



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

**DOKTORA  
TEZİ**

**ÜÇ BOYUTLU BASKI TEKNOLOJİSİ KULLANARAK  
FLUTİKAZON PROPİYONATIN KOLONA  
HEDEFLENDİRİLMİŞ TABLET  
FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ**

**CENNET DURAN**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MAYIS 2023**



**ÜÇ BOYUTLU BASKI TEKNOLOJİSİ KULLANARAK FLUTİKAZON  
PROPIYONATIN KOLONA HEDEFLENDİRİLMİŞ TABLET  
FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ**

**Cennet DURAN**

**DOKTORA TEZİ  
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MAYIS 2023**

## ETİK BEYAN

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

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

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

Cennet DURAN

.../.../2023

ÜÇ BOYUTLU BASKI TEKNOLOJİSİ KULLANARAK  
FLUTİKAZON PROPİYONATIN KOLONA HEDEFLENDİRİLMİŞ  
TABLET FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ  
(Doktora Tezi)

Cennet DURAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2023

ÖZET

Bu tezin amacı eriyik birikim modelleme üç boyutlu baskı (FDM 3DP) yöntemiyle kolona hedeflendirilmiş flutikazon propiyonat (FLT) içeren tablet formülasyonlarının geliştirilmesi, in vitro karakterizasyon çalışmalarının yapılması ve kolit modeli oluşturulmuş sıçanlarda in vivo etkinliğinin değerlendirilmesidir. Bu amaçla pH duyarlı bir polimer olan Eudragit S100 ana matriks ve zaman kontrollü bir polimer olan etil selüloz salım geciktirici olarak kullanılarak sıcak eriyik ekstrüzyon (HME) yöntemiyle FLT yüklü filamentler elde edilmiş ve bu filamentler kullanılarak FDM 3DP yöntemiyle tabletler basılmıştır. FLT'nin erimeden amorf polimerler içerisinde disperse olduğu tablet formülasyonlarına etkin maddenin çözünürlüğünü artırmak için Gelucire 48/16 ve gammasiklodekstrin dahil edilmiştir. Bu sayede FLT'nin çözünürlüğü Gelucire 48/16 içeren F1 tabletlerinde yaklaşık 20 kat; Gelucire 48/16'ya ilaveten gammasiklodekstrin içeren F2 tabletlerinde yaklaşık 200 kat artmıştır. Geliştirilen filament ve tabletlerin farmasötik kalitesi ve yöntemin tekrarlanabilirliği in vitro karakterizasyon çalışmalarıyla kanıtlanmıştır. F1 ve F2 tabletleri oral yoldan kolona hedeflendirme amacına uygun in vitro salım profili sergilemiştir. Tabletlerin dolgu yüzdesi ve tasarım boyutlarının salım üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Farklı dozlarda FLT içeren F1 ve F2 3D tabletler basılarak dozun hastalığın evresine göre büyük ölçüde değişkenlik gösterdiği inflamatuvar bağırsak hastalıklarında (İBH) kişiselleştirilmiş tedaviye olanak sağlanmıştır. Stabilitate çalışmalarıyla geliştirilen filament ve tabletlerin hızlandırılmış ve uzun süreli test koşullarında 6 ay boyunca stabil oldukları gösterilmiştir. Sıçanların tedavi süresince takip edilen fizyolojik özelliklerinden ve sakrifikasyon sonrası kolon dokularında yapılan fiziksel, histolojik ve biyokimyasal çalışmalardan elde edilen bulgular değerlendirildiğinde F1 formülasyonunun İBH'de etkili bir iyileşme sağladığı kanıtlanmıştır. Sonuç olarak bu tez çalışmasında ilk defa İBH'nin lokal tedavisinde kullanılmak üzere FLT içeren kolona hedeflendirilmiş 3D tabletler geliştirilmiştir.

Bilim Kodu : 1020

Anahtar Kelimeler : Eriyik Birikim Modelleme, Üç Boyutlu Baskı, Sıcak Eriyik Ekstrüzyon, Filament, Tablet, Flutikazon Propiyonat, İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı

Sayfa Adedi : 241

Danışman : Prof. Dr. Sevgi TAKKA

DEVELOPMENT OF COLON-TARGETED TABLET FORMULATIONS OF  
FLUTICASONE PROPIONATE BY USING THREE DIMENSIONAL PRINTING  
TECHNOLOGY

(Ph. D. Thesis)

Cennet DURAN

GAZİ UNIVERSITY  
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

May 2023

ABSTRACT

This thesis aims to develop colon-targeted tablet formulations containing fluticasone propionate (FLT) using the fused deposition modelling three dimensional printing (FDM 3DP) method, to carry out in vitro characterization studies and evaluate the in vivo efficacy in rats with colitis model. For this purpose, FLT-loaded filaments produced by the hot melt extrusion (HME) method by using Eudragit S100, a pH-sensitive polymer, as the primary matrix and ethylcellulose, a time-controlled polymer, as a release retarder, were printed as 3D tablets by the FDM 3DP method. Gelucire 48/16 and gamma-cyclodextrin were included in tablet formulations where FLT was dispersed in amorphous polymers without melting to increase the solubility of the active substance. Thus, the solubility of FLT increased by about 20-fold in F1 tablets containing only Gelucire 48/16 and around 200-fold in F2 tablets containing gamma-cyclodextrin in addition to Gelucire 48/16. In vitro characterization studies have confirmed the pharmaceutical quality of the developed filaments and tablets, as well as the performed method's reproducibility. The F1 and F2 tablets have exhibited an in vitro release profile that is suitable for orally targeting the colon. The effect of the infill percentage and the design dimensions of tablets on drug release was evaluated. Personalized treatment in inflammatory bowel disease (IBD), where the dose varies substantially depending on the stage of the disease, has been provided by demonstrating the printability of F1 and F2 3D tablets containing FLT at various doses. Stability tests have shown that the produced filaments and tablets were stable for 6 months in both accelerated and long-term storage conditions. The findings from its physiological parameters monitored during treatment, as well as physical, histological, and biochemical studies on its colon tissues after the rats' sacrifice, have revealed that the F1 formulation achieved an effective recovery. As a result, for the first time in this thesis study, colon-targeted 3D tablets containing FLT were developed for the local treatment of IBD.

Science Code : 1020

Key Words : Fused Deposition Modelling, Three Dimensional Printing, Hot Melt Extrusion, Filament, Tablet, Fluticasone Propionate, Inflammatory Bowel Disease

Page Number : 241

Supervisor : Prof. Dr. Sevgi TAKKA

## TEŞEKKÜR

Doktora sürecimde bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, her konuda güvenen ve anlayış gösteren değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Sevgi TAKKA'ya, her ihtiyaç duyduğumda bilgi ve deneyimleriyle beni aydınlatan, ilgi ve alakalarını hiç eksik etmeyen ve bu yolda yürümem için beni cesaretlendiren değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Nevin ÇELEBİ'ye ve Sayın Prof. Dr. Füsün ACARTÜRK'e, tez izleme jürimde yer alıp değerli görüş ve önerileriyle tezime katkı sunan Sayın Prof. Dr. İmran VURAL'a, doktora ders döneminde bilgilerini bizlerle paylaşarak emek veren Sayın Prof. Dr. Figen TIRNAKSIZ, Sayın Prof. Dr. Zeynep Şafak TEKSİN'e, Sayın Doç. Dr. Fatmanur Tuğcu Demiröz'e ve diğer hocalarıma, doktora çalışmalarım boyunca her zaman yanımda olan, bilgi ve tecrübesini benimle cömertçe paylaşan, her tökezlediğimde beni yeniden ayaklandıran, bana sonsuz sabreden yardımcı danışmanım, canım ablam Dr. Öğr. Üyesi Diren SARISALTIK YAŞIN'a, her ihtiyacım olduğunda kapısını rahatça çaldığım Doç. Dr. Serdar TORT'a, yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Ayşe DEMİREL'e, Dr. Öğr. Üyesi Özen DİZAKAR'a ve Dr. Öğr. Üyesi Gurbet ORÇUN'a, tez çalışmamla ilgili öncüllerim olarak gördüğüm, deneyimlerini benimle paylaşan Dr. Uzm. Ecz. Mehtap SAYDAM'a, Dr. Öğr. Üyesi Yasin TURANLI'ya ve Dr. Öğr. Üyesi Hazal Ezgi Gültekin'e, Ankara'daki çalışmalarım sırasında beni yalnız bırakmayan Arş. Gör. Sinem SAAR, Aysel YILMAZ, Ayşegül YILDIZ ve diğer arkadaşlarıma, bölüm sekreterimiz Fatma ÇELİK'e, bana hep destek olan dostlarım Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe GÜRAĞAÇ ve Dr. Öğr. Gör. Tuba ÇOPUR'a, hiçbir konuda desteklerini esirgemeyen ve motivasyonum her düştüğünde güzel enerjileriyle yoluma ışık tutan can dostlarım Dr. Öğr. Üyesi Dilan KONYAR'a, Dr. Öğr. Üyesi Merve İNCİ ÇAMÇI'ya ve Dr. Öğr. Üyesi Fadime AYDOĞAN'a, yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Mehmet Boğa'ya, Dr. Öğr. Üyesi Ali Kemal ATEŞ'e, Dr. Öğr. Üyesi M. Ozan TOKSOY'a, Arş. Gör. Dr. Bülent SAMANCI'ya ve öğrencimiz Ömer ÇETİN'e, Ankara'da olduğum sürece bana sıcacık bir aile ortamı sağlayan, her derdime koşan Tülay ACAY ve Metin ACAY'a, ihtiyaç duyduğum her anda yanımda olan enişterim ve yengelerime, deneyler sırasında yaşadığım tüm teknik sorunları çözen ve bu tezin bitiş çizgisine gelmesinde katkısı çok büyük olan Sinan AYEBE'ye ve bu tezi 219S197 kodlu projeye destekleyen TÜBİTAK'a sonsuz teşekkür ediyorum.

Bu tezi benden çok emekleri olduğuna inandığım, bütün hayatım boyunca koşulsuz yanımda olan, her konuda güvenen, destekleyen ve bana sonsuz güç veren canım annem, babam, Saliha ablam, Suphiye ablam, abilerim ve canımdan çok sevdiğim tüm yeğenlerime ithaf ediyorum.

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                          | <b>Sayfa</b> |
|------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| ÖZET .....                                                                               | iv           |
| ABSTRACT.....                                                                            | v            |
| TEŞEKKÜR.....                                                                            | vi           |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                        | vii          |
| ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....                                                                | xiii         |
| ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....                                                                  | xvi          |
| RESİMLERİN LİSTESİ .....                                                                 | xx           |
| SİMGELER VE KISALTMALAR.....                                                             | xxiii        |
| 1. GİRİŞ.....                                                                            | 1            |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                                                  | 5            |
| 2.1. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları Crohn Hastalığı ve Ülseratif Kolit.....          | 5            |
| 2.1.1. İBH’de kullanılan ilaçlar ve tedavi yaklaşımları .....                            | 6            |
| 2.1.2. İBH’de kortikosteroid tedavisi.....                                               | 8            |
| 2.2. Flutikazon Propiyonat .....                                                         | 9            |
| 2.2.1. Fizikokimyasal özellikleri.....                                                   | 9            |
| 2.2.2. Farmakokinetik özellikleri .....                                                  | 10           |
| 2.2.3. Farmakolojik özellikleri.....                                                     | 11           |
| 2.2.4. FLT’nin İBH’de kullanımıyla ilgili yapılan çalışmalar .....                       | 11           |
| 2.3. Kolona Hedeflendirilmiş İlaç Taşıyıcı Sistemler .....                               | 13           |
| 2.3.1. Kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemleri etkileyen faktörler .....        | 14           |
| 2.3.2. Kolona hedeflendirme stratejileri.....                                            | 18           |
| 2.3.3. İBH tedavisinde oral yoldan kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler ..... | 22           |
| 2.4. Üç Boyutlu Baskı Teknolojileri ve Farmasötik Alanda Kullanımı.....                  | 24           |
| 2.4.1. 3DP teknolojileri ve temel üretim basamakları.....                                | 25           |

**Sayfa**

|                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.4.2. 3DP teknolojilerinin farmasötik alandaki uygulamaları ve üstünlükleri ..... | 28 |
| 2.5. FDM 3DP Teknolojisi ve Farmasötik Alanda Kullanımı .....                      | 31 |
| 2.5.1. FDM 3D yazıcılar ve çalışma prensipleri .....                               | 32 |
| 2.5.2. FDM 3DP yöntemiyle tablet üretim prosesi .....                              | 34 |
| 2.5.3. FDM 3DP yönteminin üstünlük ve kısıtlamaları .....                          | 44 |
| 2.5.4. FDM 3DP yönteminin farmasötik alandaki uygulamaları .....                   | 45 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM .....                                                           | 53 |
| 3.1. Kullanılan Sarf Malzemeler, Cihazlar ve Yazılımlar .....                      | 53 |
| 3.1.1. Kullanılan sarf malzemeler .....                                            | 53 |
| 3.1.2. Kullanılan cihazlar .....                                                   | 53 |
| 3.1.3. Deneylerde kullanılan çözeltiler .....                                      | 54 |
| 3.1.4. Kullanılan program ve yazılımlar .....                                      | 56 |
| 3.2. Etkin Madde Miktar Tayini Yöntemi ve Validasyonu .....                        | 56 |
| 3.2.1. Miktar tayini yöntemi .....                                                 | 56 |
| 3.2.2. Analitik yöntem validasyonu .....                                           | 56 |
| 3.3. Önformülasyon Çalışmaları .....                                               | 59 |
| 3.3.1. Etkin maddenin partikül büyüklüğünün analizi .....                          | 59 |
| 3.3.2. Etkin maddenin çözünürlük tayini .....                                      | 59 |
| 3.3.3. Diferansiyel taramalı kalorimetre analizleri .....                          | 60 |
| 3.3.4. Termal gravimetrik analiz .....                                             | 61 |
| 3.3.5. X-ışını kırınım analizi .....                                               | 61 |
| 3.3.6. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi analizleri .....                | 62 |
| 3.4. Formülasyon Geliştirme Çalışmaları .....                                      | 62 |
| 3.4.1. Filament formülasyonlarının geliştirilmesi .....                            | 62 |
| 3.4.2. Etkin madde yüklü 3D tabletlerin hazırlanması .....                         | 66 |

|                                                                               | <b>Sayfa</b> |
|-------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 3.5. Karakterizasyon Çalışmaları .....                                        | 68           |
| 3.5.1. Geçimlilik testleri.....                                               | 68           |
| 3.5.2. Etkin madde yüklü filamentlerde karakterizasyon çalışmaları .....      | 69           |
| 3.5.3. Etkin madde yüklü 3D tabletlerde karakterizasyon çalışmaları.....      | 70           |
| 3.6. 3D Tabletlerde Dolgu Yüzdesinin İn Vitro Salım Üzerine Etkisi .....      | 73           |
| 3.7. 3D Tabletlerde Boyut ve Ağırlığın İn Vitro Salım Üzerine Etkisi .....    | 73           |
| 3.8. 3D Tabletlerde Dozun Kişiselleştirilmesi .....                           | 73           |
| 3.9. 3D Tablet Formülasyonlarında Etkin Maddenin Çözünürlüğü.....             | 74           |
| 3.10. Filament ve Tabletlerde Stabilitate Çalışmaları.....                    | 74           |
| 3.11. İn Vivo Çalışmalar .....                                                | 75           |
| 3.11.1. Sıçanlarda ülseratif kolit modelinin oluşturulması .....              | 76           |
| 3.11.2. Deney grupları ve sıçanlara uygulanan tedavi protokolü.....           | 78           |
| 3.11.3. Sıçanların tedavi süresince takip edilen fizyolojik özellikleri ..... | 80           |
| 3.11.4. Kolon dokusu örneklerinin alınması ve incelenmesi .....               | 81           |
| 3.11.5. Kolon dokusunda yapılan histolojik çalışmalar .....                   | 83           |
| 3.11.6. Kolon mukozasında yapılan biyokimyasal çalışmalar .....               | 84           |
| 3.12. İstatistiksel Değerlendirmeler .....                                    | 85           |
| 4. BULGULAR .....                                                             | 87           |
| 4.1. Etkin Madde Miktar Tayini Yöntemi ve Validasyonu.....                    | 87           |
| 4.1.1. Miktar tayin yöntemi.....                                              | 87           |
| 4.1.2. Analitik yöntem validasyonu .....                                      | 88           |
| 4.2. Önformülasyon Çalışmaları .....                                          | 94           |
| 4.2.1. Etkin maddenin partikül büyüklüğünün analizi .....                     | 94           |
| 4.2.2. Etkin maddenin çözünürlük tayini .....                                 | 94           |
| 4.2.3. DSC analizleri .....                                                   | 95           |
| 4.2.4. TGA analizleri.....                                                    | 99           |

|                                                                               | <b>Sayfa</b> |
|-------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 4.2.5. XRD analizi.....                                                       | 104          |
| 4.2.6. FT-IR analizleri.....                                                  | 104          |
| 4.3. Formülasyon Geliştirme Çalışmaları .....                                 | 107          |
| 4.3.1. Filament formülasyonlarının geliştirilmesi .....                       | 107          |
| 4.3.2. Etkin madde yüklü 3D tabletlerin hazırlanması.....                     | 109          |
| 4.4. Karakterizasyon Çalışmaları .....                                        | 110          |
| 4.4.1. Geçimlilik testleri.....                                               | 110          |
| 4.4.2. Etkin madde yüklü filamentlerde karakterizasyon çalışmaları .....      | 114          |
| 4.4.3. Etkin madde yüklü 3D tabletlerde karakterizasyon çalışmaları.....      | 118          |
| 4.5. 3D Tabletlerde Dolgu Yüzdesinin İn Vitro Salım Üzerine Etkisi .....      | 123          |
| 4.6. 3D Tabletlerde Boyut ve Ağırlığın İn Vitro Salım Üzerine Etkisi .....    | 124          |
| 4.7. 3D Tabletlerde Dozun Kişiselleştirilmesi .....                           | 125          |
| 4.8. 3D Tablet Formülasyonlarında Etkin Maddenin Çözünürlüğü.....             | 126          |
| 4.9. Filament ve Tabletlerde Stabilitate Çalışmaları.....                     | 127          |
| 4.9.1. Filamentlerin stabilite çalışmaları .....                              | 127          |
| 4.9.2. Tabletlerin stabilite çalışmaları .....                                | 129          |
| 4.10. İn Vivo Çalışmalar .....                                                | 134          |
| 4.10.1. Sıçanların tedavi süresince takip edilen fizyolojik özellikleri ..... | 134          |
| 4.10.2. Kolon dokusu örneklerinin alınması ve incelenmesi .....               | 138          |
| 4.10.3. Kolon dokusunda yapılan histolojik çalışmalar .....                   | 143          |
| 4.10.4. Kolon mukozasında yapılan biyokimyasal çalışmalar.....                | 150          |
| 5. TARTIŞMA .....                                                             | 155          |
| 5.1. Etkin Madde Miktar Tayini Yöntemi ve Validasyonu .....                   | 155          |
| 5.1.1. Miktar tayin yöntemi .....                                             | 155          |
| 5.1.2. Analitik yöntem validasyonu.....                                       | 155          |
| 5.2. Önformülasyon Çalışmaları .....                                          | 156          |

|                                                                               | <b>Sayfa</b> |
|-------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 5.2.1. Etkin maddenin partikül büyüklüğünün analizi .....                     | 157          |
| 5.2.2. Etkin maddenin çözünürlük tayini .....                                 | 158          |
| 5.2.3. DSC analizleri .....                                                   | 160          |
| 5.2.4. TGA analizleri.....                                                    | 162          |
| 5.2.5. XRD analizi .....                                                      | 163          |
| 5.2.6. FT-IR analizleri .....                                                 | 164          |
| 5.3. Formülasyon Geliştirme Çalışmaları .....                                 | 166          |
| 5.3.1. Filament formülasyonlarının geliştirilmesi .....                       | 166          |
| 5.3.2. Etkin madde yüklü 3D tabletlerin hazırlanması .....                    | 175          |
| 5.4. Karakterizasyon Çalışmaları .....                                        | 177          |
| 5.4.1. Geçimlilik testleri.....                                               | 177          |
| 5.4.2. Etkin madde yüklü filamentlerde karakterizasyon çalışmaları.....       | 180          |
| 5.4.3. Etkin madde yüklü 3D tabletlerde karakterizasyon çalışmaları .....     | 184          |
| 5.5. 3D Tabletlerde Dolgu Yüzdesinin İn Vitro Salım Üzerine Etkisi .....      | 192          |
| 5.6. 3D Tabletlerde Boyut ve Ağırlığın İn Vitro Salım Üzerine Etkisi .....    | 194          |
| 5.7. 3D Tabletlerde Dozun Kişiselleştirilmesi.....                            | 194          |
| 5.8. 3D Tablet Formülasyonlarında Etkin Maddenin Çözünürlüğü.....             | 195          |
| 5.9. Filament ve Tabletlerde Stabilite Çalışmaları.....                       | 197          |
| 5.9.1. Filamentlerde stabilite çalışmaları .....                              | 197          |
| 5.9.2. Tabletlerde stabilite çalışmaları .....                                | 198          |
| 5.10. İn Vivo Çalışmalar.....                                                 | 198          |
| 5.10.1. Sıçanların tedavi süresince takip edilen fizyolojik özellikleri ..... | 198          |
| 5.10.2. Kolon dokusu örneklerinin alınması ve incelenmesi .....               | 202          |
| 5.10.3. Kolon dokusunda yapılan histolojik çalışmalar .....                   | 206          |
| 5.10.4. Kolon mukozasında yapılan biyokimyasal çalışmalar.....                | 207          |
| 5.10.5. Tedavi gruplarının etkinliği .....                                    | 209          |

|                              | <b>Sayfa</b> |
|------------------------------|--------------|
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....   | 211          |
| KAYNAKLAR .....              | 213          |
| EKLER.....                   | 237          |
| EK-1. Etik Kurul Onayı ..... | 238          |
| ÖZGEÇMİŞ.....                | 240          |



## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

| Çizelge                                                                                            | Sayfa |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Çizelge 2.1. İBH'nin tedavisinde kullanılan ilaçlar .....                                          | 7     |
| Çizelge 2.2. FLT'nin fizikokimyasal özellikleri.....                                               | 10    |
| Çizelge 2.3. FLT'nin BDP ve budesonidle karşılaştırmalı farmakokinetik özellikleri.....            | 10    |
| Çizelge 2.4. FLT ve diğer bazı steroid ilaçların glukokortikoid reseptörlerine affinitesi.....     | 11    |
| Çizelge 2.5. Gastrointestinal kanalın pH değerleri ve geçiş süreleri .....                         | 16    |
| Çizelge 2.6. İBH tedavisi için oral yoldan kolona hedeflendirilmiş ticari katı dozaj formları..... | 23    |
| Çizelge 2.7. Amorf katı dispersiyonların sınıflandırılması.....                                    | 36    |
| Çizelge 2.8. Bazı ticari HME ürünleri .....                                                        | 36    |
| Çizelge 2.9. HME yönteminin üstünlük ve kısıtlamaları.....                                         | 37    |
| Çizelge 2.10. FDM 3DP yönteminin farmasötik alandaki üstünlükleri.....                             | 44    |
| Çizelge 2.11. FDM 3DP yönteminin farmasötik alandaki kısıtlamaları.....                            | 45    |
| Çizelge 3.1. Kullanılan sarf malzemeler.....                                                       | 53    |
| Çizelge 3.2. Kullanılan cihazlar.....                                                              | 53    |
| Çizelge 3.3. HPLC miktar tayini yöntemine ait kromatografik koşullar .....                         | 56    |
| Çizelge 3.4. Formülasyon bileşenleri ve görevleri .....                                            | 62    |
| Çizelge 3.5. Eudragit S100 bazlı filament formülasyonları.....                                     | 64    |
| Çizelge 3.6. HPMCAS bazlı plasebo filament formülasyonları .....                                   | 65    |
| Çizelge 3.7. Etil selüloz bazlı plasebo filament formülasyonları .....                             | 65    |
| Çizelge 3.8. Bilgisayar ortamında tasarlanan tablet boyutları .....                                | 67    |
| Çizelge 3.9. F1 ve F2 filamentleri için 3D yazıcının işlem parametreleri.....                      | 68    |
| Çizelge 3.10. Çözünme hızı koşulları .....                                                         | 72    |
| Çizelge 3.11. Sıçanların dışkı kıvamlarının skorlanması.....                                       | 80    |
| Çizelge 3.12. Makroskobik skorlama kriterleri .....                                                | 82    |

| <b>Çizelge</b>                                                                                                                  | <b>Sayfa</b> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Çizelge 3.13. Histolojik hasar skorlama kriterleri .....                                                                        | 83           |
| Çizelge 4.1. Analiz yöntemine ait sistem uygunluk parametreleri .....                                                           | 88           |
| Çizelge 4.2. Doğrusallık tayininde kullanılan stok çözeltilerin konsantrasyonlarına karşılık gelen pik alanları.....            | 89           |
| Çizelge 4.3. Flutikazon propiyonatın doğruluk bulguları .....                                                                   | 90           |
| Çizelge 4.4. Flutikazon propiyonatın tekrarlanabilirlik bulguları .....                                                         | 90           |
| Çizelge 4.5. Flutikazon propiyonatın günler arası kesinlik bulguları.....                                                       | 91           |
| Çizelge 4.6. Yöntemin sağlamlık bulguları .....                                                                                 | 93           |
| Çizelge 4.7. Flutikazon propiyonatın farklı tampon ortamlarında çözünürlük değerleri .....                                      | 95           |
| Çizelge 4.8. Flutikazon propiyonatın %2 SLS içeren ortamlarda çözünürlük değerleri .....                                        | 95           |
| Çizelge 4.9. Flutikazon propiyonatın %3 SLS içeren ortamlarda çözünürlük değerleri .....                                        | 95           |
| Çizelge 4.10. Flutikazon propiyonatın %4 SLS içeren ortamlarda çözünürlük değerleri .....                                       | 95           |
| Çizelge 4.11. Eudragit S100 bazlı formülasyonlara ait ekstrüzyon bulguları .....                                                | 108          |
| Çizelge 4.12. HPMCAS bazlı formülasyonlara ait ekstrüzyon bulguları.....                                                        | 109          |
| Çizelge 4.13. Etil selüloz bazlı formülasyonlara ait ekstrüzyon bulguları .....                                                 | 109          |
| Çizelge 4.14. Belirlenen boyutlardaki tabletlerin teorik hacimleri ve ağırlık değerleri .....                                   | 109          |
| Çizelge 4.15. Tabletlerin teorik hacimleri ile ağırlıkları arasında lineer ilişki kurularak elde edilen doğru denklemleri ..... | 110          |
| Çizelge 4.16. Hedef tablet ağırlıkları için tasarlanan tablet boyutları .....                                                   | 110          |
| Çizelge 4.17. F1 ve F2 filamentlerinin çaplarına ait bulgular .....                                                             | 115          |
| Çizelge 4.18. F1 ve F2 filamentlerinin etkin madde yükleme etkinliği.....                                                       | 115          |
| Çizelge 4.19. F1 ve F2 filamentlerinin mekanik karakterizasyon bulguları.....                                                   | 116          |
| Çizelge 4.20. F1 ve F2 tabletlerinin çap ve kalınlık ölçümlerine ait bulgular.....                                              | 118          |
| Çizelge 4.21. F1 ve F2 tabletlerinin ağırlık tekdüzeliğine ait bulgular .....                                                   | 119          |

| <b>Çizelge</b>                                                                                                                 | <b>Sayfa</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Çizelge 4.22. F1 ve F2 tabletlerinde etkin madde miktar tayinine ait bulgular.....                                             | 119          |
| Çizelge 4.23. F1 ve F2 tabletlerinde içerik tekdüzeliğine ait bulgular .....                                                   | 120          |
| Çizelge 4.24. F1 ve F2 formülasyonlarının farklı salım kinetiklerine uyumluluk ölçütleri.....                                  | 122          |
| Çizelge 4.25. %2,5, %3,75 ve %5 etkin madde içeren filament ve tabletlerin karşılaştırmalı karakterizasyon bulguları .....     | 126          |
| Çizelge 4.26. F1 ve F2 3D tablet formülasyonlarında etkin maddenin çözünürlük değerleri.....                                   | 127          |
| Çizelge 4.27. Hızlandırılmış stabilite testlerinin başlangıç, 3. ve 6. aylara ait filament karakterizasyon bulguları .....     | 128          |
| Çizelge 4.28. Uzun süreli stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. aylara ait filament karakterizasyon bulguları .....  | 129          |
| Çizelge 4.29. Hızlandırılmış stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. aylara ait tablet karakterizasyon bulguları ..... | 130          |
| Çizelge 4.30. Uzun süreli stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. aylara ait tablet karakterizasyon bulguları .....    | 133          |
| Çizelge 4.31. Sıçanların başlangıç, tedavi öncesi ve tedavi sonrası ağırlıkları .....                                          | 134          |
| Çizelge 4.32. Sıçanların tükettikleri günlük yem miktarları.....                                                               | 136          |
| Çizelge 4.33. Sıçanlarda ülseratif kolite bağlı rektal kanama bulgusu ve ölüm sayısı...                                        | 138          |
| Çizelge 4.34. Deney gruplarındaki sıçanların kolonik ülser uzunlukları.....                                                    | 141          |
| Çizelge 4.35. Deney gruplarındaki sıçanların kolonlarına ait makroskopik skor değerleri.....                                   | 141          |
| Çizelge 4.36. Deney gruplarındaki sıçanların kolon ağırlıkları.....                                                            | 142          |
| Çizelge 4.37. Deney gruplarındaki sıçanların kolon/vücut ağırlıkları.....                                                      | 143          |
| Çizelge 4.38. Deney gruplarındaki sıçanların histolojik hasar skorları .....                                                   | 150          |
| Çizelge 4.39. Deney gruplarındaki sıçanların kolon mukozalarındaki TNF- $\alpha$ düzeyleri .....                               | 150          |
| Çizelge 4.40. Deney gruplarındaki sıçanların kolon mukozalarındaki IL-6 düzeyleri...                                           | 151          |
| Çizelge 4.41. Deney gruplarındaki sıçanların kolon mukozalarındaki MPO düzeyleri .....                                         | 152          |

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

| Şekil                                                                                                                  | Sayfa |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 2.1. İBH'nin terapötik piramidi.....                                                                             | 7     |
| Şekil 2.2. Kortikosteroidlerin etki mekanizması.....                                                                   | 8     |
| Şekil 2.3. Farmasötik alanda kullanılan 3D baskı teknikleri .....                                                      | 25    |
| Şekil 2.4. 3DP tekniklerinin temel üretim basamakları. ....                                                            | 26    |
| Şekil 2.5. FDM tipi bir 3D yazıcı (a) ve ekstrüzyon başlığı (b) .....                                                  | 34    |
| Şekil 2.6. FDM teknolojisiyle 3D tabletlerin temel üretim basamakları .....                                            | 34    |
| Şekil 2.7. Tek vidalı ekstrüder ve kısımları (a) Tek (b) ve çift vidalı<br>(c) ekstrüderlerin işlevsel bölmeleri ..... | 37    |
| Şekil 2.8. Farklı 3D tablet tasarımları.....                                                                           | 40    |
| Şekil 2.9. Farklı dolgu yüzdeleriyle basılan 3D tabletler.....                                                         | 41    |
| Şekil 2.10. Farklı dolgu desenleriyle basılan 3D tabletler .....                                                       | 41    |
| Şekil 2.11. FDM 3DP prosesiyle tablet üretimi .....                                                                    | 44    |
| Şekil 2.12. FDM ve diğer 3DP tekniklerinin farmasötik alandaki uygulamaları .....                                      | 46    |
| Şekil 4.1. Çalışma çözeltisine ait kromatogram .....                                                                   | 87    |
| Şekil 4.2. Etkin maddenin %2 SLS içeren pH 1,2 ortamındaki çözeltisine ait<br>kromatogramı.....                        | 87    |
| Şekil 4.3. Etkin maddenin %2 SLS içeren pH 6,8 ortamındaki çözeltisine ait<br>kromatogramı.....                        | 88    |
| Şekil 4.4. Etkin maddenin %2 SLS içeren pH 7,4 ortamındaki çözeltisine ait<br>kromatogramı.....                        | 88    |
| Şekil 4.5. Flutikazon propiyonatın kalibrasyon doğrusu ve denklemi.....                                                | 89    |
| Şekil 4.6. Seyreltme çözeltisine ait kromatogram .....                                                                 | 91    |
| Şekil 4.7. Asetonitrile ait kromatogram.....                                                                           | 92    |
| Şekil 4.8. Metanole ait kromatogram.....                                                                               | 92    |
| Şekil 4.9. pH 3,5 tamponuna ait kromatogram .....                                                                      | 92    |
| Şekil 4.10. Plasebo F2 tabletlerin pH 7,4 ortamındaki çözeltisine ait kromatogram.....                                 | 93    |

| <b>Şekil</b>                                                             | <b>Sayfa</b> |
|--------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Şekil 4.11. Flutikazon propiyanatın partikül büyüklüğü ve dağılımı ..... | 94           |
| Şekil 4.12. Flutikazon propiyonata ait DSC termogramı.....               | 96           |
| Şekil 4.13. Eudragit S100'e ait DSC termogramı.....                      | 96           |
| Şekil 4.14. Etil selüloza ait DSC termogramı .....                       | 97           |
| Şekil 4.15. Sitrik asit monohidrata ait DSC termogramı .....             | 97           |
| Şekil 4.16. Magnezyum stearata ait DSC termogramı.....                   | 98           |
| Şekil 4.17. Gelucire 48/16'ya ait DSC termogramı .....                   | 98           |
| Şekil 4.18. Talka ait DSC termogramı.....                                | 99           |
| Şekil 4.19. Gammasiklodekstrine ait DSC termogramı.....                  | 99           |
| Şekil 4.20. Flutikazon propiyonata ait TGA termogramı .....              | 100          |
| Şekil 4.21. Eudragit S100'e ait TGA termogram .....                      | 100          |
| Şekil 4.22. Etil selüloza ait TGA termogramı.....                        | 101          |
| Şekil 4.23. Sitrik asit monohidrata ait TGA termogramı.....              | 101          |
| Şekil 4.24. Magnezyum stearata ait TGA termogramı .....                  | 102          |
| Şekil 4.25. Gelucire 48/16'ya ait TGA termogramı .....                   | 102          |
| Şekil 4.26. Talka ait TGA termogramı .....                               | 103          |
| Şekil 4.27. Gammasiklodekstrine ait TGA termogramı .....                 | 103          |
| Şekil 4.28. Flutikazon propiyonata ait XRD difraktogramı.....            | 104          |
| Şekil 4.29. Flutikazon propiyonata ait FT-IR spektrumu .....             | 105          |
| Şekil 4.30. Eudragit S100'e ait FT-IR spektrumu .....                    | 105          |
| Şekil 4.31. Etil selüloza ait FT-IR spektrumu.....                       | 105          |
| Şekil 4.32. Sitrik asit monohidrata ait FT-IR spektrumu.....             | 106          |
| Şekil 4.33. Magnezyum stearata ait FT-IR spektrumu .....                 | 106          |
| Şekil 4.34. Gelucire 48/16'ya ait FT-IR spektrumu .....                  | 106          |
| Şekil 4.35. Talka ait FT-IR spektrumu .....                              | 107          |
| Şekil 4.36. Gammasiklodekstrine ait FT-IR spektrumu .....                | 107          |

| Şekil                                                                                                                                                        | Sayfa |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 4.37. F1 fiziksel karışım, filament ve tabletlerin etkin maddeyle karşılaştırmalı DSC termogramları .....                                              | 111   |
| Şekil 4.38. F2 fiziksel karışım, filament ve tabletlerin etkin maddeyle karşılaştırmalı DSC termogramları .....                                              | 111   |
| Şekil 4.39. F1 fiziksel karışım, filament ve tabletlerin etkin maddeyle karşılaştırmalı XRD difraktogramları .....                                           | 112   |
| Şekil 4.40. F2 fiziksel karışım, filament ve tabletlerin etkin maddeyle karşılaştırmalı XRD difraktogramları .....                                           | 113   |
| Şekil 4.41. F1 fiziksel karışım, filament ve tabletlerin etkin maddeyle karşılaştırmalı FT-IR spektrumları .....                                             | 113   |
| Şekil 4.42. F2 fiziksel karışım, filament ve tabletlerin etkin maddeyle karşılaştırmalı FT-IR spektrumları .....                                             | 114   |
| Şekil 4.43. F1 filamentine ait 3 farklı örneğin gerilme- uzama (%) eğrileri .....                                                                            | 117   |
| Şekil 4.44. F2 filamentine ait 3 farklı örneğin gerilme-uzama (%) eğrileri .....                                                                             | 117   |
| Şekil 4.45. F1 tabletlerinin in vitro çözünme hızı profili.....                                                                                              | 121   |
| Şekil 4.46. F2 tabletlerinin in vitro çözünme hızı profili.....                                                                                              | 121   |
| Şekil 4.47. F1 ve F2 tabletlerinin karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri.....                                                                     | 122   |
| Şekil 4.48. F1 Formülasyonunun Weibull kinetik modeliyle eşleştirilmesi .....                                                                                | 123   |
| Şekil 4.49. F2 Formülasyonunun Weibull kinetik modeliyle eşleştirilmesi .....                                                                                | 123   |
| Şekil 4.50. %50, %75 ve %100 F1 tabletlerine ait karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri .....                                                      | 124   |
| Şekil 4.51. 100 mg, 200 mg ve 400 mg F2 tabletlerine ait karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri .....                                              | 124   |
| Şekil 4.52. Farklı dozlarda etkin madde içeren F1a (5 mg), F1b (7,5 mg) ve F1 (10 mg) tabletlerine ait karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri..... | 125   |
| Şekil 4.53. Farklı dozlarda etkin madde içeren F2a (5 mg), F2b (7,5 mg) ve F2 (10 mg) tabletlerine ait karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri..... | 126   |
| Şekil 4.54. F1 tabletlerinin hızlandırılmış stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. aylara ait karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri..... | 131   |
| Şekil 4.55. F2 tabletlerinin hızlandırılmış stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. aylara ait karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri..... | 131   |

| Şekil                                                                                                                                                     | Sayfa |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 4.56. F1 tabletlerinin uzun süreli stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. aylara ait karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri..... | 133   |
| Şekil 4.57. F2 tabletlerinin uzun süreli stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. aylara ait karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri..... | 134   |
| Şekil 4.58. Çalışmanın başında deney gruplarındaki sıçanların ortalama ağırlıkları açısından kıyaslanması.....                                            | 135   |
| Şekil 4.59. İn vivo deney gruplarının başlangıç, tedavi öncesi ve sonrası ağırlıklarının kıyaslanması .....                                               | 136   |
| Şekil 4.60. Farklı gruplardaki sıçanların hastalık modeli oluşturma sürecinde tükettikleri ortalama günlük yem miktarlarının kıyaslanması .....           | 137   |
| Şekil 4.61. Sıçanların tedavi sürecinde tükettikleri günlük yem miktarlarının kıyaslanması.....                                                           | 137   |
| Şekil 4.62. Sıçanların dışkı skorlarının kıyaslanması .....                                                                                               | 138   |
| Şekil 4.63. Deney gruplarındaki sıçanların kolonik ülser uzunluklarının karşılaştırılması .....                                                           | 141   |
| Şekil 4.64. Deney gruplarındaki sıçanların kolonlarına ait makroskopik skor değerlerinin karşılaştırılması.....                                           | 142   |
| Şekil 4.65. Deney gruplarındaki sıçanların kolon ağırlıklarının karşılaştırılması .....                                                                   | 142   |
| Şekil 4.66. Deney gruplarındaki sıçanların kolon/vücut ağırlıklarının karşılaştırılması.....                                                              | 143   |
| Şekil 4.67. Deney gruplarındaki sıçanların histolojik hasar skorlarının karşılaştırılması .....                                                           | 150   |
| Şekil 4.68. Deney gruplarındaki sıçanların kolon mukozalarındaki TNF- $\alpha$ düzeylerinin karşılaştırılması .....                                       | 151   |
| Şekil 4.69. Deney gruplarındaki sıçanların kolon mukozalarındaki IL-6 düzeylerinin karşılaştırılması .....                                                | 152   |
| Şekil 4.70. Deney gruplarındaki sıçanların kolon mukozalarındaki MPO düzeylerinin karşılaştırılması .....                                                 | 153   |

## RESİMLERİN LİSTESİ

| Resim                                                                                                                                | Sayfa |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Resim 2.1. Kalın bağırsağın anatomik yapısı .....                                                                                    | 15    |
| Resim 2.2. Sindirim kanalının temel yapısı .....                                                                                     | 15    |
| Resim 3.1. Orijinal ekstrüder (a) ve modifiye ekstrüder (b).....                                                                     | 64    |
| Resim 3.2. Tabletlerin bilgisayar ortamında tasarlanması ve boyutlandırılması.....                                                   | 66    |
| Resim 3.3. Bilgisayar ortamında farklı iç dolgu yüzdeleriyle (sırasıyla %50, %75 ve %100) tasarlanan tabletlerin iç görünüşleri..... | 67    |
| Resim 3.4. Farklı boyutlarda basılan tabletler .....                                                                                 | 67    |
| Resim 3.5. Farklı iç dolgu yüzdeleriyle (sırasıyla %50, %75 ve %100) basılan tabletlerin iç görünüşleri .....                        | 67    |
| Resim 3.6. Stabilite kabinlerine bırakılan F1 (a) ve F2 (b) filament örnekleri.....                                                  | 75    |
| Resim 3.7. Stabilite kabinlerine bırakılan F1 (a) ve F2 (b) tablet örnekleri .....                                                   | 75    |
| Resim 3.8. Sıçanların yerleştirildiği tekli kafesler .....                                                                           | 76    |
| Resim 3.9. Sıçanlara rektal gavaj ile TNBS'nin uygulanması.....                                                                      | 77    |
| Resim 3.10. Sıçanların Trandelenburg pozisyonunda tutulması .....                                                                    | 77    |
| Resim 3.11. Formülasyonların sıçanlara oral yoldan uygulanması .....                                                                 | 79    |
| Resim 3.12. Midline kesi ile sıçanların batinlarının açılması ve kolonlarının çıkarılması .....                                      | 81    |
| Resim 4.1. Eudragit S100 (P15), HPMCAS (P32) ve etil selüloz (P36) bazlı plasebo filamentlere ait görseller.....                     | 108   |
| Resim 4.2. F1 ve F2 filamentlerine ait görseller.....                                                                                | 114   |
| Resim 4.3. F1 filamentinin sırasıyla dış yüzey (57x) ve enine kesitine (75x) ait SEM görüntüleri .....                               | 116   |
| Resim 4.4. F2 filamentinin sırasıyla dış yüzey (57x) ve enine kesitine (75x) ait SEM görüntüleri .....                               | 116   |
| Resim 4.5. F1 tabletlerinin üstten ve yandan görünüşlerine ait görseller .....                                                       | 118   |
| Resim 4.6. F2 tabletlerinin üstten ve yandan görünüşlerine ait görseller .....                                                       | 118   |
| Resim 4.7. F1 Tabletlerinin sırasıyla üst (x100) ve yan yüzey (x50) SEM görüntüleri .....                                            | 120   |

| <b>Resim</b>                                                                                             | <b>Sayfa</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Resim 4.8. F2 Tabletlerinin sırasıyla üst (x100) ve yan yüzey (x50) SEM görüntüleri.....                 | 120          |
| Resim 4.9. Hızlandırılmış stabilite test koşullarında (40 °C, %75 nem) bekletilen F1 filamentleri.....   | 127          |
| Resim 4.10. Hızlandırılmış stabilite test koşullarında (40 °C, %75 nem) bekletilen F2 filamentleri ..... | 127          |
| Resim 4.11. Uzun süreli stabilite test koşullarında (25 °C, %60 nem) bekletilen F1 filamentleri.....     | 128          |
| Resim 4.12. Uzun süreli stabilite test koşullarında (25 °C, %60 nem) bekletilen F2 filamentleri.....     | 128          |
| Resim 4.13. Hızlandırılmış stabilite test koşullarında (40 °C, %75 nem) bekletilen F1 tabletleri.....    | 129          |
| Resim 4.14. Hızlandırılmış stabilite test koşullarında (40 °C, %75 nem) bekletilen F2 tabletleri.....    | 130          |
| Resim 4.15. Uzun süreli stabilite test koşullarında (25 °C, %60 nem) bekletilen F1 tabletleri .....      | 132          |
| Resim 4.16. Uzun süreli stabilite test koşullarında (25 °C, %60 nem) bekletilen F2 tabletleri.....       | 132          |
| Resim 4.17. K Grubu- Sağlıklı kontrol grubu.....                                                         | 139          |
| Resim 4.18. ÜK-K Grubu-Kolit oluşturulup tedavi edilmeyen grup.....                                      | 139          |
| Resim 4.19. PL Grubu-Kolit oluşturulup plasebo tablet uygulanan grup.....                                | 139          |
| Resim 4.20. EM Grubu-Kolit oluşturulup FLT süspansiyonu ile tedavi edilen grup.....                      | 140          |
| Resim 4.21. F1 Grubu-Kolit oluşturulup FLT yüklü F1 tabletleri ile tedavi edilen grup.....               | 140          |
| Resim 4.22. F2 Grubu-Kolit oluşturulup FLT yüklü F2 tabletleri ile tedavi edilen grup.....               | 140          |
| Resim 4.23. Sağlıklı kontrol grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüsü .....        | 144          |
| Resim 4.24. Sağlıklı kontrol grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüleri .....      | 144          |
| Resim 4.25. ÜK-K grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüsü .....                    | 145          |

| <b>Resim</b>                                                                            | <b>Sayfa</b> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Resim 4.26. ÜK-K grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüleri. .... | 146          |
| Resim 4.27. PL grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüleri ....    | 146          |
| Resim 4.28. EM grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüsü ....      | 147          |
| Resim 4.29. EM grubuna ait HE ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüleri.....     | 147          |
| Resim 4.30. F1 grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüsü .....     | 148          |
| Resim 4.31. F1 grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüleri .....   | 148          |
| Resim 4.32. F1 grubuna ait HE ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüleri.....     | 149          |
| Resim 4.33. F2 grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüleri .....   | 149          |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

| <b>Simgeler</b> | <b>Açıklamalar</b>       |
|-----------------|--------------------------|
| %               | Yüzde                    |
| $\sigma_g$      | Geometrik standart sapma |
| $\mu g$         | Mikrogram                |
| $\mu L$         | Mikrolitre               |
| cm              | Santimetre               |
| dk              | Dakika                   |
| $f_2$           | Benzerlik faktörü        |
| g               | Gram                     |
| kg              | Kilogram                 |
| mg              | Miligram                 |
| mL              | Mililitre                |
| mm              | Milimetre                |
| mm <sup>2</sup> | Milimetrekaire           |
| mm <sup>3</sup> | Milimetreküp             |
| N               | Newton                   |
| Ng              | Nanogram                 |
| nm              | Nanometre                |
| °C              | Santigrat                |
| rpm             | Dakikadaki devir sayısı  |
| s               | Saniye                   |
| sa              | Saat                     |

| <b>Kısaltmalar</b> | <b>Açıklamalar</b>    |
|--------------------|-----------------------|
| % VK               | % Varyasyon katsayısı |
| 3D                 | 3 boyutlu             |
| 3DP                | 3 boyutlu baskı       |

**Kısaltmalar****Açıklamalar**

|               |                                                |
|---------------|------------------------------------------------|
| <b>AIC</b>    | Akaike bilgi ölçütü                            |
| <b>ANOVA</b>  | Varyansların analizi                           |
| <b>ASA</b>    | Aminosalisilik asit                            |
| <b>ASTM</b>   | The American Society for Testing and Materials |
| <b>BDP</b>    | Beklometazon dipropiyonat                      |
| <b>BP</b>     | İngiliz farmakopesi                            |
| <b>CMC</b>    | Karboksimetil selüloz                          |
| <b>CYP450</b> | Sitokrom P 450                                 |
| <b>DoD</b>    | Damla üzerine damla biriktirme                 |
| <b>DoP</b>    | Damla üzerine toz biriktirme                   |
| <b>DPE</b>    | Doğrudan toz ekstrüzyonu                       |
| <b>DSC</b>    | Diferansiyel taramalı kalorimetri              |
| <b>FDA</b>    | Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi                  |
| <b>FDM</b>    | Eriyik birikim modelleme                       |
| <b>FLT</b>    | Flutikazon propiyonat                          |
| <b>FT-IR</b>  | Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi    |
| <b>GİS</b>    | Gastrointestinal sistem                        |
| <b>HLB</b>    | Hidrofilik lipofilik balans                    |
| <b>HME</b>    | Sıcak eriyik ekstrüzyon                        |
| <b>HPC</b>    | Hidroksipropil selüloz                         |
| <b>HPLC</b>   | Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi            |
| <b>HPMC</b>   | Hidroksipropil metilselüloz                    |
| <b>HPMCAS</b> | Hidroksipropil metilselüloz asetat süksinat    |
| <b>ICH</b>    | Uluslararası Uyumlaştırma Konferansı           |
| <b>IL-6</b>   | İnterlökin-6                                   |
| <b>İBH</b>    | İnflamatuvar bağırsak hastalığı                |
| <b>JAK</b>    | Janus kinaz inhibitörü                         |
| <b>LOD</b>    | Teşhis sınırı                                  |
| <b>LOQ</b>    | Tayin sınırı                                   |
| <b>MPO</b>    | Miyeloperoksidaz                               |
| <b>MSC</b>    | Model seçme ölçütü                             |
| <b>PEG</b>    | Polietilen glikol                              |

| Kısaltmalar   | Açıklamalar                  |
|---------------|------------------------------|
| PEO           | Polietilen oksit             |
| PCL           | Polikaprolakton              |
| PLA           | Polilaktik asit              |
| PVA           | Polivinil alkol              |
| PVP           | Polivinil prolidon           |
| SEM           | Taramalı elektron mikroskobu |
| SIP           | Sfingosin-1-fosfat           |
| SLA           | Sterolitografi               |
| SLS           | Seçici lazer sinterleme      |
| SS            | Standart sapma               |
| SSE           | Yarı-katı ekstrüzyonu        |
| TEC           | Trietilsitrat                |
| TGA           | Termogravimetrik analiz      |
| TNF- $\alpha$ | Tümör nekrozis faktör-alfa   |
| TNBS          | Trinitrobenzen sülfonik asit |
| USP           | Amerikan Farmakopesi         |
| XRD           | Toz X-Ray difraksiyonu       |

## 1. GİRİŞ

İnflamatuvar bağırsak hastağı (İBH), ülseratif kolit ve Crohn hastalıklarını kapsayan özellikle kolon ve ileumda kronik ve tekrarlayan mukozal inflamasyon döngüleriyle karakterize bir hastalıktır. Hastalığın dünya çapındaki prevalansı oldukça yüksek olup endüstrileşme ile birlikte devamlı artmaktadır. İBH kötüleşme durumu olarak ifade edilen aktif hastalık evresi ile gerileme durumu olarak bilinen sessiz evre arasında sürekli olarak tekrar etmektedir. Kronik olması, kesin bir tedavisinin olmaması ve artan prevalansı sağlık sistemleri ve toplum açısından büyük bir yük oluşturmaktadır.

İBH'nin kesin bir tedavisi olmamakla birlikte kullanılan ilaçlar hastalığı sessiz evrede tutmak ve aktif evredeki şiddetli semptomları rahatlatmayı amaçlamaktadır. İBH'nin medikal tedavisinde farklı ilaç grupları kullanılmaktadır. Bunlar başlıca aminosalisilatlar, sistemik kortikosteroidler, topikal kortikosteroidler, immünosupresifler ve bazı biyolojik ilaçlardır. Kortikosteroidler 1950'lerin başından beri antiinflamatuvar ilaç olarak ülseratif kolit ve Crohn hastalıklarında temel ilaç olarak kullanılmaktadır. Medikal tedavide yaygın olarak kullanılan geleneksel kortikosteroidlerin şiddetli yan etkileri uzun süreli kullanımlarını kısıtladığından son yıllarda güçlü lokal etkiye sahip ikinci jenerasyon kortikosteroidler tercih edilmektedir. Ticari olarak bu grup kortikosteroidlerden budesonid ve beklometazonun İBH'de kullanılmak üzere kolona hedeflendirilmiş tablet ve kapsül formülasyonları bulunmaktadır. Bu grubun bir diğer önemli bileşigi olan flutikazon propiyonatin (FLT) Crohn hastalığında etkili olabileceğı yalnızca bir klinik çalışma ile gösterilmiş olup ülseratif kolitteki etkisinin araştırıldığı az sayıdaki çalışmadan elde edilen tutarsız sonuçlar nedeniyle İBH'deki terapötik etkinliğı net olarak ortaya konulamamıştır.

FLT oral uygulamadan sonra çok düşük sistemik biyoyararlanıma sahip lokal olarak güçlü bir kortikosteroittir. FLT'nin çok düşük çözünürlüğe sahip olması gastrointestinal sistemden (GİS) absorpsiyonunu kısıtlamaktadır. Çok düşük miktarda mide ve ince bağırsaklardan emilen ilacın neredeyse tamamı karaciğerde sitokrom P450 enzimleri aracılığıyla metabolize edilerek ilk geçiş etkisine uğramaktadır. İlacın oral biyoyararlanımı %1'den düşüktür. Dolayısıyla GİS'in üst kısımlarında büyük oranda emilmeden kalan ilacın kolona ulaşması ve burda lokal etki sağlaması beklenmektedir. Ancak yapılan çalışmalarda FLT'nin sudaki çözünürlüğünün çok düşük olmasının kolondaki mukozal membranlardan lokal transportunu olumsuz etkilediğı ve bunun düşük İBH etkinliğıyle sonuçlandığı rapor edilmiştir. Diğer

tarafından FLT'nin çözünürlüğünde artış sağlandığında, GIS'in üst kısımlarında emilim oranı artacağından karaciğerde ilk geçiş etkisine uğrama potansiyeli de artmış olacaktır. Burada en önemli nokta FLT'nin emilmeden veya metabolize olmadan kolona ulaştırılmasıdır.

İBH ve kolon kanseri gibi kolonik hastalıkların tedavisinde spesifik olmayan yan etkileri azaltmak ve kolonda lokal etki elde etmek amacıyla kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler son yıllarda önem kazanmıştır. İlaçların kolona taşınması oral veya rektal uygulamalarla mümkündür. Ancak ilacın transvers kolon, çıkan kolon ve çekum gibi rektumdan uzak bölgelere taşınması için rektal yol uygun değildir. Bunun yanı sıra diğer bütün dozaj formlarına ve uygulama yollarına kıyasla oral katı dozaj formları kullanım kolaylığı, standart bir üretim prosesinin olması, hasta uyuncunun yüksek olması, sabit ve kesin dozlama gibi nedenlerden dolayı her zaman ilk tercih olmaktadır. Çalışmalar, oral katı dozaj formlarının doğru şekilde tasarlandığında ilacın kolona kadar etkili bir şekilde ulaştırılabileceğini göstermektedir.

Oral yoldan kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler, mide ve ince bağırsak koşullarını parçalanmadan geçecek polimerlerin kullanımıyla mümkün olabilmektedir. Bu amaçla geleneksel oral formülasyonlarda pH duyarlı polimerlerle enterik film kaplama yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu strateji enterik kaplamanın ince bağırsaklarda erken açılmasından ötürü kolona hedeflendirme için yeterince etkili bulunmamıştır. Oral yoldan kolona hedefleme stratejisi olarak zaman kontrollü sistemler de yaygın olarak kullanılmasına rağmen, salımın erken başlaması veya aşırı gecikmesi mümkün olabilmektedir. Bu kısıtlamaların üstesinden gelmek için kolona hedeflendirme stratejisi olarak bu iki yöntemin kombine edildiği pH ve zaman kontrollü sistemler kullanılmaya başlanmıştır. Ancak kompleks bir hastalık olan İBH'nin tedavisi için geleneksel kolona hedefleme stratejileriyle geliştirilmiş oral katı dozaj formlarının kullanımı bazı kısıtlamalara sahiptir. Örneğin, İBH'de hastalığın evresiyle ilişkili olarak hastanın kolon pH'sı ve ilacın GIS'den geçiş süresi gibi fizyolojik özellikleri bireyler arası ve birey içi yüksek değişkenlik göstermektedir. Ayrıca hastalığın evresine bağlı olarak gerekli tedavi dozu sürekli değişmektedir. Dolayısıyla uygulanacak dozun optimizasyonu oldukça güçtür. Kişiselleştirilmiş tedaviye olanak sağlayan üç boyutlu baskı (three dimensional printing, 3DP) teknolojilerini kullanarak kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler geliştirmenin kompleks ve maliyetli bir hastalık olan İBH'nin tedavisinde yararlı olması beklenmektedir.

Üç boyutlu baskılama, dijital tasarımlardan 3 boyutlu (3D) ürünlerin tabaka tabaka basıldığı bir üretim tekniğidir. Son zamanlarda inovatif bir üretim aracı olan 3DP teknolojisinin diğer alanlarda olduğu gibi farmasötik endüstride de kullanımı hız kazanmıştır. Ağustos 2015'te Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration, FDA) tarafından 3DP teknolojisiyle üretilen ilk farmasötik ürünün (SPRİTAM<sup>®</sup>, ağızda dağılan tablet) onayından sonra özellikle katı dozaj formları için bu alan giderek artan bir önem kazanmıştır. Farmasötik üretimde kullanılan birçok farklı 3DP yöntemi mevcuttur. Eriyik birikim modelleme (Fused deposition modelling, FDM) teknolojisi düşük maliyeti, geniş yelpazedeki uygulamaları, kolay kullanımı ve taşınabilirliğinden dolayı farmasötik uygulamalar için son zamanlarda en çok araştırılan 3DP yöntemidir. FDM üç boyutlu yazıcıların besleme materyali olarak genellikle ilaç, çeşitli polimer ve diğer yardımcı maddeleri içeren fiziksel toz karışımlarından sıcak eriyik ekstrüzyon (Hot Melt Extrusion, HME) tekniği ile hazırlanan ince iplik şeklindeki filamentler kullanılmaktadır. 3DP teknolojileri oral katı dozaj formlarının üretiminde yaygın olarak kullanılan geleneksel üretim yöntemlerine kıyasla kompleks yapıda ürün geliştirme, kişiye özgü tedavi ve talebe bağlı üretim için avantaj sağlamaktadır. HME bazlı FDM teknolojisi, çözünürlüğü düşük maddelerin çözünürlüğünü artırmak amacıyla amorf katı dispersiyon yöntemi olarak da kullanılmaktadır. Ayrıca FDM 3DP yönteminde geniş bir polimerik matriks kullanımı mümkün olduğundan spesifik bölgeleri hedefleyen ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır.

Bu tez çalışmasının amacı suda çözünürlüğü düşük bir etkin madde olan flutikazon propiyonatin kolona hedeflendirilmiş 3D tablet formülasyonlarını geliştirmek ve bu formülasyonların İBH'nin lokal tedavisindeki etkinliğini göstermektir. Bu amaçla HME bazlı FDM 3DP yöntemiyle pH ve zaman kontrollü polimerler kullanarak kişiselleştirilmiş matriks tabletler hazırlanmış, tabletlerin in vitro karakterizasyon ve stabilite çalışmaları yapılmış ve kolit modeli oluşturulmuş sıçanlarda in vivo etkinlikleri değerlendirilmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları (İBH): Crohn Hastalığı ve Ülseratif Kolit

İBH, özellikle kolon ve ileumu etkileyen gastrointestinal sistemin kronik ve tekrarlayıcı mukozal inflamasyon sikluslarıyla karakterize hastalıklardır; İBH başlıca Crohn hastalığı ve ülseratif kolit olmak üzere iki yaygın klinik formdan oluşur. Makroskobik ve histolojik olarak her iki hastalığa ait özellikleri de taşıdığı için kesin olarak ayırt edilemeyen, vakaların % 10-15'ini oluşturan klinik form ise “indeterminate kolit” olarak tanımlanmaktadır (Ng ve diğerleri, 2017; Özkan, 2003).

Ülseratif kolit, rektumdan başlayarak proksimal kolona doğru kesintisiz bir şekilde farklı uzunluklarda yayılım gösterebilen, remisyon ve alevlenmelerle seyreden, kronik bir inflamatuvar bağırsak hastalığıdır. Crohn hastalığı ise genellikle terminal ileum ile kolonu etkilemekle birlikte ağızdan anüse doğru gastrointestinal kanalın herhangi bir bölgesinde kesintili tarzda yani arada sağlam bölgeler bırakarak yayılım gösterebilen, remisyon ve alevlenmelerle seyreden kronik inflamasyonla karakterize bir hastalıktır (Hua, Marks, Schneider ve Keely, 2015; Özkan, 2003). Ülseratif kolit hastalığında inflamasyon submukoza, muskularis ve serozanın daha derin doku katmanlarına ulaşmayıp sadece mukozayla sınırlıyken; Crohn hastalığında inflamasyon transmural olup, bağırsağın tüm duvarını serozal tabakaya kadar etkilemektedir (Collnot, Ali ve Lehr, 2012).

Ülseratif kolit ve Crohn hastalıkları genel olarak diyare, rektal kanama, ağırlık kaybı, abdominal ağrı, kramp, yorgunluk ve ateş gibi bazı ortak semptomlara sahiptir. Bu hastalıklar semptomların açık olarak görüldüğü, alevlenmenin şiddetlenmesi veya kötüleşme durumu olarak ifade edilen aktif hastalık evresi ve devamında bu semptomların ihmal edilebilir olduğu, gerileme durumu olarak da bilinen sessiz evre arasında sürekli olarak tekrar etmektedir (Guo ve diğerleri, 2018; Zeeshan, Ali, Khan, Khan ve Weigmann, 2019).

İBH'nin sebepleri ve nasıl geliştiği yapılan yoğun çalışmalara rağmen halen tam olarak bilinmemektedir. Ancak hastalığın oluşumunda çevresel faktörler, genetik varyasyonlar, intestinal mikrobiyaya değişiklikleri, doğal ve adaptif bağışıklık yanıtındaki bozukluklar gibi çeşitli faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca hastalığın gelişiminde tek bir faktörden çok daha kompleks faktörlerin rol oynadığı ve hastalığın her hastada farklı

faktörlerin kombinasyonu ile ortaya çıktığı kabul edilmektedir (Hua ve diğerleri, 2015; Özkan, 2003; Triantafillidis, Merikas ve Georgopoulos, 2011).

Son yıllarda İBH dünya çapında yaygın görülen bir halk sağlığı problemi olarak karşımıza çıkmaktadır. İBH 20. yüzyılda esas olarak Kuzey Amerika, Avrupa ve Okyanusya’da yer alan gelişmiş ülkelerin hastalığı olarak tanımlanırken; 21. yüzyılın başlarında toplumların daha çok batılılaştığı yeni endüstrileşmiş ülkelerde artan insidansı ile küresel bir hastalık olmuştur. Epidemiyolojik çalışmalar İBH’nin prevalansının küresel olarak artışta olduğu ve gelişmiş ülkelerde %0,5’i geçtiğini göstermektedir. Hastalığın kararlı bir şekilde artan prevalansı; çoğunlukla genç bireylerde görülmesi, kronik olması, kesin bir tedavisinin olmaması ve düşük mortaliteye sahip olmasıyla ilişkilendirilmiştir (Armuzzi ve diğerleri, 2022; Coward ve diğerleri, 2019; Ng ve diğerleri, 2017).

İBH tahmin edilemeyen tekrarlama ve gerileme evreleri, komplikasyonları, hastaneye yatma, cerrahi müdahale gerektirme ve pahalı tedavilerin kullanılmasından dolayı yüksek maliyetli bir hastalıktır. Hastalık; yaşamın fiziksel, fizyolojik, aile ve sosyal boyutlarını kapsadığı için bireylerin yaşam kalitesini önemli derecede etkilemektedir. Hastalığın total maliyetlerinin yarısından fazlasını erken emeklilik veya hastalık izni gibi dolaylı maliyetlerin oluşturduğu görülmüştür. Sonuç olarak, bütün bu veriler dünya çapında sürekli artan prevalansı ile sağlık sistemleri ve ekonomi üzerinde ciddi bir yük oluşturan bu kompleks ve maliyetli hastalığı yönetmek için hastalığı önlemeye yönelik araştırmalarda ve sağlık sistemlerinde inovasyonlara ihtiyacı vurgulamaktadır (Alatab ve diğerleri, 2020; Coward ve diğerleri, 2019; Ng ve diğerleri, 2017).

### **2.1.1. İBH’de kullanılan ilaçlar ve tedavi yaklaşımları**

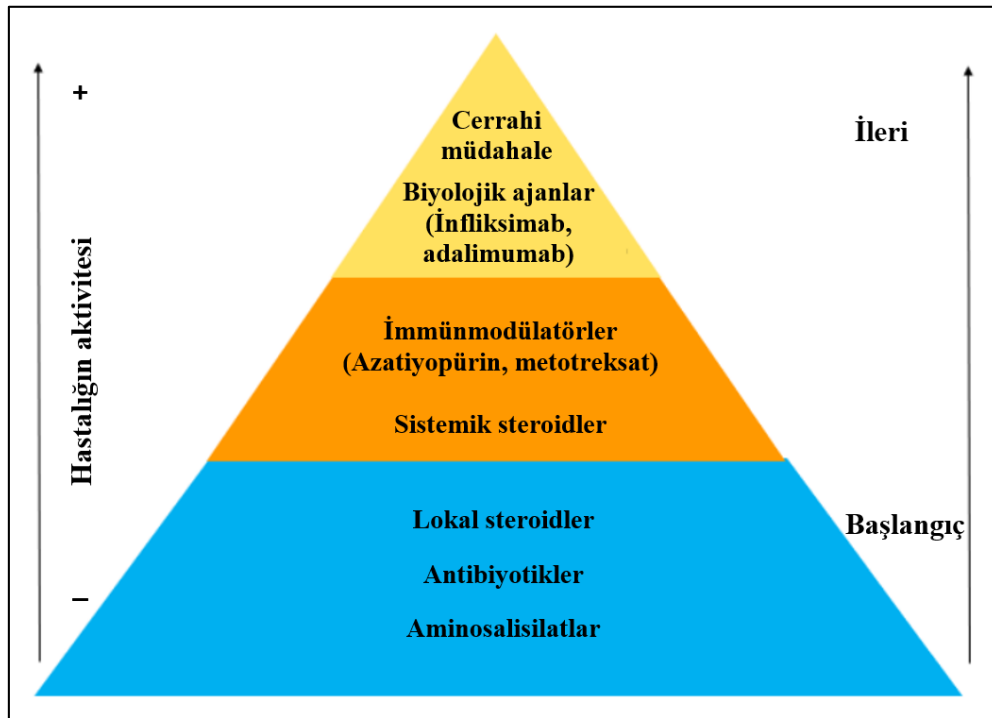
İBH’nin tedavisinde temel amaç; hastalık aktivitesinde remisyonu indüklemek ve bu durumu sürdürmek, intestinal inflamasyonu azaltmak ve aktif hastalık süresince semptomatik rahatlama sağlamaktır. İBH’nin tedavisinde rutinde aminosalisilatlar, kortikosteroidler, antibiyotikler, immünmodülatörler ve biyolojik ajanlar kullanılmaktadır (Çizelge 2.1) (Cai, Wang ve Li, 2021; Ma ve diğerleri, 2019; Pithadia ve Jain, 2011). Tedavi seçimi hastalığın aktivitesi, lokalizasyonu, nüksetme sıklığı ve hastanın genel klinik durumuna göre belirlenmektedir. Bunun yanı sıra İBH tedavisinde “step up” ve “top down” olmak üzere iki farklı terapötik yaklaşım izlenmektedir. Sıklıkla uygulanan geleneksel “step-up”

yaklaşımında hastalığın şiddeti ile birlikte tedavinin yoğunluğu da giderek artmaktadır. Bu yaklaşımda İBH'nin terapötik piramidinin en altında yer alan nispeten yüksek güvenlik profiline sahip daha az potent ilaçlardan başlanarak hastalığın şiddetine göre aşamalı olarak yukarı doğru daha yüksek yan etki profiline sahip daha potent ilaçlara geçiş yapılmaktadır (Şekil 2.1). Hastalık aktivitesinin şiddetli olduğu durumlarda daha potent ilaçlarla tedavinin başlatıldığı “top-down” yaklaşımı da uygulanmaktadır. Ancak hekimin bu farklı yaklaşımlardan birini seçmesi hastanın önceki tedavilere verdiği yanıt, klinik durumuna ve tanıya bağlı olarak değişmektedir (Aloi, Nuti, Stronati ve Cucchiara, 2014; Sales-Campos ve diğerleri, 2015).

Çizelge 2.1. İBH'nin tedavisinde kullanılan ilaçlar

|                                         |                                                                                                                                               |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Aminosalisilatlar                       | Mesalamin, sülfasalazin, mesalazin, balsalazid, olsalazin                                                                                     |
| Kortikosteroidler                       | Prednisolon, metilprednizolon, prednison, budesonid, hidrokortizon, beklometazon dipropiyonat                                                 |
| Antibiyotikler                          | Metronidazol, siprofloksasin, klaritromisin                                                                                                   |
| İmmünmodülatörler                       | 6-merkaptopürin, azatiyopürin, metotreksat, siklosporin, takrolimus                                                                           |
| Biyolojik ajanlar                       | İnfliksımab, adalimumab, sertolizumab, golimumab, vedolizumab, natalizumab, ustekinumab, risankizumab                                         |
| Küçük moleküllü yeni biyolojik ilaçlar* | Janus Kinaz (JAK) inhibitörleri (Tofasitinib, filgotinib upadasitinib), sfingosin-1-fosfat (S1P) reseptör modülatörleri (Ozanimod, etrasimod) |

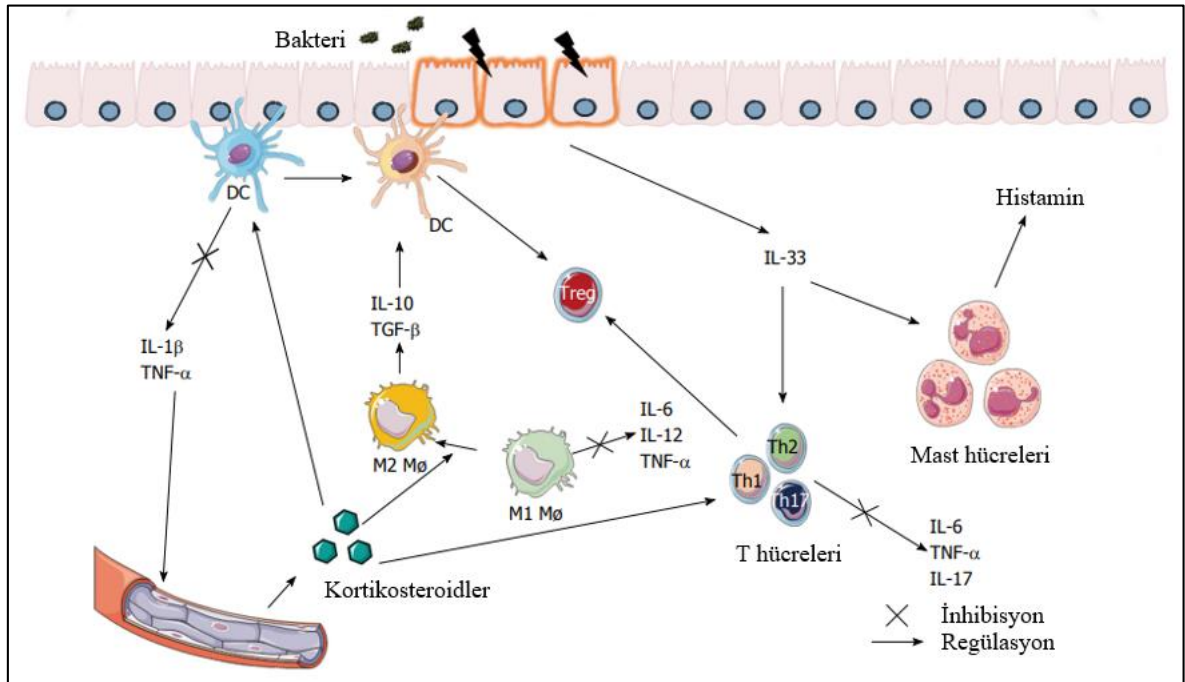
\*Tofasitinibin ülseratif kolit için kullanımı FDA tarafından onaylandı. Ancak bu gruptaki diğer ilaçlar için klinik çalışmalar devam etmektedir.



Şekil 2.1. İBH'nin terapötik piramidi (Ribaldone ve diğerleri, 2020)

### 2.1.2. İBH'de kortikosteroid tedavisi

Glukokortikosteroidler, 1950'lilerin başından beri antiinflamatuvar etkisiyle İBH'de kullanılan temel ilaçlardır (Brattsand, 1990). Glukokortikosteroidler terapötik dozlarda verildiklerinde, inflamasyonu ve immün cevapları önleyen veya baskı altına alan doğal yapıli hormonlardır (Kozuch ve Hanauer, 2008; Triantafillidis ve diğeri, 2011). Glukokortikosteroidler çoğ u hücre tipinde bulunan intrasitoplazmik glukokortikoid reseptörlerine bağlanmaktadır. Daha sonra oluş an kortikosteroid-glukokortikoid reseptör kompleksi, protein-protein etkileşimleri yoluyla proinflamatuvar makrofajlar (M1 Mø), lenfositler (T hücreleri) ve dendritik hücreler (DC) tarafından salınan bazı proinflamatuvar sitokinlerin üretimini bloke etmektedir. Bu moleküler mekanizmalar, interlökin (IL)-6, IL-1 $\beta$  ve IL-12 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin ekspresyonunu baskılamakta diğ er taraftan inflamatuvar mediyatörlerin üretimini baskılayan dönüştürücü büyüme faktörü- $\beta$ 3 (TGF- $\beta$ ) ve IL-10 gibi diğ er sitokinlerin ekspresyonunu artırmaktadır. Bunların yanısıra kortikosteroidler T ve B lenfositlerin proliferasyonunu inhibe ederek ve toleransli makrofajları (M2 Mø) aktive ederek antiinflamatuvar yanıt oluşturmakta ve sonuç olarak tüm bu mekanizmalar aracılığıyla bağırsak mukozasının iyileşmesini sağlamaktadır (Şekil 2.2) (Dubois-Camacho ve diğ erleri, 2017).



Şekil 2.2. Kortikosteroidlerin etki mekanizması

İBH hastalarında klinik remisyonu indülemek için tedavide birinci kuşak kortikosteroidler (prednizon, prednizolon, metilprednizolon, hidrokortizon) oral, rektal veya parenteral yolla kullanılmaktadır. Tedavide yaygın olarak kullanılan bu geleneksel kortikosteroidler inflamasyonu baskılamada etkili olmasına rağmen şiddetli yan etkileri uzun süreli kullanımlarını kısıtlamaktadır. Mide ve bağırsaklarda yüksek oranda emilen kortikosteroidler uykusuzluk, baş ağrısı, baş dönmesi, kilo kaybı, akne, duyu durum bozuklukları, hipertansiyon ve artmış glikoz toleransı gibi ciddi yan etkilere yol açmaktadır (Nunes, Barreiro-de Acosta, Marin-Jimenez, Nos ve Sans, 2013). Son yıllarda geleneksel kortikosteroidlerin yan etkilerini azaltmak amacıyla geliştirilen ikinci jenerasyon kortikosteroidler (budesonid, beklametazon propiyonat, prednisolon metasülfobenzoat ve flutikazon propiyonat) güçlü lokal etkiye sahip olup karaciğerde yüksek oranda ilk geçiş etkisine uğradıklarından düşük sistemik biyoyararlanım göstermektedir. Budesonid (Entocort<sup>®</sup>, Budenofalk<sup>®</sup>, Cortiment<sup>®</sup>), beklametazon propiyonat (Clipper<sup>®</sup>) ve prednisolon metasülfobenzoatın (Predocol<sup>®</sup>) İBH tedavisinde oral yoldan kullanılan lokal etkili kontrollü salım tabletleri piyasada mevcuttur. Flutikazon propiyonatın İBH’de kullanımıyla ilgili çalışmalar devam etmekle birlikte henüz piyasada ticari bir preparatı mevcut değildir (Prantera ve Marconi, 2013).

