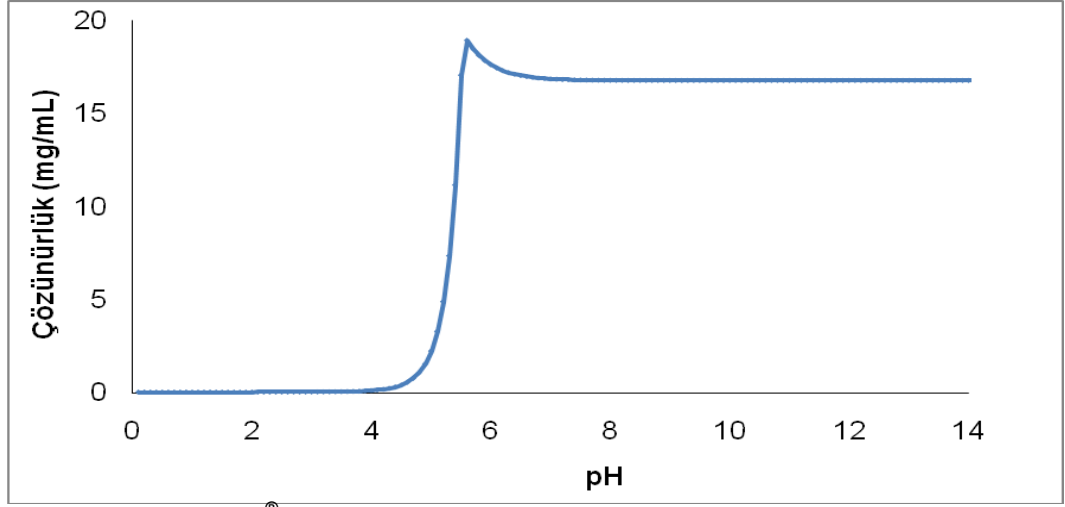
Zaman (Saat)	0.1 N HCl		USP 31, Yöntem A	
	5 µg/mL, 25 °C	5 µg/mL, 37 °C	5 µg/mL, 25 °C	5 µg/mL, 37 °C
0	5.05	5.12	4.96	4.99
1	5.08	5.03	4.98	5.05
2	5.10	5.09	4.95	5.08
4	5.16	5.07	4.97	5.08
8	5.07	5.11	4.93	5.05
24	5.07	5.08	4.99	5.06
Ortalama	5.09	5.08	4.96	5.05
Standart Sapma	0.04	0.03	0.02	0.03
Bağıl Sapma	0.01	0.01	0.01	0.01

4.1.1.6.6. Valsartanın Değişik pH’ lardaki Çözünürlüğünün Tayini

Bu çalışma bölüm 3.2.1.8’de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Valsartanın 0.1 N HCl ve USP 31, Yöntem A ortamındaki çözeltilerindeki maksimum çözünürlük değerleri tespit edilmiştir. Bununla birlikte GastroPlus® simülasyon programı ile de pH çözünürlük profili çizilmiştir. Sonuçlar Tablo 26 ve Şekil 26’da verilmiştir.

Tablo 26: Valsartan için farklı pH’larda çözünürlük çalışması özet sonuçları

Ortam/pH	Dengeye Gelme Süresi (Saat)	Çözünürlük Değeri (mg/mL±SEM, n=3)
0.1 N HCl	72	0.10 ± 0.67
USP 31, Yöntem A (pH 6.8)	96	3.30 ± 0.07



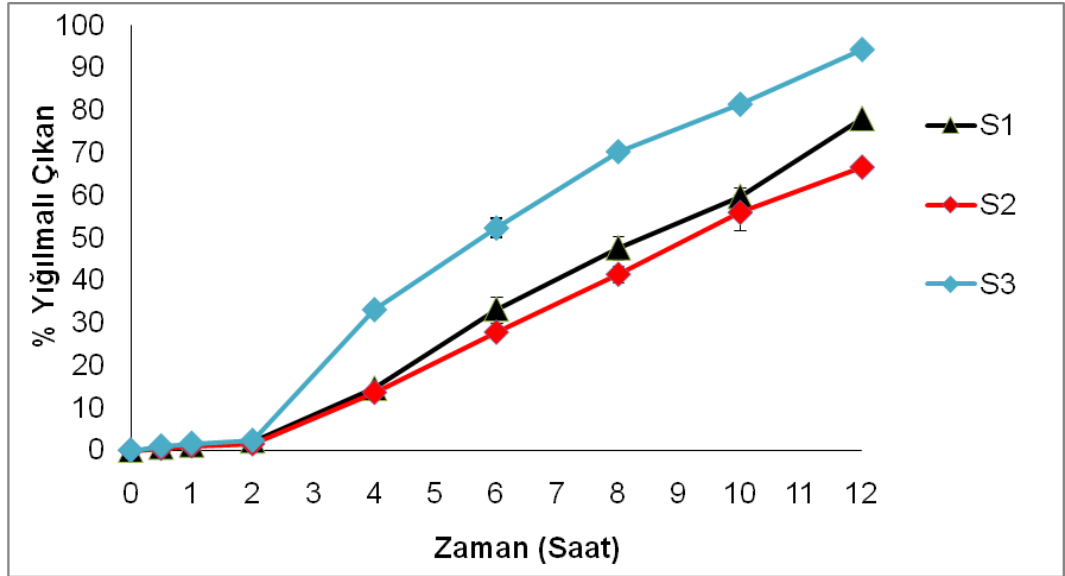
Şekil 26: GastroPlus® simülasyon programı ile çizilmiş pH-çözünürlük profili.

4.2. Formülasyon Çalışmaları

4.2.1. Ön Formülasyon Çözünme Çalışmaları

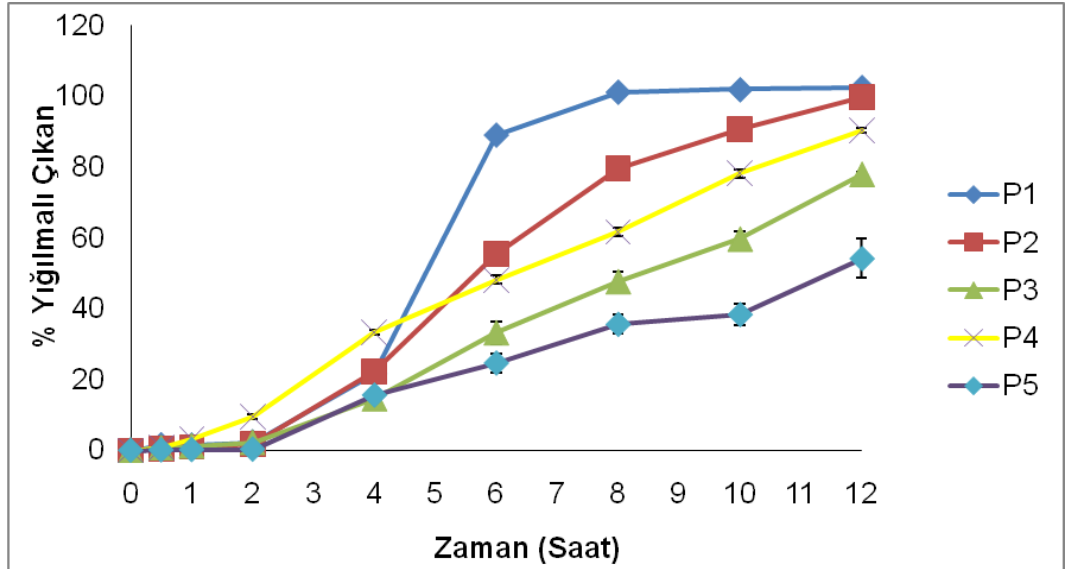
Ön formülasyon çalışmaları amacıyla hazırlanan matriks tabletler üzerinde yapılan çözünme çalışmaları ile en uygun seyreltici, hız kontrol edici polimer ve pH değiştirici madde seçilmiştir. Çalışmadaki amaç ilk iki saat 0.1 N HCl ortamında yeteri derecede valsartan salınması ve salımın pH 6.8 ortamında 12 saat devam etmesidir.

Farklı molekül ağırlığı, çözünürlük, yüzey alan ve pH değerine sahip seyrelticilerle hazırlanan formülasyonlara ait çözünme profilleri Şekil 27’de gösterilmiştir.



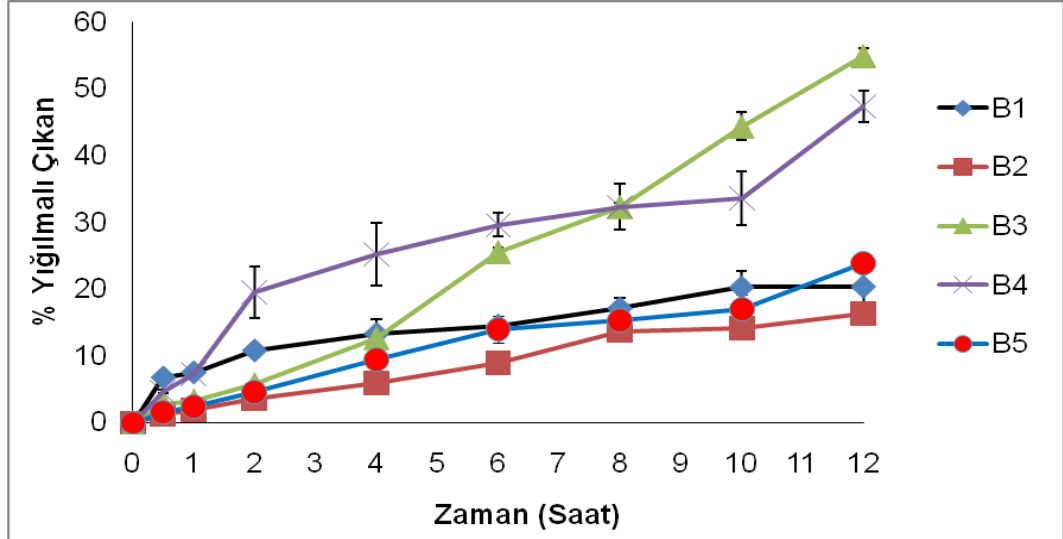
Şekil 27: Farklı seyrelticilerle (S1:Mikrokristalin selüloz, S2:Laktoz, S3:Dibazik kalsiyum fosfat) hazırlanan formülasyonlara ait çözünme profilleri

Farklı hız kontrol edici polimerler kullanılarak hazırlanan formülasyonların çözünme profilleri Şekil 28’de gösterilmiştir.



Şekil 28: Farklı hız kontrol edici (P1:Kollicoat MAE 100P, P2:Kollicoat MAE 100P:Methocel K 100LV 1:1 karışımı, P3:Eudragit RL PO, P4:Methocel E4M, P5:Methocel K 100 LV) polimerler kullanılarak hazırlanan formülasyonların çözünme profilleri

Farklı molekül ağırlığı, çözünürlük ve pH değerine sahip pH değiştirici maddeler kullanılarak hazırlanan formülasyonlara ait çözünme profilleri Şekil 29'da gösterilmiştir.



Şekil 29: Farklı pH değiştirici maddelerle (B1:Magnezyum hidroksit, B2:Magnezyum oksit, B3:Sodyum sitrat, B4:Sodyum karbonat, B5:Sodyum bikarbonat) hazırlanan formülasyonlara ait çözünme profilleri

4.2.1.1. Merkezi Tekrarlı Deney Tasarımı ile Hazırlanan Formülasyonların Çözünme Çalışmaları

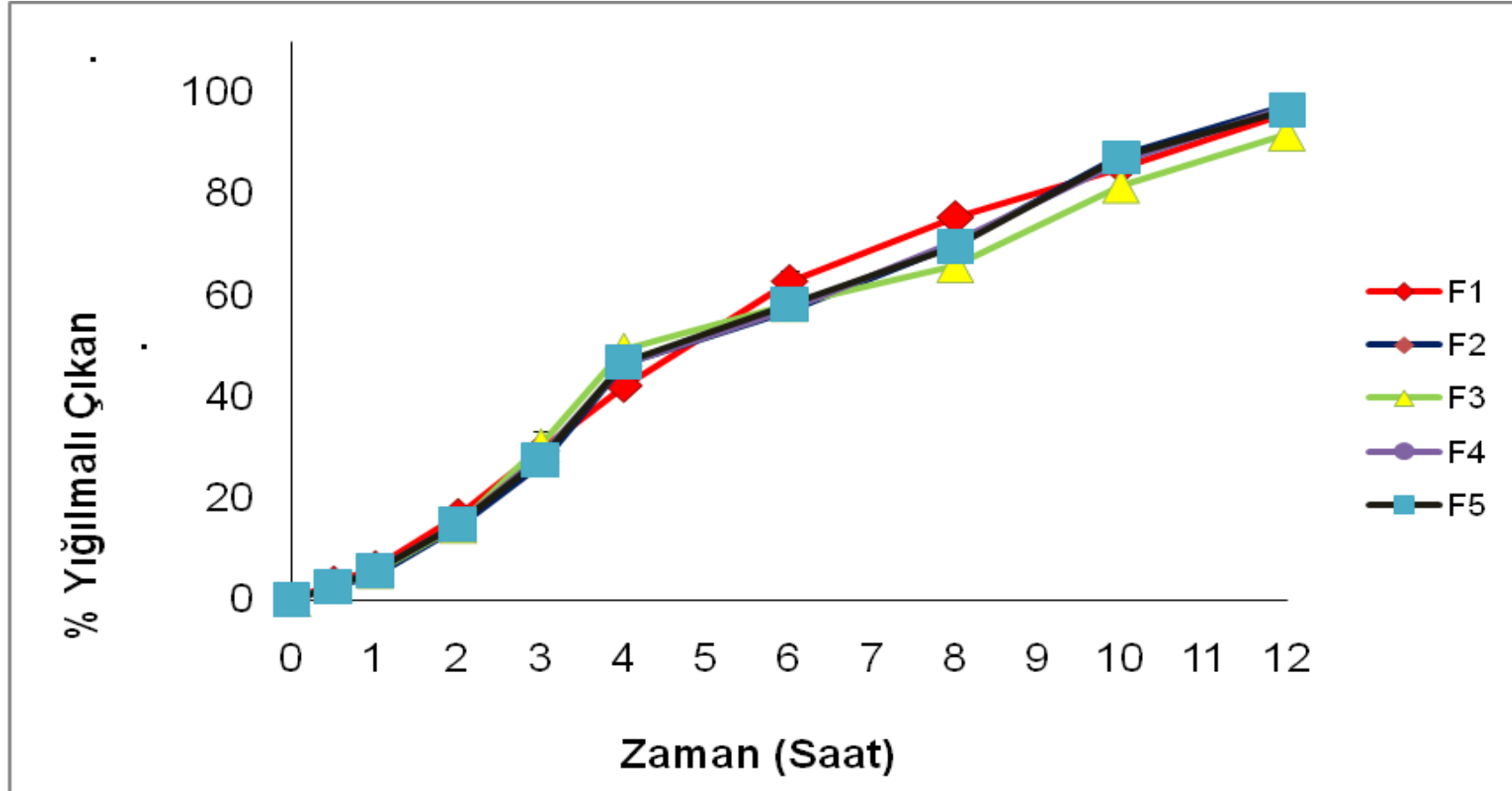
Ön formülasyon çalışmaları sonrasında seçilmiş olan seyreltici, pH ayarlayıcı madde ve polimerle oluşturulmuş deneysel tasarım sonrasında hazırlanan formüllere ait USP 31, Yöntem A metoduna göre gerçekleştirilmiş çözünme profilleri Şekil 30-32'de gösterilmiştir.

Deney tasarımı ile hazırlanan formüllerden 0.1 N HCl'de en fazla çözünme gösteren F9 formülü kullanılarak 1000mL 0.1 N HCl, pH 4.5 fosfat tamponu ve pH 6.8 fosfat tamponu ortamlarında çözünme deneyleri yapılmış ve çözünmenin pH'dan bağımlı olup olmadığı denetlenmiştir. Çözünme profilleri Şekil 33'de gösterilmiştir.

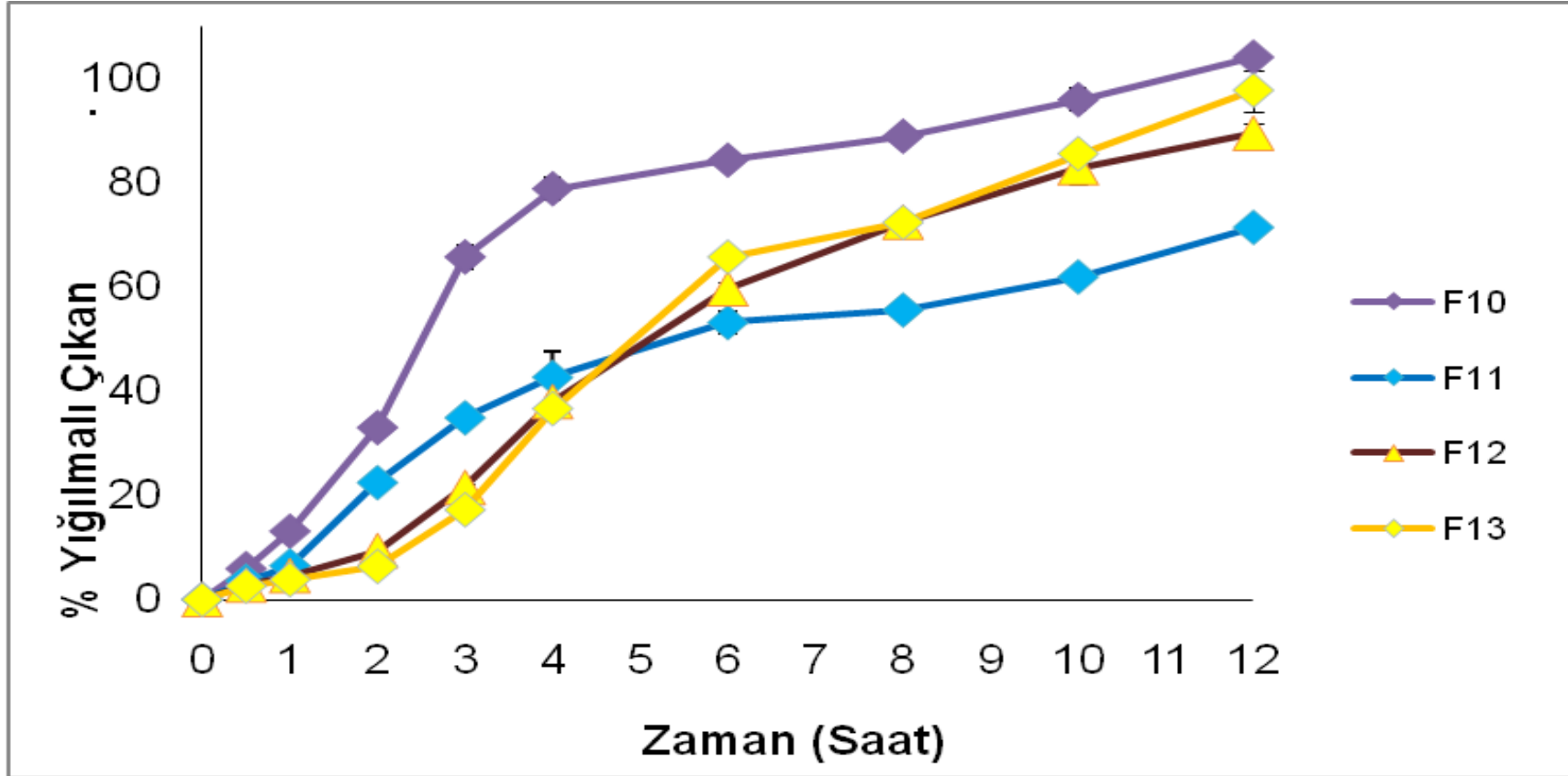
Deney tasarımı ile elde edilen formüllere ek olarak pH ayarlayıcı maddeyi ve etkin madde çözünürlüğünü artırıcı maddenin kullanılmadığı F14 formülü hazırlanmıştır. F14 formülüne ait çözünme profilleri Şekil 34 ve Şekil 35’de gösterilmiştir.

Piyasada bulunan hızlı salan Diovan®80 mg film tablet için 1000mL 0.1 N HCl, pH 4.5 fosfat tamponu ve pH 6.8 ortamlarındaki çözünme profilleri çalışılmış ve profilleri Şekil 36’da sunulmuştur.

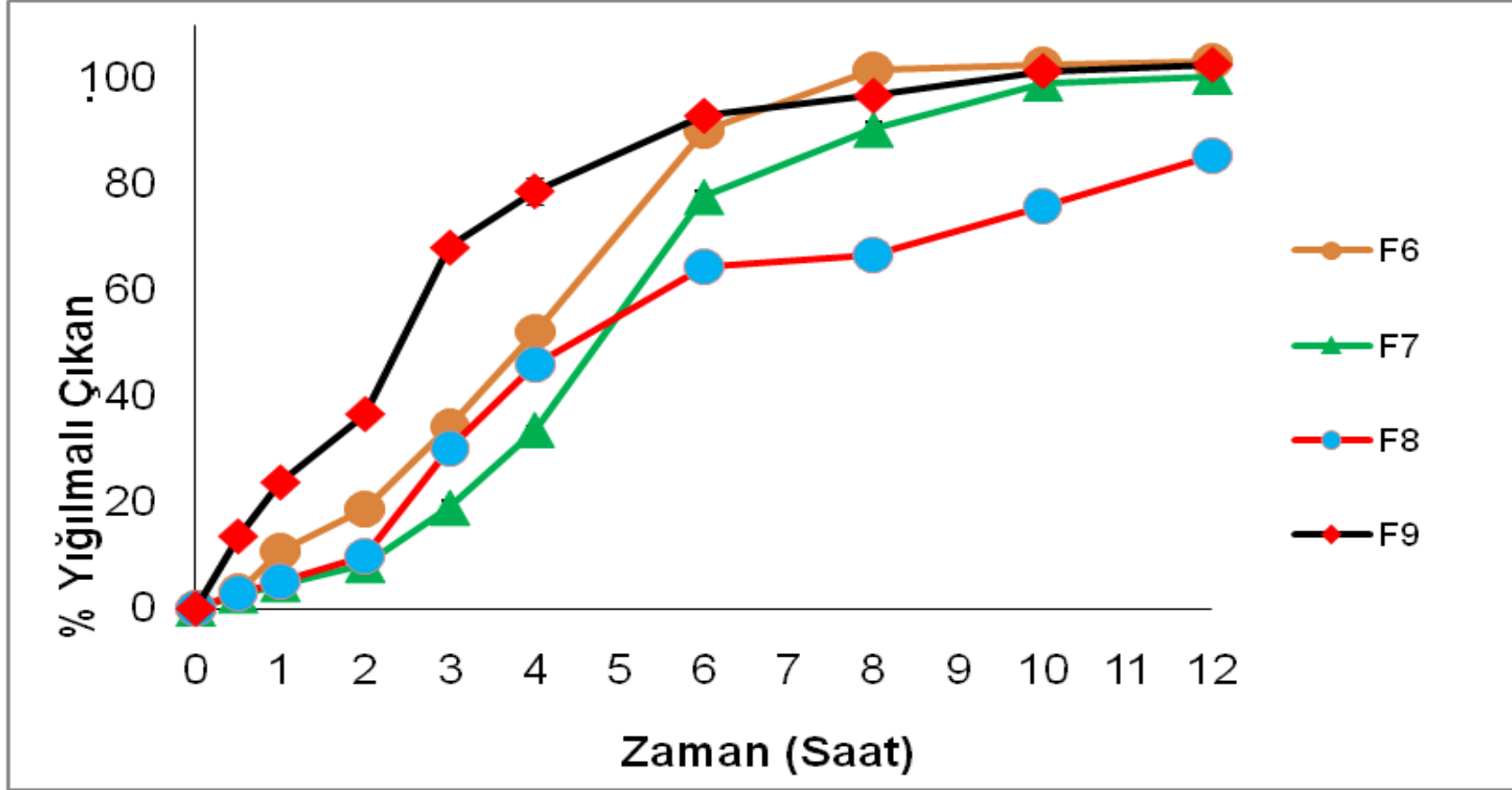
Çözünme olarak doz doğrusallığının belirlenmesi amacıyla pH’dan bağımsız kontrollü salım yaptığına karar verilen F9 formülünün 2 katı miktarda valsartan (160 mg) ve diğer yardımcı maddeleri içeren F15 formülasyonu çalışılmış ve F9 formülü ile çözünme profilleri Şekil 37’de karşılaştırılmıştır.



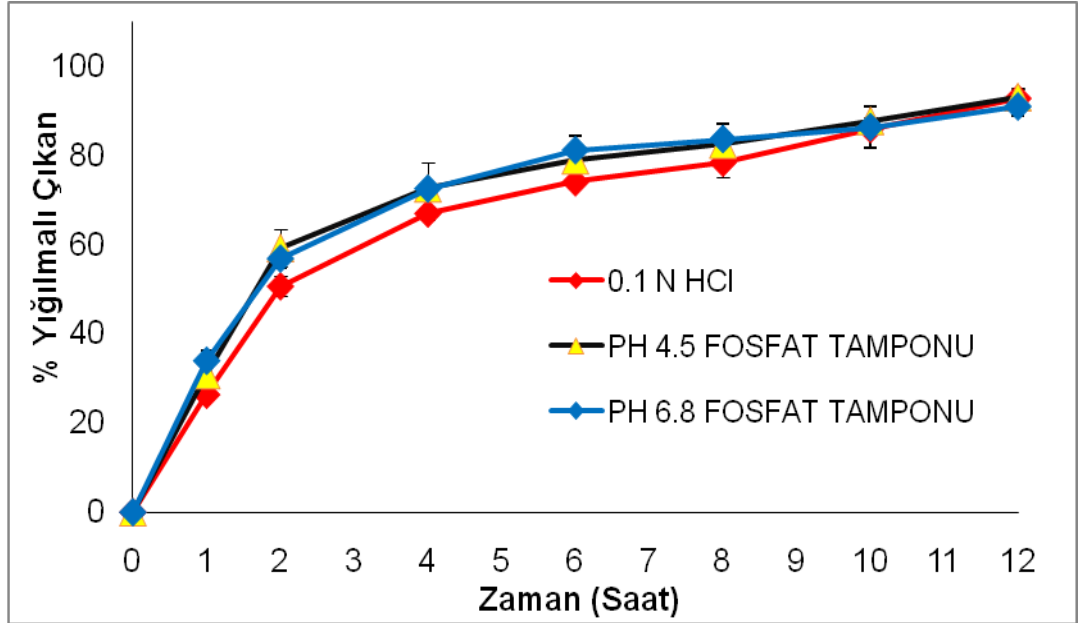
Şekil 30: Deney tasarımı ile hazırlanan formülasyonlara ait merkez noktaların USP 31, Yöntem A metoduna göre çözünme profilleri



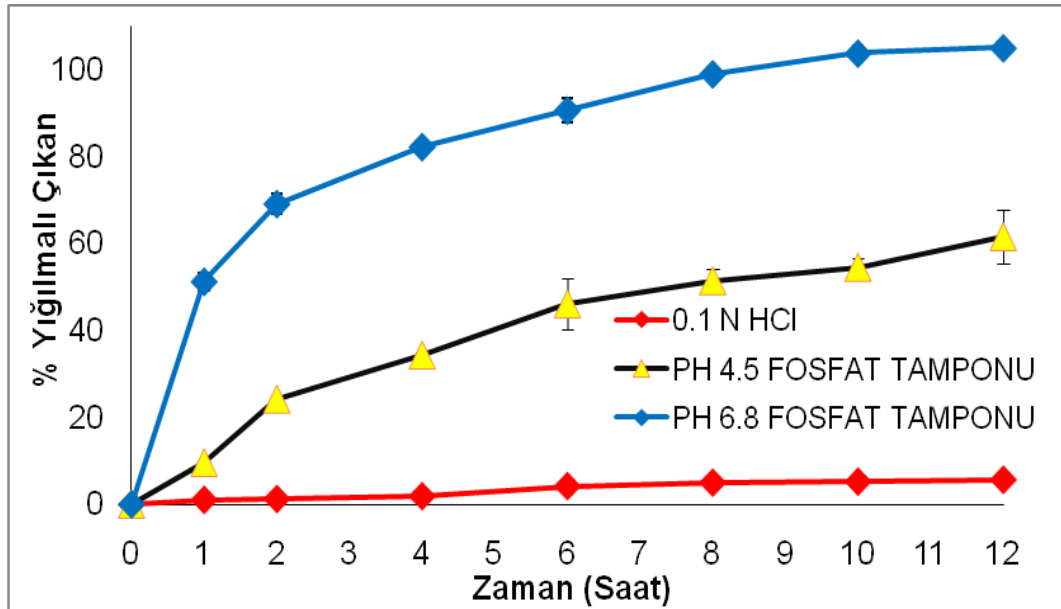
Şekil 31: Deney tasarımı ile hazırlanan formülasyonlara ait faktöriyel noktaların USP 31, Yöntem A metoduna göre çözünme profilleri



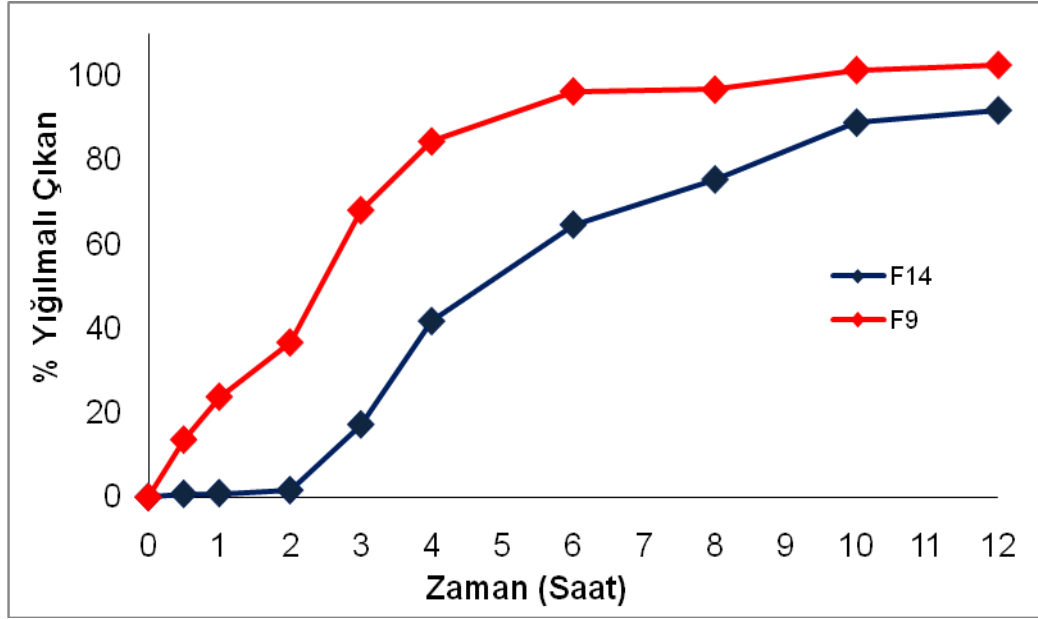
Şekil 32: Deney tasarımı ile hazırlanan formülasyonlara ait aksiyal noktaların USP 31, Yöntem A metoduna göre çözünme profilleri



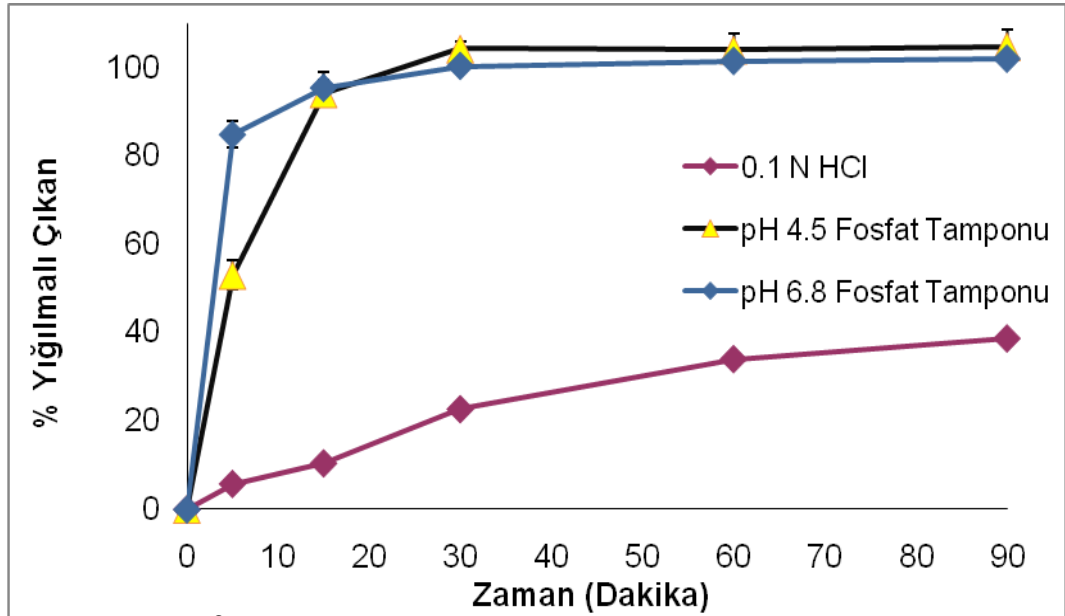
Şekil 33: F9 formülünün 1000mL 0.1 N HCl, pH 4.5 fosfat tamponu ve pH 6.8 ortamlarındaki çözünme profilleri



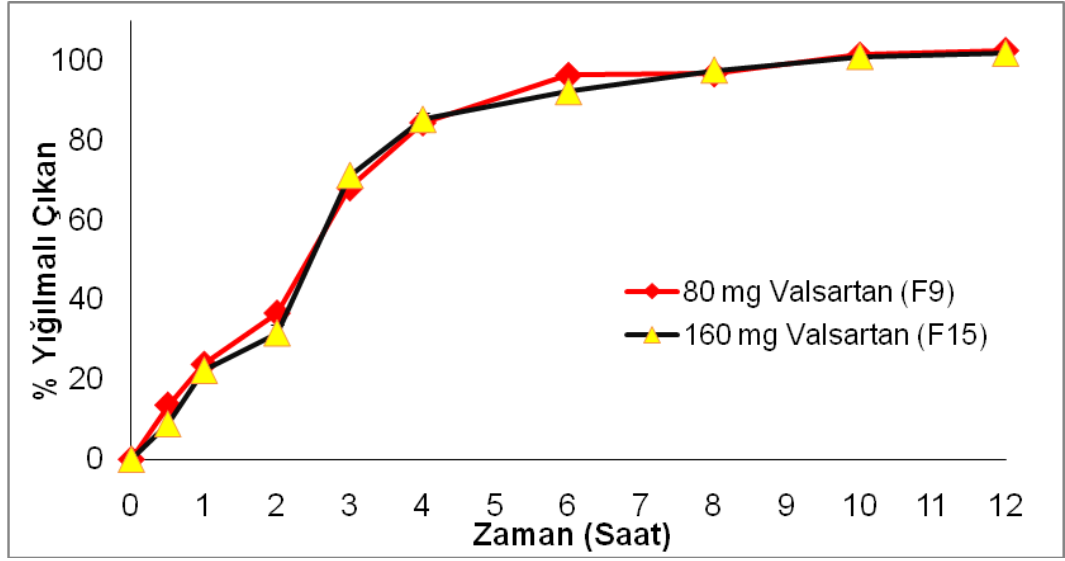
Şekil 34: F14 formülünün 1000mL 0.1 N HCl, pH 4.5 fosfat tamponu ve pH 6.8 ortamlarındaki çözünme profilleri



Şekil 35: F9 ve F14 formülasyonlarının USP 31, Yöntem A metoduna göre çözünme profilleri



Şekil 36: Diovan® 80 mg film tabletin 1000mL 0.1 N HCl, pH 4.5 fosfat tamponu ve pH 6.8 ortamlarındaki çözünme profilleri



Şekil 37: F9 ve F15 formülüne ait USP 31, Yöntem A çözünme profilleri

4.2.2. Merkezi Tekrarlı Deney Tasarımının İstatistiksel Analizi

Deney tasarımı ile elde edilen formüllere ait faktör içerikleri ve cevaplar Tablo 27’de sunulmuştur.

Tablo 27: Farklı sodyum sitrat ve Lutrol F127 içerikleri ile deney tasarımı kullanarak hazırlanan formülasyonlara ait faktörler ve cevaplar

FORMÜLASYON KODU	FAKTÖRLER		CEVAPLAR		
	A: % Sodyum sitrat	B: % Lutrol F127	Y1: 2. Saat % Çözünen	Y2: 8. Saat % Çözünen	Y3: Tablet Sertliği (N)
F1	20.0	12.5	16.7	75.4	63.7
F2	20.0	12.5	14.4	69.9	62.8
F3	20.0	12.5	14.5	66.0	61.9
F4	20.0	12.5	14.9	70.5	61.7
F5	20.0	12.5	14.9	69.8	63.5
F6	20.0	1.89	18.7	93.0	79.0
F7	34.1	12.5	8.25	90.4	41.3
F8	20.0	23.1	9.98	66.7	47.5
F9	5.86	12.5	36.7	90.0	86.7
F10	10.0	5.00	33.0	95.0	94.0
F11	10.0	20.0	22.5	55.6	65.5
F12	30.0	5.00	9.42	76.0	62.3
F13	30.0	20.0	6.34	72.3	35.7

Deney tasarımında sodyum sitrat ve Lutrol F 127 konsantrasyonları bağımsız değişken, 2. saat % kümülatif çözünen valsartan miktarı, 8. saat % kümülatif çözünen valsartan miktarı ve tablet sertliği cevap olarak kullanıldığında elde edilen istatistiksel analiz sonuçları sırasıyla Tablo 28–30, Şekil 38-43’de görülmektedir. 2. saat ve 8. saat % çözünen valsartan miktarını tanımlayan matematiksel modeller eşitlik 8 ve

9'da gösterilmiştir. Tablet sertliğini tanımlayan matematiksel model ise eşitlik 10'da gösterilmiştir.

Tablo 28: Merkezi birleşik tasarımın 2. saatte % çözünen etkin madde cevabı için ANOVA sonuçları

Hata Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler	F Değeri	Prob>F
Model	991	5	198	325	<0.0001*
A	799	1	799	1310	<0.0001*
B	83.7	1	83.7	137	<0.0001*
A²	87.4	1	87.4	143	<0.0001*
B²	1.94	1	1.94	3.29	0.1173
AB	13.8	1	13.8	22.7	0.0020*
Residual (Kalıntı)	4.27	7	0.61		
Lack of fit (Uyum eksikliği)	0.93	3	0.31	0.37	0.7798
Pure Error (Hata)	3.34	4	0.84		
Total (Genel Toplam)	995	12			
R²	0.9957				

***Prob > F" değerleri 0.0500'den küçük olan terimler anlamlı değer olarak kabul edilmektedir.

ANOVA modeli program tarafından kuadratik olarak uygun bulunmuş ve seçilmiştir. Modelde A, B, A² ve AB terimlerinin anlamlı etkili olduğu bulunmuştur.

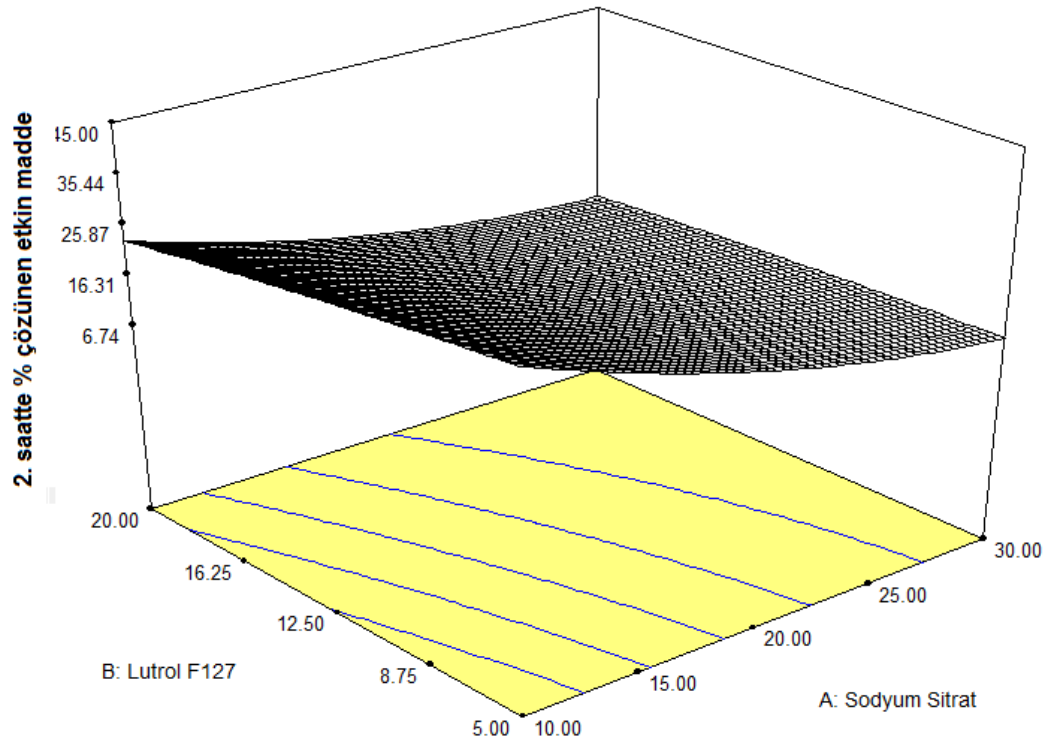
$$Y_1 = 59.4 - 2.73 \cdot A - 0.69 \cdot B + 0.04 \cdot A^2 + 0.03 \cdot AB$$

Eşitlik 8

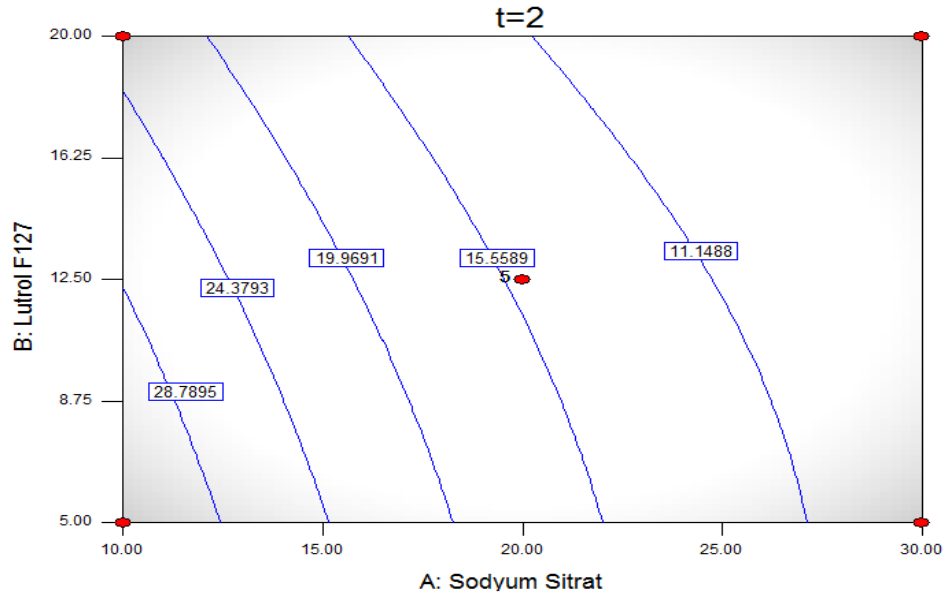
Y₁: 2.saat % çözünen

A:Sodyum Sitrat

B:Lutrol F 127



Şekil 38: 2. saat % çözünen cevabı için yüzey cevap grafiği



Şekil 39: 2. saat % çözünen cevabı için kontur grafiği

Tablo 29: Merkezi birleşik tasarımın 8. saatte % çözünen etkin madde cevabı için ANOVA sonuçları

Hata Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler	F Değeri	Prob>F
Model	1509	5	302	8.07	0.0080*
A	0.42	1	0.42	0.01	0.9181
B	804	1	804	21.5	0.0024*
A²	376	1	376	10.1	0.0157*
B²	33.5	1	33.5	0.90	0.3750
AB	318	1	318	8.50	0.0225*
Residual (Kalıntı)	262	7	37.3		
Lack of fit (Uyum eksikliği)	217	3	72.3	6.48	0.0514
Pure Error (Hata)	44.6	4	11.2		
Total (Genel Toplam)	1770	12			
R²	0.8522				

*"Prob > F" değerleri 0.0500'den küçük olan terimler anlamlı değer olarak kabul edilmektedir.