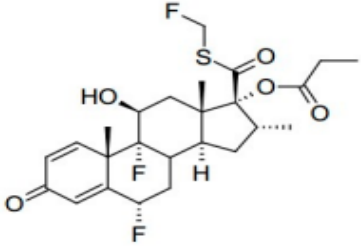
## **2.2. Flutikazon Propiyonat (FLT)**

FLT astım, alerjik rinit ve atopik dermatitin lokal tedavisinde kullanılan potent ikinci jenerasyon bir kortikosteroittir. Piyasada ölçülü doz inhaler, kuru toz inhaler, nazal sprey, merhem, krem ve losyon gibi dozaj formları mevcuttur (Dai, Liang ve Su, 2015; Doktorovova, Araujo, Garcia, Rakovsky ve Souto, 2010).

### **2.2.1. Fizikokimyasal özellikleri**

FLT fiziksel olarak beyaz kristalize bir tozdur. Pratik olarak suda çözünmez. FLT’nin fizikokimyasal özellikleri Çizelge 2.2’de özetlenmiştir (Dogbe ve diğerleri, 2019; Murnane, 2008; Vatanara, Gilani, Asgharian, Darabi ve Rafiee-Tehrani, 2009).

Çizelge 2.2. FLT'nin fizikokimyasal özellikleri

|                    |                                                                                                                                                                           |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Kimyasal yapısı    |                                                                                          |
| Kimyasal adı       | [(S)-fluorometil-6 $\alpha$ , 9 $\alpha$ -difluoro-11 $\beta$ -hidroksi-16 $\alpha$ -metil-3-okso-17 $\alpha$ -(propioniloksi)-androsta-1,4-dien-17 $\beta$ -karbotiyoat] |
| Molekül formülü    | C <sub>25</sub> H <sub>31</sub> F <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S                                                                                                           |
| Molekül ağırlığı   | 500,57 g/mol                                                                                                                                                              |
| Sudaki çözünürlüğü | <0,1 $\mu$ g/mL                                                                                                                                                           |
| Log P              | 3,4                                                                                                                                                                       |
| Erime derecesi     | 285-290 °C                                                                                                                                                                |

### 2.2.2. Farmakokinetik özellikleri

FLT oral yoldan uygulandığında çok düşük sistemik biyoyararlanıma sahiptir. FLT'nin sudaki çözünürlüğünün çok düşük olması mide ve ince bağırsaklarda emilimini büyük ölçüde kısıtlamaktadır. Bununla birlikte GİS'de çok az miktarda emilen ilacın neredeyse tamamı karaciğerde sitokrom P450 enzimleri aracılığıyla inaktif metabolitine (17 $\beta$ -karboksilik asit türevi) dönüşmektedir. Dolayısıyla FLT'nin oral biyoyararlanımı %1'den düşük bulunmuştur (Fuller, Johnson ve Bye, 1995; Harding, 1990). FLT, beklometazon dipropiyonat (BDP) ve budesonid gibi diğer lokal etkili kortikosteroidlere göre sırasıyla 3 ile 300 kat daha lipofilik bir etkin maddedir (Johnson, 1998). Buna bağlı olarak daha yüksek dağılım hacmi ve protein bağlama özelliğine sahiptir (Kaliner, 2006). FLT'nin farmakokinetik özellikleri diğer bazı lokal etkili kortikosteroidlerle karşılaştırmalı olarak Çizelge 2.3'te verilmiştir (Derendorf, Nave, Drollmann, Cerasoli ve Wurst, 2006).

Çizelge 2.3. FLT'nin BDP ve budesonidle karşılaştırmalı farmakokinetik özellikleri

|           | Oral biyoyararlanım (%) | Protein bağlama (%) | Sistemik klirens (L.h <sup>-1</sup> ) | Dağılım hacmi (L) | Yarılanma ömrü (sa) |
|-----------|-------------------------|---------------------|---------------------------------------|-------------------|---------------------|
| FLT       | <%1                     | 90                  | 69                                    | 318               | 14,4                |
| Budesonid | 11                      | 88                  | 84                                    | 183               | 2,8                 |
| BDP       | 15                      | 87                  | 230                                   | 20                | 0,1                 |

### 2.2.3. Farmakolojik özellikleri

FLT glukokortikoid reseptörlerine seçici ve yüksek affinite gösteren potent lokal etkili bir kortikosteroittir. FLT'nin glukokortikoid reseptörlerine affinitesi kortizol, BDP, budesonid gibi diğer birçok kortikosteroide kıyasla daha yüksektir (Çizelge 2.4) (Derendorf ve diğerleri, 2006; Fuller ve diğerleri, 1995). FLT'nin diğer kortikosteroidlere kıyasla glukokortikoid reseptörleriyle daha yüksek birleşme ve daha düşük ayrılma hızına sahip olması, FLT-reseptör kompleksinin yarılanma ömrünün daha yüksek olmasıyla (>10 sa) sonuçlanmaktadır. Steroid-reseptör kompleksine ait yarılanma ömrünün uzun olması, ilacın daha yüksek terapötik potansiyle ilişkilidir. FLT glukokortikoid reseptörü için yüksek affiniteye sahip olup; androjen, östrojen ve mineralokortikoid gibi diğer steroid reseptörlerine affinitesinin çok az veya hiç olmaması daha güvenli bir yan etki profili sağlamaktadır. Ayrıca FLT T-hücre miyogran ve proliferasyonunun inhibisyonunda, histamin salımını ve adezyon molekülü ekspresyonunu baskılamada ve inflamatuvar hücre apoptozunu stimüle etmede BDP, budesonid, triamsinolon ve mometazon furoat gibi diğer steroidlerden daha etkili bulunmuştur (Hogger ve Rohdewald, 1994; Johnson, 1998). FLT düşük sistemik yan etki profiliyle ve güçlü antiinflamatuvar aktivitesiyle lokal etkili bir steroid için iyi bir farmakolojik profile sahiptir. Yapılan çalışmalar FLT'nin astım tedavisinde budesonid ve BDP'den daha yüksek bir etkinlik-güvenlik profili sergilediğini göstermiştir (Falcoz ve diğerleri, 2000; Fuller ve diğerleri, 1995).

Çizelge 2.4. FLT ve diğer bazı steroid ilaçların glukokortikoid reseptörlerine affinitesi

| Kortikosteroid ilaçlar  | Bağıl reseptör affinitesi |
|-------------------------|---------------------------|
| FLT                     | 1800                      |
| Budesonid               | 935                       |
| Deksametazon (referans) | 100                       |
| BDP                     | 53                        |
| Kortizol                | 10                        |

### 2.2.4. FLT'nin İBH'de kullanımıyla ilgili yapılan çalışmalar

FLT'nin İBH tedavisinde oral ve rektal yoldan kullanımı 1987 yılında GlaxoSmithKline® tarafından patent altına alınmıştır. Bu patentte oral uygulama için geleneksel yöntemlerle hazırlanmış enterik kaplı tablet ve süspansiyon formülasyonları, ayrıca rektal uygulama için enema formülasyonları sunulmuştur. Oral yoldan uygulanacak günlük dozun hastanın durumuna bağlı olarak 2-20 mg arasında değişebileceği belirtilmiştir. Ancak bu patentte FLT

formülasyonlarının in vitro, in vivo ve stabilite çalışmalarına ait herhangi bir veriye yer verilmemiştir (Anthony, 1987). Ayrıca FLT'nin İBH için oral veya rektal yoldan uygulanan herhangi bir ticari preparatı halen mevcut değildir. Ancak yapılan az sayıda çalışmada FLT'nin özellikle Crohn olmak üzere İBH tedavisinde umut vadettiği görülmüştür (Angus, Snook, Reid ve Jewell, 1992; De Kaski, Peters, Lavender ve Hodgson, 1991; Hawthorne ve diğerleri, 1993).

FLT'nin Crohn hastalığındaki etkinliğinin araştırıldığı gözlemsel bir çalışmada 12 hastaya oral yoldan 20 mg FLT içeren tabletler verilmiştir. FLT tablet alan hastalar, Crohn hastalığının aktivite indeksi kullanılarak 3 hafta boyunca izlenmiştir. Bu hastalarda tedavi süresince herhangi bir yan etki görülmeksizin, Crohn hastalığının aktivite indeksinde önemli bir düşüş görülmüştür. Bu çalışma FLT'nin Crohn hastalığı için umut verici terapötik bir ajan olduğunu göstermektedir (De Kaski ve diğerleri, 1991). Bir başka çalışmada ise FLT'nin İBH'deki etkinliği çift kör kontrollü bir klinik çalışma yapılarak değerlendirilmiştir. İlk plasebo kontrollü olan bu çalışmada distal ülseratif kolitli 60 hastada 4 haftalık oral tedaviden sonra, FLT veya plasebo alan hastaların klinik cevapları arasında herhangi bir fark gözlenmemiştir (Angus ve diğerleri, 1992). FLT'nin ülseratif kolitteki etkisinin prednizolon ile karşılaştırıldığı 250 hasta ile yapılan bir diğer çalışmada ise FLT'nin yan etkiler açısından prednizolondan daha güvenli, ancak daha düşük etkili olduğu gösterilmiştir (Hawthorne ve diğerleri, 1993).

Literatürde FLT'nin İBH'de kullanımıyla ilgili herhangi bir in vivo çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda FLT'nin İBH'deki düşük etkinliği sudaki çözünürlüğünün çok düşük olmasına bağlanmıştır (Al-Zheery ve Kamal, 2016; Thakral, Ray, Jacobsen ve Bar-Shalom, 2012). Flutikazon propiyonatın düşük çözünürlüğüne rağmen astım tedavisindeki güçlü lokal etkisinin akciğerlerde bulunan doğal sürfaktanlarla ilişkili olabileceği tartışılmıştır. Terakosolphan, Hassoun, Kumar ve Forbes (2016) çalışmalarında çözünürlüğü çok düşük olan steroid türevi etkin madde partiküllerinin inhalasyonla akciğerlerin sürfaktan içeren mukozal yüzeyine gönderildiği zaman etkili bir şekilde çözünbildiğini belirtmiştir. Yaptıkları çalışmada FLT ve BDP gibi düşük çözünürlüğe sahip kortikosteroid ilaçların simüle akciğer sıvılarında saf suya göre çok daha yüksek çözünürlüğe sahip olduğunu göstermiştir. Thakral ve diğerleri (2012) çalışmalarında İBH'nin lokal tedavisinde kullanılmak üzere FLT'nin kolona hedeflendirilmiş formülasyonlarını geliştirmiştir. Bu çalışmada etkin maddenin sudaki çözünürlüğünü

artırmak için siklodekstrinle inklüzyon kompleksi oluşturulmuştur. Daha sonra FLT inklüzyon kompleksi ve polivinil prolidon (PVP) polimerinden granüller hazırlanmış ve pH duyarlı bir polimer olan Eudragit S100 ile kaplanmıştır. FLT siklodekstrin kompleksinin amorf formda olduğu ve intrinsik çözünürlüğü 18 kat artırdığı görülmüştür. İn vitro salım çalışmalarıyla kolona spesifik salımın arttığı, ayrıca sıçan kolonunda yapılan perfüzyon çalışmalarıyla ilacın inklüzyon kompleksi olarak verildiğinde hedef dokuda çok daha yüksek konsantrasyonlarda biriktiği gösterilmiştir. Bir diğer çalışmada FLT'nin Pluronic F-127 ve polietilen glikol (PEG) 6000 gibi hidrofilik taşıyıcılar kullanılarak çözücü buharlaştırma yöntemiyle hazırlanan katı dispersiyonu çeşitli yardımcı maddeler dahil edilerek tablet olarak basılmıştır. Bu çekirdek tabletler pH'ya bağlı salım yapan Eudragit L100 ve zamana bağlı salım yapan hidroksipropil metilselüloz (HPMC) polimerlerinin karışımı kullanılarak press yöntemiyle kaplanmıştır. Karakterizasyon çalışmalarıyla etkin maddenin amorf forma dönüştüğü ve in vitro salım çalışmalarıyla FLT yüklü tabletlerde salımın pH 7,4 kolon ortamında gerçekleştiği gösterilmiştir (Al-Zheery ve Kamal, 2016). FLT'nin çeşitli yöntemlerle çözünürlüğünün artırılması, ince bağırsaklardaki emilimini artırarak ilk geçiş etkisine uğramasına neden olmaktadır. Dolayısıyla FLT'nin İBH'de oral yoldan etkili bir lokal tedavi sağlaması başarılı bir şekilde kolona hedeflendirilmesiyle mümkündür.

### 2.3. Kolona Hedeflendirilmiş İlaç Taşıyıcı Sistemler

Kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler, İBH ve kolon kanseri gibi çeşitli bağırsak hastalıklarının lokal tedavisinde, enzimatik bozunmaya duyarlı protein-peptit gibi ilaçların sistemik yoldan verilmesinde ve gece astımı, anjina gibi sirkadyen ritim gösteren hastalıkların sistemik tedavisi için son yıllarda önem kazanmıştır. Kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler oral veya rektal yoldan uygulanabilmektedir. Rektal uygulama, ilaçları kolona hedeflemek için en kısa yol olmasına rağmen ilacın çekum, çıkan kolon ve transvers kolon gibi kolonun proksimal kısımlarına ulaşamaması ve hasta uyuncunun düşük olması bu uygulama yolunu kısıtlamaktadır. Dolayısıyla kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler için oral uygulama tercih edilmektedir (Dugad, Nalawade, Thakhre ve Kakade, 2018; Kinget, Kalala, Vervoort ve Van den Mooter, 1998). Ancak oral yoldan kolonu hedeflemenin başlıca zorluklarından biri ilacın kolona ulaşmadan gastrontestinal kanalın üst kısımlarında emilmesi ve/veya bozunmasıdır. Oral yoldan kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler tasarlanırken başta kolon olmak üzere gastrointestinal kanalın temel

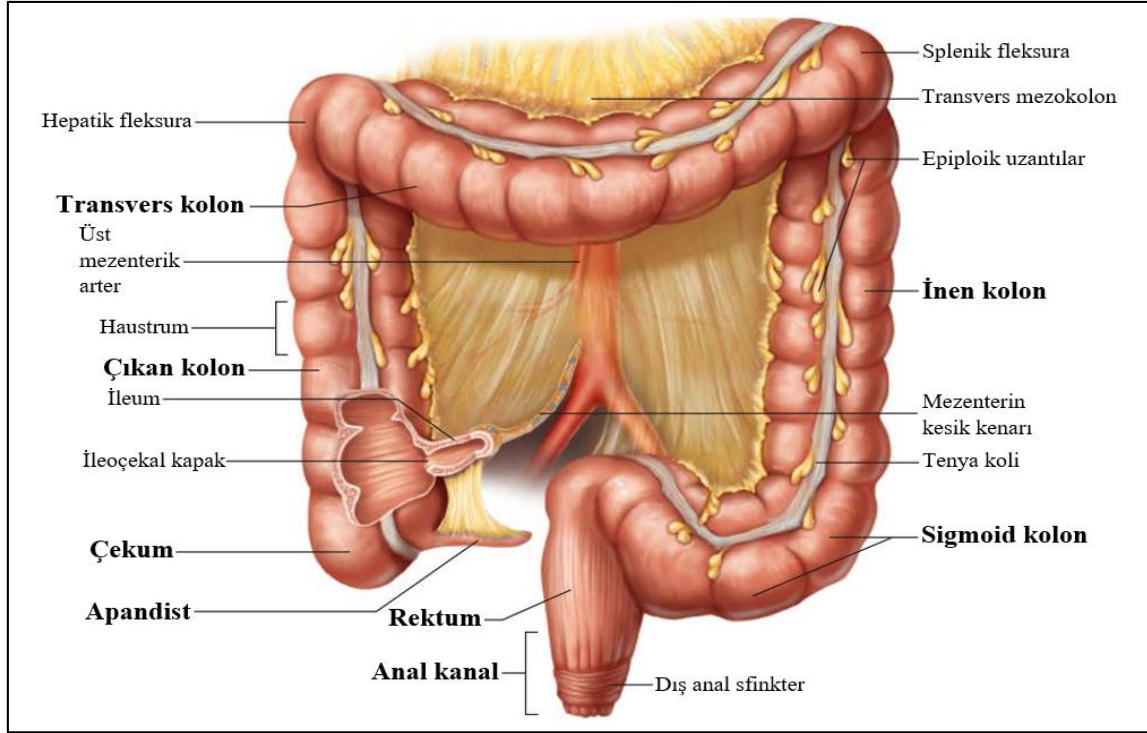
özellikleri göz önünde bulundurulmalıdır (Kurakula, Gorityala ve Moharir, 2021; Malayandi, Kondamudi, Ruby ve Aggarwal, 2014).

### **2.3.1. Kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemleri etkileyen faktörler**

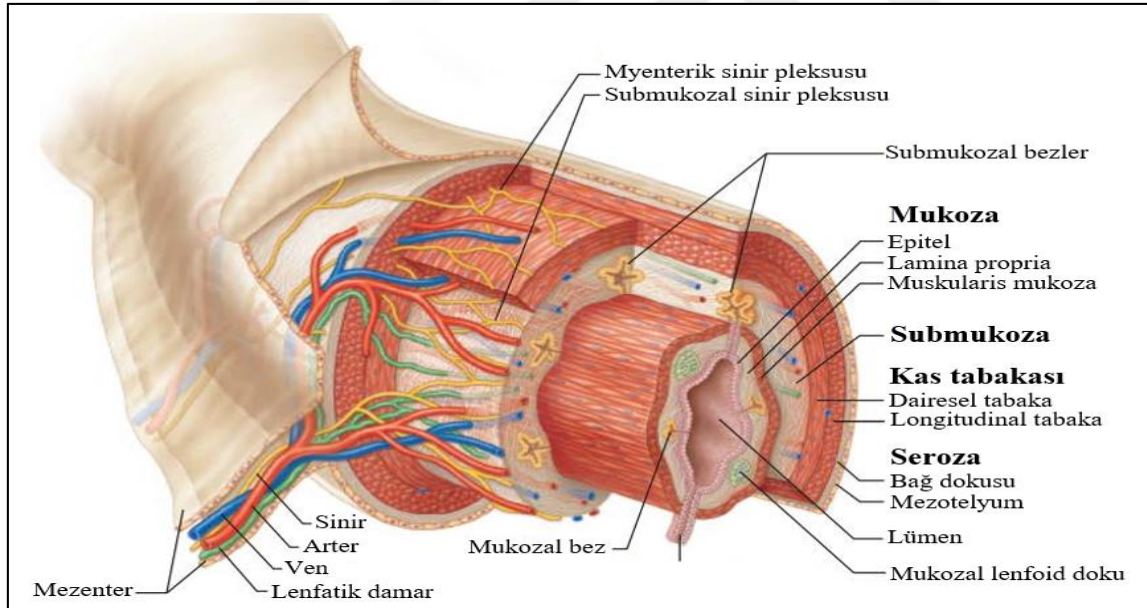
#### Kolonun anatomik ve fizyolojik özellikleri

Gastrointestinal kanal mide, ince bağırsak ve kalın bağırsak olmak 3 ana kısımdan oluşmaktadır. Yaklaşık 150 cm uzunluk ve 6,5 cm ortalama çapa sahip olan kalın bağırsak ileoçekal kapaktan anüse kadar uzanarak apandist, çekum, kolon, rektum ve anal kanalı kapsamaktadır. Kolon çekumun devamında sırasıyla çıkan kolon, transvers kolon ve inen kolon olmak üzere 3 ana bölüme ayrılmaktadır (Qureshi, Momin, Rathod, Dev ve Kute, 2013) (Resim 2.1). Kolon duvarı dıştan içe doğru seroza, muskularis eskterna (kas tabakası), submukoza ve mukozadan oluşmaktadır (Resim 2.2). Seroza kolonun dış kaplaması olup kan ve lenf damarlarını bulundurmaktadır. Muskularis eksterna, içe doğru ince bir tabaka oluşturan dairesel liflerden ve dışta boyuna liflerden oluşmaktadır. Üç bant halinde sıralanan ve “tenya koli” olarak adlandırılan boyuna kas lifleri bağırsak duvarının kasılmasından ve “haustum” olarak bilinen keselerin oluşumundan sorumludur. Submukoza, mukozanın hemen altında yer alan bir bağ dokusu tabakası olup mukozaya destek olmaktadır. Kolon lümenini kaplayan mukoza epitel, lamina propria ve muskularis mukoza olmak üzere 3 tabakadan oluşmaktadır. Lamina propria mukozanın iç yüzeyini kaplayan epitelyumu desteklemektedir. Lamina propria içerisinde kan kılcalları bulundurmakta ve makrofajlar, nötrofiller, eozinofiller, lenfositler ve plazma hücreleri için depo görevi görmektedir. Muskularis mukoza ise bir düz kas tabakasından oluşmakta ve submukozayı lamina propriadan ayırmaktadır (Kinget ve diğerleri, 1998; Van den Mooter ve Kinget, 1995).

Kolon lümeni mukusla kaplı olup ince bağırsaktaki gibi villuslara sahip değildir. Bu nedenle kolon ince bağırsaklara kıyasla daha küçük yüzey alanına sahiptir. Kolonun işlevi su ve elektrolitlerin emilimini sağlamak ve atık materyalleri atılana kadar depolamaktır. Kolon herhangi bir sindirim enzimi salgılamaz. Çünkü alınan besinlerin enzimler tarafından sindirilme süreci kimus (yarı-katı bağırsak içeriği) kolona ulaşmadan GİS’in üst kısımlarında tamamlanmaktadır. Kimus kolon boyunca ilerlerken su ve elektrolitler aşamalı olarak emilerek kalın bağırsağın alt kısımlarında katı bir dışkı oluşturmaktadır (Iswandana, Putri, Putri, Gunawan ve Larasati, 2022; Watts ve Lllum, 1997).



Resim 2.1. Kalın bağırsağın anatomik yapısı (Marieb ve Hoehn, 2007: 907)



Resim 2.2. Sindirim kanalının temel yapısı (Marieb ve Hoehn, 2007: 873)

### Kolonik geçiş süresi

Gastrointestinal kanaldan geçiş süresi kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemlerin tasarlanmasında önemli bir faktördür. Oral yoldan alınan bir dozaj formunun kolona ulaşma süresi ve kolondan geçiş süresi yaş, cinsiyet, açlık-tokluk ve hastalık durumuna bağlı olarak bireyler arası ve birey içi büyük değişkenlik göstermektedir (Kinget ve diğerleri, 1998; Van

den Mooter ve Kinget, 1995). Bunun yanı sıra yapılan çalışmalar dozaj formunun tipi, büyüklüğü, yoğunluğu ve uygulama zamanına göre gastrointestinal kanaldan geçiş sürelerinde farklılıklar olduğunu göstermiştir. Tablet ve kapsüllerin pellet gibi daha küçük dozaj formlarına kıyasla kolonik geçişlerinin daha hızlı olduğu görülmüştür (Amidon, Brown ve Dave, 2015; Watts ve Lllum, 1997). Ayrıca kolonik geçiş süresi diyare veya kabızlık gibi semptomlara sahip hastalık durumlarından da etkilenmektedir. İBH hastalarında diyareye bağlı olarak kolonik geçiş sürelerinin sağlıklı deneklerden daha kısa olduğu görülmüştür (Iswandana ve diğerleri, 2022; Patel, Bhatt, Patel, Patel ve Patel, 2011). Sağlıklı yetişkinlerde tablet gibi oral katı dozaj formlarının gastrointestinal kanaldan geçiş süreleri Çizelge 2.5’ te verilmiştir (Amidon ve diğerleri, 2015; Kinget ve diğerleri, 1998; Van den Mooter ve Kinget, 1995).

### Kolonik pH

Kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler için bir diğer önemli faktör pH değerleridir. Gastrointestinal kanal boyunca pH değerleri büyük değişkenlik göstermektedir. Sağlıklı bir insanda mide pH’sı açlık durumunda 1-2 arasında değişmektedir. Duodenumda yaklaşık 6 olan pH değeri ince bağırsağın distal kısmında (terminal ileum) 7,5’ a kadar yükselmektedir. Çekumda pH değeri 5,5’a kadar düşmekte ve kolonda tekrar kademeli olarak artmaktadır (Çizelge 2.5) (Amidon ve diğerleri, 2015; Kinget ve diğerleri, 1998; Van den Mooter ve Kinget, 1995). Polisakkaritlerin kolonik bakteriler tarafından fermentasyonu ve ardından kısa zincirli yağ asitlerini oluşturması sonucu kolonun proksimal kısmında pH’da bir düşüş gerçekleşmektedir. Dolayısıyla kolon pH’sı karbonhidrat açısından zengin bir diyetten etkilenmektedir. Ayrıca İBH hastalarında kolon pH’sının sağlıklı deneklerden daha düşük olduğu görülmüştür (Iswandana ve diğerleri, 2022; Malayandi ve diğerleri, 2014).

Çizelge 2.5. Gastrointestinal kanalın pH değerleri ve geçiş süreleri

| Gastrointestinal kanal |                 | pH değeri    | Geçiş süresi (sa) |
|------------------------|-----------------|--------------|-------------------|
| Mide                   |                 | 1-2 (Açlık)  | <1 (Açlık)        |
|                        |                 | 3-5 (Tokluk) | >3 (Tokluk)       |
| İnce bağırsak          | Duodenum        | 5-6,5        | 3-4               |
|                        | Jejunum         | 5-6,5        |                   |
|                        | İleum           | 6-7,5        |                   |
| Kalın bağırsak         | Çekum           | 5,5-7        | 20-30             |
|                        | Çıkan kolon     | 5,7-6,9      |                   |
|                        | Transvers kolon | 5,8-7,4      |                   |
|                        | İnen kolon      | 6,3-7,7      |                   |
|                        | Rektum          | ~7           |                   |

### Kolonik mikroflora

Gastrointestinal kanal, fizyolojisine ve işlevlerine katkıda bulunan ve alınan materyalin metabolizmasına katılan çeşitli anaerob ve aerob mikroorganizmalara sahiptir. Gastrointestinal kanalın üst kısımlarında (mide, duodenum ve proksimal ileum) çoğunluğu gram-pozitif aerob bakterilerden oluşan az sayıda mikroorganizma bulunmaktadır. Mide ve proksimal ince bağırsak benzer mikrofloraya sahiptir. İnce bağırsağın distal kısımları yüksek konsantrasyonda aneorob bakterilere sahip olup kolon florasına benzemektedir. İleoçekal bağlantıda bakteri konsantrasyonunda ciddi bir artış görülmekte ve kolonda bu artış devam etmektedir. Kolon florası çoğunluğu anerob bakterilerden oluşan 400'den farklı bakteri türü bulundurmaktadır. En yaygın bulunan bakteri türleri Bacteroides, Bifidobakterium, Eubacterium, Peptococcus, Escherichia coli ve Lactobacillus'tur (Gorbach, 1971; Kinget ve diğerleri, 1998; Simon ve Gorbach, 1986). Bu bakteriler ilaçları ve bazı biyomolekülleri metabolize edebilen enzimler üretmektedir. Bakteriyel enzimler özellikle disakkaritler, oligosakkaritler ve polisakkaritler gibi absorbe olmayan karbonhidratların metabolizasyonundan sorumludur. Polisakkaritlerin enzimatik yıkımı proksimal kolonda distal kolona göre daha fazlayken, mide ve ince bağırsakta yok denecek kadar azdır. Ayrıca ince bağırsaktan önemli ölçüde daha az olmasına rağmen, kolondaki bakteriler protolitik aktiviteye de sahiptir (Iswandana ve diğerleri, 2022; Malayandi ve diğerleri, 2014; Watts ve Llum, 1997).

### Kolondan absorpsiyon

Kolon mukozasında mikrovilluslar bulunmadığından kolon ince bağırsaklara kıyasla daha küçük yüzey alanına sahiptir. Ayrıca kolona giren suyun yaklaşık %90'ı geri emilmektedir. Kolondaki suyun ortalama hacmi yaklaşık 13 mL olarak hesaplanmıştır. Kolon boyunca gerçekleşen su emiliminden dolayı kolonik içeriğin vizkozitesi gastrointestinal kanalın diğer kısımlarından daha yüksek ve çıkan kolondan inen kolona doğru geçerken giderek artmaktadır. Bütün bu etmenler ilacın çözünmesini ve mukozal yüzeyden emilimini azaltmaktadır (Amidon ve diğerleri, 2015; Iswandana ve diğerleri, 2022). Kolonda ilaçların absorpsiyonu büyük ölçüde pasif difüzyonla transselüler ve paraselüler yoldan gerçekleşmektedir. Lipofilik ilaçların absorpsiyonu lipit hücre membranından transselüler transportla; hidrofilik ilaçları absorpsiyonu ise "tight junction" olarak bilinen sıkı bağlantılar arasından paraselüler transportla gerçekleşmektedir. Kolon epitel hücreleri arasında yer alan

bu bağlantıların ince bağırsaktakilere kıyasla çok daha sıkı olması ilacın absorpsiyonu için büyük bir engel oluşturmaktadır. Ancak bütün bu zorluklara rağmen kolonun absorpsiyon bölgesi olarak tercih edilmesinin başlıca sebepleri enzim aktivitesinin düşük olması, geçiş süresinin uzun olması ve absorpsiyon artırıcılara iyi cevap vermesidir (Dortunç, 2002: 283-297; Dugad ve diğerleri, 2018; Tomita, Shiga, Hayashi ve Awazu, 1988).

### 2.3.2. Kolona hedeflendirme stratejileri

Gastrointestinal kanalın özellikleri göz önüne alındığında oral yoldan uygulanan bir dozaj formunun kolona başarılı bir şekilde ulaşması ve içerdiği etkin maddenin bu bölgede salınması pek çok zorluğu içermektedir. Bu zorlukların üstesinden gelmek için çeşitli kolona hedeflendirme stratejileri geliştirilmiştir. Bunlar;

1. Mikroflora aktivasyonuna dayanan ilaç taşıyıcı sistemler
  - a. Ön-ilac tasarımı
    - Azo konjugatları
    - Siklodekstrin konjugatları
    - Dekstran konjugatları
    - Glukuronit konjugatları
    - Glikozit konjugatları
    - Amino asit konjugatları
    - Peptit konjugatları
  - b. Biyoparçalanabilir polimerlerle hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemler
    - Azopolimerler
    - Polisakkaritler
  - c. Matriks şeklindeki sistemler
2. pH duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler
3. Zaman kontrollü ilaç taşıyıcı sistemler
  - a. Osmotik sistemler
  - b. Şişen sistemler
  - c. Membran sistemler

4. Basınç kontrollü ilaç taşıyıcı sistemler
5. Kombine ilaç taşıyıcı sistemler
  - a. pH ve zaman kontrollü ilaç taşıyıcı sistemler
  - b. pH ve mikroflora kontrollü ilaç taşıyıcı sistemler
  - c. Zaman ve mikroflora kontrollü ilaç taşıyıcı sistemler olarak sınıflandırılmaktadır (Awad ve diğerleri, 2022; Şengel Türk, Hasçıçek ve Gönül, 2006).

Tez çalışmamızda pH ve zaman kontrollü polimerler kullanılarak matriks tabletler hazırlandığından sadece bu ilaç taşıyıcı sistemler hakkında ayrıntılı bilgi verilmiştir.

#### pH duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler

Gastrointestinal kanal pH'sındaki değişikliklere bağlı olarak çözünen enterik bir polimerle formülasyonlara kaplama yapılarak, ilacın bağırsağın belli bölgelerine hedeflendiği sistemlerdir. Kolona hedeflendirmede yaygın kullanılan bu yaklaşım daha düşük pH değerlerinde ilaç salımının geciktirilmesi esasına dayanmaktadır. Kullanılan polimerler midenin ve proksimal ince bağırsağın asidik pH'sında çözünmeyip terminal ileumun daha bazik pH'sında çözünmektedir. Kolona hedeflendirme için kullanılan pH duyarlı polimerlerin çoğu ilacı terminal ileumda salmaya başladığı için bu sistemler ileo-kolonik olarak da tanımlanmaktadır (Amidon ve diğerleri, 2015; Awad ve diğerleri, 2022). Eudragit® olarak da bilinen metakrilik asit bazlı polimerler, en yaygın kullanılan pH duyarlı polimerlerdir. Eudragit L 100, Eudragit S 100 ve Eudragit FS gibi türevler optimum bir kolonik salım için tek başına veya kombinasyon halinde kullanılmaktadır (Khan, Prebeg ve Kurjakovic, 1999; Zhang, 2016). Eudragit'lerin yanı sıra, hidroksipropil metilselüloz asetat süksinat (HPMCAS) ve selüloz asetat ftalat gibi pH duyarlı diğer polimerlerin de kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler için kullanımına rastlanmaktadır (Goyanes ve diğerleri, 2017a; Mehuys, Remon ve Vervaet, 2005). Eudragit S100, pH 7'nin üzerinde çözünüp kolona hedeflemeye yaygın olarak kullanılmaktadır. Eudragit S100'ün kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler için kullanımı ilk kez 1982'de rapor edilmiştir. Bir grup araştırmacı tarafından yapılan çalışmalarda Eudragit S100 polimeri, bir kapsül kaplaması olarak kullanılmış ve X-ışını görüntülemeyle kapsüllerin GİS'deki konumları izlenmiştir. Kapsüllerin çoğunun terminal ileumda ve proksimal kolonda parçalandığı görülmüştür (Dew, Hughes, Lee, Evans ve Rhodes, 1982; Dew, Ryder, Evans, Evans ve Rhodes, 1983). Bu çalışmalar, Asacol® MR, Mesren® MR ve Ipocol® gibi Eudragit S100

kaplı formülasyonlarının geliştirilmesi ve ticarileştirilmesinin yolunu açmıştır (Fadda ve Basit, 2005). Geleneksel pH duyarlı polimerlerin klinik ve ticari başarılarına rağmen, gastrointestinal kanal boyunca gerçekleşen pH dalgalanmalarından dolayı bunların kolon hedefleme etkinlikleri bireyler arası ve birey içi değişkenlik göstermektedir. Terminal ileumdaki yüksek pH değerleri ve proksimal kolona geçişte karbonhidrat fermentasyonuna bağlı olarak pH değerinin düşmesi; ilacın ileumda erken salınmasına, dozaj formunun ileoçekal bağlantıda kalış süresinin uzamasına ve çıkan kolondan hızlı geçişine yol açarak kolona spesifik salımı olumsuz etkilemektedir (Awad ve diğerleri, 2022; Dugad ve diğerleri, 2018).

#### Zaman kontrollü ilaç taşıyıcı sistemler

Zaman kontrollü sistemler, ilaç salımının hedef bölgeye ulaşana kadar geciktirilmesi esasına dayanmaktadır. Kolona hedeflendirilmiş taşıyıcı sistemlerin tasarlanmasında ilaç salımının gecikme süresi (kolona varış süresi) mide ve ince bağırsaklardan geçiş sürelerine göre belirlenmektedir. İnce bağırsaklardan geçiş süresi yaklaşık olarak 3-4 saat olup gastrointestinal kanalın diğer bölgelerine göre oldukça az değişkenlik göstermektedir. Kolona hedeflendirilmiş zaman kontrollü sistemlerde dozaj formunun mideden geçiş süresi 1-2 saat kabul edilerek 5 saatlik bir gecikme süresi genellikle yeterli kabul edilmektedir (Qureshi ve diğerleri, 2013). Etil selüloz, Eudragit RS 100, Eudragit RL 100, HPMC, hidropsipropil selüloz (HPC) ve hidropsietil selüloz gibi zamanla aşınan polimerler, belli bir gecikme süresinden sonra dozaj formundan ilacın salınmasına izin verdiği için zaman kontrollü sistemlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. İlacın bu taşıyıcı sistemlerden salınması, şişme mekanizması, ozmoz mekanizması veya her ikisinin kombinasyonu gibi farklı mekanizmalarla gerçekleşebilmektedir (Gazzaniga, Maroni, Sangalli ve Zema, 2006). Bu taşıyıcı sistemlerin en büyük kısıtlaması mide geçiş sürelerinin temel olarak açlık-tokluk durumuna, dozaj formunun boyutuna, şekline, yoğunluğuna, hastalık durumuna ve hastanın fizyolojik durumu ile ilişkili gastrointestinal hareketliliğe bağlı olarak birey içi ve bireyler arası büyük değişkenlik göstermesidir. Bu durum kolona varış süresinde değişkenliğe yol açarak zaman kontrollü ilaç taşıyıcı sistemlerin bölgeye spesifik salım yapmasını önleyebilmektedir (Qelliny, Aly, Elgarhy ve Khaled, 2019).

### pH ve zaman kontrollü ilaç taşıyıcı sistemler

Kolona spesifik salımı iyileştirmek için pH duyarlı ve zamana bağlı salım stratejilerinin tek bir dozaj formunda kombine edildiği ilaç taşıyıcı sistemlerdir (Awad ve diğerleri, 2022). Enterik bir polimerle zamandan bağımsız olarak ince bağırsağa ulaşan taşıyıcı sistemin geciktirilmiş salım yapan polimerlerle kolona ulaşana kadar ilaç salımının geciktirilmesi esasına dayanmaktadır. Böylelikle midedeki geçiş süresinden ve bağırsaklardaki pH dalgalanmalarından bağımsız bir salım sistemi geliştirilerek pH duyarlı veya zaman kontrollü sistemlerin majör problemleri ortadan kaldırılmıştır (Friend, 2005; Şengel Türk ve diğerleri, 2006). Mide pH'sının kolon ve bağırsaklardan düşük olması diğer taraftan ince bağırsaklardaki geçiş süresinin yaklaşık 3-4 saat olup değişkenliğin az olması bu sistemlerin güvenilirliğini artırmaktadır (Philip ve Philip, 2010).

Multi-matriks (MMX<sup>TM</sup>) sistem, pH duyarlı ve zaman kontrollü salım stratejilerini kombine eden bir kolona hedeflendirme teknolojisidir. Piyasada 5-ASA ve budesonidin MMX<sup>TM</sup> teknolojisi kullanılarak geliştirilmiş tablet formülasyonları mevcuttur. Bu formülasyonlarda ilaç daha büyük lipofilik bir matriksin içerisine disperse edilen küçük lipofilik matrikslere dahil edilmiş ve daha sonra bu ikili matriks sistem bir enterik filmle kaplanmıştır (Awad ve diğerleri, 2022). Benzer şekilde piyasada bulunan Budenofalk kapsüller için çift kaplamayla pH ve zaman kontrollü salım stratejilerini birleştiren bir teknoloji kullanılmıştır. Etil selüloz matriks (ECX<sup>TM</sup>) sistem budesonid pellet içeren Entecort<sup>®</sup> kapsüller için kullanılan bir diğer teknolojidir. Bu sistemlerde inert bir sakkaroz çekirdeğine ilaç yüklü etil selüloz matriksiyle bir iç kaplama yapıldıktan sonra bir enterik polimer olan Eudragit L100-55 ile bir dış kaplama uygulanmıştır (Edsbäcker ve Andersson, 2004; Goyanes, Hatton ve Basit, 2015). Entecort<sup>®</sup> kapsüller için insanda yapılan farmakosintigrafik çalışmalarda standart kapsüllere kıyasla budesonidin büyük oranda ileo-kolonik bölgeye dağıldığı rapor edilmiştir (Edsbäcker ve diğerleri, 2003). Literatürde pH ve zaman kontrollü kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemlerle ilgili pek çok çalışmaya rastlanmıştır (Handali ve diğerleri, 2018; Moghimipour ve diğerleri, 2018; Vemula, 2015).

Turanlı ve Acartürk (2021) çalışmalarında pH duyarlı Eudragit S100 ve zamana bağlı salım yapan Eudragit RL100 polimerlerinin farklı oranlardaki karışımları ile budesonid yüklü mikro/nanolifler hazırlamışlardır. Eudragit S100:Eudragit RL 100 (95:5) içeren optimum nanolif formülasyonunun pH 1,2 ve pH 6,8'de minör salım; pH 7,4'te ise majör salım ile

kolona hedeflendirilmiş bir ilaç taşıyıcı sistem olarak uygun bir salım profili sergilediği gösterilmiştir.

Bir diğer çalışmada Akhgari ve Chandran (2008) pH duyarlı Eudragit L100 ve Eudragit S100 polimerlerini tek başına veya suda şişmeyen zamana bağlı salım gösteren etil selüloz polimeriyle kombine edip yaş granülasyon yöntemiyle model ilaç olarak indometazin içeren matriks tabletler hazırlanmıştır. İndometazin:Eudragit S100:Etil Selüloz (50:30:20) ve İndometazin:Eudragit L100:Etil Selüloz (50:30:20) içeren tablet formülasyonlarının ikisi de ilacın %10'unu yaklaşık olarak 4 saatte salmıştır. Ancak Eudragit S100 ve Eudragit L100 içeren bu tablet formülasyonlarından ilacın %90'ı sırasıyla 19 ve 28,5 saatte salınmıştır. Genel olarak Eudragit L100 polimerini içeren formülasyonlar, Eudragit S100 polimeriyle hazırlananlardan daha hızlı salım göstermiştir. Elde edilen sonuçlar etil selüloz gibi hidrofobik bir polimer ile pH duyarlı polimerlerin kombine edildiği bir matriks sisteminin kolona spesifik kontrollü bir salım profili elde etmek için ideal olduğunu göstermektedir.

### **2.3.3. İBH tedavisinde oral yoldan kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler**

Son yıllarda oral yoldan kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi, İBH tedavisi için önem kazanmıştır. Bu sistemlerin İBH gibi kolonik hastalıkların lokal tedavisi için sağlayabileceği başlıca terapötik avantajlar şunlardır:

- İnflamasyonlu dokuya daha yüksek konsantrasyonda ilacın ulaşmasını sağlayarak terapötik etkinliği artırmaktadır.
- Etkin maddenin ince bağırsaklardan emilimini minimize ederek sistemik absorpsiyona bağlı yan etkilerin azalmasını, ayrıca 2. jenerasyon kortikosteroidler gibi yüksek oranda ilk geçiş etkisine uğrayan ilaçların metabolize olmasını önlemektedir.
- Terapötik etkinlik için gerekli ilaç dozunu azaltmaktadır.
- Oral uygulamanın kolaylığı ve ilaç uygulama sıklığının azalmasına bağlı olarak hasta uyuncunu artırmakta dolayısıyla hastalığın ekonomik yükü azaltmaktadır (Teruel ve diğerleri, 2020).

İBH'nin tedavisinde kullanılacak kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler için nanoteknoloji alanında çok yoğun çalışmalar yapılmasına rağmen piyasada geleneksel hedefleme stratejilerine dayanan kapsül ve tablet gibi ticari oral katı dozaj formları

mevcuttur (Çizelge 2.6) (Bak, Ashford ve Brayden, 2018; Patel, 2011; Zeeshan ve diğerleri, 2019).

Çizelge 2.6. İBH tedavisi için oral yoldan kolona hedeflendirilmiş ticari katı dozaj formları

| Kolona hedefleme stratejisi                | İlaç                          | Polimer/özellik                                                    | Ticari ürün                                   | Dozaj formu   |
|--------------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------|
| pH duyarlı sistemler                       | 5-ASA (5-Aminosalisilik asit) | Dış kaplama: Eudragit S100                                         | Asacol <sup>®</sup> , Ipocal <sup>®</sup>     | Tablet        |
|                                            | 5-ASA                         | Dış kaplama: Eudragit L100                                         | Claversal <sup>®</sup> , Mesasal <sup>®</sup> | Tablet        |
|                                            | 5-ASA                         | İç kaplama: Eudragit S100<br>Dış kaplama: Eudragit S100&L 100      | Asacol <sup>®</sup> HD                        | Tablet        |
|                                            | Beklametazon dipropiyonat     | Dış kaplama: Eudragit L100-55                                      | Clipper <sup>®</sup>                          | Tablet        |
| pH ve zaman kontrollü sistemler            | 5-ASA                         | Multi-matrix <sup>™</sup> sistem                                   | Lialda <sup>®</sup>                           | Tablet        |
|                                            | Budesonid                     | Multi-matrix <sup>™</sup> sistem                                   | Uceris <sup>®</sup>                           | Tablet        |
|                                            | Budesonid                     | Multi-matriks <sup>™</sup> sistem                                  | Cortiment <sup>®</sup>                        | Tablet        |
|                                            | Budesonid                     | Granül dış kaplama: Eudragit L 100<br>Granül matriks: Etil Selüloz | Entecort <sup>®</sup> EC                      | Kapsül&pellet |
|                                            | Budesonid                     | İç kaplama: Eudragit S100&L100&RS<br>Dış Kaplama: Eudragit RL      | Budenofalk <sup>®</sup>                       | Kapsül&Granül |
| Zaman kontrollü sistemler                  | 5-ASA                         | Granül dış kaplama: Etil Selüloz                                   | Pentasa <sup>®</sup>                          | Kapsül&Granül |
|                                            | 5-ASA                         | HPMC                                                               | Delzicol <sup>®</sup>                         | Kapsül        |
| Mikroflora-aktivasyonuna dayanan sistemler | Balsalazid                    | Azo-bağlı ön-ilaç                                                  | Colazal <sup>®</sup>                          | Kapsül        |
|                                            | Sülfasalazin                  | Sülfapiridine bağlı 5-ASA                                          | Azulfidine <sup>®</sup>                       | Tablet        |
|                                            | Olsalazin                     | 5-ASA dimmer                                                       | Dipentum <sup>®</sup>                         | Kapsül        |

Oral katı dozaj formları kullanım kolaylığı, standart bir üretim prosesinin olması, hasta uyuncunun yüksek olması, sabit ve kesin dozlamaya olanak vermesi gibi pek çok yönden diğer bütün dozaj formlarına ve uygulama yollarına üstünlük sağlamaktadır (Charbe, McCarron, Lane ve Tambuwala, 2017). Ancak İBH hastalarında geleneksel hedefleme stratejileriyle oral yoldan kolona hedeflendirilmiş katı dozaj formlarının kullanımı bazı kısıtlamalara sahiptir. Kompleks bir hastalık olan İBH’de hastalığın evresiyle ilişkili olarak hastanın kolon pH’sı ve geçiş süresi gibi fizyolojik özellikleri bireyler arası ve birey içi yüksek değişkenlik göstermektedir. Ayrıca hastalığın evresine bağlı olarak uygulanan tedavi dozu dolayısıyla hastanın tedaviye yanıtı sürekli değişmektedir. Bunların bir sonucu olarak İBH’de tedaviye yanıt vermeyen hastalarda tedavi maliyetinin tedaviye yanıt verenlere göre iki kat daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Kişiselleştirilmiş tedaviye olanak sağlayan 3DP

teknolojilerini kullanarak kolona hedeflendirilmiş sistemlerin geliştirilmesiyle kompleks ve maliyetli bir hastalık olan İBH'nin sağlık sistemleri üzerindeki yükünün önemli ölçüde azalması beklenmektedir (Sangnim, Tangpanithanon, Khamtheantong, Charoenwai ve Huanbutta, 2021).

#### **2.4. Üç Boyutlu Baskı (3DP) Teknolojileri ve Farmasötik Alanda Kullanımı**

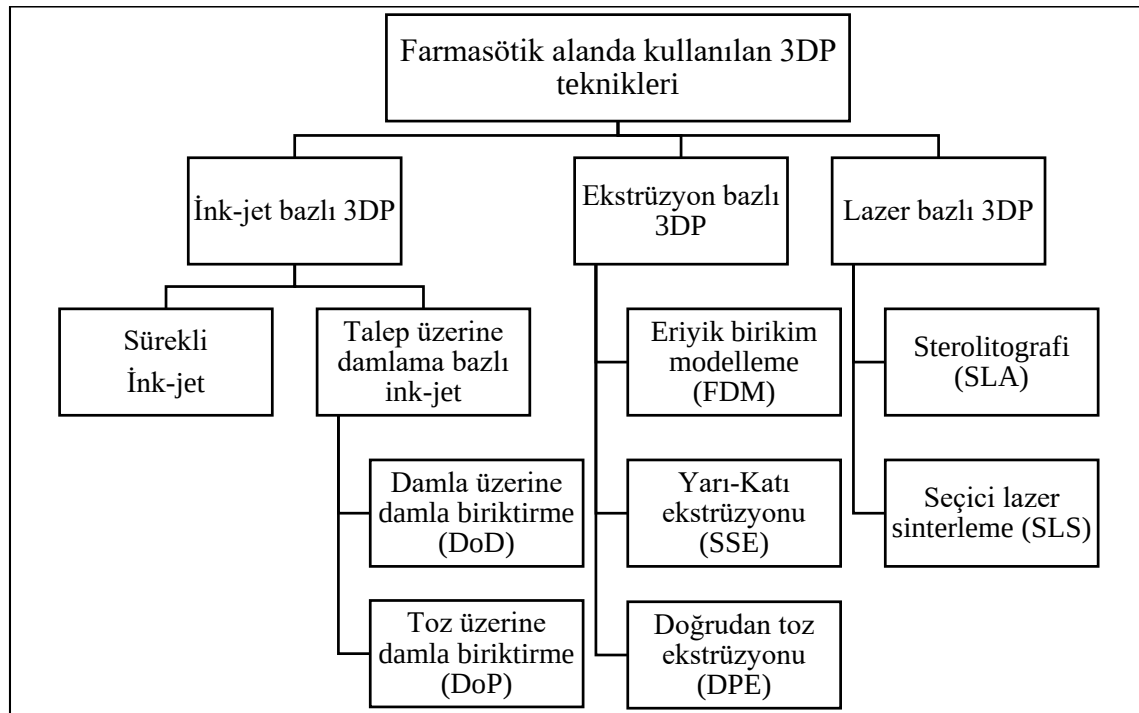
Üç boyutlu baskılama, dijital ortamda tasarlanan bir ürünün katı formda tabaka tabaka basıldığı bir üretim tekniğidir. Hızlı prototipleme, eklemeli üretim veya katı serbest-form teknolojisi olarak da bilinen bu üretim tekniğinin endüstriyel alanda kullanımı 1986 yılında Charles Hull'un plastik imalat sürecini iyileştirmek için stereolitografi teknolojisine dayanan ilk üç boyutlu (3D) yazıcıyı icat etmesiyle başlamıştır. Daha sonraki yıllarda farklı teknolojiler kullanılarak birçok 3D yazıcı geliştirilmiş ve patent altına alınmıştır (Parulski, Jennotte, Lechanteur ve Evrard, 2021). Bu teknolojilerin patent sürelerinin dolmaya başlamasıyla yeni ve devrim niteliğinde bir üretim aracı olarak 3DP teknolojilerinin doku mühendisliği, diş hekimliği, ilaç, inşaat, otomotiv ve uzay dahil olmak üzere pek çok endüstride kullanımı hızla artmıştır. 3DP teknolojilerinin farmasötik alanda kullanımı henüz çok yeni olup, 2015 yılında FDA tarafından onaylanan ilk 3D farmasötik üründen (SPRİTAM®) sonra hız kazanmıştır (Awad, Trenfield, Goyanes, Gaisford ve Basit, 2018; Brambilla, Okafor-Muo, Hassanin ve ElShaer, 2021).

Tıp ve eczacılık alanındaki gelişmelerle birlikte hastanın bireysel ihtiyaçlarına, tercihlerine ve özelliklerine uyarlanmış bir tedavi yönteminin seçimi “kişiselleştirilmiş tıp” fikrini ortaya çıkarmıştır (Okafor-Muo, Hassanin, Kayyali ve ElShaer, 2020). Kişiselleştirilmiş tıp, FDA tarafından "doğru hastaya, doğru zamanda, doğru ilacı, doğru dozda sağlamak" olarak tanımlanmıştır (FDA, 2013). Kişiselleştirilmiş tıp uygulamaları büyük ölçüde doğru zamanda doğru hastalar için doğru tedaviye odaklanmasına rağmen hassas dozlamamanın da dikkate alınması son derece önemlidir (Cailleaux, Sanchez-Ballester, Gueche, Bataille ve Soulairol, 2021). Hastalığın şiddeti, cinsiyet, kilo, yaş, genetik ve metabolik farklılıklar nedeniyle her hastanın tedavide ihtiyaç duyduğu doz aynı olmamaktadır (Awad vd., 2018; Lamichhane vd., 2019). Geleneksel ilaç tedavisindeki yan etkilerin büyük kısmının (%75-85) uygun olmayan doz ve doz kombinasyonlarının sonucu olarak ortaya çıktığı bilinmektedir. Dolayısıyla akılcı, güvenli ve etkin bir tedavi için hastaya spesifik doz veya doz kombinasyonlarını içeren dozaj formlarına gereksinim duyulmaktadır. Ancak kişiye

özel tasarlanmış dozaj formlarının “herkese uyan tek bir ilaç” yaklaşımına dayanan geleneksel seri üretim yöntemleriyle üretilmesi mümkün değildir. Son yıllarda farmasötik üretim için hızlı bir şekilde gelişmekte olan 3DP teknolojileri, değişen hasta ihtiyaçlarına kolaylıkla uyum sağlayabilen esnek bir üretim platformu sunarak kişiselleştirilmiş tedavinin önünü açmıştır (Parhi, 2021; Seoane-Viaño, Trenfield, Basit ve Goyanes, 2021).

#### 2.4.1. 3DP teknolojileri ve temel üretim basamakları

Farklı endüstriyel alanlarda kullanılmak üzere pek çok farklı 3DP teknolojisi vardır. Bu 3DP teknolojilerinin sınıflandırılması, kullanılan baskı materyalinin türü, katılma süreci ve birikim şekli gibi farklı parametreler esas alınarak yapılabilmektedir. 3DP teknikleri “ASTM F42 Eklemeli üretim” komitesi tarafından belirlenen standartlara göre yedi ana sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar materyal püskürtme, bağlayıcı püskürtme, vat (tekne) polimerizasyonu, materyal ekstrüzyonu, toz yatağı birleştirme, plaka tabakalama ve doğrudan enerji birikimidir (Kawalkar, Dubey ve Lokhande, 2022). Ancak farmasötik üretimde yaygın olarak kullanılan teknikler ink-jet bazlı 3DP, ekstrüzyon bazlı 3DP ve lazer bazlı 3DP olmak üzere başlıca 3 ana başlık altında sınıflandırılmaktadır (Şekil 2.3) (Kassem, Sarkar, Nguyen, Saha ve Ahsan, 2022; Parhi, 2021).



Şekil 2.3. Farmasötik alanda kullanılan 3D baskı teknikleri

İlaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesinde kullanılan bu teknikler farklı mekanizmalara dayanmasına rağmen benzer üretim basamaklarını içermektedir. Bu teknikler aşağıda özetlenmiş ve benzer temel üretim basamakları sıralı bir şekilde Şekil 2.4'te verilmiştir.



Şekil 2.4. 3DP tekniklerinin temel üretim basamakları (Parhi, 2021; Samiei, 2020).

### İnk-jet bazlı 3DP teknikleri

İnk-jet bazlı 3DP teknikleri bir alt tabaka üzerine küçük sıvı damlacıklarının biriktirilmesi esasına dayanır. Sürekli ink-jet (continuous ink-jet) ve talep üzerine damlama (drop-on-demand) bazlı ink-jet olmak üzere iki ana sınıfa ayrılmaktadır. Sürekli ink-jet baskı, yüksek basınçlı bir pompa kullanarak sürekli damlacık akışının sağlandığı ve bu damlacıkların bir nozül aracılığıyla bir alt tabaka üzerinde biriktirildiği veya baskı için gerekli olmadığı takdirde atık hattına yönlendirildiği sistemlerdir (Goole ve Amighi, 2016; Jain, Haider ve Jain, 2018). Talep üzerine biriktirme bazlı inkjet ise sıvı damlacıklarının sadece baskı için gerekli olduğunda bir alt tabakaya püskürtüldüğü sistemlerdir. Bu sistemler sıvı damlacıklarının biriktirildiği alt tabakaya göre damla üzerine damla biriktirme (drop-on-drop deposition) bazlı inkjet baskı ve toz üzerine damla biriktirme (drop-on-powder deposition) bazlı inkjet baskı olarak ikiye ayrılmaktadır. Damla üzerine damla biriktirme bazlı ink-jet baskı birbiri üzerine biriken sıvı damlacıklarının çözücünün uzaklaşmasıyla katı bir tabaka oluşturması esasına dayanır. Toz üzerine damla biriktirme bazlı inkjet baskı ise bir toz tabakası üzerine küçük damlacıklar şeklinde püskürtülen bağlayıcı çözeltilisinin toz partiküllerini birbirine bağlayarak katı bir tabaka oluşturmaya dayanan bir tekniktir (Parhi, 2021; Vaz ve Kumar, 2021). Bu yöntemde etkin madde bağlayıcı sıvı veya toz yatağına dahil edilebilmektedir. Bağlayıcı sıvı ile toz yatağı arasındaki etkileşim açısından yaş granülasyon yöntemine benzerdir. Bağlayıcı püskürtme veya toz yatağı olarak da bilinen toz üzerine damla biriktirme bazlı ink-jet baskı tekniği farmasötik alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. FDA onaylı ilk 3D baskılı ticari tabletler (Spritam<sup>®</sup>, ağızda dağılan tablet), bu tekniğe dayanan ZipDose<sup>®</sup> teknolojisiyle üretilmektedir (Kassem ve diğerleri, 2022; Pawar ve Pawar, 2022).

### Lazer bazlı 3DP teknikleri

Stereolitografi (Stereolithography, SLA) ilk olarak geliştirilen lazer-bazlı 3DP tekniğidir. Işığa duyarlı sıvı bir reçinenin fotopolimerizasyonla katman katman sertleştirilmesi esasına dayanır (Pawar ve Pawar, 2022). SLA 3DP sistemlerinin temel bileşenleri bir UV ışık kaynağı ve hareketli bir platform üzerinde bulunan sıvı reçine teknesidir (Mancilla-De-la-Cruz, Rodriguez-Salvador, An ve Chua, 2022). SLA 3DP tekniği, vat polimerizasyonu veya fotopolimerizasyon olarak da bilinmektedir. Farmasötik alanda kullanılan bir diğer lazer-bazlı 3DP tekniği seçici lazer sinterleme (Selective Laser Sintering, SLS)'dir. Bu tekniğin

geliştirilmesindeki temel amaç, SLA tekniğinin başlıca sakıncalarından biri olan fotopolimerize olabilen materyal gerekliliğini ortadan kaldırmaktır. SLS 3DP sistemleri esasen bir toz yatağı, toz yayma platformu ve lazer kaynağından oluşmaktadır. Toz yatağı füzyonu olarak da bilinen bu teknik yüksek enerjili bir lazer kaynağının toz yatağındaki katı partikülleri eriterek kaynaştırması esasına dayanır. Hızlı üretim süreci, herhangi bir solvent gerektirmemesi ve ayrıca lazer hassasiyetinden ötürü yüksek çözünürlüklü bitmiş ürün eldesi bu yöntemin başlıca üstünlükleridir (Vaz ve Kumar, 2021).

#### Ekstrüzyon bazlı 3DP teknikleri

Polimerik materyallerin ekstrüzyonuna dayanan tekniklerdir. Kullanılan polimerik materyalin formuna göre yarı-katı ekstrüzyonu (semi-solid extrusion, SSE), doğrudan toz ekstrüzyonu (direkt powder extrusion, DPE) ve eriyik birikim modelleme olmak üzere 3 ana sınıfta incelenmektedir (Seoane-Viaño ve diğerleri, 2021). SSE 3DP tekniği, jel veya macun gibi yarı-katı vizkoz bir polimerik materyalin şırınga benzeri bir sistemden ardışık katmanlar halinde bir nozülde ekstrüde edilmesi esasına dayanır. Basınç destekli mikro şırınga yöntemi olarak da bilinen bu tekniğin en büyük avantajı yüksek sıcaklık gerektirmemesidir (Parhi, 2021; Vaz ve Kumar, 2021). DPE tekniği toz halindeki polimerik materyalin bir ekstrüzyon kartuşuna yüklendikten sonra uygun bir sıcaklıkta eritilip sıcak bir nozülde katman katman ekstrüde edilmesi esasına dayanır. DPE'nin en önemli avantajı, düşük miktarlardaki ilaç ve yardımcı maddelerle çalışılmasına olanak sağlamasıdır (Seoane-Viaño ve diğerleri, 2020; Vaz ve Kumar, 2021). FDM 3DP tekniği ise termoplastik polimerik bir filamentin sıcaklık uygulanarak eriyik bir forma dönüştürülmesi ve ardından ısıtılmış bir nozülde ekstrüde edilmesi esasına dayanır. Farmasötik alanda en çok kullanılan 3DP tekniğidir (Parhi, 2021). Bu tez çalışmasında FDM 3DP tekniği kullanıldığından Bölüm 2.5'te bu teknik hakkında ayrıntılı bilgi verilmiştir.

#### **2.4.2. 3DP teknolojilerinin farmasötik alandaki uygulamaları ve üstünlükleri**

3DP teknolojileri farmasötik alanda çok geniş bir uygulama alanına sahiptir. Literatürde farklı 3DP teknikleri kullanılarak tablet (Allahham ve diğerleri, 2020), kapsül (Nober ve diğerleri, 2019), mikroigne (Xenikakis ve diğerleri, 2019), film (Varan, Şen, Sandler, Aktaş ve Bilensoy, 2019), hidrojel (Yan ve diğerleri, 2019), ovül (Tagami, Hayashi, Sakai ve Ozeki, 2019), suppozituar (Seoane-Viaño ve diğerleri, 2020) ve implant (Wu, Ye, Zheng,

Wu ve Cheng, 2016) gibi farklı ilaç taşıyıcı sistemlerinin geliştirilmesiyle ilgili pek çok çalışma mevcuttur. Ağustos 2015'te 3DP teknolojisiyle üretilen ilk FDA onaylı farmasötik üründen (SPRİTAM®, ağızda dağılan tablet) sonra özellikle oral katı dozaj formları için bu alan giderek artan bir önem kazanmıştır. 3DP teknolojileri, oral katı dozaj formlarının üretiminde yaygın olarak kullanılan geleneksel üretim yöntemlerine kıyasla kompleks tasarımlar ve farklı geometrik şekillerde ürün geliştirme, kişiselleştirilmiş tedavi ve talebe bağlı üretim için avantaj sağlamaktadır (Lim, Kathuria, Tan ve Kang, 2018). 3DP bireyin ihtiyaçlarına, özelliklerine ve tercihlerine göre doğru ve kesin dozda ilaç içeren özel olarak tasarlanmış dozaj formlarını talebe bağlı olarak küçük ölçekte üretme potansiyeline sahip, basit ve uygun maliyetli bir farmasötik üretim tekniğidir. Büyük ölçekte üretim için tasarlanan geleneksel ilaç üretim yöntemlerinin güvenli ve etkin bir üretim için çok sayıda ekipman, büyük üretim alanı ve eğitilmiş eleman gerektirmesi üretim maliyetini artırmaktadır. Ayrıca üretim prosesinin öğütme, karıştırma, granülasyon ve kurutma gibi pek çok aşamayı gerektirmesi geleneksel yöntemlerle kişiselleştirilmiş tedavi için küçük ölçekte ilaç üretimini zorlaştırmaktadır (Alhnan ve diğerleri, 2016). Geleneksel yöntemlerle kıyaslandığında dijital tasarımları modifiye etmek geleneksel üretim prosesinde kullanılan fiziksel ekipmanları modifiye etmekten çok daha kolay olduğundan, 3DP yöntemleri kişiselleştirilmiş tedavi için küçük ölçekteki üretimlerde kolaylık sağlamaktadır (Norman, Madurawe, Moore, Khan ve Khairuzzaman, 2017). Farmasötik geliştirmede 3DP'nin kullanımı hastaya spesifik dozaj formlarının yanı sıra son zamanlarda hedeflenen salım profiline sahip ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesine de olanak sağlamaktadır (Jamróz, Szafraniec, Kurek ve Jachowicz, 2018). 3DP yöntemlerinin geleneksel üretim prosesleriyle mümkün olmayan kompleks şekil ve büyüklükteki ilaç taşıyıcı sistemlerin tasarımında esneklik sağlama ilacın salım profillerinin optimizasyonunda ve kombine ilaç ürünlerinin geliştirilmesinde kolaylık sağlamaktadır. Bütün bunlar zaman ve ek proses gerektiren geleneksel yöntemlere kıyasla bir bilgisayar yazılımı kullanarak tasarımlardaki küçük değişikliklerle mümkündür (Lim ve diğerleri, 2018).

3DP teknolojilerinin farmasötik alanda kullanımının en büyük avantajı kişiselleştirilmiş doza sahip ilaç ürünlerinin geliştirilmesine olanak sağlamasıdır. Doz esnekliğinin sağlanması özellikle terapötik dozun yaşa ve vücut ağırlığına bağlı olarak büyük ölçüde değişkenlik gösterdiği ve çoğunlukla geniş yelpazede doz gerektiren pediyatrik popülasyon için avantajlıdır (Cui ve diğerleri, 2021; Vaz ve Kumar, 2021). Bunun yanı sıra farmakogenetik polimorfizmi olan veya dar bir terapötik indeks ile karakterize edilen

ilaçlarla tedavi edilen hastalarda dozun kişiselleştirilmesi etkin ve güvenli bir tedavi için önemlidir (Brambilla ve diğerleri, 2021). Geleneksel yöntemlerle üretilen oral katı dozaj formlarında doz modifikasyonları genelde çok sayıda düşük dozda ilacın kullanılması veya daha yüksek dozdaki ilaçların bölünmesiyle sağlanır. Ancak tabletleri bölmek alınan dozda varyasyonlara yol açabilmektedir. Bunun yanı sıra özellikle geciktirilmiş ve kontrollü salım tabletlerinde tabletlerin bölünmesi ilacın salım kinetiğini etkileyebilmektedir (Alhnan ve diğerleri, 2016). Gültekin, Tort, Tuğcu-Demiröz ve Acartürk (2021) çalışmalarında FDM 3DP tekniğini kullanarak 8 farklı dozda (0,375-4,5 mg) pramipeksol içeren uzatılmış salım tabletlerini başarılı bir şekilde basmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, FDM 3DP tekniğinin farklı dozlar için tekrarlanabilirliğini göstermiştir.

3DP teknikleri özellikle zaman, mekan ve materyalin sınırlı olduğu durumlarda talebe bağlı merkezi olmayan hızlı üretim potansiyeliyle düşük ve orta gelirli ülkeler, afet bölgeleri ve hatta uzay gibi ilaç erişiminin zor olduğu alanlarda talebe bağlı üretimi mümkün kılmaktadır. 2017 yılında uzayda ilk tıbbi ürün olan bir el ateli modeli tasarlanmış ve basılmıştır (Seoane-Viaño ve diğerleri, 2021). Ayrıca 3DP teknikleri kısa raf ömrüne sahip, stabilitesi düşük olan ilaçlar için hızlı bir şekilde tüketilecek küçük ölçekte talebe bağlı üretim olanağı sunmaktadır (Samiei, 2020). Bunların yanı sıra 3DP teknikleri nadir görülen hastalıkların tedavisinde kullanılan ve küçük ölçekte üretim gerektiren yetim ilaçlar için talebe bağlı üretim olanağı sunarak üretim maliyetini düşürme potansiyeline sahiptir. Saydam ve Takka (2020) tarafından yapılan bir çalışmada FDM 3DP tekniği kullanılarak nadir bir hastalık olan Lennox-Gastaut sendromunun tedavisi için rufinamid içeren tabletler başarılı bir şekilde hazırlanmıştır (Saydam ve Takka, 2020).

3DP teknikleriyle geliştirilen kişiye özel tasarım veya formülasyon özelliklerine sahip dozaj formlarının hastaların tedavi uyuncunu artırması beklenmektedir (Seoane-Viaño ve diğerleri, 2021). Scoutaris ve arkadaşları (2018) çalışmalarında FDM 3DP tekniğini kullanarak pediatrik bir hasta popülasyonu tarafından kolaylıkla kabul görecektir. Çoğunlukla şeker benzeri çiğneme tabletlerini basmıştır (Scoutaris, Ross ve Douroumis, 2018). Sonuçlar, 3DP teknolojisiyle hasta veya hasta popülasyonlarının tercihlerine uygun kişiselleştirilmiş dozaj formlarının üretilirliğini göstermektedir. Çok sayıda ilaç kullanımından (polifarmasi) muzdarip olan geriyatrik hastalarda hasta uyuncunu artırmak için geleneksel yöntemlerle sabit doz içeren kombine ilaçlar üretilmektedir. Ancak zor, maliyetli ve zaman alıcı olan bu geleneksel yöntemlere kıyasla kompleks tasarımlara olanak

sağlayan 3DP teknikleri, tek bir dozaj formunda birden fazla etkin maddeyi içeren kombine ilaçların üretimini kolaylaştırmaktadır. Khaled, Burley, Alexander, Yang ve Roberts (2015) çalışmalarında SSE 3DP tekniğini kullanarak farklı salım özelliklerine sahip 5 farklı etkin maddeyi içeren kombine bir ilaç ürününü başarılı bir şekilde hazırlamıştır. Bir dozaj formunun geometrik şekli, büyüklüğü ve iç yapısı ilacın salım özellikleri ve dağılma süresi üzerinde büyük etkiye sahip olabilmektedir. 3DP teknikleriyle yutma güçlüğü çeken pediyatrik ve geriyatrik hastalarda tedavi uyuncunu artırmak için oldukça poröz bir iç yapıya sahip hızlıca ağızda dağılan tabletler kolaylıkla tasarlanmaktadır (Okafor-Muo ve diğerleri, 2020). Allahham ve diğerleri (2020) çalışmalarında SLS 3DP tekniğini kullanarak ondansetron yüklü ağızda dağılan tablet formülasyonları geliştirmiştir. İn vitro çözünme hızı çalışmaları tabletlerin hızlı bir şekilde dağıldığını 5 dakikada ilacın %90'dan fazlasının dağıldığını göstermiştir.

3DP teknikleriyle formülasyonlarda herhangi bir değişiklik yapılmaksızın sadece ürün tasarımındaki değişikliklerle in vitro salım profilinin optimize edilmesi mümkündür. Goyanes, Robles-Martinez, Buanz, Basit ve Gaisford (2015c) çalışmalarında FDM 3DP tekniğini kullanarak geleneksel yöntemlerle elde edilmesi mümkün olmayan, piramit, küp, silindir, küre ve simit şekillerinde tabletler basmış ve bu farklı geometrik şekillerin ilacın salım özellikleri üzerine etkisini araştırmıştır. İn vitro çözünme hızı sonuçları farklı geometrik şekillere sahip olan 3D tabletlerin yüzey alanı sabit tutulduğunda piramit şekilli tabletlerin en hızlı salım özelliğine, bunu sırasıyla simit, küp, küre ve silindir şekilli tabletlerin takip ettiğini göstermiştir.

## **2.5. FDM 3DP Teknolojisi ve Farmasötik Alanda Kullanımı**

FDM tipi üç boyutlu baskı teknolojisi Stratasys şirketinin kurucusu S. Scott Crump tarafından geliştirilerek 1989 yılında patentlenmiştir. FDM 3DP tekniğinin patent süresi 2010 yılında sona ermiş, ancak farmasötik alanda kullanımına yönelik yapılan literatür çalışmalarının sayısında 2014 yılı itibarıyla ciddi bir artış gözlenmiştir (Hsiao, Lorber, Reitsamer ve Khinast, 2018; Wang ve diğerleri, 2021).

FDM üç boyutlu baskılama, dijital ortamda tasarlanan 3D modeli oluşturmak için baskı materyalini erittikten sonra katman katman biriktiren ekstrüzyon bazlı bir üretim tekniğidir. FDM teknolojisi düşük maliyeti, kullanım kolaylığı, solvent gereksiniminin olmaması,

karmaşık dozaj formları üretebilme potansiyeli ve çok çeşitli uygulamaları nedeniyle son yıllarda farmasötik uygulamalar için en çok araştırılan 3DP tekniği olmuştur (Parhi, 2021).

### 2.5.1. FDM 3D yazıcılar ve çalışma prensipleri

Genel olarak kullanılan FDM tipi 3D yazıcılar küçük, portatif ve uygun maliyetlidir. FDM 3DP tekniğinde baskı materyali olarak sıklıkla 1,75 mm çapa sahip ipliksi formda katı polimerik filamentler kullanılmaktadır. Bu 3DP tekniği eriyik filament üretimi (Fused Filament Fabrication, FFF) olarak da bilinmektedir (Algahtani, Mohammed ve Ahmad, 2018; Araújo, Sa-Barreto, Gratieri, Gelfuso ve Cunha-Filho, 2019). FDM 3DP tekniğinde katı polimerik bir filament camsı geçiş sıcaklığının (Tg) üzerinde bir sıcaklığa maruz bırakılarak eriyik yumuşak bir forma dönüştürüldükten sonra sıcak bir nozülde ekstrüde edilir. Daha sonra eriyik materyal 3D modelin ilk katmanını oluşturmak üzere yazıcının baskı tablasında (platform) biriktirilir. Her katmanın tamamlanmasından sonra platform, bir sonraki katmanın yerleştirilmesi için yeterli alan açmak üzere alçaltılır ve en son uygulanan katman bir önceki katmanla birleşerek katılaşır. Bu süreç, 3D ürün tamamlanana kadar aynı şekilde tekrarlanır (Pereira, Figueiredo, Fernandes ve Pinto, 2020).

FDM tipi bir 3D yazıcı temel olarak x ve y eksenleri boyunca hareket edebilen ekstrüzyon başlığı/başlıkları ve z ekseninde hareket edebilen bir baskı platformu olmak üzere 2 ana bölümden oluşmaktadır (Algahtani ve diğerleri, 2018; Parulski ve diğerleri, 2021) (Şekil 2.5a).

#### Ekstrüzyon başlığı

Bir ekstrüzyon başlığı Şekil 2.5b’de gösterildiği gibi motor ve fan sisteminin yanısıra temel olarak ekstrüder, ısıtıcı ve nozülde oluşmaktadır. Baskı materyali olarak kullanılan filamentler bir dişli sistemi aracılığıyla ekstrüzyon başlığının üst kısmından nozüle doğru iletilmektedir. FDM tipi yazıcılar genellikle bir ekstrüzyon başlığına sahipken, iki ekstrüzyon başlığına sahip yazıcılar da mevcuttur. İki ekstrüzyon başlığına sahip FDM tipi 3D yazıcılar farklı özelliklere sahip iki ayrı filamentin kullanımını mümkün kılmaktadır. Bu yazıcılar farklı materyallerden oluşan kompleks ürünlerin baskısında kullanılmaktadır (Parulski ve diğerleri, 2021).

### *Ekstrüder*

Ekstrüzyon başlığının besleme dişlileri ve sıcak uç kısımlarını kapsayan ana bölümüdür (Şekil 2.5b). Besleme dişlileri arasından ekstrüdere girişi sağlanan katı polimerik filament, metalik sıcak uçtan geçirilerek yumuşak eriyik bir forma dönüştürülmektedir (Parhi, 2021; Parulski ve diğerleri, 2021).