ANOVA modeli program tarafından kuadratik olarak uygun bulunmuş ve seçilmiştir. Modelde B, A² ve AB teriminin anlamlı etkili olduğu bulunmuştur.

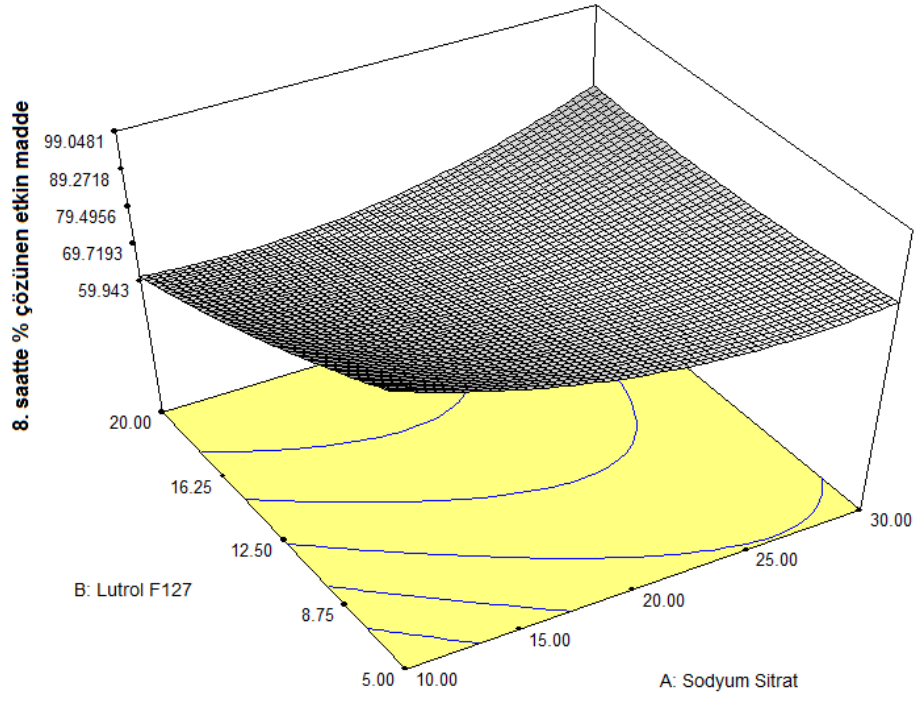
$$Y_2 = 153 - 4.69B + 0.07A^2 + 0.12AB$$

Eşitlik 9

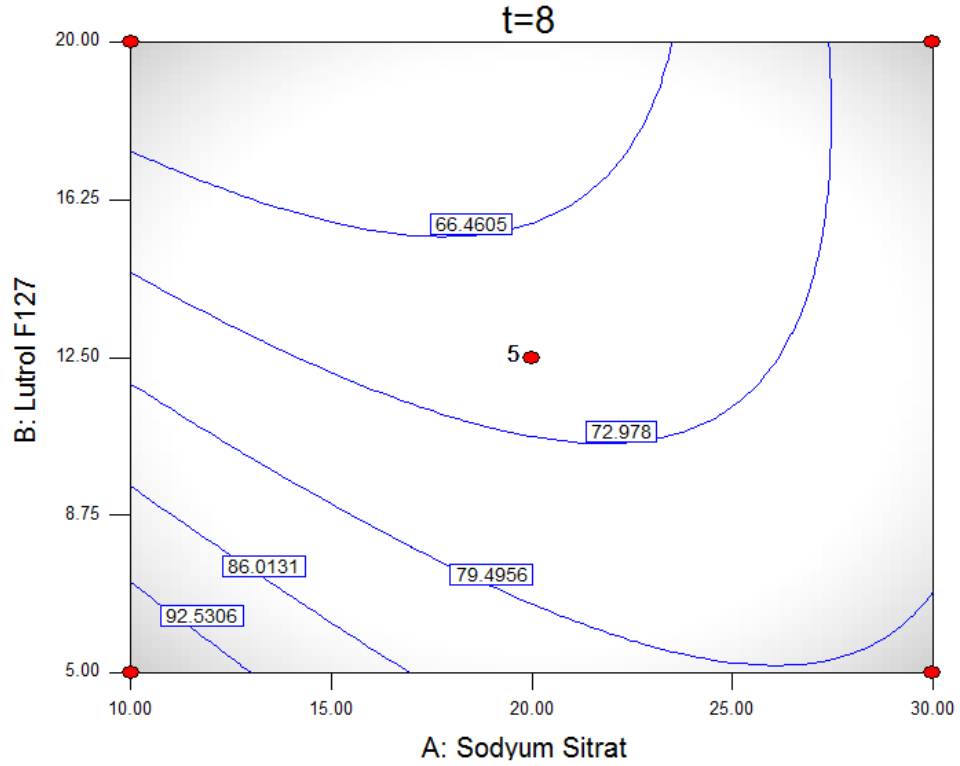
Y₂: 8.saat % çözünen

A:Sodyum Sitrat

B:Lutrol F 127



Şekil 40: 8. saat % çözünen cevabı için yüzey cevap grafiği



Şekil 41: 8. saat % çözünen cevabı için kontur grafiği

Tablo 30: Merkezi birleşik tasarımın tablet sertliği cevabı için ANOVA sonuçları

Hata Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler	F Değeri	Prob>F
Model	3215	2	1607	620	<0.0001*
A	1976	1	1976	762	<0.0001*
B	1239	1	1239	478	<0.0001*
Residual (Kalıntı)	25.9	10	2.59		
Lack of fit (Uyum eksikliği)	22.6	6	3.78	4.61	0.0804
Pure Error (Hata)	3.28	4	0.82		
Total (Genel Toplam)	3241	12			
R²	0.9920				

***Prob > F" değerleri 0.0500'den küçük olan terimler anlamlı değer olarak kabul edilmektedir.

ANOVA modeli program tarafından lineer olarak uygun bulunmuş ve seçilmiştir. Modelde A ve B terimlerinin anlamlı etkili olduğu bulunmuştur.

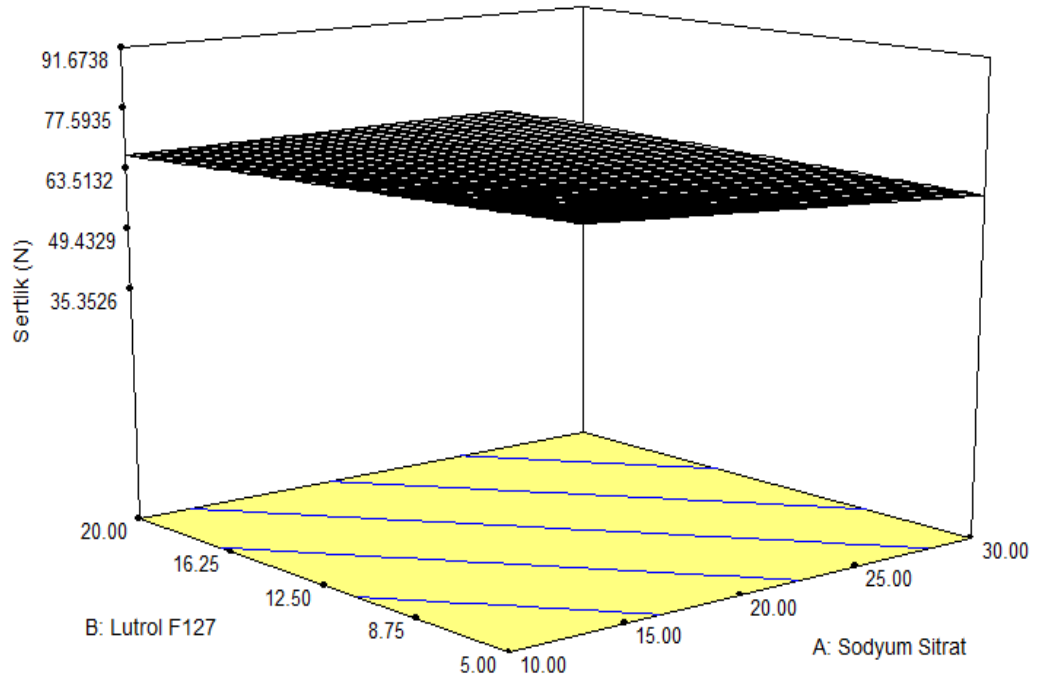
$$Y_3 = 116 - 1.57 \cdot A - 1.66 \cdot B$$

Eşitlik 10

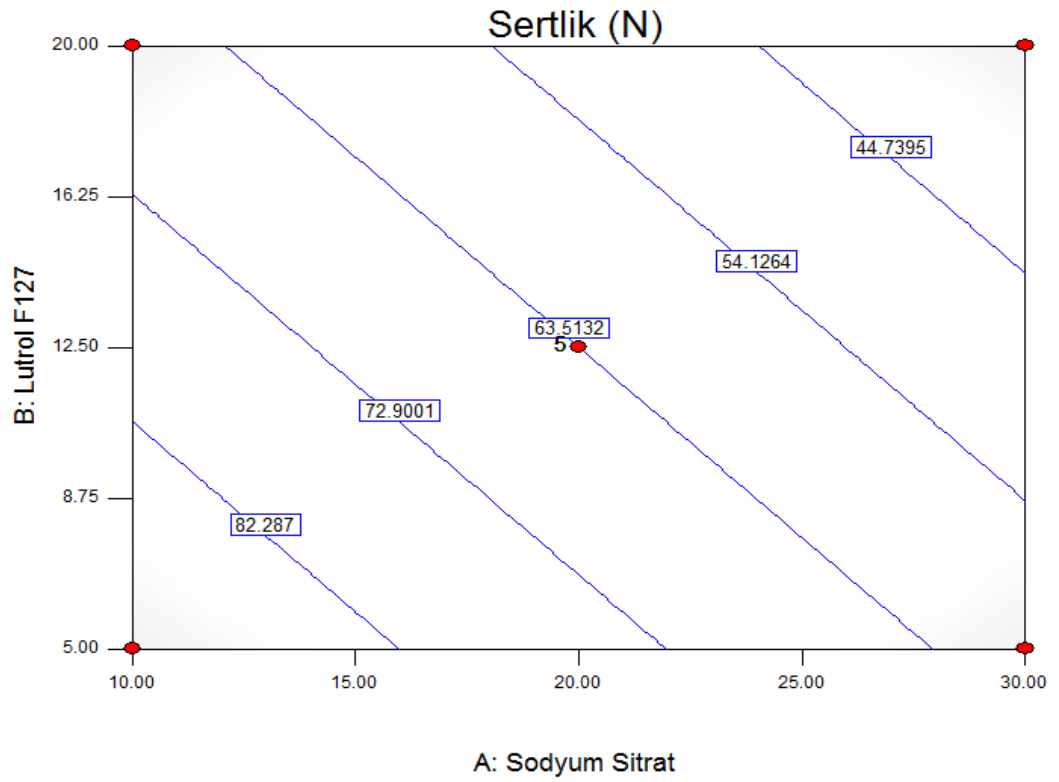
Y3: Tablet sertliği

A: Sodyum Sitrat

B: Lutrol F 127

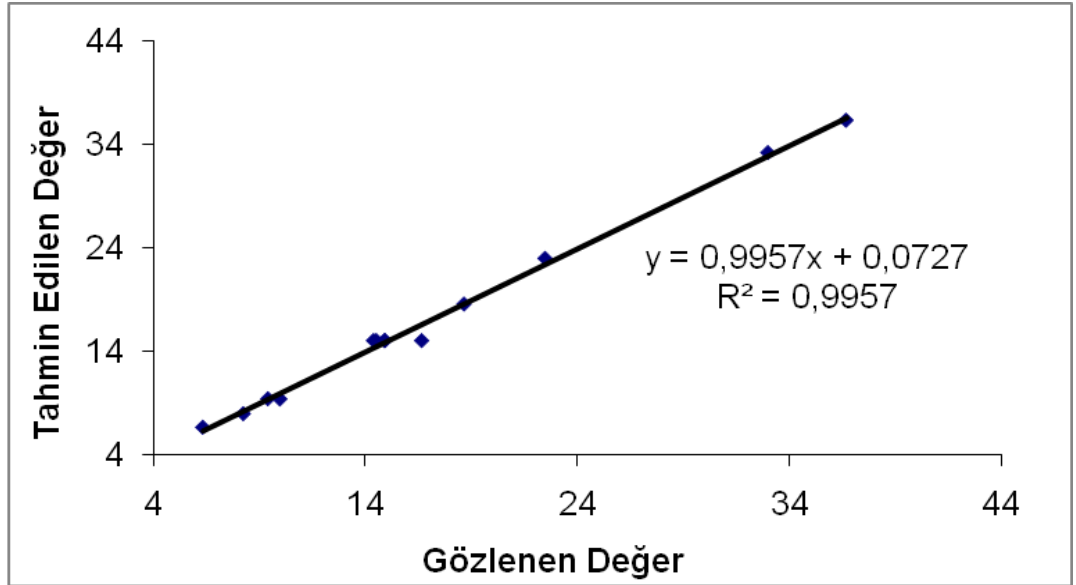


Şekil 42: Tablet sertliği cevabı için yüzey cevap grafiği

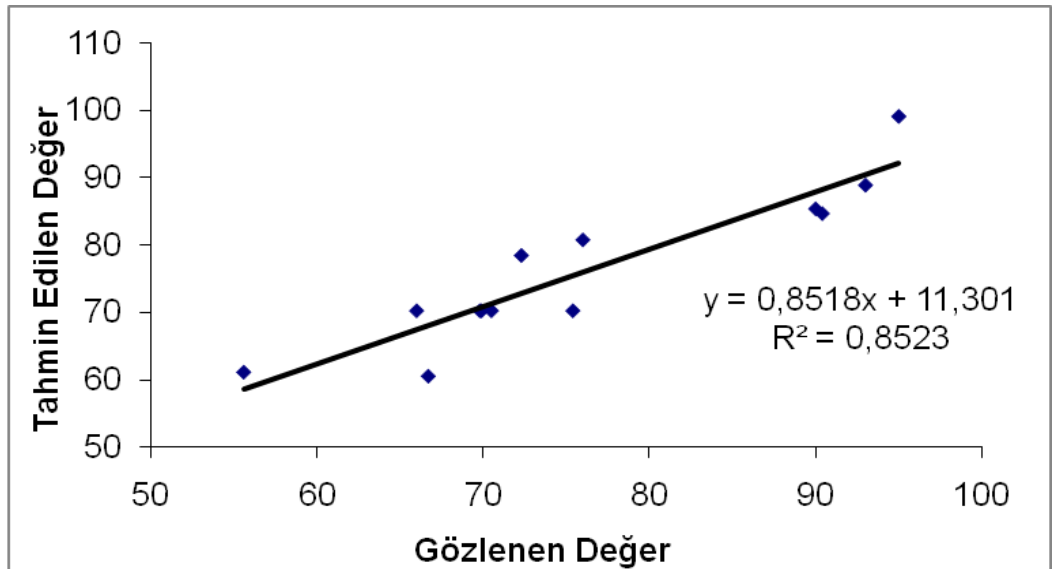


Şekil 43: Tablet sertliği cevabı için kontur grafiği

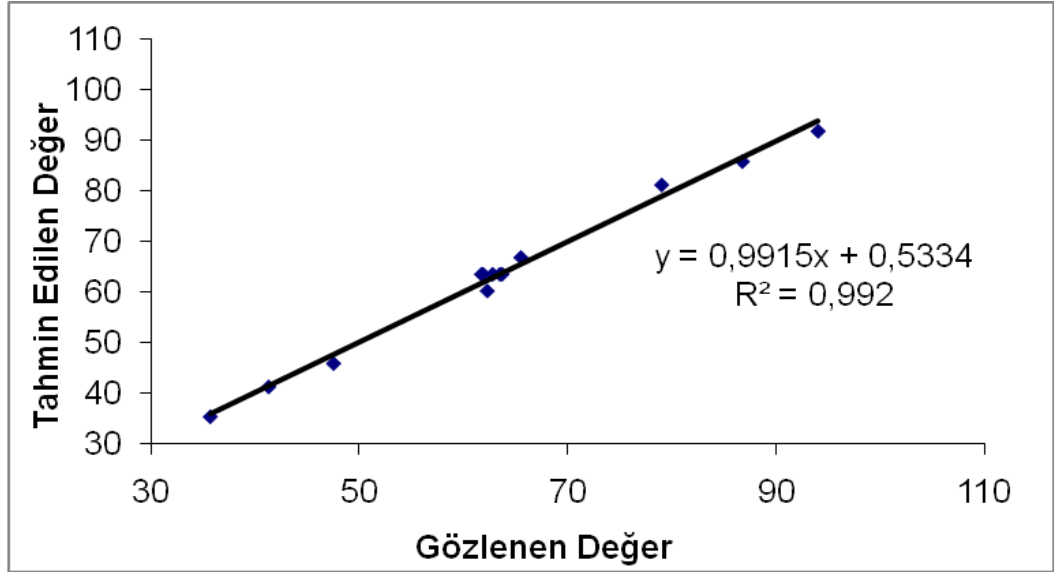
Modelde tüm cevaplar için gözlenen değer ve tahmin edilen değerler arasındaki ilişki Şekil 44–46’da gösterilmiştir.



Şekil 44: Merkezi birleşik tasarımın 2. saat % çözünen madde (Y1) cevabı için gözlenen değere karşı tahmin edilen değerlerin karşılaştırılması



Şekil 45: Merkezi birleşik tasarımın 8. saat % çözünen madde (Y2) cevabı için gözlenen değere karşı tahmin edilen değerlerin karşılaştırılması



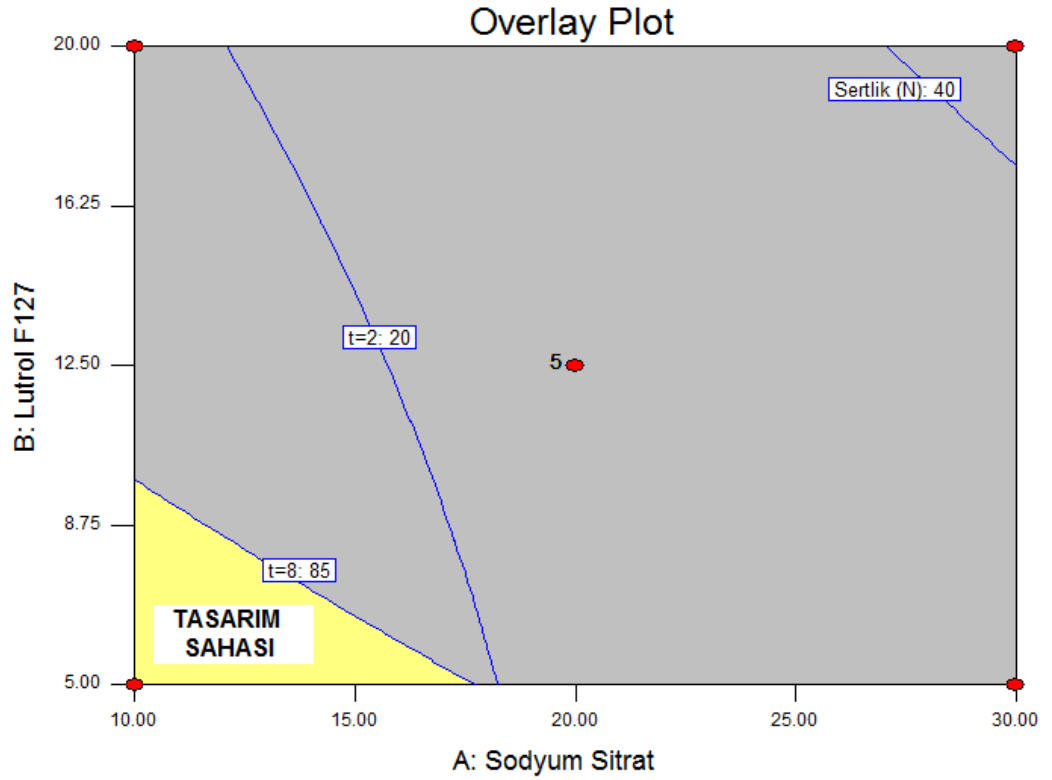
Şekil 46: Merkezi birleşik tasarımın tablet sertliği (Y3) cevabı için gözlenen değere karşı tahmin edilen değerin karşılaştırılması

4.2.3. Deney tasarımı sonrasında optimizasyon ile tasarım sahasının oluşturulması

Deney tasarımı sonucu elde edilen cevaplar üzerinden Tablo 31'deki kriterler uygulanarak optimizasyon yapılmıştır. Her üç faktör için optimum cevabın sağlandığı faktör seviyeleri kesiştirilerek çalışılan 3 cevap için tasarım sahası geliştirilmiştir. Tasarım sahasının grafiksel gösterimi Şekil 47'de sunulmuştur.

Tablo 31: Deneysel tasarım sonrası elde edilen cevapların optimizasyon kriterleri

CEVAPLAR	KRİTERLER
Y1: 2. saat % çözünen	Minimum % 20
Y2: 8. saat % çözünen	Minimum %85
Y3: Tablet sertliği (N)	Minimum 40 N



Şekil 47: Deneysel tasarım sonrası optimizasyon ile geliştirilmiş tasarım sahası.

4.2.4. In Vitro Salım Profilleri Arasındaki Benzerlik Faktörünün (f_2) ve Fark Etkeninin (f_1) Değerlendirilmesi

Optimum formülasyon olan F9 formülasyonun kontrol formülasyonu olan F14 ve iki katı madde içeren F15 formülasyonu ile doz orantısallığının incelenmesi amacıyla zamana karşı yüzde yığılmalı salınan etkin madde miktarları Bölüm 3.3.3.8’de belirtilen formüllerde yerlerine koyularak f_1 ve f_2 değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlar Tablo 32’de gösterilmiştir.

Tablo 32: F9 formülasyonunun F14 ve F15 formülasyonları ile USP 31 Yöntem A ortamındaki salım profillerinin birbiri ile olan benzerlik faktörleri (f_2) ve fark etkenleri (f_1)

Referans (F9)	f_1	f_2
Test 1 (F14)	43.2	26.0
Test 2 (F15)	6.84	68.7

4.2.5. Formülasyonların Salım Kinetiği

Deney tasarımı ile elde edilen tüm formülasyonlara ait in vitro salım verilerinin kinetik değerlendirme sonuçları Tablo 33’de verilmektedir. Kinetik değerlendirme için sıfır derece, birinci derece ve $Q\sqrt{t}$ (Higuchi) salım kinetik modelleri ve ayrıca Peppas³ tarafından önerilen eşitlik ile de incelenmiştir.

4.2.6. Hazırlanan Tabletler Üzerinde Yapılan Farmasötik Denetimler

4.2.6.1. Tabletler Üzerinde Yapılan Kalite Kontrol Testleri

Bölüm 3.3.3.’de anlatıldığı gibi yapılmış olan ağırlık, çap, kalınlık, sertlik ve ufalanma-aşınma denetimlerine ait bulgular Tablo 34’de gösterilmiştir.

Tablo 33: Hazırlanan tabletlerin salım verilerinin kinetik incelenmesi

	0.DERECE			1.DERECE			Q√t (HİGUCHİ)			Peppas		
	R ²	Kr ₀	RSH	R ²	Kr ₁	RSH	R ²	Kr	RSH	R ²	n	Kr
F1	0.9729	8.40	6.13	0.7688	0.26	0.62	0.9886	36.0	3.97	0.9948	1.22	0.12
F2	0.9769	8.56	5.76	0.7595	0.28	0.68	0.9826	36.5	5.00	0.9832	1.28	0.09
F3	0.9552	7.87	7.45	0.7312	0.26	0.70	0.9813	33.9	4.82	0.9757	1.24	0.10
F4	0.9768	8.45	5.70	0.7509	0.27	0.69	0.9861	36.1	4.41	0.9913	1.31	0.11
F5	0.9741	8.43	6.26	0.7547	0.27	0.67	0.9846	36.1	4.64	0.9858	1.25	0.09
F6	0.9795	14.1	6.07	0.8293	0.41	0.56	0.9509	49.7	9.41	0.9896	1.29	0.10
F7	0.9550	11.7	9.32	0.8687	0.39	0.56	0.9212	44.9	12.3	0.9671	1.38	0.05
F8	0.9226	7.52	9.52	0.7359	0.27	0.70	0.9642	32.7	6.48	0.9559	1.15	0.07
F9	0.9380	16.1	9.44	0.8517	0.36	0.33	0.9635	51.7	7.25	0.9633	0.77	0.25
F10	0.7996	8.03	17.6	0.6047	0.19	0.68	0.9096	36.4	11.8	0.9155	0.90	0.15
F11	0.8968	5.60	8.31	0.6543	0.21	0.67	0.9711	24.8	4.39	0.9384	0.95	0.12
F12	0.9652	8.31	6.90	0.8024	0.29	0.62	0.9704	35.5	6.37	0.9767	1.20	0.06
F13	0.9630	9.04	7.76	0.8210	0.31	0.64	0.9542	38.3	8.63	0.9561	1.29	0.05

kr₀: Sıfır derece hız sabiti (mg.s⁻¹), kr₁: Birinci derece hız sabiti (s⁻¹), kr: çözünme sabiti (mg.cm⁻².s^{-1/2}), r²:Determinasyon katsayısı, RSH: regresyonun standart hatası

Tablo 34: Tabletlerde yapılan farmasötik denetimler

Tablet	Ağırlık Ort.(mg)± Standart Sapma	Sertlik Ort.(N)± Standart Sapma	Kalınlık Ort.(mm)± Standart Sapma	Çap Ort.(mm)± Standart Sapma	Ufalanma - Aşınma %
F1	226±6	62.9±0.8	2.62±0.03	10.0±0.0	0.04
F2	233±3	62.8±1.9	2.64±0.03	10.0±0.0	0.21
F3	232±1	61.9±2.1	2.62±0.12	10.0±0.0	0.31
F4	232±4	61.8±1.8	2.58±0.06	10.0±0.0	0.30
F5	232±3	63.5±2.2	2.58±0.09	10.0±0.0	0.23
F6	233±3	68.8±2.9	2.41±0.17	10.0±0.0	0.33
F7	232±5	41.3±1.8	2.43±0.08	10.0±0.0	0.45
F8	229±5	47.5±1.3	2.42±0.08	10.0±0.0	0.20
F9	230±2	86.7±1.4	2.49±0.08	10.0±0.0	0.16
F10	230±4	107±7	2.49±0.17	10.0±0.0	0.14
F11	233±2	58.5±3.9	2.51±0.05	10.0±0.0	0.02
F12	234±3	62.3±4.5	2.42±0.04	10.0±0.0	0.26
F13	229±4	35.7±3.3	2.42±0.02	10.0±0.0	0.07
F14*	232±3	120±4	2.85±0.07	10.0±0.0	0.03

* Sodyum sitrat ve Lutrol F127 içermeyen kontrol formülasyonudur.

4.2.6.2. Tabletlerde Etkin Madde Miktar Tayini

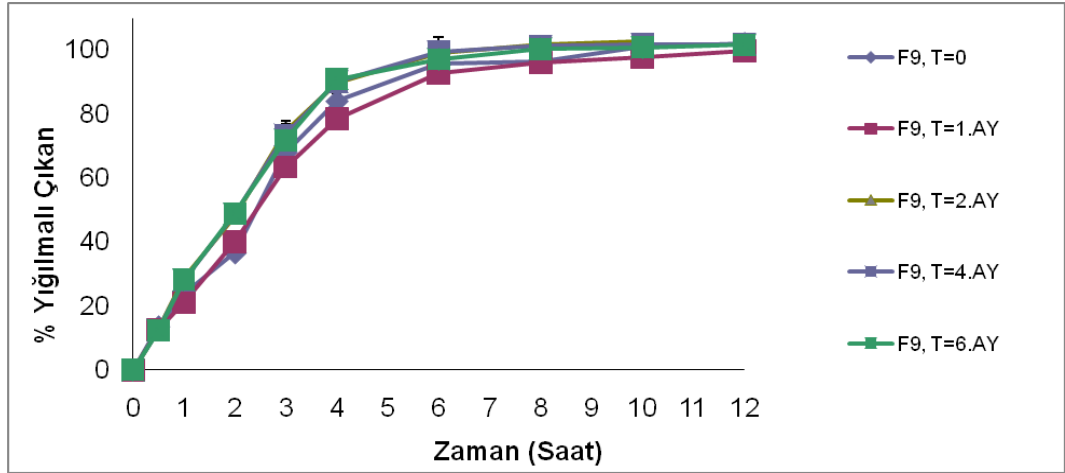
Tabletlerde miktar tayini testi Bölüm 3.3.3.5'te anlatıldığı gibi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 35'de gösterilmiştir.

Tablo 35: Tabletlerde etkin madde miktar tayini hesaplarının sonuçları

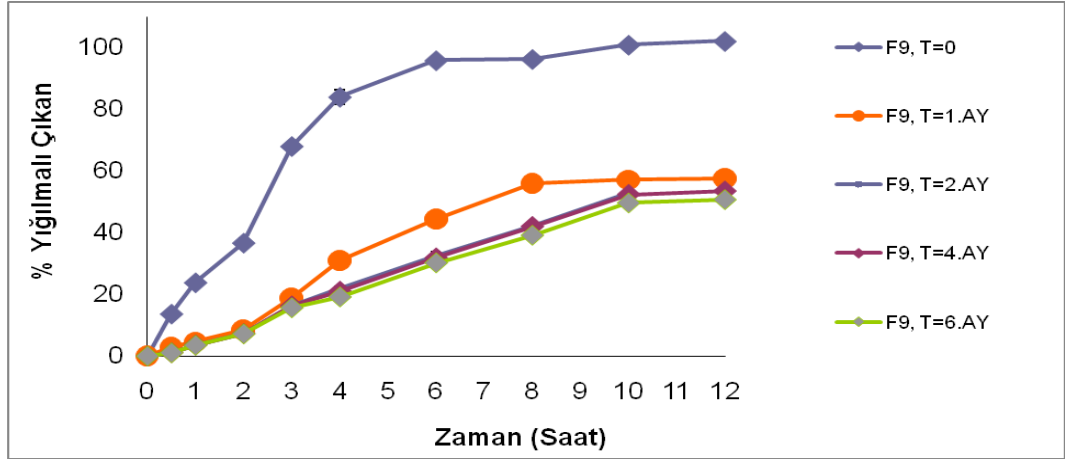
Tablet	Etkin Madde Miktarı (mg)	Miktar Tayini (mg) $\pm$ % Bağlı Sapma
F1	80	78.3 $\pm$ 0.6
F2	80	78.3 $\pm$ 0.7
F3	80	77.7 $\pm$ 0.9
F4	80	79.0 $\pm$ 1.4
F5	80	78.0 $\pm$ 0.8
F6	80	82.0 $\pm$ 1.1
F7	80	82.0 $\pm$ 0.5
F8	80	77.8 $\pm$ 0.8
F9	80	81.4 $\pm$ 0.6
F10	80	77.3 $\pm$ 1.4
F11	80	79.2 $\pm$ 2.8
F12	80	78.2 $\pm$ 3.2
F13	80	77.7 $\pm$ 0.9
F14	80	78.8 $\pm$ 2.9

4.2.6.3. Farklı Sıcaklık ve Nem Ortamlarında Bekletilen Tabletlerin Nem, Sertlik ve Çözünme Profilleri

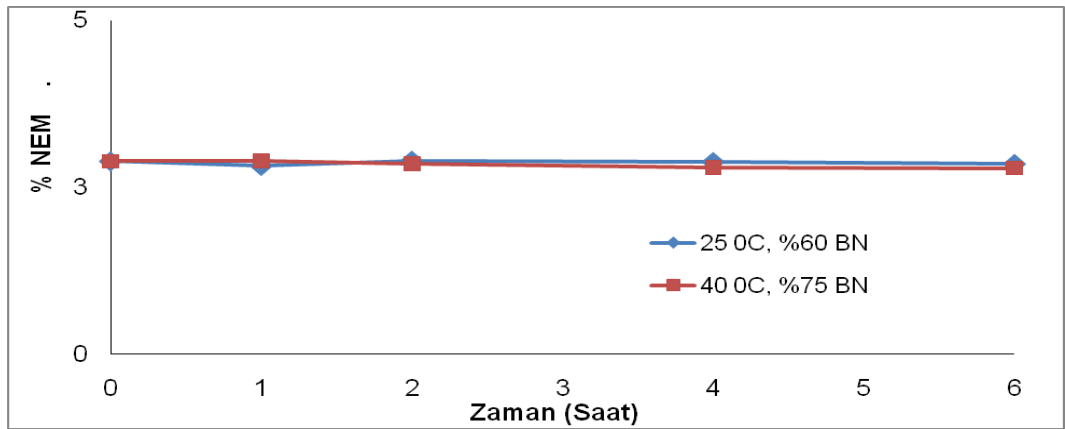
F9 formülasyonunun 25 $\pm$ 2°C % 60 $\pm$ 5 bağıl nemde ve 40 $\pm$ 2°C % 75 $\pm$ 5 bağıl nemde bekletilmesi ile elde edilen nem, sertlik ve çözünme testi sonuçları Şekil 48-52’de gösterilmiştir. F9 tabletlerinin 6 ay stabilite testi sonrasında görünümü Resim 6’da görülmektedir.



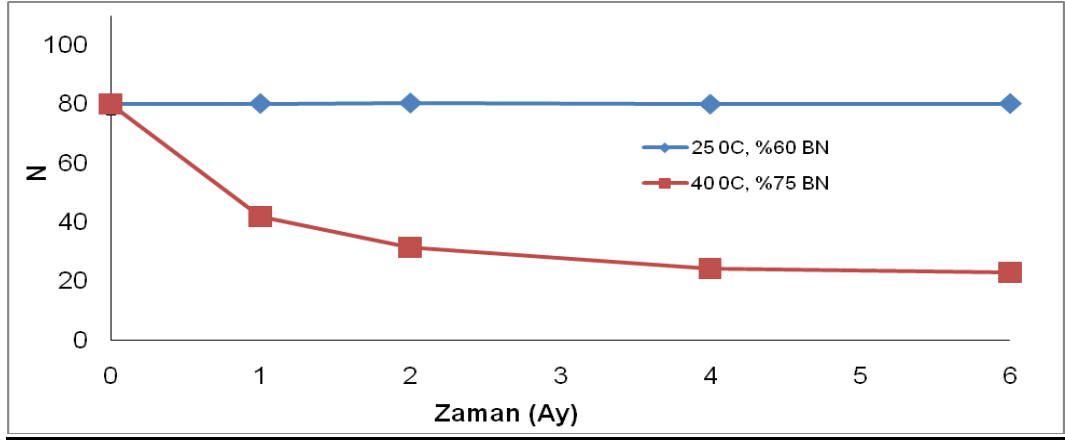
Şekil 48: 25±2°C % 60±5 bağıl nemde bekletilen F9 tabletlerinin çözünme profili



Şekil 49: 40±2°C % 75±5 bağıl nemde bekletilen F9 tabletlerinin çözünme profili



Şekil 50: Farklı sıcaklık ve nem koşullarında bekletilen F9 tabletlerinin nem profili



Şekil 51: Farklı sıcaklık ve nem koşullarında bekletilen F9 tabletlerinin sertlik profili

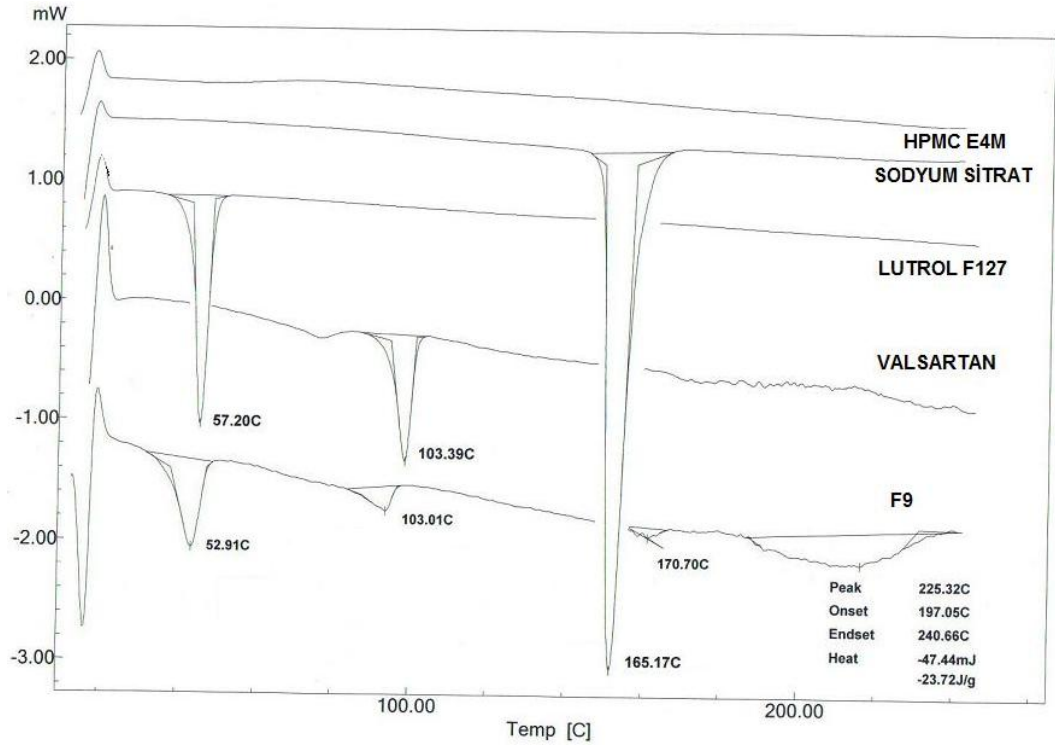


Resim 6: F9 formülasyonunun 6 aylık stabilite süresi sonunda tabletlerinin görünümü.

4.2.7. Etkin Madde ve Yardımcı Maddelerin Etkileşmesinin İncelenmesi

4.2.7.1. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Ölçümleri

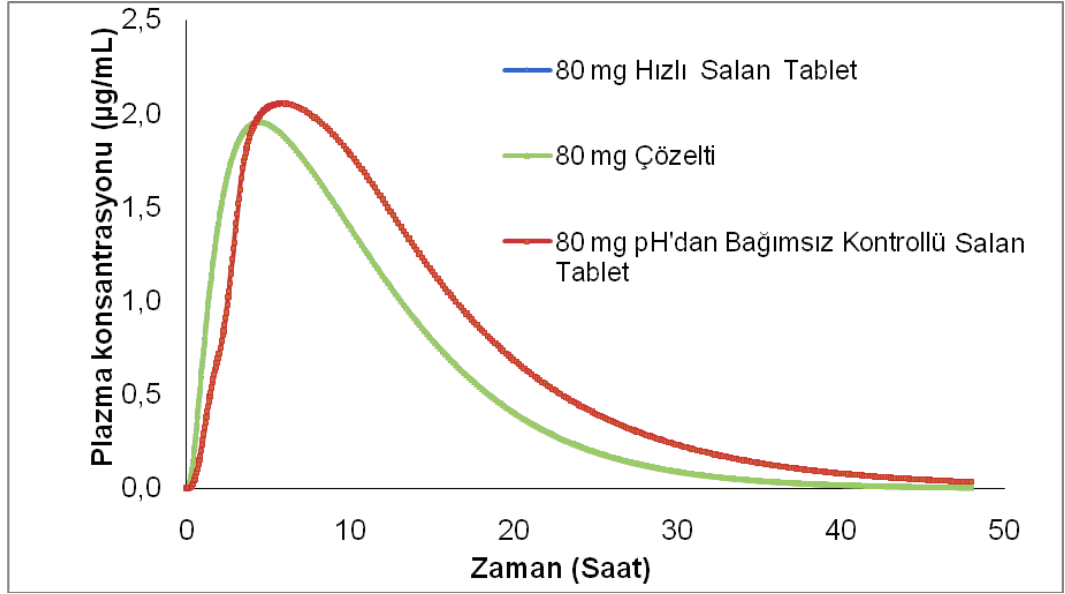
Bölüm 3.3.3.10.'da anlatıldığı gibi yapılmıştır ve Şekil 52'de gösterilmiştir.



Şekil 52: F9 formülasyonuna ait DSC termogramları

4.3.Gastro Plus® Programı ile İn Vivo Simülasyon

Valsartana ait farmakokinetik parametreler, fizikokimyasal parametreler ve kontrollü salın formülasyonlar için çözünme verileri girilerek GastroPlus® programı kullanılarak in vivo simülasyon gerçekleştirilmiştir. 80 mg valsartan içeren farklı ilaç şekilleri için plazma profilleri karşılaştırması Şekil 53'deki gibidir. Simülasyon sonucu elde edilen tüm formülasyonlara ait farmakokinetik parametreler Tablo 36'da görülmektedir.