### *Isıtıcı*

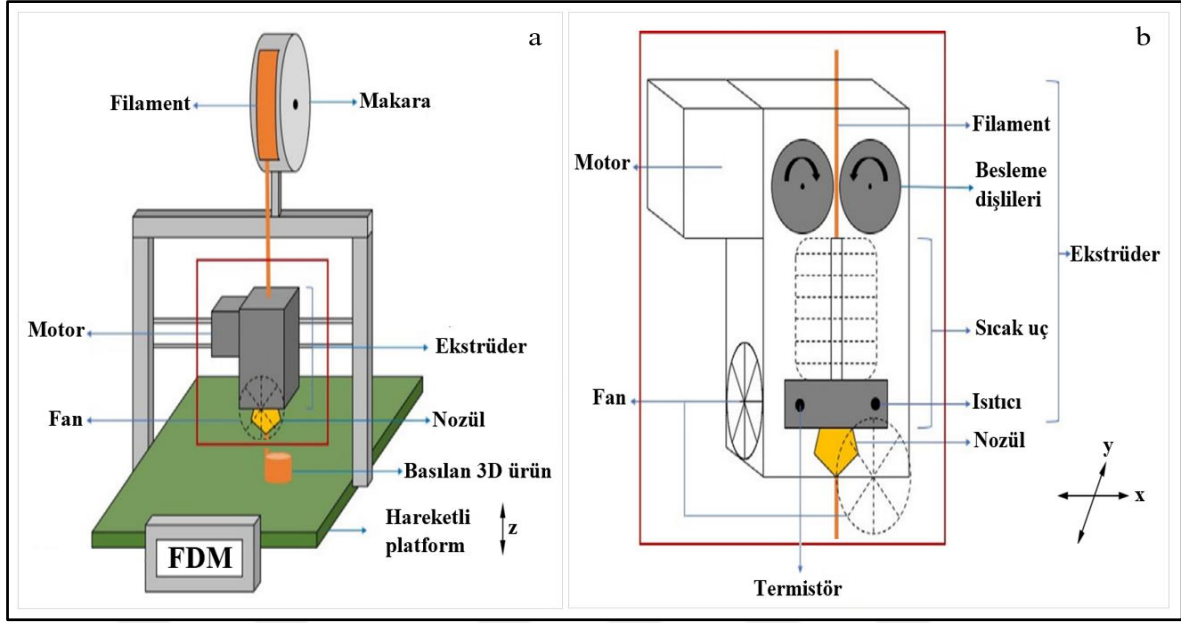
Ekstrüderin sıcak uç kısmı ile nozülün bağlantı noktasında yer almakta ve üzerinde bulunan termistörler aracılığıyla nozül ve ekstrüderi istenilen sıcaklığa ayarlamaktadır (Parulski ve diğerleri, 2021).

### *Nozül*

Ekstrüderin en alt ucuna bağlanan ve eriyik materyalin belli bir çapa sahip delikten geçirilerek platform üzerinde birikmesini sağlayan kısımdır. En yaygın kullanılan nozül 0,4 mm'lik bir delik çapına sahiptir, ancak farklı delik çaplarına sahip nozüller de mevcuttur. Kullanılan nozülün delik çapı basılan nesnenin katman kalınlığını dolayısıyla nesnenin çözünürlüğünü, boyutsal doğruluğunu, yüzey pürüzlülüğünü ve baskı süresini etkileyen önemli bir parametredir (Parulski ve diğerleri, 2021).

### Platform

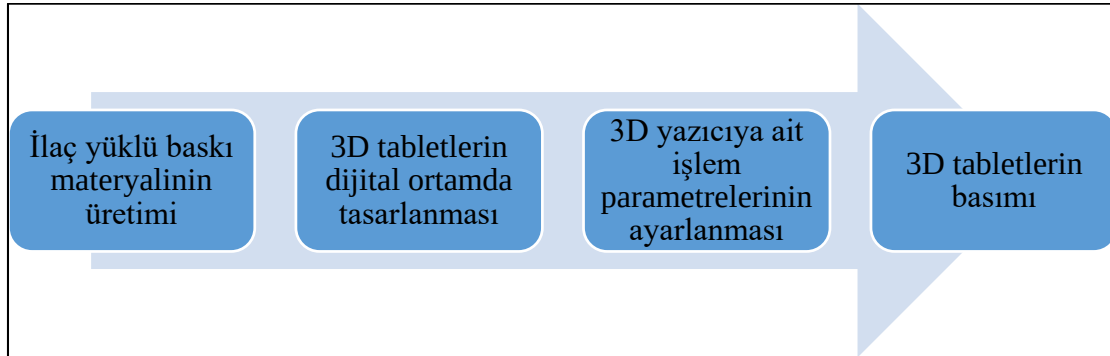
FDM tipi 3D yazıcılarda basılacak nesnenin üzerinde oluşturulduğu tabladır. Platformun baskı sırasındaki hareket yönü kullanılan yazıcı modeline bağlı olarak farklılık göstermekle birlikte çoğunlukla Z eksenini boyunca hareket etmektedir. Platform istenilen sıcaklığa ayarlanmaktadır (Goole ve Amighi, 2016). Platform sıcaklığı basılan nesneye ait ilk katmanın platforma tutunması ve art arda biriktirilen katmanların birbirine bağlanması açısından önemlidir (Elkasabgy, Mahmoud ve Maged, 2020).



Şekil 2.5. FDM tipi bir 3D yazıcı (a) ve ekstrüzyon başlığı (b) (Parulski ve diğerleri, 2021)

### 2.5.2. FDM 3DP yöntemiyle tablet üretim prosesi

FDM 3DP yöntemiyle tabletlerin temel üretim basamakları Şekil 2.6’da özetlenmiştir (Pawar ve Pawar, 2022).



Şekil 2.6. FDM teknolojisiyle 3D tabletlerin temel üretim basamakları

#### İlaç yüklü baskı materyalinin (filament) üretimi

FDM tipi 3D yazıcıların baskı materyali olarak başlangıçta polilaktik asit (PLA), akrilonitril bütadien stiren gibi termoplastik polimerlerden hazırlanan ticari olarak temin edilebilen filamentler kullanılmıştır. FDM'ye artan ilgi nedeniyle, polivinil alkol (PVA), XT kopolyester, polietilen tereftalat, naylon, termoplastik poliüretan gibi diğer malzemelerin kullanımı araştırılmıştır (Melocchi ve diğerleri, 2016). FDM 3DP teknolojisindeki ilerlemelere rağmen, farmasötik uygulamalar için ticari olarak temin edilen filamentler PLA

ve PVA gibi sadece birkaç biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerle sınırlı kalmıştır (Goyanes, Buanz, Basit ve Gaisford, 2014; Kukkonen, Ervasti ve Laitinen, 2022). Ayrıca halen piyasada ilaç yüklü herhangi bir ticari filament mevcut değildir. Dolayısıyla son zamanlarda farmasötik alanda basılabilir özelliklere sahip ilaç yüklü filamentlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar artmıştır. Farmasötik uygulamalar için ilaç yüklü filamentlerin geliştirilmesi amacıyla pasif difüzyon ve sıcak eriyik ekstrüzyon olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmaktadır (Parhi, 2021).

#### *Pasif difüzyon*

Pasif difüzyon yönteminde, herhangi bir ilaç içermeyen ticari filamentler belirli bir süre boyunca (12 saat-4 gün) istenen ilacın doygün çözeltisi içerisinde bekletilir. İlacın çözeltiden filamentin polimerik matriksine difüzyon yoluyla geçmesi sağlanır. Daha sonra filament kurutularak çözücü uzaklaştırılır (Parhi, 2021). Difüzyon yönteminin ilaç yükleme kapasitesinin düşük olması (<%2), zaman alıcı olması ve kullanılan bazı çözücülerden ötürü etkin maddenin bozunması ve filament bütünlüğünün zarar görmesi gibi çeşitli dezavantajları vardır. Filamente yüklenen ilaç miktarı, ilacın çözücü içindeki çözünürlüğü ile sınırlıdır (Parulski ve diğerleri, 2021). Bu yöntem sadece düşük dozlarda terapötik etki gösteren ilaçlar için uygundur. Ayrıca bu yöntemin farmasötik alana uygulanabilirliği PLA ve PVA gibi biyobozunur birkaç ticari filamentle sınırlıdır (Goyanes ve diğerleri, 2014; Kukkonen ve diğerleri, 2022) .

#### *Sıcak eriyik ekstrüzyon (Hot melt extrusion-HME)*

FDM 3DP tekniğinde kullanılan ilaç yüklü filamentler çoğunlukla, ilacın çeşitli yardımcı maddelerle birlikte bir polimere veya polimer karışımına dahil edildiği HME işlemiyle hazırlanmaktadır. Bu amaçla HME tekniğinin FDM 3DP ile kombine edilmesi yakın zamanda araştırılmaya başlanmıştır (Vaz ve Kumar, 2021). HME 1980'lerden beri tablet, pellet, granül, film, implant, oftalmik ve topikal ilaç taşıyıcı sistemler gibi çeşitli farmasötik ürünlerin geliştirilmesinde kullanılan bir üretim tekniğidir (Dumpa ve diğerleri, 2021). Bu tekniğin farmasötik alanda başlıca kullanımı, suda az çözünen ilaçların çözünürlüğünü artırmayı amaçlayan amorf katı dispersiyonlar üretmektir. HME yöntemiyle ilaç polimer karışımları kristalin süspansiyon, camsı süspansiyon, camsı çözelti veya bunların kombinasyonundan oluşan amorf katı dispersiyonlar oluşturabilmektedir (Parulski ve

diğerleri, 2021). Farmasötik araştırmalarda amorf katı dispersiyonları tanımlamak için yaygın olarak kullanılan bir sınıflandırma Çizelge 2.7’de sunulmuştur (Almeida, Claeys, Remon ve Vervaet, 2012: 43-69). HME’nin katı dispersiyonların yanısıra farklı özelliklere sahip taşıyıcı polimerler kullanarak ilaç salımının modifikasyonu ve tat maskeleme gibi uygulamaları da mevcuttur. Piyasada yaklaşık 32 adet FDA onaylı HME ürünü bulunmaktadır. Bunlardan bazıları Çizelge 2.8’de sunulmuştur. Ancak henüz FDM 3DP tekniğinde kullanılmak üzere HME tekniğiyle üretilmiş FDA onaylı ilaç yüklü bir filament mevcut değildir (Nashed, Lam ve Nokhodchi, 2021).

Çizelge 2.7. Amorf katı dispersiyonların sınıflandırılması

| Amorf katı dispersiyon |                         |                           |               |
|------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------|
|                        | Camsı süspansiyon       | Kristalin süspansiyon     | Camsı çözelti |
| İlaç                   | Amorf                   | Kristal                   | Amorf         |
| Polimerik taşıyıcı     | Amorf                   | Amorf                     | Amorf         |
| DSC profili            | 2 Tg ( polimer ve ilaç) | Tg (polimer) ve Tm (ilaç) | 1 Tg          |

\*DSC: Diferansiyel taramalı kalorimetre Tg: Camsı geçiş sıcaklığı Tm: Erime noktası

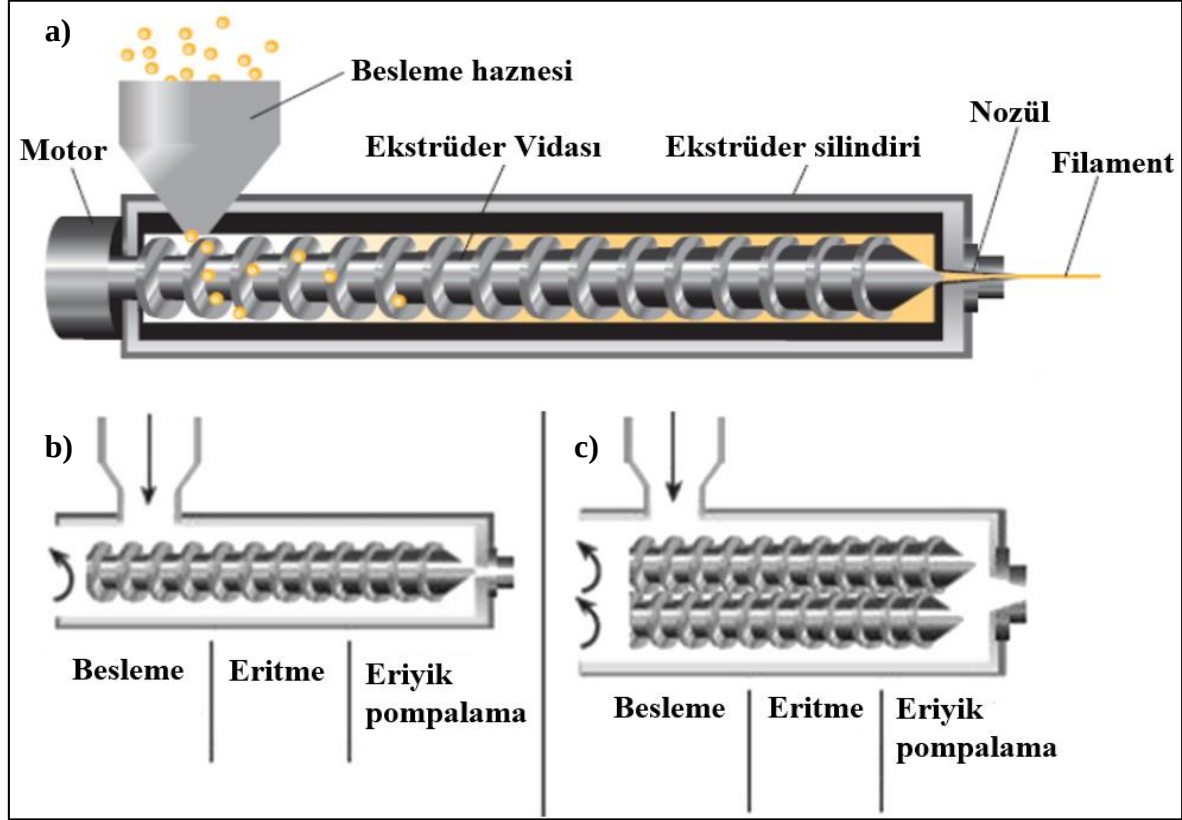
Çizelge 2.8. Bazı ticari HME ürünleri

| Dozaj formu      | Ticari Ürün              | Etkin Madde                  | Firma      |
|------------------|--------------------------|------------------------------|------------|
| Sübkütan implant | Zoladex <sup>®</sup>     | Goserelin asetat             | Astrazenca |
| Oküler insert    | Lacrisert <sup>®</sup>   | Islatıcı ajan (HPC)          | Valeant    |
| Vajinal halka    | NuvaRing <sup>®</sup>    | Etonogestrel/Etinilestradiol | NV Organon |
| ASD tablet       | Noxafil <sup>®</sup>     | Posaconazol                  | Merck      |
| ER tablet        | Isoptin SRE <sup>®</sup> | Verapamil                    | Abbott     |

ASD: Amorf katı dispersiyon ER: Uzatılmış salım HPC: Hidroksipropil selüloz

HME tekniğiyle ilaç yüklü filamentlerin üretiminde tek veya çift vidalı ekstrüderler kullanılmaktadır (Parhi, 2021) (Şekil 2.7). Ekstrüzyon işleminin ilk adımı, fiziksel toz karışımını hazırlamaktır. Polimer, ilaç ve/veya yardımcı maddelerin gerekli miktarları tartılır ve karıştırılır. Elde edilen homojen toz karışımı ekstrüder silindirin içinde camsı geçiş sıcaklığının üzerinde uygun bir sıcaklıkta eritilerek/yumuşatılarak dönen bir vida aracılığıyla belli bir çapa sahip nozülünden filament formunda ekstrüde edilir ve daha sonra oda sıcaklığında soğumaya bırakılarak katılaşması sağlanır. HME yöntemi ile ilaç yüklü filamentlerin üretilmesi birçok farmasötik polimerin kullanımını mümkün kılması ve yüksek ilaç yükleme kapasitesinden ötürü difüzyon yöntemine tercih edilmektedir (Awad, Trenfield, Gaisford ve Basit, 2018; Parulski ve diğerleri, 2021). HME yönteminin farmasötik alandaki diğer üstünlük ve kısıtlamaları karşılaştırmalı olarak Çizelge 2.9’da verilmiştir (Patil, Tiwari ve Repka, 2016). HME yöntemiyle FDM için basılabilir kalitede filament

üretimi formülasyon, işlem, ekipman ve üretim tesisine özgü pek çok parametreden etkilenmektedir. Dolayısıyla HME yönteminde uygun formülasyon ve işlem koşullarının seçimi basılabilir kalitede termoplastik filamentler üretmek için önemlidir (Patil ve diğerleri, 2016; Pereira ve diğerleri, 2020).



Şekil 2.7. Tek vidalı ekstrüder ve kısımları (a) Tek (b) ve çift vidalı (c) ekstrüderlerin işlevsel bölmeleri (Amin, Gangurde ve Alai, 2015; Patil ve diğerleri, 2016)

Çizelge 2.9. HME yönteminin üstünlük ve kısıtlamaları

| Üstünlükleri                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Kısıtlamaları                                                                                                                                                                                                       |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Devamlı bir prosestir.</li> <li>✓ Yüksek verime sahiptir.</li> <li>✓ Organik çözücü gerektirmez.</li> <li>✓ Suda çözünürlüğü düşük olan ilaçların çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını artırır.</li> <li>✓ Farmasötik alanda geniş bir uygulama alanına sahiptir.</li> <li>✓ Zayıf basın özelliğine sahip etkin maddeler için yararlıdır.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Isıya hassas hammaddeler için uygun değildir.</li> <li>✓ Yüksek akış özelliklerine sahip hammaddeler gerektirir.</li> <li>✓ Yüksek enerji kullanımına yol açar.</li> </ul> |

### Filament formülasyonları

HME yöntemiyle FDM 3DP tekniği için hedeflenen özelliklere sahip basılabilir filamentlerin geliştirilmesi genellikle karmaşık formülasyonlar gerektirir (Parhi, 2021). Formülasyonlarında etkin madde ve taşıyıcı polimerlerin yanı sıra gerektiği durumlarda diğer bazı yardımcı maddeler de kullanılmaktadır. Filament formülasyonlarını oluşturan başlıca bileşenler şunlardır (Cailleaux ve diğerleri, 2021):

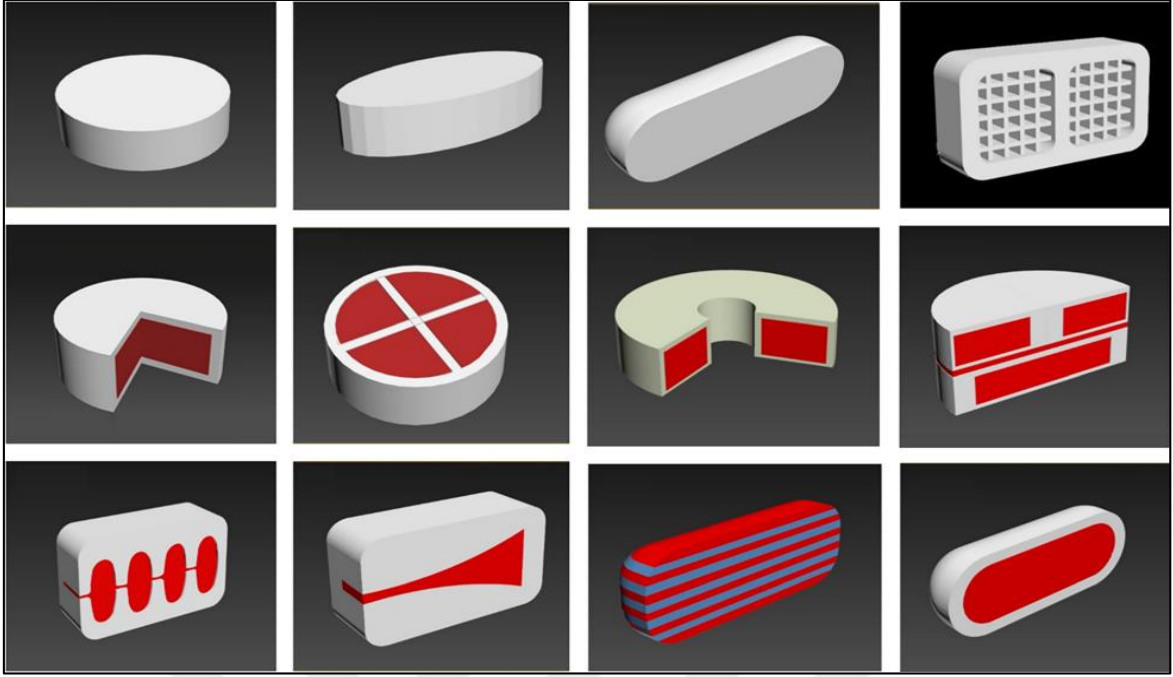
- Etkin madde: HME bazlı FDM 3DP prosesi için uygun etkin maddelerin seçiminde etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri, termal özellikleri, taşıyıcı polimer içerisindeki çözünürlüğü ve fiziksel durumu göz önünde bulundurulmalıdır (Crowley ve diğerleri, 2007).
- Polimer: Filament formülasyonlarında etkin maddeyi taşıyan matriks polimerinin camsı geçiş sıcaklığı, termal stabilitesi ve termoplastik özellikleri formülasyon ve işlem koşullarını belirleyen en önemli parametrelerdir (Almeida ve diğerleri, 2012: 43-69; Tambe, Jain, Agarwal ve Amin, 2021). Geleneksel farmasötik dozaj formlarının geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılan farmasötik polimerlerin çoğu FDM 3DP için uygun mekanik, termal ve reolojik özelliklere sahip değildir. Filamentlerin basılabilirliğini etkileyen bu özellikleri iyileştirmek için filament formülasyonlarına çeşitli plastifiyan maddeler, dolgu maddeleri ve diğer bazı yardımcı maddeler dahil edilmiştir (Solanki, Tahsin, Shah ve Serajuddin, 2018). Bu şekilde filament formülasyonlarında polimetakrilat türevleri (Eudragit E, Eudragit E PO, Eudragit RL 100, Eudragit RS 100, Eudragit RL PO ve Eudragit L gibi), selüloz türevleri (etil selüloz, HPC, HPMC ve HPMCAS gibi), PVP, PVP vinil asetat, PVA, PLA, polietilen oksit (PEO), etilen vinil asetat ve polikaprolakton (PCL) gibi pek çok farmasötik polimer kullanılmıştır (Pereira ve diğerleri, 2020).
- Plastifiyan maddeler: Filament formülasyonlarında yaygın olarak kullanılan yardımcı maddelerdir. Plastifiyanlar tipik olarak polimer zincirleri arasındaki serbest hacmi artırarak polimerin camsı geçiş sıcaklığını ve eriyik viskozitesini azaltan düşük molekül ağırlığına sahip bileşiklerdir. Dolayısıyla plastifiyan maddeler HME işlem sıcaklığını düşürerek polimerin işlenebilirliğini ve elde edilen filamentlerin esnekliğini artırmaktadır (Nashed ve diğerleri, 2021; Stanković, Frijlink ve Hinrichs, 2015). Filament formülasyonlarında triasetin, trietil sitrat, düşük molekül ağırlıklı PEG türevleri, Tween 80, sitrik asit monohidrat, stearik asit, mannitol ve sorbitol gibi plastifiyan maddelerin

kullanımları yaygın olarak araştırılmıştır (Pereira ve diğerleri, 2020). Ayrıca HME ile katı dispersiyonlar oluşturmada çözünürlük artırıcı olarak kullanılan sürfaktanların plastifiyan etkileri gösterilmiştir (Ghebremeskel, Vemavarapu ve Lodaya, 2007). Son zamanlarda bazı etkin maddelerin de filament formülasyonlarında plastifiyan olarak işlev gördüğü bildirilmiştir (Borujeni, Mirdamadian, Varshosaz ve Taheri, 2019).

- Dolgu maddeleri: Özellikle çok esnek olup zayıf mekanik özelliklere sahip filamentlerin sertliğini artırmak için kullanılmaktadır. Bu amaçla filament formülasyonlarında talk, tri kalsiyum fosfat, tribazik sodyum fosfat, laktoz, trikalsiyum fosfat ve mikrokristal selüloz gibi bazı dolgu maddeleri kullanılmıştır (Cailleaux ve diğerleri, 2021; Parhi, 2021).
- Lubrikan maddeler: Hem HME ve hem de FDM 3DP prosesi sırasında işlev görürler. HME işleminde toz ile ekstrüder arasında sürtünmeyi azaltarak tozun akışını ve eriyik kütlenin nozülünden akışını iyileştirirler. Ayrıca 3D yazıcıya ait ekstrüderin iç yüzeyi ile filament arasındaki sürtünmeyi azaltır ve eriyik kütlenin yazıcı nozülünden geçişini kolaylaştırırlar. Bu amaçla filament formülasyonlarında magnezyum stearat, kalsiyum stearat ve susuz koloidal silika gibi lubrikan maddeler kullanılmıştır (Cailleaux ve diğerleri, 2021; Parulski ve diğerleri, 2021; Pereira ve diğerleri, 2020).
- Salım düzenleyiciler: Filament formülasyonlarına bitmiş ürünün ilaç salım hızını artırmak veya azaltmak için sodyum aljinat, ksantan sakızı, mikrokristal selüloz, mannitol, sodyum lauril sülfat gibi salım düzenleyici maddeler kullanılmıştır (Cailleaux ve diğerleri, 2021).
- Dağıtıcılar: Filament formülasyonlarında bitmiş ürünün dağılmasını hızlandırmak dolayısıyla ilacın salım hızını artırmak için kroskarmeloz sodyum, sodyum nişasta glikolat veya çapraz bağlı PVP gibi dağıtıcı veya süper dağıtıcı maddeler kullanılmıştır (Cailleaux ve diğerleri, 2021).

### 3D tabletlerin dijital ortamda tasarlanması

3D baskı ile tablet üretim prosesinde baskı materyali hazırlandıktan sonra ilk adım basılacak tabletlerin tasarımıdır. Dijital ortamda hedeflenen amaca göre istenen geometrik şekil, boyut ve iç yapıya sahip tabletler tasarlanabilmektedir (Dumpa ve diğerleri, 2021). Tasarım dosyası Bölüm 2.4.1’de anlatıldığı şekilde oluşturulduktan sonra yazıcıya aktarılmaktadır (Bkz. Şekil 2.4). Yapılan çalışmalarda 3D tabletler ilgili yapılan bazı tasarımlar Şekil 2.8’de gösterilmiştir (Alhnan ve diğerleri, 2016).



Şekil 2.8. Farklı 3D tablet tasarımları (Alhnan ve diğerleri, 2016)

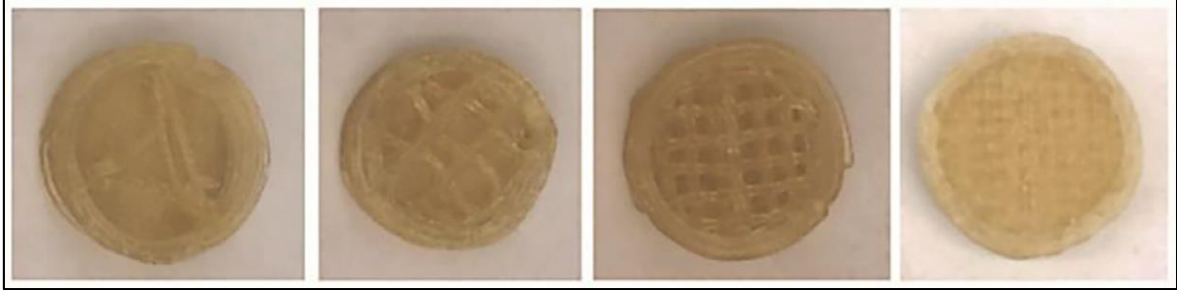
#### İşlem parametrelerinin ayarlanması

FDM 3DP prosesiyle basılacak tabletler için tasarım dosyası oluşturulurken yazıcıya ait yazılımda tabletlerin boyutlandırılması (yükseklik, genişlik ve uzunluk), iç yapısı (dolgu yüzdesi, dolgu deseni) ve 3D baskısı (baskı hızı, baskı sıcaklığı, katman yüksekliği gibi) ile ilgili işlem parametreleri ayarlanabilmektedir (Dumpa ve diğerleri, 2021). Bu parametrelerin optimizasyonu hedef özelliklere sahip bir bitmiş ürün eldesi için oldukça önemlidir. Bu parametrelerin hedef ürün profiline ve baskı materyali olarak kullanılan filamentlerin formülasyon bileşenleri, mekanik, termal ve reolojik özelliklerine göre optimize edilmesi gerekmektedir (Joo ve diğerleri, 2020; Parulski ve diğerleri, 2021). En önemli işlem parametreleri aşağıda özetlenmiştir.

#### *Dolgu yüzdesi*

Dolgu yüzdesi (dolgu dansitesi), nesnenin iç yapısını oluşturan materyal miktarını tanımlayan ve dolayısıyla basılan 3D nesnenin porözitesiyle ilişkili olan bir parametredir. Dolgu dansitesi %0 ile %100 arasında değişmektedir. 3D baskı prosesinde %0'lık dolgu yüzdesi tamamen içi boş bir nesneyle, %100'lük dolgu ise tamamen doldurulmuş katı bir nesneyle sonuçlanmaktadır (Goole ve Amighi, 2016). Dolgu yüzdesi dozaj formunun porözitesiyle doğrudan ilişkili olduğundan dolgu yüzdesinin modifikasyonu, dozaj formundan etkin maddenin salım hızını ayarlamak için sıklıkla kullanılmaktadır. Dolgu yüzdesi, in vitro salım profilinin yanısıra dozaj

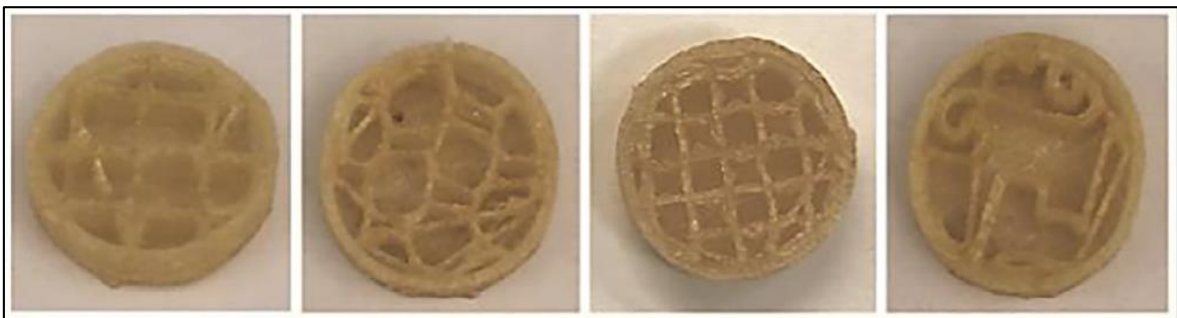
formunun sertliğini ve baskı süresini etkileyen kritik bir parametredir (Dumpa ve diğerleri, 2021). FDM 3DP prosesiyle basılan farklı dolgu yüzdesine (sırasıyla %10, 25, 50 ve 100) sahip tabletlere ait görseller Şekil 2.9’da verilmiştir.



Şekil 2.9. Farklı dolgu yüzdeleriyle basılan 3D tabletler (Kadry ve diğerleri, 2018)

### *Dolgu deseni*

Dolgu deseni, basılan nesnenin iç dolgu tasarımını ifade etmektedir. Piyasada bulunan FDM 3D yazıcıların yazılımlarında çizgi, baklava ve altıgen gibi çok farklı dolgu desenleri mevcuttur. Dolgu yüzdesine benzer şekilde dolgu desenleri, dozaj formlarının sertliğini ve in vitro salım profilini etkileyebilmektedir (Dumpa ve diğerleri, 2021). Ayrıca dozaj formunun baskı süresi de farklı dolgu desenlerine göre değişmektedir (Palekar, Nukala, Mishra, Kipping ve Patel, 2019). FDM 3DP prosesiyle basılan farklı dolgu desenlerine sahip tabletlere ait görseller Şekil 2.10’da verilmiştir.



Şekil 2.10. Farklı dolgu desenleriyle basılan 3D tabletler (Kadry ve diğerleri, 2018)

### *Baskı ve platform sıcaklığı*

Baskı sıcaklığı, filamentin FDM 3DP prosesinde ekstrüzyondan önce nozül içinde maruz kaldığı sıcaklıktır. Platform sıcaklığı, üzerinde ürün baskısının gerçekleştiği tablanın sıcaklığıdır. Bu sıcaklık ayarları, baskı materyali olarak kullanılan filamentlerin fiziksel, termal ve reolojik özelliklerine göre

büyük ölçüde değişkenlik göstermektedir (Parulski ve diğerleri, 2021). FDM 3DP prosesi, filamentlerin eritilmesi veya yumuşatılması ve katman katman biriktirilmesi esasına dayanır. Filament formülasyonlarında bulunan polimer ve ilaçların termal stabilitesi açısından eritme/biriktirme aşamaları için gerekli minimum sıcaklığın, optimize edilmesi önemlidir. Genellikle baskı için gerekli sıcaklık, HME ile filament üretiminde kullanılan ekstrüzyon sıcaklığından daha yüksektir (Dumpa ve diğerleri, 2021). Baskı sıcaklığı, eriyik materyalin viskozitesini, dolayısıyla 3D baskı sırasında eriyik materyalin birikmesini ve katılaşmasını etkilemektedir. Sıcaklık arttığında, eriyik materyalin viskozitesi azalır. Baskı sıcaklığı, nozülün viskoz materyal tarafından tıkanmasını önlemek ve biriken katmanların birbirine bağlanmasını sağlamak için yeterince yüksek olmalıdır. Ancak baskı sıcaklığı çok yüksek olmamalıdır, aksi takdirde materyalin viskozitesi nesnenin oluşumu için yeterli olmayacaktır (Pietrzak, Isreb ve Alhnan, 2015). Materyalin viskozitesi basılan dozaj formlarının ağırlık tekdüzelikliğini de etkilemektedir. Eriyik materyalin viskozitesi azaldıkça, basılan tabletler arasındaki ağırlık değişkenliği azalmaktadır. Platform sıcaklığı da materyalin biriktirilmesinde ve nesnenin oluşumunda önemli bir role sahiptir. Platform sıcaklığı, 3D nesneyi oluşturan ilk katmanın tablaya yapışmasına ve nesnenin katılaşmasına izin verecek şekilde ayarlanmalıdır (Parulski ve diğerleri, 2021).

#### *Baskı hızı*

Baskı hızı, FDM 3DP prosesinde eriyik materyali biriktirmek için genellikle X ve Y eksenlerinde hareket eden ekstrüzyon başlığının hızıdır (Dey ve Yodo, 2019). Baskı hızı baskı materyalinin sıcaklığa maruziyet süresini etkilediğinden baskı sıcaklığı ile doğrudan ilişkilidir. Nozül sıcaklığı düşükken baskı hızı yüksekse, eriyik materyalin viskozitesi artar. Dolayısıyla bu durumda filament yeterli düzeyde erimeyebilir, nozülün içinde sıkışabilir veya pürüzlü yüzeye sahip bir bitmiş ürün baskısına neden olabilir. Diğer taraftan, düşük baskı hızlarında nozül sıcaklığının çok yüksek olması durumunda eriyik materyalin viskozitesi aşırı azalabilir. Baskı hızını artırmak, baskı süresini azaltır. Ancak basılan katmanlar arasında zayıf bağlanmaya neden olabilir. Dolayısıyla baskı hızını artırmak, bitmiş ürünün boyutsal doğruluğunu ve mekanik özelliklerini olumsuz etkileyebilmektedir (Abeykoon, Sri-Amphorn ve Fernando, 2020). Ayrıca yüksek baskı hızlarında mekanik özellikleri zayıf olan filamentler kırılabilirliğinden, baskı hızı seçilirken kullanılan filamentlerin kalitesi de göz önünde bulundurulmalıdır (Dumpa ve diğerleri, 2021). Baskı hızı filamentin nozül içindeki kalış süresiyle ilişkili olduğundan ilacın stabilitesini de etkileyebilmektedir. Sonuç olarak, baskı hızı, kullanılan filamentlerin mekanik,

termal ve reolojik özellikleri dikkate alınarak baskı sıcaklığına göre ayarlanmalıdır (Parulski ve diğerleri, 2021).

#### *Tabaka kalınlığı*

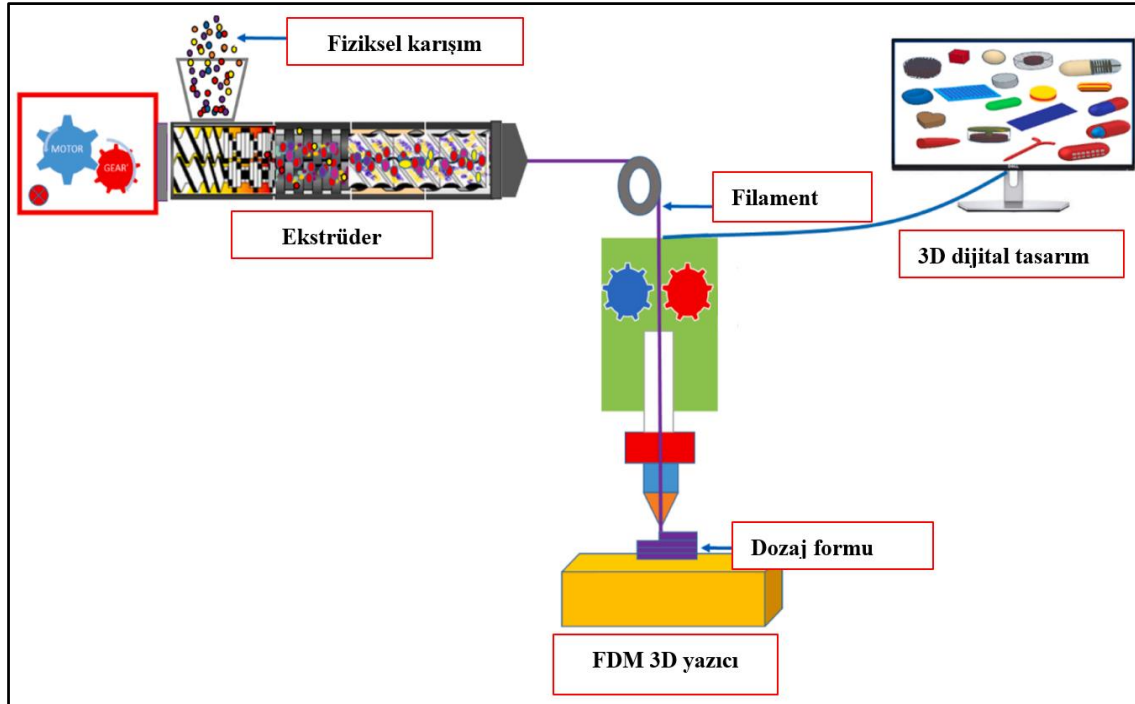
Tabaka kalınlığı, nesnelerin katman katman oluşturulduğu FDM 3DP prosesinde bir katmanın yüksekliğini ifade etmekte ve kullanılan nozulün çapına bağlı olarak 0,17 mm ile 0,33 mm arasında değişmektedir. Tabaka kalınlığı baskı süresini ve baskı çözünürlüğünü büyük ölçüde etkilemektedir. Tabaka kalınlığı azaldığında, baskı süresi ve baskı çözünürlüğü artar. Diğer taraftan tabaka kalınlığı arttığında baskı süresiyle birlikte baskı çözünürlüğü de azalır. Diğer bir deyişle, yüksek boyutsal doğrulukta ve yüzeyi pürüzsüz bir dozaj formu daha düşük tabaka kalınlığı dolayısıyla da daha uzun baskı süresi gerektirmektedir (Elkasabgy ve diğerleri, 2020).

#### *Kabuk kalınlığı ve kabuk sayısı*

3DP ile üretilen bir nesne kabuk ve dolgu olmak üzere iki bölüme ayrılmaktadır. Kabuk, nesnenin dış çeperlerini tanımlayan ana hatlardır. Dolgu ise basılan 3D nesnenin iç yapısını oluşturmaktadır (Parulski ve diğerleri, 2021). İç dolgu yüzdesindeki farklılıklar nedeniyle kabuk, iç dolgudan daha yoğun bir yapıya sahip olabilmektedir. Yazıcının yazılımında basılacak nesnenin yan yüzeylerine ait kabuk kalınlığı ile alt ve üst tabanına ait kabuk kalınlığı ayrı ayrı belirlenmektedir (Dumpa ve diğerleri, 2021). Kabuk sayısı, alt ve üst tabana ait kabuğun kaç katmandan oluştuğunu ifade etmektedir. Dolayısıyla alt ve üst tabana ait kabuk kalınlığı, tabaka kalınlığı ve kabuk sayısı ile orantılıdır. Kabuk kalınlığı da, ilacın salım profilini ve dozaj formunun sertliğini etkileyen önemli bir parametredir (Jiaxiang Zhang ve diğerleri, 2017).

#### 3D tabletlerin basılması

FDM 3DP prosesinde son aşamada basılmak istenen tabletlere ait tasarım dosyası yazıcıya aktarılır. Daha önceden HME prosesiyle elde edilen ilaç yüklü filamentler 3D yazıcının ekstrüzyon başlığına yüklenir. Baskı işlemi başlatılır ve basılmak istenen tabletler yazıcının platformunda tasarıma uygun şekilde katman katman oluşturulur. FDM 3D baskı prosesi ile tablet üretimi Şekil 2.11’de özetlenmiştir.



Şekil 2.11. FDM 3DP prosesiyle tablet üretimi (Dumpa ve diğerleri, 2021)

### 2.5.3. FDM 3DP yönteminin üstünlük ve kısıtlamaları

FDM 3DP yönteminin farmasötik alanda kullanımıyla ilgili başlıca üstünlük ve kısıtlamaları sırasıyla Çizelge 2.10 ve Çizelge 2.11’de özetlenmiştir.

Çizelge 2.10. FDM 3DP yönteminin farmasötik alandaki üstünlükleri

#### Üstünlükler (Parhi, 2021)

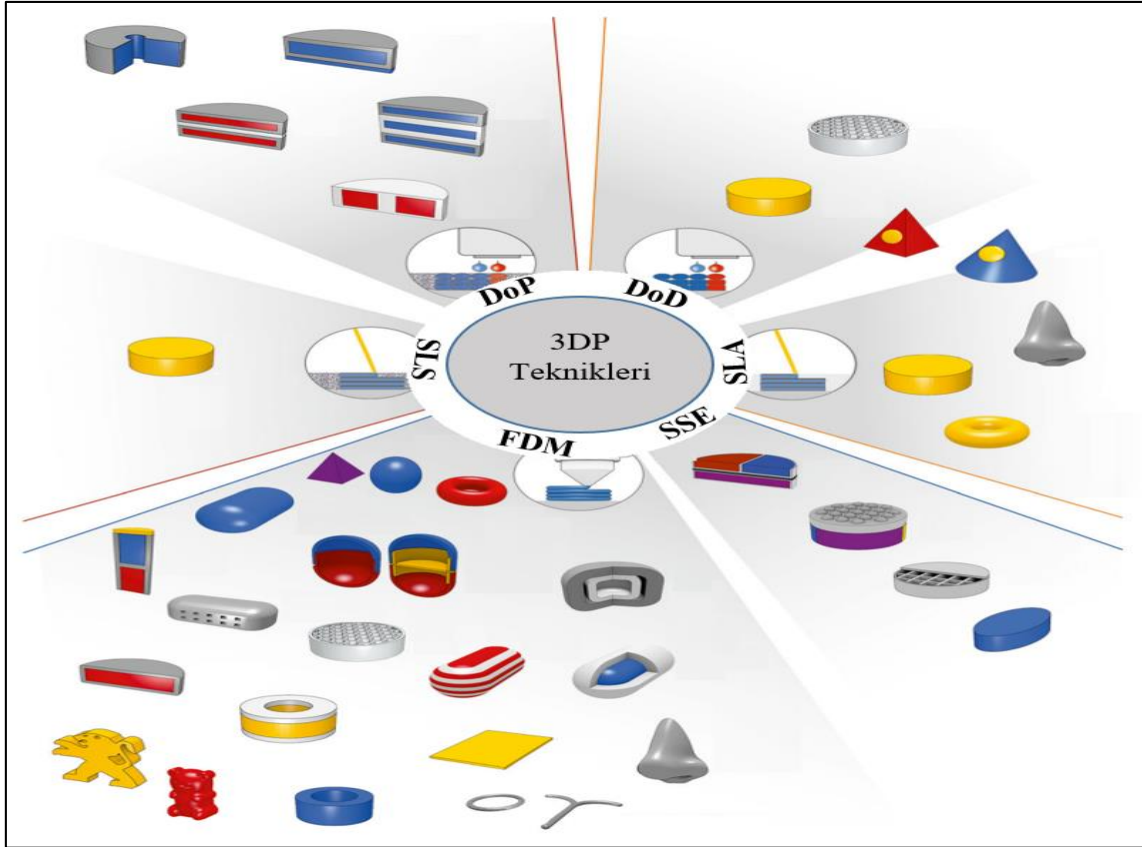
- ✓ Organik çözücü gerektirmez.
- ✓ Yüksek işlem sıcaklıkları mikrobiyal kontaminasyonu önleyebilir.
- ✓ İlaç yükleme kapasitesi ve içerik tekdüzeliği yüksektir.
- ✓ Çözünürlüğü düşük ilaçların HME yöntemiyle amorf katı dispersiyon filamentleri üretilir ve yüksek baskı sıcaklıkları amorf formun oluşumunu artırarak ilacın çözünürlüğünü artırabilir.
- ✓ Kompleks ve kişiselleştirilmiş dozaj formları geliştirme potansiyeline sahiptir.
- ✓ Farklı dolgu yüzdeleri, dolgu desenleri ve geometrik şekiller seçilerek, aynı filamentlerle farklı salım kinetiğine sahip dozaj formları geliştirilebilir.
- ✓ Kullanılan FDM 3D yazıcıların küçük, kolay taşınabilir ve uygun maliyetli olması sayesinde gelecekte kurum içi ilaç üretimini mümkün kılabilir.

Çizelge 2.11. FDM 3DP yönteminin farmasötik alandaki kısıtlamaları

| <b>Kısıtlamalar</b> (Bandari, Nyavanandi, Dumpa ve Repka, 2021; Cailleaux ve diğerleri, 2021; Parhi, 2021)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Besleme materyali olarak uygun kalitede filamentler gerektirir.</li> <li>✓ Filament üretimi için sınırlı sayıda uygun termoplastik polimer mevcuttur.</li> <li>✓ Farmasötik kullanım için ticari filamentler bulunmadığından ön koşul olarak ilaç yüklü filament formülasyonlarının geliştirilmesini gerektirir.</li> <li>✓ İlaç yüklü filamentlerin üretimi ve baskısı sırasında yüksek sıcaklıkların kullanılması etkin madde ve yardımcı maddelerin degradasyonuna yol açabilir. Dolayısıyla ısıya hassas ilaçlar (biyolojik ilaçlar gibi) için uygun değildir.</li> <li>✓ Baskı hızı oldukça düşük olup bir dozaj formunun baskı süresi büyüklüğüne bağlı olarak 2-5 dk sürebilir. Dolayısıyla seri üretim için uygun değildir.</li> <li>✓ FDM 3D yazıcı, yazılım ve farmasötik filamentler gibi girdi materyalleri için henüz bir GMP kılavuzu mevcut değildir.</li> <li>✓ Farmakopelerde 3D baskı yöntemleriyle geliştirilen dozaj formları için karakterizasyon yöntemleri mevcut değil ve geleneksel dozaj formları için geliştirilen yöntemlerin uygulanması zordur.</li> <li>✓ 3D baskı yöntemiyle üretilmiş farmasötik dozaj formları için henüz FDA tarafından yayınlanmış herhangi bir düzenleyici kılavuz mevcut değildir.</li> </ul> |

#### 2.5.4. FDM 3DP yönteminin farmasötik alandaki uygulamaları

FDM teknolojisi farmasötik alanda en geniş uygulama alanına sahip 3DP tekniğidir (Şekil 2.12) (Jamróz ve diğerleri, 2018). FDM 3DP tekniği kullanılarak tabletler (Pyteraf ve diğerleri, 2023), kapsüller (Smith, Kapoor, Klinzing ve Procopio, 2018), ağızda dağılan filmler (Ehtezazi ve diğerleri, 2018), transdermal mikroiğneler (Luzuriaga, Berry, Reagan, Smaldone ve Gassensmith, 2018), topikal maskeler (Goyanes, Det-Amornrat, Wang, Basit ve Gaisford, 2016), suppozituarlar (Awad ve diğerleri, 2023), vajinal halkalar (Fu, Yu ve Jin, 2018), rahim içi ve derialtı cihazlar (Genina ve diğerleri, 2016; Holländer ve diğerleri, 2016) gibi çok farklı ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Ancak farmasötik alanda yapılan tüm çalışmalar değerlendirildiğinde FDM 3DP tekniğinin daha çok tablet ve kapsül gibi oral katı dozaj formlarının geliştirilmesi için kullanıldığı görülmüştür (Brambilla ve diğerleri, 2021).



Şekil 2.12. FDM ve diğer 3DP tekniklerinin farmasötik alandaki uygulamaları (Jamróz ve diğerleri, 2018)

#### Oral katı dozaj formlarının geliştirilmesinde FDM 3DP tekniğinin avantajları

FDM 3DP tekniği oral katı dozaj formların geliştirilmesinde çözünürlük artırma, nispeten yüksek etkin madde yükleme kapasitesi, dozaj formunun kişiselleştirilmesi, in vitro salım profilinin modifikasyonu ve bölgeye spesifik salım özelliği dahil olmak üzere pek çok hususta avantaj sağlamaktadır.

#### *Çözünürlük artırma*

FDM 3DP tekniği amorf katı dispersiyon oluşturarak çözünürlüğü düşük ilaçların çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını artırma potansiyeline sahiptir (Seoane-Viaño ve diğerleri, 2021). HME bazlı FDM 3DP tekniğiyle dozaj formunun üretim sürecinde etkin madde hem filament üretimi aşamasında hem de baskı prosesinde termal prosese maruz kaldığından amorfik dönüşüm söz konusudur (Cailleaux ve diğerleri, 2021). Bunun yanısıra kristal yapıdaki bir etkin maddenin herhangi bir amorfik dönüşüm geçirmeden amorf bir polimerin içerisinde katı süspansiyonu oluşturularak da çözünürlüğü artırılabilir. Saydam ve Takka (2020) çalışmalarında

HME bazlı FDM 3DP tekniği ile kristalin yapıdaki rufinamid etkin maddesini içeren tabletler geliştirmiştir. HMPC, Soluplus ve Kollidon VA64 gibi amorf polimerler, Gelucire 48/16 (sürfaktan) ve triasetin (plastifiyan) karışımında etkin maddenin amorf katı süspansiyonu oluşturularak çözünürlüğü artırılmıştır. Solanki ve diğerleri (2018) tarafından yapılan başka bir çalışmada HME bazlı FDM tekniğiyle düşük çözünürlüğe sahip haloperidol etkin maddesini içeren 3D tabletler geliştirilmiştir. Etkin maddenin Kollidon VA64 ve HPMC polimerlerinin karışımından oluşan 3D tablet matriksinde amorf forma dönüştüğü gösterilmiştir.

#### *Yüksek etkin madde yükleme kapasitesi*

HME bazlı FDM 3DP tekniği, yüksek etkin madde yükleme kapasitesine olanak sağlamaktadır. Yapılan çalışmalar genel olarak %20-40 etkin madde içeriğine sahip basılabilir filamentlerin ekstrüzyonunun mümkün olduğunu göstermiştir (Pyteraf ve diğerleri, 2023). Ancak etkin madde miktarının %60'a ulaştığı bazı çalışmalar da mevcuttur (Verstraete ve diğerleri, 2018). Filamente yüklenen ilaç amorf formdaysa, yükleme kapasitesi polimerde çözünebilen ve amorf formda stabilize olan maksimum ilaç miktarıyla sınırlıdır. Diğer taraftan filamente yüklenen ilaç kristal formdaysa, maksimum yükleme kapasitesi filamentlerin mekanik ve reolojik özellikleri gibi basılabilirliğini etkileyen faktörlere ve bitmiş ürün özelliklerine göre belirlenmektedir. Pietrzak ve diğerleri (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, %50 teofilin içeren metakrilik veya selülozik polimer bazlı filament formülasyonlarına baskı için yeterli mekanik özelliklere sahip filamentler elde etmek için plastifiyan (trietil sitrat veya triasetin) maddeler ilave edilmiştir. Bu filamentler başarılı bir şekilde basılarak %50 teofilin içeren 3D tabletler elde edilmiştir. Bir diğer çalışmada %60'a kadar parasetamol içeren PCL, PEO 200 K veya PEO 100K polimer karışımlarından oluşan filamentler geliştirilmiştir. Ancak bu çalışmada da filamentlerin basılabilirliğini iyileştirmek için arap zıncı veya Gelucire 44/14 gibi yardımcı maddeler dahil edilmiştir (Đuranović, Obeid, Madžarević, Cvijić ve Ibrić, 2021). Verstraete ve diğerleri (2018) tarafından yapılan başka bir çalışmada yalnızca %60 teofilin veya metformin içeren termoplastik poliüretan polimer matriksine dayanan basılabilir filamentler elde edilmiştir.

#### *Dozaj formunun kişiselleştirilmesi*

Oral katı dozaj formlarının şekil, renk ve tat gibi organoleptik özellikleri ve tedavi dozunun hastanın bireysel ihtiyaç ve tercihlerine göre kişiselleştirilmesi hasta uyuncu ve tedavi etkinliği açısından önemlidir. Farmasötik alanda kullanılan tüm 3DP teknolojilerinin temel odağı dozaj

formunun bireye göre özelleştirilmesi olmakla birlikte, FDM 3DP tekniği özellikle hastanın isteğine bağlı kompleks şekillerde dozaj formları geliştirme ve kesin dozda ilaç yükleme hususunda avantaj sağlamaktadır (Krueger, Miles ve Popat, 2022; Wang, Shi ve Yang, 2022).

Goyanes ve diğerleri (2017b) tarafından yapılan bir çalışmada HME bazlı FDM 3DP tekniğiyle disk, simit, elmas küre, kapsül, beşgen, kalp, baklava, üçgen ve küp olmak üzere çeşitli şekil, boyut ve renklerde tabletler basılmıştır. Bu çalışmada basılan 3D tabletlerin insanlar tarafından ele alma ve yutma açısından kabul edilebilirliklerini tespit etmek için 18-45 yaşları arasındaki 50 katılımcı üzerinde bir test gerçekleştirilmiştir. Çeşitli şekil, boyut ve renklere sahip bu tabletlerin ele alma ve yutma açısından kabul edilebilirlikleri, hem katılımcı hem de araştırmacı tarafından bildirilen sonuçlar değerlendirilerek puanlandırılmış ve elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Geleneksel katı dozaj formların şekillerine benzerlik gösteren kapsül ve disk şeklindeki 3D tabletlerin, yüksek bir puanla kabul edilebilir olduğu gösterilmiştir. Ancak simit şeklindeki tabletler, en yüksek puanı alarak katılımcılar tarafından kabul edilebilirliği yüksek yeni bir şekil olarak belirlenmiştir. Ayrıca 3D tabletlerin renk ve boyutlarının da katılımcıların tercihlerini önemli ölçüde etkilediği gösterilmiştir. Bu sonuçlar FDM 3DP tekniğinin oral katı dozaj formlarının hasta tarafından kabul edilebilirliğini artıran yenilikçi bir üretim teknolojisi olduğunu göstermektedir. Diğer bazı çalışmalarda FDM 3DP tekniğiyle özellikle çocuklar tarafından kabul görebilecek tada sahip simit ve şeker benzeri şekillerde tabletler geliştirilmiştir (Scoutaris ve diğerleri, 2018; Wang, Dumpa, Bandari, Durig ve Repka, 2020). Awad ve diğerleri (2020) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise görme engelliler tarafından kolaylıkla tanınabilecek kabartmalara sahip ay, güneş ve kalp gibi farklı şekillere sahip tabletler basılmıştır.

FDM 3DP tekniğiyle kompleks şekillerde tabletler geliştirmek kombine ilaçların üretiminde de avantaj sağlar. Gioumouxouzis ve diğerleri (2018a) çalışmalarında çift ekstrüzyon başlığına sahip bir FDM 3D yazıcı kullanarak farklı dozaj rejimi gerektiren iki antidiyabetik ilaç içeren simit şeklinde çift katmanlı tabletler geliştirmiştir. Bu çalışmada sırasıyla hızlı salım ve sürekli salım özelliği gösteren %2 glimepirid yüklü PVA filamentleri ve %50 metformin yüklü Eudragit RL filamentleri HME yöntemiyle ayrı ayrı hazırlanmıştır. Daha sonra alt katmanlar için PVA filamentleri, üst katmanlar için Eudragit RL ile filamentleri kullanılarak çift katlı tabletler basılmıştır. İn vitro çözünme hızı çalışmalarıyla geliştirilen çift katlı 3D tabletlerin hem sürekli salım hem de hızlı salım özelliği gösterdiği kanıtlanmıştır. Başka bir çalışmada FDM 3DP tekniği kullanılarak iki antihipertansif ilaç içeren çift katmanlı tablet formülasyonları

geliştirilmiştir. HME yöntemiyle enalapril maleat ve hidroklorotiyazid etkin maddelerini ayrı ayrı ve farklı oranlarda içeren filamentler hazırlanmıştır. Bu filamentler kullanılarak başarılı bir şekilde üç farklı doz kombinasyonuna sahip (5/12,5 mg, 10/25 mg ve 20/25 mg enalapril maleat/hidroklorotiyazid içeren) çift katmanlı tabletler basılmıştır. Bu çalışma 3DP teknolojisiyle sabit doz kombinasyonları yerine hastaların ihtiyacına göre değişebilen dinamik doza sahip kombine dozaj formlarının geliştirilebileceğini göstermektedir (Sadıa ve diğlerleri, 2018b).

Birçok literatür çalışmasında FDM 3DP tekniğıyle başarılı bir şekilde geniş bir aralıkta farklı dozlara sahip 3D tabletler geliştirilerek bu tekniğın kişiselleştirilmiş dozda tedavi için önemi vurgulanmıştır (Gültekin ve diğlerleri, 2021; Pietrzak ve diğlerleri, 2015). Dar terapötik indekse sahip olan ilaçlarda dozdaki küçük varyasyonlar bile tedavinin terapötik etkinliğı ve güvenliğı açısından önemlidir. Dolayısıyla özellikle bu tür ilaçlarda dozun kişiselleştirilmesinin yanı sıra doz kesinliğı de oldukça önemlidir. Arafat, Qinna, Cieszyńska, Forbes ve Alhnan (2018a) çalışmalarında FDM 3DP yöntemi kullanarak dar terapötik indeks ile karakterize edilen varfarin etkin maddesinin farklı dozlarını (0.5, 1, 3 ve 5 mg) içeren tabletler geliştirmiştir. Bu çalışmada artan büyüklüklerde varfarin yüklü bir seri tablet basılmıştır. Tabletlerin bilgisayar ortamında tasarlanan teorik hacimleri ile ilaç dozları arasında yüksek düzeyde bir korelasyon bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçları FDM 3DP yöntemiyle geliştirilen dozaj formlarında hedef dozun yüksek kesinlikte ayarlanabileceğini kanıtlamıştır.

#### *İn vitro salım profilinin modifiğasyonu*

HME bazlı FDM yöntemiyle geliştirilen dozaj formları daha çok kontrollü salım ile karakterize edilmektedir. Bu durum filament formülasyonlarının yüksek polimerik içeriğı, kullanılan polimerlerin doğası ve yöntem kapsamında gerçekleşen erime-katılma aşamalarından sonra oluşan sert polimerik matriksten ilacın erozyon veya difüzyonla salınmasına bağlanmıştır (Okaför-Muo ve diğlerleri, 2020; Sadıa ve diğlerleri, 2018b). Zhang, Feng, Patil, Tiwari ve Repka (2017) çalışmalarında farklı polimerik taşıyıcılar kullanarak HME yöntemiyle elde ettikleri asetaminofen yüklü filamentlerden 3D tabletler basmıştır. Ayrıca filament formülasyonlarını oluşturan fiziksel karışımlardan direkt basım yöntemiyle tabletler hazırlanmıştır. Çalışmada basılan tüm 3D tabletlerin kontrollü salım yaptığı görölmüştür. Ayrıca 3D tabletlerin salım hızının aynı formülasyonun direkt basım yöntemiyle hazırlanan tabletlerinden daha yavaş olduğı gösterilmiştir. Başka bir çalışmada FDM 3DP yöntemi kullanılarak üç kompartmanlı

simit şeklinde tabletler geliştirilmiştir. Bu çalışmada öncelikle HME yöntemiyle hidroklortiyazid yüklü PVA filamentleri elde edilmiştir. Daha sonra tabletin alt ve üst katmanları için ticari PLA filamentleri, orta katmanları için ilaç yüklü PVA filamentleri kullanılarak üç kompartmanlı simit şeklinde tabletler basılmıştır. İn vitro çözünme hızı çalışmalarıyla model ilaç olarak kullanılan hidroklortiyazidin sıfıncı derece kinetiğe uygun salım yaptığı gösterilmiştir (Gioumouxouzis, Katsamenis, Bouropoulos ve Fatouros, 2017). Bir diğer çalışmada etil selüloz ve hidroksipropil selüloz polimerleri farklı oranlarda karıştırılarak HME yöntemiyle karbamazepin yüklü filamentler geliştirilmiştir. Etil selüloz ve hidroksipropil selüloz polimerlerinin formülasyondaki oranı 2:1 olarak ayarlandığında, elde edilen filamentlerin en iyi mekanik ve baskı özelliklerine sahip olduğu gösterilmiştir. Bu filamentlerle basılan silindirik yapıdaki 3D tabletlerden salımın sıfıncı derece kinetiğe göre gerçekleştiği görülmüştür (Borujeni ve diğerleri, 2019).

Oral katı dozaj formları, piyasadaki ilaçların %40'ından fazlasını oluşturur ve bunların %70'i hızlı salım yapan tabletlerdir (Okwuosa ve diğerleri, 2016). Ancak daha önce de belirtildiği gibi FDM 3DP yöntemiyle geliştirilen dozaj formları, hem yaygın kullanılan polimerlerin hem de elde edilen kompakt yapıdaki dozaj formların doğası gereği kontrollü salıma daha yatkındır. Buna rağmen, bazı araştırmacılar çeşitli polimerler, yardımcı maddeler veya yenilikçi tablet tasarımları kullanarak bu zorlukların üstesinden gelmiştir. Kempin ve diğerleri (2018) çalışmalarında nispeten düşük camsı geçiş sıcaklığına sahip ve hızlı salım özelliğine sahip bazı polimerleri (PVP K12, PEG 6000, Kollidon VA64, PEG 20000 ve poloksamer 407) kullanarak HME ile pantoprazol sodyum yüklü filamentler elde etmiştir. Bu çalışmada geliştirilen filamentlerden FDM 3DP yöntemiyle 100 °C'nin altındaki işlem sıcaklığında silindirik tabletler basılmıştır. İn vitro çözünme hızı çalışmalarıyla en uzun etkin madde salımının poloksamer 407 polimer matriksine sahip 3D tabletlerde gerçekleştiği ve 120 dk'da tamamlandığı gösterilmiştir. Diğer taraftan, PVP K12 polimerinin matriks olarak kullanıldığı tabletlerde etkin madde salımı 10 dk'da tamamlanarak en hızlı salım gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, FDM 3DP yönteminin ısıya hassas ve hızlı salım hedeflenen ilaçlar için uygun olabileceğini göstermektedir. Alternatif olarak, bazı araştırmacılar FDM 3DP yöntemiyle kompleks tasarıma sahip tabletlerin kolaylıkla üretilebilirliğinden yararlanarak dozaj formundan etkin maddenin salımını hızlandırmak için yenilikçi tabletler tasarlamıştır. Sadia, Arafat, Ahmed, Forbes ve Alhnan (2018a) çalışmalarında çeşitli genişlik, uzunluk ve konfigürasyonda kanallar bulunduran delikli kapletler (kapsül şeklindeki tabletler) basmıştır. Benzer şekilde bir diğer çalışmada tabletlerin salım hızını artırmak için aralarında sekiz boşluk bulunan dokuz bloklu kapletler

tasarlanmıştır (Arafat ve diğerleri, 2018b). Gültekin, Tort ve Acartürk (2019) tarafından yapılan başka bir çalışmada herhangi bir yardımcı madde kullanılmadan altı farklı Eudragit EPO ve PEO kombinasyonu ile sıcakta eriyen ekstrüzyon yöntemiyle pramipeksol yüklü filamentler hazırlanmıştır. FDM 3D yazıcı kullanarak iki delikli, bir delikli ve deliksiz silindirik tabletler basılmış ve çözünme hızı çalışmalarıyla bu tabletlerden sırasıyla 5, 15 ve 30 dk'da ilacın %90'dan fazlasının salındığı gösterilmiştir. Geometrik tasarımın yanı sıra diğer bazı çalışmalarda dolgu yüzdesi ve dolgu deseni gibi baskı parametreleriyle in vitro salım profilleri modifiye edilmiştir (Kadry ve diğerleri, 2018; Pyteraf ve diğerleri, 2023). Tüm bu çalışmalar, 3D tabletlerden etkin madde salımının herhangi bir dağıtıcı veya diğer bir yardımcı madde olmadan tablet tasarımıyla hızlandırılabilceğini göstermektedir.

### *Bölgeye spesifik salım*

FDM 3DP yöntemiyle istenen amaca uygun polimerik taşıyıcıların kullanımı ve önceki bölümde anlatıldığı şekilde in vitro salım çeşitli stratejilerle modifiye edilerek ağızda dağılan sistemler (Pyteraf ve diğerleri, 2023), midede yüzen sistemler (Dumpa, Bandari ve Repka, 2020), enterik (Nober ve diğerleri, 2019) ve kolon hedeflendirilmiş dozaj formları (Melocchi ve diğerleri, 2021) gibi bölgeye spesifik ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Son zamanlarda FDM 3DP teknolojisi kullanarak oral yoldan kolon hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemlerle ilgili bazı çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Goyanes ve diğerleri (2015a) çalışmalarında akışkan yatak kaplama, HME ve FDM 3DP teknolojisi kullanarak budesonid içeren tablet formülasyonları geliştirmiştir. Herhangi bir ilaç içermeyen ticari PVA filamentleri öğütülerek budesonid etkin maddesiyle homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra HME yöntemiyle ilaç yüklü filamentler elde edilmiştir. Bu filamentler kullanılarak FDM 3DP yöntemiyle 9 mg budesonid içeren kapsül şeklindeki tabletler basılmıştır. Tabletler daha sonra akışkan yatakta enterik bir polimer olan Eudragit L100 ile kaplanmıştır. Final tabletler salım özellikleri açısından İBH'nin tedavisinde kullanılan Cortiment® ve Entecort® gibi budesonid içeren ticari preparatlarla karşılaştırılmıştır. İn vitro salım çalışmalarıyla 3D tabletlerin pH 1,2 mide ortamında bütünlüğünü koruduğu, ince bağırsağa ulaştıktan 1 saat sonra kaplamanın açıldığı ve kaplama çözündükten sonra budesonid salımının kolona kadar devam ettiği (10. saatte yaklaşık %80 salım) görülmüştür. Ayrıca 3DP tabletlerden budesonid salımının Entecort®'tan (3. saatte yaklaşık %80) daha yavaş, Cortiment®'den (10. saatte yaklaşık %40) daha hızlı olduğu gösterilmiştir.

Okwuosa ve diğerkleri (2017) yaptıkları çalışmada FDM 3DP yöntemiyle ek bir kaplama prosesi gerektirmeden tek aşamada enterik kaplı 3D tabletler geliştirmiştir. HME yöntemiyle herhangi bir ilaç içermeyen Eudragit L kaplama filamentleri ve farklı etkin maddeler (budesonid, teofilin ve diklofenak sodyum) içeren ilaç yüklü PVP filamentleri ayrı ayrı hazırlanmıştır. Kaplama ve ilaç yüklü bir filament aynı anda çift ekstrüzyon başlığına sahip bir FDM 3D yazıcıya yüklenerek farklı kaplama kalınlıklarına (0,17-0,87 mm) sahip enterik kaplı tabletler basılmıştır. İn vitro salım çalışmalarıyla pH 1,2 mide ortamında ilk 2 saat içerisinde kabuk kalınlığı 0,52 mm ve daha yüksek olan tabletlerden %3'ten daha az etkin madde salındığı gösterilmiştir. Bağırsak fazındaki salımın enterik kaplama kalınlığı arttığında geciktiği görülmüştür. Dolayısıyla 3D tabletlerin kaplama kalınlığı değiştirilerek dozaj formunun spesifik bir bölgeye hedeflenebileceği gösterilmiştir.

Goyanes ve diğerkleri (2017a) tarafından yapılan başka bir çalışmada enterik bir polimer olan HPMCAS ana matriks olarak kullanılarak parasetamol yüklü 3D tabletler geliştirilmiştir. HME yöntemi kullanılarak %5 ve %50 ilaç içeren HPMCAS filamentleri ayrı ayrı hazırlanmış ve daha sonra FDM 3DP yöntemiyle farklı dolgu yüzdesine (%20, %100) sahip silindirik tabletler basılmıştır. İn vitro salım çalışmaları basılan tüm tabletlerde ilk 2 saat pH 1,2 mide ortamında %10'dan daha az ilacın salındığı görülmüştür. Daha sonra ince bağırsak ve kolon şartlarında 10 saat boyunca ilacın kontrollü olarak salındığı görülmüştür. Sadece %20 dolgu yüzdesiyle basılan tabletlerde parasetamol salımının 10 saatte tamamlandığı gösterilmiştir. Bu çalışma FDM 3DP yöntemiyle herhangi bir dış enterik kaplama olmaksızın bölgeye spesifik salım yapan oral dozaj formlarının geliştirilebileceğini göstermektedir.

Mirdamadian, Varshosaz, Minaiyan ve Taheri (2022) çalışmalarında FDM 3DP teknolojisi ve nanoteknolojiyi kombine ederek oksaliptatin yüklü aljinat nanopartikülleri (OP-NP) içeren kolona hedeflendirilmiş 3D tabletler geliştirmiştir. Çalışmada OP-NP'ler, Eudragit L100-55 polimeri ve plastifiyan maddeler kullanılarak HME yöntemiyle nanopartikül yüklü filamentler elde edilmiştir. Daha sonra bu filamentler kullanılarak FDM yöntemiyle silindirik yapıda tabletler basılmıştır. İn vitro salım çalışmalarıyla OP-NP içeren 3D tabletlerin ilk 2 saat mide ortamında bütünlüğünü koruduğu ve neredeyse ilacın hiç salınmadığı, pH 6,8 bağırsak ortamında ilacın sadece %2'sinin salındığı ve ardından pH 7,4 kolon ortamında 3 saat içerisinde etkin madde salımının tamamlandığı görülmüştür. Bu çalışmada da herhangi bir kaplama kullanılmadan pH duyarlı bir polimer olan Eudragit L100-55 doğrudan ana matriks olarak kullanılarak kolona hedeflendirilen tabletler geliştirilmiştir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan Sarf Malzemeler, Cihazlar ve Yazılımlar

Tez çalışması sırasında kullanılan sarf malzeme ve cihazlar sırasıyla Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2’de sunulmuştur. Ayrıca deneylerde kullanılan çözeltiler ve çalışma süresince yararlanılan yazılımlar listelenmiştir.

##### 3.1.1. Kullanılan sarf malzemeler

Çizelge 3.1. Kullanılan sarf malzemeler

| Sarf malzeme                               | Firma, ülke               |
|--------------------------------------------|---------------------------|
| Asetonitril                                | Merck, Almanya            |
| C <sub>18</sub> kolon (4.6 x 250 mm, 5 µm) | Waters, ABD               |
| Citrofol AI, trietil sitrat                | Jungbunzlauer, İsviçre    |
| Ethocel Standard 10 Premium, etil selüloz  | Dupont, ABD               |
| Eudragit S100                              | Evonik GmbH, Almanya      |
| Flutikazon propiyonat                      | Ontario chemicals, Kanada |
| Gammasiklodekstrin                         | Roquette, Fransa          |
| Gelucire 48/16                             | Gattefossé, Fransa        |
| Gliseril monostearat                       | Gattefossé, Fransa        |
| Hidroklorik asit (%37,5)                   | Merck, Almanya            |
| HPMCAS                                     | Dupont, ABD               |
| IL-6 Elisa kit (sıçan)                     | BT-lab, Çin               |
| Kollisov GTA, triasetin                    | BASF, Almanya             |
| Magnezyum stearat                          | Magnesia, Almanya         |
| Metanol                                    | Merck, Almanya            |
| MPO assay kit                              | BT-lab, Çin               |
| Ortofosforik asit                          | Sigma Aldrich, ABD        |
| Sitrik asit monohidrat                     | Drogsan, Türkiye          |
| Sodyum hidroksit                           | Sigma Aldrich, ABD        |
| Sodyum lauril sülfat (SLS)                 | Wisent, Kanada            |
| Talk                                       | Sigma Aldrich, ABD        |
| TNBS çözeltisi (1M sulu çözelti)           | Sigma Aldrich, ABD        |
| TNF-α Elisa kit (sıçan)                    | BT-lab, Çin               |
| Trietil sitrat                             | Merck, Almanya            |
| Wistar cinsi sıçan                         | Kobay A.Ş., Türkiye       |

##### 3.1.2. Kullanılan cihazlar

Çizelge 3.2. Kullanılan cihazlar

| Kullanılan cihaz                  | Marka, ülke              |
|-----------------------------------|--------------------------|
| Çalkalamalı su banyosu            | Memmert, Almanya         |
| Çözünme hızı cihazı               | Pharma Test, Almanya     |
| Dağılma cihazı                    | Pharma Test, Almanya     |
| Diferansiyel taramalı kalorimetre | Shimadzu DSC-60, Japonya |
| Dijital mikrometre                | Dasqua 2310-7115, İtalya |
| Distile su sistemi                | Nüve, Türkiye            |

Çizelge 3.2. (devam) Kullanılan cihazlar

| Kullanılan cihaz                            | Marka, ülke                                                  |
|---------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Etüv                                        | Mikrotest MST 120, Türkiye                                   |
| FDM tipi üç boyutlu yazıcı                  | Craftbot 3, Macaristan                                       |
| Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi | Agilent Cary 630, ABD                                        |
| Hassas terazi                               | Radwag AS 82/220.R2, Polonya                                 |
| Işık mikroskobu                             | Zeiss Axiolab 5, Almanya                                     |
| Manyetik karıştırıcı                        | Velp-Scientifica ARE, İtalya                                 |
| Öğütücü                                     | Waring 8011S, ABD                                            |
| Partikül büyüklüğü ölçüm cihazı             | Sympatec GmbH, Almanya                                       |
| pH metre                                    | Ohaus AB23PH-F, ABD                                          |
| Sertlik cihazı                              | Pharma Test, Almanya                                         |
| Stabilite test kabini                       | Mikrotest MIT 120, Türkiye                                   |
| Ufalanma aşınma cihazı                      | Pharma Test, Almanya                                         |
| Ultrsaf su sistemi                          | Millipore Direct-Q 3UV, ABD                                  |
| Ultrasonik banyo                            | Jeitech 13AB-231-XS, Kore                                    |
| Taramalı elektron mikroskobu                | FEI Quanta FEG 250, Hollanda                                 |
| Termogravimetre                             | Shimadzu DTG-60, Japonya                                     |
| Tekstür analiz aleti                        | Stable Micro Systems, TA.XT plus Texture Analyser, İngiltere |
| Tek vidalı ekstrüder                        | Noztek Pro, İngiltere                                        |
| X-ışını kırınım analiz cihazı               | Panalytical, Empyrean XRD, Hollanda                          |
| Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi         | Shimadzu, Promanince LC 20-A serisi, Japonya                 |

### 3.1.3. Deneylerde kullanılan çözeltiler

Miktar tayini yönteminde kullanılan çözeltiler (İngiliz farmakopesi, BP 2009)

#### *Seyreltme çözeltisi*

Asetonitril.....60 mL

0,001 M HCl çözeltisi.....40 mL

#### *HCl çözeltisi (0,001 M)*

0,1 N HCl çözeltisi .....5 mL

Distile Su.....y.m.....500 mL

#### *Stok çözeltisi*

100 mL'lik balon jojeye aktarılan 10,0 mg flutikazon propiyonatın üzerine 50 mL seyreltme çözeltisi ilave edildikten sonra 10 dk ultrasonik banyoda bekletilip seyreltme çözeltisi ile hacmine tamamlandı. Bu çözelti 100 µg/mL flutikazon propiyonat ihtiva etmektedir.

### *Çalışma çözeltisi*

Stok çözeltisinden 10 mL alınarak 25 mL'lik balon jojeye aktarıldı. Seyreltme çözeltisiyle hacmine tamamlandı. Bu çözelti 40 µg/mL flutikazon propiyonat ihtiva etmektedir.

### *pH 3,5 tamponu*

Ultra saf suyun pH'sı ortofosforik asitle 3,5'e ayarlandı.

### *İn vitro deneylerde kullanılan çözeltiler*

#### *pH 1,2 tamponu ( USP 41)*

HCl asit (%37,5).....8,3 mL  
Distile su.....y.m.....1000 mL

#### *pH 6,8 tamponu (Bruce, Shah, Malick, Infeld ve McGinity, 2005)*

pH 1,2 tamponu.....750 mL  
Sodyum trifosfat tamponu (0,2 M)....250 mL

#### *Sodyum trifosfat tamponu (0,2 M)*

Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.9H<sub>2</sub>O .....76,036 g  
Distile Su.....y.m.....1000 mL

#### *pH 7,4 tamponu (Bruce ve diğerleri, 2005)*

pH 6,8 tamponunun pH'sı 2 N NaOH ile 7,4'e ayarlandı.

#### *NaOH çözeltisi (2 N)*

NaOH.....40 g  
Distile Su.....y.m.....500 mL

### 3.1.4. Kullanılan program ve yazılımlar

- Tinkercad® (Autodesk, ABD)
- Craftware® (Craftboat, Maceristan)
- Exponent Software sürüm 6.1.16.0 (Stable Micro Systems, İngiltere)
- Zen 3.4 Blue Software (Zeiss, Almanya)
- IBM SPSS (IBM SPSS Statistics 21, ABD)

## 3.2. Etkin Madde Miktar Tayini Yöntemi ve Validasyonu

### 3.2.1. Miktar tayini yöntemi

Çözünürlük çalışmalarında, filament ve tabletlerin in vitro karakterizasyon ve stabilite çalışmalarında flutikazon propiyonatın miktar tayini için İngiliz Farmakopesinde (BP, 2009) yer alan HPLC yöntemi kullanıldı. Bu yöntemle ait kromatografik şartlar Çizelge 3.3'te yer almaktadır.

Çizelge 3.3. HPLC miktar tayini yöntemine ait kromatografik koşullar

|                     |                                                          |
|---------------------|----------------------------------------------------------|
| Kolon               | C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm)                                 |
| Dedektör            | PDA                                                      |
| Enjeksiyon Hacmi    | 20 µL                                                    |
| Akış Hızı           | 1,5 mL/dk                                                |
| Kolon Sıcaklığı     | 40 °C                                                    |
| Dalga Boyu          | 239 nm                                                   |
| Mobil Faz           | Metanol: Asetonitril: Tampon çözelti (pH 3,5) (50:15:35) |
| Seyreltme Çözeltisi | Asetonitril: 0,001 M HCl (60:40)                         |

Kullanılan analiz yöntemin çözünme hızı çalışmaları için uygun olup olmadığını değerlendirmek için 40 µg/mL flutikazon propiyonat içeren çalışma çözeltisi ve buna eşdeğer miktarda etkin maddenin %2 SLS içeren pH 1,2; pH 6,8 ve pH 7,4 çözünme hızı ortamlarında oluşturduğu çözeltilere ait kromatogramlar karşılaştırıldı.

### 3.2.2. Analitik yöntem validasyonu

Validasyon, kullanılan analiz yönteminden elde edilen sonuçların kalitesi, güvenilirliği ve tutarlılığının kanıtlanarak yöntemin amaçlanan kullanım için uygun olduğunun gösterilmesi için yapılması gereken işlemler bütünüdür. HPLC yönteminin validasyonu için ICH Q2 (R1) kılavuzunda tanımlanan parametreler incelendi. Bu parametreler aşağıda sunulmuştur.

### Sistem uygunluğunun test edilmesi (System suitability testing)

Sistem uygunluğunu değerlendirmek için çalışma çözeltisi sisteme 6 kez art arda enjekte edildi. Gözlenen pikler alıkonma zamanı ( $t_r$ ), pik alanı (A), kuyruklanma faktörü (T) ve teorik plaka sayısı (N) açısından değerlendirildi. Kabul limitleri olarak pik alanlarının varyasyon katsayısı (%VK) değerinin 2'den küçük, kuyruklanma faktörünün 1,5'ten küçük ve teorik plaka sayısının 3000'den büyük olması hedeflendi.

### Doğrusallık (Linearity)

Flutikazon propiyonatin 11 farklı konsantrasyona sahip (0,1-60  $\mu\text{g/mL}$  aralığında) stok çözeltileri ana stok çözeltisinden (100  $\mu\text{g/mL}$ ) hareketle hazırlandı. Hazırlanan çözeltiler HPLC'ye enjekte edildi ve pik alanları saptandı. Doğrusallık parametresini incelemek için 11 farklı konsantrasyonda ve 3 farklı seride hazırlanan stok çözeltilerin konsantrasyonlarına karşı ölçülen pik alanları en küçük kareler yöntemiyle grafiğe geçirildi. Standart doğru denklemi elde edilerek pik alanları ve konsantrasyonlar arasındaki ilişkinin doğrusallığı determinasyon katsayısı ( $R^2$ ) ile değerlendirildi.  $R^2$  değerinin 0,999'dan daha düşük olmaması hedeflendi.

### Doğruluk (Accuracy)

Doğruluk ölçütü hesaplanırken flutikazon propiyonatin bilinen düşük (30  $\mu\text{g/mL}$ ), orta (40  $\mu\text{g/mL}$ ) ve yüksek (50  $\mu\text{g/mL}$ ) konsantrasyonlardaki test çözeltileri hazırlandı. Her konsantrasyon düzeyinden 3'er adet olacak şekilde test çözeltileri HPLC'ye enjekte edildi ve yöntem için elde edilen kalibrasyon denklemi kullanılarak analiz edildi. Sonuçlar geri kazanım yüzdesi ve gerekli istatistiksel parametreler hesaplanarak değerlendirildi. Geri kazanım yüzdelерinin %98-102 arasında olması ve %VK'nin %2'den küçük olması hedeflendi.

### Kesinlik (Precision)

Kesinlik ölçütü için yöntem tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik (günler arası kesinlik) parametreleri ile değerlendirildi.

### *Tekrarlanabilirlik (Repeatability)*

Tekrarlanabilirlik ölçütü için flutikazon propiyonatın 40 µg/mL konsantrasyondaki çözeltisi arka arkaya 10 kez HPLC'ye enjekte edildi ve yöntem için elde edilen kalibrasyon denklemi kullanılarak analiz edildi. Sonuçlar gerekli istatistiksel parametreler hesaplanarak değerlendirildi. % VK'nin %2'den küçük olması hedeflendi.

### *Ara kesinlik (Intermediate precision)*

Günler arası kesinlik ölçütü için birbirini takip eden 3 farklı günde flutikazon propiyonatın düşük (4 µg/mL) ve yüksek (60 µg/mL) konsantrasyonda hazırlanan çözeltileri HPLC'ye 3'er kez enjekte edildi ve yöntem için elde edilen kalibrasyon denklemi kullanılarak analiz edildi. Sonuçlar gerekli istatistiksel parametreler hesaplanarak değerlendirildi. %VK'nin %2'den küçük olması hedeflendi.

### Seçicilik (Specificity)

Yöntemin seçiciliğini göstermek için seyreltme çözeltisi, mobil faz ve plasebo F2 tablet formülasyonunun ileri gelebilecek herhangi bir girişimin olup olmadığı incelendi. Bu amaçla sisteme seyreltme çözeltisi, asetonitril, metanol, pH 3,5 tamponu ve plasebo F2 tablet formülasyonunun pH 7,4 ortamındaki çözeltisi ayrı ayrı enjekte edildi ve örneklerin etkin madde ile aynı yerde herhangi bir pik verip vermedikleri saptanarak yöntemin seçiciliği değerlendirildi.

### Sağlamlık (Robustness)

Yöntemin sağlamlığı mobil faz olarak kullanılan metanol ve asetonitril oranları ( $\pm$  %5), kolon sıcaklığı ( $\pm$  5 °C) ve mobil faz bileşenlerinden pH 3,5 tamponunun pH'sı ( $\pm$  0,5) belirtilen düzeylerde değiştirilerek değerlendirildi. Flutikazon propiyonatın 40 µg/mL konsantrasyondaki 3 farklı seriye ait örnekleri kullanılan mevcut yöntem ve belirlenen yeni şartlarda HPLC'ye enjekte edildi ve yöntem için elde edilen kalibrasyon denklemi kullanılarak analiz edildi. Sonuçlar gerekli istatistiksel parametreler hesaplanarak değerlendirildi. Küçük değişiklikler yapılarak belirlenen yeni yöntemler ve mevcut yöntemle yapılan analizlerden elde edilen sonuçların %VK'nin %2'den küçük olması hedeflendi.

### Teşhis ve tayin sınırı (LOD ve LOQ)

Flutikazon propiyonatın kullanılan yöntem ile güvenilir bir şekilde analiz edebildiği en düşük miktarını belirlemek amacıyla, ICH Q2 (R1) kılavuzunda da verilen eşitlikler (Eş. 3.1 ve Eş. 3.2) kullanılarak teşhis ve tayin sınırları hesaplanmıştır.

$$\text{Teşhis sınırı (LOD)} = (3,3\sigma) / S \quad (3.1)$$

$$\text{Tayin sınırı (LOQ)} = (10\sigma) / S \quad (3.2)$$

$\sigma$ : Kalibrasyon aralığındaki en küçük derişimin standart sapması

S: Kalibrasyon eğrisinin eğimi

### **3.3. Önformülasyon Çalışmaları**

#### **3.3.1. Etkin maddenin partikül büyüklüğünün analizi**

Etkin maddenin partikül büyüklüğü ve dağılımı lazer difraksiyon yöntemiyle tayin edildi. Aletin ölçüm bölmesine etkin maddenin çözünmediği ortam olan su konuldu, daha sonra toz haldeki etkin madde bu ortama ilave edildi. Ölçüm işlemi üç kez tekrarlanarak elde edilen  $d_{10}$ ,  $d_{16}$ ,  $d_{50}$ ,  $d_{84}$  ve  $d_{90}$  değerlerinin  $X_{ort}$  ve SS değerleri hesaplandı. Ayrıca ortalama partikül büyüklüğü  $d_{50} \pm \sigma_g$  olarak belirtildi. Partiküllerin geometrik standart sapması ( $\sigma_g$ ) partiküllerin  $d_{84}$  değeri  $d_{50}$  değerine oranlanarak hesaplandı.

#### **3.3.2. Etkin maddenin çözünürlük tayini**

Flutikazon propiyonatın farklı ortamlardaki çözünürlük değerleri şişe-çalkalama (shake-flask) yöntemi kullanılarak belirlendi. Bu yöntemle göre etkin maddenin aşırı miktarı erlenlere aktararak üzerlerine 20 mL ortam eklendi. Erlenler 37 °C'deki çalkalamalı su banyosunda 48 saat boyunca bekletildi. 24. ve 48. saatlerin sonunda alınan örnekler 0,45  $\mu\text{m}$ 'lik membran filtreden süzülerek miktar tayini için kullanılan valide edilmiş yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemiyle analiz edildi. Çözünürlük çalışması 3 paralel olacak şekilde aşağıda verilen ortamlarda yapıldı.

### Çözünürlük çalışmasının yapıldığı ortamlar

- Saf su
- pH 1,2 tamponu
- pH 6,8 tamponu
- pH 7,4 tamponu
- pH 1,2 tamponu + %2 SLS
- pH 1,2 tamponu+ %3 SLS
- pH 1,2 tamponu + %4 SLS
- pH 6,8 tamponu + %2 SLS
- pH 6,8 tamponu + %3 SLS
- pH 6,8 tamponu + %4 SLS
- pH 7,4 tamponu + %2 SLS
- pH 7,4 tamponu + %3 SLS
- pH 7,4 tamponu + %4 SLS

Ayrıca sink koşul için çözünme hızı ortamlarına (pH 1,2; pH 6,8; pH 7,4) eklenmesi gereken sodyum lauril sülfat miktarı, farklı oranlarda (%2, %3 ve %4) SLS içeren çözünme hızı ortamlarının sink indeksi (SI) değerleri esas alınarak belirlendi. Bu değer aşağıda verilen eşitlik (Eş. 3.3) kullanılarak hesaplandı.

$$SI = (C_s \times V) / \text{ilacın dozu} \quad (3.3)$$

$C_s$  = İlacın ortamdaki çözünürlüğü

$V$  = Ortam hacmi

### **3.3.3. Diferansiyel taramalı kalorimetre (Differential scanning calorimetry, DSC) analizleri**

DSC örnek ile referansın sıcaklıklarının aynı olması için gereken ısı miktarının ölçümüne dayanan bir termal analiz yöntemidir. Etkin maddenin erime derecesi ve formülasyonlarda kullanılan diğer yardımcı maddelerin erime derecesi veya camsı geçiş sıcaklıkları DSC analizi ile saptandı.

DSC analizlerinde flutikazon propiyonat, formülasyonda kullanılan polimerler ve diğer yardımcı maddeler ayrı ayrı 2-5 mg olarak tartıldı ve alüminyum panlara konuldu. Toz örneklerini içeren panlar presleme tablası içinde basınç uygulanarak kapatılıp, aletin örnek bölmesine yerleştirildi. Örnek içermeyen eşdeğer bir alüminyum pan referans alınarak 10 °C/dk hız ile 25-350 °C aralığında ve 20 mL/dk debideki azot gazı altında ölçümler yapıldı ve örneklerle ait DSC termogramları elde edildi.

### **3.3.4. Termal gravimetrik analiz (Thermogravimetrik analysis, TGA)**

TGA zaman ve sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ağırlık kaybındaki değişimin ölçümüne dayanan bir termal analiz yöntemidir. TGA materyallerin termal ve oksidasyon stabilitesini belirlemek için kullanılmaktadır. Etkin maddenin, formülasyonda kullanılan polimer ve diğer yardımcı maddelerin yöntem kapsamında uygulanan ekstrüzyon ve baskı sıcaklıklarındaki termal stabilitesi TGA ile saptandı.

TGA analizlerinde etkin madde ve diğer formülasyon bileşenleri ayrı ayrı 2-5 mg olarak tartılarak ağızı açık bir alüminyum pan içerisine alındı ve aletin örnek bölmesine yerleştirildi. Alet 10 °C/dk hız ve 20 mL/dk debideki azot gazı altında 25-800 °C aralığında çalıştırıldı ve aletin hassas terazide sıcaklık artışına bağlı oluşan kütle kaybının kaydedildiği termogramlar incelendi.

### **3.3.5. X-ışını kırınım (X-ray diffractometer, XRD) analizi**

XRD analizi örneğin kristal yapısının kendine özgü atomik dizilimlerine göre X-ışınlarını belirli bir düzen içerisinde kırması esasına dayanan bir dedektör aracılığıyla örneğe ait atomların kırınım modelini saptayan bir yöntemdir.

Toz haldeki etkin maddenin XRD difraktogramı 45 kV ve 40 mA'da çalıştırılan CuK $\alpha$  ( $\lambda=1,54 \text{ \AA}$ ) radyasyon kaynağına sahip X-ışını difraktometresi kullanılarak elde edildi. Ölçümler 2,5°/dk tarama hızında ve 5–60°'lik 2 $\theta$  tarama aralığında yapıldı. XRD analizleri Çukurova Üniversitesi merkezi araştırma laboratuvarında yapıldı.

### 3.3.6. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi (Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR) analizleri

FT-IR maddelerin yapısında bulunan çeşitli bağların farklı dalga boylarındaki titreşim frekanslarını ölçerek maddelerin kimyasal yapısındaki fonksiyonel grupların aydınlatılmasında kullanılan bir analiz yöntemidir.

FT-IR çalışmalarında etkin madde ve yardımcı maddelerin ayrı ayrı toz örnekleri 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında analiz edildi.

## 3.4. Formülasyon Geliştirme Çalışmaları

### 3.4.1. Filament formülasyonlarının geliştirilmesi

Filament formülasyon çalışmalarında farklı özelliklerde polimerik taşıyıcılar, kullanılan polimerlerin yüksek camsı geçiş sıcaklıklarını düşürmek amacıyla çeşitli plastifiyan maddeler, tozun ve eriyik kütlenin akışını iyileştirmek için çeşitli lubrikan maddeler ve etkin maddenin çözünürlüğünü artırmak amacıyla çeşitli çözünürlük artırıcı maddeler kullanıldı. Formülasyonlarda kullanılan polimerlerin seçimine ve kullanım oranlarına HME yöntemi ile basılabilir kalitede filament oluşturma ve kolon hedefleme açısından uygunlukları göz önünde bulundurularak karar verildi. Formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelere ve kullanım oranlarına, formülasyonda kullanılan ana polimerin özellikleri ve HME veya FDM 3DP yöntemiyle üretilen tabletlerde kullanılan yardımcı maddelerin genel kullanım oranları dikkate alınarak belirlendi. Formülasyon geliştirme çalışmalarında kullanılan polimer ve yardımcı maddeler Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.4. Formülasyon bileşenleri ve görevleri

| Formülasyon Bileşeni   | Görevi                 | Kullanım oranı (%) |
|------------------------|------------------------|--------------------|
| Eudragit S100          | Polimerik taşıyıcı     | 42-65              |
| HPMCAS                 | Polimerik taşıyıcı     | 65-75              |
| Etil selüloz           | Polimerik taşıyıcı     | 3-78               |
| Trietil sitrat (TEC)   | Plastifiyan            | 25-35              |
| Triasetin              | Plastifiyan            | 15-27              |
| Sitrik asit monohidrat | Plastifiyan            | 7-16               |
| Gliseril monostearat   | Lubrikan               | 4-10               |
| Magnezyum stearat      | Lubrikan               | 4-10               |
| Gelucire 48/16         | Çözünürlük artırıcı    | 2-4                |
| Gammasiklodekstrin     | Çözünürlük artırıcı    | 7,5                |
| Talk                   | Lubrikan/dolgu maddesi | 2,5-25             |

Bu çalışmada öncelikle plasebo formülasyonlar ile basılabilir kalitede filament üretebilirlik için bir ön tarama yapıldı, ardından basılabilirlik ve verim açısından en uygun formülasyonlara flutikazon propiyonat dahil edilerek ilaç içeren filament formülasyonları geliştirildi. Ana matriks polimeri olarak Eudragit S100, HPMCAS ve etil selülozun kullanıldığı filament formülasyonları sırasıyla Çizelge 3.5, Çizelge 3.6 ve Çizelge 3.7’de sunulmuştur. Plasebo filament formülasyonlarına P1 ve P36 arasında kodlar verildi. İlaç yüklü filamentler F1 ve F2 olarak adlandırıldı.

Filament üretimi fiziksel toz karışımının hazırlanması ve ekstrüzyonu olmak üzere 2 temel basamaktan oluşmaktadır.

#### Toz karışımlarının hazırlanması

Bu çalışma kapsamında geliştirilen formülasyonlar için aşağıda verilen 2 farklı toz hazırlama yönteminden biri kullanıldı. Ayrıca geliştirilen her formülasyon için kullanılan toz hazırlama yöntemi Çizelge 3.5, Çizelge 3.6 ve Çizelge 3.7’de belirtildi.

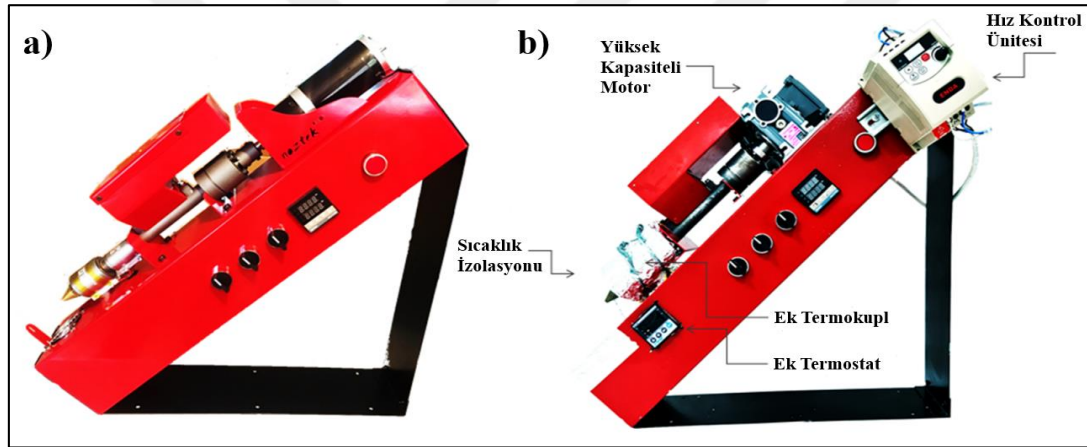
1. Yöntem: Formülasyonu oluşturan bileşenler gerekli görüldüğü taktirde havanda ezilerek toz edildi ve toz polimer ve yardımcı maddeler formülasyonlarında belirtilen oranlarda tartıldıktan sonra bir cam kavanoza alınıp 15-20 dk karıştırıldı. Ardından toz karışımı havana alınarak formülasyonda yer alan sıvı plastifiyan madde damla damla ilave edilip havan eliyle iyice karıştırıldı.

2. Yöntem: Formülasyonda yer alan ana polimer havana alındı, sıvı plastifiyan damla damla ilave edilerek havan eliyle iyice karıştırıldı. Ön-plastifikasyon olarak adlandırılan bu işlemde sonra plastifiyanın polimere iyice nüfuz etmesi için toz karışımı bir gece bekletildi. Sonraki gün plastifiye polimer 18 mesh’lik elekten elendi. Diğer formülasyon bileşenleri gerekli görüldüğü taktirde havanda toz edildi. Bütün bileşenler formülasyonda belirtilen oranlarda tartılarak geometrik seyreltme kuralına göre bir havana alındı ve spatül yardımıyla 15-20 dk karıştırıldı.

#### Toz karışımlarının ekstrüzyonu

Farklı polimer ve yardımcı madde kombinasyonlarından hazırlanan toz karışımları tek vidalı ekstrüder kullanılarak filament formunda ekstrüde edildi. Öncelikle bu ekstrüder genel olarak büyük ölçekte üretim için kullanıldığından ön çalışmalar yapılarak başarılı bir ekstrüzyonun yapılabilirdiği minumum toz miktarı 25 g olarak belirlendi. Ekstrüderin çalışma sıcaklığına formülasyonda yer alan ana polimer ve yardımcı maddelerin oranları, camsı geçiş sıcaklıkları ve

degradasyon sıcaklıkları göz önünde bulundurularak karar verildi. Geliştirilen formülasyonların ekstrüzyon sıcaklıkları Çizelge 3.5, Çizelge 3.6 ve Çizelge 3.7’de T1 (1. Termostat) ve T2 (2.Termostat) olarak verildi. Toz karışımları ekstrüde edilirken aletin beslenme hunisinde tıkanmaya sebep olmaması için hazırlanan toz karışımlarının kısım kısım ekstrüderi beslemesi sağlandı. Ayrıca kullanılan ekstrüder çalışmanın ileri evrelerinde karşılaşılan problemlerden dolayı modifiye edildi. Sabit 15 rpm’lik vida dönüş hızına sahip ekstrüdere daha yüksek kapasiteli bir motor ve hız kontrol ünitesi eklenerek vidanın 0-70 rpm dönüş hızında çalıştırılabilirliği sağlandı ve sıcaklıktaki olası dalgalanmaların önüne geçmek için ikinci bir termostat takıldı. Çalışmalarda kullanılan orijinal ve modifiye ekstrüderlerin görselleri Resim 3.1’de sunulmuştur. Toz hazırlama prosesi olarak 1.Yöntemin kullanıldığı formülasyonların ekstrüzyonunda orijinal ekstrüder; 2. yöntemin kullanıldığı çalışmalarda modifiye ekstrüder kullanıldı.



Resim 3.1. Orijinal ekstrüder (a) ve modifiye ekstrüder (b)

Çizelge 3.5. Eudragit S100 bazlı filament formülasyonları

| FK  | FLT (%) | Eud S100 (%) | TEC (%) | TA (%) | EC (%) | CAMH (%) | MGS (%) | Talk (%) | GMS (%) | GLC (%) | GSD (%) | T1 (°C) | T2 (°C) | Vida dönüş hızı (rpm) | Yöntem |
|-----|---------|--------------|---------|--------|--------|----------|---------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|-----------------------|--------|
| P1  | -       | 65           | 35      | -      | -      | -        | -       | -        | -       | -       | -       | 135     | -       | 15                    | 1      |
| P2  | -       | 50           | 30      | -      | -      | -        | -       | 20       | -       | -       | -       | 130     | -       | 15                    | 1      |
| P3  | -       | 50           | 25      | -      | -      | -        | -       | 25       | -       | -       | -       | 130     | -       | 15                    | 1      |
| P4  | -       | 60           | 30      | -      | -      | -        | -       | 10       | -       | -       | -       | 130     | -       | 15                    | 1      |
| P5  | -       | 64           | 32      | -      | -      | -        | -       | 4        | -       | -       | -       | 130     | -       | 15                    | 1      |
| P6  | -       | 64           | 32      | -      | -      | -        | -       | -        | 4       | -       | -       | 130     | -       | 15                    | 1      |
| P7  | -       | 60           | 30      | -      | -      | -        | -       | -        | 10      | -       | -       | 120     | -       | 15                    | 1      |
| P8  | -       | 56           | 28      | -      | -      | 16       | -       | -        | -       | -       | -       | 125     | -       | 15                    | 1      |
| P9  | -       | 54           | 27      | -      | -      | 15       | -       | -        | 4       | -       | -       | 125     | -       | 15                    | 1      |
| P10 | -       | 50           | 25      | -      | -      | 15       | 10      | -        | -       | -       | -       | 120     | -       | 15                    | 1      |
| P11 | -       | 54           | 27      | -      | -      | 15       | 4       | -        | -       | -       | -       | 125     | -       | 15                    | 1      |
| P12 | -       | 50           | -       | 25     | -      | 15       | -       | 10       | -       | -       | -       | 120     | -       | 15                    | 1      |
| P13 | -       | 50           | -       | 25     | -      | 15       | 5       | 5        | -       | -       | -       | 110     | -       | 15                    | 1      |
| P14 | -       | 54           | -       | 27     | -      | 15       | 4       | -        | -       | -       | -       | 115     | -       | 15                    | 1      |
| P15 | -       | 50           | -       | 25     | -      | 15       | 10      | -        | -       | -       | -       | 110     | 115     | 15                    | 1&2    |

Çizelge 3.5. (devam). Eudragit S100 bazlı filament formülasyonları

| FK  | FLT (%) | Eud S100 (%) | TEC (%) | TA (%) | EC (%) | CA MH (%) | MGS (%) | Talk (%) | GMS (%) | GLC (%) | GSD (%) | T1 (°C) | T2 (°C) | Vida dönüş hızı (rpm) | Yöntem |
|-----|---------|--------------|---------|--------|--------|-----------|---------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|-----------------------|--------|
| P16 | -       | 50           | -       | 25     | 5      | 15        | 5       | -        | -       | -       | -       | 115     | 120     | 70                    | 2      |
| P17 | -       | 46           | -       | 23     | 3      | 15        | 8       | 5        | -       | -       | -       | 115     | 120     | 70                    | 2      |
| P18 | -       | 46           | -       | 23     | 3      | 13        | 8       | 5        | -       | 2       | -       | 115     | 120     | 70                    | 2      |
| P19 | -       | 46           | -       | 23     | 3      | 8         | 8       | 10       | -       | 2       | -       | 118     | 123     | 70                    | 2      |
| P20 | -       | 44           | -       | 22     | 3      | 7         | 7       | 15       | -       | 2       | -       | 119     | 125     | 70                    | 2      |
| P21 | -       | 44           | -       | 22     | 3      | 7         | 7       | 13       | -       | 4       | -       | 119     | 125     | 70                    | 2      |
| P22 | -       | 64*          | -       | *      | 3      | 7         | 7       | 15       | -       | 4       | -       | 119     | 125     | 70                    | 2      |
| P23 | -       | 64*          | -       | *      | 3      | 7         | 7       | 7,5      | -       | 4       | 7,5     | 119     | 125     | 70                    | 2      |
| F1  | 5       | 64*          | -       | *      | 3      | 7         | 7       | 10       | -       | 4       | -       | 119     | 125     | 70                    | 2      |
| F2  | 5       | 64*          | -       | *      | 3      | 7         | 7       | 2,5      | -       | 4       | 7,5     | 119     | 125     | 70                    | 2      |

FLT: Flutikazon propiyonat, Eud S100: Eudragit S100, TEC: Trietilsitrat, TA: Triasetin, EC: Etil selüloz, CA MH: Sitrik asit monohidrat, MGS: Magnezyum stearat, GLC: Gelucire 48/16, GMS: Gliseril monostearat, GSD: Gammasiklodekstrin

\*Plastifiye Eudragit S100: Eudragit S100 ağırlığının %50'si oranında triasetinle plastifiye edilmiştir.

Çizelge 3.6. HPMCAS bazlı plasebo filament formülasyonları

| FK  | HPMCAS (%) | TA (%) | CA MH (%) | MGS (%) | Talk (%) | T1 (°C) | T2 (°C) | Vida dönüş hızı (rpm) | Yöntem |
|-----|------------|--------|-----------|---------|----------|---------|---------|-----------------------|--------|
| P24 | 75         | 25     | -         | -       | -        | 90      | -       | 15                    | 1      |
| P25 | 75         | 20     | -         | 5       | -        | 90      | -       | 15                    | 1      |
| P26 | 75         | 15     | -         | 10      | -        | 110     | -       | 15                    | 1      |
| P27 | 75         | 15     | 10        | -       | -        | 110     | -       | 15                    | 1      |
| P28 | 70         | 15     | 15        | -       | -        | 105     | -       | 15                    | 1      |
| P29 | 70         | 15     | 10        | 5       | -        | 105     | -       | 15                    | 1      |
| P30 | 65         | 15     | 10        | 10      | -        | 100     | -       | 15                    | 1      |
| P31 | 65         | 15     | 10        | 5       | 5        | 105     | -       | 15                    | 1      |
| P32 | 65         | 15     | 10        | -       | 10       | 105     | 110     | 15&70                 | 1&2    |

FK: Formülasyon kodu HPMCAS: Hidroksipropil metilselüloz asetat süksinat, TA: Triasetin, CA MH: Sitrik asit monohidrat MGS: Magnezyum stearat

Çizelge 3.7. Etil selüloz bazlı plasebo filament formülasyonları

| FK  | EC (%) | TA (%) | TEC (%) | CA MH (%) | T1 (°C) | T2 (°C) | Vida dönüş hızı (rpm) | Yöntem |
|-----|--------|--------|---------|-----------|---------|---------|-----------------------|--------|
| P33 | 75     | -      | 25      | -         | -       | -       | -                     | 2      |
| P34 | 75     | 25     | -       | -         | 120     | 115     | 70                    | 2      |
| P35 | 77,8   | 22,2   | -       | -         | 125     | 120     | 70                    | 2      |
| P36 | 70     | 20     | -       | 10        | 123     | 117     | 70                    | 2      |

FK : Formülasyon kodu EC: Etil selüloz, TA: Triasetin, TEC: Trietilsitrat, CA MH: Sitrik asit monohidrat

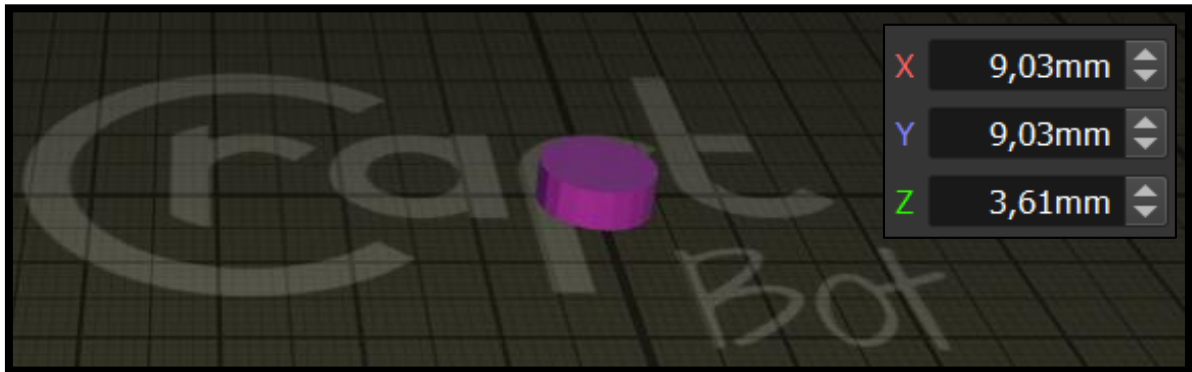
### 3.4.2. Etkin madde yüklü 3D tabletlerin hazırlanması

#### Tabletlerin bilgisayar ortamında tasarımı

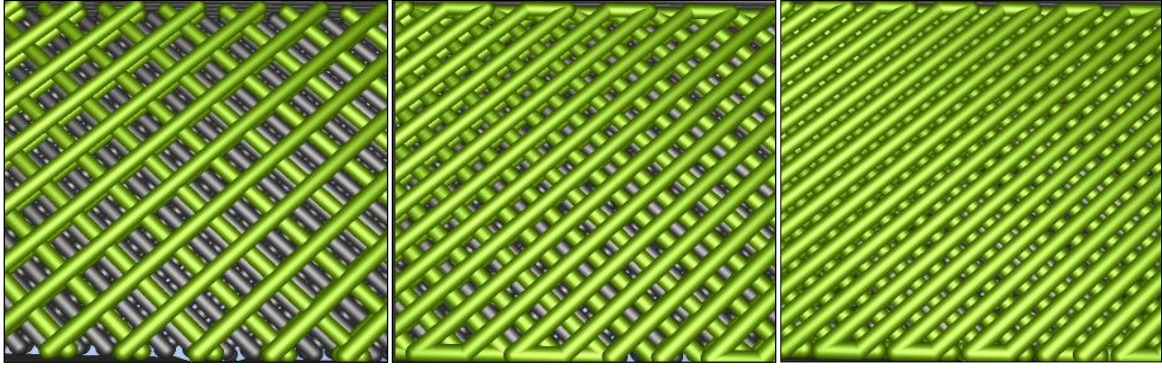
Tinkercad® programı kullanılarak istenilen boyutlarda yuvarlak üç boyutlu tabletler bilgisayar ortamında tasarlandı ve bu tasarım steryolitografi (.stl) dosya formatında kaydedilerek Craftware® yazılımına aktarıldı. Resim 3.2’de gösterildiği gibi yazıcıya ait bu yazılımda tabletlerin hedef boyutları ve baskıya ait işlem parametreleri (dolgu yüzdesi, kabuk sayısı) ayarlanarak sonuç tasarım “g.code” uzantılı dosya formatına dönüştürüldü ve bir harici bellek yardımıyla yazıcıya aktarıldı.

#### Tablet boyutlarının belirlenmesi

Hedef ağırlığa sahip tabletlerin boyutlarını belirlemek için tabletlerin boyutları arasındaki oran sabit tutularak artan büyüklüklerde 6 farklı tablet belirlenen dolgu yüzdesinde tasarlanarak basıldı (Resim 3.3 ve 3.4). Tasarlanan tablet boyutları ve bu boyutlara verilen kodlar Çizelge 3.8’de sunulmuştur. Belirlenen dolgu yüzdesinde basılan 6 tabletin tek tek ağırlıkları ölçüldü ve teorik hacimleri hesaplandı. Tabletlerin teorik hacimleri ve ağırlıkları arasında lineer bir ilişki kuruldu. Tabletlerin teorik hacimlerine karşılık ağırlıkları grafiğe geçirilerek doğrusal bir denklem elde edildi. Hedeflenen ağırlıktaki tabletlerin çap ve kalınlıkları elde edilen doğrusal denklem yardımıyla hesaplandı. Çalışma kapsamında basılan farklı dolgu yüzdesine sahip farklı tabletler için ayrı ayrı denklemler elde edildi. Farklı dolgu yüzdesiyle (%50, %75 ve %100) 3D yazıcıda basılan bu tabletlerin iç görünüşleri Resim 3.5’te sunulmuştur.



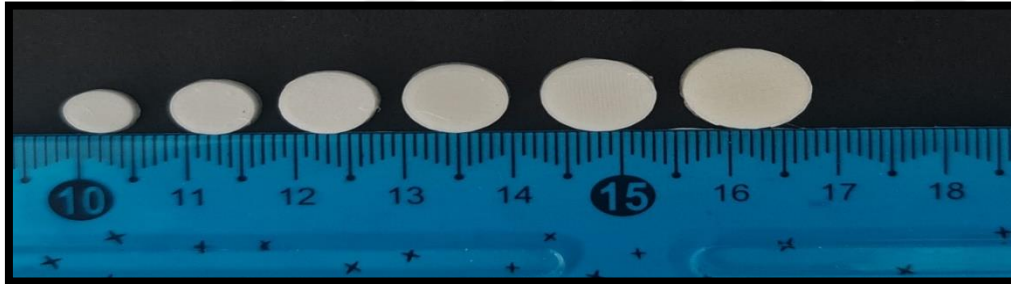
Resim 3.2. Tabletlerin bilgisayar ortamında tasarlanması ve boyutlandırılması



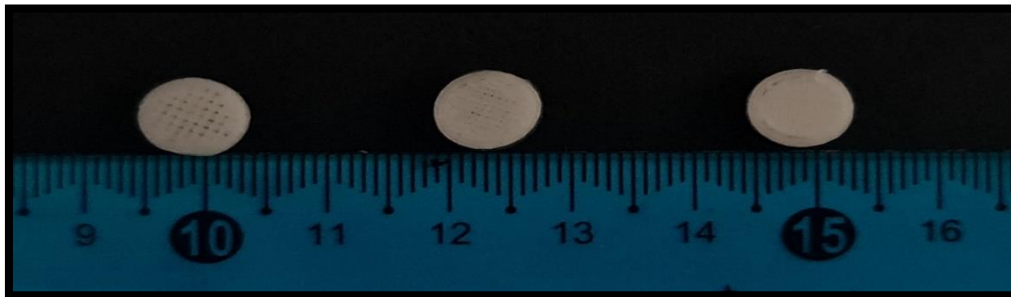
Resim 3.3. Bilgisayar ortamında farklı iç dolgu yüzdeleriyle (sırasıyla %50, %75 ve %100) tasarlanan tabletlerin iç görünüşleri

Çizelge 3.8. Bilgisayar ortamında tasarlanan tablet boyutları

| Tablet Kodu | Tablet Boyutları (mm; mm)<br>( $X=Y=r$ ; $Z=h$ , $r/h=2,5$ ) |
|-------------|--------------------------------------------------------------|
| <b>B1</b>   | 6,43; 2,57                                                   |
| <b>B2</b>   | 7,93; 3,17                                                   |
| <b>B3</b>   | 9,02; 3,61                                                   |
| <b>B4</b>   | 9,89; 3,95                                                   |
| <b>B5</b>   | 10,64; 4,25                                                  |
| <b>B6</b>   | 11,87; 4,75                                                  |



Resim 3.4. Farklı boyutlarda basılan tabletler



Resim 3.5. Farklı iç dolgu yüzdeleriyle (sırasıyla %50, %75 ve %100) basılan tabletlerin iç görünüşleri

### Tabletlerin 3D baskı aşaması

HME yöntemiyle elde edilen ilaç yüklü filamentler FDM 3D yazıcının besleme materyali olarak kullanıldı. Geliştirilen ilaç yüklü filamentler kullanılarak FDM 3D yazıcı ile bilgisayar ortamında tasarlanan tabletler basıldı. Baskıya ait işlem parametreleri filamentin bileşimine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Flutikazon propiyonat yüklü F1 ve F2 filamentler ile 3D tablet baskısı için yazıcının optimum işlem parametreleri Çizelge 3.9’da verilmiştir.

Çizelge 3.9. F1 ve F2 filamentleri için 3D yazıcının işlem parametreleri

| 3D Yazıcı İşlem Parametreleri | F1            | F2            |
|-------------------------------|---------------|---------------|
| Baskı sıcaklığı (°C)          | 165           | 165           |
| Platform sıcaklığı (°C)       | 55            | 75            |
| Tabaka yüksekliği (mm)        | 0,2           | 0,2           |
| Baskı hızı (mm/sn)            | 20            | 30            |
| Hareket hızı (mm/sn)          | 120           | 120           |
| Kabuk sayısı                  | 4             | 4             |
| Kabuk kalınlığı (mm)          | 0,8           | 0,8           |
| Dolgu yüzdesi (%)             | 50-75-100     | 50            |
| Dolgu deseni                  | Paralel çizgi | Paralel çizgi |

## 3.5. Karakterizasyon Çalışmaları

### 3.5.1. Geçimlilik testleri

#### Fiziksel karışım, filament ve tabletlerde DSC analizleri

HME yöntemiyle filament üretimi ve 3D baskı yöntemiyle tablet üretimi aşamalarının etkin madde ve diğer formülasyon bileşenlerinde meydana getirdiği değişiklikleri saptamak amacıyla fiziksel karışım, filament ve tabletlerde DSC analizleri Bölüm 3.3.3’te anlatıldığı şekilde yapıldı. Tablet ve filament örnekleri ayrı ayrı bir öğütücü yardımıyla öğütülerek analiz için kullanıldı.

#### Fiziksel karışım, filament ve tabletlerde XRD analizleri

HME yöntemiyle filament üretimi ve 3D baskı yöntemiyle tablet üretimi aşamalarının etkin madde ve diğer formülasyon bileşenlerinde meydana getirdiği değişiklikleri saptamak amacıyla fiziksel karışım, filament ve tabletlerde XRD analizleri Bölüm 3.3.5’te anlatıldığı şekilde yapıldı. Tablet ve filament örnekleri ayrı ayrı bir öğütücü yardımıyla öğütülerek analiz için kullanıldı.

### Fiziksel karışım, filament ve tabletlerde FT-IR analizleri

HME yöntemiyle filament üretimi ve 3D baskı yöntemiyle tablet üretimi aşamalarının etkin madde ve diğer formülasyon bileşenlerinde meydana getirdiği değişiklikleri saptamak amacıyla fiziksel karışım, filament ve tabletlerde FT-IR analizleri Bölüm 3.3.6’da anlatıldığı şekilde yapıldı. Tablet ve filament örnekleri ayrı ayrı bir öğütücü yardımıyla öğütülerek analiz için kullanıldı.

### **3.5.2. Etkin madde yüklü filamentlerde karakterizasyon çalışmaları**

#### Görünüş

Filamentler görünüş, yüzey özellikleri ve renkleri açısından incelendi.

#### Filamentlerin çapı

Üretilen filamentlerin çapları bir dijital mikrometre yardımıyla rastgele 6 farklı noktadan ölçüldü. Sonuçlar elde edilen çap değerlerinin ortalama ve standart sapması hesaplanarak değerlendirildi.

#### Filamentlere etkin madde yükleme etkinliğinin tayini

Filamentin farklı bölgelerinden rastgele alınan aynı ağırlıktaki 3 farklı filament örneği (50 mg) 100 mL’lik balon jojelere ayrı ayrı aktarıldı ve üzerlerine 50 mL pH 7,4 tamponu eklenerek 37 °C’de manyetik karıştırıcıda 24 saatte tamamen dağılmaları sağlandı. Balon jojeler seyreltme çözeltisiyle 100 mL’ye hacme tamamlanarak 10 dk ultrasonik banyoda tutuldu. Bu çözeltilerden alınan örnekler 0,45 µm’lik membran filtreden HPLC viallerine süzüldü. Filamentlerdeki etkin madde miktarı, Bölüm 3.2.1’de verilen HPLC miktar tayini yöntemi kullanılarak analiz edildi. Yapılan analiz sonucunda bulunan flutikazon propiyonat miktarı üzerinden aşağıda verilen eşitlik (Eş. 3.4) kullanılarak filamentlerin etkin madde yükleme etkinliği hesaplanmıştır.

$$\text{Yükleme etkinliği} = \frac{\text{Pratikte yüklenen Flutikazon Propiyonat miktarı}}{\text{Teorikte olması gereken Flutikazon Propiyonat miktarı}} \times 100 \quad (3.4)$$

### Filamentlerin morfolojik özelliklerinin incelenmesi

Filamentlerin dış yüzey ve iç yapı özellikleri taramalı elektron mikroskobu görüntüleri alınarak değerlendirildi. Filamentlerin dış yüzey ve enine kesitine ait örnekler sırasıyla 57x ve 75x mikroskop büyütme altında incelendi.

### Filamentlerin mekanik özelliklerinin tayini

Filamentlerin mekanik özellikleri 50 kg'lık bir yük hücresi ve germe aparatına sahip bir tekstür analiz cihazı kullanılarak tayin edildi. Hazırlanan filamentlerin farklı kısımlarından 5 cm uzunluğunda 3 filament parçası alındı. Filament parçaları germe aparatının iki ucu arasında sabitlenerek dikey olarak yerleştirildi. Germe aparatının iki ucu arasındaki mesafe 2 cm olarak ayarlandı ve daha sonra filament kırılana kadar 1 mm/s'lik uzama hızıyla kademeli olarak gerildi. Gerilme (stress) ve uzama (strain) değerleri, Exponent Software sürüm 6.1.16.0 aracılığıyla hesaplandı. Filamentlerin mekanik özellikleri Çukurova Üniversitesi merkezi araştırma laboratuvarında tayin edildi.

### **3.5.3. Etkin madde yüklü 3D tabletlerde karakterizasyon çalışmaları**

#### Tabletlerin fiziko-farmasötik özelliklerinin karakterizasyonu

##### *Görünüş*

Tabletler şekil, görünüş ve renk açısından incelendi.

##### *Çap ve kalınlık tayini*

Rastgele alınan 10 tabletin çap ve kalınlık ölçümleri dijital mikrometre ile yapıldı. Ölçülen çap ve kalınlık değerlerinin ortalama ve standart sapmaları hesaplanarak sonuçlar %VK ile değerlendirildi.

##### *Ağırlık tekdüzeliği*

Rastgele alınan 10 adet tablet teker teker tartıldı. Ölçülen ağırlık değerlerinin ortalama ve standart sapmaları hesaplanarak sonuçlar %VK ile değerlendirildi.

### *Sertlik tayini*

Tabletlerin sertliklerini ölçmek amacıyla 10 tablet rastgele seçildi ve tabletler sertlik cihazına yatay olarak yerleştirilerek cihaz tarafından tabletleri kırmak için kuvvet uygulandı.

### *Friyabilite testi*

Rastgele alınan 20 adet tablet tartılarak cihazın haznesine yerleştirildi. Cihaz 25 devir/dk hızda 4 dk boyunca çalıştırıldı. Daha sonra tabletler yeniden tartıldı ve % ağırlık kaybı hesaplandı. %1'den fazla ağırlık kaybı gözlenmemelidir.

### Tabletlerde etkin madde miktar tayini

Rastgele alınan 3 tabletin ortalama tablet ağırlığı belirlendi. Daha sonra tabletler bıçaklı öğütücüde öğütülerek içerisinden bir tablet ağırlığına eşdeğer miktarda toz alınıp 250 mL'lik balon jojelere aktarıldı. Üzerlerine 50 mL pH 7,4 tamponu eklenerek 37 °C'de manyetik karıştırıcıda 24 saatte öğütülmüş tablet matriksinin tamamen dağılması sağlandı. Balon jojeler seyreltme çözeltisiyle 250 mL'ye hacme tamamlanarak 10 dk ultrasonik banyoda tutuldu. Elde edilen çözeltilerinden alınan örnekler 0,45 µm'lik membran filtreden HPLC viallerine süzüldü. Tabletlerdeki etkin madde miktarı, Bölüm 3.2.1'de anlatılan HPLC miktar tayini yöntemi kullanılarak analiz edildi.

### Tabletlerde içerik tekdüzeliği

Tabletlerin içerik tekdüzeliğinin tayin edilmesi amacıyla yapıldı. Rastgele alınan 3 farklı tablet 250 ml'lik balon jojelere ayrı ayrı aktarıldı. Üzerlerine 50 mL pH 7.4 tamponu eklenerek 37 °C'de manyetik karıştırıcıda 24 saatte tablet matriksinin tamamen dağılması sağlandı. Balon jojeler seyreltme çözeltisiyle 250 mL'ye hacme tamamlanarak 10 dk ultrasonik banyoda tutuldu. Elde edilen çözeltilerinden alınan örnekler 0,45 µm'lik membran filtreden HPLC viallerine süzülerek Bölüm 3.2.1'de anlatılan HPLC miktar tayini yöntemiyle analiz edildi. Tabletlerdeki % etkin madde miktarı hesaplandı.

### Tabletlerin morfolojik özelliklerinin analizi

Tabletlerin fiziksel yapısı ve yüzey özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri alınarak değerlendirildi. Tabletlerin üst ve yan yüzeyleri sırasıyla 100x ve 50x mikroskop büyütme altında incelendi.

### Tabletlerin in vitro çözünme hızı çalışmaları

Bu çalışmada geliştirilen flutikazon propiyonatın kolona hedeflendirilmiş 3D tabletleri için in vitro salım çalışmaları USP 27’de geciktirilmiş salım yapan tabletlere uygulanan yöntem modifiye edilerek çözünme hızı cihazında sepet yöntemi (USP Apparatus 1) ile gerçekleştirildi (Bruce ve diğerleri, 2005). Salım çalışması pH 1,2 tamponunda 2 saat, pH 6,8 tamponunda 4 saat ve pH 7,4 tamponu ortamlarında toplam 24 saat olacak şekilde sürdürülmüştür. Bu yöntemde çözünme hızı ortam pH’sı dinamik olarak Bölüm 3.1.3’te anlatıldığı gibi değiştirilmiştir. Sink koşulunun sağlanması için çözünme hızı ortamlarına % 2 SLS ilave edilmiştir. Çözünme hızı koşulları Çizelge 3.10’da verildi. Bu koşullarda yapılan çözünme hızı çalışmalarında, belirtilen zaman noktalarında ortamdan 5 mL örnek çekilip yerine aynı hacimde taze tampon ilave edildi. Alınan örnekler 0,45 µm’lik membran filtreden HPLC vialine süzildükten sonra Bölüm 3.2.1’de anlatılan HPLC yöntemi ile analiz edildi. Deneyler üçer tablet ile gerçekleştirildi. Elde edilen değerlerin ortalamasıyla tabletlerin çözünme hızı profilleri çizildi. Farklı tabletlerin çözünme hızı profillerinin benzerliğini değerlendirmek için benzerlik faktörü ( $f_2$ ) aşağıda verilen eşitlikten (Eş. 3.5) hesaplandı.

$$f_2 = 50 \log \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2}} \quad (3.5)$$

n: Kıyaslanan zaman noktası sayısı

$R_t$ : Referansın çözünen yüzdesi

$T_t$ : Testin çözünen yüzdesi

Çizelge 3.10. Çözünme hızı koşulları

|                                        |                                                                |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| Yöntem                                 | USP Cihaz I (Sepet Yöntemi)                                    |
| Dinamik çözünme ortamları ve hacimleri | 750 mL pH 1,2 tamponu (0-2. saat)                              |
|                                        | 1000 mL pH 6,8 tamponu ( 2-6. saat)                            |
|                                        | 1000 mL pH 7,4 tamponu ( 6-24. saat)                           |
| Ortam sıcaklığı                        | 37 °C                                                          |
| Dönüş hızı                             | 100 rpm                                                        |
| Örnek alma zamanları                   | 0,5., 1., 2., 3., 4., 5., 6., 8., 10., 12., 14. ve 24. saatler |

### Salım kinetikleri

Çözünme hızı çalışmalarından elde edilen veriler DDSolver® eklentili bir Microsoft Excel® programında analiz edilerek formülasyonların salım kinetikleri tayin edildi. F1 ve F2 formülasyonlarının her bir zaman noktasında salınan yığılmalı % ilaç miktarı verileri kullanılarak, etkin madde salımının 0. derece, 1. derece, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Hixson-Crowell, Weibull gibi farklı kinetik modellerine uygunluğu değerlendirildi.

### **3.6. 3D Tabletlerde Dolgu Yüzdesinin İn Vitro Salım Üzerine Etkisi**

Tablet dolgu yüzdesi yazıcıya ait yazılımda kolaylıkla ayarlandı. Aynı hedef ağırlığa sahip (200 mg) %50, %75 ve %100 dolgu yüzdelere sahip F1 tabletler Bölüm 3.4.2’de anlatıldığı gibi tasarlanarak basıldı. Bu tabletlerin in vitro çözünme hızı çalışmaları Bölüm 3.5.3’te belirtilen şekilde gerçekleştirildi. %50, %75 ve %100 dolgu yüzdelere sahip F1 3D tabletlerin in vitro salım profilleri Eş. 3.5’te verilen  $f_2$  benzerlik faktörü hesaplanarak karşılaştırıldı.

### **3.7. 3D Tabletlerde Boyut ve Ağırlığın İn Vitro Salım Üzerine Etkisi**

Aynı dolgu yüzdesinde (%50) üç farklı hedef ağırlığa sahip (400 mg, 200 mg ve 100 mg) F2 3D tabletler Bölüm 3.4.2’de anlatıldığı gibi tasarlanarak basıldı. Bu tabletlerin in vitro çözünme hızı çalışmaları Bölüm 3.5.3’te belirtilen şekilde gerçekleştirildi. Elde edilen çözünme hızı profillerinin benzerliğini değerlendirmek için  $f_2$  benzerlik faktörü hesaplandı.

### **3.8. 3D Tabletlerde Dozun Kişiselleştirilmesi**

F1 ve F2 3D tabletlerin kişiselleştirilmiş tedavisi için 10 mg dozda (%5) flutikazon propiyonat içeren 200 mg ağırlığındaki tabletlerin yanı sıra aynı ağırlıkta 7,5 mg (%3,75) ve 5 mg (%2,5) dozda ilaç içeren tabletler Bölüm 3.4.2’de anlatıldığı gibi tasarlanarak basıldı. F1 tablet formülasyonlarıyla aynı ağırlıkta farklı dozlarda tabletler basabilmek için formülasyondaki diğer formülasyon bileşenleri arasındaki oran sabit tutularak %2,5 ve %3,75 oranlarında etkin madde içeren sırasıyla F1a ve F1b kodlu filamentler ekstrüde edildi. Benzer şekilde F2 tablet formülasyonlarıyla aynı ağırlıkta farklı dozlarda tabletler basabilmek için %2,5 ve %3,75 oranlarında etkin madde içeren sırasıyla F2a ve F2b kodlu filamentler ekstrüde edildi Kişiselleştirilmiş tedavi için hazırlanan filament ve tabletlerin

karakterizasyon çalışmaları sırasıyla Bölüm 3.5.2 ve 3.5.3'te anlatıldığı gibi yapıldı. 10 mg, 7,5 mg ve 5 mg doz içeren tabletlerin in vitro salım profillerinin benzerliğini değerlendirmek için Eş. 3.5'te verilen  $f_2$  benzerlik faktörü hesaplandı.

### 3.9. 3D Tablet Formülasyonlarında Etkin Maddenin Çözünürlüğü

F1 ve F2 3D tablet formülasyonlarında etkin maddenin çözünürlük artışını değerlendirmek için shake-flask yöntemi kullanıldı. F1 ve F2 tabletler öğütüldükten sonra tablet tozlarının aşırı miktarı ayrı ayrı erlenlere aktararak üzerlerine 20 mL pH 7,4 tamponu eklendi. Çalışma 3 paralel olacak şekilde gerçekleştirildi. Erlenler 37 °C'deki çalkalamalı su banyosunda 24 saat boyunca bekletildi. 24. saatin sonunda alınan örnekler 0,45 µm'lik membran filtreden süzülerek miktar tayini için kullanılan valide edilmiş HPLC yöntemiyle analiz edildi.

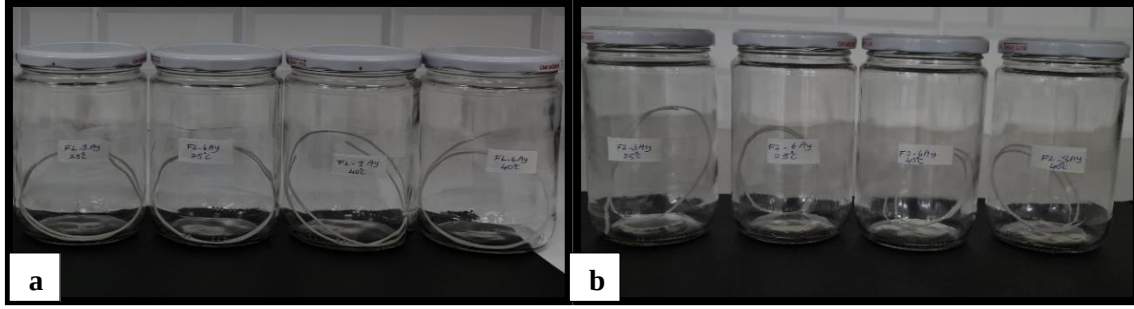
### 3.10. Filament ve Tabletlerde Stabilité Çalışmaları

F1 ve F2 filament ve tablet formülasyonlarının stabilite çalışmaları ICH Q1A (R2) stabilite kılavuzuna uygun olarak aşağıda belirtilen koşullarda gerçekleştirildi.

- 25 °C/ %60 bağıl nem (uzun süreli stabilite test koşulları)
- 40 °C/ %75 bağıl nem (hızlandırılmış stabilite test koşulları)

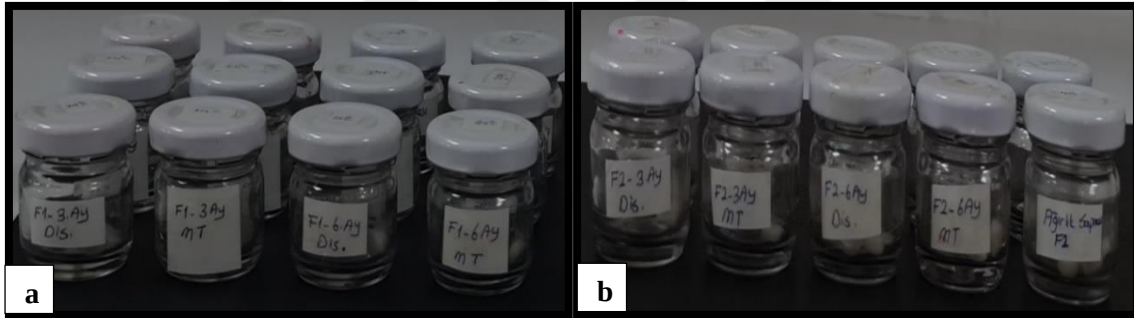
Hızlandırılmış testlerin 6 ay, uzun süreli testlerin ise 1 yıl boyunca devam ettirilmesi planlanmıştır. Ancak stabilite çalışmaları halen devam ettiği için 12. aya ait testler henüz gerçekleştirilmemiştir.

Ekstrüde edilen F1 ve F2 filamentler belli uzunluklarda kesilerek ağzı sıkıca kapalı cam şişelerin içerisine konuldu (Resim 3.6). 3. ve 6. aylarda filament örnekleri alınarak görünüş, filament çapı ve etkin madde miktar tayini Bölüm 3.5.2'de anlatıldığı gibi yapıldı ve bu filament örnekleriyle en az 3 tablet basılarak basılabilirlik denetimleri yapıldı. Sonuçlar başlangıç durumu ile kıyaslanarak değerlendirildi.



Resim 3.6. Stabilite kabinlerine bırakılan F1 (a) ve F2 (b) filament örnekleri

Basılan F1 ve F2 3D tabletler ağzı sıkıca kapalı cam şişeler içerisine konuldu (Resim 3.7). 3. ve 6. aylarda alınan tablet örneklerinde görünüş, çap kalınlık tayini, ağırlık tekdüzeliği, etkin madde miktar tayini ve in vitro çözünme hızı çalışmaları Bölüm 3.5.3'te anlatıldığı gibi yapıldı. Bu testlerde elde edilen in vitro profillerini test başlangıcındaki profille benzerliğini değerlendirmek amacıyla Eş. 3.5 kullanılarak  $f_2$  benzerlik faktörü hesaplandı.



Resim 3.7. Stabilite kabinlerine bırakılan F1 (a) ve F2 (b) tablet örnekleri

### 3.11. İn Vivo Çalışmalar

İn vivo deneyler Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'ndan alınan etik kurul onayı ile (Evrak Tarih ve Sayısı: 28.12.2022-E.546398) Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Deney Hayvanları Bakım ve Araştırma Ünitesi'nde gerçekleştirildi. Deneylerde 48 adet 250-350 g ağırlığında Wistar cinsi albino erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar deney öncesi ortama uyum sağlamaları açısından 1 hafta boyunca karantinaya alındı. Sıçanlar karantina süresi ve deney boyunca kontrollü sıcaklık, nem ve ışık koşullarında (24-25 °C, %55-65 nem, 12 saat gün ışığı/ 12 saat karanlık) standart pellet sıçan yemi ve musluk suyuna serbestçe erişim sağlayabilecekleri şekilde tutuldu. Deney boyunca sıçanların günlük olarak ağırlık değişimlerinin, tükettikleri yem ve su miktarlarının, dışkı yoğunluğunun ve herhangi bir kanama bulgusu olup olmadığının kayıt altına alınması için sıçanlar tekli kafeslere yerleştirildi (Resim 3.8). Ayrıca sıçanların dışkı kıvamı ve kanama

bulgularının kolaylıkla takip edilebilmesi için kafeslerinin altına beyaz filtre kağıdı konularak bunlar günlük olarak değiştirildi.



Resim 3.8. Sıçanların yerleştirildiği tekli kafesler

### 3.11.1. Sıçanlarda ülseratif kolit modelinin oluşturulması

Sıçanlarda ülseratif kolit modeli oluşturmak amacıyla trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) kullanıldı. Sıçanlar hastalık modeli oluşturmaya başlamadan önce 18 saat boyunca suya serbest erişimleri sağlanarak aç bırakıldı. Uygulama öncesi sıçanların ağırlıkları belirlenerek kontrol grubu dışındaki tüm sıçanlara anestezi olarak 50 mg/kg dozunda ketamin hidroklorür ve 5 mg/kg dozunda ksilazin hidroklorür intramusküler yoldan uygulandı. Anestezi altına alınan sıçanlara 80 mg/kg doz içeren TNBS'nin %50'lik etanoldeki çözeltisi kalın paslanmaz çelik gavaj yardımıyla rektumdan 8 cm içerde intrakolonik olarak uygulandı (Resim 3.9). TNBS çözeltisi gavaj vasıtasıyla kolon içerisine yavaşça verildi ve uygulanan TNBS çözeltisinin anüsten geri kaçmasını önlemek amacıyla sıçanlar 1 dakika boyunca kuyruktan kaldırılarak baş aşağı pozisyonda (Trandelenburg pozisyonu) bekletildi (Resim 3.10) (Yang ve diğerleri, 2014). Sıçanlara TNBS uygulandıktan 72 saat sonra tedaviye başlandı.



Resim 3.9. Sıçanlara rektal gavaj ile TNBS'nin uygulanması



Resim 3.10. Sıçanların Trandelenburg pozisyonunda tutulması

### 3.11.2. Deney grupları ve sıçanlara uygulanan tedavi protokolü

Çalışma kapsamında yer alan 48 sıçan rastgele 6 gruba ayrıldı. Deney süresince grupta yer alan sıçanların takiplerinin kolay yapılabilmesi çeşitli kodlar verildi. Bu gruplar ve kodları aşağıda belirtildiği gibidir.

- Kontrol grubu (K): Kolit oluşturulmayan, ilaç almayan ve %0,5'lik karboksimetil selüloz çözeltisinin (CMC) 9 gün boyunca günde bir kez oral gavaj ile sıçanlara uygulandığı gruptur (n=8).
- Ülseratif kolit oluşturulan kontrol grubu (ÜK-K): Ülseratif kolit oluşturulan, ilaç almayan ve %0,5'lik CMC çözeltisinin 9 gün boyunca günde bir kez oral gavaj ile sıçanlara uygulandığı gruptur (n=8).
- Etkin madde süspansiyonunun oral uygulandığı grup (EM): Ülseratif kolit oluşturulan ve 1 mg/kg dozda Flutikazon propiyonat içeren süspansiyonun 9 gün boyunca günde bir kez oral gavaj ile sıçanlara uygulandığı gruptur (n=8).
- Etkin madde içeren F1 3DP tablet alan grup (F1): Ülseratif kolit oluşturulan ve 1 mg/kg dozda flutikazon propiyonat içeren F1 3D tabletlerin 9 gün boyunca günde bir kez oral gavaj ile sıçanlara uygulandığı gruptur (n=8).
- Etkin madde içeren F2 3DP tablet alan grup (F2): Ülseratif kolit oluşturulan ve 1 mg/kg dozda flutikazon propiyonat içeren F2 3D tabletlerin 9 gün boyunca günde bir kez oral gavaj ile sıçanlara uygulandığı gruptur (n=8).
- Etkin madde içermeyen F2 3DP tablet alan grup (PL): Ülseratif kolit oluşturulan ve etkin madde içermeyen plasebo 3DP tabletlerin 9 gün boyunca günde bir kez oral gavaj ile sıçanlara uygulandığı gruptur. (n=8).
- F1 ve F2 olmak üzere iki tedavi grubu olmasına rağmen tedavi grubunun kontrolü olarak sadece F2 plasebo tabletlerinin uygulandığı PL grubu oluşturulmuştur. F1 tablet formülasyonundaki tüm bileşenler F2'de mevcut olduğundan F1 tedavi grubu için ayrıca bir kontrol grubu oluşturulmamıştır.

Sıçanlara verilecek ilaç dozu bu çalışmada 10 mg olarak belirlenen insan dozundan hareketle literatüre göre 1 mg/kg olarak hesaplandı (Nair ve Jacob, 2016). Tedavi öncesinde sıçanların ağırlıkları belirlenerek uygulanacak tedavi dozu hesaplandı. Sıçanlara formülasyonları oral yoldan uygulamak için 20 G, 6 cm uzunluğundaki, ince, paslanmaz çelik gavaj kullanıldı. Etkin maddenin oral süspansiyonunun uygulandığı gruba ilaç 0,75 mL %0,5'lik CMC

çözeltisinde süspande edilerek oral gavajla uygulandı. Tablet formülasyonu uygulanacak gruplara öğütülerek toz haline getirilen 3D tabletler 0,75 mL %0,5'lik CMC çözeltisinde süspande edilerek oral gavajla uygulandı (Resim 3.11). Tabletlerin sıçanlara bütün halde yutturulması mümkün olmadığından tabletler oral gavajı tıkamayacak şekilde toz haline getirildi. Tablet tozları ve etkin madde hidrofobik yapılarından dolayı suda disperse edilemediği için dispersiyon ortamı olarak %0,5'lik CMC çözeltisi kullanıldı. Doz kaybını minimize etmek için oral uygulamaların hacmi 0,75 mL'lik dispersiyonlar olarak belirlendi. Sıçanlara uygulanacak formülasyonlar deneylerden önce taze olarak yeterli miktarda hazırlandı. Sıçanlara uygulanan tedavinin terapötik etkinliğinin net bir şekilde gözlenmesi için 9 günlük tedavi sürecinin ardından, sıçanlar 10. gün tedavi uygulanmadan sakrifiye edildi.



Resim 3.11. Formülasyonların sıçanlara oral yoldan uygulanması

### 3.11.3. Sıçanların tedavi süresince takip edilen fizyolojik özellikleri

#### Sıçanların ağırlık takibi

Sıçanların ağırlıkları deney grupları oluşturulduktan sonra belirlendi ve sakrifiye edilene kadar düzenli olarak her gün ölçülerek kaydedildi. Sıçanlarda ülseratif kolit modelini indüklemeyen önce deney gruplarında yer alan sıçanların başlangıç ortalama ağırlıkları ve standart sapmaları hesaplandı. Elde edilen bulgular grafiğe geçirilerek in vivo çalışmaya başlamadan önce deney grupları arasında sıçanların ağırlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığı incelendi. Ayrıca her grubun in vivo deneylere başlamadan önce (başlangıç), hastalık modeli oluşturulduktan sonra (tedavi öncesi) ve sakrifikasyondan önce (tedavi sonrası) tespit edilen ortalama ağırlıkları ve standart sapmaları hesaplanarak hastalık ve tedavi sürecinin sıçanların ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa neden olup olmadığı incelendi.

#### Sıçanların tükettikleri yem miktarı

Sıçanların tükettikleri yem miktarı her gün düzenli olarak kaydedildi. Deney gruplarındaki sıçanların hastalık modeli oluşturma (tedavi öncesi) sürecinde ve tedaviye başladıktan sonraki süreçte tükettikleri ortalama günlük yem miktarları ve standart sapmaları hesaplandı. Her iki süreç için sıçanların tükettikleri ortalama günlük yem miktarları bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı incelendi.

#### Sıçanların dışkı kıvamları

Tedavinin 2. gününden itibaren günlük olarak tüm sıçanların dışkı kıvamları Çizelge 3.11’de verilen skorlama kriterleri kullanılarak değerlendirildi. Yapılan değerlendirmeye göre deney gruplarında yer alan tüm sıçanların ortalama dışkı skorları ve standart sapmaları hesaplandı. Sıçanların dışkı skorları bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı incelendi.

Çizelge 3.11. Sıçanların dışkı kıvamlarının skorlanması

| Kriter                              | Skor |
|-------------------------------------|------|
| İyi oluşmuş pellet şeklindeki dışkı | 0    |
| Anüze yapışmayan yarı-katı dışkı    | 2    |
| Anüze yapışan sıvı dışkı            | 4    |

### Sıçanlarda ülseratif kolite bağlı kanama bulgusu ve ölüm sayısı

Tedavinin 2. gününden çalışmanın sonuna kadar olan süreçte her deney grubunda rektal kanama bulgusu görülen ve ölen sıçan sayısı tespit edildi.

#### **3.11.4. Kolon dokusu örneklerinin alınması ve incelenmesi**

Sıçanlar anestezide alınmadan önce son kez ağırlıkları tartıldı. Sıçanların anestezisi altında inrtakardiyak kan alımını takiben sırasıyla;

- Midline kesi ile batınları açılarak kolonları bütün olarak çıkarıldı (Resim 3.12).
- Kolon longitudinal olarak açıldıktan sonra serum fizyolojik yardımıyla iyice temizlenerek kurulandı ve ağırlığı ölçüldü.
- Kolonda varsa ülser lezyonunun uzunluğu ölçüldü ve kolondaki lezyonlar makroskopik olarak değerlendirildi.
- Kolonun 10 cm'lik bölümü uzunlamasına ikiye ayrılarak bir kısmı immünolojik incelemeler için alüminyum folyo ile paketlenen sonra hızla kuru buz üzerine alındı ve analiz yapılana kadar -80 ° C' lik derin dondurucuda muhafaza edildi.
- Histolojik incelemelerde kullanılmak üzere alınan diğer kısım ise %10'luk formaldehit çözeltisine alındı.



Resim 3.12. Midline kesi ile sıçanların batınlarının açılması ve kolonlarının çıkarılması

### Kolon dokularının makroskopik görünümüleri

Çıkarılan kolonlar longitudinal olarak açılıp serum fizyolojik iyice yıkandıktan sonra tek tek görüntüleri alındı. Kolonlara ait görüntüler kıyaslanarak makroskopik olarak değerlendirildi.

### Kolonik ülser uzunluklarının belirlenmesi

Çıkarılan kolonlar makroskopik olarak incelenerek varsa kolonik ülserlerin uzunluğu bir cetvel yardımıyla ölçüldü. Deney gruplarındaki sıçanların kolonik ülser uzunluklarının ortalaması ve standart sapması hesaplandı. Hastalığa bağlı sıçanların kolonlarında gözlemlenen ülserin uzunluğu açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı incelendi.

### Kolon dokularında makroskopik hasarın belirlenmesi

Sıçanların kolon mukozasındaki makroskopik hasar değerlendirilmesi için Çizelge 3.12 'de verilen makroskopik skorum kriterleri kullanıldı (Wallace, MacNaughton, Morris ve Beck, 1989). Kolon örnekleri çizelgede yer alan patolojik bulgular ve bunlara karşılık gelen skora göre makroskopik olarak değerlendirildi. Deney gruplarındaki sıçanlara ait kolon örneklerinin makroskopik değerlendirme sonucu aldıkları skorların ortalama ve standart sapması hesaplandı. Kolon örneklerinin makroskopik skorları bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı incelendi.

Çizelge 3.12. Makroskopik skorum kriterleri

| Kriter                                                                                                                                         | Skor |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Hasar yok                                                                                                                                      | 0    |
| Hiperemi                                                                                                                                       | 1    |
| Hiperemi ile beraber duvar kalınlaşması                                                                                                        | 2    |
| Duvar kalınlaşması gerçekleşmeden soliter ülser varlığı                                                                                        | 3    |
| İki veya daha fazla ülser veya inflamasyon alanı saptanması                                                                                    | 4    |
| İki veya daha fazla alanda ağır ülser ve inflamasyon saptanması veya tek bir alanda 1 cm'den daha uzun ülser veya inflamasyon alanı saptanması | 5    |
| Kolondaki hasarın 2 cm'den daha uzun olduğu durumlarda her fazla 1 cm için puanlamaya bir puan eklenmiştir.                                    | 6-10 |

### Sıçanların kolon ağırlıkları ve kolon/vücut ağırlıklarının belirlenmesi

Çıkarılan kolonlar longitudinal olarak açılıp serum fizyolojik yardımıyla iyice temizlendi. Kolonlar kurulandıktan sonra tek tek ağırlıkları ölçülerek kaydedildi. Sıçanların sakrifiye edilmeden önceki ağırlıkları, kolonlarının ağırlıklarına oranlanarak kolon/vücut ağırlığı

değeri hesaplandı. Deney gruplarındaki sıçanlara ait kolon ağırlıklarının ve kolon/vücut ağırlıklarının ortalama ve standart sapması hesaplandı. Her iki parametre için de gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı incelendi.

### 3.11.5. Kolon dokusunda yapılan histolojik çalışmalar

Histolojik incelmeler yapılmak üzere alınan kolon dokusu örnekleri %10' luk formaldehit solüsyonu ile tespit edildi. Ardından aşağıda belirtildiği şekilde rutin histolojik takip işlemleri ile dokular hematoxilen ve eozin (H&E) boyama için hazırlandıktan sonra boyama işlemi gerçekleştirildi. H&E ile boyanan kesitlerden bilgisayar destekli ışık mikroskopuyla görüntüler alındı. Elde edilen görüntüler bilgisayar programında değerlendirilerek histopatolojik skorlamaya geçildi. Çizelge 3.13'te verilen histolojik hasar skorlamasında inflamasyon (0-5), kript hasarı (0-4), ülserasyon derecesi (0-3) ile, ödem varlığı veya yokluğu (0 veya 1) derecelendirildi. Parametrelere ait skorlar toplanarak tüm kolon örnekleri için histolojik hasar skoru belirlendi (Abdelmegid, Abdo, Ahmed ve Kattaia, 2019). Deney gruplarındaki sıçanlara ait kolon örneklerinin histolojik hasar skorlarının ortalama ve standart sapması hesaplandı. Kolon örneklerinin histolojik hasar skorları bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı incelendi.