Şekil 53: 80 mg valsartan içeren farklı ilaç şekillerine ait simülasyon sonucu elde edilen plazma profilleri karşılaştırması

Tablo 36: Simülasyon yapılan tüm formülasyonlara ait tahmini farmakokinetik parametreler

	C_{max} (µg/mL)	T_{max} (Saat)	AUC_{0-t} (µg.saatt/mL)	AUC_{0-∞} (µg.saatt/mL)
80 mg çözelti	1.97	4.38	26.4	26.4
80 mg hızlı salan Diovan® tablet	1.96	4.42	26.4	26.4
80 mg pH'dan bağımsız kontrollü salan tablet (F9)	2.05	5.86	33.3	33.0
80 mg hızlı salan tablet literatür verisi ⁹⁴	3.95	2.50	25.9	-

5. TARTIŞMA

5.1. Etkin Maddeye İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

Çalışmamızda pH'ya bağımlı çözünürlüğe sahip valsartanın pH'dan bağımsız kontrollü salım yapan matriks tabletlerinin hazırlanması ve hazırlanan matriks tabletlerin pH'dan bağımsız kontrollü salım özelliklerini etkileyen parametrelerin incelenmesi amaçlanmıştır.

Valsartanın fizikokimyasal özellikleri incelenmiş ve sonuçlar literatür verileri ile karşılaştırılarak etkin maddenin karakterizasyonu ve saflık kontrolü yapılmıştır. Valsartanın fizikokimyasal özelliklerini tayin etmek amacıyla FT-IR ve UV spektrumları çekilmiş, erime derecesi tayini ve partikül büyüklüğü dağılımı analizi yapılmıştır.

Valsartanın FT-IR spektrumunda maddeye ait fonksiyonel grupların spektrumları gözlenmiştir. Herhangi bir safsızlığa dair ekstra pik / pikler gözlenmemiş (Şekil 9) ve sonucun literatür verileri ile uyumlu olduğu görülmüştür^{142,144}.

Valsartanın 0.1 N HCl, pH 4.5, pH 6.8 tamponlarında ve USP 31, Yöntem A metoduna göre çözeltileri hazırlanarak UV spektrumları incelenmiş ve maksimum absorbans gösterdiği dalga boyu 206 nm olarak ölçülmüştür (Şekil 10–13). Bu dalga boyu literatürden alınan verilerle uyum sağlamaktadır⁷⁰. Formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddeler bu dalga boyunda pik vermediğinden 206 nm dalga boyunda in vitro miktar tayini yapılması uygun bulunmuştur.

Valsartanın erime noktası $103\pm1^{\circ}\text{C}$ olarak tespit edilmiş, bu sonuç DSC termogramlarında ve literatürde bulunan sonuç ile uyumlu bulunmuştur⁴⁴.

Etkin maddenin partikül büyüklüğü ve dağılımı, ilaç şeklinden etkin maddenin salımını ve biyoyararlanımı etkileyen önemli bir faktördür. Partikül büyüklüğü $29.15\pm1\ \mu\text{m}$ olarak bulunmuştur (Şekil 8). Etkin madde partiküllerinin ortalama bir büyüklüğe sahip olduğu ve dağılımının dar olduğu görülmektedir. Formülasyonda kullanılan yardımcı maddeler ile karşılaştırıldığında uyumlu olduğu bulunmuştur.

Etkin maddenin in vitro miktar tayini ve validasyonu miktar tayini yöntemleri içerisinde kolay bir yöntem olması ve validasyon çalışmaları sonucunda da uygun olması nedeniyle UV spektroskopi yöntemi ile yapılmıştır.

Analitik yöntem validasyonunda doğrusalılık, doğruluk, kesinlik, özgünlük ve stabilite gibi analitik validasyon ölçütleri esas alınmış ve bulgular istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Yöntemin doğrusalılık tayini için Bölüm 3.2.1.5'te belirtildiği gibi hazırlanan çözeltiler kullanılarak konsantrasyon ile absorbans arasındaki ilişkiyi belirlemek üzere farklı ortamlar için regresyon doğruları çizilmiş ve tüm ortamlarda determinasyon katsayısı (r^2)>0.999 bulunarak konsantrasyon ile absorbans arasında doğrusal bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Şekil 14–17).

Yöntem doğruluk ve geri eldesi Bölüm 3.2.1.6.1'de belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir (Tablo 19–20). Farklı konsantrasyonda yapılan analizler sonucunda % geri kazanım ve % bağıl sapma sonuçları değerlendirilmiştir. Valsartan miktar tayini için geliştirilen bu yöntemde tüm

ortamlarda geri kazanım % 95 - % 105 sınırları içinde bulunmuştur. Doğruluk için bağıl sapma % 2'den düşük bulunmuştur.

Yöntemin kesinliğinin tayini için tekrar edilebilirlik ve ara kesinlik parametreleri Bölüm 3.2.1.6.2.1 ve 3.2.1.6.2.2'de belirtildiği şekilde tayin edilmiştir. Sonuçlar ortalama standart sapma ve bağıl sapma hesaplanarak değerlendirilmiştir (Tablo 21–24). Tekrar edilebilirlik ve ara kesinlik için bağıl sapma % 2'den küçük bulunmuştur. Valsartanın maksimum absorbans verdiği dalga boyunda valsartan tabletin bileşiminde yer alan yardımcı maddelerden herhangi birinin aynı dalga boyunda pik vermediği ve yöntemin valsartana özgün olduğu saptanmıştır (Şekil 18–21).

Valsartanın analiz süresi boyunca stabilitesinin değerlendirilmesi Bölüm 3.2.1.7'de belirtildiği şekilde yapılmıştır. Valsartanın çözünme ortamındaki $5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ konsantrasyondaki çözeltisi hazırlanarak $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ve $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ sıcaklıklarında çözelti hal stabilitesi 24 saat boyunca UV spektrofotometresi kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar arasındaki % bağıl sapma hesaplanmış ve % 2'den düşük bulunmuştur (Şekil 22–25) (Tablo 25). Bu sonuç etkin madde kaybının % 2'den daha fazla olmadığını göstermektedir. Bütün bu bulgular miktar tayini yönteminin valide edildiğini göstermektedir.

Valsartanın 0.1 N HCl ve USP 31, Yöntem A metoduna göre yapılmış olan çözünürlük çalışması Bölüm 3.2.1.8'de belirtildiği şekilde yapılmıştır. Bunun için her ortama, çözüneceğinden daha fazla miktarlarda valsartan eklendikten sonra çalkalanarak süspande edilmiş, bu süspande çözeltiler, $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ' de termostatlı ısıtıcısı bulunan manyetik karıştırıcılı su banyosunda 0.1 N HCl için 24 saat, USP 31, Yöntem A için 96 saat

bekletilmiştir. Numuneler spektrofotometrik analize tabi tutulmuş ve içerisinde çözünmüş olan valsartan miktarı bulunmuştur. Valsartan'ın 0.1 N HCl mide ortamında çözünürlüğü 0.098 ± 0.020 mg/mL bulunurken, USP 31, Yöntem A ortamında 3.3 ± 0.2 mg/mL olduğu gözlenmiştir. Sonuçlara bakıldığında valsartan çözünürlüğünün pH ile değiştiği ve valsartanın pH artışı ile çözünürlüğünün arttığı gözlenmiştir. Elde edilen bulgular literatürde bulunan sonuçlar ile uyumludur⁴⁴.

5.2. Çalışmaların Değerlendirilmesi

5.2.1. Ön Formülasyon Çalışmalarının Değerlendirilmesi

Ön formülasyon çalışmalarında valsartanın pH'dan bağımsız kontrollü salım yapan tablet formülasyonlarını hazırlamak için farklı seyreltici maddeler, mikro çevre pH'sını artırarak asit ortamda çözünürlüğünü artıracak farklı pH değiştirici maddeler, çözünürlük artırıcı bir madde ve kontrollü salım sağlamak amacıyla farklı polimerler kullanılmıştır.

Farklı çözünürlük, molekül ağırlığı ve yüzey alan özelliklerine sahip seyreltici maddeler kullanılarak etkin maddenin salım özellikleri incelenmiştir. Farklı seyreltici maddelerle hazırlanan formülasyonların çözünme profilleri incelendiğinde tüm kullanılan seyreltici maddelerin ilk 2 saat asit ortamdaki salım üzerinde etkili olmadıkları görülmüştür (Şekil 27). Düşük yüzey alana sahip mikrokristalin selüloz ve laktoz anhidratın kullanıldığı S1 ve S2 formülasyonlarından 12 saat sonunda salınan etkin madde miktarı % 78.0 ve % 66.8 olarak bulunmuştur. Buna karşılık en yüksek çözünme profili, dibazik kalsiyum fosfat anhidratın kullanıldığı S3 formülünden (% 94.5) elde edilmiştir. Dibazik kalsiyum fosfat anhidrat,

seyreltici maddeler arasında en yüksek yüzey alana sahip olanıdır¹⁷. Dibazik kalsiyum fosfat anhidrat geniş yüzey alanı sayesinde tablet içerisine daha fazla sıvı girişini sağlamakta ve tabletin yüksek pH'larda daha fazla çözünmesini sağlamaktadır. Yüksek pH'larda çözünmeyi çok fazla artırmasından dolayı 12 saat sürececek bir kontrollü salımın elde edilemeyeceği düşünülmüştür. Bununla birlikte basım sonrası tabletlerde lekelenme gözlemlendiği için dibazik kalsiyum fosfat anhidrat kullanımı tercih edilmemiştir. Mikrokristalin selüloz yüzey alanının laktoz anhidrattan daha geniş olması ve aynı zamanda tablet basım özelliklerini de iyileştirmesi amacıyla seyreltici madde olarak kullanımına karar verilmiştir.

Çalışmanın devamında pH'dan bağımsız kontrollü salım sağlamak amacıyla farklı fizikokimyasal özelliklere sahip hız kontrol edici polimerlerin etkin maddenin salımına etkisi incelenmiştir (Şekil 28). Çözünme profilleri incelendiğinde, Kollicoat MAE 100 P polimerinin kullanıldığı P1 formülasyonunun ilk 2 saat asit ortamda etkin maddenin salımını artırmadığı ve birlikte bazik ortamda da en hızlı salıma sahip olduğu gözlenmiştir ve 8. saat sonunda etkin madde salımı % 101 bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda da benzer sonuçların bulunduğu bildirilmektedir^{26,36}. Bununla birlikte Eudragit RL PO'nun kullanıldığı P3 ve Methocel K 100 LV'nin kullanıldığı P5 formülasyonunun da ilk 2 saatlik asit ortamda ve bazik ortamda çözünmenin düşük olduğu görülmüştür. P3 formülasyonundan asidik ortamda % 2.22 etkin madde salımı gözlenirken P5 formülasyonundan % 0.30 etkin madde salındığı bulunmuştur. Kollicoat MAE 100P ve Methocel K 100 LV'nin 1:1 oranında karışımının kullanıldığı P2 formülasyonu ise etkin maddeyi asidik ortamda % 1.74, fosfat tamponunda ise % 99.7 salmaktadır. Methocel E4M kullanılarak hazırlanan P4 formülasyonundan ise etkin maddenin ilk 2 saat asit ortamda % 9.61 çözünme gösterdiği ve daha sonra bazik ortamda da % 90.4 çözünme gösterdiği gözlenmiştir. Kollicoat MAE 100 P pH >5.5'te

çözünen enterik bir polimer olup metakrilik asit–etil akrilat kopolimeridir. Dolayısıyla ilk 2 saat asit ortamda çözünmemiş ve etkin madde salımını yavaşlatmıştır. Bazik ortama geçildiğinde ise çözünerek etkin madde salımını artırmıştır. Kollicoat MAE 100 P kullanılarak hazırlanacak kontrollü salın matris tabletin ilk 2 saat içinde etkin maddenin salımını artırmayacağı ve istenilen süre kontrollü salımı sağlayamayacağı düşünülmüş ve tercih edilmemiştir. Eudragit RL PO (P3) ve HPMC K 100 LV (P5) pH'dan bağımsız şişen polimerlerdir. Ancak her iki polimerle elde edilen çözünme profillerinde salımın HPMC E4M (P4) ile hazırlanan formülasyonlara göre daha yavaş olduğu görülmüştür. HPMC E4M pH'dan bağımsız çözünen ve şişen bir polimerdir ve içeriğindeki metoksi grubu oranı %28–30'dur. HPMC K100LV polimerindeki metoksi oranı ise %19–24'tür¹⁴⁵. Polimerlerin metoksi grubu oranı arttıkça polimerin şişme özelliği azalmakta ve etkin madde polimerden hızla salınmaktadır¹⁴⁶. Yapılan bir çalışmada da pH'dan bağımsız kontrollü salım yapan formülasyonların hazırlanmasında HPMC E4M polimerinin kullanılabileceği bildirilmiştir³⁰. Bizim çalışmamızda da HPMC E4M kullanılarak hazırlanan P4 formülasyonundan etkin maddenin asit ortamda salımının arttığı ve bazik ortamda 12 saat boyunca kontrollü salındığı gözlenerek formülasyonlarda HPMC E4M kullanımına karar verilmiştir.

Farklı pH değiştirici maddelerin ilk 2 saat mide ortamında etkin madde salımına etkisini incelemek amacıyla B1-B5 formülasyonları hazırlanmıştır. Bu formülasyonlarda etkin madde salımının asidik ortamda en düşük olduğu aynı zamanda bazik ortamda yeterli salım sağlayan HPMC K100 LV: Kollicoat MAE 100 P polimerlerinin 1:1 oranında karışımı kullanılmıştır. Bu sayede pH değiştirici madde ile sağlanabilecek çözünmedeki artışın daha belirgin olacağı düşünülmüştür. Farklı molekül ağırlığı, suda çözünürlük özelliği ve pH özelliklerine sahip pH değiştirici maddelerle formülasyonlar hazırlanmış ve tabletlerin pH'dan bağımsız

kontrollü salım özellikleri incelenmiştir. Tabletlerin çözünme profilleri incelendiğinde, magnezyum oksit ve sodyum bikarbonatın kullanıldığı B2 ve B5 formülasyonlarından mide ortamında etkin madde salımının sırasıyla %3.60 ve 4.57 olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte magnezyum hidroksit, sodyum sitrat ve sodyum karbonatın kullanıldığı B1 (% 10.82), B3 (% 5.73) ve B4 (% 19.55) formülasyonlarından etkin maddenin asit ortamdaki çözünmenin daha fazla olduğu gözlenmiştir (Şekil 31). Çözünme ortamı iki saat sonunda pH 6.8 fosfat tamponuna değiştirildiğinde B1, B2 ve B5 formülasyonlarının 12 saat süresince etkin maddeyi % 20.4, 16.4 ve 23.9 saldıgı gözlenirken B3 ve B4 formülasyonlarının ise etkin maddeyi % 55.0 ve % 47.4 saldıgı görülmüştür. Magnezyum oksit sulu ortamda düşük çözünürlüğe sahip magnezyum hidroksite dönüşmekte ve tablet matriksinde pH düşüşüne neden olmaktadır. Magnezyum oksit magnezyum hidroksite dönüşürken ortamdaki suyu yapısına almaktadır²¹. Böylece ortam suyunun magnezyum oksit ve etkin madde arasında yarışmalı şekilde kullanımı nedeniyle etkin madde çözünmesinin azaldığı düşünülmektedir. Ayrıca magnezyum hidroksit ve magnezyum oksitin sudaki düşük çözünürlüğü nedeniyle de çözünme ortamında mikro çevre pH'sını değiştirme etkisinin zayıf olmasının etkin madde salımının düşük olmasına neden olduğu düşünülmüştür. Bununla birlikte suda çözünürlüğü yüksek olan sodyum sitrat (B3) ve sodyum karbonatın (B4) etkin madde partiküllerinin mikro çevre pH'sını daha fazla artırdığı ve dolayısı ile asit ortamda düşük çözünürlüğe sahip valsartanın daha fazla çözünmesine neden olduğu gözlenmiştir. Sodyum karbonat kullanılarak hazırlanan B4 formülasyonunda etkin madde salımının 12 saat sonunda diğer formülasyonlara göre daha fazla (% 47.4) olduğu görülse de sodyum karbonatın sudaki yüksek çözünürlük özelliği nedeniyle çözünme ortamında matriks tabletten çözünerek tamamen ayrılması ve matriks tablet bütünlüğünün bozulmasına neden olması sonucu kullanımının

uygun olmadığı gözlenmiştir. Sodyum sitratın ise suda çözünürlük ve pH değeri mikro çevre pH'sını uygun şekilde artırdığından ve çözünüp tabletten uzaklaşma sırasında matriks tablet bütünlüğünü bozmadığından formülasyonda kullanımına karar verilmiştir.

5.2.2. Merkezi Tekrarlı Deney Tasarımına Göre Hazırlanan Formülasyonlardan Etkin Maddenin Salımının Değerlendirilmesi

Merkezi tekrarlı deney tasarımı çalışması sonucu elde edilen formülasyonların USP 31'de geciktirilmiş salım yapan preparatların çözünme çalışması için Yöntem A'da belirtilmiş olan ilk iki saat 0.1 N HCl daha sonra ise pH 6.8 fosfat tamponunda çözünme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan formülasyonların in vitro salım profilleri merkez noktası tekrarlı deney tasarımı göre merkez, faktöriyel ve aksiyal noktalar olmak üzere 3 grupta değerlendirilmiştir.

Merkez noktası tekrarlı deney tasarımı deneysel işlemlerdeki hatayı (pure error) hesaplayabilmek amacıyla merkez noktalar eklenmiştir. Şekil 30'da görüldüğü gibi 5 merkez noktasını içeren formülasyonların salım profillerinin üst üste geldiği görülmektedir. Bu da deneysel işlemlere bağlı olan hatanın çok düşük olduğunu göstermektedir. 2. saatte % çözünen madde miktarı ortalama % 15.1 ve 8. saatte % çözünen madde miktarı ise ortalama % 70.3 bulunmuştur. 0.1N HCl ve pH 6.8 fosfat tamponunda çözünen madde miktarları yeterli olmadığı için bu formülasyon uygun görülmemiştir.

Faktöriyel noktaların oluşturduğu formülasyonlar (F10, F11, F12 ve F13) bağımsız değişkenler için kendi belirlediğimiz minimum (-1) ve maksimum (+1) noktaları içermektedir. Sodyum sitratı maksimum

konsantrasyonda içeren F12 ve F13 formülasyonlarında 2. saatte % salınan etkin madde miktarı sırasıyla % 9.42 ve % 6.34 olarak bulunmuştur. Sodyum sitrat asit ortamda etkin maddeye göre daha fazla çözündüğü için ve çözünme ortamını etkin madde ile yarışmalı olarak kullandığı düşünülerek sodyum sitrat konsantrasyonu maksimum olduğunda, 2. saat sonunda salınan etkin madde yüzdesinin düşük olduğu gözlenmiştir. Lutrol F127'nin maksimum ve sodyum sitratın minimum olduğu F11 formülasyonundan 2. saatte % çözünen madde miktarı %22.5 ve 8. saatte % çözünen madde miktarı ise % 55.6 bulunmuştur. Bu formülasyonda Lutrol F127'nin miseller konsantrasyonu aşıldığı düşünülerek 8. saatte salınan etkin madde miktarının düşük olduğu görülmüştür. Sodyum sitrat ve Lutrol F127 konsantrasyonlarının en düşük olduğu F10 formülasyonu ise faktöriyel noktalar arasında en iyi çözünme profilini vermiştir. F10 formülasyonundan etkin madde salımı 2. saatin sonunda % 33.0 bulunurken 8. saatte % 88.9 bulunmuştur (Şekil 31).

Şekil 34'de aksiyal noktaları gösteren formülasyonlar incelendiğinde (F6, F7, F8 ve F9), formülasyonlar arasında belirgin farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Aksiyal noktalar her iki faktör için merkezi tekrarlı deney tasarımının vermiş olduğu maksimum (+ α), minimum (- α) ve orta (0) değerleri ifade eden formülasyonlardan oluşmaktadır. Her iki bağımsız değişkenin maksimum olduğu F7 ve F8 formülasyonları incelendiğinde, 2. saatte çözünen etkin madde miktarının sırasıyla % 8.25 ve % 9.98 olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar faktöriyel noktaları oluşturan F12 ve F13 formülasyonları ile benzer bulunmuştur. F7 formülasyonunda sodyum sitrat maksimum olduğunda çözünme ortamını yine etkin madde ile yarışmalı olarak kullandığı düşünülerek 2. saat sonunda salınan etkin madde miktarı % 8.25 bulunmuştur. Lutrol F127 konsantrasyonunun maksimum olduğu F8 formülasyonunda ise Lutrol F127'nin kritik misel konsantrasyonunun aşıldığı düşünülerek miseller çözünürlüğün olmadığı

ve etkin maddenin 2. saatte % 9.98 ve 8. saatte % 66.7 çözüldüğü gözlenmiştir. Sodyum sitrat konsantrasyonu orta değerinde ve Lutrol F127 konsantrasyonu minimum olduğu zaman 2. saat % çözünen madde miktarı % 18.7 bulunmuştur. Formülasyonda Lutrol F127 konsantrasyonunun kritik misel konsantrasyonunun altında olup miseller çözünürlüğün sağlandığı ve dolayısıyla etkin maddenin 2. saatte % 18.7 ve 8. saatte ise %101 çözüldüğü düşünülmektedir. Sodyum sitratın minimum, Lutrol F127'nin orta konsantrasyonda olduğu F9 formülasyonunda ise 2. saatte % çözünen madde miktarı % 36.7 ve 8. saat sonunda ise % 96.7 bulunmuştur. Her iki bağımsız değişkenin bu konsantrasyonlarının toplamsal etkisi sonucu etkin maddenin gerek mide ortamı gerekse barsak ortamında en iyi salım profilini gösterdiği bulunmuş ve F9 formülasyonu optimum formülasyon olarak seçilmiştir.

Deney tasarımı formülasyonları arasında ilk 2 saat en yüksek çözünmeye sahip formülasyon olan F9 formülasyonu için 0.1 N HCl, pH 4.5 ve pH 6.5 fosfat tamponu ortamlarında 12 saat süreli çözünme çalışması gerçekleştirilerek çözünmenin pH'ya bağlı olup olmadığı incelenmiştir (Şekil 33). Şekilden de görüldüğü gibi üç pH'da benzer salım profilleri elde edilmiş ve benzerlik faktörü (f_2) değerleri yüksek bulunmuştur (Tablo 32). Bu sonuç ile optimum formülasyondan etkin maddenin pH'dan bağımsız salım yaptığı düşünülmektedir.

Kullandığımız bağımsız değişkenlerin formülasyondaki etkilerini görmek için bu faktörleri içermeyen F14 formülasyonu hazırlanmış ve USP 31, Yöntem A metodu, 0.1 N HCl, pH 4.5 ve pH 6.8 fosfat tamponlarında etkin madde salım profilleri incelenmiştir. Şekil 34'de görüldüğü gibi faktörler olmadan etkin maddenin pH'ya bağımlı olarak salım yaptığı bulunmuştur. Şekil 35'de de F9 ve F14 formülasyonlarının USP 31, Yöntem A metoduna göre karşılaştırması yapılmıştır. Piyasa

preparatı Diovan®80 mg film tabletin farklı pH ortamlarında çözünme deneyi yapılmıştır. Şekil 38’de görüldüğü gibi hızlı salın piyasada preparatı Diovan®80 mg film tablet, asit pH’da oldukça düşük bir çözünmeye sahipken pH artışı ile çözünmede artış gözlenmekte ve pH’ya bağımlı salım profili göstermektedir.

Deney tasarımı sonucu elde edilen optimum formülasyon olan F9 formülasyonu için doz orantısallığının değerlendirilmesi amacıyla F15 formülasyonu hazırlanmış ve çözünme profilleri karşılaştırılmıştır (Şekil 37). Çözünme profilleri incelendiğinde, 80 mg ve 160 mg için f_2 benzerlik faktörünün yüksek olduğu (68.7) ve in vitro çözünmede doz doğrusallığının olduğu görülmektedir. Ancak kontrol formülasyonu olan F14 ile karşılaştırıldığında beklenildiği gibi f_2 benzerlik faktörü düşük (26.0) bulunmuştur.

5.2.2.1. Deney tasarımı ile hazırlanan formülasyon cevaplarının ANOVA testlerinin değerlendirilmesi

Zayıf asit yapıda bir etkin madde olan valsartanın asit ortamda çözünmeyi artırmak için pH değiştirici madde olarak sodyum sitrat ve çözünürlük artırıcı madde olarak Lutrol F127 kullanılmıştır. Deney tasarımı sonucunda zayıf asit maddenin in vitro çözünmeye pH değiştirici madde ve çözünürlük artırıcı maddenin ayrı ayrı etkisi olduğu ve bu etkinin toplamsal olduğu ANOVA testi sonuçlarından da görülmektedir.

2. saat % çözünen madde miktarı (Y1) için model F değeri 325 (<0.0001) olmak üzere modelin etkili olduğu bulunmuştur. Deney tasarımı modellerinde genellikle yüksek determinasyon katsayısı ve kareler toplamı modelin anlamlı olduğunu belirtmektedir¹²⁷. Bizim de

çalışmamızda kuadratik modelin determinasyon katsayısı 0.9957 ve kareler toplamı da 991 bulunmuştur. ANOVA tablosuna bakıldığında sodyum sitrat (A), Lutrol F127 (B), sodyum sitratXsodyum sitrat (A^2) ve sodyum sitrat-Lutrol F127 (AB) etkileşimi önemli bulunmuştur. Modeli tanımlayan 2. derece polinomial eşitliği eşitlik 8'de görülmektedir. Eşitlik 8'de (-) katsayılar bağımsız değişkenlerin cevap üzerinde negatif etkili olduğunu açıklamaktadır^{23,127}. Eşitliğe göre sodyum sitrat (A) ve Lutrol F127 (B) konsantrasyonları azaldıkça 2. saatte % çözünen madde miktarının arttığı görülmektedir. Bu etkiler yüzey cevap ve kontur grafiklerinde de görülmektedir (Şekil 38, 39). Tablo 28'de görülen F değeri ve eşitlik 8'deki katsayısı en yüksek olan sodyum sitratın 2. saatte % çözünen etkin madde üzerinde en etkili faktör olduğu görülmektedir. Modelin uyum eksikliği (*Lack of Fit*) değerinin 0.05'den büyük olması, 2. saatte % çözünen madde (Y1) için hatanın anlamsız olduğunu göstermektedir.

8. saat % çözünen madde miktarı (Y2) için model F değeri 8.07 (0.008) olmak üzere modelin etkili olduğu bulunmuştur. Model kuadratik modele uyum sağlamaktadır ve r^2 değeri 0.8522 olarak bulunmuştur. ANOVA tablosuna bakıldığında sodyum sitratın (A) cevaba etkisi önemsiz bulunurken Lutrol F127 (B), sodyum sitratXsodyum sitrat (A^2) ve sodyum sitrat-Lutrol F127 (AB) etkileşimi önemli bulunmuştur. Y2 cevabı için sodyum sitratın (A) etkisinin önemsiz olmasının nedeni, sodyum sitratın sudaki yüksek çözünürlüğü nedeniyle 8. saate kadar tabletin içinden tamamen çözünüp ayrılması olarak düşünülmektedir. Eşitlik 10'da modeli tanımlayan 2. derece polinomial eşitliği görülmektedir. Eşitlikte Lutrol F127 (B) faktörünün negatif etkili olduğu görülmektedir. Bu da Lutrol F127 konsantrasyonu arttıkça 8. saatte % çözünen madde miktarının azalacağını göstermektedir. Bu etkiler yüzey cevap ve kontur grafiklerinde de görülmektedir (Şekil 40, 41). Tablo 29'da

da görüldüğü gibi eşitlik katsayısı ve F değeri en yüksek olan Lutrol F127'nin 8. saatte % çözünen etkin madde üzerinde en etkili faktör olduğu görülmektedir. Modelin uyum eksikliği (*Lack of Fit*) değerinin 0.05'den büyük olması yine 8. saat % çözünen madde (Y2) için hatanın anlamsız olduğunu göstermektedir.

Tablet sertliği (Y3) için model F değeri 620 (<0.0001) olmak üzere modelin etkili olduğu bulunmuştur. Model lineer modele uyum sağlamaktadır ve r^2 değeri 0.9920 olarak bulunmuştur. ANOVA tablosuna bakıldığında her iki faktörün de tablet sertliği üzerinde önemli olduğu bulunmuştur. Modeli tanımlayan tablet sertliği eşitliği eşitlik 11'de görülmektedir. Her iki faktörün de eşitlik katsayılarının negatif etkili olduğu ve sodyum sitrat(A) ve Lutrol (B) konsantrasyonları azaldıkça tablet sertliğinin arttığı görülmektedir. Bu etkiler yüzey cevap ve kontur grafiklerinde de gözlenmiştir (Şekil 42, 43). Modelin uyum eksikliği (*Lack of Fit*) değerinin 0.05'den büyük olması, tablet sertliği (Y3) için hatanın anlamsız olduğunu göstermektedir.

Şekil 44-46'da deney tasarımına göre oluşturulan modellerde, gözlenen değer ile tahmin edilen cevaplar için değerler arasındaki ilişki incelendiğinde 2. saatte % çözünen etkin madde (Y1) ve tablet sertliği (Y3) cevabı için determinasyon katsayısı (r^2) 0.9957 ve 0.992 bulunurken 8. saatte % çözünen etkin madde (Y3) için 0.8523 bulunmuştur. Bu sonuçlar da incelenen cevaplar için tahmin edilen değerler ile gözlenen değerler arasındaki ilişkinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Merkezi tekrarlı deney tasarımındaki faktörler ve 3 farklı cevap için Tablo 31'de belirlenen kriterlerin sağlandığı 3 farklı tasarım

sahası kesiştirilerek optimizasyon yapılmıştır. Bu sayede 3 cevap için de istenen aralıkta sonuçlara ulaşılabilen faktör seviyeleri belirlenmiştir. Cevaplar için kriterler belirlenirken pH'dan bağımsız salım için 2. saatte % salınan etkin maddenin minimum % 20 olması, 12 saat sürecekk kontrollü salım için 8. saatte % çözünen etkin maddenin minimum % 85 olması ve tablet sertliğinin de uygun friyabilite gösterebileceği sertlikte olması gereklilikleri dikkate alınmıştır. Sonuçta elde edilen tasarım sahasına bakıldığında, bu tasarım sahası içinde kullanılan faktör seviyeleri ile istenilen kriterlere ulaşılabilceği düşünölmektedir (Şekil 47).

5.2.2.3. In Vitro Salım Verilerinin Kinetik Olarak Değerlendirilmesi

Çalışmamızda çözünme testlerinden elde edilen veriler kullanılarak hazırlanan formölasyonların 0. derece, 1. derece ve $Q/\sqrt{t}$ (Higuchi kinetiğı) salım kinetiklerine uyumu incelenmiş ve determinasyon katsayıları (r^2) hesaplanmıştır. Formölasyonların hangi kinetik modele uyduğı belirlenirken regresyon analizlerinin determinasyon katsayıları ve regresyonun standart hatası göz önünde bulundurulmuştur (Tablo 33). Ayrıca çözünme verileri şişebilen hidrofilik matriks sistemden ilaç salım kinetiğini en iyi açıklayan Peppas eşitliğı kullanılarak da incelenmiştir³. Bu eşitliğe göre silindirik matriks sistemde n değeri 0.45 ise Fick'e uygun difüzyon (Case 1) n değeri 0.45–0.89 arası ise Fick'e uymayan geçiş ve n değeri 0.89'dan büyükse Case II geçiş olarak tanımlanmaktadır³. Tablo 33'den de göröldüğü gibi F9 formölasyonu hariç tüm formölasyonlardan salım mekanizması Case II geçişe uyum sağlamaktadır, bu da bu formölasyonlardan salımın sıfır derece kinetikle olduğunu ve salımın sadece polimerin gevşemesi ile gerçekleştiğini açıklamaktadır. F9 formölasyonunda ise n değeri 0.77 olduğu için salımın Fick'e uymayan geçiş olduğu görölmektedir. Yani salım hem difüzyon hem de makromoleküler zincirin gevşemesi sonucu gerçekleşmektedir.

5.2.2.4. Basılan Tabletlerde Yapılan Farmasötik Denetimlerin Değerlendirilmesi

Tabletlerde farmasötik denetim amacı ile ağırlık sapması, çap, kalınlık ve ufalanma aşınma testleri yapılmıştır (Tablo 34).

Formülasyonların ortalama tablet ağırlıkları 226–234 mg arasında değişmektedir. Avrupa farmakopesi 5.0'da 80 mg–250 mg ağırlık aralığındaki tek dozlu kaplanmamış tabletler için verilmiş olan ağırlık tekdüzeliği sapma oranı % 7.5'tir. Tabletlerin ortalama ağırlığı 232 mg olup Avrupa farmakopesine göre kabul edilen ağırlık aralığının (215 –249 mg) içerisinde olduğu gözlenmiştir.

Hazırlanan formülasyonların tablet kalınlıkları 2.41–2.85 mm arasında değişmektedir. Tablet kalınlıklarındaki farklılıkların sebebinin farklı formülasyonlardaki tüm yardımcı maddelerin farklı oranlarda kullanılması olarak düşünülmektedir. Tablet ağırlığındaki ve kalınlığındaki tek düzelik tablet basımı veya tablet hazırlama yöntemindeki ufak değişikliklerden etkilenmeyeceğini ifade etmektedir. Hazırlanan tablet formülasyonlarının çapları 10.0 mm ve standart sapmanın çok küçük olduğu gözlenmiştir (Tablo 34).

Tablet sertlikleri değerlendirildiğinde sonuçların 35.7–120 N arasında değiştiği gözlenmiştir. Formülasyonlarda düşük miktarda mikrokristalin selüloz içeren F7 ve F13 formülasyonlarında sertlik değerleri sırasıyla 41.3 N ve 35.7 N olarak bulunmuştur. Buna karşılık mikrokristalin selüloz oranı % 35 kullanılarak hazırlanan F10 formülasyonunun sertlik değeri ise 107 N bulunmuştur. Optimum formülasyonla karşılaştırma amacı ile hazırlanan F14 formülasyonu ise % 50 oranında mikrokristalin

selüloz içermektedir ve sertlik değeri 120 N olarak bulunmuştur. Formülasyonlarda kullanılan mikrokristalin selülozun konsantrasyonu arttıkça tabletlerin sertliğin ve basılabilirliğin artırdığı literatür ile de desteklenmektedir¹⁴⁷.

Ufalanma–aşınma denetimleri incelendiğinde bütün formülasyonlarda değerlerin % 1'in altında olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç, tabletlerin yeterli sertlikte basıldığını göstermektedir.

5.2.2.5. Tabletlerde Etkin Madde Miktar Tayini

Tabletlerde yapılan etkin madde miktar tayini sonucu, etkin madde miktarının USP 31'e⁸ göre etiket miktarının % 85–115 arasında olduğu (68–92 mg) bulunmuştur (Tablo 35).

5.2.2.6. Farklı Sıcaklık ve Nem Ortamlarında Bekletilen Tabletlerin Nem, Sertlik ve Çözünme Profillerinin Değerlendirilmesi

Çalışmamızda optimum formülasyon olarak belirlediğimiz F9 formülasyonunun 25±2°C % 60±5 bağıl nemde ve 40±2°C % 75±5 bağıl nemde bekletilerek nem, sertlik ve çözünme testleri yapılmıştır. Her iki stabilite koşulu için de yapılan miktar tayini, nem, sertlik ve çözünme testinde 1., 2., 4. ve 6. aylarda numuneler alınarak başlangıç noktasında alınan numunelerle karşılaştırılmıştır.

Yapılan analizler sonucunda tabletler 25±2°C % 60±5 bağıl nemde bekletildiğinde nem, sertlik verileri ve çözünme profillerinin başlangıç noktasında elde edilen sonuçlarla benzerlik gösterdiği bulunmuştur (Şekil 48–52).

Bununla birlikte yapılan analizler sonucunda tabletler $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ % 75 ± 5 bağıl nemde bekletildiğinde tabletler nem almamakla birlikte sertlik değerlerinin ve çözünme profillerinin zaman içinde azaldığı görülmektedir (Şekil 49–52). Formülasyonda kullanılan Lutrol F127'nin camsı geçiş sıcaklığı 37°C olarak bilinmektedir. Polimerler camsı geçiş sıcaklığı altında camsı haldedir ve bu sıcaklığın üstünde ise kauçuğumsu hale geçmektedir¹⁴⁸. Buna bağlı olarak 40°C , % 75 bağıl nem koşullarında polimer kauçuğumsu duruma geçtiğinde maddenin difüzyon hızı azalmaktadır. Dolayısıyla Lutrol F127'nin kauçuğumsu hale geçtiği düşünülerek etkin maddenin salım hızını düşürdüğü gözlenmiştir. Bu nedenle formülasyonun saklama koşullarının 25°C ve altındaki sıcaklıklarda olması gerektiği düşünülmektedir.

5.2.3. Etkin Madde ve Yardımcı Maddelerin Etkileşimlerinin Değerlendirilmesi

5.2.3.1. DSC Analizinin Değerlendirilmesi

Çalışmamızda valsartan ile formülasyonda kullanılan sodyum sitrat ve polimerler karşılaştırılıp aralarında etkileşim olup olmadığı DSC tekniği ile incelenmiştir (Şekil 53).

Valsartan'ın 103°C 'de endotermik bir pik verdiği gözlenmiştir. Lutrol F127 57.2°C 'de keskin bir endotermik pik verirken, sodyum sitrat ise 165°C 'de keskin bir endotermik bir pik vermektedir. HPMC E4M polimerinin ise herhangi bir sıcaklıkta pik vermediği gözlenmiştir. Optimum formülasyonun (F9) DSC eğrisine bakıldığında valsartanın erime derecesinin değişmediği ve 103°C 'de pik verdiği görülmektedir.

Formülasyonda bulunan etkin madde ile yardımcı maddeler arasında herhangi bir etkileşme görülmediği düşünülmektedir.

5.2.4. Gastro Plus® Yazılımı ile Gerçekleştirilmiş İn Vivo Simülasyonun Değerlendirilmesi

Farklı ilaç şekillerine ait simülasyon sonucu elde edilen farmakokinetik veriler Tablo 36'da ve plazma zaman profili de Şekil 53'de görülmektedir. Simülasyon programının doğruluğu literatür verileri ile karşılaştırılarak test edilmiştir. Literatürde bulunan hızlı salan tabletin AUC değeri simülasyon sonucu elde edilen ile benzer bulunurken C_{max} değerlerinde farklılık olduğu gözlenmiştir. pH'dan bağımsız kontrollü salım yapan matriks tabletin C_{max} ve $AUC_{0-\infty}$ değerleri 2.05 µg/mL ve 33.3 µg.saat/mL bulunmuştur. Hızlı salan tabletin ise C_{max} ve AUC değerleri 1.96 µg/mL ve 26.4 µg.saat/mL bulunmuştur. Buna göre hızlı salan tablet ile pH'dan bağımsız salım yapan matriks tablet formülasyonunun C_{max} değerleri benzer olduğu, buna karşılık pH'dan bağımsız salım yapan matriks tabletin AUC ve t_{max} değerlerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçların ümit verici olduğu ancak klinik çalışmalarla da desteklenmesi gerektiği düşünülmektedir.

6. SONUÇ

Bu tez çalışması süresince zayıf asidik yapıda bir ilaç olan valsartan etkin maddesinin fizikokimyasal özellikleri incelenmiş, miktar tayini için UV spektrofotometrik yöntem geliştirilmiş ve valide edilmiştir. pH'ya bağımlı çözünürlük gösteren zayıf asidik valsartanın pH'dan bağımsız salım sağlayan kontrollü salım sistemlerinin geliştirilmesi hedeflenmiş, bu amaçla çözünürlük artırıcı ve pH değiştirici maddeler kullanılarak matriks tipi tablet formülasyonları geliştirilmiştir.

Yapılan analitik validasyon çalışmaları sonucunda elde edilen değerler kabul edilebilir limitlerde bulunmuştur. Kullanılan yardımcı maddelerin UV analizlerinde etkin maddenin pik verdiği 206 nm'de pik vermedikleri gözlenmiştir. Stabilité çalışmaları sonucunda valsartanın deney şartlarında, analiz süresi boyunca stabil olduğu bulunmuştur. Zayıf asit özellikteki valsartan için 2 farklı pH'da çözünürlük çalışması gerçekleştirilmiştir. Etkin maddenin çözünürlük değeri 0.1 N HCl'de düşük, pH 6.8 fosfat tamponunda ise yüksek bulunmuştur.

In vitro çözünme çalışmalarında zayıf asidik yapıdaki bir maddenin tabletten çözünmesine etki eden faktörlerden pH değiştirici madde ve çözünürlük artırıcı maddenin farklı konsantrasyonlarının etkileri merkezi tekrarlı deney tasarımı yöntemi ile incelenmiştir. Üretim süresi ve maliyet açısından avantaj sağladığından tabletler doğrudan basım yöntemi ile hazırlanmışlardır. Hazırlanan tabletlerin kalite kontrol sonuçları farmakope standartlarına uygun bulunmuştur.

Ön formülasyon çalışmalarında hazırlanan formülasyonlarda kullanılan pH değiştirici maddenin çözünürlüğünün ve sulu çözeltilerindeki

pH değerinin pH'dan bağımsız salım elde edilmesinde önemli olduğu bulunmuştur. Yüksek pH değeri ve düşük çözünürlüğe sahip bazik maddelerle pH'dan bağımsız salım elde edilemezken, yüksek pH değeri ve çözünürlüğe sahip bazik maddelerle daha yüksek mikro çevre pH'sı oluştuğu ve asit ortamda etkin maddenin çözünmenin arttığı görülmüştür. Tablet formülasyonlarında hız kontrol edici matriks polimer olarak kullanılan polimerlerin şişme özelliklerine bağlı olarak kontrollü salım üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Bununla birlikte HPMC polimerinin molekül ağırlığı düştükçe 12 saat sürecekt kontrollü salımı sağlayamadığı gözlenmiştir.

Ön formülasyon deneylerinde belirlenen pH değıştirici madde ve çözünürlük artırıcı madde bağımsız değışken olarak kullanılarak merkezi tekrarlı deney tasarımı yapılmış ve modelin belirlenen cevaplar için yüksek açıklayıcılığa sahip olduğu gözlenmiştir. Deney tasarımı sonucunda zayıf asidik iyonize olabilen etkin maddenin tabletten in vitro çözünmesine pH değıştirici madde ve çözünürlük artırıcı maddenin ayrı ayrı etkisinin olduğu ve bu etkilerin toplamsal olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte deney tasarımı sonrası yapılan optimizasyon ile 3 farklı cevap için tasarım sahası oluşturulmuştur. Bu tasarım sahası ile formülasyon değışikliklerinde elde edilecek çözünme profilinin tahmin edilmesinde yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

Zayıf asit etkin maddenin kontrollü salan matriks tabletten salım profillerinin çözünürlük artırıcı madde ve pH değıştirici madde tipi ve konsantrasyonu gibi formülasyon parametrelerinin değıştirilmesiyle kontrol edilebileceğı saptanmıştır.

Formülasyonlarda pH'dan bağımsız kontrollü salım elde etmek amacıyla kullanılan pH değıştirci madde olan sodyum sitrat, çözünürlük artırıcı madde olan Lutrol F127 ve hız kontrol edici polimer olan HPMC E4M'nin etkin madde ve diğler yardımcı maddelerle etkileşmediğı DSC analizleri ile bulunmuştur.