Çizelge 3.13. Histolojik hasar skorlama kriterleri

| Kriter                                                               | Skor |
|----------------------------------------------------------------------|------|
| <b>İnflamasyon</b>                                                   |      |
| İnfiltrasyon yok                                                     | 0    |
| Submukoza tabakası ile sınırlı                                       | 1    |
| Submukozada belirgin fokal alanlarla sınırlı infiltrasyon            | 2    |
| Submukoza ve lamina propriada fokal alanlarla sınırlı infiltrasyon   | 3    |
| Submukoza ve lamina propriada, mukozayı kapsayan yaygın infiltrasyon | 4    |
| Transmural inflamasyon                                               | 5    |
| <b>Kript Hasarı</b>                                                  |      |
| Kript hasarı yok                                                     | 0    |
| Bazı kriptlerde hasar, kriptler arası boşluklar                      | 1    |
| Goblet hücre kaybı, kriptler arasında yaygın boşluklar               | 2    |
| Kript içermeyen geniş alanlar                                        | 3    |
| Kript yok                                                            | 4    |
| <b>Ülserasyon</b>                                                    |      |
| Ülserasyon yok                                                       | 0    |
| Küçük, fokal ülserler                                                | 1    |
| Küçük, sık ülserler                                                  | 2    |
| Epitel içermeyen geniş alanlar                                       | 3    |
| <b>Ödem</b>                                                          |      |
| Var                                                                  | 0    |
| Yok                                                                  | 1    |

### Örneklerin boyama için hazırlanması

Dokulardan tespit çözeltisinin uzaklaştırılması tüm örnekler sırasıyla %50, %70, %80 ve %96'lık alkolde 20'şer dakika bekletildi. Ardından örnekler 20 dakika boyunca asetonda tutularak bu işlem arka arkaya 4 kez tekrarlandı. Asetondan alınan örnekler 2 kez 20'şer dakika ksilen içinde bekletildi. Örnekler ksilenden alındıktan sonra 60 °C'de erimiş parafin içerisinde 1 saat boyunca tutuldu ve bu işlem 2 kez tekrarlandı. Daha sonra örnekler parafin içinde bloklandı ve elde edilen parafin bloklardan mikrotom ile H&E boyama için rodajlı lamlara 4 µm kalınlığında kesitler alındı.

### H&E boyama protokolü

Lama alınan kesitlerden parafinin uzaklaştırılması için kesitler 70 °C'lik etüvde 20 dakika tutulduktan sonra 2 kere 15'er dakika ksilen içinde bekletildi. Kesitler deparafinizasyon işlemi sonrasında, azalan etil alkol serilerinde (% 99-96-80-70-50) 10'ar dakika tutuldu. Oda koşullarında kurutma işlemi tamamlandıktan sonra kesitler akan musluk suyu ile yıkandı. Yıkama sonrası kesitler 5 dakika Harris Hematoksilen solüsyonunda bekletildi ve akan musluk suyu altında yıkandı. Kesitler 2-3 damla glasiyel asetik asit ile %70 alkol karışımına 2-3 kez batırılıp çıkarılarak akan musluk suyu altında tekrar yıkandı. Daha sonra Eozin boya solüsyonunda 10 dk bekletilen kesitler, akan musluk suyu ile son kez yıkandı. Yıkama işlemi sonrasında dehidratasyon işlemi için artan etil alkol serilerinden (%50-70-80-96) hızlıca geçirilen kesitler, ksilende bekletilerek entellan ile kaplandı.

### **3.11.6. Kolon mukozasında yapılan biyokimyasal çalışmalar**

İn vivo çalışmada yer alan sıçanların kolon mukozalarında tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) ve İnterlökin-6 (IL-6) düzeylerinin analizinde Elisa (Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay) yöntemi, myeloperoksidaz (MPO) düzeylerinin analizinde ise kalorimetrik yöntem kullanıldı. Biyokimyasal çalışmalar için alınan kolonik doku örneklerinden yaklaşık 0,1 g alınarak, 0,9 mL 140 mmol potasyum klorür tamponuyla (1:9) homojenizasyon işlemi yapıldıktan sonra, 7000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Doku artıklarının sonuçları etkilemesini önlemek için elde edilen süpernatantlar 0,45 µm'lik membran filtrelerden geçirildi ve daha sonra kitler kullanılarak analiz edildi. TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeylerinin analizinde Elisa kitleri, MPO düzeylerinin analizinde ise kalorimetrik analiz kiti kullanıldı.

Çalışmada kullanılan kitlelere ait standart IL-6, TNF- $\alpha$  ve MPO eğrileri kullanılarak tüm örneklerin IL-6, TNF- $\alpha$  ve MPO konsantrasyonları belirlendi. Değerler IL-6, TNF- $\alpha$  için ng/L ve MPO için U/L olarak verildi. Deney gruplarındaki sıçanların kolon dokusu örneklerindeki IL-6, TNF- $\alpha$  ve MPO konsantrasyonlarının ortalama ve standart sapması hesaplanarak kolonik mukozal TNF- $\alpha$ , IL-6 ve MPO düzeyleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı incelendi.

### 3.12. İstatistiksel Değerlendirmeler

Tez çalışmasından elde edilen bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesi için IBM SPSS yazılımından yararlanıldı. İki'den fazla grubun kıyaslandığı durumlarda tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile istatistiksel değerlendirmeler yapıldı. Hangi gruplar arasında farklılık olduğu ise post hoc Tukey HSD testi ile belirlendi. İki bağımlı grubun kıyaslandığı durumlarda eşleştirilmiş t testi (paired t-test) kullanıldı. %95 güven aralığında gerçekleştirilen analizlerde p değerlerinin 0,05'ten küçük olması durumunda gruplar arası fark anlamlı (\*), p değerlerinin 0,05'ten büyük çıkması durumunda ise gruplar arası fark anlamsız (non-significance, ns) olarak yorumlandı. Ayrıca gruplar arası fark p değerlerinin 0,01'den küçük olması durumunda yüksek düzeyde anlamlı (\*\*), 0,001'den küçük olması durumunda ise çok yüksek düzeyde anlamlı (\*\*\*) olarak yorumlandı.

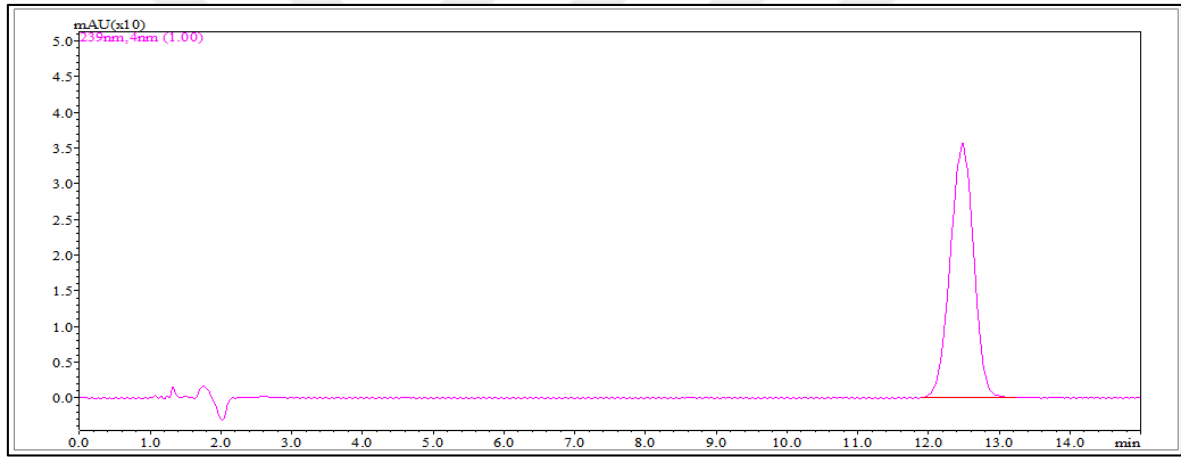


## 4. BULGULAR

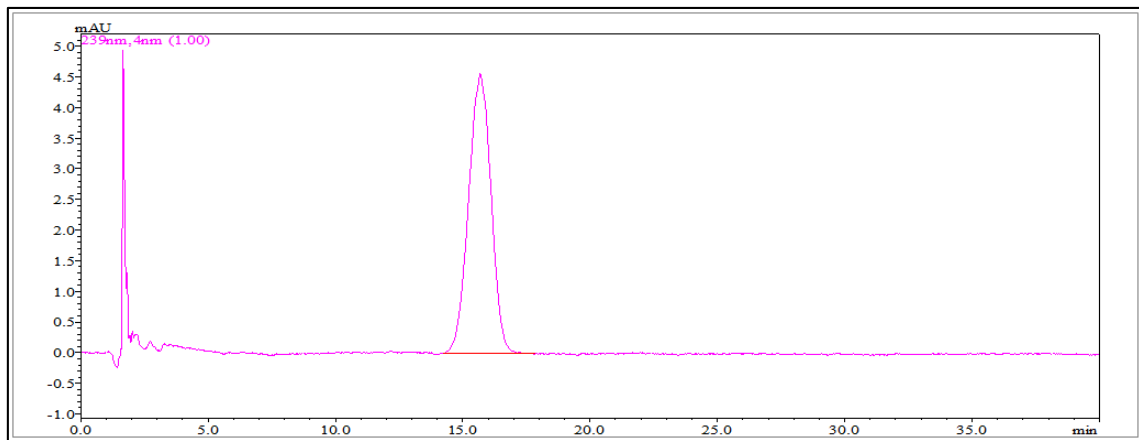
### 4.1. Etkin Madde Miktar Tayini Yöntemi ve Validasyonu

#### 4.1.1. Miktar tayin yöntemi

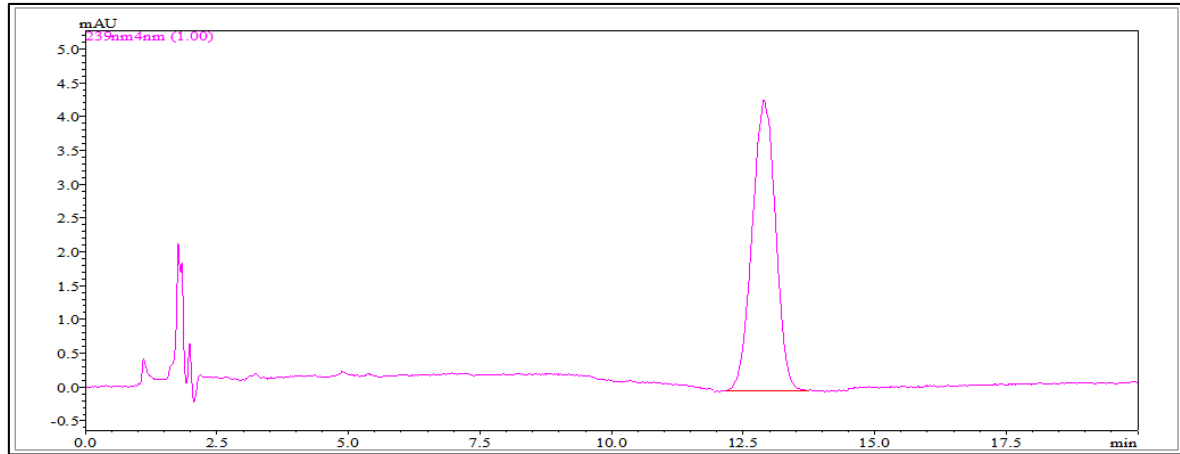
Bölüm 3.2.1’de belirtilen kromatografik koşullarda gerçekleştirilen HPLC analiz yöntemi kullanıldı. 40 µg/mL flutikazon propiyonat içeren çalışma çözeltisine ait kromotogram ve buna eşdeğer miktarda etkin maddenin %2 SLS içeren pH 1,2; pH 6,8 ve pH 7,4 ortamlarında oluşturduğu çözeltilere ait kromatogramlar aşağıda sunulmuştur (Şekil 4.1-4.4).



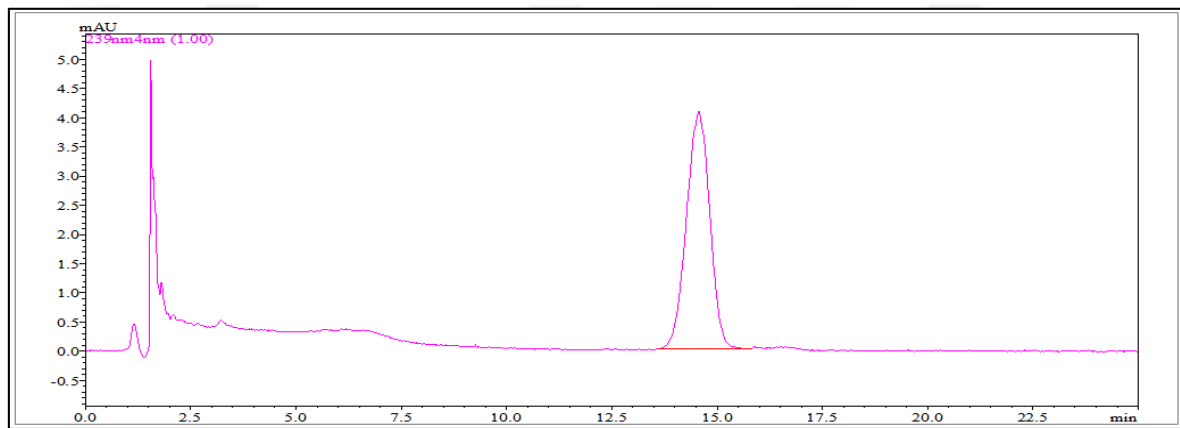
Şekil 4.1. Çalışma çözeltisine ait kromotogram



Şekil 4.2. Etkin maddenin %2 SLS içeren pH 1,2 ortamındaki çözeltisine ait kromotogramı



Şekil 4.3. Etkin maddenin %2 SLS içeren pH 6,8 ortamındaki çözeltisine ait kromotogramı



Şekil 4.4. Etkin maddenin %2 SLS içeren pH 7,4 ortamındaki çözeltisine ait kromotogramı

#### 4.1.2. Analitik yöntem validasyonu

##### Sistem uygunluğunun tespit edilmesi

40 µg/ml konsantrasyondaki çalışma çözeltisinin sisteme 6 kez art arda enjekte edilmesi sonucu elde edilen piklerin alanı (A), alıkonma zamanı ( $t_r$ ), kuyruklanma faktörü (T), teorik plaka sayısı (N) Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Analiz yöntemine ait sistem uygunluk parametreleri

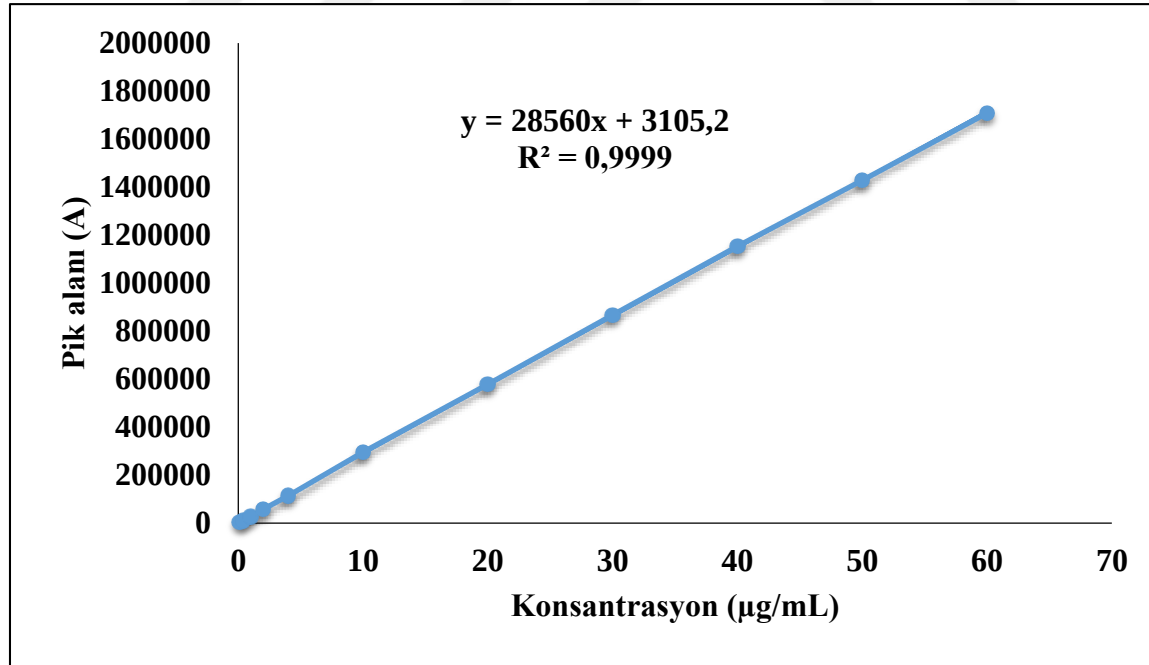
| Örnek No   | $t_r$ | A          | T     | N       |
|------------|-------|------------|-------|---------|
| 1          | 14,64 | 1298380    | 1,29  | 7511,10 |
| 2          | 14,63 | 1296552    | 1,30  | 7552,90 |
| 3          | 14,64 | 1297260    | 1,30  | 7626,19 |
| 4          | 14,65 | 1298370    | 1,30  | 7496,86 |
| 5          | 14,67 | 1299887    | 1,30  | 7441,82 |
| 6          | 14,72 | 1300888    | 1,31  | 7510,07 |
| <b>Ort</b> | 14,66 | 1298556,17 | 1,30  | 7523,16 |
| <b>%VK</b> | 0,216 | 0,124      | 0,521 | 0,822   |

### Doğrusallık

Bölüm 3.2.2’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan stok çözeltilerin pik alanları Çizelge 4.2’de yer almaktadır. Hazırlanan stok çözeltilerin konsantrasyonlarına karşı pik alanları grafiğe geçirildiğinde elde edilen kalibrasyon doğrusu ve denklemi Şekil 4.5’te sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Doğrusallık tayininde kullanılan stok çözeltilerin konsantrasyonlarına karşılık gelen pik alanları

| Konsantrasyon (µg/mL) | Pik Alanı (A) |
|-----------------------|---------------|
| 0,10                  | 4483          |
| 0,40                  | 11528         |
| 1                     | 26467         |
| 2                     | 58172         |
| 4                     | 114180        |
| 10                    | 295882        |
| 20                    | 578322        |
| 30                    | 867470        |
| 40                    | 1153342       |
| 50                    | 1427926       |
| 60                    | 1708242       |



Şekil 4.5. Flutikazon propiyonatın kalibrasyon doğrusu ve denklemi

### Doğruluk

Bölüm 3.2.2’de anlatıldığı şekilde yapılan geri kazanım çalışmalarına ait doğruluk bulguları Çizelge 4.3’te yer almaktadır.

Çizelge 4.3. Flutikazon propiyonatın doğruluk bulguları

| Seri No    | 30 µg/mL | % Geri kazanım | 40 µg/mL | % Geri kazanım | 50 µg/mL | % Geri kazanım |
|------------|----------|----------------|----------|----------------|----------|----------------|
| 1          | 30,38    | 101,27         | 40,10    | 100,24         | 49,90    | 99,80          |
| 2          | 30,06    | 100,23         | 40,51    | 101,30         | 49,71    | 99,42          |
| 3          | 30,33    | 101,13         | 40,20    | 100,50         | 50,05    | 100,09         |
| <b>Ort</b> | 30,26    | 100,88         | 40,27    | 100,68         | 49,89    | 99,77          |
| <b>SS</b>  | 0,17     | 0,57           | 0,22     | 0,55           | 0,17     | 0,34           |
| <b>%VK</b> | 0,56     | 0,56           | 0,55     | 0,55           | 0,34     | 0,34           |

### Kesinlik

Kesinlik çalışmaları Bölüm 3.2.2’de anlatıldığı gibi tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik olmak üzere iki farklı kategoride yapıldı.

### *Tekrarlanabilirlik*

Flutikazon propiyonatın tekrarlanabilirlik bulguları Çizelge 4.4’te sunulmuştur.

Çizelge 4.4. Flutikazon propiyonatın tekrarlanabilirlik bulguları

| Örnek No   | Flutikazon propiyonatın konsantrasyonu (µg/mL) | Flutikazon propiyonatın ölçülen konsantrasyonu (µg/mL) |
|------------|------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 1          | 40,00                                          | 40,25                                                  |
| 2          | 40,00                                          | 40,28                                                  |
| 3          | 40,00                                          | 40,32                                                  |
| 4          | 40,00                                          | 40,28                                                  |
| 5          | 40,00                                          | 40,32                                                  |
| 6          | 40,00                                          | 40,29                                                  |
| 7          | 40,00                                          | 40,27                                                  |
| 8          | 40,00                                          | 40,30                                                  |
| 9          | 40,00                                          | 40,34                                                  |
| 10         | 40,00                                          | 40,28                                                  |
| <b>Ort</b> |                                                | 40,29                                                  |
| <b>SS</b>  |                                                | 0,03                                                   |
| <b>%VK</b> |                                                | 0,069                                                  |

### Ara Kesinlik

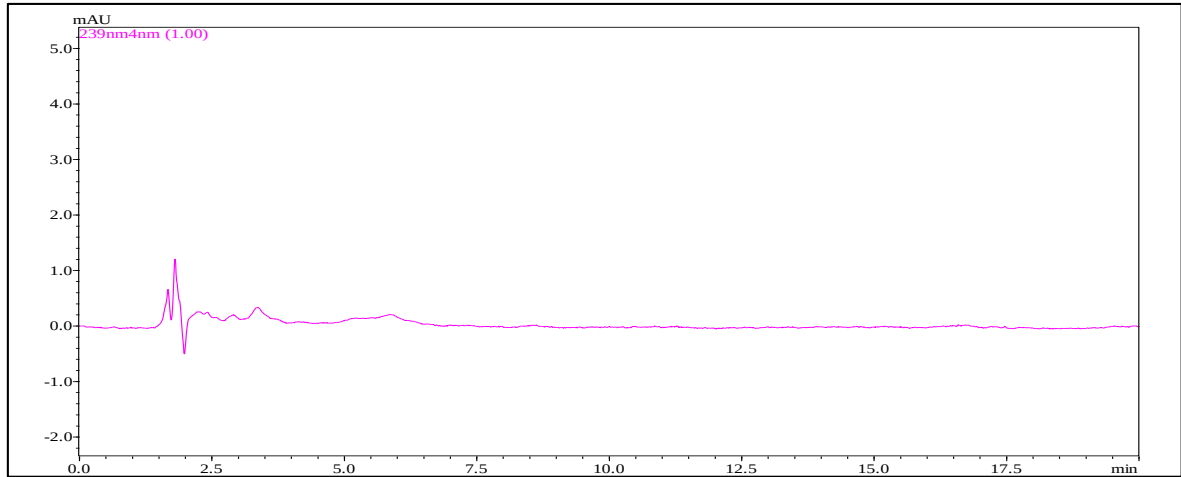
Günler arası kesinlik ölçütü için elde edilen bulgular Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Flutikazon propiyonatın günler arası kesinlik bulguları

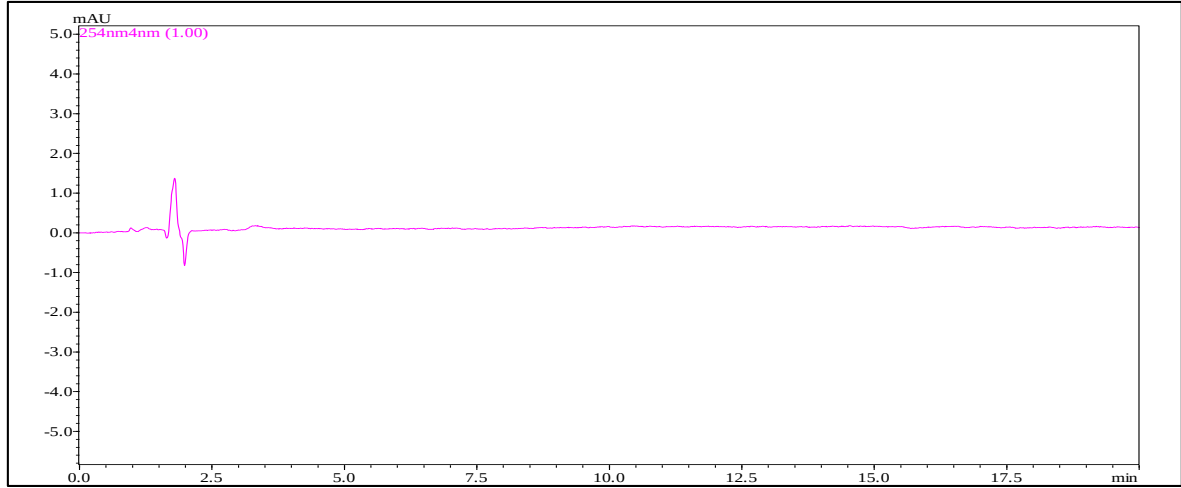
|                       | 4 µg/mL derişimindeki örnekler | 60 µg/mL derişimindeki örnekler |
|-----------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| 1. gün ölçümü (µg/mL) | 3,90                           | 60,30                           |
|                       | 3,96                           | 60,22                           |
|                       | 3,92                           | 60,26                           |
| 2. gün ölçümü (µg/mL) | 3,91                           | 60,28                           |
|                       | 3,96                           | 60,21                           |
|                       | 3,95                           | 60,30                           |
| 3. gün ölçümü (µg/mL) | 3,99                           | 60,30                           |
|                       | 3,97                           | 60,21                           |
|                       | 3,95                           | 60,29                           |
| <b>Ort</b>            | 3,96                           | 60,27                           |
| <b>SS</b>             | 0,03                           | 0,04                            |
| <b>%VK</b>            | 0,620                          | 0,068                           |

### Seçicilik

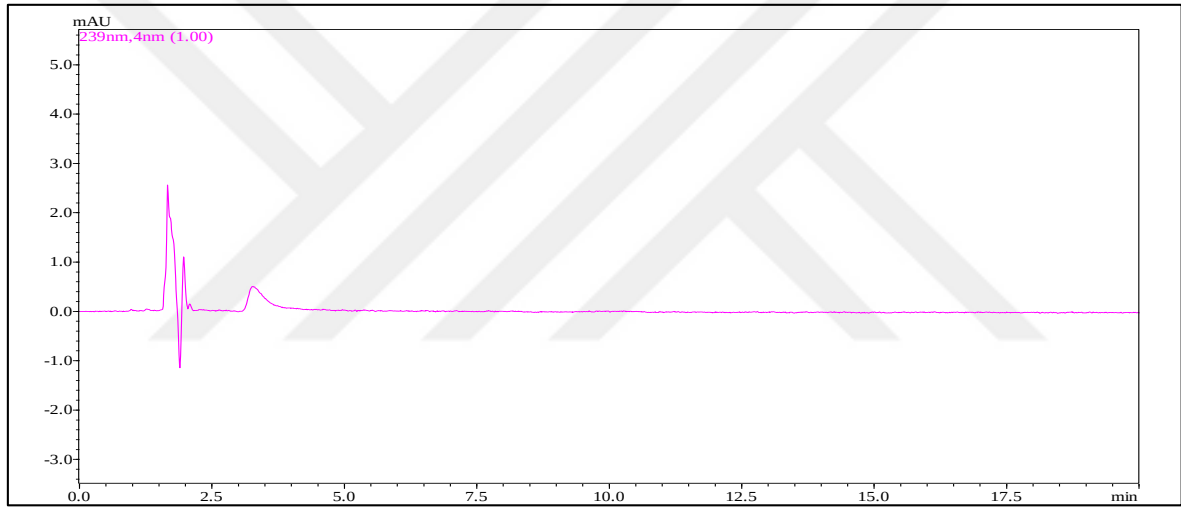
Yöntemin seçicilik tayini Bölüm 3.2.2'de anlatıldığı gibi gerçekleştirildi. Kolona seyreltme çözeltisi, mobil fazı oluşturan asetonitril, metanol ve pH 3,5 tamponu ile plasebo F2 tabletlerin pH 7.4 ortamındaki çözeltisi enjekte edildiğinde elde edilen kromatogramlar aşağıda sunulmuştur (Şekil 4.6-4.10).



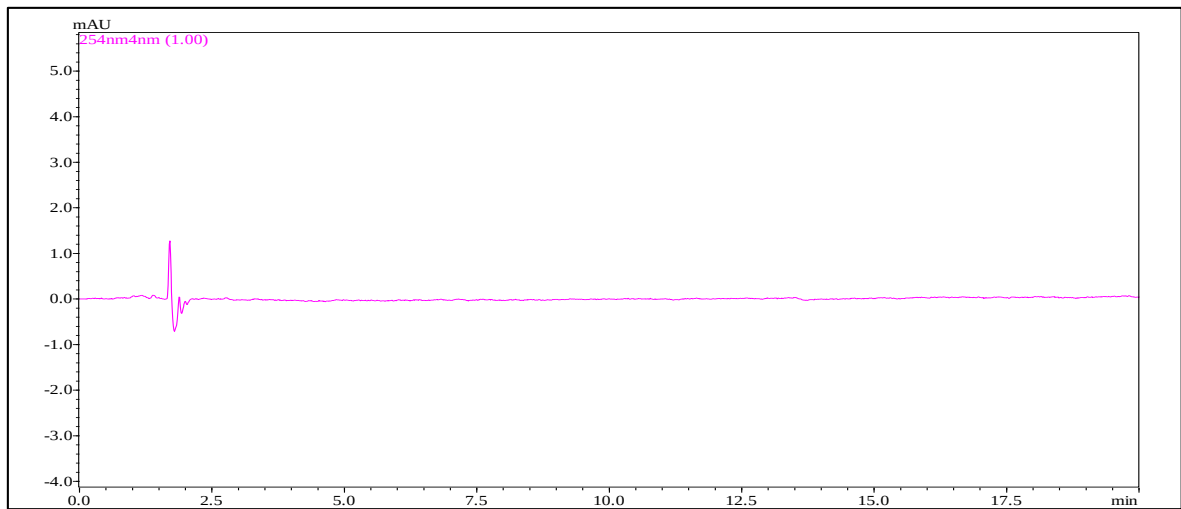
Şekil 4.6. Seyreltme çözeltisine ait kromatogram



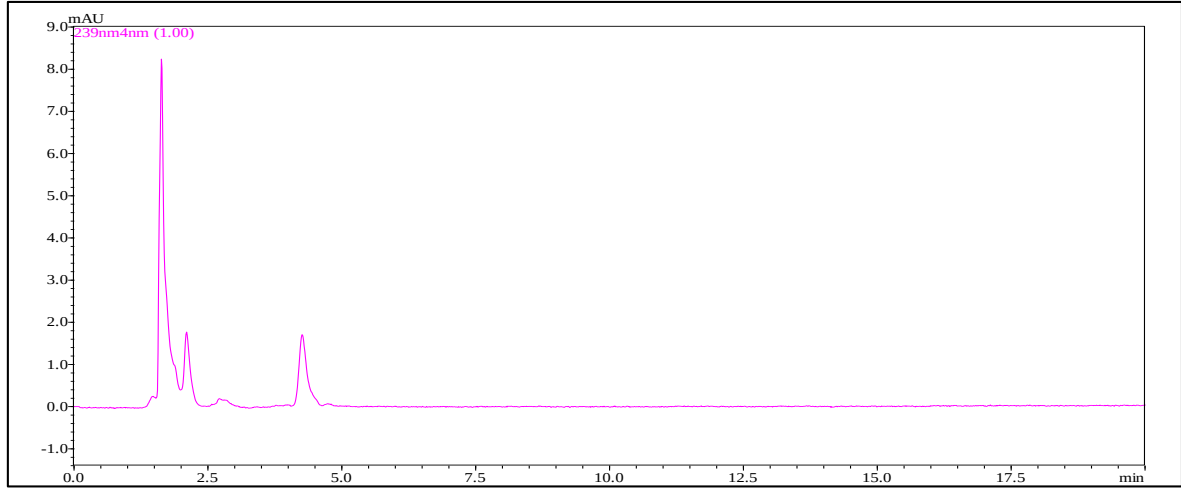
Şekil 4.7. Asetonitrile ait kromatogram



Şekil 4.8. Metanole ait kromatogram



Şekil 4.9. pH 3,5 tamponuna ait kromatogram



Şekil 4.10. Plasebo F2 tabletlerin pH 7,4 ortamındaki çözeltisine ait kromatogram

### Sağlamlık

Yöntemin sağlamlığı Bölüm 3.2.2’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Elde edilen bulgular Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Yöntemin sağlamlık bulguları

| <b>Analiz yöntemi</b>                            | <b>Seri 1</b> | <b>Seri 2</b> | <b>Seri 3</b> | <b>Ort</b> |
|--------------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|------------|
| Me: ASN: tampon<br>(50:15:35)<br>40 °C<br>pH 3,5 | 39,62         | 39,67         | 39,69         | 39,66      |
| Me: ASN: tampon<br>(45:20:35)                    | 39,03         | 39,02         | 39,21         | 39,09      |
| Me: ASN: tampon<br>(55:10:35)                    | 39,34         | 39,01         | 39,17         | 39,17      |
| 35 ° C                                           | 39,75         | 39,85         | 39,88         | 39,83      |
| 45 ° C                                           | 40,16         | 40,15         | 40,18         | 40,16      |
| pH 3                                             | 39,70         | 39,81         | 39,82         | 39,78      |
| pH 4                                             | 39,14         | 39,08         | 39,01         | 39,08      |
| <b>Ort</b>                                       | 39,53         | 39,51         | 39,57         | 39,54      |
| <b>SS</b>                                        | 0,39          | 0,47          | 0,44          | 0,43       |
| <b>%VK</b>                                       | 0,99          | 1,19          | 1,11          | 1,08       |

Me: Metanol, ASN: Asetonitril

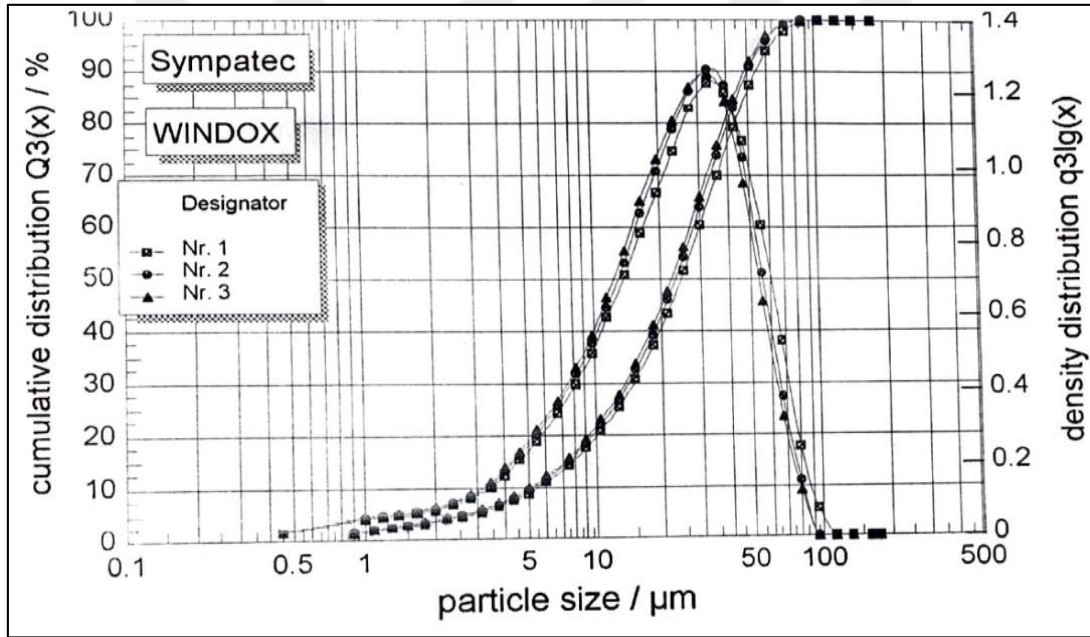
### LOD ve LOQ

Flutikazon propiyonatin miktar tayini için kullanılan HPLC yönteminin LOD ve LOQ değerleri sırasıyla Bölüm 3.2.2’deki Eş. 3.1 ve Eş. 3.2 kullanılarak hesaplandı. Buna göre yöntemin LOD  $2,7 \times 10^{-7}$  µg/mL, LOQ  $8,1 \times 10^{-7}$  µg/mL olarak hesaplandı.

## 4.2. Önformülasyon Çalışmaları

### 4.2.1. Etkin maddenin partikül büyüklüğünün analizi

Etkin maddenin partikül büyüklüğünün analizi Bölüm 3.3.1’de anlatıldığı gibi gerçekleştirilerek elde edilen partikül büyüklüğü dağılımı grafiği Şekil 4.11’de verilmiştir. Art arda yapılan üç ölçümde flutikazon propiyonat için elde edilen partikül büyüklüğü dağılımlarından ortalama  $d_{10}$ ,  $d_{16}$ ,  $d_{50}$ ,  $d_{84}$  ve  $d_{90}$  değerleri sırasıyla  $5,50 \pm 0,23 \mu\text{m}$ ;  $8,16 \pm 0,35 \mu\text{m}$ ;  $23,28 \pm 1,14 \mu\text{m}$ ;  $44,94 \pm 2,74 \mu\text{m}$  ve  $51,79 \pm 3,36 \mu\text{m}$  olarak bulunmuştur. Flutikazon propiyonatın ortalama partikül büyüklüğü ( $d_{50} \pm d_{84}/d_{50}$ )  $23,28 \pm 1,93 \mu\text{m}$  olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.11. Flutikazon propiyonatın partikül büyüklüğü ve dağılımı

### 4.2.2. Etkin maddenin çözünürlük tayini

Etkin maddenin farklı tampon ortamlarındaki çözünürlük çalışmaları Bölüm 3.3.2’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Etkin maddenin saf su ve %0, %2, %3 ve %4 SLS içeren farklı tampon ortamlarındaki çözünürlük sonuçları ve sink indeksleri aşağıda sunulmuştur (Çizelge 4.7-4.10).

Çizelge 4.7. Flutikazon propiyonatın farklı tampon ortamlarında çözünürlük değerleri

| Çözünme ortamı | Çözünürlük ( $\mu\text{g/mL}$ ) $\pm$ SS |            |
|----------------|------------------------------------------|------------|
|                | 24. saat *                               | 48. saat * |
| Saf su         | < 0,1                                    | < 0,1      |
| pH 1,2         | < 0,1                                    | < 0,1      |
| pH 6,8         | < 0,1                                    | < 0,1      |
| pH 7,4         | < 0,1                                    | < 0,1      |

\*Yapılan çözünürlük çalışmalarında 24. ve 48. saatte alınan örneklerde etkin madde analiz edilemediğinden çözünürlüğün kalibrasyon doğrusundaki en düşük konsantrasyondan küçük olduğu varsayılmıştır.

Çizelge 4.8. Flutikazon propiyonatın %2 SLS içeren ortamlarda çözünürlük değerleri

| Çözünme ortamı | Çözünürlük ( $\mu\text{g/mL}$ ) $\pm$ SS |                | Sink indeksi (SI) |
|----------------|------------------------------------------|----------------|-------------------|
|                | 24. saat                                 | 48. saat       |                   |
| pH 1,2+%2 SLS  | 31,6 $\pm$ 2,7                           | 33,5 $\pm$ 1,6 | 3,35              |
| pH 6,8+%2 SLS  | 33,4 $\pm$ 0,4                           | 33,6 $\pm$ 0,8 | 3,36              |
| pH 7,4+%2 SLS  | 31,8 $\pm$ 0,6                           | 32,3 $\pm$ 0,1 | 3,23              |

\*SI değerleri 48. saatin çözünürlük değerleri esas alınarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.9. Flutikazon propiyonatın %3 SLS içeren ortamlarda çözünürlük değerleri

| Çözünme ortamı | Çözünürlük ( $\mu\text{g/mL}$ ) $\pm$ SS |                | Sink indeksi (SI) |
|----------------|------------------------------------------|----------------|-------------------|
|                | 24. saat                                 | 48. saat       |                   |
| pH 1,2+%3 SLS  | 47,7 $\pm$ 2,5                           | 49,5 $\pm$ 0,7 | 4,95              |
| pH 6,8+%3 SLS  | 46,9 $\pm$ 3,4                           | 49,3 $\pm$ 1,9 | 4,93              |
| pH 7,4+%3 SLS  | 47,3 $\pm$ 3,4                           | 49,7 $\pm$ 1,7 | 4,97              |

\*SI değerleri 48. saatin çözünürlük değerleri esas alınarak hesaplanmıştır.

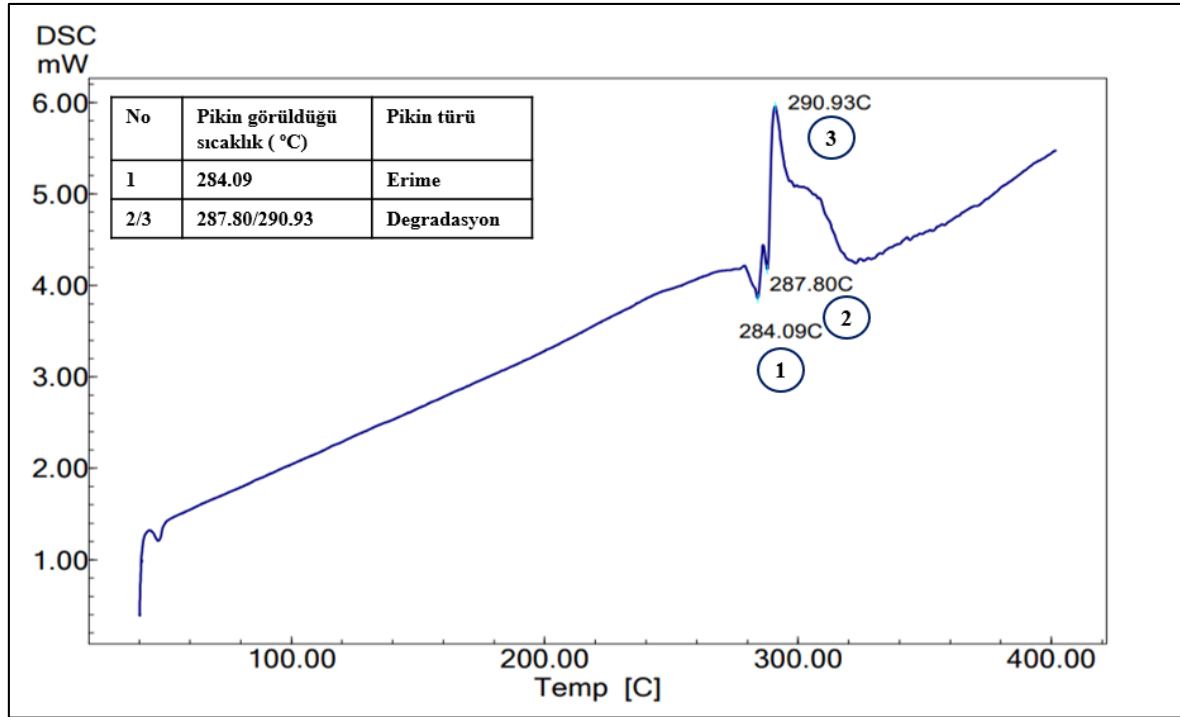
Çizelge 4.10. Flutikazon propiyonatın %4 SLS içeren ortamlarda çözünürlük değerleri

| Çözünme ortamı | Çözünürlük ( $\mu\text{g/mL}$ ) $\pm$ SS |                | Sink indeksi (SI) |
|----------------|------------------------------------------|----------------|-------------------|
|                | 24. saat                                 | 48. saat       |                   |
| pH 1,2+%4 SLS  | 66,3 $\pm$ 2,2                           | 67,9 $\pm$ 0,5 | 6,79              |
| pH 6,8+%4 SLS  | 63,9 $\pm$ 3,0                           | 68,2 $\pm$ 0,9 | 6,82              |
| pH 7,4+%4 SLS  | 64,5 $\pm$ 2,3                           | 65,4 $\pm$ 1,3 | 6,54              |

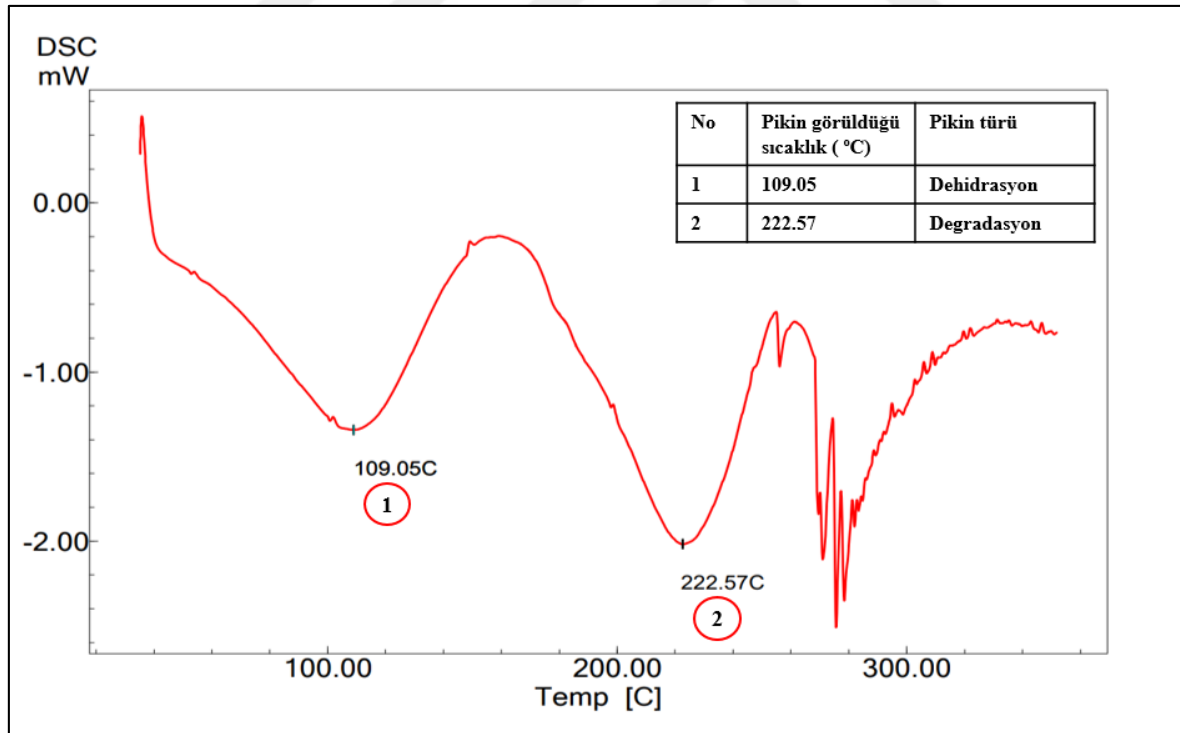
\*SI değerleri 48. saatin çözünürlük değerleri esas alınarak hesaplanmıştır.

#### 4.2.3. DSC analizleri

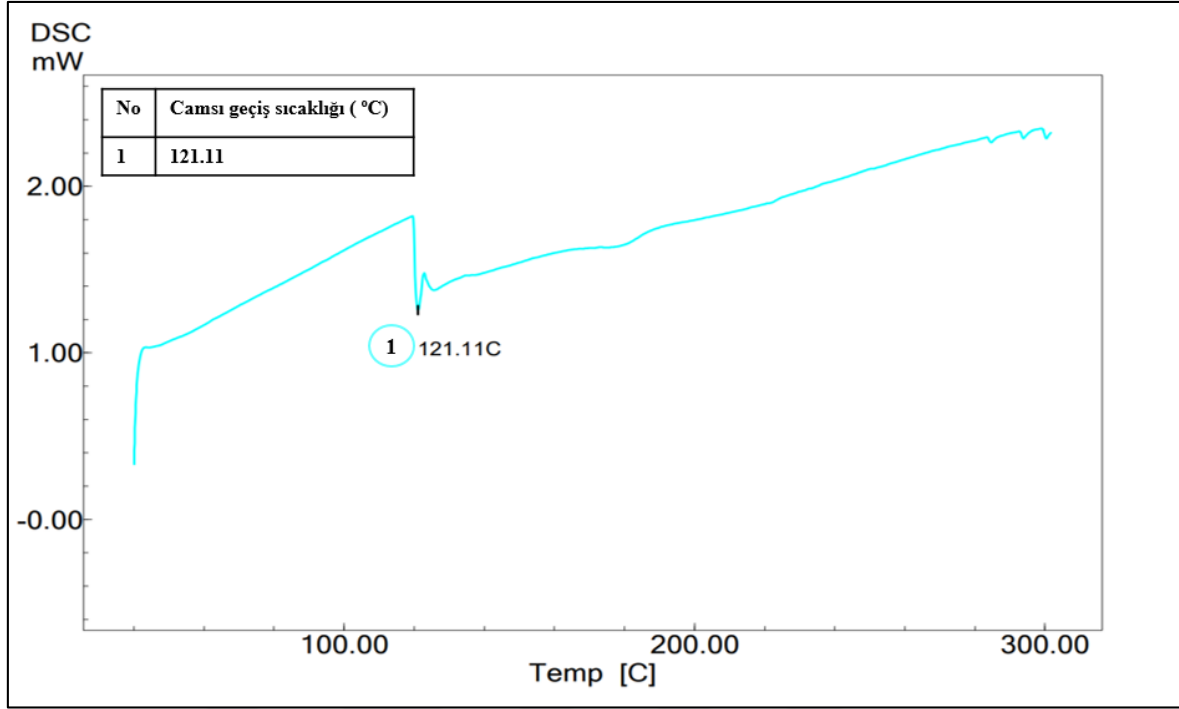
Etkin madde ve optimum formülasyonlardaki diğer bileşenler için DSC analizleri Bölüm 3.3.3'te belirtildiği şekilde yapılmış olup analizler sonucu elde edilen DSC termogramları aşağıda sunulmuştur (Şekil 4.12-4.19).



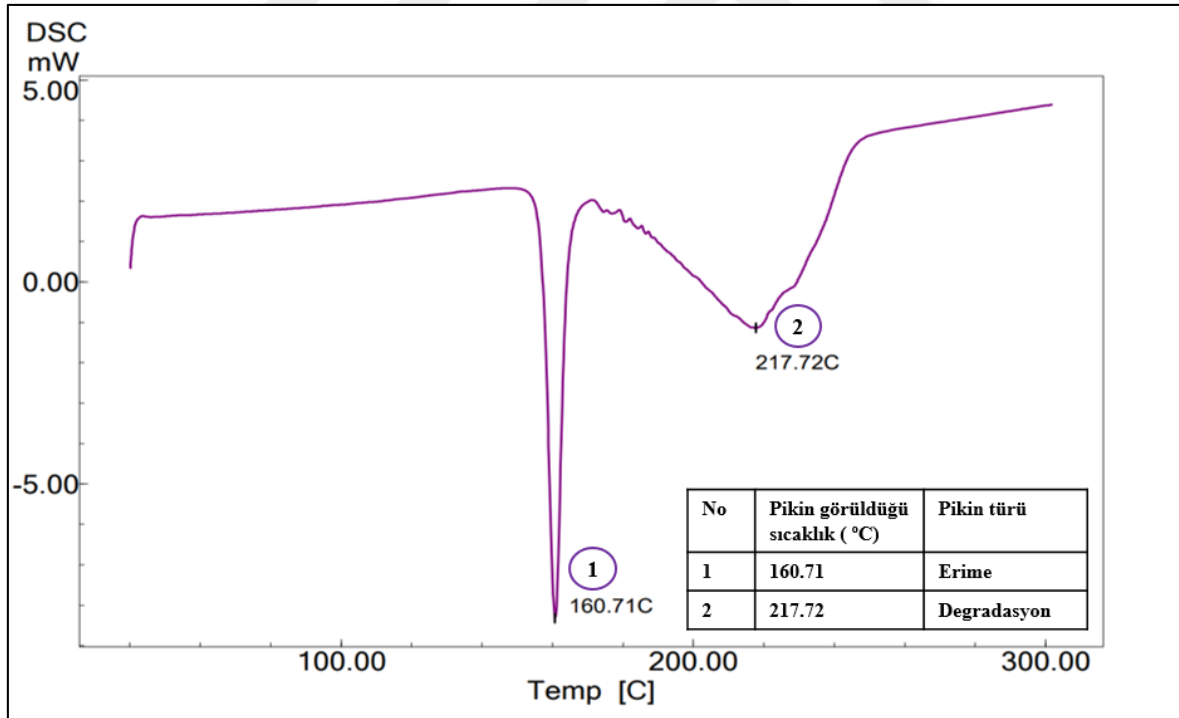
Şekil 4.12. Flutikazon propiyonata ait DSC termogramı



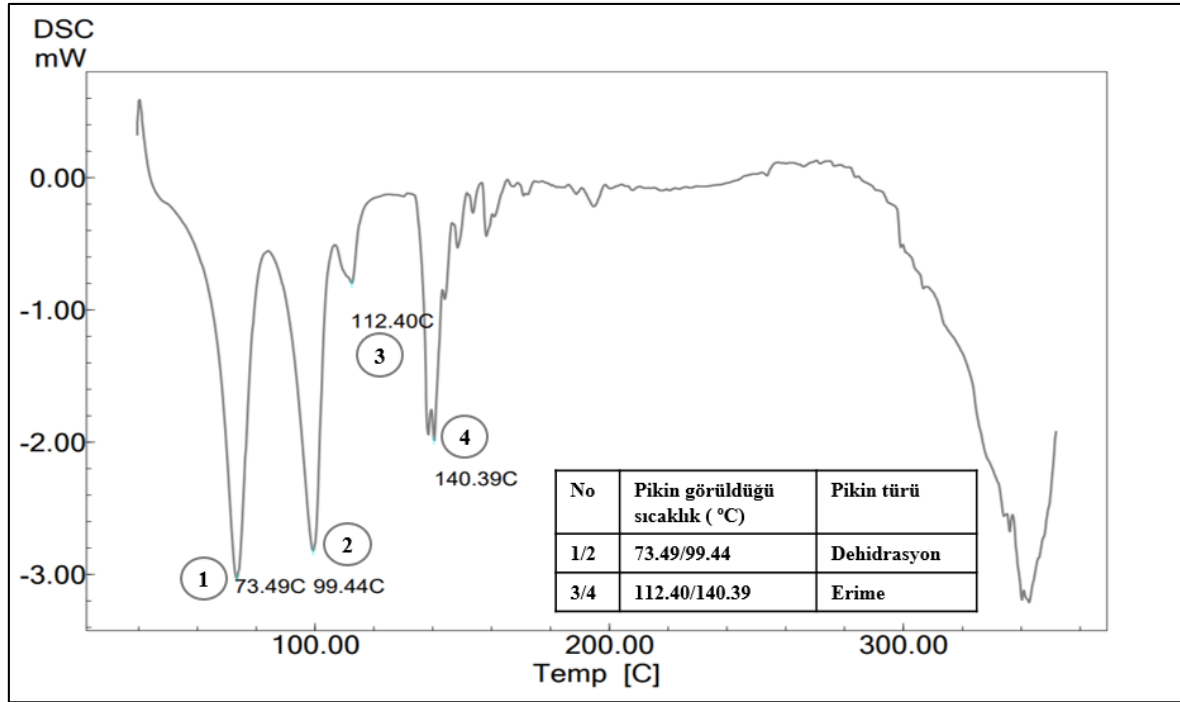
Şekil 4.13. Eudragit S100'e ait DSC termogramı



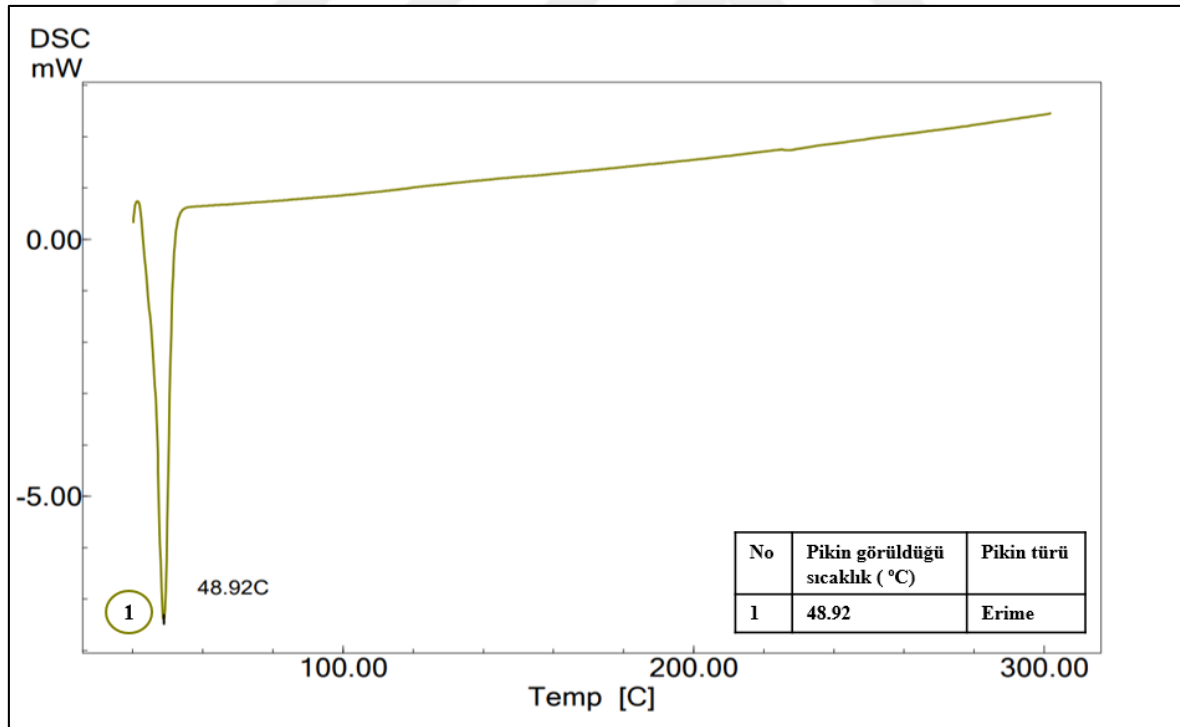
Şekil 4.14. Etil selüloza ait DSC termogramı



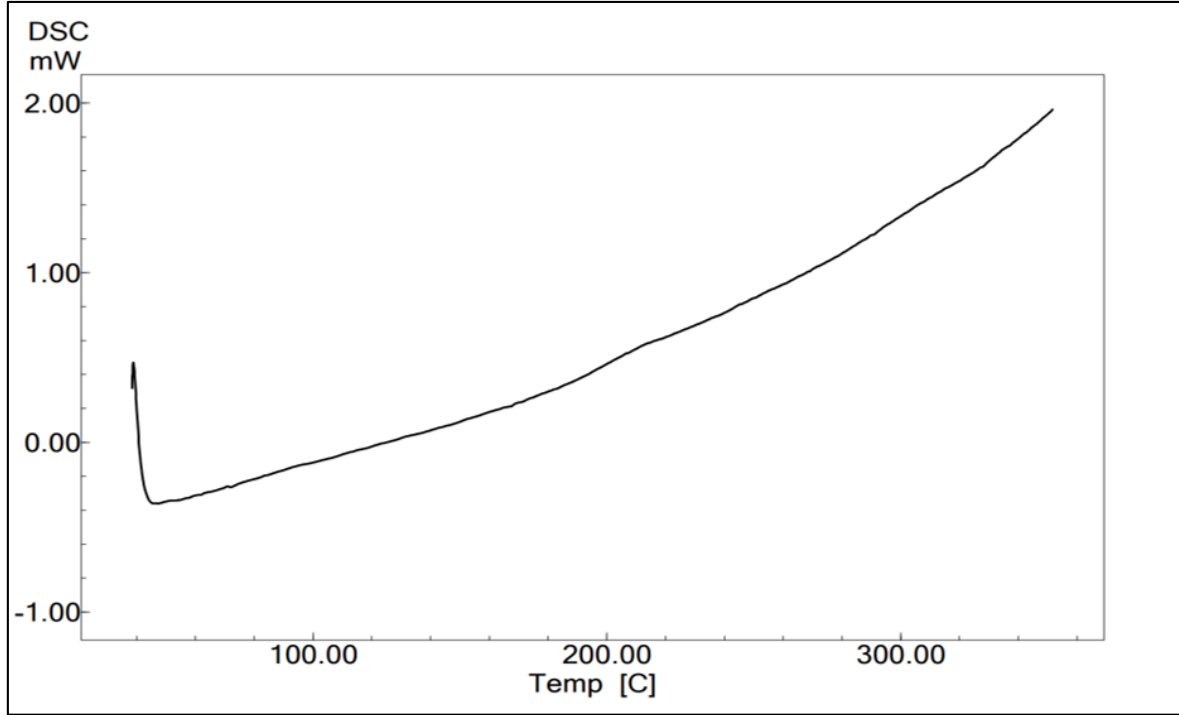
Şekil 4.15. Sitrik asit monohidrata ait DSC termogramı



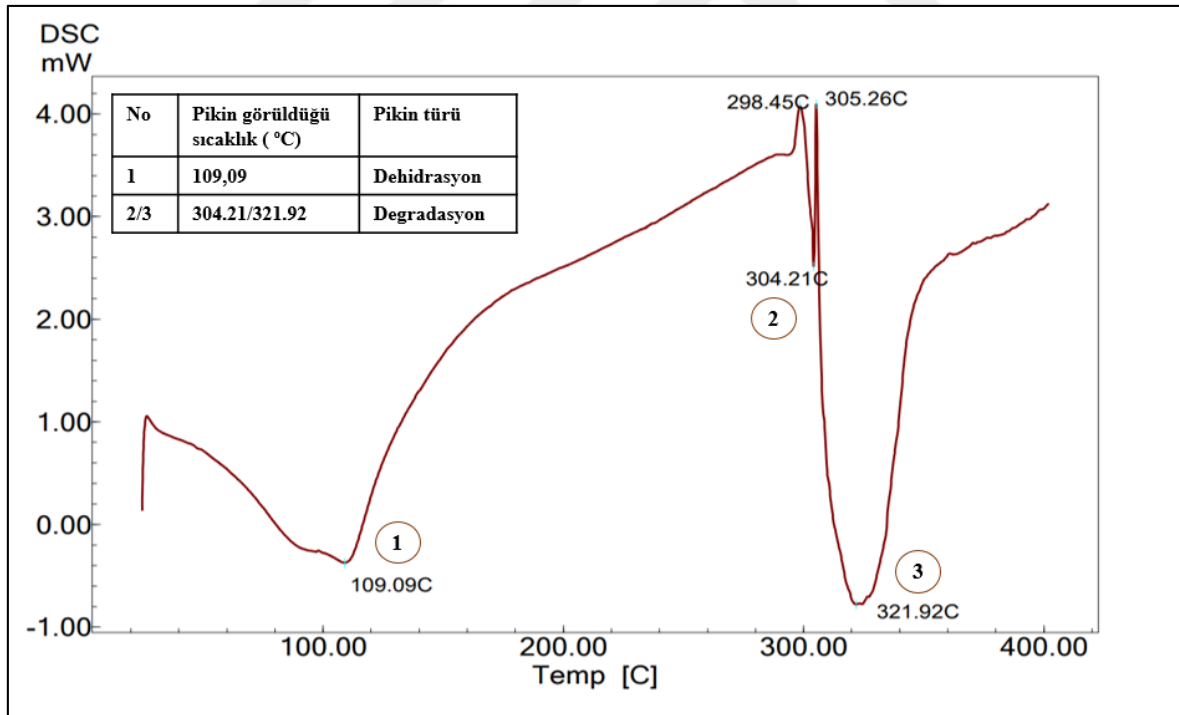
Şekil 4.16. Magnezyum stearata ait DSC termogramı



Şekil 4.17. Gelucire 48/16'ya ait DSC termogramı



Şekil 4.18. Talka ait DSC termogramı

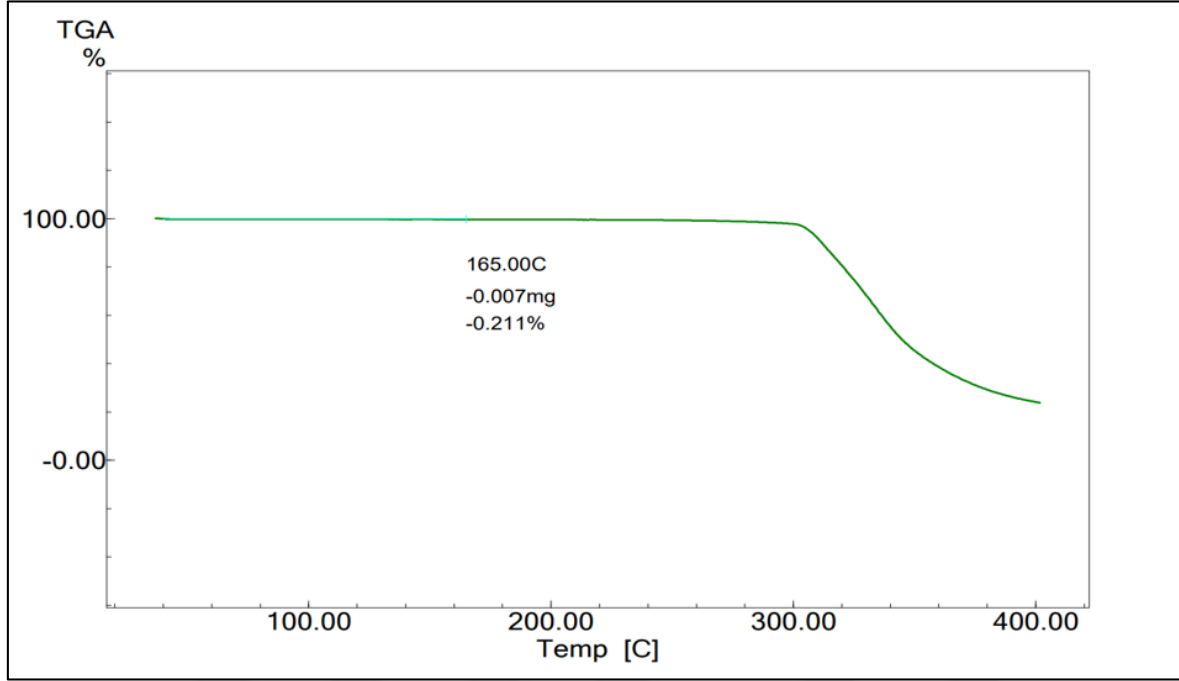


Şekil 4.19. Gammasiklodekstrine ait DSC termogramı

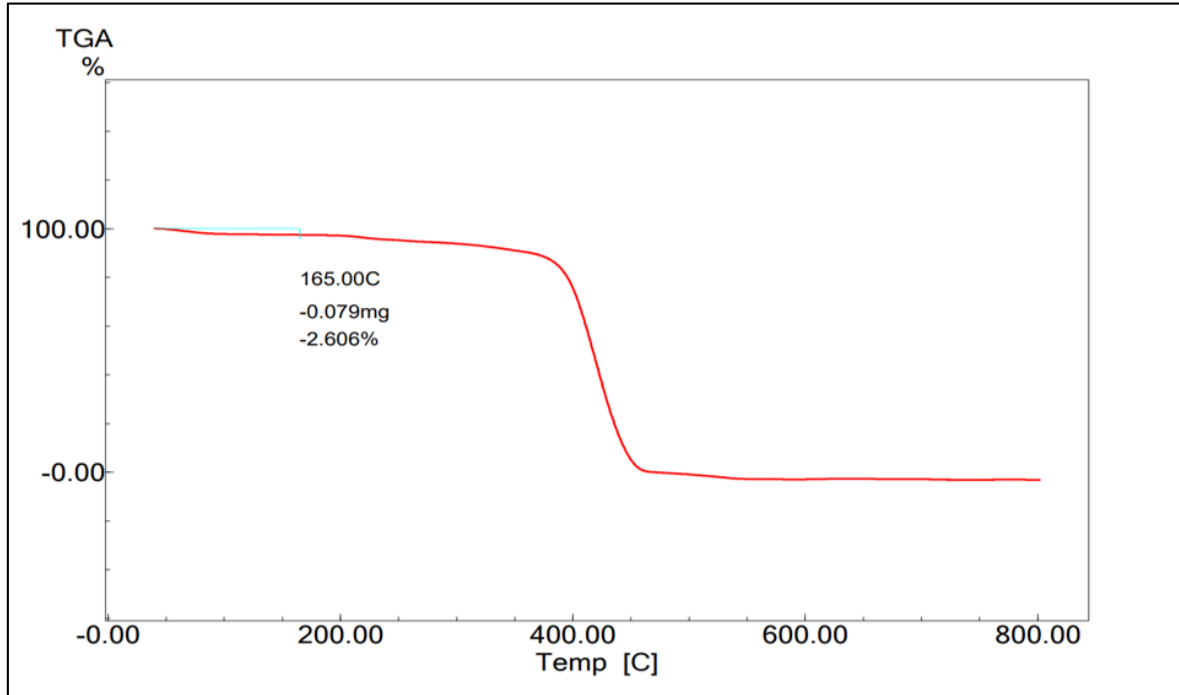
#### 4.2.4. TGA analizleri

Etkin madde ve optimum formülasyonlardaki diğer bileşenlerin TGA analizleri Bölüm 3.3.4'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiş olup analizler sonucu elde edilen TGA

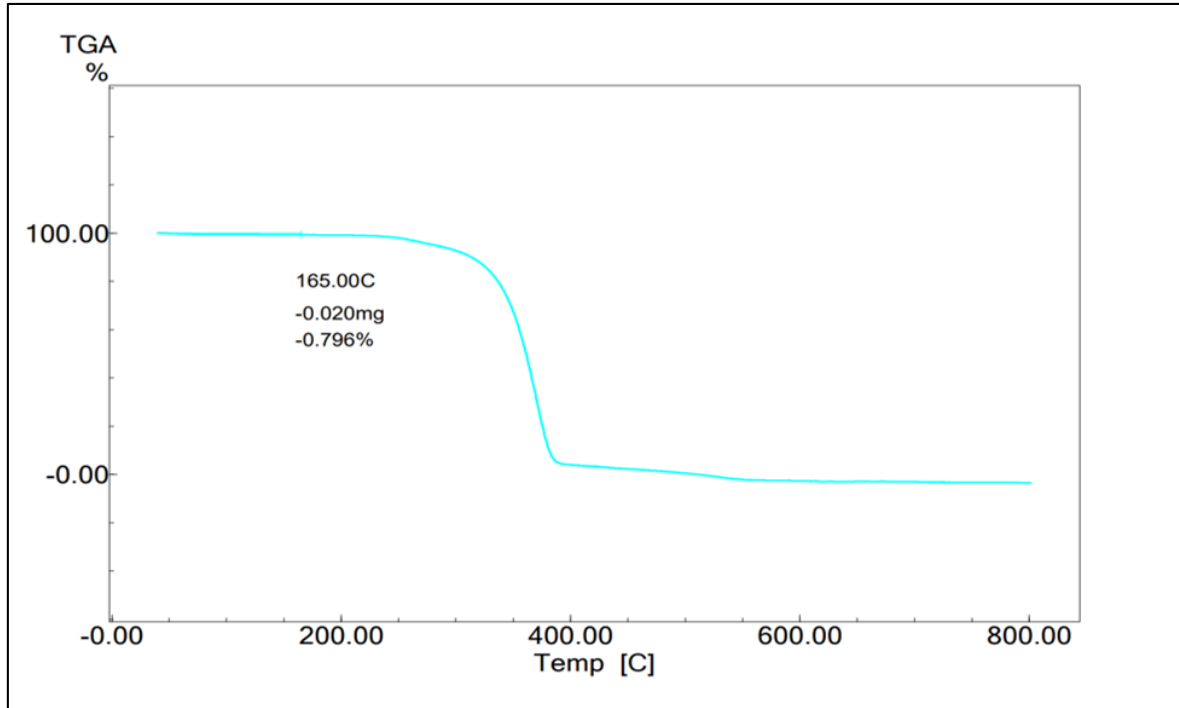
termogramları aşağıda sunulmuştur (Şekil 4.20-4.27). Termogramlar incelendiğinde çalışmamızda uygulanan en yüksek proses sıcaklığında (165 °C) bütün formülasyon bileşenlerinin stabil olduğu görülmektedir.