Farklı sıcaklık ve nem ortamlarında bekletilen F9 tabletlerinin 6 ay süresince çözünme, nem ve sertlik özellikleri incelendiğinde 25°C %60 bağıl nem koşullarında değışiklik göstermediğı gözlenmiştir. Bununla birlikte 40°C %75 bağıl nem koşullarında formülasyon içeriğindeki Lutrol F127'nin kauçuğumsu hale geçmesi nedeniyle tabletlerin nem almaksızın çözünmede ve tablet sertliğinde düşüş gözlenmiştir. Bu nedenle formülasyonun 25°C ve altındaki sıcaklıklarda saklanması gerektiğı sonucu çıkarılmıştır.

Yapılan tüm çalışmalar sonrasında optimum formülasyon olduğuna karar verilen F9 formülasyonu için GastroPlus® bilgisayar yazılımı ile in vivo simülasyon yapılmış ve zayıf asit maddenin kontrollü salan matriks tabletten plazma-zaman profili çizilerek farmakokinetik parametreler hesaplanmıştır. Buna göre hızlı salan tablet ile pH'dan bağımsız salım yapan matriks tablet formülasyonunun C_{max} değlerleri benzer olduğu, buna karşılık pH'dan bağımsız salım yapan matriks tabletin AUC ve t_{max} değlerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçların ümit verici olduğu ancak klinik çalışmalarla da desteklenmesi gerektiğı düşünülmektedir.

7. ÖZET

Zayıf asit bir ilacın pH'dan bağımsız salım yapan matriks tablet formülasyonunun geliştirilmesi

Bu çalışmanın amacı, zayıf asidik yapıda bir etkin madde olan valsartanın pH'dan bağımsız kontrollü salım yapan tablet formülasyonlarını geliştirmek ve pH'dan bağımsız salım üzerinde etkili formülasyon parametrelerini incelemektir. pH'dan bağımsız kontrollü salım yapan matriks tabletler farklı pH değiştirici maddeler, çözünürlük artırıcı madde ve matriks oluşturucu polimerler kullanılarak doğrudan basım yöntemi ile hazırlanmıştır. Valsartan zayıf asit yapıda olması nedeniyle çalışmada model ilaç olarak kullanılmıştır.

Valsartanın fizikokimyasal karakteristikleri partikül boyutu analizi, DSC, UV ve FT-IR spektrumları ile tanımlanmıştır. In vitro çözünme çalışmaları palet yöntemine göre USP 31, Yöntem A, 0.1 N HCl, pH 4.5 fosfat tamponu ve pH 6.8 fosfat tamponu ortamlarında gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan tabletlerin pH'dan bağımsız kontrollü salım davranışları in vitro çözünme yöntemi ile incelenmiştir.

Ön formülasyon çalışmalarında kullanılan pH değiştirici maddelerin çözünürlüğü ve alkali özelliği ve hız kontrol edici polimerin viskozitesinin ve metoksi grup içeriğinin pH'dan bağımsız salım üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. pH değiştirici ve çözünürlük artırıcı maddenin konsantrasyonlarının asit ve bazik ortamda etkin madde salımına etkisini incelemek amacı ile merkezi tekrarlı deney tasarımı uygulanmıştır.

Çalışma sonucunda pH değıştirici madde olarak soydum sitrat ve çözünürlük artırıcı madde olarak Lutrol F127 kullanılarak hazırlanan HPMC matriks tabletin asit ortamda etkin madde salımını artırarak pH'dan bağımsız kontrollü salım elde edilmiştir. Etkin maddenin salım profili, pH değıştirici madde ve matriks oluşturunçu polimerin tipi ve konsantrasyonu gibi formülasyon parametreleri ile kontrol edilebilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kontrollü salan ilaç şekilleri, pH'dan bağımsız salan ilaç şekilleri, valsartan, pH değıştirici maddeler, sodyum sitrat, poloksamer

8.SUMMARY

Development of pH independent release of matrix tablet formulation of weakly acidic drug

The aim of this study is to develop pH -independent controlled release matrix tablet dosage form for a weak acidic drug, valsartan and to study the effect of important formulation parameters on pH independent controlled release behaviour of these systems. pH independent controlled release matrix tablets were prepared by direct compression method using different types of pH modifiers, a solubility enhancer and matrix forming polymers. The weak acid valsartan was incorporated into the formulation as a model drug.

Physicochemical characteristics of valsartan were determined by UV and FT-IR spectrums, differential scanning calorimetry and particle size analysis. In vitro dissolution studies were performed using the paddle method in USP 31, Method A, 0.1 N HCl, pH 4.5 phosphate buffer and pH 6.8 phosphate buffer mediums. The pH independent controlled release of the matrix tablets were investigated by in vitro dissolution studies. The effect of the solubility and alkalinity of pH modifiers and the viscosity and epoxy groups of matrix forming polymer on the resulting pH independent release of the investigated tablets was found important in the preformulation studies. Central composite design have been applied to study the effect of the concentration of pH modifier and the solubility enhancer on drug release in acidic and basic medium. The drug release patterns can effectively be adjusted by varying simple formulation parameters, such as the type and concentration of pH modifier and matrix forming polymer.

In conclusion the addition of sodium citrate as pH modifier and Lutrol F127 as the solubility enhancer to the controlled release matrix tablet maintained high drug release in acidic medium leading to pH independent drug release.

Keywords: Controlled release dosage forms, pH independent dosage forms, valsartan, pH modifiers, sodium citrate, poloxamer

9.KAYNAKLAR

1. Qui Y, Zhang G. Chapter 23: Research and development aspects of oral controlled-release dosage forms. In: Wise DL, editors. Handbook of Pharmaceutical controlled release technology. 1st ed. New York: CRC Press; 2000. p. 465–505.
2. Gürsoy AZ. Kontrollü salım sistemleri. İçinde: Gürsoy AZ, editör. Farmasötik teknoloji temel konular ve dozaj şekilleri. 2. baskı. İstanbul: Kontrollü salım sistemleri derneği yayını; 2004. s. 409–22.
3. Ritger PL, Peppas NA, et al. A simple equation for description of solute release.I. Fickian and non-Fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres and cylinders. J Control Rel 1984; 17: 329–31.
4. Charman SA, Charman WN. Chapter 1: Oral modified-release delivery systems. In: Rathbone MJ, Hadgraft J, Roberts MS, editors. Modified-release drug delivery technology. 1st ed. USA: Marcel Dekker Inc; 2003. p. 1–10.
5. Gürsoy AZ. GİRİŞ. İçinde: Gürsoy AZ, editör. Kontrollü salım sistemleri. 1.baskı. İstanbul: Kontrollü salım sistemleri derneği yayını; 2002. s. 3–6.
6. Dortunç B. Bölüm 8: Oral sistemler. İçinde: Gürsoy AZ, editör. Kontrollü salım sistemleri. 1.baskı. İstanbul: Kontrollü salım sistemleri derneği yayını; 2002. s. 151–175.
7. Yihong Q. Chapter 20: Rational design of oral modified- release drug delivery systems. In: Qui Y, Chen Y, Zhang GGZ, editors. Developing solid oral dosage forms pharmaceutical theory and practice. 1st ed. New York: Elsevier Inc.; 2009. p.469–499.

8. United States Pharmacopeia 31. Rockville: United States Pharmacopeial Convention Inc; 2008.
9. Venkatraman S, Davar N, Chester A, Kleiner L. Chapter 22: An overview of controlled release systems. In: Wise DL, editor. Handbook of Pharmaceutical controlled release technology. 1st ed. New York: CRC Press; 2000. p. 431–463.
10. Narasimhan B. Chapter 8: Accurate models in controlled drug delivery systems. In: Wise DL, editor. Handbook of Pharmaceutical controlled release technology. 1st ed. New York: CRC Press; 2000. p. 155–181.
11. Ağabeyoğlu İ. Biyofarmasötik. İçinde: Acartürk F, Ağabeyoğlu İ, Çelebi N, Değim T, Değim Z, Doğanay T, Takka S, Tırnaksız F, editörler. Modern Farmasötik Teknoloji. 1. baskı. Ankara: Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi Yayını; 2006. s. 407–457.
12. Takka S, Acartürk F, Ağabeyoğlu İ, Çelebi N, Değim T, Değim Z. Ön Formülasyon. İçinde: Acartürk F, Ağabeyoğlu İ, Çelebi N, Değim T, Değim Z, Doğanay T, Takka S, Tırnaksız F, editörler. Modern Farmasötik Teknoloji. 1. baskı. Ankara: Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi Yayını; 2006. s. 119–40.
13. Comer J. High Throughput techniques for measurement of physicochemical properties of drugs, to aid the prediction of their ADME characteristics [online]. 2004 [cited 2009 Feb 7]. Available from: URL: www.sirius-analytical.com
14. Hörter D, Dressman JB, et al. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. Adv Drug Deliv Rev; 46: 75–87.
15. Çapan Y. Bölüm 7: Çözünürlük ve çözünmeye etkileyen faktörler. İçinde: Gürsoy AZ, editör. Farmasötik teknoloji temel konular ve dozaj şekilleri. 2. baskı. İstanbul: Kontrollü salım sistemleri derneği yayını; 2004. s. 85–100.

- 16.** Hincal AA, Bilensoy EM. Bölüm 32:Ön formülasyon ve ürün geliştirme. İçinde: Gürsoy AZ, editör. Farmasötik teknoloji temel konular ve dozaj şekilleri. 2. baskı. İstanbul: Kontrollü salım sistemleri derneği yayını; 2004. s. 435–53.
- 17.** Rao VM, Engh K, Qui Y, et al. Design of pH-independent controlled release matrix tablets for acidic drugs. *Int J Pharm* 2003; 252: 81–6.
- 18.** Avdeef A. Physicochemical Profiling (Solubility, Permeability and Charge State). *Curr Top Med Chem* 2001; 1: 277–351.
- 19.** Dressman JB, Amidon GL, Reppas C, Shah VP, et al. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: Immediate release dosage forms. *Pharm Res* 1998; 15(1): 11–22.
- 20.** Streubel A, Siepmann J, Dashevsky A, Bodmeier R, et al. pH-independent release of a weakly basic drug from water-insoluble and -soluble matrix tablets. *J Control Release* 2000; 67: 101–10.
- 21.** Riis T, Brandl AB, Wagner T, Kranz H, et al. pH-independent drug release of an extremely poorly soluble weakly acidic drug from multiparticulate extended release formulations. *Eur J Pharm Biopharm* 2007; 65: 78–84.
- 22.** Guthmann C, Lipp R, Wagner T, Kranz H, et al. Development of a novel osmotically driven drug delivery system for weakly basic drugs. *Eur J Pharm Biopharm* 2008; 69: 667–74.
- 23.** Huang YB, Tsai YH, Lee SH, Chang JS, Wu PC, et al. Optimization of pH-independent release of nifedipine hydrochloride extended-release matrix tablets using response surface methodology. *Int J Pharm* 2005; 289: 87–95.
- 24.** Kranz H, Guthmann C, Wagner T, Lipp R, Reinhard J, et al. Development of a single unit extended release formulation for ZK 811 752, a weakly basic drug. *Eur J Pharm Sci* 2005; 26: 47–53.

- 25.** Varma MVS, Kaushal AM, Garg S, et al. Influence of micro-environmental pH on the gel layer behavior and release of a basic drug from various hydrophilic matrices. *J Control Release* 2005; 130: 499–510.
- 26.** Dashevsky A, Kolter K, Bodmeier R, et al. pH-independent release of a basic drug from pellets coated with the extended release polymer dispersion Kollicoat(R) SR 30 D and the enteric polymer dispersion Kollicoat(R) MAE 30 DP. *Eur J Pharm Biopharm* 2004; 58: 45–9.
- 27.** Tatavarti AS, Mehta KA, Augsburger LL, Hoag SW, et al. Influence of methacrylic and acrylic acid polymers on the release performance of weakly basic drugs from sustained release hydrophilic matrices. *J Pharm Sci* 2004; 93(9): 2319–31.
- 28.** Tatavarti AS, Hoag SW, et al. Microenvironmental pH modulation based release enhancement of a weakly basic drug from hydrophilic matrices. *J Pharm Sci* 2006; 95(7): 1459–68.
- 29.** Sherif I, Badawy F, Hussain AM, et al. Microenvironmental pH modulation in solid dosage forms. *J Pharm Sci* 2007; 96(5): 948–59.
- 30.** Pygall SR, Kujawinski S, Timmins P, Melia CD, et al. Mechanisms of drug release in citrate buffered HPMC matrices. *Int J Pharm* 2009; 370:110–20.
- 31.** Mukesh CG, Tejas PP, Shital HB, et al. Studies in preparation and evaluation of pH-independent sustained-release matrix tablets of verapamil HCl using directly compressible eudragits. *Pharm Dev Technol* 2003; 8(4): 323–33.
- 32.** Kranz H, Le Brun V, Wagner T, et al. Development of a multi particulate extended release formulation for ZK 811 752, a weakly basic drug. *Int J Pharm* 2005; 299: 84–91.
- 33.** Siepe S, Lueckel B, Kramer A, Ries A, Gurny R, et al. Strategies for the design of hydrophilic matrix tablets with controlled microenvironmental pH. *Int J Pharm* 2006; 316: 14–20.

- 34.** Espinoza R, Hong E, Villafuerte L, et al. Influence of admixed citric acid on the release profile of pelanserine hydrochloride from hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) matrix tablets. *Int J Pharm* 2000; 201: 165–73.
- 35.** Takka S, Rajbhandari S, Sakr A, et al. Effect of anionic polymers on the release of propranolol hydrochloride from matrix tablets. *Eur J Pharm Biopharm* 2001; 52: 75–82.
- 36.** Dashevsky A, Wagner K, Kolter K, Bodmeier R, et al. Physicochemical and release properties of pellets coated with Kollicoat(R) SR 30 D, a new aqueous polyvinyl acetate dispersion for extended release. *Int J Pharm* 2005; 290: 15–23.
- 37.** Thoma K, Ziegler I, et al. The pH-independent release of fenoldopam from pellets with insoluble film coats. *Eur J Pharm Biopharm* 1998; 46: 105–13.
- 38.** Ensslin S, Moll KP, Metz H, Oetz M, Mader K, et al. Modulating pH-independent release from coated pellets: Effect of coating composition on solubilization process and drug release. *Eur J Pharm Biopharm* 2009; 72: 111–8.
- 39.** Rao VM, Haslam JL, Stella VJ, et al. Controlled and complete release of a model poorly water-soluble drug, prednisolone, from hydroxypropyl methylcellulose matrix tablets using (SBE) β -m-cyclodextrin as a solubilizing agent. *J Pharm Sci* 2001; 90(7): 807–16.
- 40.** Garg A, Gupta M, Bhargava HN, et al. Effect of formulation parameters on the release characteristics of propranolol from asymmetric membrane coated tablets. *Eur J Pharm Biopharm* 2007; 67: 725–731.
- 41.** Tran TTD, Tran PHL, Lee BJ, et al. Dissolution-modulating mechanism of alkalizers and polymers in a nanoemulsifying solid dispersion containing ionizable and poorly water-soluble drug. *Eur J Pharm Biopharm* 2009; 72: 83–90.

42. Tran PHL, Tran HTT, Lee BJ, et al. Modulation of microenvironmental pH and cristallinity of ionizable telmisartan using alkalizers in solid dispersions for controlled release. *J Control Release* 2008; 129: 59–65.
43. Irwin WJ, Machale R, Watts PJ, et al. Drug-delivery by ion Exchange. Part VII: Release of acidic drugs from anionic Exchange resinate complexes. *Drug Develop Ind Pharm* 1990; 16(6): 883–98.
44. Criscione L, Gasparo M, Buhlmayer P, Whitebread S, Ramjoun HP, Wood J, et al. Pharmacological profile of valsartan; a potent, orally active, nonpeptide antagonist of the angiotensin II AT1-receptor subtype. *Br J Pharmacol* 1993; 110 (2): 761–71.
45. Yan J, Chen L, Chen S, et al. Electrochemical behavior of valsartan and its determination in capsules. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2008; 67: 205–9.
46. Physicians' Desk Reference (PDR) 58 th ed. 2005.p. 2296–8.
47. Schmidt EK, Antonin KH, Flesch G, Racine-Poon A, et al. An interaction study with cimetidine and the new angiotensin II antagonist valsartan. *Eur J Clin Pharmacol* 1998; 53: 451–8.
48. Wu CY, Benet LZ, et al. Predicting drug disposition via application of BCS: transport/ absorption/ elimination interplay and development of a biopharmaceutics drug disposition classification system. *Pharm Res* 2005; 22 (1): 11–23.
49. Amidon GL, Lennernas H, Shah VP, Crison J, et al. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: The correlation of in vitro drug product and in vivo bioavailability. *Pharm Res* 1995; 12 (3): 413–20.
50. Gonzalez L, Lopez JA, Alonso RM, Jimenez RM, et al. Fast screening method for the determination of angiotensin II receptor antagonists in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *J Chromatogr A* 2002; 949: 49–60.

- 51.** Waldmeier F, Flesch G, Muller P, Winkler T, Kriemler HP, Buhlmayer P, Gasparo MD, et al. Pharmacokinetics, disposition and biotransformation of [¹⁴C]-radiolabelled valsartan in healthy male volunteers after a single oral dose. *Xenobiotica* 1997; 27(1): 59–71.
- 52.** Francotte E, Davatz A, Richert P, et al. Development and validation of chiral high-performance liquid chromatographic methods for the quantitation of valsartan and of the tosylate of valinebenzyl ester. *J Chromatogr B* 1996; 686(1): 77–83.
- 53.** Steinborner S, Henion J, et al. Liquid-liquid extraction in the 96-well plate format with srm lc/ms quantitative determination of methotrexate and its major metabolite in human plasma. *Anal Chem* 1999; 71: 2340–5.
- 54.** Gonzalez L, Alonso RM, Jimenez RM, et al. A high-performance liquid chromatographic method for screening angiotensin II receptor antagonists in human urine. *Chromatographia* 2000; 52 (11): 735–40.
- 55.** Daneshtalab N, Lewanczuk RZ, Jamali F, et al. High-performance liquid chromatographic analysis of angiotensin II receptor antagonist valsartan using a liquid extraction method. *J Chromatogr B* 2002; 766: 345–9.
- 56.** Perez M, Cardenas W, Ramirez G, Perez M, Restrepo P, et al. A comparative cross-over, double blind, randomized study for bioequivalence assessment between two formulations of valsartan capsules vs. tablets. *Colomb Med* 2006; 37 (2): 114–20.
- 57.** Macek J, Klima J, Ptacek P, et al. Rapid determination of valsartan in human plasma by protein precipitation and high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B* 2006; 832 (1): 169–72.
- 58.** Kocyigit-Kaymakcioglu B, Unsalan S, Rollas S et al. Determination and validation of ketoprofen, pantoprazole and valsartan together in human plasma by high performance liquid chromatography. *Pharmazie* 2006; 61 (7): 586–9.

- 59.** Iriarte G, Ferreiros N, Ibarrodo I, Alonso RM, Maguregi MI, Gonzalez L, Jimenez RM, et al. Optimization via experimental design of an SPE- HPLC- UV- fluorescence method for the determination of valsartan and its metabolite in human plasma samples. *J Sep Sci* 2006; 29 (15): 2265–83.
- 60.** Iriarte G, Ferreiros N, Ibarrodo I, Alonso RM, Maguregui I, Jimenez RM, et al. Biovalidation of an SPE-HPLC-UV-fluorescence method for the determination of valsartan and its metabolite valeryl-4-hydroxy-valsartan in human plasma. *J Sep Sci* 2007; 30 (14): 2231–40.
- 61.** Zarghi A, Shafaati A, Fooutan SM, Movahed H et al. Rapid quantification of valsartan in human plasma by liquid chromatography using a monolithic column and a fluorescence detection: application for pharmacokinetic studies. *Sci Pharm* 2008; 76: 439–50.
- 62.** Çelebier M, Sinan Kaynak MS, Altınöz S, Şahin S, et al. Validated HPLC method development: the simultaneous analysis of amlodipine and valsartan in samples for liver perfusion studies, Hacettepe Univ J Fac Pharm 2008; 28 (1): 15–30.
- 63.** Ferreiros N, Iriarte G, Alonso RM, Jimenez RM, Ortiz E, et al. Separation and quantitation of several angiotensin II receptor antagonist drugs in human urine by a SPE-HPLC-DAD method. *J Sep Sci* 2008; 31 (4): 667–76.
- 64.** Piao ZZ, Lee ES, Tran HTT, Beom-Jin Lee BJ et al. Improved analytical validation and pharmacokinetics of valsartan using HPLC with UV detection. *Arch Pharm Res* 2008; 31 (8): 1055–9.
- 65.** Tian DF, Tian XL, Tian T, Wang ZY, Mo FK et al. Simultaneous determination of valsartan and hydrochlorothiazide in tablets by RP-HPLC. *Ind J Pharm Sci* 2008; 70: 372–4.