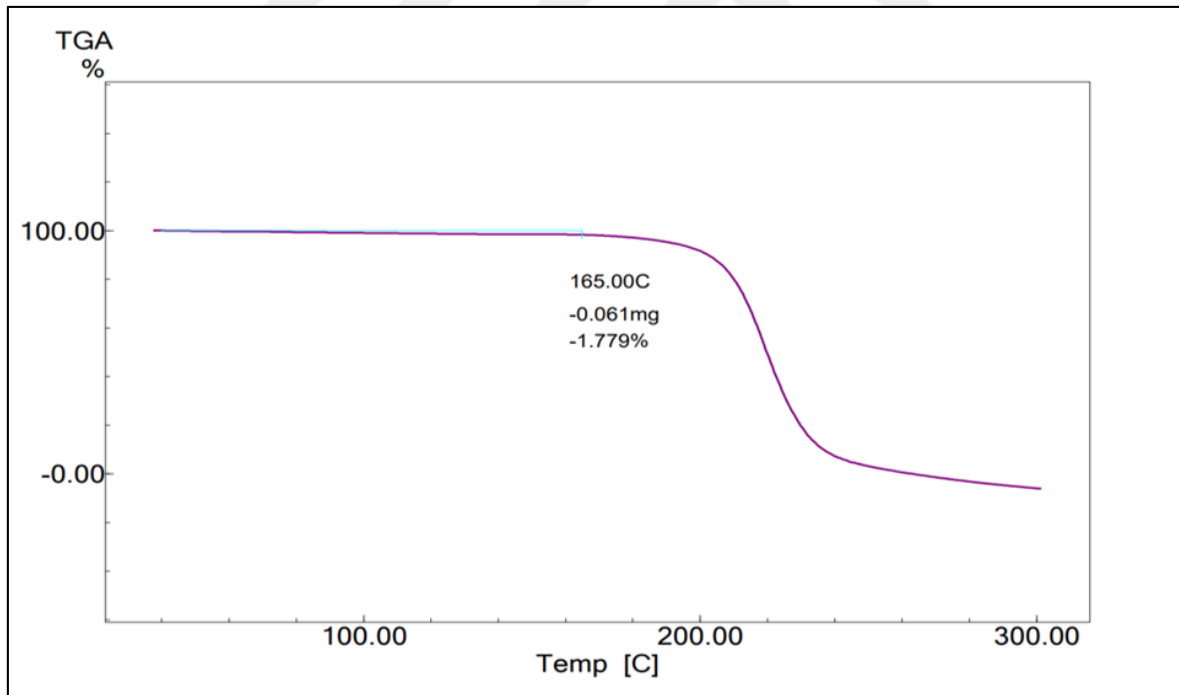
Şekil 4.20. Flutikazon propiyonata ait TGA termogramı



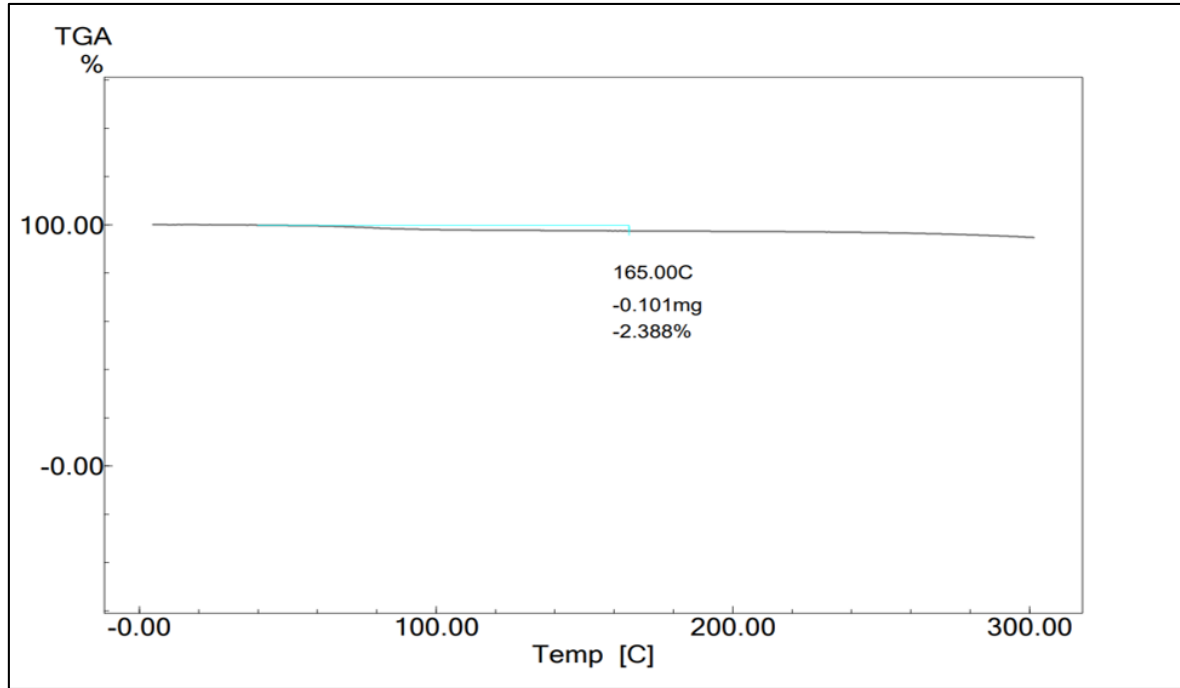
Şekil 4.21. Eudragit S100'e ait TGA termogram



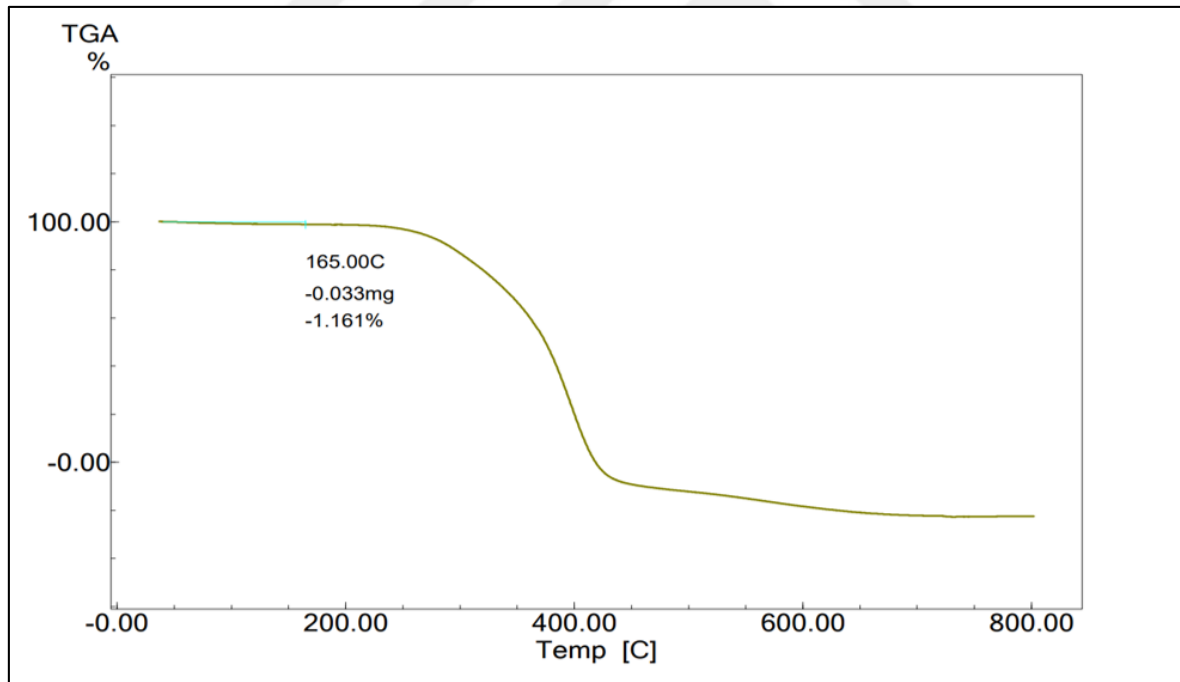
Şekil 4.22. Etil selüloza ait TGA termogramı



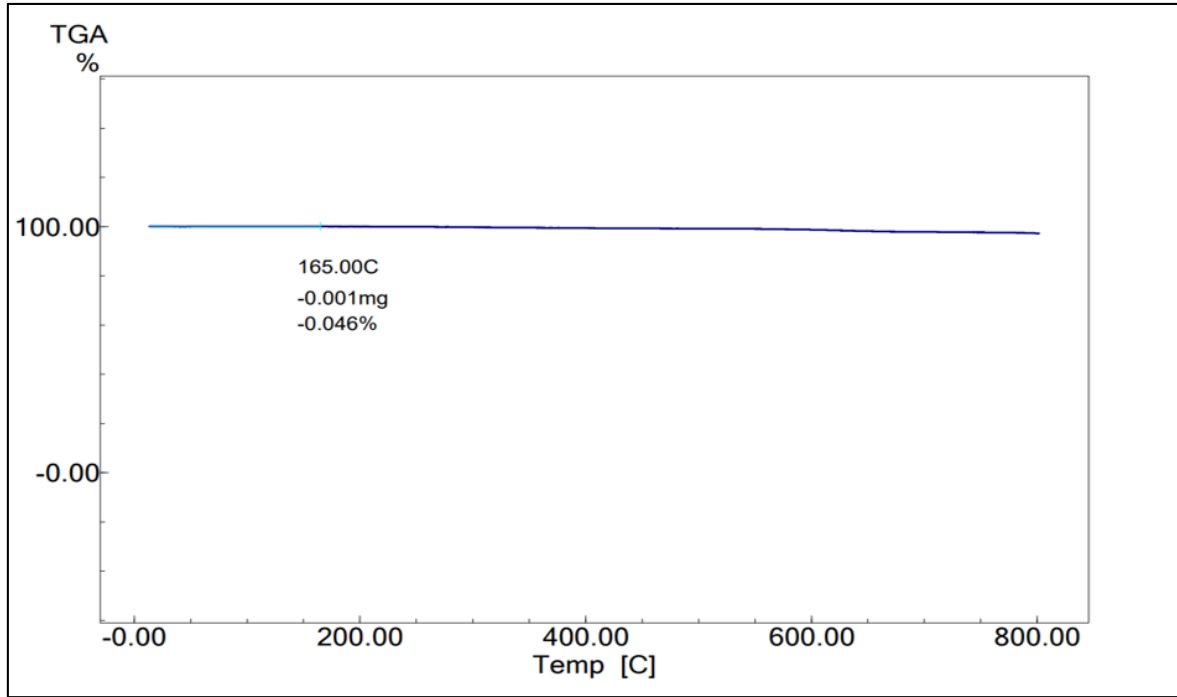
Şekil 4.23. Sitrik asit monohidrata ait TGA termogramı



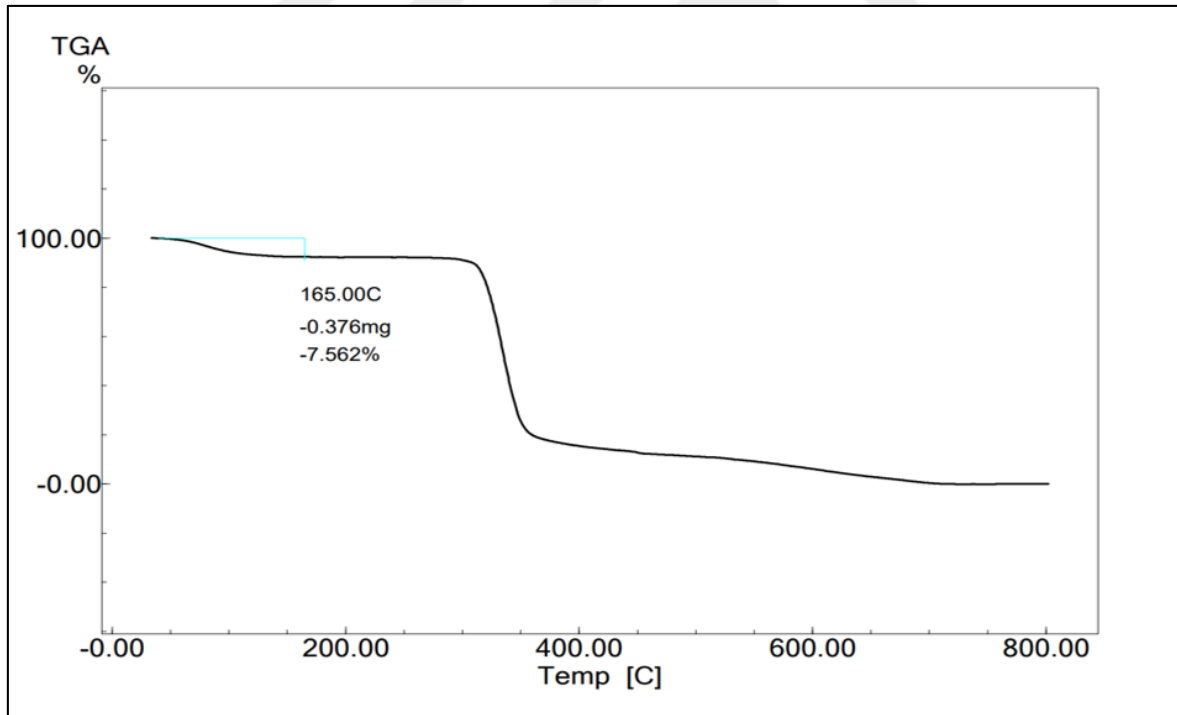
Şekil 4.24. Magnezyum stearata ait TGA termogramı



Şekil 4.25. Gelucire 48/16'ya ait TGA termogramı



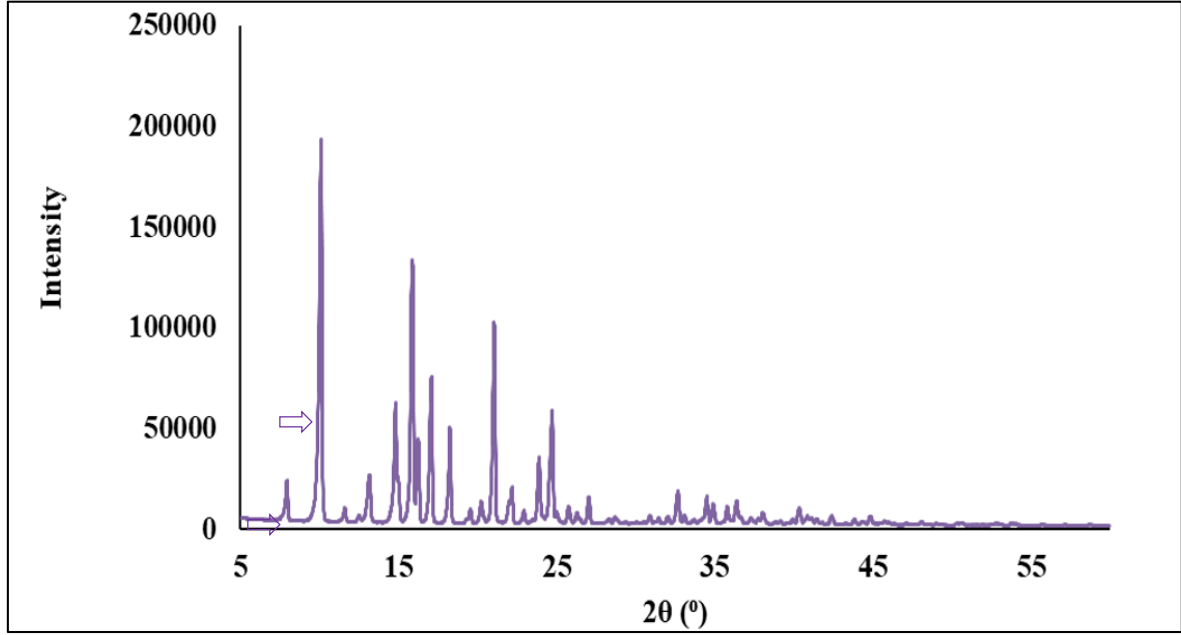
Şekil 4.26. Talka ait TGA termogramı



Şekil 4.27. Gammasiklodekstrine ait TGA termogramı

#### 4.2.5. XRD analizi

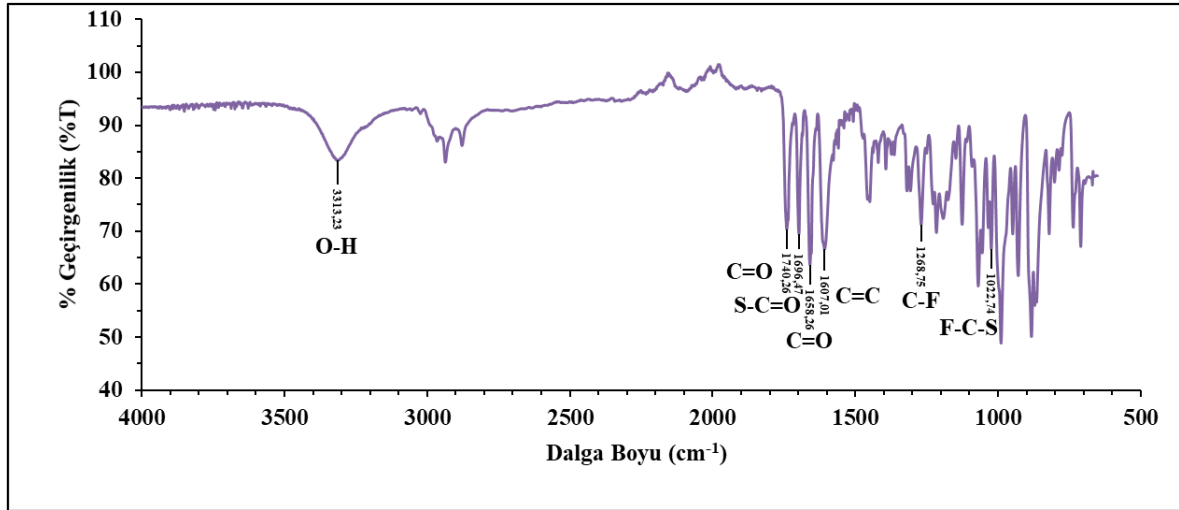
XRD analizi Bölüm 3.3.5'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Etkin maddeye ait XRD difraktogramı Şekil 4.28'de sunulmuştur. Buna göre  $2\theta$ 'da  $7,9^\circ$  ve  $10,0^\circ$ 'de gözlenen karakteristik pikler etkin maddenin stabil form I polimorfu olduğunu göstermektedir.



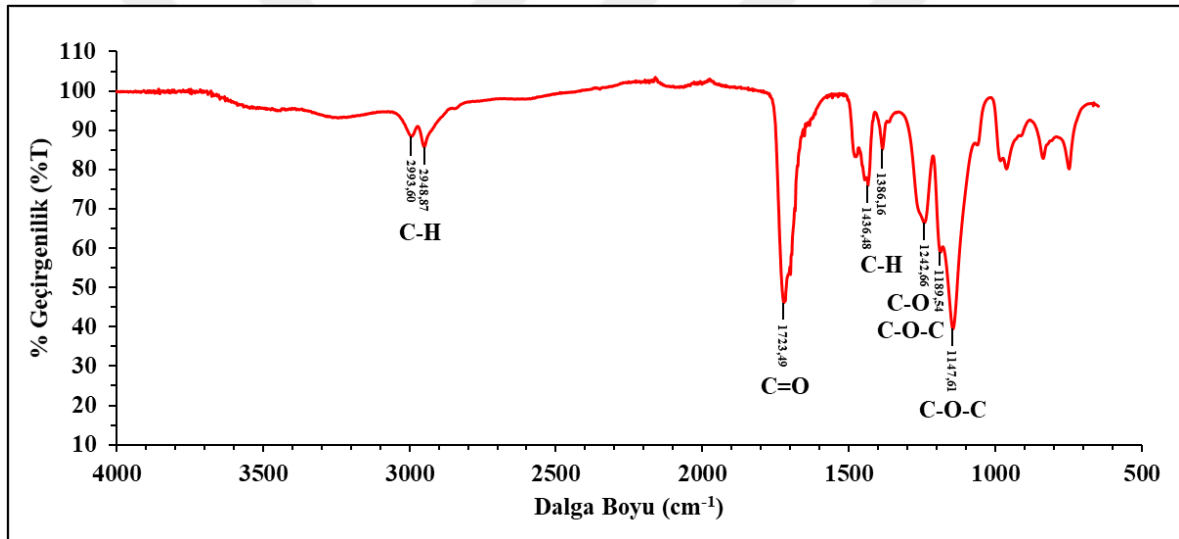
Şekil 4.28. Flutikazon propiyonata ait XRD difraktogramı

#### 4.2.6. FT-IR analizleri

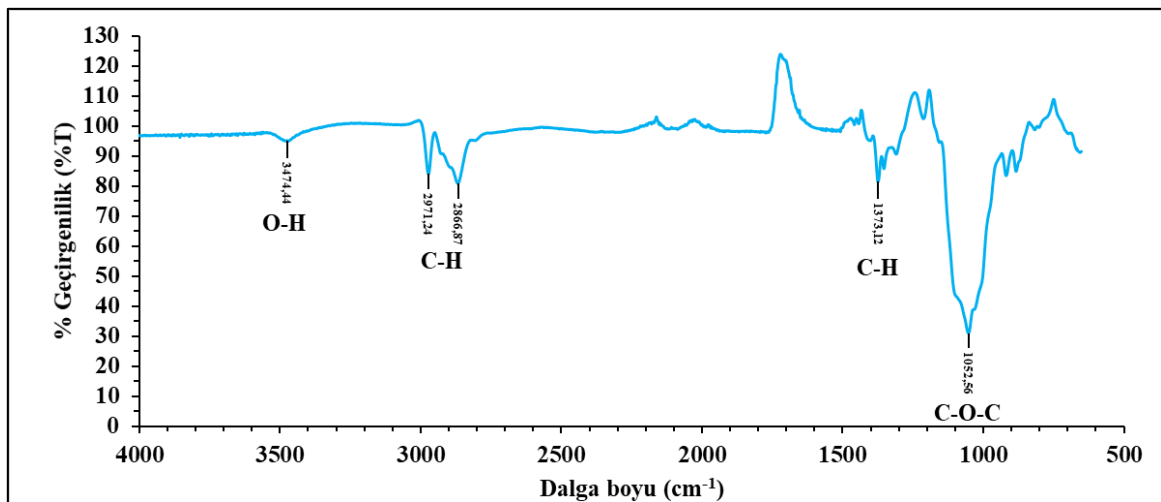
Etkin madde ve optimum formülasyonlardaki diğer bileşenlerin FT-IR analizleri Bölüm 3.3.6'da anlatıldığı şekilde yapılmış olup analizler sonucu elde edilen FT-IR spektrumları aşağıda verilmiştir (Şekil 4.29-4.36). Spektrumlarda maddenin spesifik absorpsiyon bantlarının görüldüğü dalga boyları ve bu bantların hangi fonksiyonel gruplara ait olabileceği belirtilmiştir.



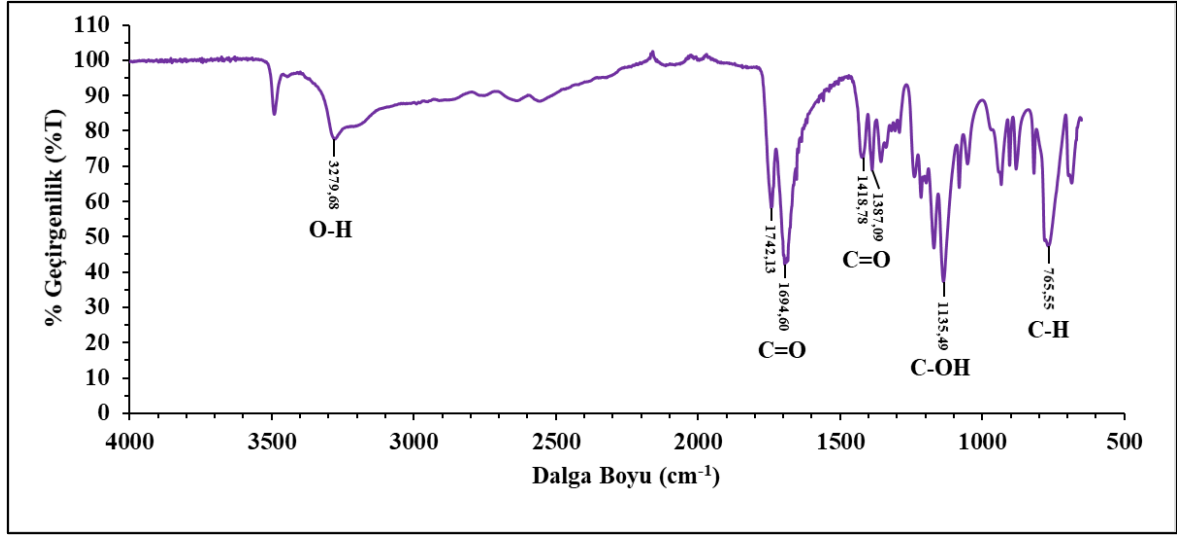
Şekil 4.29. Flutikazon propiyonata ait FT-IR spektrumu



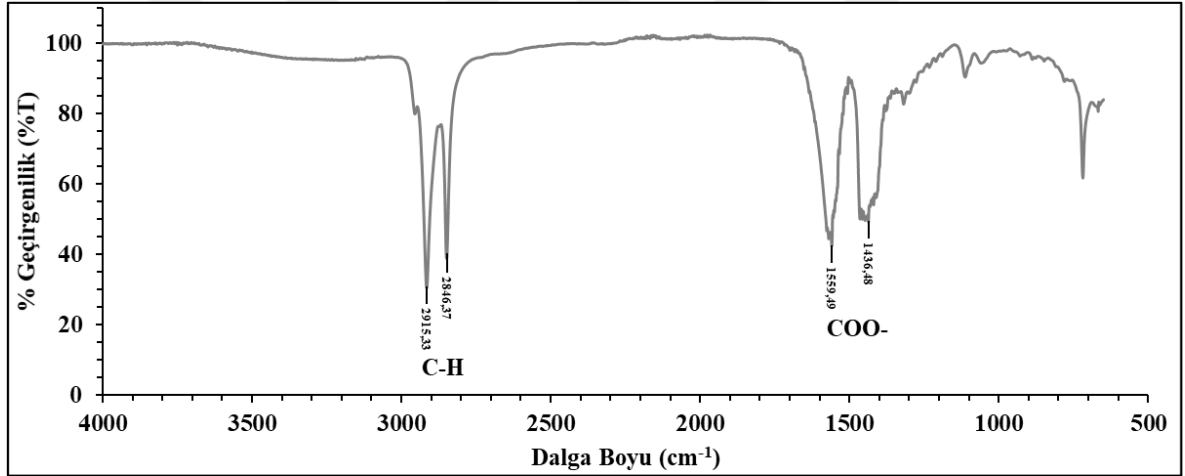
Şekil 4.30. Eudragit S100'e ait FT-IR spektrumu



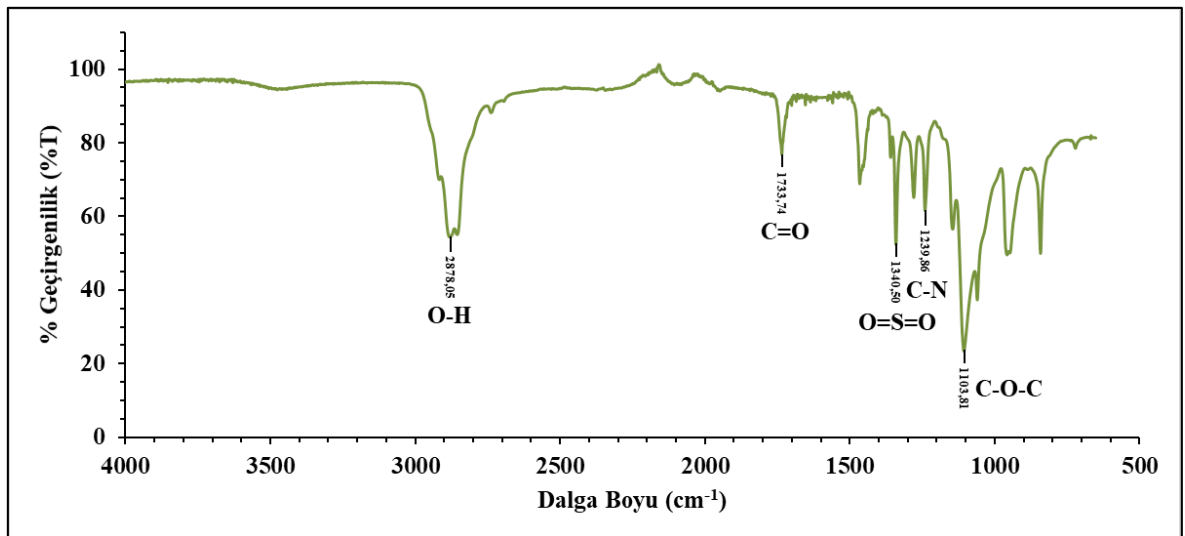
Şekil 4.31. Etil selüloza ait FT-IR spektrumu



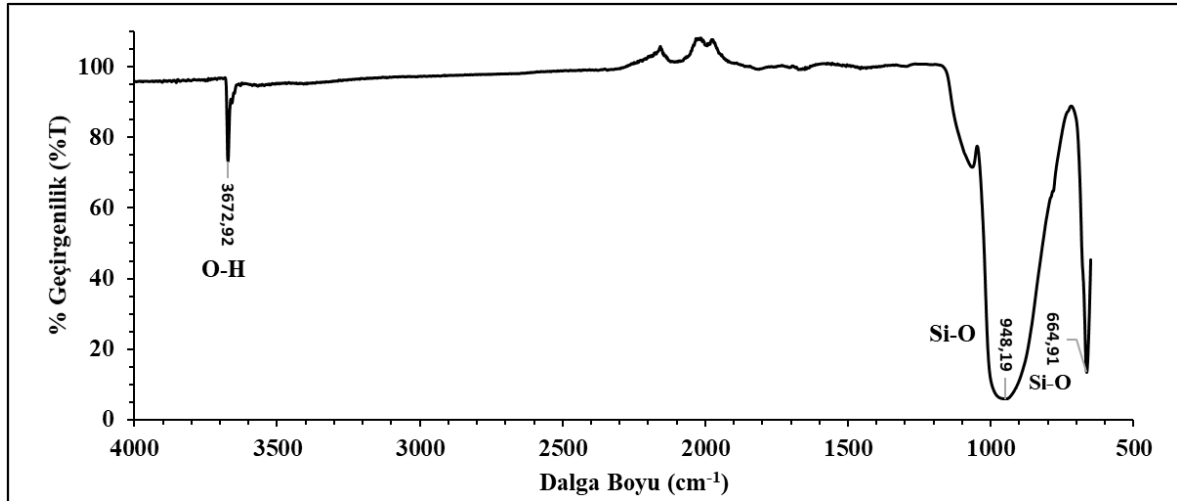
Şekil 4.32. Sitrik asit monohidrata ait FT-IR spektrumu



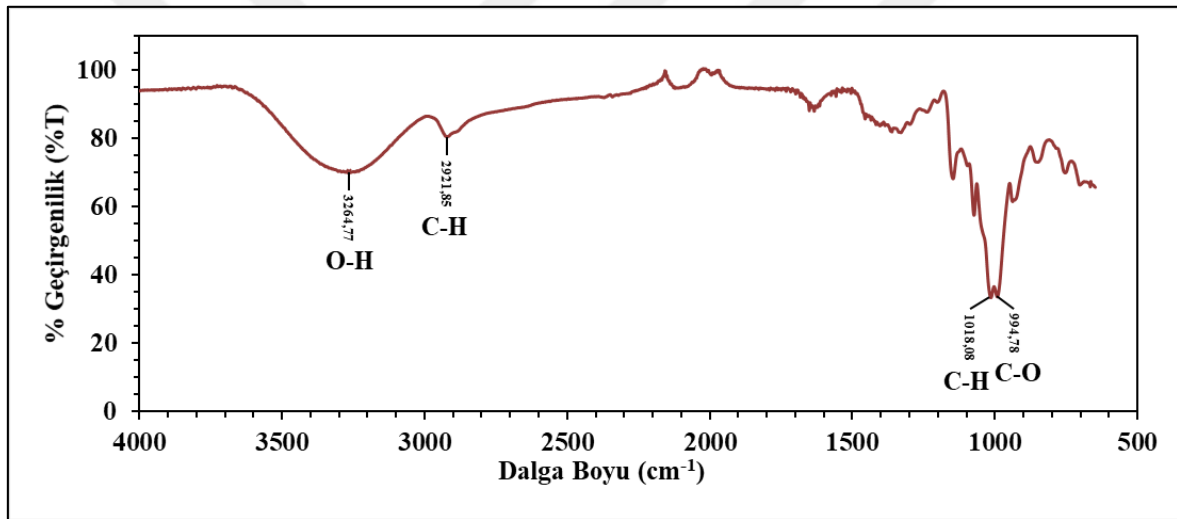
Şekil 4.33. Magnezyum stearata ait FT-IR spektrumu



Şekil 4.34. Gelucire 48/16'ya ait FT-IR spektrumu



Şekil 4.35. Talka ait FT-IR spektrumu



Şekil 4.36. Gammasiklodekstrine ait FT-IR spektrumu

### 4.3. Formülasyon Geliştirme Çalışmaları

#### 4.3.1. Filament formülasyonlarının geliştirilmesi

Eudragit S100, HPMCAS ve etil selülozun ana matriks polimeri olarak kullanıldığı formülasyonlar Bölüm 3.4.1’de anlatıldığı şekilde hazırlanıp ekstrüde edildi (Bkz. Çizelge 3.5-3.7). Eudragit S100 (P1-P23, F1-F2), HPMCAS (P24-P32) ve etil selüloz (P33-P36) formülasyonlarına ait ekstrüzyon bulguları sırasıyla Çizelge 4.11, Çizelge 4.12 ve Çizelge 4.13’te verilmiştir. Eudragit S100 bazlı P15-P23, HPMCAS bazlı P32 ve etil selüloz bazlı P36 formülasyonlarından başarılı bir şekilde basılabilir kalitede plasebo filamentler elde edilmiştir. Bu plasebo filamentlere ait görseller Resim 4.1’de verilmiştir. Eudragit S100

bazlı P22 ve P23 plasebo formülasyonları esas alınarak %5 oranında flutikazon propiyonatın dahil edildiği F1 ve F2 formülasyonlarından ilaç yüklü filamentler başarılı bir şekilde ekstrüde edilmiştir. Bu filamentlerin (F1 ve F2) karakterizasyonu ile ilgili bulgular bir sonraki bölümde verilmiştir.



Resim 4.1. Eudragit S100 (P15), HPMCAS (P32) ve etil selüloz (P36) bazlı plasebo filamentlere ait görseller

Çizelge 4.11. Eudragit S100 bazlı formülasyonlara ait ekstrüzyon bulguları

| FK  | Ekstrüzyon bulguları                                               |
|-----|--------------------------------------------------------------------|
| P1  | Düşük verimde kalın filamentler elde edildi.                       |
| P2  | Filament elde edilemedi.                                           |
| P3  | Filament elde edilemedi.                                           |
| P4  | Düşük verimde kalın ve kırılğan filamentler elde edildi            |
| P5  | Düşük verimde kalın filamentler elde edildi.                       |
| P6  | Düşük verimde kalın filamentler elde edildi.                       |
| P7  | Filament elde edilemedi.                                           |
| P8  | Düşük verimde kalın filamentler elde edildi.                       |
| P9  | Düşük verimde kalın filamentler elde edildi.                       |
| P10 | Düşük verimde kalın filamentler elde edildi.                       |
| P11 | Düşük verimde kalın filamentler elde edildi.                       |
| P12 | Kırılğan ve kalın filamentler elde edildi.                         |
| P13 | Kalın filamentler elde edildi.                                     |
| P14 | Nispeten daha yüksek verimde ve daha ince filamentler elde edildi. |
| P15 | Basılabilir kalitede filamentler elde edildi.                      |
| P16 | Basılabilir kalitede filamentler elde edildi.                      |
| P17 | Basılabilir kalitede filamentler elde edildi.                      |
| P18 | Basılabilir kalitede filamentler elde edildi.                      |
| P19 | Basılabilir kalitede filamentler elde edildi.                      |
| P20 | Basılabilir kalitede filamentler elde edildi.                      |
| P21 | Basılabilir kalitede filamentler elde edildi.                      |
| P22 | Basılabilir kalitede filamentler elde edildi.                      |
| P23 | Basılabilir kalitede filamentler elde edildi.                      |
| F1  | Yüksek verimde ilaç yüklü filamentler elde edildi                  |
| F2  | Yüksek verimde ilaç yüklü filamentler elde edildi.                 |

Çizelge 4.12. HPMCAS bazlı formülasyonlara ait ekstrüzyon bulguları

| FK  | Ekstrüzyon bulguları                                                                   |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------------|
| P24 | Aşırı yumuşak ve yüzeyi yapışkan filamentler elde edildi.                              |
| P25 | Aşırı yumuşak ve yüzeyi yapışkan filamentler elde edildi.                              |
| P26 | Yumuşak ve yüzeyi yapışkan filamentler elde edildi.                                    |
| P27 | Yumuşak ve yüzeyi yapışkan filamentler elde edildi.                                    |
| P28 | Yumuşak ve yüzeyi yapışkan filamentler elde edildi.                                    |
| P29 | Yumuşak ve yüzeyi yapışkan filamentler elde edildi.                                    |
| P30 | Yumuşak ve yüzeyi yapışkan filamentler elde edildi.                                    |
| P31 | Uygun yüzey özelliklerine sahip yumuşak filamentler elde edildi                        |
| P32 | Uygun yüzey özellikleri ve sertliğe sahip basılabilir kalitede filamentler elde edildi |

Çizelge 4.13. Etil selüloz bazlı formülasyonlara ait ekstrüzyon bulguları

| FK  | Ekstrüzyon bulguları                                              |
|-----|-------------------------------------------------------------------|
| P33 | Filament ekstrüde edilemedi.                                      |
| P34 | Aşırı yumuşak filamentler elde edildi.                            |
| P35 | Yumuşak filamentler elde edildi.                                  |
| P36 | Uygun sertliğe sahip basılabilir kalitede filamentler elde edildi |

#### 4.3.2. Etkin madde yüklü 3D tabletlerin hazırlanması

Bölüm 3.4.2’de anlatıldığı şekilde F1 filamenti kullanılarak basılan %50, %75 ve %100 dolgu yüzdesine sahip farklı boyutlardaki F1 tabletlerinin ve F2 filamenti kullanılarak basılan %50 dolgu yüzdesine sahip F2 tabletlerinin ölçülen ağırlık değerleri ve hesaplanan teorik hacimleri Çizelge 4.14’te verilmiştir. Tabletlerin ağırlıkları ve teorik hacimleri arasında lineer ilişki kurularak elde edilen doğru denklemleri Çizelge 4.15’te verilmiştir. Elde edilen denklemler yardımıyla 200 mg ağırlığında %50, %75 ve %100 dolgu yüzdesine sahip F1 tabletlerini ve 100 mg, 200 mg ve 400 mg ağırlığında %50 dolgu yüzdesine sahip F2 tabletlerini basmak için gerekli tablet boyutları hesaplanmıştır (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.14. Belirlenen boyutlardaki tabletlerin teorik hacimleri ve ağırlık değerleri

| Tablet boyutu | Tabletlerin teorik hacmi-V (mm <sup>3</sup> ) | Ağırlık-M (mg)      |                     |                      |                     |
|---------------|-----------------------------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
|               |                                               | F1 tablet %50 Dolgu | F1 tablet %75 Dolgu | F1 tablet %100 dolgu | F2 tablet %50 dolgu |
| B1            | 33,65                                         | 81                  | 85,15               | 82,71                | 67,37               |
| B2            | 625,94                                        | 144,52              | 149,49              | 156,77               | 126,71              |
| B3            | 922,25                                        | 199,25              | 215,11              | 227,89               | 175,76              |
| B4            | 1213,16                                       | 259,78              | 270,12              | 298,77               | 222,79              |
| B5            | 1510,78                                       | 319,40              | 316,48              | 363,21               | 290,92              |
| B6            | 2101,48                                       | 417,10              | 432,48              | 480,78               | 405,62              |

Çizelge 4.15. Tabletlerin teorik hacimleri ile ağırlıkları arasında lineer ilişki kurularak elde edilen doğru denklemleri

| Tablet-dolgu yüzdesi | Lineer doğru denklemi        |
|----------------------|------------------------------|
| <b>F1-%50</b>        | $M=0,19V+23,38$ $R^2=0,9976$ |
| <b>F1-%75</b>        | $M=0,19V+27,94$ $R^2=0,9974$ |
| <b>F1-%100</b>       | $M=0,23V+15,94$ $R^2=0,9971$ |
| <b>F2-%50</b>        | $M=0,19V+2,48$ $R^2=0,9979$  |

Çizelge 4.16. Hedef tablet ağırlıkları için tasarlanan tablet boyutları

| Tablet-dolgu yüzdesi | Hedef tablet ağırlığı (mg) | Tablet boyutları (mm;mm)<br>(X=Y=r ; Z=h) |
|----------------------|----------------------------|-------------------------------------------|
| <b>F1-%50</b>        | 200                        | 9,03; 3,61                                |
| <b>F1-%75</b>        | 200                        | 8,90; 3,56                                |
| <b>F1-%100</b>       | 200                        | 8,66; 3,46                                |
| <b>F2-%50</b>        | 100                        | 7,42; 2,97                                |
|                      | 200                        | 9,39; 3,76                                |
|                      | 400                        | 11,85; 4,74                               |

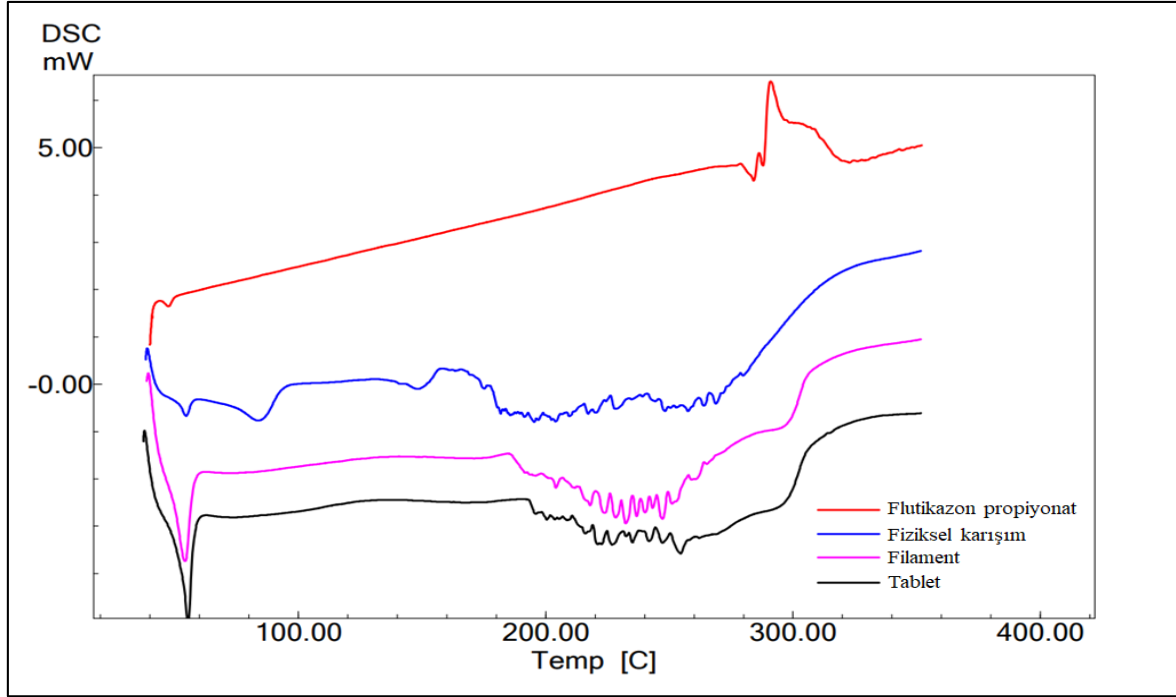
Yazıcıya ait yazılımda Çizelge 4.16’da verilen boyut ve dolgu yüzdeslerine sahip F1 ve F2 tabletler tasarlandı. F1 filamentini kullanılarak üç farklı dolgu yüzdesinde (%50, %75 ve %100) 200 mg hedef ağırlığa sahip F1 tabletler ve F2 filamentini kullanılarak %50 dolgu yüzdesinde üç farklı hedef ağırlığa (100 mg, 200 mg, 400 mg) sahip F2 tabletler başarılı bir şekilde basıldı. %50 dolgusuna sahip 200 mg ağırlığındaki F1 ve F2 tabletlerinin karakterizasyon çalışmalarına ait bulgular sonraki bölümde ayrıntılı olarak verilmiştir.

#### 4.4. Karakterizasyon Çalışmaları

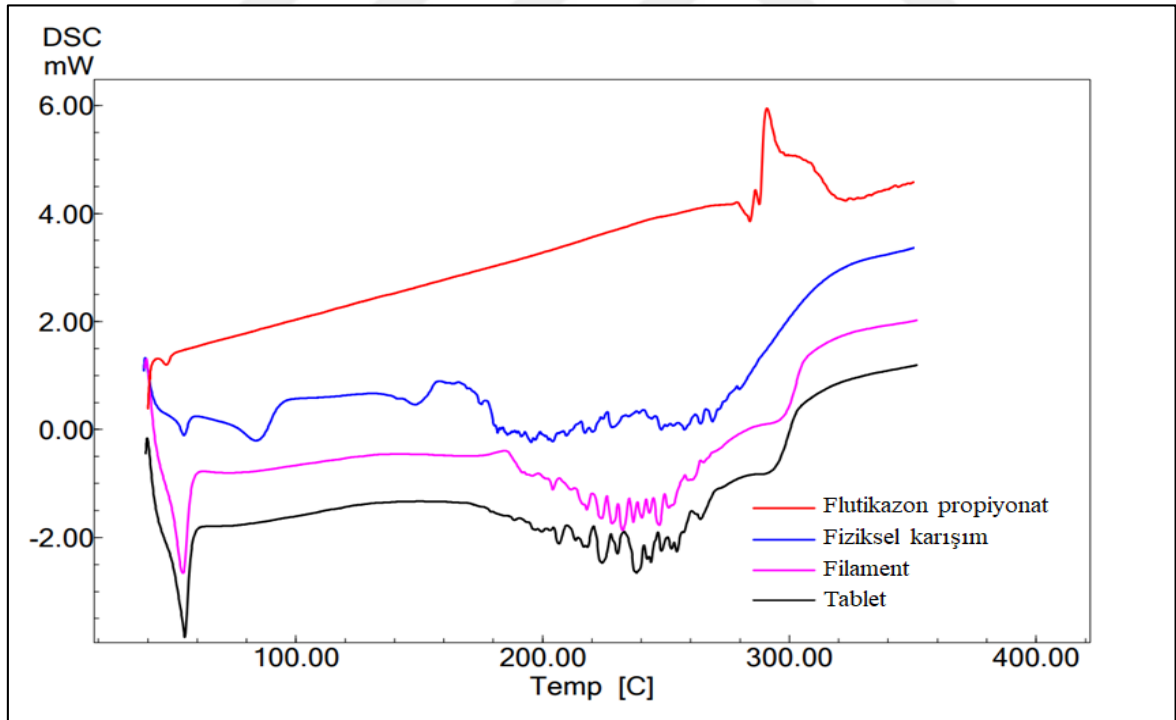
##### 4.4.1. Geçimlilik testleri

##### Fiziksel karışım, filament ve tabletlerde DSC analizleri

F1 ve F2 formülasyonlarının tablet, filament ve fiziksel karışımlarına ait DSC analizleri Bölüm 3.5.1’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. F1 ve F2 formülasyonlarına ait DSC analiz bulguları sırasıyla Şekil 4.37 ve 4.38’de sunulmuştur. Elde edilen bulgular incelendiğinde DSC termogramlarında etkin maddeye ait erime piki gözlenmemiştir.



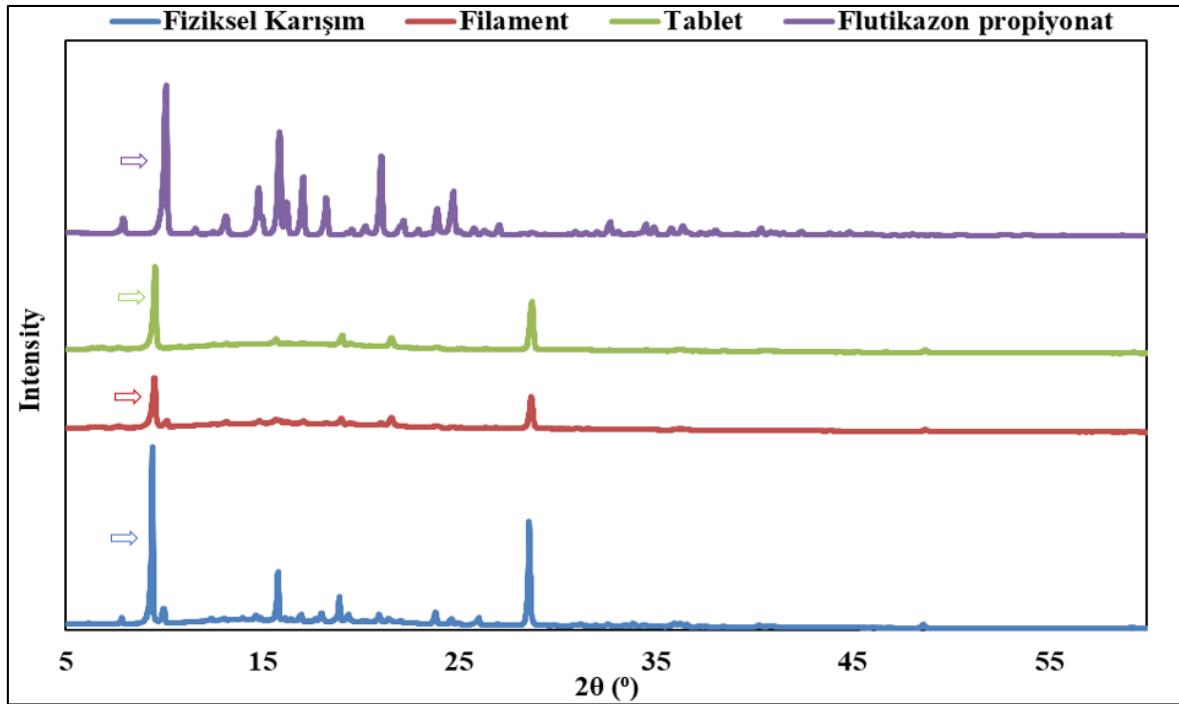
Şekil 4.37. F1 fiziksel karışım, filament ve tabletlerin etkin maddeyle karşılaştırmalı DSC termogramları



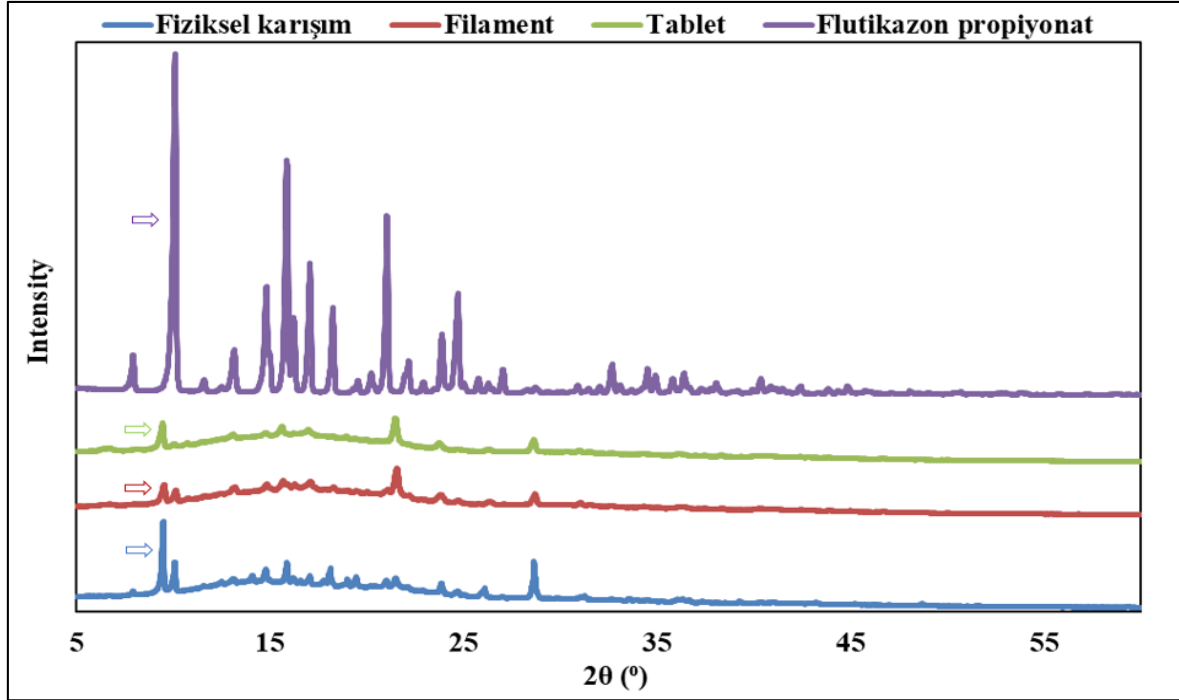
Şekil 4.38. F2 fiziksel karışım, filament ve tabletlerin etkin maddeyle karşılaştırmalı DSC termogramları

### Fiziksel karışım, filament ve tabletlerde XRD analizleri

F1 ve F2 formülasyonlarının tablet, filament ve fiziksel karışımlarına ait XRD analizleri Bölüm 3.5.1’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. F1 ve F2 formülasyonlarına ait XRD difraktogramları flutikazon propiyanatın difraktogramı ile karşılaştırmalı olarak sırasıyla Şekil 4.39 ve 4.40’ta sunulmuştur. F1 ve F2 formülasyonlarının tablet, filament ve fiziksel karışımlarına ait XRD difraktogramları incelendiğinde  $2\theta$ ’da  $10,0^\circ$ ’de etkin maddeye ait pik gözlenmiştir.



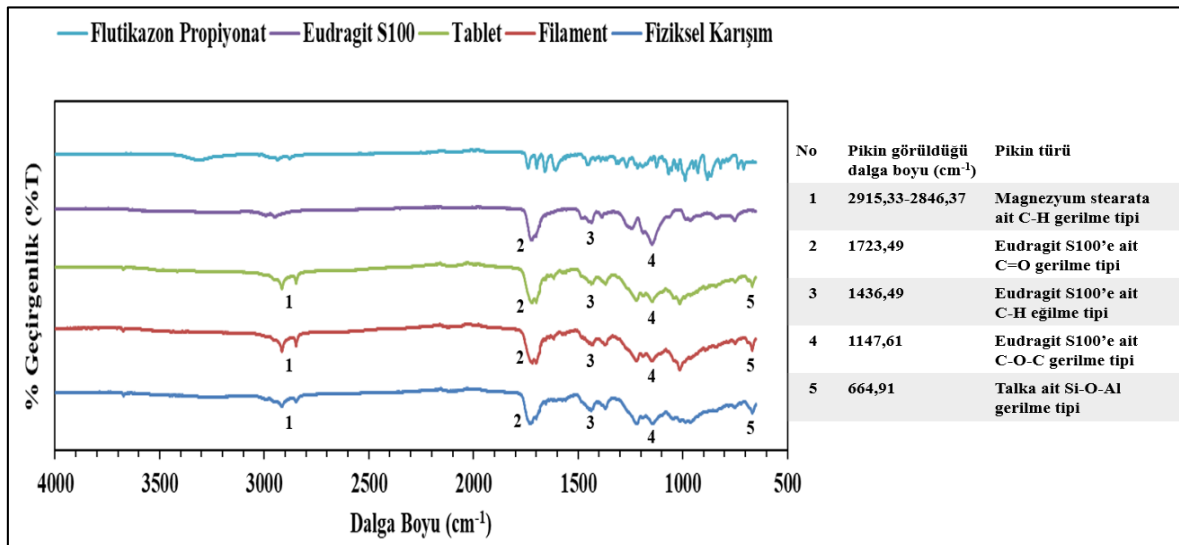
Şekil 4.39. F1 fiziksel karışım, filament ve tabletlerin etkin maddeyle karşılaştırmalı XRD difraktogramları



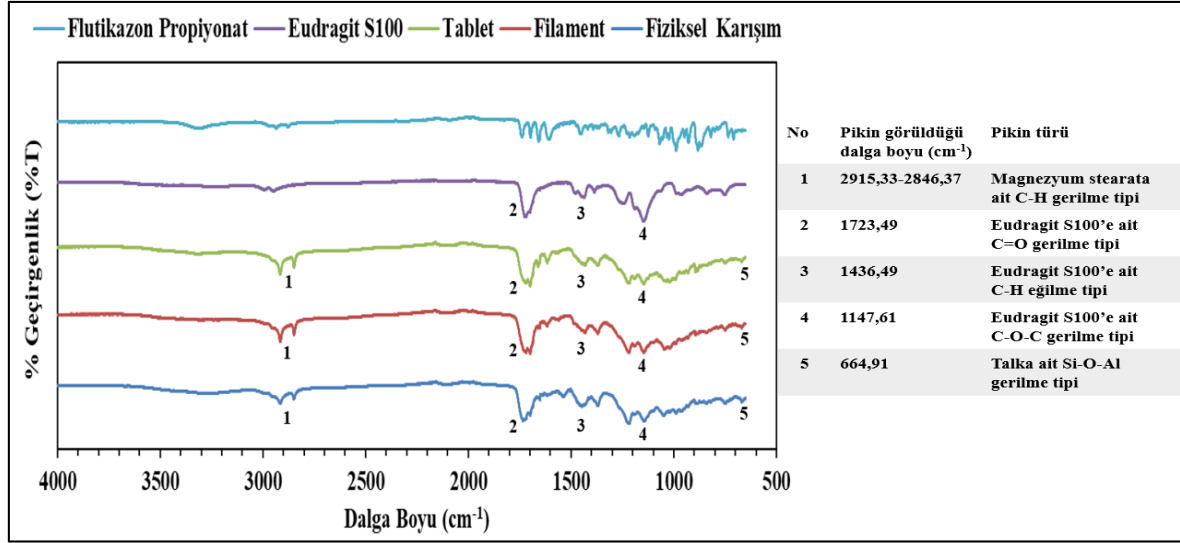
Şekil 4.40. F2 fiziksel karışım, filament ve tabletlerin etkin maddeyle karşılaştırmalı XRD difraktogramları

#### Fiziksel karışım, filament ve tabletlerde FT-IR analizleri

F1 ve F2 formülasyonlarının fiziksel karışım, filament ve tabletlerine ait FT-IR analizleri Bölüm 3.5.1’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. F1 ve F2 formülasyonlarına ait FT-IR analiz bulguları sırasıyla Şekil 4.41 ve 4.42’de sunulmuştur. Her iki formülasyona ait fiziksel karışım, filament ve tablet formülasyonlarında etkin maddeye ait pik gözlenmemiştir.



Şekil 4.41. F1 fiziksel karışım, filament ve tabletlerin etkin maddeyle karşılaştırmalı FT-IR spektrumları

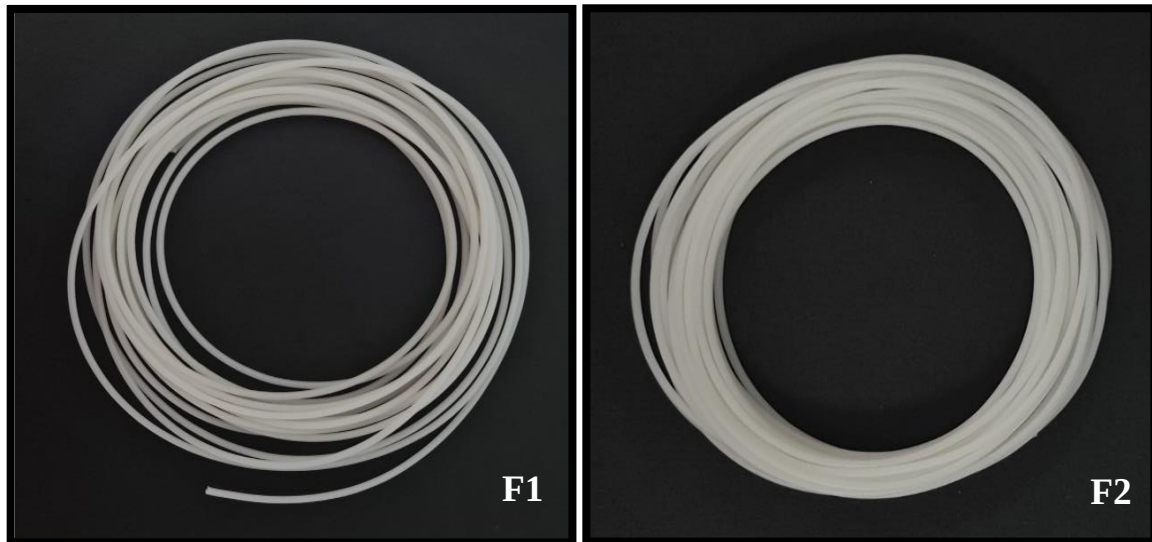


Şekil 4.42. F2 fiziksel karışım, filament ve tabletlerin etkin maddeyle karşılaştırmalı FT-IR spektrumları

#### 4.4.2. Etkin madde yüklü filamentlerde karakterizasyon çalışmaları

##### Görünüş

Dış görünümleri ve yüzey özellikleri bakımından benzer olan F1 ve F2 filamentlerine ait görseller Resim 4.2’de sunulmuştur. İlaç yüklü F1 ve F2 filamentleri opak görünümlü, beyaz renkte ve pürüzsüz bir yüzeye sahiptir.



Resim 4.2. F1 ve F2 filamentlerine ait görseller

### Filamentlerin çapı

Elde edilen filamentlerin çapları Bölüm 3.5.2’de anlatıldığı şekilde ölçülmüştür. F1 ve F2 filamentlerinin çap ölçümlerine ait bulgular Çizelge 4.17’de verilmiştir.

Çizelge 4.17. F1 ve F2 filamentlerinin çaplarına ait bulgular

| No            | Filamentlerin çapı (mm) |             |
|---------------|-------------------------|-------------|
|               | F1                      | F2          |
| 1             | 1,73                    | 1,71        |
| 2             | 1,70                    | 1,70        |
| 3             | 1,71                    | 1,72        |
| 4             | 1,72                    | 1,73        |
| 5             | 1,75                    | 1,71        |
| 6             | 1,74                    | 1,74        |
| <b>Ort±SS</b> | 1,72 ± 0,02             | 1,72 ± 0,02 |
| <b>% VK</b>   | 1,08                    | 0,86        |

### Filamentlere etkin madde yükleme etkinliğinin tayini

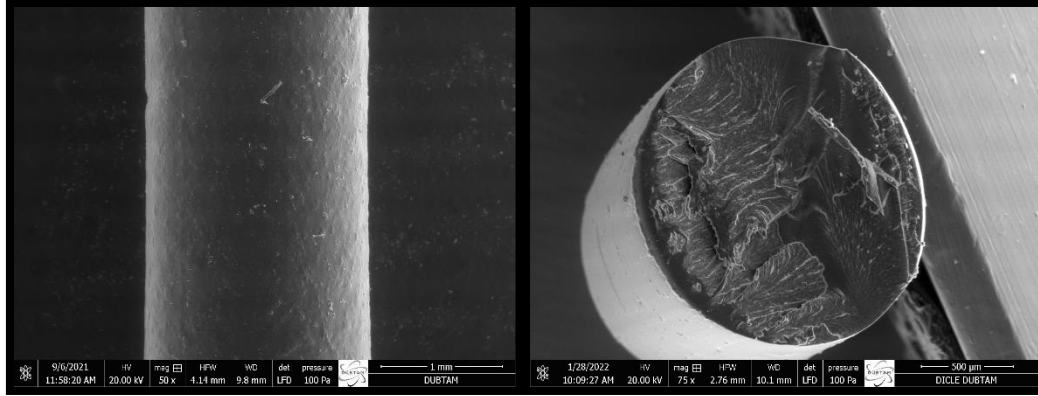
F1 ve F2 filament örneklerinin etkin madde miktarı Bölüm 3.5.2’de anlatıldığı şekilde tayin edildi. F1 ve F2 filamentleri için Eş. 3.4 kullanılarak hesaplanan etkin madde yükleme etkinliği Çizelge 4.18’de verilmiştir.

Çizelge 4.18. F1 ve F2 filamentlerinin etkin madde yükleme etkinliği

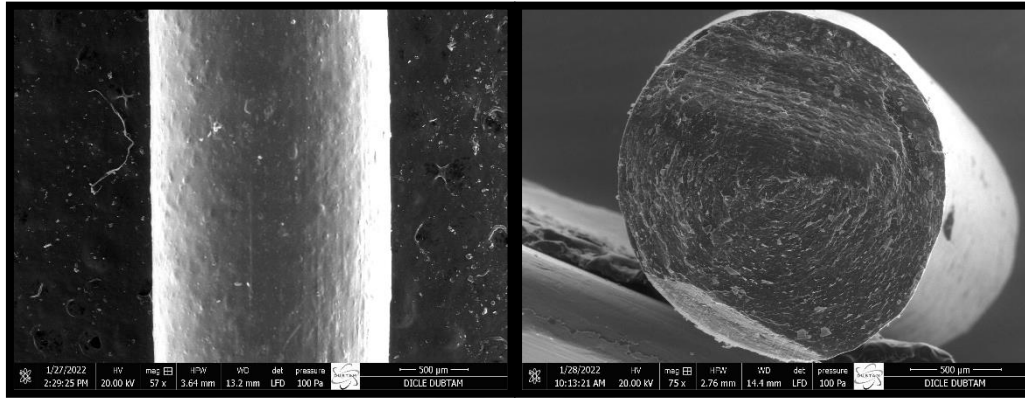
| No            | Filamentlere etkin madde yükleme etkinliği (%) |             |
|---------------|------------------------------------------------|-------------|
|               | F1                                             | F2          |
| 1             | 101,9                                          | 100,1       |
| 2             | 103,5                                          | 100,2       |
| 3             | 102,9                                          | 100,1       |
| <b>Ort±SS</b> | 102,77± 0,81                                   | 100,13±0,08 |
| <b>%VK</b>    | 0,790                                          | 0,078       |

### Filamentlerin morfolojik özelliklerinin incelenmesi

Filamentlerin morfolojik özellikleri Bölüm 3.5.2’de anlatıldığı şekilde SEM yardımıyla incelendi. F1 ve F2 filamentlerinin dış yüzey ve enine kesitlerine ait SEM görüntüleri Resim 4.3 ve 4.4’te gösterilmiştir.



Resim 4.3. F1 filamentinin sırasıyla dış yüzey (57x) ve enine kesitine (75x) ait SEM görüntüleri



Resim 4.4. F2 filamentinin sırasıyla dış yüzey (57x) ve enine kesitine (75x) ait SEM görüntüleri

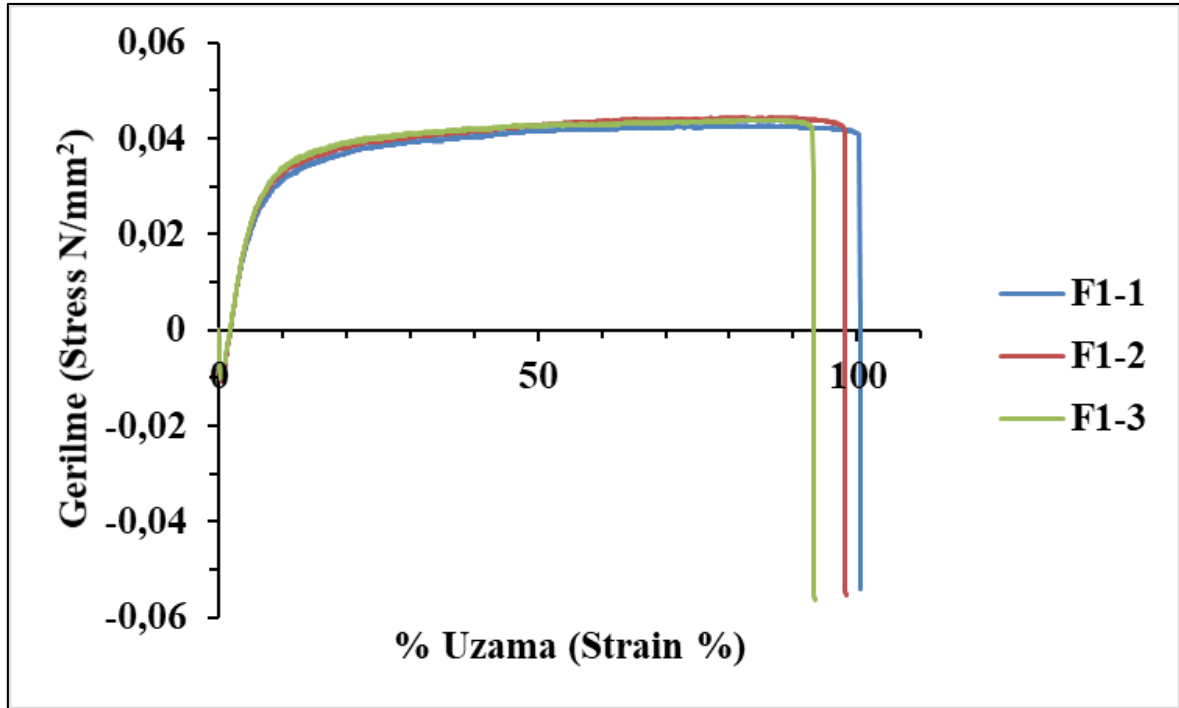
#### Filamentin mekanik özelliklerinin tayini

F1 ve F2 filamentlerin mekanik özellikleriyle ilgili bulgular Çizelge 4.19’da verilmiştir.

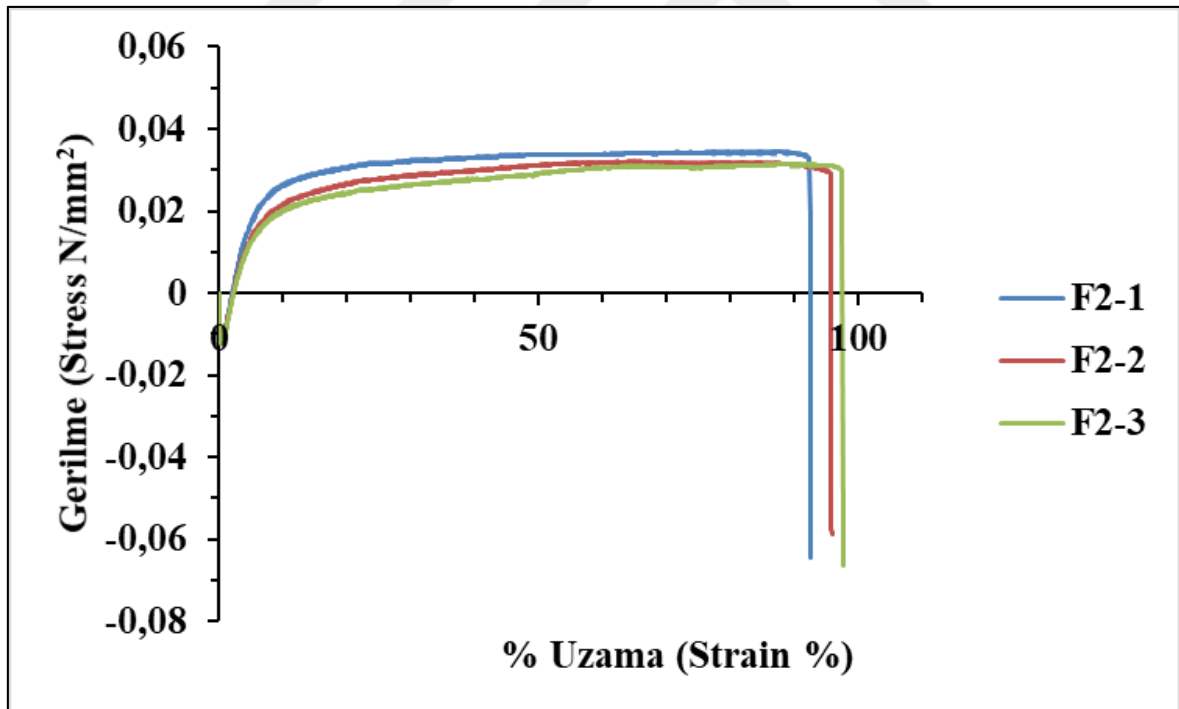
Çizelge 4.19. F1 ve F2 filamentlerinin mekanik karakterizasyon bulguları

| Mekanik Özellikler                   | F1 Filamenti (n=3) |            | F2 Filamenti (n=3) |            |
|--------------------------------------|--------------------|------------|--------------------|------------|
|                                      | <i>Ort±SS</i>      | <i>%VK</i> | <i>Ort±SS</i>      | <i>%VK</i> |
| Gerilme kuvveti (g/mm <sup>2</sup> ) | 43,69±0,89         | 2,03       | 32,68±1,58         | 4,85       |
| Elastik modül (g/mm <sup>2</sup> )   | 7,89±0,21          | 2,71       | 6,54±1,11          | 17,03      |
| % Uzama                              | 97,16±3,70         | 3,81       | 95,25±2,58         | 2,70       |

F1 ve F2 filamentlerinin rastgele 3 farklı bölgesinden alınan filament örneklerine ait gerilme-uzama (%) eğrileri sırasıyla Şekil 4.43 ve 4.44’de verilmiştir.



Şekil 4.43. F1 filamentine ait 3 farklı örneğin gerilme- uzama (%) eğrileri



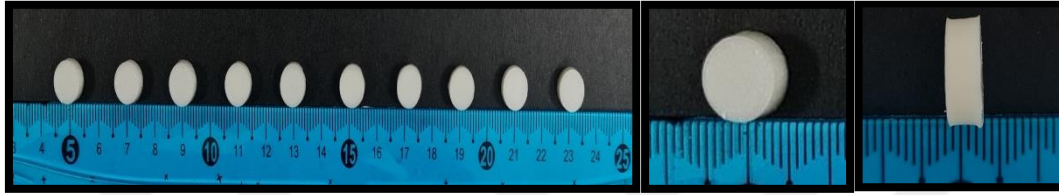
Şekil 4.44. F2 filamentine ait 3 farklı örneğin gerilme-uzama (%) eğrileri

#### 4.4.3. Etkin madde yüklü 3D tabletlerde karakterizasyon çalışmaları

##### Tabletlerin fiziko-farmasötik özelliklerinin karakterizasyonu

##### *Görünüş*

F1 ve F2 tabletlerine ait görseller sırasıyla Resim 4.5 ve 4.6’da verilmiştir.



Resim 4.5. F1 tabletlerinin üstten ve yandan görünümüne ait görseller



Resim 4.6. F2 tabletlerinin üstten ve yandan görünümüne ait görseller

##### *Çap ve kalınlık*

F1 ve F2 tabletlerinin ölçülen çap ve kalınlık değerleri Çizelge 4.20’de verilmiştir.

Çizelge 4.20. F1 ve F2 tabletlerinin çap ve kalınlık ölçümlerine ait bulgular

| Tablet No | F1       |               | F2       |               |
|-----------|----------|---------------|----------|---------------|
|           | Çap (mm) | Kalınlık (mm) | Çap (mm) | Kalınlık (mm) |
| 1         | 9,06     | 3,61          | 9,44     | 3,81          |
| 2         | 8,97     | 3,67          | 9,45     | 3,82          |
| 3         | 8,99     | 3,64          | 9,34     | 3,81          |
| 4         | 9,07     | 3,52          | 9,47     | 3,81          |
| 5         | 9,17     | 3,5           | 9,42     | 3,82          |
| 6         | 9,07     | 3,62          | 9,32     | 3,77          |
| 7         | 9,02     | 3,6           | 9,39     | 3,77          |
| 8         | 9,14     | 3,52          | 9,51     | 3,75          |
| 9         | 8,95     | 3,59          | 9,34     | 3,65          |
| 10        | 8,93     | 3,51          | 9,38     | 3,76          |
| Ort       | 9,04     | 3,58          | 9,41     | 3,78          |
| SS        | 0,08     | 0,06          | 0,06     | 0,05          |
| VK        | 0,881    | 1,697         | 0,665    | 1,373         |

### Ağırlık tekdüzeliği

F1 ve F2 tabletlerinin ölçülen ağırlık değerleri Çizelge 4.21’de verilmiştir.

Çizelge 4.21. F1 ve F2 tabletlerinin ağırlık tekdüzeliğine ait bulgular

| Tablet No               | Ağırlık (mg)   |                |
|-------------------------|----------------|----------------|
|                         | F1             | F2             |
| 1                       | 208,65         | 200,03         |
| 2                       | 204,96         | 200,01         |
| 3                       | 200,88         | 200,58         |
| 4                       | 193,81         | 209,17         |
| 5                       | 199,02         | 197,9          |
| 6                       | 209,48         | 197,99         |
| 7                       | 200,17         | 194,38         |
| 8                       | 197,43         | 193,54         |
| 9                       | 195,04         | 192,39         |
| 10                      | 207,06         | 193,68         |
| <b>ORT±SS</b>           | 201,65±5,61    | 197,96±4,97    |
| <b>%VK</b>              | 2,78           | 2,51           |
| <b>*Kabul sınırları</b> | 186,53 -216,77 | 183,12 -212,82 |

\*Kabul sınırları konvansiyonel tabletlerin ağırlık sapması testi için Avrupa Farmakopesi(Ph. Eur. 10.0)’nde belirtilen kriterler (2.9.5) baz alınarak belirlenmiştir.

### Sertlik tayini

Tabletlerin sertlik değerleri ölçülememiştir.

### Friyabilite testi

Bölüm 3.5.3’te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen friyabilite testinde tabletlerin % ağırlık kaybı sıfır olarak hesaplanmıştır.

### Tabletlerde etkin madde miktar tayini

F1 ve F2 tabletlerindeki etkin madde miktarı Bölüm 3.5.3’te anlatıldığı şekilde tayin edildi. Elde edilen bulgular Çizelge 4.22’de sunulmuştur.

Çizelge 4.22. F1 ve F2 tabletlerinde etkin madde miktar tayinine ait bulgular

| Tablet No               | Etkin madde miktarı (mg) |           |
|-------------------------|--------------------------|-----------|
|                         | F1 tablet                | F2 tablet |
| 1                       | 10,21                    | 9,87      |
| 2                       | 9,99                     | 9,99      |
| 3                       | 9,78                     | 9,71      |
| <b>ORT±SS</b>           | 9,99±0,21                | 9,86±0,15 |
| <b>%VK</b>              | 2,10                     | 1,52      |
| <b>*Kabul Sınırları</b> | 9-11                     | 9-11      |

\*Kabul sınırları konvansiyonel tabletlerin miktar tayini için Amerikan Farmakopesi (USP 44-NF 39)’nde belirtilen kriterler baz alınarak belirlenmiştir.

### Tabletlerde içerik tekdüzeliği

F1 ve F2 tabletlerindeki % etkin madde miktarı Bölüm 3.5.3'te anlatıldığı şekilde tayin edildi. Elde edilen bulgular Çizelge 4.23'te sunulmuştur.