- 66.** Cagigal E, Gonzalez L, Alonso RM, Jimenez RM, et al. Experimental design methodologies to optimise the spectrofluorimetric determination of losartan and valsartan in human urine. *Talanta* 2001; 54: 1121–33.
- 67.** Soldner A, Spahn-Langguth H, Mutschler E, et al. HPLC assays to simultaneously determine the angiotensin-AT1 antagonist losartan as well as its main and active metabolite EXP 3174 in biological material of humans and rats. *J Pharm Biomed Anal* 1998; 16: 863–73.
- 68.** Lundberg DE, Person CR, Knox S, Cyronak MJ, et al. Determination of SK&F 108566 (Teveten) in human plasma by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B* 1998; 707: 328–33.
- 69.** Flesch G, Lloyd P, Müller PH et al. Absolute bioavailability and pharmacokinetics of valsartan, an angiotensin II receptor antagonist, in man. *Eur J Clin Pharmacol* 1997; 52: 115–20.
- 70.** Tatar S, Saglik S, et al. Comparison of UV- and second derivative-spectrophotometric and LC methods for the determination of valsartan in pharmaceutical formulation. *J Pharm Biomed Anal* 2002; 30(2): 371–5.
- 71.** Kondo T, Yoshida K, Yoshimura Y, Motohashi M, Tanayama S, et al. Characterization of conjugated metabolites of a new angiotensin II receptor antagonist, candesartan cilexetil, in rats by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry following chemical derivatization. *J Mass Spectrom* 1996; 31: 873–8.
- 72.** Koseki N, Kawashita H, Hara H, Niina M, Tanaka M, Kawai R, Nagae Y, Masuda N, et al. Development and validation of a method for quantitative determination of valsartan in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* 2007; 43: 1769–74.

- 73.** Selvan PS, Gowda V, Mandal U, Solomon WDS, Pal TK, et al. Simultaneous determination of fixed dose combination of nebivolol and valsartan in human plasma by liquid chromatographic-tandem mass spectrometry and its application to pharmacokinetic study. *J Chromatogr B* 2007; 143–50.
- 74.** Levi M, Grégoire Wuerzner G, Ezan E, Pruvost A, et al. Direct analysis of valsartan or candesartan in human plasma and urines by on-line solid phase extraction coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B* 2009; 877(10): 919–26.
- 75.** Li H, Wang Y, Jiang Y, Tang Y, Wang J, Zhao L, Gu J, et al. A liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of valsartan and hydrochlorothiazide in human plasma. *J Chromatogr B* 2007; 852: 436–42.
- 76.** Philipp T, Smith TR, Glazer R, Wernsing M, Yen J, Jin J, Schneider H, Pospiech R, et al. Two multicenter, 8-week, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group studies evaluating the efficacy and tolerability of amlodipine and valsartan in combination and as monotherapy in adult patients with mild to moderate essential hypertension. *Clin Ther* 2007; 29 (4): 563–80.
- 77.** Israili ZH, Hernandez RH, Valasco M, et al. The future of antihypertensive treatment. *Am J Ther* 2007; 14: 121–34.
- 78.** Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC. *Farmakoloji Lippincott's Illustrated rewiev, Farmakoloji. Atagündüz P (Çev) 2. Basım, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 1998.*
- 79.** Latif F, Tandon S, Obeleniene R, Hankins SR, Berlowits MS, Ennezat PV, Le Jemtel TH, et al. Angiotensin II Type 1 receptor blockade with 80 and 160 mg Valsartan in healthy, normotensive subjects. *J Card Fail* 2001; 7 (3): 265–8.
- 80.** Kayaalp O. *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji.9. Basım, Ankara: Hacettepe-Taş Yayınevi; 1998.*

- 81.** Carey RM, Siragy HM, et al. Newly recognized components of the renin-angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation. *Endocr Rev* 2003; 24 (3): 261–71.
- 82.** Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, Feldman AM, Francis GS, et al. 2009 Focused update: ACCF/AHA guidelines for the diagnosis and management of heart failure in adults. *J Am Coll Cardiol* 2009; 53 (15): 1343–82.
- 83.** Krum H, Abraham WT, et al. Heart failure. *Lancet* 2009; 373: 941–55.
- 84.** Fogari R, Zoppi A, Mugellini A, Corradi L, Lazzari P, Preti P, Derosa G, et al. Efficacy and safety of two treatment combinations of hypertension in very elderly patients. *Arch Gerontol Geriatr* 2009; 48: 401–5.
- 85.** Burt VL, Cutler JA, Higgins M, Horan MJ, Labarthe D, Whelton P, Brown C, Roccella EJ, et al. Trends in the prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in the adult US population. Data from the health examination surveys, 1960 to 1991. *Hypertension* 1995; 26 (1): 60–9.
- 86.** Zagrosek VR, Neuss M, Holzmeister J, Fleck E, et al. Use of angiotensin II antagonists in human heart failure: function of the subtype 1 receptor. *J Hypertens* 1995; 13 (1): 63–71.
- 87.** Freis ED, Papademetriou V, et al. Current drug treatment and treatment patterns with antihypertensive drugs. *Drugs* 1996; 52 (1): 1–16.
- 88.** Menard J, Chatellier G, Azizi M, et al. Do we need angiotensin II antagonists to treat hypertensive patients? *J Hum Hypertens* 1997; 11 (2): 1–7.
- 89.** Cohn J. Lessons learned from the valsartan-heart failure trial (Val-HeFT): angiotensin receptor blockers in heart failure. *Am J Cardiol* 2002; 90: 992–3.
- 90.** Azizi M, Wuerzner G, et al. Rationale for combining blockers of the renin-angiotensin System. *Semin Nephrol* 2007; 27 (5): 544–54.

- 91.** Guidelines Subcommittee of the World Health Organization-International Society of Hypertension (WHO-ISH), *J Hypertens* 17: 151–83, 1999.
- 92.** Nie J, Zhang M, Fan Y, Wen Y, Xiang B, Feng YQ, et al. Biocompatible in- tube solid- phase microextraction coupled to HPLC for the determination of angiotensin II receptor antagonists in human plasma and urine. *J Chromatogr B* 2005; 828: 62–9.
- 93.** Oparil S, Dyke S, Harris F, Kief J, Jamaes D, Hester A, Firzsimmons S, et al. The efficacy and safety of valsartan compared with placebo in the treatment of patients with essential hypertension. *Clin Ther* 1996; 18 (5): 797–810.
- 94.** Prasad PP, Yeh CM, Gurrieri P, Glazer R, McLeod J et al. Pharmacokinetics of multiple doses of valsartan in patients with heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002; 40: 801–7.
- 95.** Hermida RC, Ayala DE, Khder Y, Calvo C, et al. Ambulatory blood pressure–lowering effects of valsartan and enalapril after a missed dose in previously untreated patients with hypertension: a prospective, randomized, open-label, blinded end-point trial. *Clin Ther* 2008; 30 (1): 108–20.
- 96.** Rump LC, Baranova E, Okopien B, Weisskopf M, Kandra A, Ferber P, et al. Coadministration of valsartan 160 and 320 mg and simvastatin 20 and 40 mg in patients with hypertension and hypercholesterolemia: a multicenter, 12-week, double-blind, double-dummy, parallel-group superiority study. *Clin Ther* 2008; 30 (10): 1782–93.
- 97.** Oparil S. Newly emerging pharmacologic differences in angiotensin II receptor blockers. *Am J Hypertens* 2000; 13: 18–24.
- 98.** Calvo C, Hermida RC, Ayala DE, Luis M, Ruilope LM, et al. Effects of telmisartan 80 mg and valsartan 160 mg on ambulatory blood pressure in patients with essential hypertension. *J Hypertens* 2004; 22: 837–46.

- 99.** Lacourciere Y, Poirier L, Hebert D, Assouline L, Stolt P, Rehel B, Khder Y, et al. Antihypertensive efficacy and tolerability of two fixed-dose combinations of valsartan and hydrochlorothiazide compared with valsartan monotherapy in patients with stage 2 or 3 systolic hypertension: an 8-week, randomized, double-blind, parallel-group trial. *Clin Ther* 2005; 27 (7): 1013–21.
- 100.** Mueck AO, Heuberger H, Seeger H, Wallwiener D, et al. Comparison of valsartan with candesartan on their possible protection from atherosclerosis. *J Clin Basic Cardiol* 2001; 4 (4): 297–9.
- 101.** Elliott WJ, Calhoun DA, DeLucca PT, Gazdick LP, Kerns DE, Zeldin RK, et al. Losartan versus valsartan in the treatment of patients with mild to moderate essential hypertension: data from a multicenter, randomized, double-blind, 12-week trial. *Clin Ther* 2001; 23 (8): 1166–79.
- 102.** Fogari R, Zoppi A, Mugellini A, Preti P, Banderali A, Pesce RM, Vanasia A, et al. Comparative efficacy of losartan and valsartan in mild-to-moderate hypertension: results of 24-hour ambulatory blood pressure monitoring. *Curr Ther Res* 1999; 60 (4): 195–206.
- 103.** Shetty SS, Delgrande D, et al. Differential inhibition of the prejunctional actions of angiotensin II in rat atria by valsartan, irbesartan, eprosartan, and losartan. *J Pharm Exp Ther* 2000; 294 (1): 179–186.
- 104.** Malacco E, Piazza S, Meroni R, Milanese A, et al. Comparison of valsartan and irbesartan in the treatment of mild to moderate hypertension: a randomized, open-label, crossover study. *Curr Ther Res* 2000; 61 (11): 789–97.
- 105.** Fogari R, Mugellini A, Zoppi A, Derosa G, Rinaldi A, Fogari E, Vanasia A, Preti P, et al. Efficacy of losartan, valsartan, and telmisartan in patients with mild to moderate hypertension: a double-blind, placebo-controlled, crossover study using ambulatory blood pressure monitoring. *Curr Ther Res* 2002; 63 (1): 1–14.

- 106.** Wellington K, Faulds DM, et al. Valsartan/Hydrochlorothiazide a review of its pharmacology, therapeutic efficacy and place in the management of hypertension. *Drugs* 2002; 62 (13): 1985–2005.
- 107.** Rajagopalan S, Zannad F, Radauceanu A, Glazer R, Jia Y, Prescott MF, Kariisa M, Pitt B, et al. Effects of valsartan alone versus valsartan/simvastatin combination on ambulatory blood pressure, c-reactive protein, lipoproteins, and monocyte chemoattractant protein–1 in patients with hyperlipidemia and hypertension. *Am J Cardiol* 2007; 100: 222–6.
- 108.** Chatzizisis YS, Jonas M, Beigel R, Coskun AU, Baker AB, Stone BV, Maynard C, Gerrity RG, Daley W, Edelman ER, Feldman CL, Stone PH, et al. Attenuation of inflammation and expansive remodeling by valsartan alone or in combination with simvastatin in high-risk coronary atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis* 2009; 203: 387–4.
- 109.** Oparil S, Yarows SA, Patel S, Fang H, Zhang J, Satlin A, et al. Efficacy and safety of combined use of aliskiren and valsartan in patients with hypertension: a randomised, double-blind trial. *Lancet* 2007; 370: 221–9.
- 110.** Poldermans D, Glazer R, Karagiannis S, Wernsing M, Kaczor J, Chiang YT, Yen J, Gamboa R, Fomina I, et al. Tolerability and blood pressure-lowering efficacy of the combination of amlodipine plus valsartan compared with lisinopril plus hydrochlorothiazide in adult patients with stage 2 hypertension. *Clin Ther* 2007; 29 (2): 279–89.
- 111.** Plosker GL, Robinson DM, et al. Amlodipine/ valsartan : fixed-dose combination in hypertension. *Drugs* 2008; 68 (3): 373–81.
- 112.** Sheng KY, Yu TY, Hao Y, Hua YG, et al. Effects of valsartan with or without benazepril on blood pressure, angiotensin II, and endoxin in patients with essential hypertension. *Acta Pharmacol Sin* 2003; 24 (4): 337–41.

- 113.** Morville P. Angiotensin II receptor antagonist in pregnancy. *J Perinatol* 2004; 24: 56–7.
- 114.** Brambilla G, Martelli A, et al. Update on genotoxicity and carcinogenicity testing of 472 marketed pharmaceuticals. *Mutat Res* 2009; 681: 209–29.
- 115.** Markham A, Goa KL, et al. Valsartan: A review of its pharmacology and therapeutic use in essential hypertension. *Drugs* 1997; 54 (2): 299–311.
- 116.** Blumer J, Batisky DL, Wells T, Shi V, Yohay SS, Sunkara G, et al. Pharmacokinetics of valsartan in pediatric and adolescent subjects with hypertension. *J Clin Pharmacol* 2009; 49: 235–41.
- 117.** İsraili ZH. Clinical pharmacokinetics of angiotensin II (AT1) receptor blockers in hypertension. *J Hum Hypertens* 2000; 14 (1): 73–86.
- 118.** Faulx MD, Francis GS, et al. Adverse drug reactions in patients with cardiovascular disease. *Curr Probl Cardiol* 2008; 33: 703–68.
- 119.** Brookman LJ, Rolan PE, Benjamin IS, Palmer KR, Wyld JP, Lloyd P, Waldmeier GFF, Sioufi A, Mullins F, et al. Pharmacokinetics of valsartan in patients with liver disease. *Clin Pharmacol Ther* 1997; 62: 272–8.
- 120.** Özensoy E. Teknolojik ve bilimsel araştırmalarda modern deney tasarımcılığı ve optimizasyon yöntemleri. Maden tetkik ve arama enstitüsü yayınları eğitim serisi no:24. Ankara: Maden tetkik ve arama enstitüsü yayınları; 1982.s. 26–47.
- 121.** Bulut P, Özer AY ve ark. Bir deney planlama yöntemi: faktöriyel tasarım. *FABAD* 1991; 16: 89–97.
- 122.** International conference on harmonization. ICH Q8-Pharmaceutical development. London: 2004.

- 123.** Huang J, Kaul G, Cai C, Chatlapalli R, Hernandez-Abad P, Ghosh K, Nagi A, et al. Quality by design case study: An integrated multivariate approach to drug product and process development. *Int J Pharm* 2009; 382: 23–32.
- 124.** Abu-Izza Ka, Garcia-Contreras L, Robert Lu D, et al. Preparation and Evaluation of Sustained Release AZT-Loaded Microspheres: Optimization of the Release Characteristics Using Response Surface Methodology. *J Pharm Sci* 1996; 85(2): 144–9.
- 125.** Design of experiments [online]. 2007. [cited 2009 April 10] Available from: URL: <http://www.iue.tuwien.ac.at/phd/plasun/node27.html>
- 126.** Molpeceres J, Guzman M, Aberturas Mr, Chacon M, Berges L, et al. Application of Central Composite Designs to the Preparation of Polycaprolactone Nanoparticles by Solvent Displacement. *J Pharm Sci* 1996; 85(2): 206–13.
- 127.** Rotthausen B, Kraus G, Schmidt PC, et al. Optimization of an effervescent tablet formulation containing spray dried L-leucine and polyethylene glycol 6000 as lubricants using a central composite design. *Eur J Pharm Biopharm* 1998; 46: 85–94.
- 128.** Altekari M, Homon CA, Kashem MA, Mason SW, Nelson RM, Patnaude LA, Yingling J, Taylor PB. Assay Optimization: A Statistical Design of Experiments Approach [on line]. 2010. [cited 2010 April 1] Available from : URL: http://www.labautopedia.com/mw/index.php/Assay_Optimization:_A_Statistical_Design_of_Experiments_Approach#Introduction#Introduction
- 129.** Adinarayana K, Ellaiah P, et al. Response surface optimization of the critical medium components for the production of alkaline protease by a newly isolated *Bacillus* sp. *J Pharm Pharmaceut Sci* 2002; 5(3): 272–8.

- 130.** STATGRAPHICS Centurion XV.I : Response surface designs (computer program). Version 15.1.02. Warrenton, (Virginia): STATGRAPHICS Centurion; 1982.
- 131.** Koç B., Ertekin FK, et al. Yanıt yüzey yöntemi ve gıda işleme uygulamaları. Ege üniversitesi, Gıda Mühendisliği, 2009; 1–8.
- 132.** Martinez-Sancho C, Herrero-Vanrell R, Negro S, et al. Optimization of Aciclovir Poly (D,L-Lactide-co-glycolide) microspheres for intravitreal administration using a Factorial design study. Int J Pharm 2004; 273: 45–56.
- 133.** Dean A, Voss D. Response surface methodology, Design and Analysis of experiments. New York: Springer-Verlag, 1998 p.562–74.
- 134.** Central composite designs [online]. 2009 [cited 2010 May 21]. Available from: URL : <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/pri/section3/pri336.ht>
- 135.** Armstrong N, Kenneth JC. Factorial design of experiments In: Armstrong N, Kenneth JC, editors. Pharmaceutical Experimental Design and Interpretation. 2nd ed. Cardiff: Taylor&Francis; 1996. p. 132–62.
- 136.** GastroPlus® : Help (computer program). Version 6.1. Lancaster: Simulation plus; 2009.
- 137.** Okumu A, DiMaso M, Löbenberg R, et al. Dynamic Dissolution Testing To Establish In Vitro/In Vivo Correlations for Montelukast Sodium, a Poorly Soluble Drug. Pharm Res 2008; 25(12): 2778–85.
- 138.** Okumu A, DiMaso M, Löbenberg R, et al. Computer simulations using GastroPlus™ to justify a biowaiver for etoricoxib solid oral drug products. Eur J Pharm Biopharm 2009; 72: 91–8.
- 139.** Handbook of pharmaceutical excipients. version 2.0.2116.16587. USA: The Pharmaceutical Press software; 2005.
- 140.** Magnesium hydroxide, Magnesium oxide, Sodium carbonate, Sodium bicarbonate [on line] 2008 [cited 2010 May 11]. Available from: URL : www.wikipedia.com

- 141.** United States Pharmacopeia 31. <<711>> Dissolution. Rockville: United States Pharmacopeial Convention Inc; 2008.
- 142.** Pravin N, Babasaheb A, Neha D, Vilasrao K, Rajashree H, et al. Solid state characterization of the inclusion complex of valsartan with methyl *b*-cyclodextrin. J Incl Phenom Macrocycl Chem 2009; 65: 377–83.
- 143.** Ankara üniversitesi eczacılık fakültesi. Farmasötik kimya pratikleri 3–4, Infrared spektroskopisi. Ankara: Ankara üniversitesi eczacılık fakültesi; 2004.
- 144.** Sampath A, Reddy AR, Yakambaram B, Thirupathi A, Prabhakar M, Reddy PP, Reddy VP, et al. Identification and characterization of potential impurities of valsartan, AT1 receptor antagonist. J Pharm Biomed Anal 2009; 50: 405–12.
- 145.** Pharmaceutical excipients from dow Water Soluble Polymers [online]. 2002 [cited 2010 Jan 10]. Available from: URL: <http://www.dow.com/>
- 146.** Ishikawa T, Watanabe Y, Takayama K, Endo H, Matsumoto M, et al. Effect of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) on the release profiles and bioavailability of a poorly water-soluble drug from tablets prepared using macrogol and HPMC. 2000; 202: 173–8.
- 147.** Nazzal S, Zaghloul AA, Khan MA, et al. Effect of Extragranular Microcrystalline Cellulose on Compaction, Surface Roughness, and In Vitro Dissolution of a Self-Nanoemulsified Solid Dosage Form of Ubiquinone. Pharm Tech 2002; April: 86–98.
- 148.** Mayol L, Quaglia F, Borzacchiello A, Ambrosio L, Rotonda ML, et al. A novel poloxamers/hyaluronic acid in situ forming hydrogel for drug delivery: Rheological, mucoadhesive and in vitro release properties. Eur J Pharm Biopharm 2008; 70: 199–206.

10.EKLER

10.1. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimi planlayıp yöneten, bilgi ve tecrübesiyle her aşamada yanımda olan, bana her konuda yardımcı olmaya çalışan, sorunlarımı sabırla dinleyip destek ve moral veren tez yöneticim, değerli hocam **Sayın Doç. Dr. Sevgi TAKKA'ya**

Gösterdikleri yakın ilgi ve yardımlarından dolayı **Sayın Prof. Dr. Füsun ACARTÜRK'e, Sayın Prof. Dr. Nevin ÇELEBİ'ye,**

Bilimsel katkılarıyla hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen **Sayın Prof. Dr. İlbeyi AĞABEYOĞLU'na, Sayın Tanver DOĞANAY'a, Sayın Prof. Dr. Tuncer DEĞİM'e, Sayın Doç. Dr. Zelihağül DEĞİM'e, Sayın Doç. Dr. Figen OCAK'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Zeynep Şafak TEKSİN'e**

Çalışmalarım boyunca sorunlarımı gidermemde yardımcı olan **Uzm. Ecz. Sibel İLBASMIŞ- TAMER'e, Dr. Ecz. Fatmanur Tuğcu DEMİRÖZ'e, Uzm. Ecz. Necibe Başaran MUTLU'ya, Uzm. Ecz. Tuğba İNCEÇAYIR'a, Uzm. Ecz. Şeyda AKKUŞ'a, Fatma ÇELİK'e**

Drogsan İlaç Sanayi AŞ ARGE departmanında birlikte aynı odayı paylaştığım mesai arkadaşlarıma ve izinler konusunda hiçbir zaman desteğini esirgemeyen müdürüm **Sayın Dr.Ecz.Nizam EMRİTTE'ye**

Ve son olarak sadece tez yazım aşamasında değil hayatımın her aşamasında beni sabırla dinleyen, destek ve yardımcı canım anneme, babama ve biricik kardeşim **İşıl SAYDAM'a**

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

11.ÖZGEÇMİŞ

19.11.1985 Ankara doğumluyum. Ortaokul ve lise öğrenimimi Gölbaşı Anadolu lisesinde tamamladım. 2003 yılında Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesine girdim ve 2007 yılında mezun oldum. 2007 yılında Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalında yüksek lisans çalışmalarına başladım. Aynı yıl Drogsan İlaçları San. ve Tic. AŞ’de Ar-Ge departmanında işe başladım ve halen aynı kurumda proje yöneticisi olarak görev yapmaktayım.