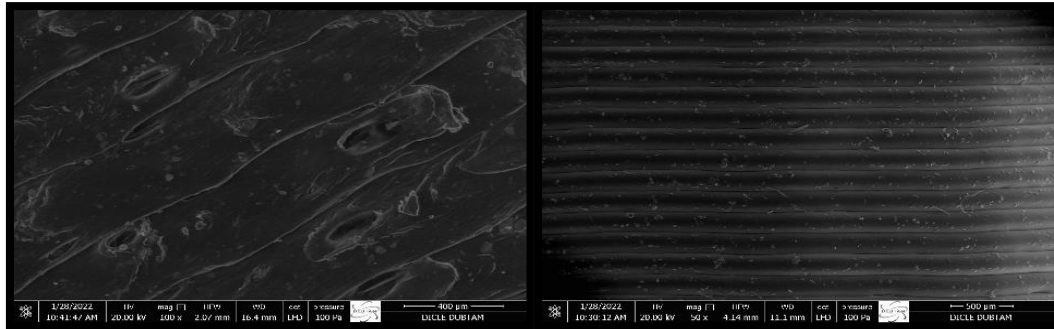
Çizelge 4.23. F1 ve F2 tabletlerinde içerik tekdüzeliğine ait bulgular

| Tablet No               | Etkin madde miktarı (%) |              |
|-------------------------|-------------------------|--------------|
|                         | F1 tablet               | F2 tablet    |
| 1                       | 97,1                    | 98,0         |
| 2                       | 99,9                    | 100,5        |
| 3                       | 101,3                   | 100,7        |
| <b>ORT±SS</b>           | 99, 4±2,2               | 99,8±1,5     |
| <b>%VK</b>              | 2,21                    | 1,50         |
| <b>*Kabul Sınırları</b> | 84,49-114,31            | 84,83-114,77 |

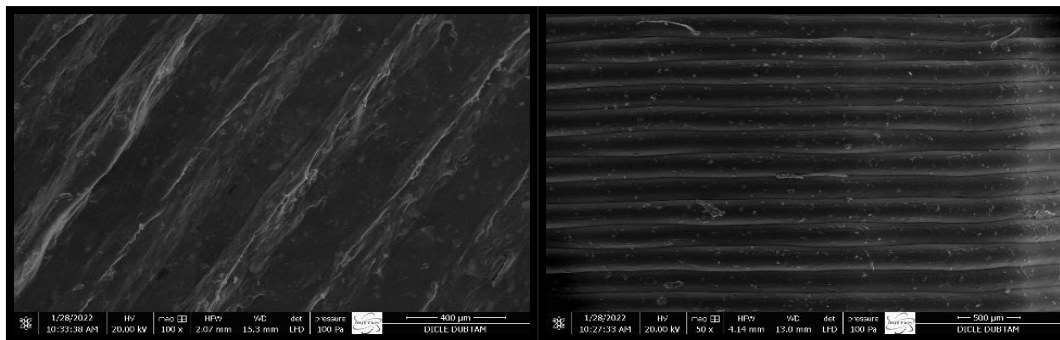
\*Kabul sınırları konvansiyonel tabletlerin içerik tekdüzeliği testi için Avrupa Farmakopesi'nde (Ph. Eur. 10.0) belirtilen kriterler (2.9.5) baz alınarak belirlenmiştir.

### Tabletlerin morfolojik özelliklerinin tayini

F1 ve F2 tabletlerinin morfolojik özellikleri Bölüm 3.5.3'te anlatıldığı gibi SEM kullanılarak incelendi. F1 ve F2 tabletlerinin üst ve yan yüzey SEM görüntüleri Resim 4.7 ve 4.8'de verilmiştir.



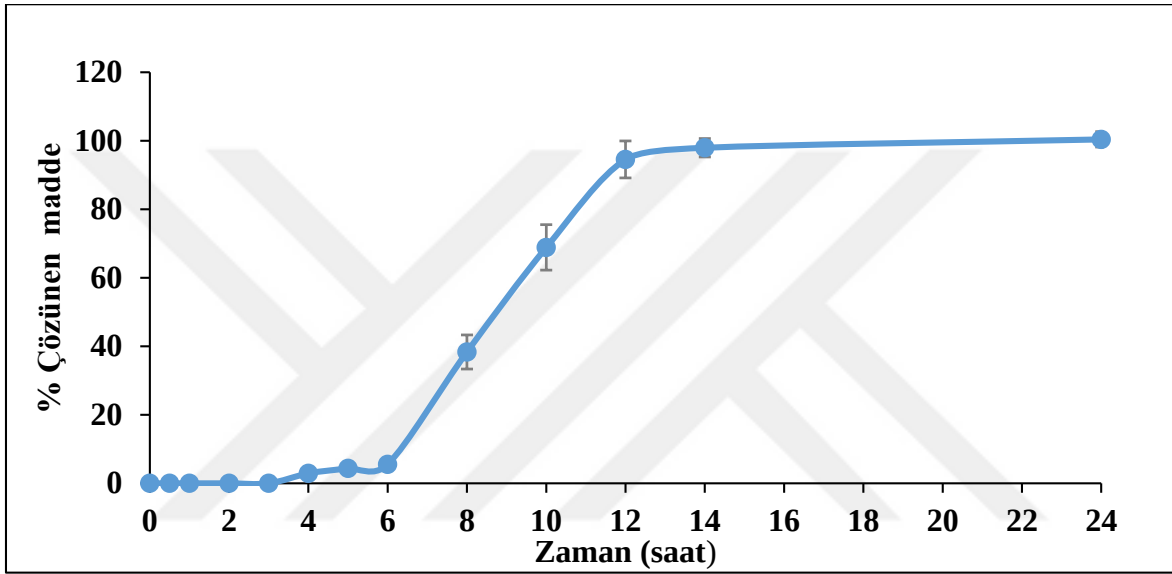
Resim 4.7. F1 Tabletlerinin sırasıyla üst (x100) ve yan yüzey (x50) SEM görüntüleri



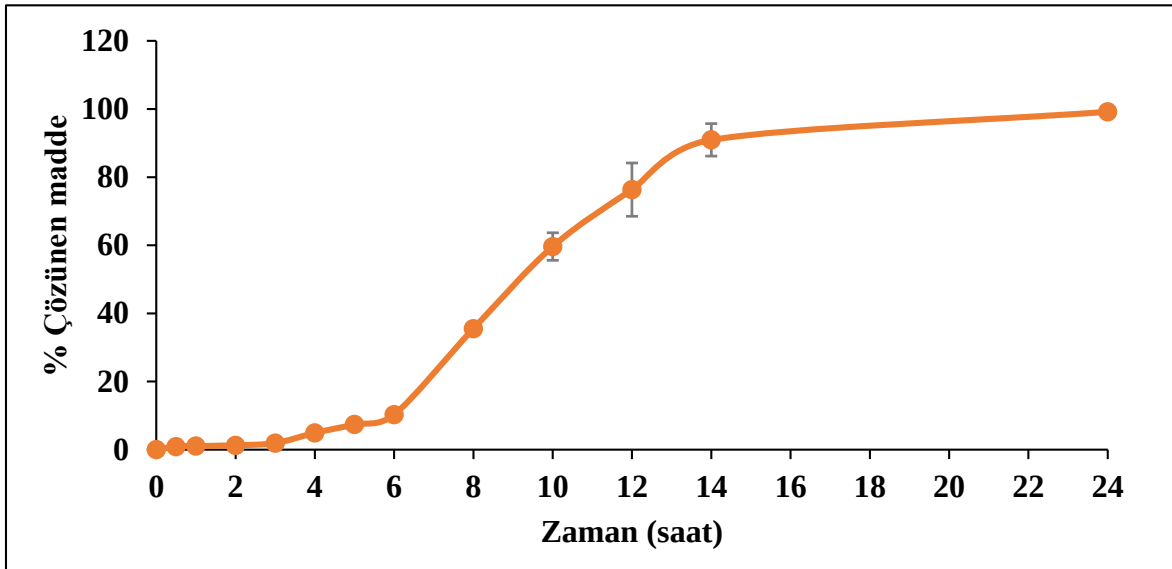
Resim 4.8. F2 Tabletlerinin sırasıyla üst (x100) ve yan yüzey (x50) SEM görüntüleri

### Tabletlerin in vitro çözünme hızı çalışmaları

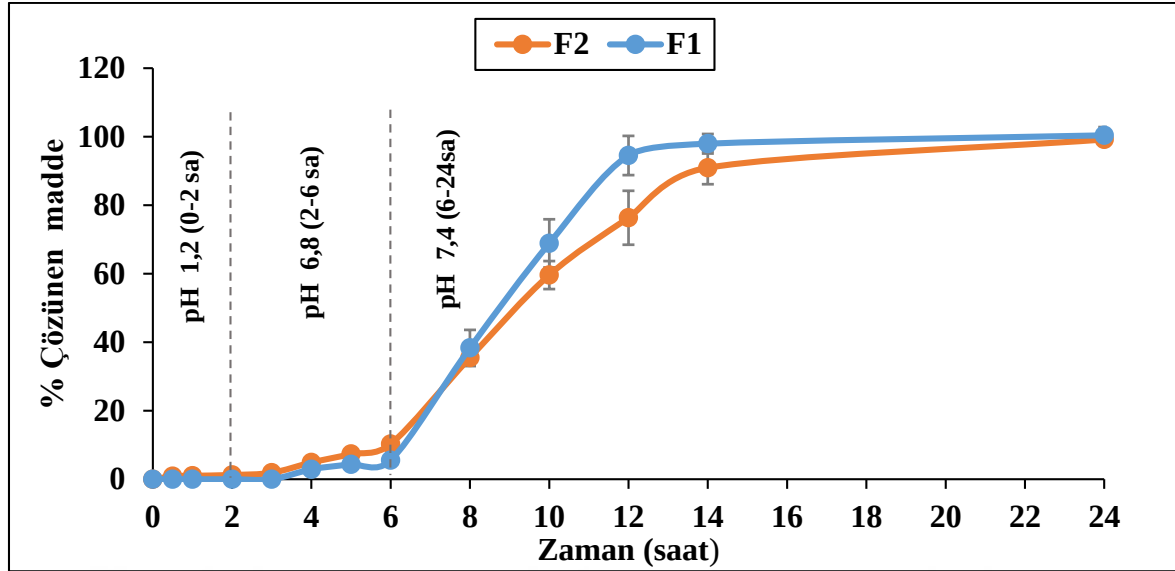
F1 ve F2 tabletlerinin in vitro çözünme hızı çalışmaları Bölüm 3.5.3'te anlatıldığı şekilde yapıldı. F1 ve F2 tabletlerinin çözünme hızı profilleri sırasıyla Şekil 4.45 ve 4.46'da verilmiştir. Ayrıca F1 ve F2 tabletlerinin karşılaştırmalı çözünme hızı profilleri Şekil 4.47'de gösterilmiştir. İki profilin benzerliğini değerlendirmek için kullanılan  $f_2$  değeri 59 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.45. F1 tabletlerinin in vitro çözünme hızı profili (n=3)



Şekil 4.46. F2 tabletlerinin in vitro çözünme hızı profili (n=3)



Şekil 4.47. F1 ve F2 tabletlerinin karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri (n=3)

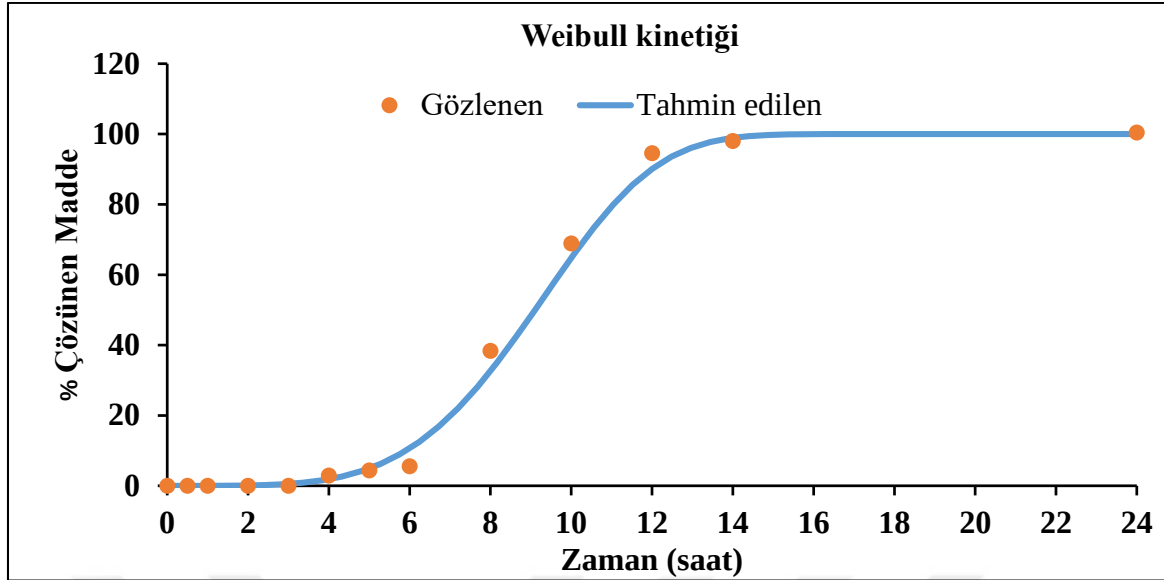
#### Salım kinetikleri

F1 ve F2 tablet formülasyonlarının salım kinetikleri Bölüm 3.5.3'te anlatıldığı şekilde tayin edildi. Elde edilen bulgular Çizelge 4.24'te verilmiştir. F1 ve F2 formülasyonlarının Weibull kinetiği ile salım yaptığı tespit edilmiştir. F1 ve F2 formülasyonlarına ait salım profillerinin Weibull kinetik modeliyle eşleştirilmesi Şekil 4.48 ve 4.49'da sunulmuştur.

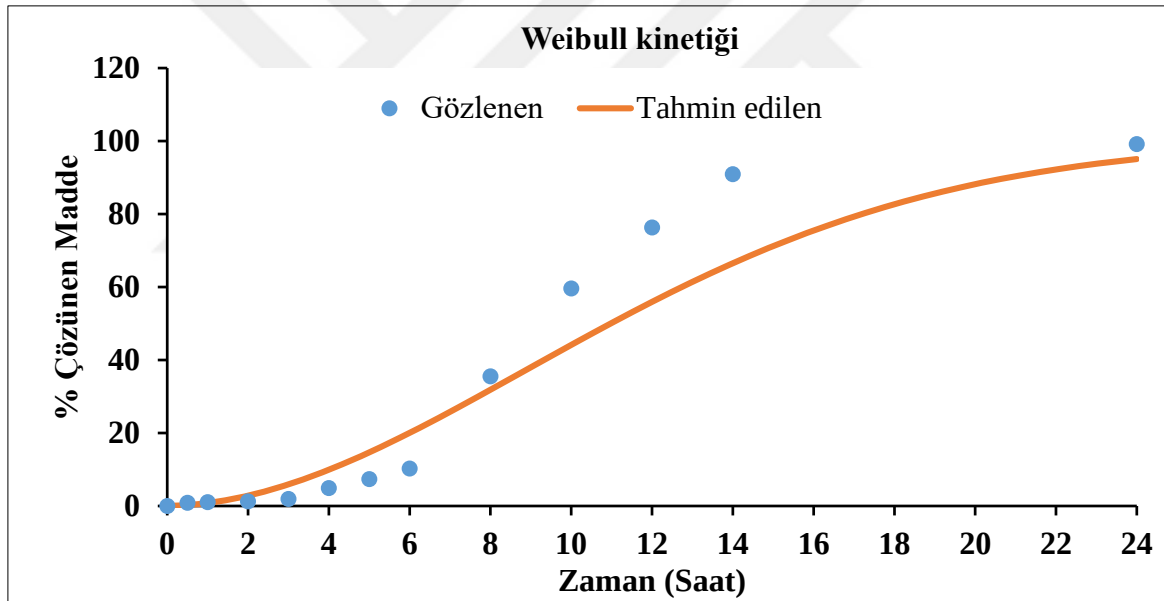
Çizelge 4.24. F1 ve F2 formülasyonlarının farklı salım kinetiklerine uyumluluk ölçütleri

| FK | Matematiksel model | Parametreler   |                               |       |        |                                |
|----|--------------------|----------------|-------------------------------|-------|--------|--------------------------------|
|    |                    | R <sup>2</sup> | R <sup>2</sup> <sub>adj</sub> | AIC   | MSC    | Modele özgü katsayı            |
| F1 | 0. Derece          | 0,799          | 0,799                         | 111,0 | 1,186  | k0=5,167                       |
|    | 1. Derece          | 0,359          | 0,359                         | 126,1 | 0,027  | k1=0,182                       |
|    | Higuchi            | 0,609          | 0,609                         | 119,6 | 0,522  | kH=18,57                       |
|    | Korsmeyer-peppas   | -0,320         | -0,584                        | 139,5 | -1,003 | kKP=0,119                      |
|    | Hixson-Crowel      | 0,627          | 0,627                         | 119,0 | 0,560  | kHC=0,038                      |
|    | Weibull            | 0,995          | 0,995                         | 63,62 | 4,831  | $\alpha=21898,3$ $\beta=4,235$ |
| F2 | 0. Derece          | 0,862          | 0,862                         | 103,1 | 1,777  | k0=4,763                       |
|    | 1. Derece          | 0,415          | 0,415                         | 121,9 | 0,329  | k1=0,154                       |
|    | Higuchi            | 0,662          | 0,662                         | 114,7 | 0,878  | kH=16,07                       |
|    | Korsmeyer-peppas   | 0,768          | 0,721                         | 113,9 | 0,945  | kKP=1,394                      |
|    | Hixson-Crowel      | 0,744          | 0,744                         | 111,1 | 1,155  | kHC=0,030                      |
|    | Weibull            | 0,915          | 0,907                         | 98,86 | 2,100  | $\alpha=129,0$ $\beta=1,876$   |

FK: Formülasyon kodu, R<sup>2</sup>:Korelasyon katsayısı R<sup>2</sup><sub>adj</sub>:Düzeltilmiş korelasyon katsayısı AIC: Akaike bilgi ölçütü MSC: Model seçme ölçütü



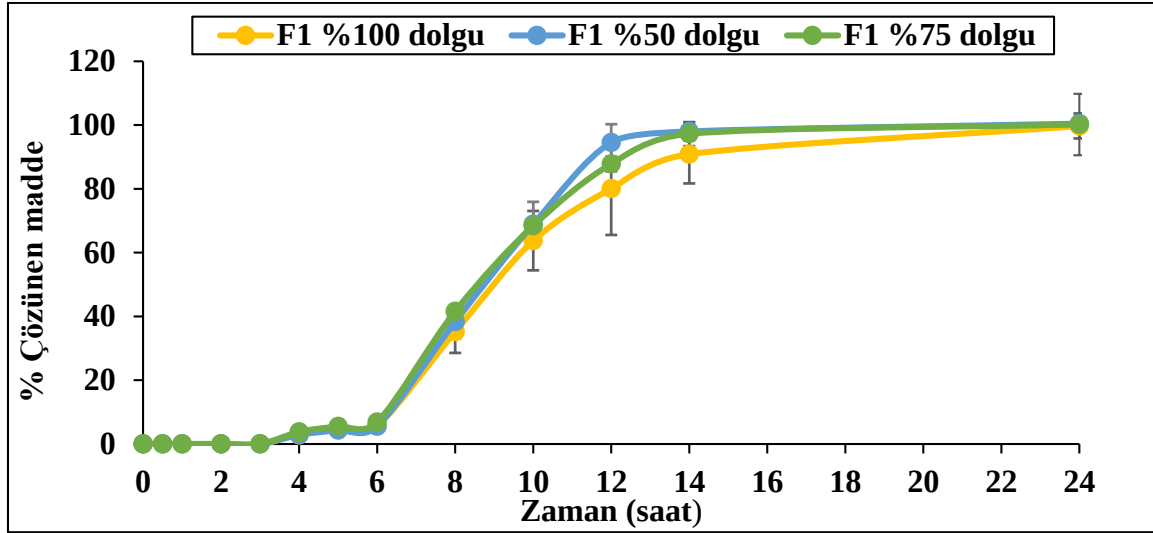
Şekil 4.48. F1 Formülasyonunun Weibull kinetik modeliyle eşleştirilmesi



Şekil 4.49. F2 Formülasyonunun Weibull kinetik modeliyle eşleştirilmesi

#### 4.5. 3D Tabletlerde Dolgu Yüzdesinin İn Vitro Salım Üzerine Etkisi

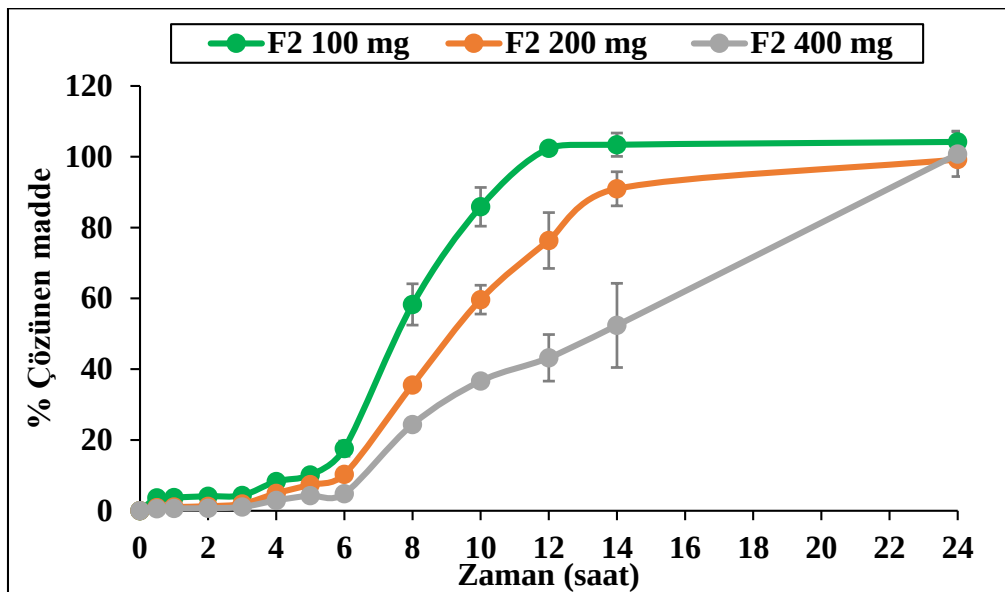
Dolgu yüzdesinin ilacın salım profili üzerine etkisini incelemek amacıyla Bölüm 3.6'da anlatıldığı gibi %50, %75 ve %100 dolgulara sahip F1 tabletler basılarak in vitro çözünme hızı çalışmaları yapılmıştır. Farklı dolgu yüzdelere sahip F1 tabletlerin karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri Şekil 4.50'de verilmiştir. Profillerin benzerliğini değerlendirmek için %100 dolguya sahip F1 tabletler referans kabul edilerek sırasıyla %50 ve %75 dolguya sahip tabletler için  $f_2$  değerleri 65 ve 71 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.50. %50, %75 ve %100 F1 tabletlerine ait karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri (n=3)

#### 4.6. 3D Tabletlerde Boyut ve Ağırlığın İn Vitro Salım Üzerine Etkisi

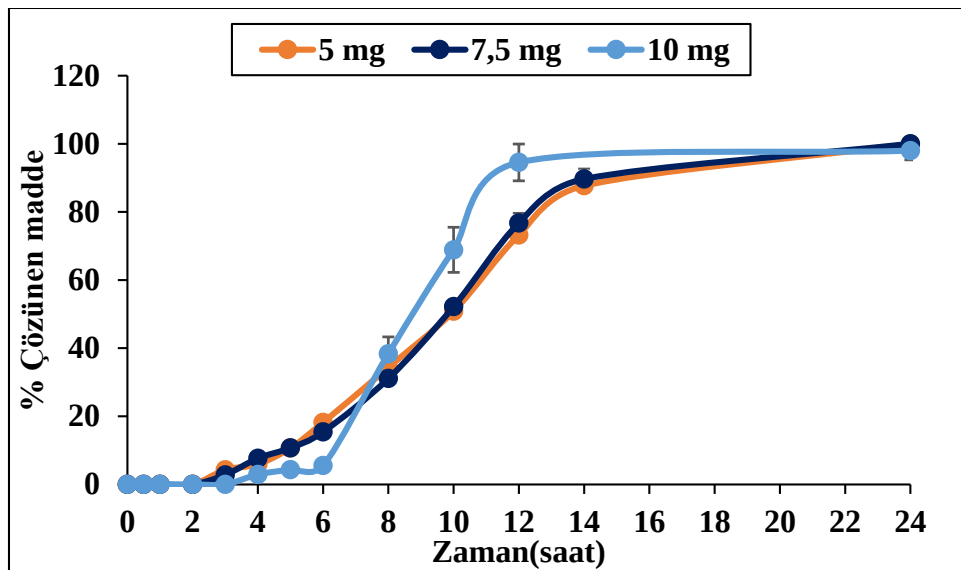
İlacın salım profili üzerine tabletin boyut ve ağırlığının etkisini değerlendirmek amacıyla Bölüm 3.7’de anlatıldığı gibi 100 mg, 200 mg ve 400 mg ağırlığında artan büyüklüklerde F2 tabletler basılarak in vitro çözünme hızı çalışmaları yapılmıştır. Farklı ağırlık ve büyüklükteki F2 tabletlerin karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri Şekil 4.51’de verilmiştir. Profillerin benzerliğini değerlendirmek için 200 mg ağırlığındaki F2 tabletler referans kabul edilerek sırasıyla 100 mg ve 400 mg ağırlığına sahip tabletler için  $f_2$  değerleri 44 ve 39 olarak hesaplanmıştır.



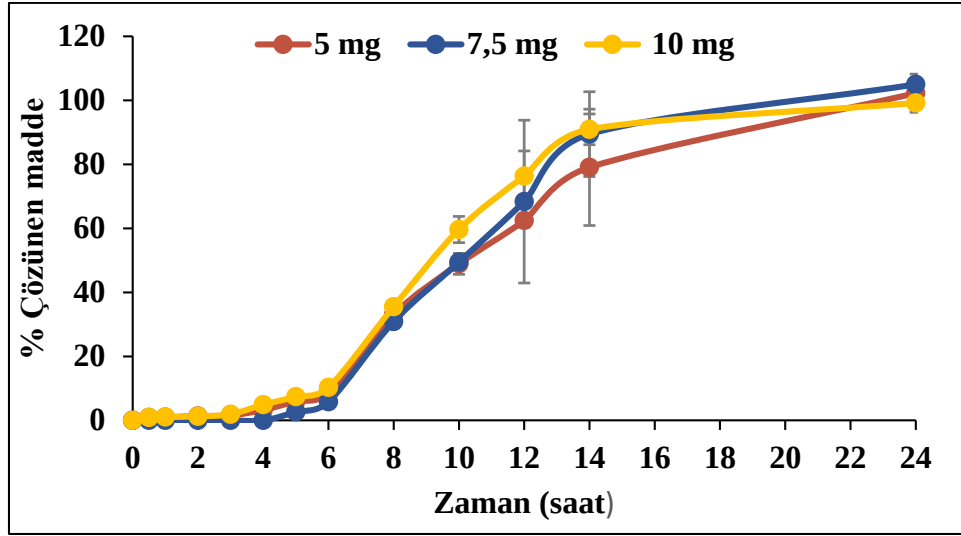
Şekil 4.51. 100 mg, 200 mg ve 400 mg F2 tabletlerine ait karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri (n=3)

#### 4.7. 3D Tabletlerde Dozun Kişiselleştirilmesi

Bu çalışma kapsamında üretilen 200 mg ağırlığında %5 oranında (10 mg) etkin madde içeren F1 ve F2 tabletlerinin yanısıra Bölüm 3.8’de anlatıldığı şekilde %3,75 oranında (7,5 mg) ve %2,5 oranında (5 mg) etkin madde içeren 200 mg’lık tabletler basıldı ve karakterizasyon çalışmaları yapıldı. Çizelge 4.25’te sırasıyla %2,5 ve %3,75 oranında etkin madde içeren F1a ve F1b filament ve tabletlerin karakterizasyon bulguları daha önce Bölüm 4.4’te ayrıntılı olarak verilen %5 oranında etkin madde içeren F1 filament ve tabletlerin karakterizasyon bulgularıyla karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Çizelge 4.25’te ise %2,5 ve %3,75 oranında etkin madde içeren F2a ve F2b filament ve tabletlerin karakterizasyon bulguları daha önce Bölüm 4.4’de ayrıntılı olarak verilen %5 oranında etkin madde içeren F2 filament ve tabletlerin karakterizasyon bulgularıyla karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Ayrıca farklı dozlara sahip (5 mg, 7,5 mg ve 10 mg) F1a, F1b ve F1 tabletleri ile F2a, F2b ve F2 tabletlerinin karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri sırasıyla Şekil 4.52 ve 4.53’te verilmiştir. Farklı dozlardaki F1 tabletlerinin in vitro salım profillerinin benzerliğini değerlendirmek için 10 mg etkin madde içeren F1 tabletler referans kabul edilerek sırasıyla 5 mg ve 7,5 mg etkin madde içeren F1 tabletler için  $f_2$  değerleri 51 ve 53 olarak hesaplanmıştır. Aynı şekilde farklı dozlardaki F2 tabletlerinin in vitro salım profillerinin benzerliğini değerlendirmek için 10 mg etkin madde içeren F2 tabletler referans kabul edilerek sırasıyla 5 mg ve 7,5 mg etkin madde içeren F2 tabletler için  $f_2$  değerleri 60 ve 65 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.52. Farklı dozlarda etkin madde içeren F1a (5 mg), F1b (7,5 mg) ve F1 (10 mg) tabletlerine ait karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri (n=3)



Şekil 4.53. Farklı dozlarda etkin madde içeren F2a (5 mg), F2b (7,5 mg) ve F2 (10 mg) tabletlerine ait karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri (n=3)

Çizelge 4.25. %2,5, %3,75 ve %5 etkin madde içeren filament ve tabletlerin karşılaştırmalı karakterizasyon bulguları

| FK  | Doz (mg) | Filament karakterizasyon bulguları (Ort ±SS) |                                   | Tablet karakterizasyon bulguları (Ort ±SS) |            |               |                          |
|-----|----------|----------------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------|------------|---------------|--------------------------|
|     |          | Çap (mm)                                     | Etkin madde yükleme etkinliği (%) | Ağırlık (mg)                               | Çap (mm)   | Kalınlık (mm) | Etkin madde miktarı (mg) |
| F1  | 10       | 1,72±0,02                                    | 102,77 ±0,81                      | 201,65 ±5,61                               | 9,04 ±0,08 | 3,58 ±0,06    | 9,99±0,21                |
| F1a | 5        | 1,71±0,01                                    | 101,51 ±1,67                      | 199,66 ±5,12                               | 9,06±0,04  | 3,57±0,04     | 9,92±0,15                |
| F1b | 7,5      | 1,71±0,02                                    | 102,14 ±1,19                      | 202,52 ±5,57                               | 9,10±0,09  | 3,55 ±0,04    | 10,03±0,37               |
| F2  | 10       | 1,72 ±0,02                                   | 100,13 ±0,08                      | 197,97 ±4,97                               | 9,41±0,06  | 3,78 ±0,05    | 9,86±0,15                |
| F2a | 5        | 1,72±0,03                                    | 101,22 ±0,82                      | 200,97 ±6,12                               | 9,44±0,05  | 3,72 ±0,03    | 10,01±0,32               |
| F2b | 7,5      | 1,73±0,02                                    | 100,67 ±0,56                      | 201,81 ±3,02                               | 9,43±0,07  | 3,71 ±0,04    | 9,92±0,51                |

#### 4.8. 3D Tablet Formülasyonlarında Etkin Maddenin Çözünürlüğü

F1 ve F2 tablet formülasyonlarında etkin maddenin çözünürlük artışını değerlendirmek için Bölüm 3.9’da anlatıldığı şekilde shake-flask yöntemiyle çözünürlük çalışmaları yapıldı. F1 ve F2 tablet tozlarının pH 7,4 ortamındaki çözünürlük değerleri Çizelge 4.26’da verilmiştir.

Çizelge 4.26. F1 ve F2 3D tablet formülasyonlarında etkin maddenin çözünürlük değerleri

| Örnek                     | Çözünürlük değeri ( $\mu\text{g/mL}$ )<br>(Ort $\pm$ SS, n=3) |
|---------------------------|---------------------------------------------------------------|
| F1 3D tablet formülasyonu | 2,04 $\pm$ 0,05                                               |
| F2 3D tablet formülasyonu | 20,02 $\pm$ 0,50                                              |

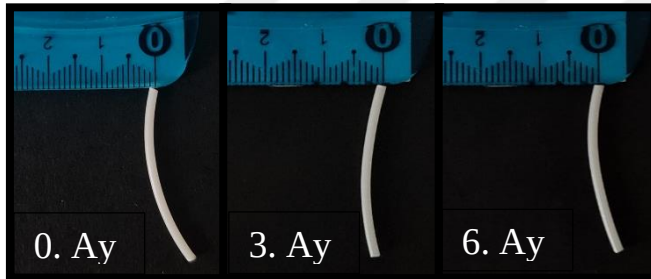
#### 4.9. Filament ve Tabletlerde Stabilité Çalışmaları

##### 4.9.1. Filamentlerin stabilite çalışmaları

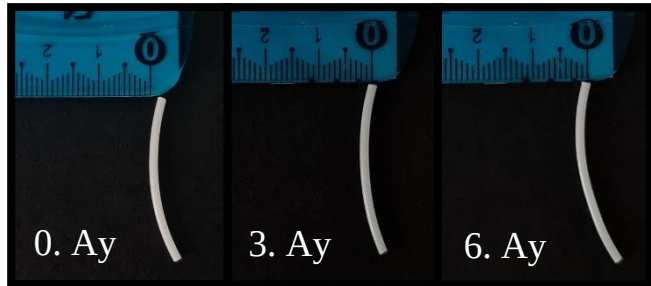
F1 ve F2 filamentleri için stabilite çalışmaları Bölüm 3.10’da anlatıldığı şekilde yürütüldü.

##### Hızlandırılmış stabilite testlerinden elde edilen bulgular

F1 ve F2 filamentlerinin hızlandırılmış stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. ayda görünüşleri incelendi. Belirtilen zaman noktalarına ait fotoğrafları sırasıyla Resim 4.9 ve 4.10’da sunulmuştur.



Resim 4.9. Hızlandırılmış stabilite test koşullarında (40 °C, %75 nem) bekletilen F1 filamentleri



Resim 4.10. Hızlandırılmış stabilite test koşullarında (40 °C, %75 nem) bekletilen F2 filamentleri

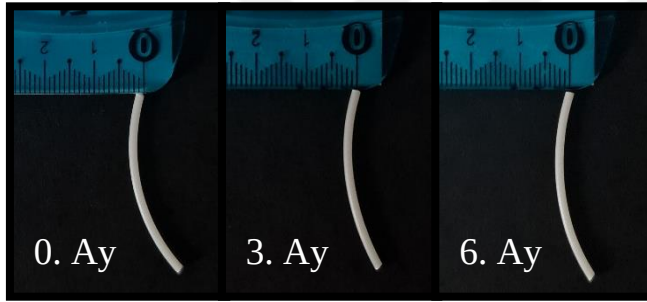
F1 ve F2 filamentlerinin başlangıçtaki ve hızlandırılmış stabilite test koşullarında 3. ve 6. aylarda elde edilen filament karakterizasyon bulguları Çizelge 4.27’de verilmiştir.

Çizelge 4.27. Hızlandırılmış stabilite testlerinin başlangıç, 3. ve 6. aylara ait filament karakterizasyon bulguları

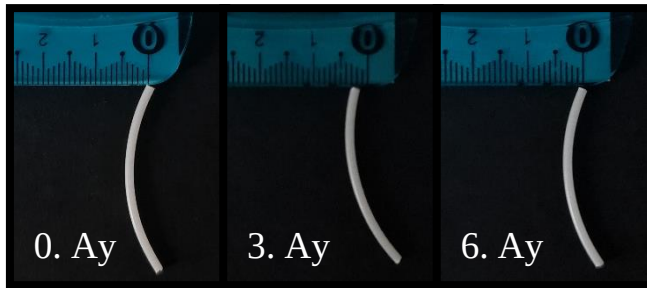
| Karakterizasyon çalışmaları                           | F1 Filamenti         |                      |                      | F2 Filamenti         |                      |                      |
|-------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|                                                       | Başlangıç            | 3. ay                | 6.ay                 | Başlangıç            | 3. ay                | 6.ay                 |
| Çap (mm, Ort $\pm$ SS, n=6)                           | 1,73<br>$\pm$ 0,02   | 1,72<br>$\pm$ 0,02   | 1,72<br>$\pm$ 0,02   | 1,71<br>$\pm$ 0,01   | 1,73<br>$\pm$ 0,02   | 1,72<br>$\pm$ 0,01   |
| Etkin madde yükleme etkinliği (% , Ort $\pm$ SS, n=3) | 103,37<br>$\pm$ 0,31 | 100,55<br>$\pm$ 0,15 | 101,90<br>$\pm$ 2,95 | 101,09<br>$\pm$ 1,77 | 103,71<br>$\pm$ 0,43 | 104,05<br>$\pm$ 1,12 |
| Kesintisiz basılabilirlik                             | 3/3                  | 3/3                  | 3/3                  | 3/3                  | 3/3                  | 3/3                  |

#### Uzun süreli stabilite testlerinden elde edilen bulgular

F1 ve F2 filamentlerinin uzun süreli stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. ayda görünüşleri incelendi. Belirtilen zaman noktalarına ait fotoğrafları sırasıyla Resim 4.11 ve 4.12’de sunulmuştur.



Resim 4.11. Uzun süreli stabilite test koşullarında (25 °C, %60 nem) bekletilen F1 filamentleri



Resim 4.12. Uzun süreli stabilite test koşullarında (25 °C, %60 nem) bekletilen F2 filamentleri

F1 ve F2 filamentlerinin başlangıçtaki ve uzun süreli stabilite test koşullarında 3. ve 6. aylarda elde edilen filament karakterizasyon bulguları Çizelge 4.28’de verilmiştir.

Çizelge 4.28. Uzun süreli stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. aylara ait filament karakterizasyon bulguları

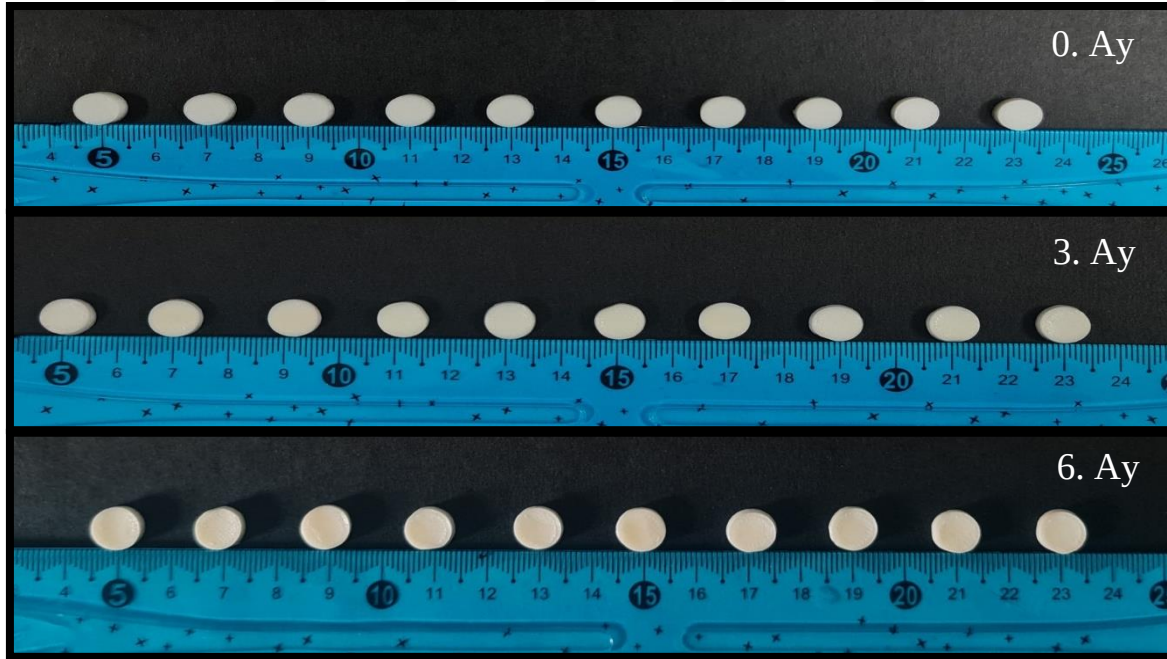
| Karakterizasyon çalışmaları       | F1 Filament          |                      |                      | F2 Filament          |                      |                      |
|-----------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|                                   | Başlangıç            | 3. ay                | 6. ay                | Başlangıç            | 3. ay                | 6. ay                |
| Çap (mm, Ort $\pm$ SS, n=6)       | 1,73<br>$\pm$ 0,02   | 1,74<br>$\pm$ 0,02   | 1,74<br>$\pm$ 0,02   | 1,71<br>$\pm$ 0,02   | 1,71<br>$\pm$ 0,02   | 1,72<br>$\pm$ 0,02   |
| Etkin madde yükleme etkinliği (%) | 101,54<br>$\pm$ 1,74 | 103,59<br>$\pm$ 0,54 | 103,02<br>$\pm$ 1,46 | 102,22<br>$\pm$ 2,61 | 101,36<br>$\pm$ 1,27 | 102,71<br>$\pm$ 1,26 |
| Kesintisiz basılabilirlik         | 3/3                  | 3/3                  | 3/3                  | 3/3                  | 3/3                  | 3/3                  |

#### 4.9.2. Tabletlerin stabilite çalışmaları

F1 ve F2 tabletleri için stabilite çalışmaları Bölüm 3.10’da anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi.

##### Hızlandırılmış stabilite testlerinden elde edilen bulgular

F1 ve F2 tabletlerinin hızlandırılmış stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. aya ait fotoğrafları sırasıyla Resim 4.13 ve 4.14’te verilmiştir.



Resim 4.13. Hızlandırılmış stabilite test koşullarında (40 °C, %75 nem) bekletilen F1 tabletleri



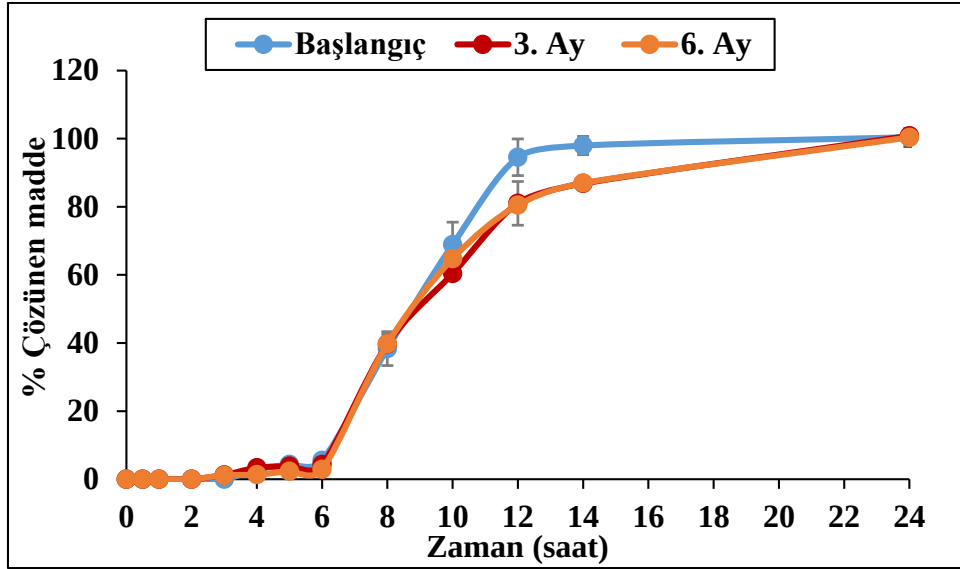
Resim 4.14. Hızlandırılmış stabilite test koşullarında (40 °C, %75 nem) bekletilen F2 tabletleri

F1 ve F2 tabletlerinin başlangıç ve hızlandırılmış stabilite test koşullarında 3. ve 6. aylarda elde edilen karakterizasyon bulguları Çizelge 4.29'da verilmiştir.

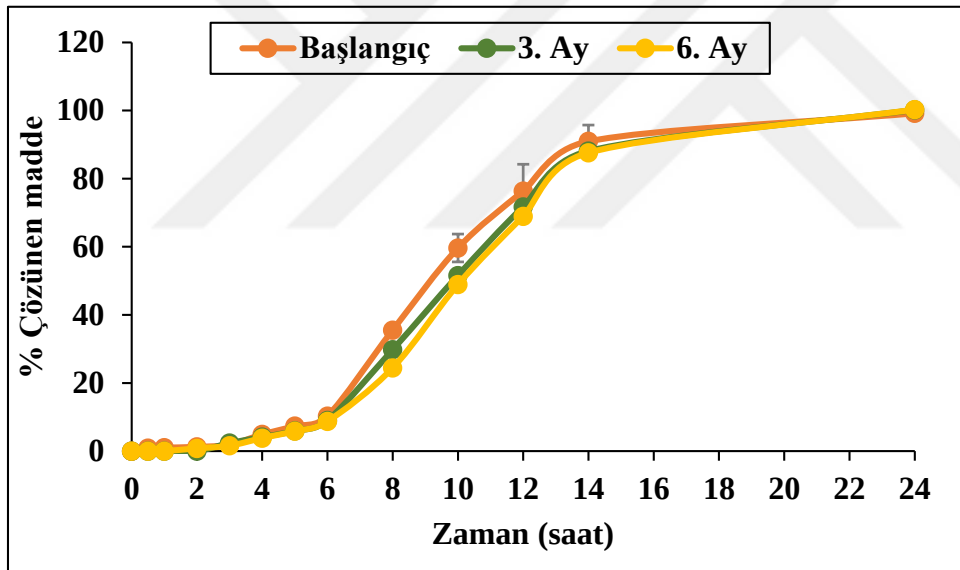
Çizelge 4.29. Hızlandırılmış stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. aylara ait tablet karakterizasyon bulguları

| Karakterizasyon çalışmaları           | F1 Tablet       |                 |                 | F2 Tablet       |                 |                 |
|---------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                       | Başlangıç       | 3. ay           | 6. ay           | Başlangıç       | 3. ay           | 6. ay           |
| Ağırlık (mg, Ort±SS, n=10)            | 201,65<br>±5,61 | 199,34<br>±5,35 | 198,39<br>±5,27 | 198,07<br>±4,98 | 198,99<br>±4,99 | 197,26<br>±5,39 |
| Çap (mm, Ort±SS, n=10)                | 9,04<br>±0,08   | 9,03<br>±0,08   | 9,06<br>±0,04   | 9,41<br>±0,06   | 9,40<br>±0,06   | 9,41<br>±0,06   |
| Kalınlık (mm, Ort±SS, n=6)            | 3,58<br>±0,06   | 3,56<br>±0,04   | 3,56<br>±0,04   | 3,71<br>±0,05   | 3,70<br>±0,05   | 3,71<br>±0,05   |
| Etkin madde miktarı (mg, Ort±SS, n=3) | 9,99<br>±0,21   | 9,91<br>±0,15   | 10,13<br>±0,12  | 9,86<br>±0,15   | 10,12<br>±0,22  | 10,06<br>±0,01  |

F1 ve F2 tabletlerinin başlangıç ve hızlandırılmış stabilite test koşullarında 3. ve 6. aylarda elde edilen karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri sırasıyla Şekil 4.54 ve 4.55'te verilmiştir. F1 tabletleri için 3. ve 6. aydaki profillerin testin başlangıcındaki profille benzerliğini değerlendirmek için hesaplanan  $f_2$  değerleri sırasıyla 62 ve 63 bulunmuştur. F2 tabletleri için 3. ve 6. aydaki profillerin testin başlangıcındaki profille benzerliğini değerlendirmek için hesaplanan  $f_2$  değerleri ise sırasıyla 73 ve 64 bulunmuştur.



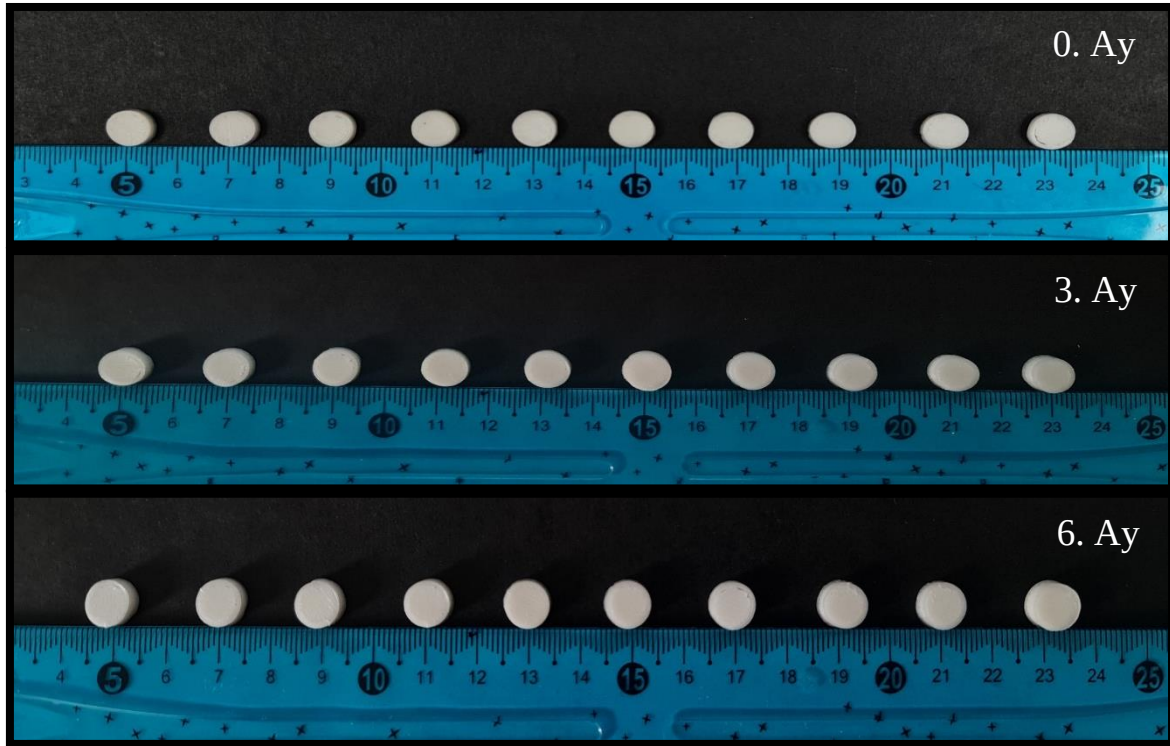
Şekil 4.54. F1 tabletlerinin hızlandırılmış stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. aylara ait karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri



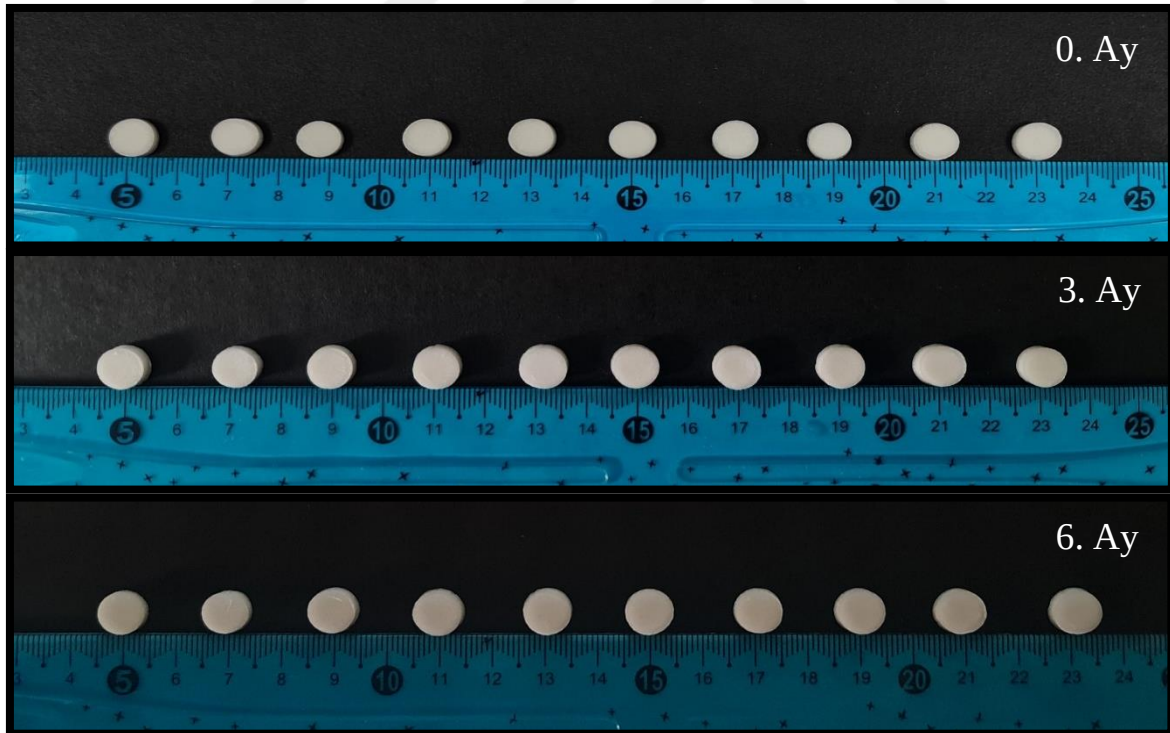
Şekil 4.55. F2 tabletlerinin hızlandırılmış stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. aylara ait karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri

#### Uzun süreli stabilite testlerinden elde edilen bulgular

F1 ve F2 tabletlerinin uzun süreli stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. aya ait fotoğrafları sırasıyla Resim 4.15 ve 4.16'da verilmiştir.



Resim 4.15. Uzun süreli stabilite test koşullarında (25 °C, %60 nem) bekletilen F1 tabletleri



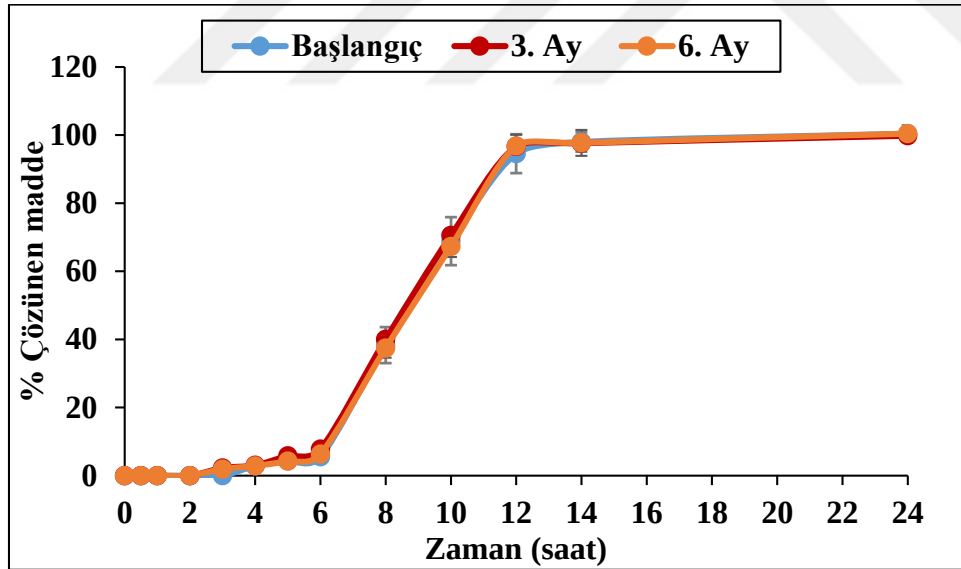
Resim 4.16. Uzun süreli stabilite test koşullarında (25 °C, %60 nem) bekletilen F2 tabletleri

F1 ve F2 tabletlerinin başlangıç ve uzun süreli stabilite test koşullarında 3. ve 6. aylarda elde edilen karakterizasyon bulguları Çizelge 4.30'da sunulmuştur.

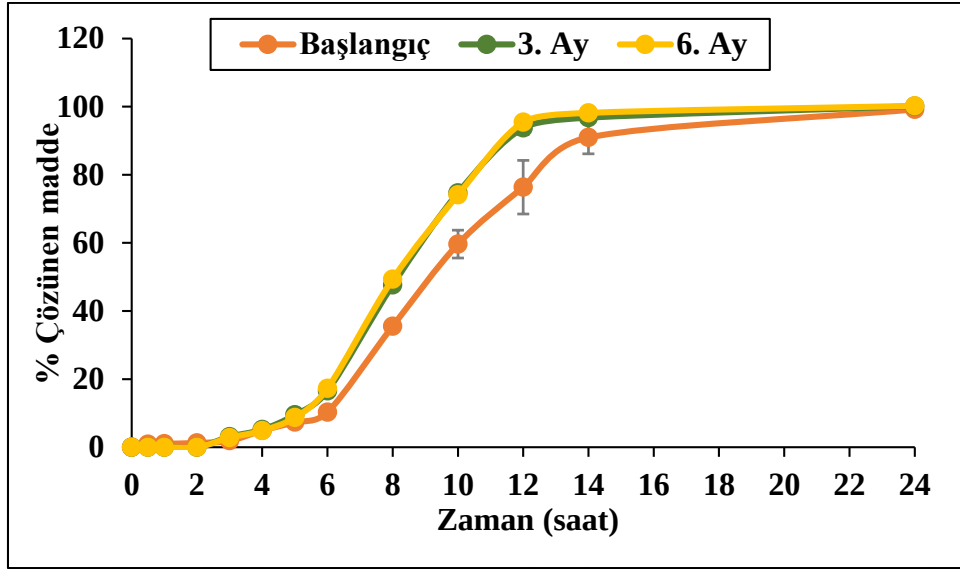
Çizelge 4.30. Uzun süreli stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. aylara ait tablet karakterizasyon bulguları

| Karakterizasyon çalışmaları           | F1 Tablet       |                 |                 | F2 Tablet       |                 |                 |
|---------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                       | Başlangıç       | 3. ay           | 6. ay           | Başlangıç       | 3. ay           | 6. ay           |
| Ağırlık (mg, Ort±SS, n=10)            | 201,67<br>±4,31 | 201,25<br>±4,43 | 200,43<br>±4,52 | 199,51<br>±6,56 | 199,44<br>±6,61 | 199,98<br>±6,65 |
| Çap (mm, Ort±SS, n=10)                | 9,07<br>±0,03   | 9,08<br>±0,03   | 9,08<br>±0,03   | 9,41<br>±0,04   | 9,41<br>±0,05   | 9,41<br>±0,04   |
| Kalınlık (mm, Ort±SS, n=6)            | 3,57<br>±0,04   | 3,56<br>±0,04   | 3,57<br>±0,04   | 3,75<br>±0,04   | 3,74<br>±0,04   | 3,75<br>±0,04   |
| Etkin madde miktarı (mg, Ort±SS, n=3) | 9,99<br>±0,21   | 10,05<br>±0,14  | 10,12<br>±0,06  | 9,86<br>±0,15   | 10,05<br>±0,14  | 10,15<br>±0,07  |

F1 ve F2 tabletlerinin başlangıç ve uzun süreli stabilite test koşullarında 3. ve 6. aylarda elde edilen karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri sırasıyla Şekil 4.56 ve 4.57’de verilmiştir. F1 tabletleri için 3. ve 6. aydaki profillerin testin başlangıcındaki profille benzerliğini değerlendirmek için hesaplanan  $f_2$  değerleri sırasıyla 88 ve 92 bulunmuştur. F2 tabletleri için 3. ve 6. aydaki profillerin testin başlangıcındaki profille benzerliğini değerlendirmek için hesaplanan  $f_2$  değerleri ise sırasıyla 55 ve 53 bulunmuştur.



Şekil 4.56. F1 tabletlerinin uzun süreli stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. aylara ait karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri



Şekil 4.57. F2 tabletlerinin uzun süreli stabilite test koşullarında başlangıç, 3. ve 6. aylara ait karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri

#### 4.10. İn Vivo Çalışmalar

İn vivo çalışmalar Bölüm 3.11’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Flutikazon propiyonat yüklü F1 ve F2 3D tablet formülasyonları TNBS ile ülseratif kolit modeli oluşturulan sıçanlara oral yoldan uygulanmıştır. Formülasyonların ülseratif kolit üzerine etkisi fizyolojik, histolojik ve immünolojik olarak incelenmiştir.

##### 4.10.1. Sıçanların tedavi süresince takip edilen fizyolojik özellikleri

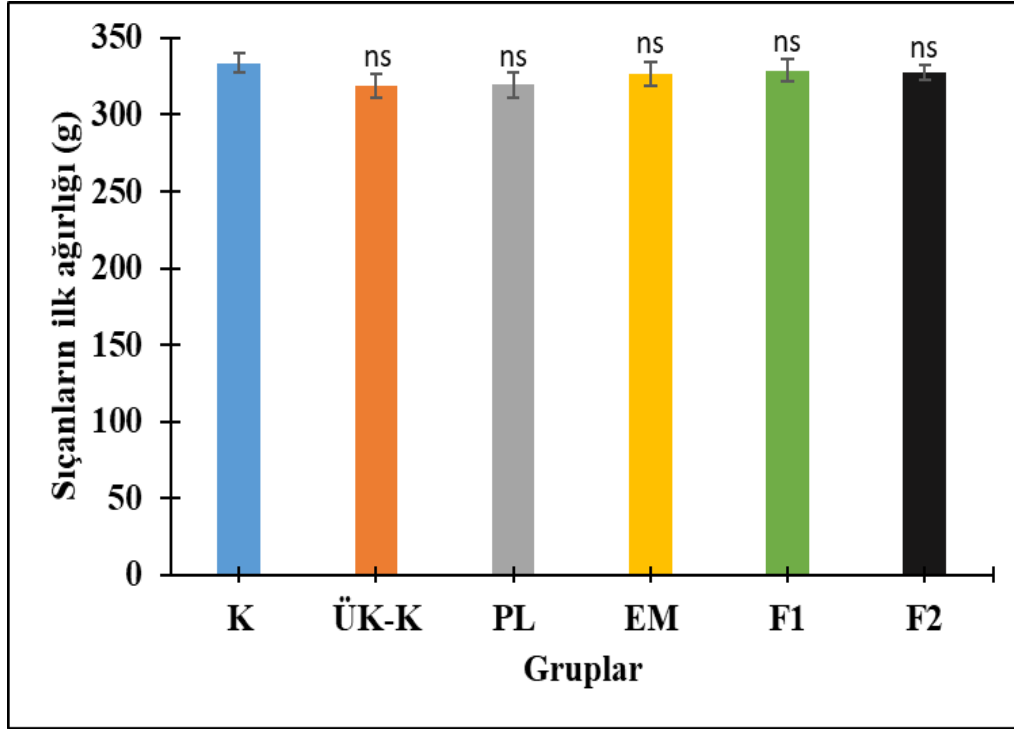
###### Sıçanların ağırlık takibi

Sıçanların ağırlık takibi Bölüm 3.11.3’te anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Deney gruplarındaki sıçanların başlangıç, hastalık modeli oluşturulduktan sonraki (tedavi öncesi) ve tedavi sonrası ortalama ağırlıkları Çizelge 4.31’de verilmiştir.

Çizelge 4.31. Sıçanların başlangıç, tedavi öncesi ve tedavi sonrası ağırlıkları

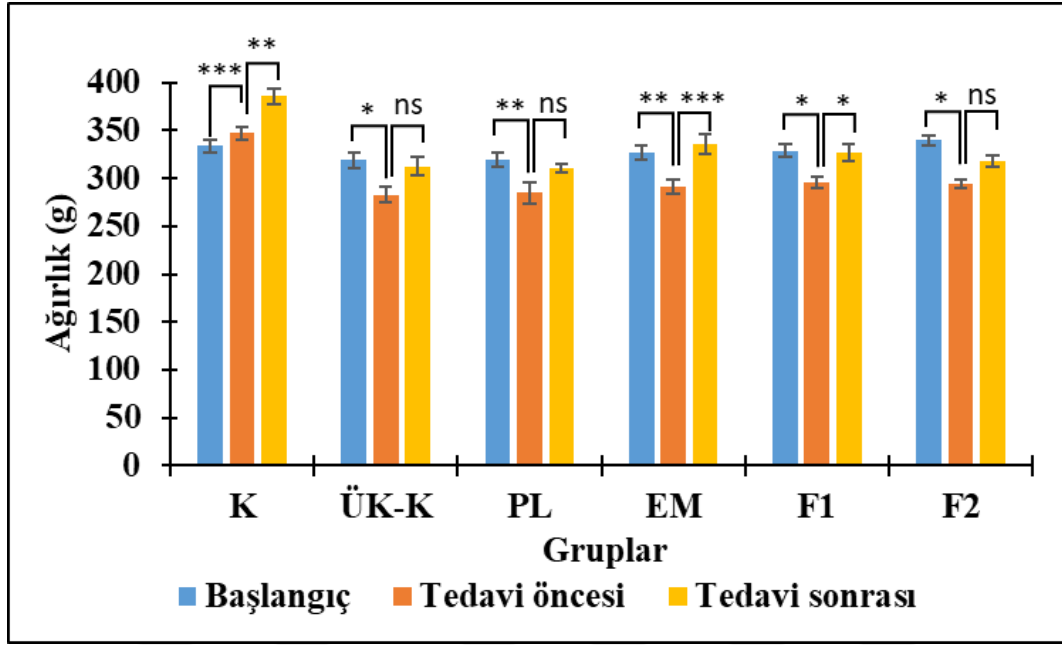
| Gruplar | Sıçan ağırlıkları (g, n=6-8, Ort±SS) |               |                |
|---------|--------------------------------------|---------------|----------------|
|         | Başlangıç                            | Tedavi öncesi | Tedavi sonrası |
| K       | 333,6±16,8                           | 347,1±17,1    | 385,6±22,3     |
| ÜK-K    | 318,8±19,5                           | 283,0±21,3    | 312,5±24,6     |
| PL      | 319,4±21,4                           | 284,0±27,7    | 310,7±13,0     |
| EM      | 327,0±22,0                           | 291,0±21,8    | 336,3±29,7     |
| F1      | 329,0±17,4                           | 295,0±14,6    | 327,0±21,3     |
| F2      | 339,6±13,9                           | 294,8±12,1    | 317,8±17,9     |

İn vivo çalışmanın başında oluşturulan deney grupları arasında sıçanların başlangıç ağırlıkları açısından bir fark olup olmadığını incelemek için elde edilen bulgular Şekil 4.58’de verilmiştir. Farklı deney gruplarındaki sıçanlar başlangıçtaki ortalama ağırlıkları bakımından kendi aralarında kıyaslandığında hiçbir grup arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ).



Şekil 4.58. Çalışmanın başında deney gruplarındaki sıçanların ortalama ağırlıkları açısından kıyaslanması (K grubuyla kıyaslandığında, ns:  $p>0,05$ )

Her grubun başlangıç ve tedavi öncesi ağırlıkları ile tedavi öncesi ve sonrası tespit edilen ağırlıkları arasında bir fark olup olmadığını incelemek için elde edilen bulgular Şekil 4.59’da verilmiştir.



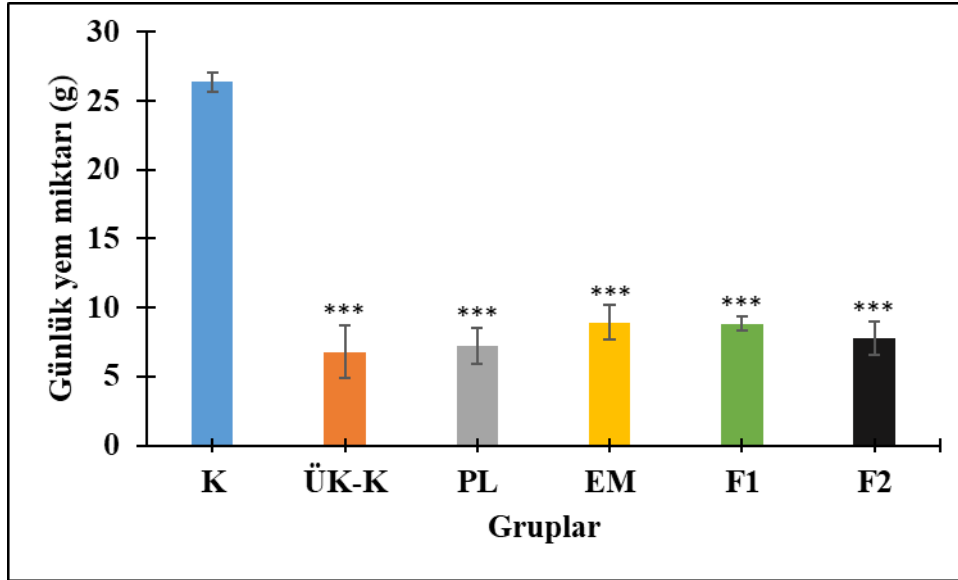
Şekil 4.59. İn vivo deney gruplarının başlangıç, tedavi öncesi ve sonrası ağırlıklarının kıyaslanması (ns:  $p > 0,05$ , \*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*\*\*:  $p < 0,0001$ )

#### Sıçanların tükettikleri yem miktarı

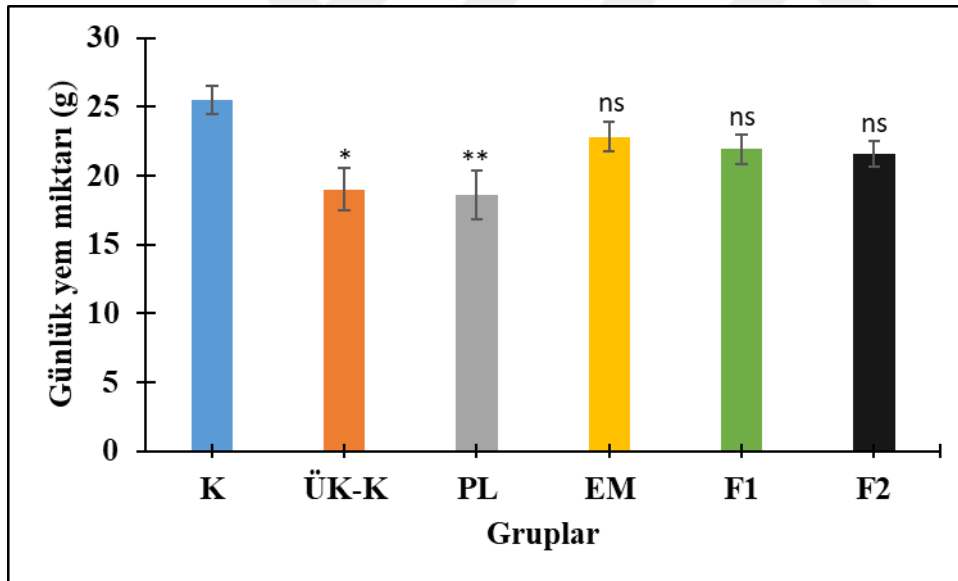
Deney gruplarındaki sıçanların sırasıyla hastalık modeli oluşturma ve tedavi sürecinde tükettikleri ortalama günlük yem miktarları Çizelge 4.32’de verilmiştir. Hastalık modeli oluşturma ve tedavi süreçlerinde sıçanların tükettikleri ortalama günlük yem miktarları bakımından gruplar arasında fark olup olmadığını incelemek için elde edilen bulgular sırasıyla Şekil 4.60 ve 4.61’de sunulmuştur.

Çizelge 4.32. Sıçanların tükettikleri günlük yem miktarları

| Gruplar | Sıçanların tükettikleri ortalama günlük yem miktarı (g, n=6-8, Ort±SS) |               |
|---------|------------------------------------------------------------------------|---------------|
|         | Hastalık modeli oluşturma süreci                                       | Tedavi süreci |
| K       | 26,4±1,9                                                               | 25,5±2,7      |
| ÜK-K    | 6,8±4,6                                                                | 19,0±3,8      |
| PL      | 7,2±3,5                                                                | 18,6±4,7      |
| EM      | 8,9±3,5                                                                | 22,8±3,0      |
| F1      | 8,8±1,2                                                                | 21,9±2,5      |
| F2      | 7,8±3,3                                                                | 21,6±2,5      |



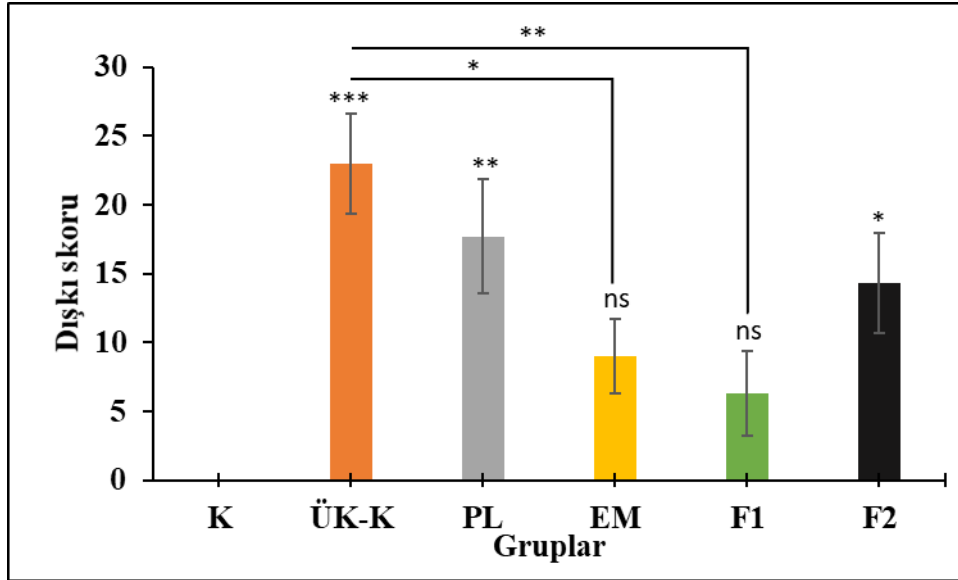
Şekil 4.60. Farklı gruplardaki sıçanların hastalık modeli oluşturma sürecinde tükettikleri ortalama günlük yem miktarlarının kıyaslanması (K grubuyla kıyaslandığında \*\*\*:  $p < 0,001$ )



Şekil 4.61. Sıçanların tedavi sürecinde tükettikleri günlük yem miktarlarının kıyaslanması (K grubuyla kıyaslandığında, ns:  $p > 0,05$  \*:  $p < 0,05$  \*\*:  $p < 0,01$ )

#### Sıçanların dışkı kıvamları

Deney gruplarındaki sıçanların ortalama dışkı skorları Bölüm 3.11.3'te anlatıldığı şekilde belirlenerek elde edilen bulgular Şekil. 4.62'de verilmiştir.



Şekil 4.62. Sıçanların dışkı skorlarının kıyaslanması (K ve diğer gruplar arası yapılan kıyaslamalarda, ns:  $p>0,05$ , \*:  $p<0,05$ , \*\*:  $p<0,01$ , \*\*\*:  $p<0,001$ )

#### Sıçanlarda ülseratif kolite bağlı kanama bulgusu ve ölüm sayısı

Deney gruplarında rektal kanama bulgusuna rastlanan sıçan sayısı ve çalışmanın sonunda ölen sıçan sayısı gruplardaki toplam sıçan sayısı ile kıyaslanarak Çizelge 4.33'te sunulmuştur.

Çizelge 4.33. Sıçanlarda ülseratif kolite bağlı rektal kanama bulgusu ve ölüm sayısı

|                                   | K grubu | ÜK-K grubu | PL grubu | EM grubu | F1 grubu | F2 grubu |
|-----------------------------------|---------|------------|----------|----------|----------|----------|
| Rektal kanaması olan sıçan sayısı | 0/8     | 2/8        | 1/8      | 0/8      | 0/8      | 2/8      |
| Ölen sıçan sayısı                 | 0/8     | 2/8        | 1/8      | 0/8      | 0/8      | 2/8      |

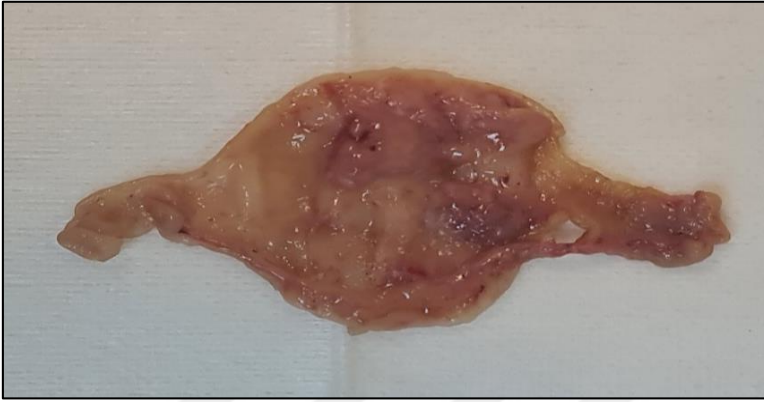
#### **4.10.2. Kolon dokusu örneklerinin alınması ve incelenmesi**

##### Kolon dokularının makroskopik görünümü

Bölüm 3.11.4'te anlatıldığı şekilde sıçanlar sakrifiye edildikten hemen sonra midline kesiyle batinları açılarak kolonları çıkarıldı ve tek tek görüntülendi. Deney gruplarına ait kolon dokusu görüntüleri Resim 4.17-4.22'de sunulmuştur.



Resim 4.17. K Grubu- Sağlıklı kontrol grubu



Resim 4.18. ÜK-K Grubu-Kolit oluşturulup tedavi edilmeyen grup



Resim 4.19. PL Grubu-Kolit oluşturulup plasebo tablet uygulanan grup



Resim 4.20. EM Grubu-Kolit oluşturulup FLT süspansiyonu ile tedavi edilen grup



Resim 4.21. F1 Grubu-Kolit oluşturulup FLT yüklü F1 tabletleri ile tedavi edilen grup



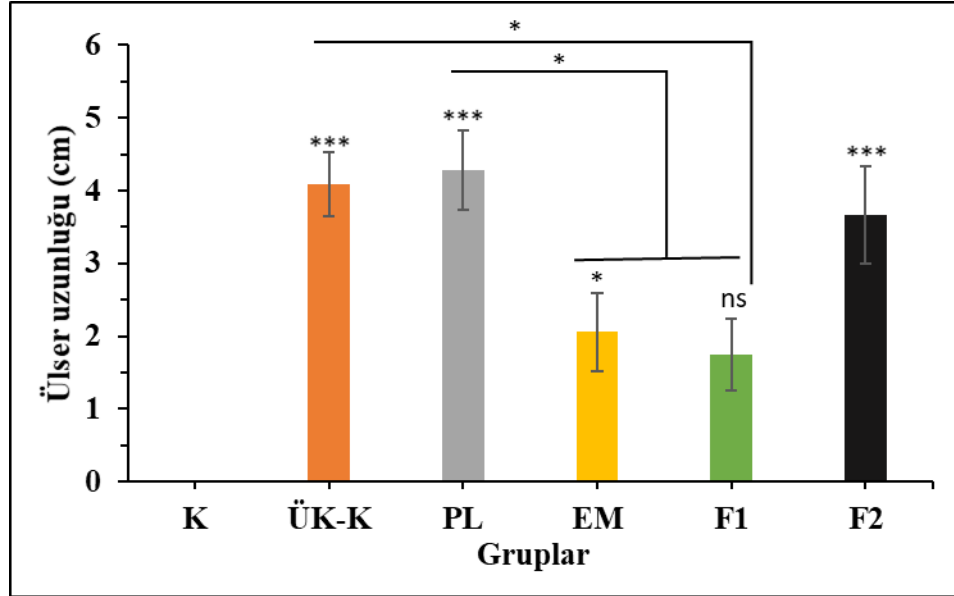
Resim 4.22. F2 Grubu-Kolit oluşturulup FLT yüklü F2 tabletleri ile tedavi edilen grup

#### Kolonik ülser uzunluklarının belirlenmesi

Kolite bağlı sıçanların kolonlarında gelişen ülser uzunluğu açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığını incelemek için elde edilen bulgular Çizelge 4.34 ve Şekil 4.63'te verilmiştir.

Çizelge 4.34. Deney gruplarındaki sıçanların kolonik ülser uzunlukları (cm, n=6-8, Ort±SS)

| K grubu | ÜK-K grubu | PL grubu | EM grubu | F1 grubu | F2 grubu |
|---------|------------|----------|----------|----------|----------|
| 0,0±0,0 | 4,1±1,1    | 4,3±1,4  | 2,1±1,5  | 1,8±1,4  | 3,7±1,6  |

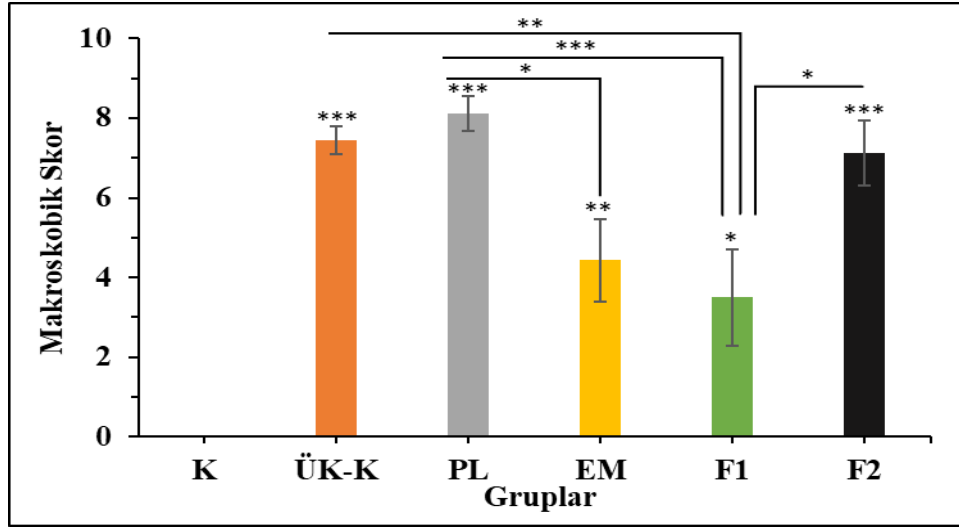
Şekil 4.63. Deney gruplarındaki sıçanların kolonik ülser uzunluklarının karşılaştırılması (K ve diğer gruplar arası yapılan kıyaslamalarda, ns:  $p>0,05$ , \*:  $p<0,05$ , \*\*\*:  $p<0,001$ )

#### Kolon dokularında makroskobik hasarın belirlenmesi

Bölüm 3.11.4'te anlatıldığı şekilde sıçanlar sakrifiye edildikten sonra alınan kolon dokusu örneklerinin makroskobik hasar değerlendirmesi yapıldı. Deney gruplarındaki sıçanlara ait kolon örneklerinin makroskobik skorları bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığını incelemek için elde edilen bulgular Çizelge 4.35 ve Şekil 4.64'te sunulmuştur.

Çizelge 4.35. Deney gruplarındaki sıçanların kolonlarına ait makroskobik skor değerleri (n=6-8, Ort±SS)

| K grubu | ÜK-K grubu | PL grubu | EM grubu | F1 grubu | F2 grubu |
|---------|------------|----------|----------|----------|----------|
| 0,0±0,0 | 7,4±1,0    | 8,1±1,2  | 4,4±2,9  | 3,5±3,4  | 7,1±2,2  |



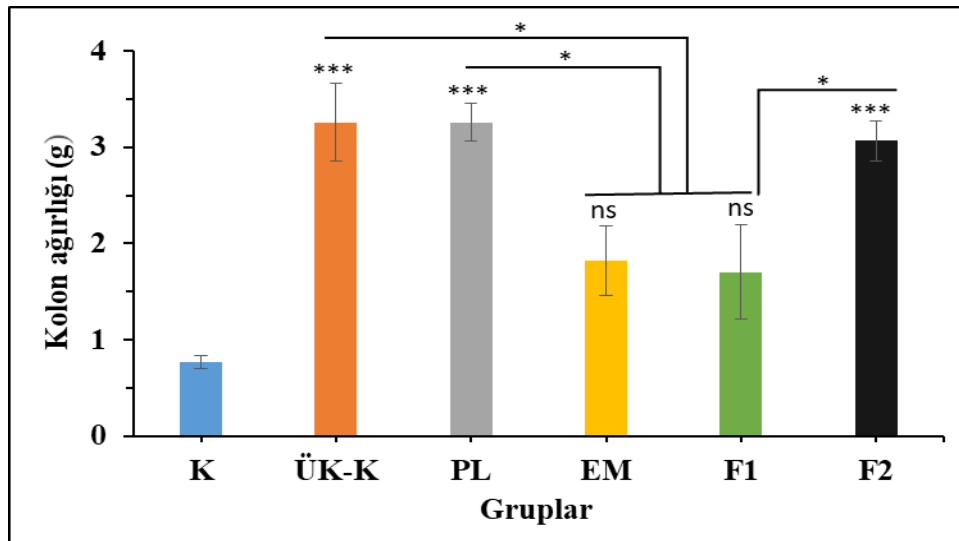
Şekil 4.64. Deney gruplarındaki sıçanların kolonlarına ait makroskobik skor değerlerinin karşılaştırılması (K ve diğer gruplar arası yapılan kıyaslamalarda, \*:  $p<0,05$ , \*\*:  $p<0,01$ , \*\*\*:  $p<0,001$ )

#### Sıçanların kolon ağırlıklarının belirlenmesi

Deney gruplarındaki sıçanların kolon ağırlıkları bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığını incelemek için elde edilen bulgular Çizelge 4.36 ve Şekil 4.65'te sunulmuştur.

Çizelge 4.36. Deney gruplarındaki sıçanların kolon ağırlıkları (g,  $n=6-8$ , Ort $\pm$ SS)

| K grubu       | ÜK-K grubu    | PL grubu      | EM grubu      | F1 grubu      | F2 grubu      |
|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 0,8 $\pm$ 0,2 | 3,3 $\pm$ 1,1 | 3,3 $\pm$ 0,6 | 1,8 $\pm$ 1,0 | 1,7 $\pm$ 1,4 | 3,1 $\pm$ 0,6 |



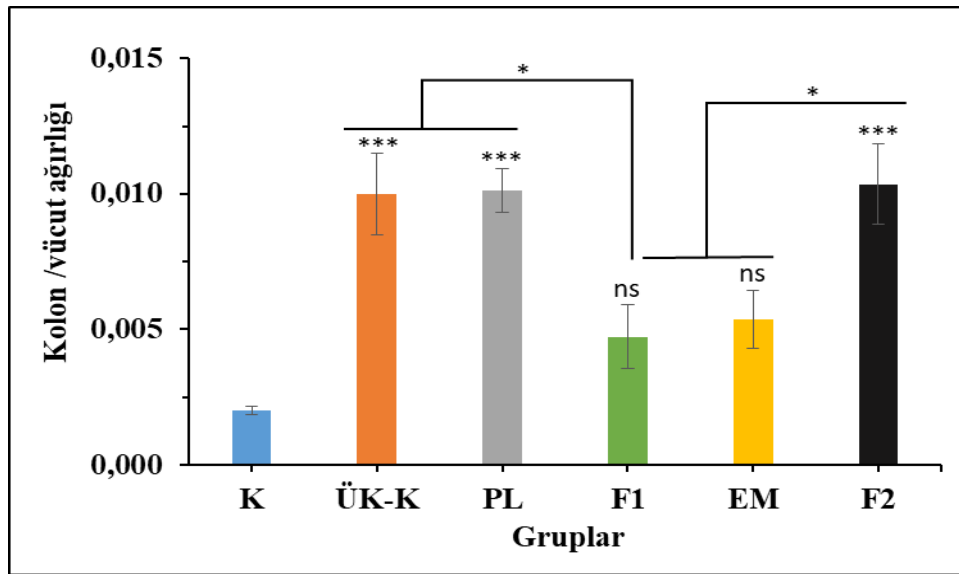
Şekil 4.65. Deney gruplarındaki sıçanların kolon ağırlıklarının karşılaştırılması (K ve diğer gruplar arası yapılan kıyaslamalarda, ns:  $p>0,05$ , \*:  $p<0,05$ , \*\*\*:  $p<0,001$ )

### Sıçanların kolon/vücut ağırlıklarının belirlenmesi

Deney gruplarındaki sıçanların kolon/vücut ağırlıkları bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığını incelemek için elde edilen bulgular Çizelge 4.37 ve Şekil 4.66'da verilmiştir.

Çizelge 4.37. Deney gruplarındaki sıçanların kolon/vücut ağırlıkları (n=6-8, Ort±SS)

| K grubu           | ÜK-K grubu      | PL grubu        | EM grubu        | F1 grubu        | F2 grubu        |
|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 0,0020<br>±0,0004 | 0,010<br>±0,004 | 0,010<br>±0,002 | 0,005<br>±0,003 | 0,005<br>±0,003 | 0,010<br>±0,004 |



Şekil 4.66. Deney gruplarındaki sıçanların kolon/vücut ağırlıklarının karşılaştırılması (K ve diğer gruplar arası yapılan kıyaslamalarda, ns: p>0,05, \*: p<0,05, \*\*\*: p<0,001)

#### 4.10.3. Kolon dokusunda yapılan histolojik çalışmalar

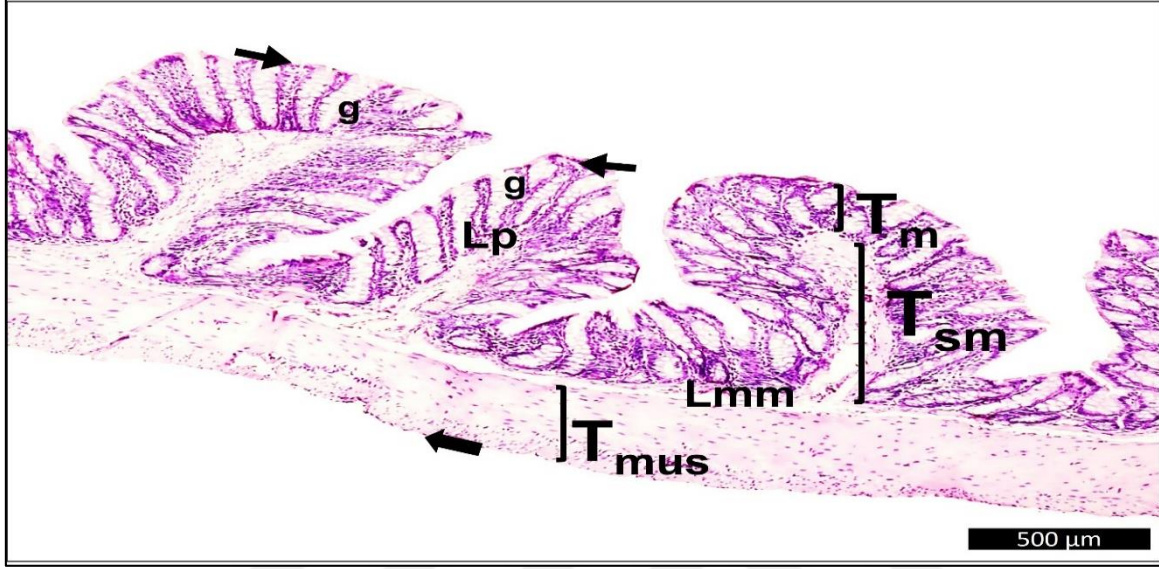
##### Kolon dokularının histolojik görüntüleri

Deney gruplarındaki sıçanların kolon dokularına ait örnekler Bölüm 3.11.5'te anlatıldığı şekilde hazırlandıktan sonra ışık mikroskopuyla görüntülenerek histolojik olarak değerlendirildi. Farklı deney gruplarında yer alan sıçanların kolon dokularına ait histolojik bulgular aşağıda verilmiştir.

##### *Grup K: Sağlıklı kontrol grubu*

Sağlıklı kontrol grubuna ait H&E ile boyanmış kolon kesitlerinde kolon histolojik yapısının normal görünüme sahip olduğu gözlemlendi. Tunika mukoza, tunika submukoza, tunika muskularis ve tunika seroza katmanları normal histolojik yapıda olduğu görüldü. Kolonik

mukoza tabakasında goblet hücrelerini ve absorbtif hücreleri içeren tek katlı prizmatik epitel ve kript yapılarının düzenli bir görünüme sahip olduğu izlendi. Lamina muskularis mukoza katmanının belirgin ve kesintisiz bir yapıda olduğu ve bu gruba ait kolon dokusunda dejeneratif değişimler olmadığı gözlemlendi (Resim 4.23 ve 4.24).

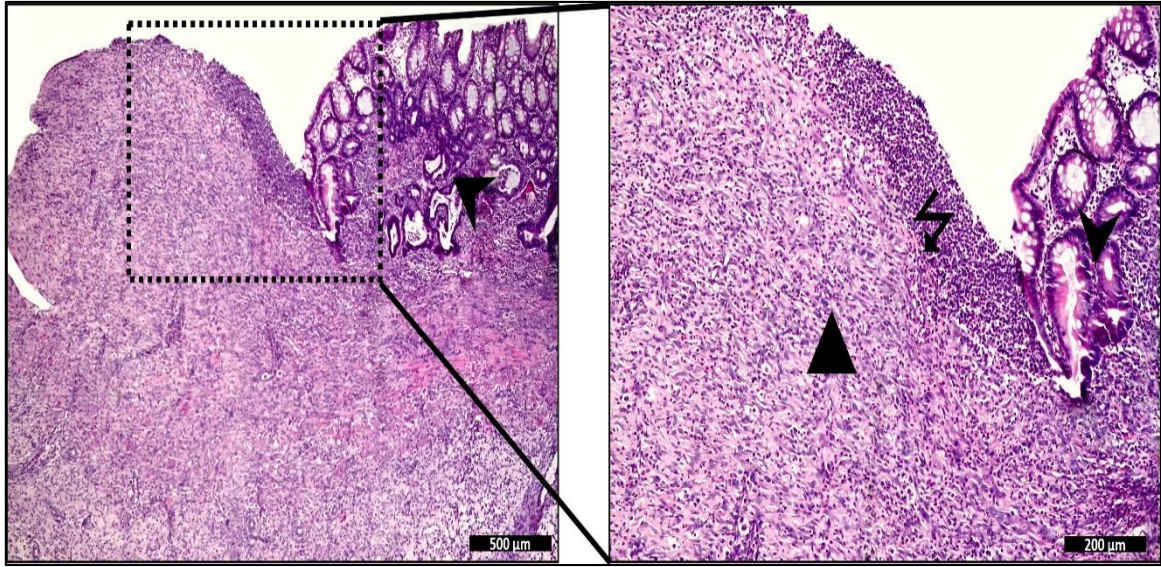


Resim 4.23. Sağlıklı kontrol grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüsü (Hematoksilen-Eozin boyama, Büyütme x40) (←: Tek katlı prizmatik epitel, g: Goblet hücresi, Lp: Lamina propria, T<sub>m</sub>: Tunika mukoza, Lmm: Lamina muskularis mukoza, T<sub>sm</sub>: Tunika submukoza, T<sub>mus</sub>: Tunika muskularis, ←: Tunika seroza)



Resim 4.24. Sağlıklı kontrol grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüleri (Hematoksilen-Eozin boyama, Büyütme Sol x40, Sağ x100) (←: Tek katlı prizmatik epitel, T<sub>m</sub>: Tunika mukoza, Lmm: Kesintisiz lamina muskularis mukoza, T<sub>sm</sub>: Tunika submukoza)

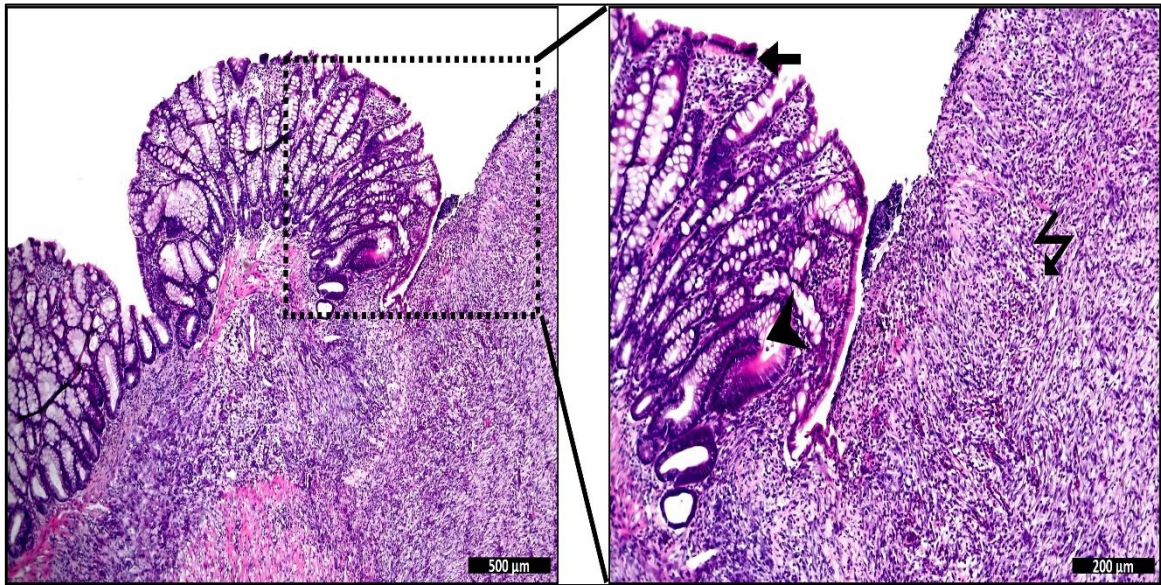




Resim 4.26. ÜK-K grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüleri (Hematoksilen-Eozin boyama, Büyütme Sol x40, Sağ x100) (↗: İnflamatuvar hücre infiltrasyonu, ▲: ülserasyon, ◄: kript distorsiyonu)

*Grup PL: Plasebo tablet uygulanan grup*

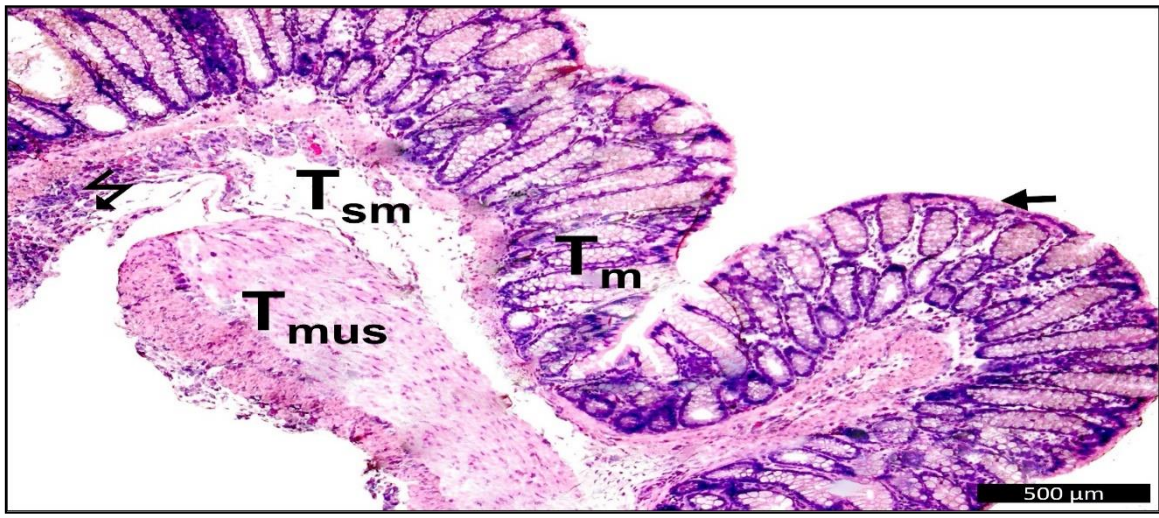
Plasebo tablet uygulanan PL grubuna ait kolon kesitlerinde kontrol grubuna göre artan inflamasyon, kript hasarı, yoğun ülserasyon ve bazı alanlarda ödem dikkati çekti. Tek katlı prizmatik epitelde hücre kaybı ve ülserasyon alanında yoğun lenfosit infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 4.27).



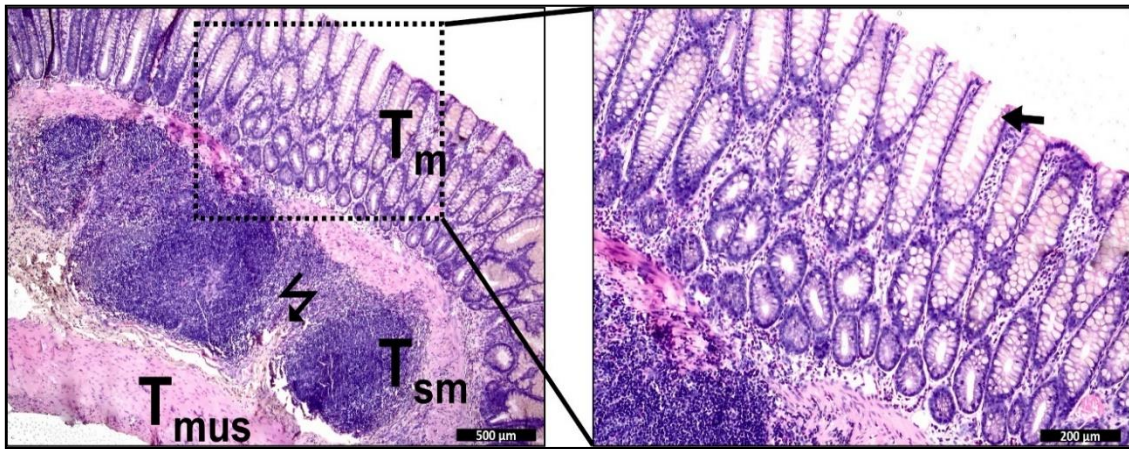
Resim 4.27. PL grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüleri (Hematoksilen-Eozin boyama, Büyütme Sol x40, Sağ x100) (◄: Hücre kaybının izlendiği tek katlı prizmatik epitel, ↗ : Ülserasyon alanında inflamasyon, ◄: Kript distorsiyonu)

*Grup EM: FLT süspansiyonu uygulanan grup*

FLT süspansiyonu uygulanan EM grubuna ait kolon kesitlerinde kolonik mukoza ve kript hasarında azalma, ülserasyon alanlarında küçülme ve inflamasyon yoğunluğunda düşüş dikkati çekti. Bazı alanlarda lenfosit infiltrasyonu ve epitel bütünlüğünde bozulmanın ÜK-K grubuna göre azaldığı ancak devam ettiği izlendi. Lenfosit infiltrasyonunun Tunika submukoza ile sınırlı olduğu gözlemlendi. Lamina muskularis ve tunika muskularis tabakalarının ayırt edilebildiği görüldü (Resim 4.28 ve 4.29).



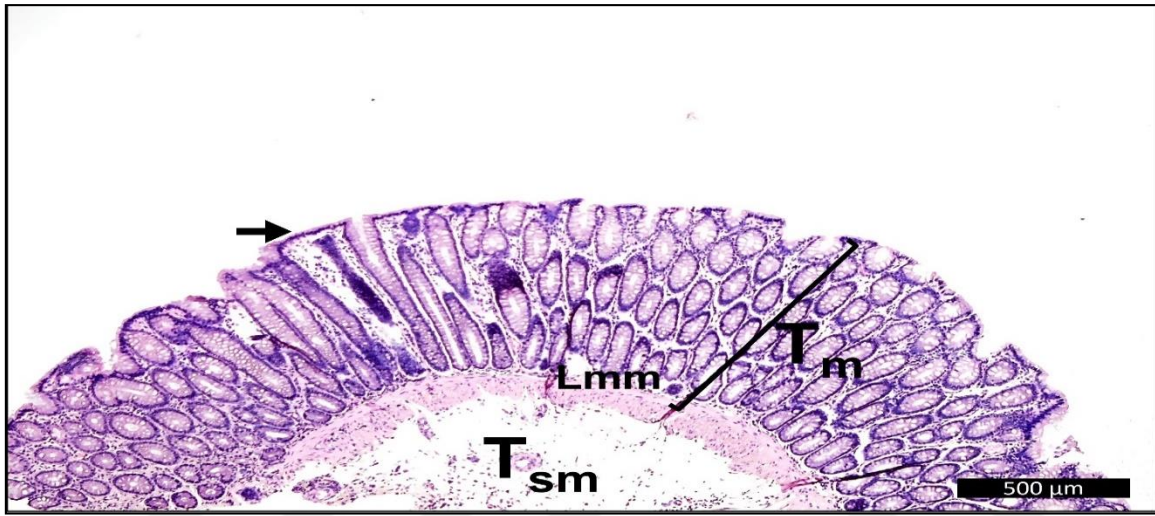
Resim 4.28. EM grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüsü (Hematoksilen-Eozin boyama, Büyütme x40) (←: Tunika mukoza ( $T_m$ ) tabakasında yapısal bütünlüğün korunduğu tek katlı prizmatik epitel, ↗: Tunika submukoza ( $T_{sm}$ ) ile sınırlı lenfosit infiltrasyonu)



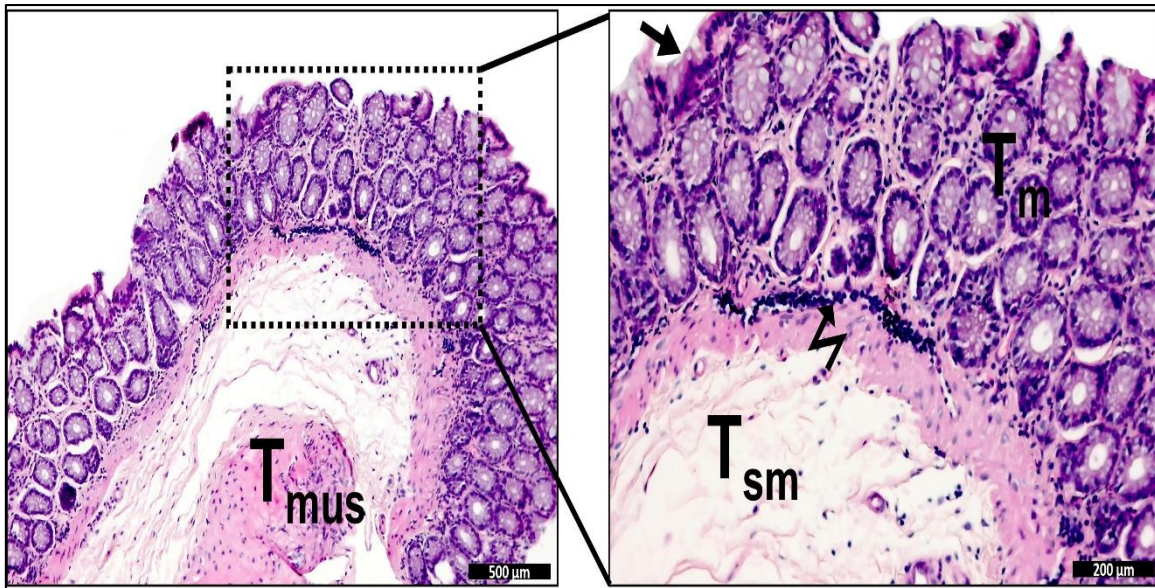
Resim 4.29. EM grubuna ait HE ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüleri (Hematoksilen-Eozin boyama, büyütme Sol x40, Sağ x100) (←: Prizmatik hücrelerin ve goblet hücrelerinin net olarak ayırt edildiği tek katlı prizmatik epitel, ↗: Tunica submukozada ( $T_{sm}$ ) izlenen lenfosit infiltrasyonu)

*Grup F1: FLT yüklü F1 tableti uygulanan grup*

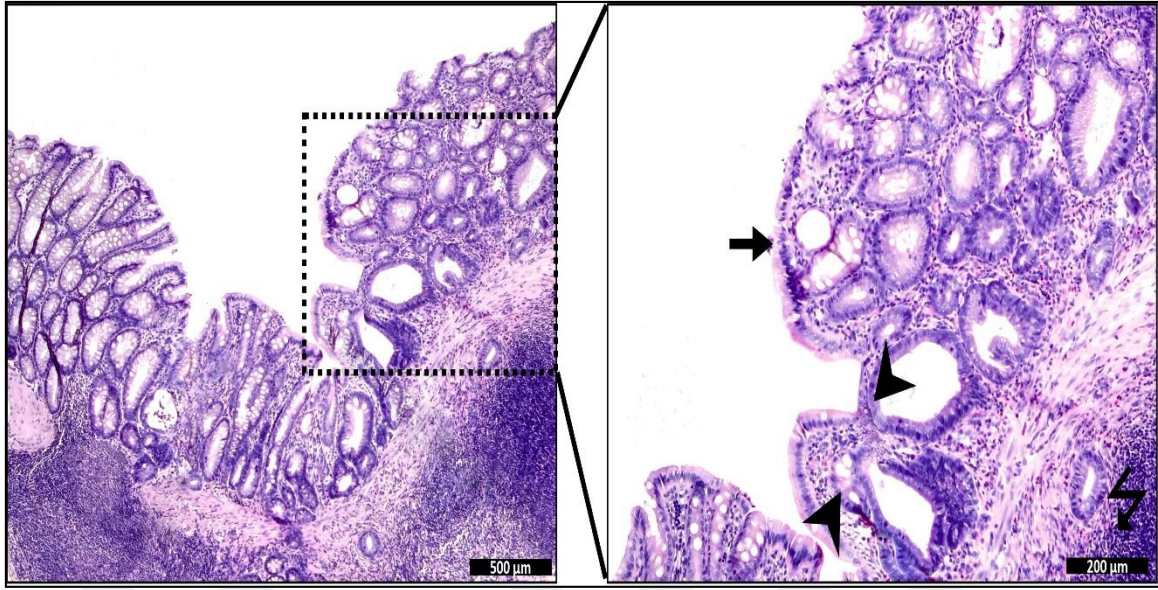
F1 grubuna ait kesitlerde kolonik mukoza hasarının ve infiltratif hücre yoğunluğunun önemli ölçüde azaldığı dikkat çekti. Bazı kesitlerde inflamasyonun sadece tunika mukoza katmanında ve oldukça sınırlı olduğu izlendi. Tunika mukoza, tunika submukoza ve tunika muskularis tabakalarının yapısal bütünlük gösterdiği görüldü. Lamina muskularis mukoza katmanının normal görünümde ve kesintisiz bir yapıda olduğu gözlemlendi (Resim 4.30-4.32).



Resim 4.30. F1 grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüsü (Hematoksilen-Eozin boyama, Büyütme x40) (←: Tek katlı prizmatik epitel, T<sub>m</sub>: Tunika mukoza, Lmm: Lamina muskularis mukoza, T<sub>sm</sub>: Tunika Submukoza)



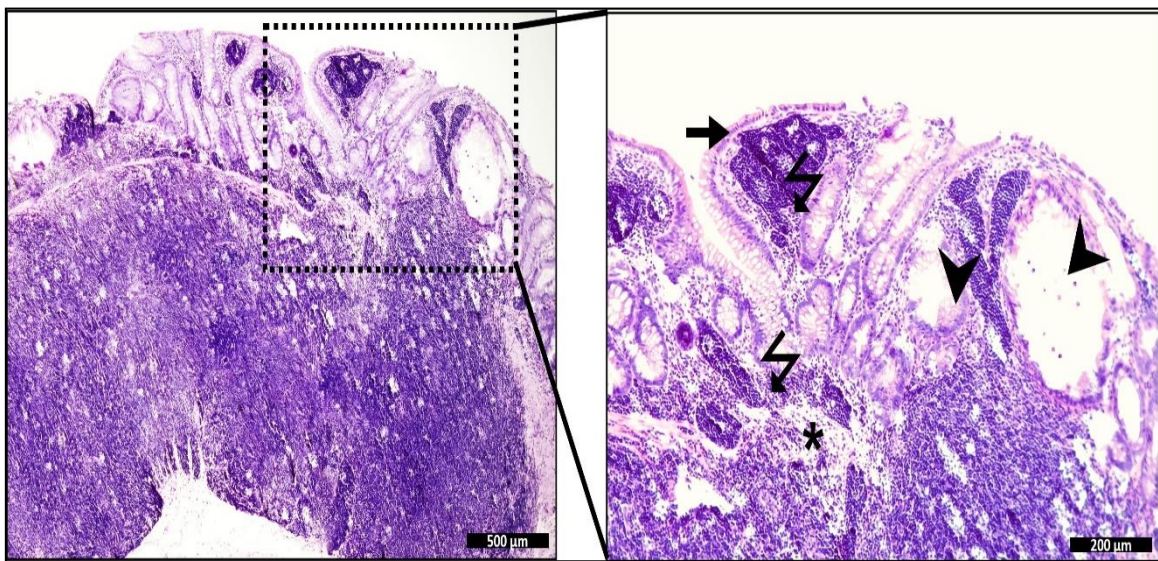
Resim 4.31. F1 grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüleri (Hematoksilen-Eozin boyama; Büyütme Sol x40, Sağ x100) (←: Tek katlı prizmatik epitel, ⚡: Tunika mukoza (T<sub>m</sub>) ile sınırlı, azalmış inflamatuvar hücre infiltrasyonu)



Resim 4.32. F1 grubuna ait HE ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüleri (Hematoksilen-Eozin boyama, Büyütme Sol x40, Sağ x100). ←: Tek katlı prizmatik epitel ↘: Azalmış inflammatuar hücre infiltrasyonu ◀: Azalmış kript hasarı

*Grup F2 :FLT yüklü F2 tableti uygulanan grup*

F2 grubuna ait kolon kesitlerinde ülserasyon, tunika mukoza, tunika submukoza ve bazı alanlarda seroza katmanlarını da içeren yoğun ve fokal inflamasyon alanları izlendi. Bazı alanlarda kolonik mukozada tek katlı prizmatik epitel hücrelerinde kayıp izlenirken, kript distorsiyonu ve ödem dikkati çekti (Resim 4.33).



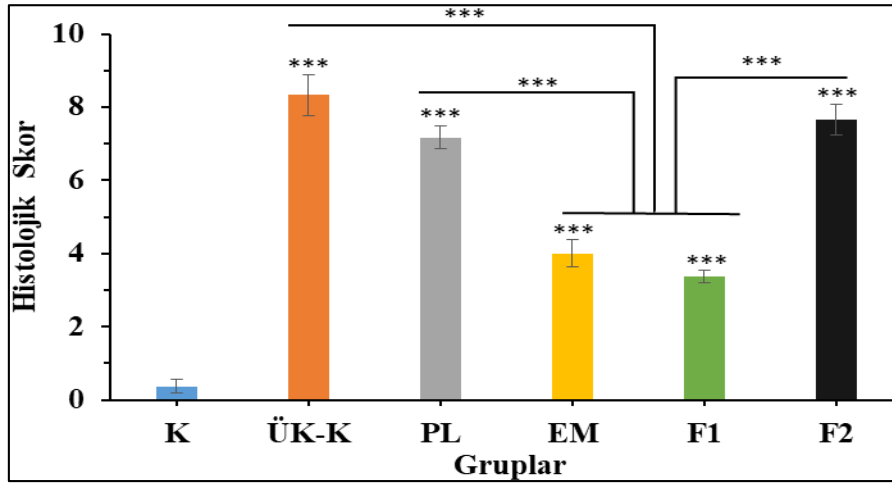
Resim 4.33. F2 grubuna ait H&E ile boyanmış kolon dokusu histolojik görüntüleri (Hematoksilen-Eozin boyama, Büyütme Sol x40, Sağ x100) (←: Tek katlı prizmatik epitel, ↘: İnflammatuar hücre infiltrasyonu, ◀: Kript distorsiyonu, \*: ödem)

### Kolon dokusu örneklerinin histolojik hasar skoru

Sıçanların kolon dokularına ait histolojik görüntüler değerlendirilerek tüm dokular için Bölüm 3.11.5'te anlatıldığı şekilde histolojik hasar skoru belirlenmiştir. Deney gruplarındaki sıçanların histolojik hasar skorları bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığını incelemek için elde edilen bulgular Çizelge 4.38 ve Şekil 4.67'de verilmiştir.

Çizelge 4.38. Deney gruplarındaki sıçanların histolojik hasar skorları (n=6-8, Ort±SS)

| K grubu | ÜK-K grubu | PL grubu | EM grubu | F1 grubu | F2 grubu |
|---------|------------|----------|----------|----------|----------|
| 0,4±0,5 | 8,3±1,4    | 7,2±0,3  | 4±0,4    | 3,4±0,5  | 7,7±1,0  |



Şekil 4.67. Deney gruplarındaki sıçanların histolojik hasar skorlarının karşılaştırılması (K ve diğer gruplar arası yapılan kıyaslamalarda, \*\*\*: p<0,001)

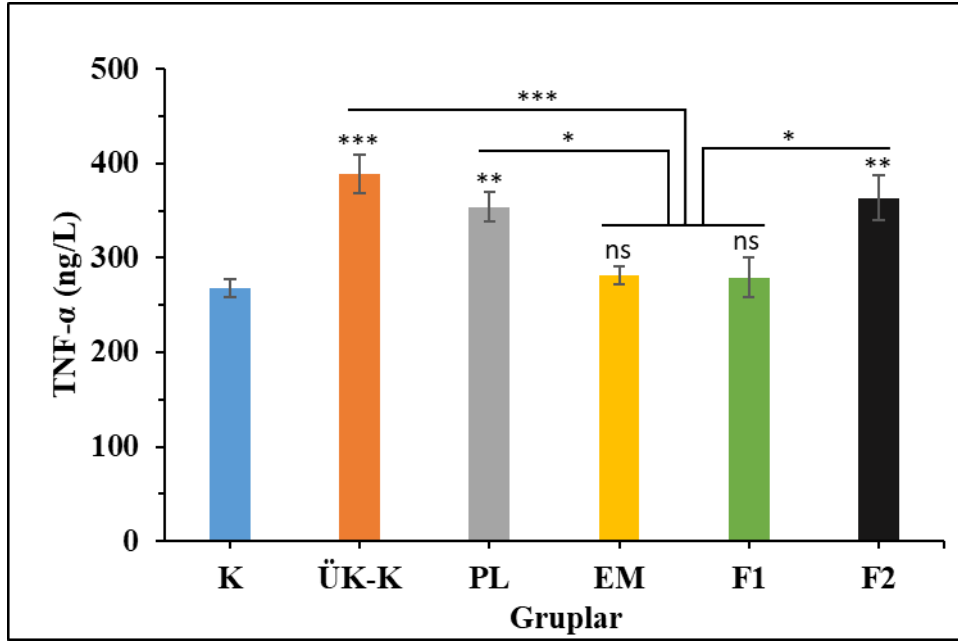
#### 4.10.4. Kolon mukozasında yapılan biyokimyasal çalışmalar

##### TNF-α düzeyleri

ELISA yöntemi kullanılarak Bölüm 3.11.6'da anlatıldığı gibi gerçekleştirilen analizler sonucunda deney gruplarında yer alan sıçanların kolon mukozalarındaki TNF-α değerleri belirlendi. TNF-α düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığını incelemek elde edilen bulgular Çizelge 4.39 ve Şekil 4.68'de verilmiştir.

Çizelge 4.39. Deney gruplarındaki sıçanların kolon mukozalarındaki TNF-α düzeyleri (ng/L, n=6-8, Ort±SS)

| K grubu    | ÜK-K grubu | PL grubu   | EM grubu   | F1 grubu   | F2 grubu   |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 268,1±39,0 | 388,9±88,2 | 354,0±71,9 | 281,2±71,9 | 279,1±90,0 | 363,1±89,2 |



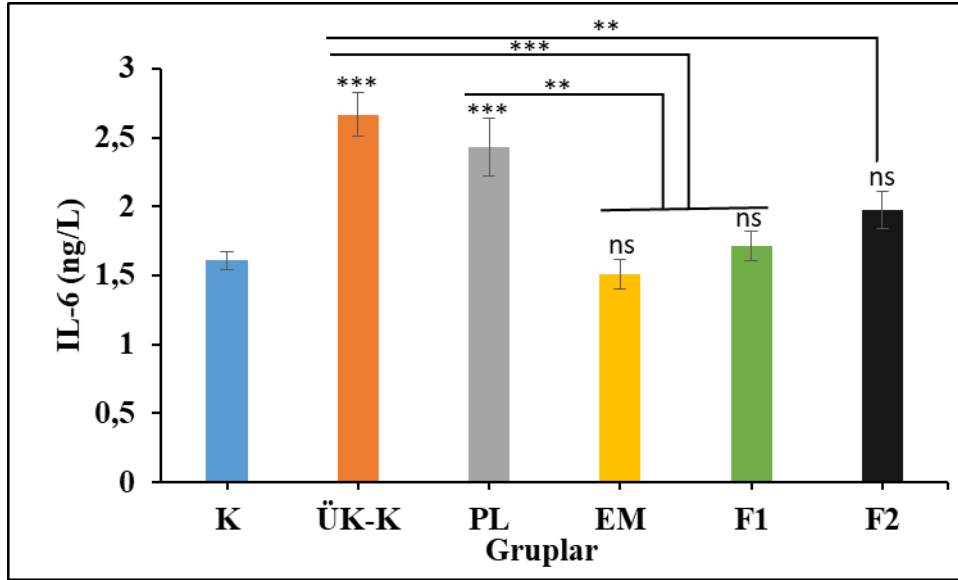
Şekil 4.68. Deney gruplarındaki sıçanların kolon mukozalarındaki TNF- $\alpha$  düzeylerinin karşılaştırılması (K ve diğer gruplar arası yapılan kıyaslamalarda, ns:  $p>0,05$ , \*:  $p<0,05$ , \*\*:  $p<0,01$ , \*\*\*:  $p<0,001$ )

#### IL-6 düzeyleri

ELISA yöntemi kullanılarak Bölüm 3.11.6’da anlatıldığı gibi gerçekleştirilen analizler sonucunda deney gruplarında yer alan sıçanların kolon mukozalarındaki interlökin-6 ( IL-6) değerleri belirlendi. IL-6 düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığını incelemek elde edilen bulgular Çizelge 4.40 ve Şekil 4.69’da verilmiştir.

Çizelge 4.40. Deney gruplarındaki sıçanların kolon mukozalarındaki IL-6 düzeyleri (ng/L,  $n=6-8$ , Ort $\pm$ SS)

| K grubu       | ÜK-K grubu    | PL grubu      | EM grubu      | F1 grubu      | F2 grubu      |
|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 1,6 $\pm$ 0,3 | 2,7 $\pm$ 0,8 | 2,4 $\pm$ 1,0 | 1,5 $\pm$ 0,5 | 1,7 $\pm$ 0,5 | 2,0 $\pm$ 0,6 |



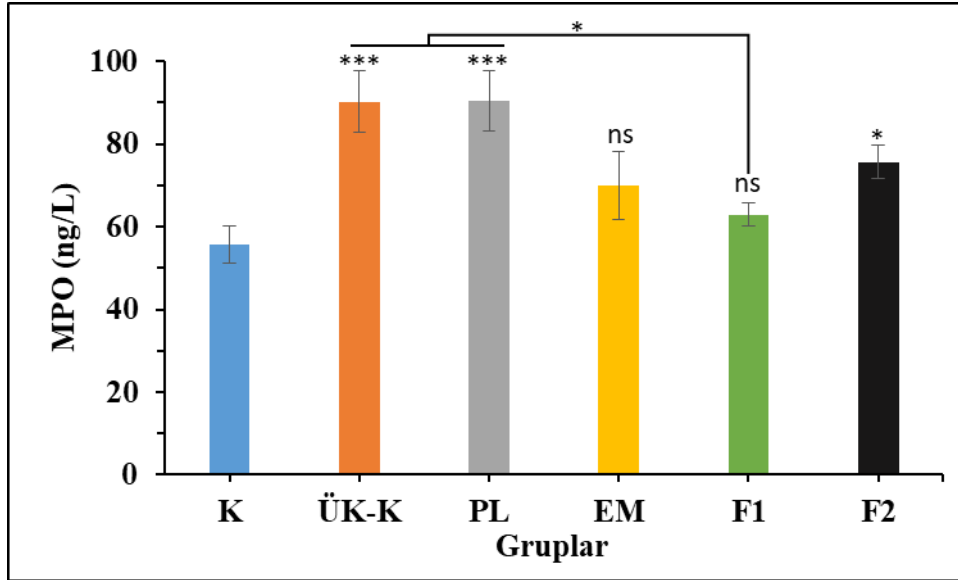
Şekil 4.69. Deney gruplarındaki sıçanların kolon mukozalarındaki IL-6 düzeylerinin karşılaştırılması (K ve diğer gruplar arası yapılan kıyaslamalarda, ns:  $p > 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*\*\*:  $p < 0,001$ )

#### MPO düzeyleri

Kalorimetrik yöntem kullanılarak Bölüm 3.11.6'da anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen analizler sonucunda deney gruplarında yer alan sıçanların kolon mukozalarındaki MPO değerleri belirlendi. MPO düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığını incelemek için elde edilen bulgular Çizelge 4.41 ve Şekil 4.70'te verilmiştir.

Çizelge 4.41. Deney gruplarındaki sıçanların kolon mukozalarındaki MPO düzeyleri (ng/L,  $n=6-8$ , Ort $\pm$ SS)

| K grubu         | ÜK-K grubu      | PL grubu        | EM grubu        | F1 grubu        | F2 grubu        |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 55,7 $\pm$ 12,3 | 90,3 $\pm$ 41,7 | 89,2 $\pm$ 29,9 | 69,9 $\pm$ 35,4 | 62,5 $\pm$ 11,2 | 83,3 $\pm$ 16,9 |



Şekil 4.70. Deney gruplarındaki sıçanların kolon mukozalarındaki MPO düzeylerinin karşılaştırılması (K ve diğer gruplar arası yapılan kıyaslamalarda, ns:  $p > 0,05$ , \*:  $p < 0,05$ , \*\*\*:  $p < 0,001$ )



## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Etkin Madde Miktar Tayini Yöntemi ve Validasyonu

#### 5.1.1. Miktar tayin yöntemi

Flutikazon propiyonatın miktar tayini için İngiliz Farmakopesinde (BP, 2009) yer alan HPLC yöntemi kullanıldı. Etkin maddenin çalışma çözeltisi ve çözünme hızı ortamlarında elde edilen kromatogramları benzer olduğundan farmakopede belirtilen yöntemde herhangi bir modifikasyon yapılmaksızın çözünme hızı çalışmaları için kullanımının uygun olduğu düşünülmüştür (Bkz. Şekil 4.1-4.4). Benzer şekilde Thakral ve diğerleri (2012) flutikazon propiyonatın İngiliz farmakopesinde yer alan aynı miktar tayin yöntemini pH 7,4 ortamında yaptıkları çözünme hızı çalışmaları için kullanmıştır.

#### 5.1.2. Analitik yöntem validasyonu

Flutikazon propiyonatın miktar tayini için kullanılan analiz yöntemi ICH Q2 (R1) kılavuzuna uygun bir şekilde valide edilerek yöntemin güvenilirliği kanıtlanmıştır.

Kullanılan analiz yöntemi sistem uygunluğu açısından değerlendirildi. Elde edilen sonuçlara göre pik alanlarının varyasyon katsayısının %2'den küçük, kuyruklanma faktörünün 1,5'tan küçük ve teorik plaka sayısının 3000'den büyük olması sistem uygunluğunu kanıtlamaktadır (Bkz. Çizelge 4.1).

Bir analitik yöntemin doğrusallığı bir numudeki maddenin konsantrasyonu ile kullanılan analiz yönteminden elde edilen cevabın belli sınırlar içerisinde orantılı olmasıdır. Yapılan çalışmada flutikazon propiyonatın 0,1-60 µg/mL aralığında belirlenen konsantrasyonları ile pik alanları arasındaki ilişkinin doğrusallığı kalibrasyon doğrusu çizilerek gösterildi (Bkz. Çizelge 4.2). Elde edilen kalibrasyon doğrusunun  $R^2$  değerinin 1'e yakın olması kullanılan analitik yöntemin doğrusallığını göstermektedir ( $R^2=0,9999$ ) (Bkz. Şekil 4.5).

Bir analitik yöntemin doğruluğu yöntem kullanılarak elde edilen analiz sonuçlarının gerçek değere yakınlığının ölçüsüdür ve % geri kazanım ile ifade edilmektedir. Yapılan validasyon çalışmasında geri kazanımın %99-101 aralığında değişmesi ve varyasyon katsayısının %2'den küçük olması kullanılan yöntemin doğruluğunu kanıtlamaktadır (Bkz. Çizelge 4.3).

Bir analitik yöntemin kesinliği yöntem kullanılarak tekrarlanan ölçümlerden elde edilen sonuçların birbiriyle olan tutarlılığının ölçüsüdür. Bu çalışmada kullanılan yöntemin kesinliği tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik ölçütleriyle değerlendirildi. Her iki ölçüt için tekrarlanan ölçüm sonuçlarına ait varyasyon katsayılarının %2'den küçük olması kullanılan yöntemin kesinliğini göstermektedir (Bkz. Çizelge 4.4 ve 4.5).

Bir analitik yöntemin seçiciliği yöntem kullanılarak analiz edilmesi amaçlanan maddeden alınan cevabın diğer tüm cevaplardan ayrılma ölçüsü olarak tanımlanmaktadır. Kullanılan yöntemin seçiciliği seyreltme çözeltisi, metanol, asetonitril, pH 3,5 tamponu ve plasebo tabletlerde yer alan yardımcı maddelerin flutikazon propiyonatla girişim yapan herhangi bir pike sahip olmadığı gösterilerek kanıtlanmıştır (Bkz. Şekil 4.6-4.10).

Bir analitik yöntemin sağlamlığı yöntemin çalışma parametrelerinde planlı olarak yapılan küçük değişikliklerden etkilenmeden, güvenilir sonuçlar vermesi olarak tanımlanmaktadır. Bu validasyon çalışmasında mobil faz olarak kullanılan metanol ve asetonitril oranlarında, kolon sıcaklığında ve mobil faz olarak kullanılan tampon pH'sında yapılan küçük değişiklikler sonucu oluşturulan yeni yöntemler ve mevcut yöntemle yapılan analiz sonuçlarının varyasyon katsayısının %2'den küçük olması kullanılan yöntemin sağlamlığını kanıtlamıştır (Bkz. Çizelge 4.6).

Bir analitik yöntem için hesaplanan LOD değeri, yöntemin bir numunede saptayabildiği en düşük madde miktarını ifade ederken; LOQ değeri yöntemin bir numunede kantitatif olarak tayin edilebildiği en düşük madde miktarını ifade etmektedir. Kullanılan analiz yöntemi için hesaplanan LOD ve LOQ değerlerinin kalibrasyon eğrisindeki en küçük derişimin altında olması bu yöntemin flutikazon propiyonatın tayininde güvenilir bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.

## 5.2. Önformülasyon Çalışmaları

Flutikazon propiyonatın formülasyon geliştirme çalışmalarına başlamadan önce fizikokimyasal özellikleri karakterize edilmiştir. Bu amaçla flutikazon propiyonatın partikül büyüklüğü, farklı ortamlardaki çözünürlüğü, DSC analiziyle erime derecesi, TGA analiziyle degradasyon sıcaklığı, XRD analiziyle polimorfik formu ve FT-IR analiziyle kimyasal yapısındaki fonksiyonel gruplar tayin edilmiştir. Bu çalışmalar formülasyon geliştirme çalışmalarında kullanılan yardımcı maddeler ve yöntemin etkin maddenin yapısında herhangi bir değişiklik yapıp yapmadığını göstermesi açısından önemlidir. Ayrıca önformülasyon çalışmalarında 3D tablet üretim prosesinde

uygulanan sıcaklıkların etkisini değerlendirmek için optimum formülasyonlarda yer alan tüm yardımcı maddelerin DSC, TGA ve FT-IR analizleri gerçekleştirilmiştir.

### 5.2.1. Etkin maddenin partikül büyüklüğünün analizi

Partikül büyüklüğü ve dağılımı genel olarak geliştirilen dozaj formlarının içerik tekdüzeliği ve çözünme hızı gibi kalite özelliklerini, stabilitesini ve biyoyararlanımını etkilemektedir. Dolayısıyla önformülasyon çalışmalarında etkin maddenin partikül büyüklüğü dağılımının belirlenmesi önemlidir. Çalışmamızda flutikazon propiyonat etkin maddesi için elde edilen bulgulara göre partiküllerin %10'u  $5,50 \pm 0,23 \mu\text{m}$ 'nin altında, %16'sı  $8,16 \pm 0,35 \mu\text{m}$ 'nin altında, %50'si  $23,28 \pm 1,14 \mu\text{m}$ 'nin altında, %84'ü  $44,94 \pm 2,74 \mu\text{m}$ 'nin altında ve %90'ı  $51,79 \pm 3,36 \mu\text{m}$ 'nin altında bulunmuştur. Ayrıca flutikazon propiyonatın ortalama partikül büyüklüğü  $23,28 \pm 1,93 \mu\text{m}$  olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar ortalama partikül büyüklüğünün küçük ve partikül büyüklüğü dağılımının dar olduğunu göstermektedir (Bkz. Şekil 4.11).

Etkin madde partikül büyüklüğü dağılımının filament ve 3D tablet üretimi üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, daha büyük partikül büyüklüğüne sahip kristal yapıdaki ilaç partiküllerinin daha pürüzlü bir yüzeye sahip filament eldesine sebep olduğu ve etkin madde oranı arttıkça filamentlerin yüzey pürüzlülüğünün arttığı belirtilmiştir. Bu çalışmada sadece öğütülmüş ince toz halindeki etkin maddenin yüklü olduğu filamentlerin 3D yazıcıda basılabilir kalitede olduğu gösterilmiştir (Verstraete ve diğerleri, 2018). Filamentlerin pürüzlü bir yüzeye sahip olmaları filament çapında yüksek değişkenliğe dolayısıyla bu filamentlerle basılan tabletlerin ağırlık sapmasının da yüksek olmasına neden olmaktadır. Bunun yanısıra etkin madde partikül büyüklüğü dağılımının dar olması ekstrüde edilecek tozların homojenitesi dolayısıyla elde edilen filament ve tabletlerin içerik tekdüzeliği açısından da önemlidir (Crisan ve diğerleri, 2022; Quodbach ve diğerleri, 2022). Bölüm 4.4'te sunulan filament ve tablet karakterizasyon çalışmalarından elde edilen veriler değerlendirildiğinde kristal yapıdaki flutikazon propiyonatın filament ve tabletlerin kalite özelliklerini olumsuz etkilemediği açıktır. Bu sonuçların çalışmada kullanılan etkin maddenin ortalama partikül büyüklüğünün küçük ve partikül büyüklüğü dağılımının dar olmasının yanısıra filamentlere düşük oranda (%5) etkin madde yüklenmesiyle de ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

### 5.2.2. Etkin maddenin çözünürlük tayini

Flutikazon propiyonatın saf su ve diğer tampon ortamlarındaki çözünürlüğü kullanılan HPLC yöntemiyle analiz edilemediğinden çözünürlük değerlerinin kalibrasyon doğrusundaki en düşük konsantrasyonun altında olduğu düşünülmüştür. Bu bulgular aynı HPLC miktar tayin yöntemi kullanılarak flutikazon propiyonatın sudaki çözünürlüğünün araştırıldığı bir literatür çalışmasıyla uyumludur (Dai ve diğerleri, 2015). Benzer şekilde bir diğer çalışmada flutikazon propiyonatın sudaki çözünürlüğünün çok düşük olduğu ( $<100$  ng/mL) ve analizinin HPLC-MS (kütle dedektörlü yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) yöntemi gerektirdiği belirtilmiştir (Davies ve Feddah, 2003). Sonuç olarak etkin maddenin pH 1,2; pH 6,8 ve pH 7,4 ortamlarındaki çözünürlüklerinin  $0,1$  µg/mL'den düşük olduğu görülmüştür (Bkz. Çizelge 4.7). Elde edilen bulgular USP çözünürlük kriterlerine göre değerlendirildiğinde flutikazon propiyonatın saf su, pH 1,2; pH 6,8 ve pH 7,4 ortamlarında pratik olarak çözünmediği söylenebilir.

Etkin madde çözünme hızı çalışmalarında kullanılacak tampon ortamlarında (pH 1,2; pH 6,8 ve pH 7,4) pratik olarak çözünmediğinden; çözünme hızı ortamlarına sink koşulunun sağlanması için sürfaktan olarak SLS eklenmiştir. Suda çözünürlüğü düşük ilaçlar için çözünme hızı yöntemi geliştirilirken çözünme hızı ortamının seçimi kritiktir. Ortama salınan etkin maddenin çözünme hızı, etkin maddenin çözünürlüğü tarafından kontrol edileceğinden, çözünürlüğü düşük bir etkin madde içeren dozaj formunun in vitro salımı üzerine formülasyonun etkisini değerlendirmek zordur. Düşük çözünürlüğe sahip ilaçların çözünme hızı çalışmalarında çözünme ortamının sink koşulunu sağlaması yani ilacın doygunluk konsantrasyonunun, çözünme hızı ortamındaki ilacın oluşturduğu maksimum konsantrasyonun en az 3-10 katı olması, güvenilir ve tekrarlanabilir bir in vitro çözünme hızı testi için oldukça önemlidir (Bhatt ve diğerleri, 2020). Çözünme ortamının sink koşulunu sağlaması için çözünme ortamı hacminin artırılması, çözünme ortamına alkol, diğer organik solvanlar veya sürfaktanların eklenmesi gibi farklı yöntemler kullanılmıştır (Mohamed, Sridhar, Siram ve Elumalai, 2021). Ancak yaygın olarak kullanılan ve ilaç otoriteleri tarafından kabul gören yöntem çözünme ortamına sürfaktanların eklenmesidir. İn vivo'da GİS'deki safra tuzları ilacın çözünürlüğünü artırarak doğal sürfaktan görevi görmesine rağmen rutin in vitro analizlerde safra tuzları yüksek maliyetinden dolayı kullanılmamaktadır. FDA SLS, Brij Tween ve setiltriemonyum bromür gibi sürfaktanların kullanımını uygun bulmakla birlikte SLS daha yaygın kullanılmıştır (Mohamed ve diğerleri, 2021; Noory, Tran, Ouderkirk ve Shah, 2000). Bu çalışmada çözünme hızı ortamlarına eklenmek üzere sürfaktan olarak SLS seçilmiştir.

Süpfaktan seçiminin yanı sıra süpfaktan konsantrasyonu geliştirilen çözünme hızı yönteminin hassasiyeti açısından önemlidir. Süpfaktan konsantrasyonu arttıkça çözünme hızı yönteminin hasasiyeti azalır, yani yöntemin çözünme profilleri arasındaki farkı ortaya çıkarma gücü azalır. Bu nedenle sink koşulunu sağlayan minimum konsantrasyonda süpfaktan kullanımı önemlidir (Bhatt ve diğerleri, 2020). Genellikle aşamalı olarak artan miktarlarda süpfaktan kullanımı değerlendirilir. FDA çoğu ilaç için kritik misel konsantrasyonunun altında düşük miktarlarda süpfaktan kullanımının yeterli olduğunu göstermiştir (Noory ve diğerleri, 2000). Bu çalışmada çözünme ortamlarına eklenecek SLS'nin konsantrasyonunu belirlemek için etkin maddenin artan konsantrasyonlarda (%2, %3 ve %4) SLS içeren çözünme hızı ortamlarında (pH 1,2; pH 6,8 ve pH 7,4) çözünürlük çalışması yapılmıştır. Çözünürlük tayininde elde edilen bulgular incelendiğinde literatürle uyumlu olarak ortamdaki SLS oranı arttıkça etkin maddenin çözünürlüğünün arttığı görülmüştür (Bkz. Çizelge 4.8-4.10) (Bajerski, Rossi, Dias, Bergold ve Froehlich, 2010; Shah ve diğerleri, 1989). Süpfaktanların yüzey etkin madde görevi görerek ve kritik misel konsantrasyonunun üzerinde miseller çözünürlük sağlayarak iki farklı mekanizmayla hidrofobik etkin maddelerin çözünürlüğünü artırdığı bilinmektedir. Dolayısıyla çözünme hızı ortamına eklenen SLS yüzey gerilimini düşürerek flutikazon propiyonatın ıslanabilirliğini dolayısıyla çözünürlüğünü artırmıştır. Bunun yanı sıra SLS'nin kritik misel konsantrasyonunun yaklaşık olarak %0,2 olduğu göz önüne alındığında %2, %3 veya %4 oranında kullanılan SLS'nin miselizasyon ile etkin maddenin çözünürlüğünü artırdığı açıktır (Jain, Ran ve Yalkowsky, 2004; Mohamed ve diğerleri, 2021). Bu çalışmada sink koşulunun sağlanması için çözünme hızı ortamına eklenecek minimum SLS konsantrasyonu sink indeksi değerine göre belirlenmiştir. Sun, Ju ve Lee (2012) sink indeksi değerini dozaj formundaki ilaç dozunun tamamı çözüldüğünde çözünme ortamındaki ilacın konsantrasyonunun ilacın doyumluk çözünürlüğüne oranı olarak tanımlamıştır. Bu değerin 3'ten büyük olması sink koşulunu ifade ederken, üçten küçük olması non-sink koşullarını ifade etmektedir (Schver ve Lee, 2021; Sun ve diğerleri, 2012). %2, %3 ve %4 SLS içeren çözünme ortamlarının sink indeksleri değerlendirildiğinde çalışılan tüm SLS konsantrasyonlarında sink indeksi değerinin 3'ten büyük olduğu ve SLS konsantrasyonu arttıkça SI'nin arttığı görülmektedir (Bkz. Çizelge 4.8-4.10). Bu çalışmada belirlenen 10 mg'lık ilaç dozu için pH 1,2; pH 6,8 ve pH 7,4 çözünme hızı ortamlarında sink koşulunu sağlayan minimum SLS konsantrasyonu %2 olarak tespit edilmiştir.

### 5.2.3. DSC analizleri

DSC analizleri etkin madde ve formülasyondaki diğer bileşenlerin termal özelliklerini tayin etmek amacıyla yapıldı. DSC analizleri ile amorf maddelerin camsı geçiş sıcaklıkları, kristal yapıdaki maddelerin ise erime sıcaklıkları saptanmaktadır. Ayrıca DSC analizleriyle formülasyon geliştirme çalışmalarında HME ve FDM 3DP prosesi sırasında uygulanan sıcaklığın, etkin maddenin veya diğer formülasyon bileşenlerinin yapısında herhangi bir değişikliğe neden olup olmayacağını öngörmek mümkündür.

Flutikazon propiyonata ait DSC termogramı incelendiğinde 284 °C’de keskin bir endotermik pik gözlenmiştir (Bkz. Şekil 4.12). Bu keskin endotermik pik kristal yapıdaki etkin maddenin erime sıcaklığını göstermekte olup literatürle uyumludur (Moura, Neves ve Costa, 2016; Vatanara ve diğerleri, 2009). Termogramda görülen 287 °C’deki endotermik ve 290 °C’deki ekzotermik pikler ise degradasyon pikleri olup etkin maddenin erime sıcaklığını takiben bozunduğunu göstermektedir.

Eudragit S100’ün DSC termogramı incelendiğinde polimerin amorf yapısıyla uyumlu iki yayvan endotermik pik görülmektedir (Bkz. Şekil 4.13). Literatürle uyumlu olarak termogramda 109,05 °C’de polimerin kristal suyunun buharlaşması sonucu oluşan dehidratasyon piki ve 222,57 °C’de polimerin ilk bozunma piki gözlemlenmiştir (Sunoqrot ve Abujamous, 2019; Vlachou ve diğerleri, 2019).

Etil selüloz polimerinin DSC termogramında camsı geçiş sıcaklığına karşılık gelen 121 °C’de eğride keskin sigmoidal bir değişim gözlenmiştir (Bkz. Şekil 4.14). Bu etil selüloz polimerinin amorf yapısıyla ilişkilidir (Desai, Alexander ve Riga, 2006; Shi, Salvage, Maniruzzaman ve Nokhodchi, 2021). Ayrıca termogramda literatürle uyumlu olarak polimerde kristalin fazın varlığına işaret eden 180 °C civarında küçük bir erime piki gözlenmiştir. Polimerin kısmi kristal yapısı Mahnaj, Ahmed ve Plakogiannis (2013) tarafından XRD analiziyle de desteklenmiştir.

Sitrik asit monohidratın DSC termogramı incelendiğinde 160,71 °C’de erime sıcaklığına karşılık gelen keskin bir endotermik pik gözlenmiştir. Ayrıca termogramda erime pikinden hemen sonra başlayan 250 °C’nin üzerine kadar uzanan maddenin bozunmasına ait oldukça yayvan bir endotermik pik görülmüştür (Bkz. Şekil 4.15). Sitrik asit monohidrat ile ilgili elde edilen bu

bulgular literatürle uyumludur (Bounartzi, Panagopoulou, Kantiranis, Malamataris ve Nikolakakis, 2014; Sahu, 2020).

Magnezyum stearatın DSC termogramında çok sayıda endotermik pik gözlenmiştir. Literatürde magnezyum stearata ait DSC termogramları incelendiğinde pik sayısında ve konumlarında ciddi farklılıklar görülmektedir (Haware ve diğerleri, 2016; Haware, Vinjamuri, Sarkar, Stefik ve Stagner, 2018; Nep ve Conway, 2011). Delaney ve diğerleri (2017) bu durumu ticari olarak mevcut magnezyum stearat örneklerinin kristal yapıları ve içerdiği yağ asitleri bakımından değişkenlik göstermesiyle açıklamıştır. Magnezyum stearatın bir anhidrat, iki monohidrat, bir dihidrat ve bir trihidrat olmak üzere 5 farklı kristalin formu mümkündür. Mevcut magnezyum stearat örnekleri tek kristalin form veya 2 veya daha fazla kristal formun karışımından oluşmaktadır. Farklı kristal formlarının yanısıra mevcut magnezyum stearat örnekleri USP'nin belirlediği kabul sınırları içerisinde stearik asit, palmitik asit ve diğer yağ asitlerini değişen oranlarda içermektedir. Bu bilgiler ışığında magnezyum stearatla ilgili elde edilen DSC bulguları değerlendirildiğinde 73,49 °C ve 99,44 °C'de görülen keskin endotermik piklerin dehidrasyon pikleri; 112,40 °C ve 140,39 °C'de görülen piklerin ise sırasıyla magnezyum stearatın bileşimindeki palmitik asit ve stearik asite ait erime pikleri olduğu düşünülmüştür (Bkz. Şekil 4.16) (Freire, Aragão ve De Lima e Moura, 2009).

Gelucire 48/16'nın DSC termogramı incelendiğinde literatürle uyumlu olarak 48,92 °C'de erime sıcaklığına karşılık gelen keskin bir endotermik pik gözlemlenmiştir (Bkz. Şekil 4.17) (Sarabu ve diğerleri, 2021).

Talk'ın DSC termogramında 25 °C-350 °C arasında herhangi bir pik gözlemlenmemiş olup elde edilen bulgu literatürle uyumludur (Bkz. Şekil 4.18) (Sahu, 2020; Tița ve diğerleri, 2010).

Gammasiklodekstrinin DSC termogramı incelendiğinde 3 tane endotermik pik gözlenmiştir. Gammasiklodekstrinin termal özellikleriyle ilgili literatürler değerlendirildiğinde DSC termogramında 109,09 °C'de görülen oldukça yayvan olan pikin dehidrasyona, 304,2 °C ve 321,92 °C'de birbirini takip eden iki endotermik pikin bozunmaya ait olduğu düşünülmüştür (Bkz. Şekil 4.19). Literatürde siklodekstrinlerin erime sıcaklığında kimyasal olarak bozunduğu siklodekstrinlerin erimesi sırasında gözlemlenen karamelizasyon olayıyla ve termal gravimetrik analizle kanıtlanmıştır (Giordano, Novak ve Moyano, 2001; Kaminski ve diğerleri, 2012).

#### 5.2.4. TGA analizleri

TGA analizleri etkin madde ve formülasyondaki diğer bileşenlerin termal özelliklerini tayin etmek amacıyla yapıldı. TGA analizleri ile maddelerin degradasyon sıcaklıkları saptanmaktadır. Ayrıca DSC termogramlarındaki dehidrasyon ve degradasyon piklerinin tayininde kullanılabilir. Bu çalışmada yöntem kapsamında uygulanacak ekstrüzyon ve baskı sıcaklıklarının etkin madde ve diğer formülasyon bileşenlerinin yapısında herhangi bir bozunmaya neden olup olmayacağını saptamak için kullanıldı. Çalışmada uygulanan maksimum baskı sıcaklığının (165 °C) formülasyon bileşenlerine etkisi tek tek değerlendirildi.

Flutikazon propiyonatın TGA termogramı incelendiğinde çalışmada uygulanan 165 °C'lik baskı sıcaklığında maddenin ağırlığında herhangi bir kayıp olmadığı yani bozunmanın başlamadığı görülmektedir (Bkz. Şekil 4.20). İlk ağırlık kaybı 290-300 °C civarında gerçekleşmiş olup elde edilen bulgular literatürle uyumludur (Vatanara ve diğerleri, 2009). Ayrıca bu bulgular 290 °C'de bozunma pikinin gözlemlendiği DSC bulgularımızla örtüşmektedir.

Eudragit S100 polimerinin TGA termogramı incelendiğinde çalışmada kullanılan baskı sıcaklığında yani 165 °C'de %2,6'lık bir ağırlık kaybı gözlemlenmiştir (Bkz. Şekil 4.21). DSC termogramında 109° C civarında görülen dehidrasyon piki göz önünde bulundurularak %2,6'lık ağırlık kaybının polimerin yapısındaki suyun buharlaşmasına bağlı olarak gerçekleştiği düşünülmüştür. Eudragit S100'ün DSC termogramında 200 °C'nin üzerinde bozunmaya ait pikler görülürken, 300 °C'nin üzerinde polimerin tamamen bozunduğu açıktır. TGA bulguları elde edilen DSC bulgularıyla aynı doğrultuda olup literatürle uyumludur (Vlachou ve diğerleri, 2019).

Etil selüloz polimerinin TGA termogramında literatürle uyumlu olarak baskı sıcaklığında polimerin ağırlığında bir kayıp olmadığı ve polimerin yaklaşık 225 °C'ye kadar stabil olduğu görülmektedir (Bkz. Şekil 4.22) (Mahnaj, Ahmed ve Plakogiannis, 2013).

Sitrik asit monohidratın TGA termogramı incelendiğinde 165 °C'lik baskı sıcaklığında yaklaşık %1,8 olarak tespit edilen ağırlık kaybının sitrik asit monohidratın yapısındaki kristalin suyun buharlaşmasıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür (Bkz. Şekil 4.23). Schilling, Bruce, Shah, Malick ve McGinity (2008) tarafından elde edilen TGA bulgularına göre sitrik asit monohidratın erime noktasına kadar yapısındaki kristalin suyun buharlaşmasına bağlı olarak ağırlığında % 6'lık bir kayıp gözlemlenmiştir.

Magnezyum stearatın TGA termogramında 165 °C'ye kadar %2,4'lük bir ağırlık kaybı tayin edilmiştir (Bkz. Şekil 4.24). Bu bulgu magnezyum stearatın DSC termogramında nem kaybına bağlı görülen dehidrasyon piklerini doğrulamaktadır. Literatürde magnezyum stearatın TGA analizinde nem kaybına bağlı olarak %3,4'lük ağırlık kaybı tespit edilmiştir (Haware ve diğerleri, 2016).

Gelucire 48/16'nın TGA termogramı incelendiğinde yöntem kapsamında uygulanacak 165 °C'lik baskı sıcaklığına kadar %1,2'lik bir ağırlık kaybı gözlemlenmiştir (Bkz. Şekil 4.25). Elde edilen bulgu literatürle uyumlu olup Gelucire 48/16'nın yapısında adsorbe ettiği suyun buharlaşmasına bağlı başlangıçta görülen ağırlık kaybından sonra 200 °C'nin üzerine kadar stabil olduğu görülmüştür (Aldosari ve diğerleri, 2021; Tabriz ve diğerleri, 2021).

Talkın TGA termogramında 800 °C'ye kadar ağırlık kaybı gözlenmemiştir (Bkz. Şekil 4.26). Bu bulgu talkın çok yüksek sıcaklıklara kadar stabil olduğunu göstermekte olup hem literatür hem de elde edilen DSC bulgusuyla uyumludur (Okwuosa ve diğerleri, 2016; Tița ve diğerleri, 2010).

Gammasiklodekstrinin TGA termogramında 165 °C'ye kadar %7,6'lık bir ağırlık kaybının olduğu ve çok düşük miktarda ağırlık kaybının 260-270 °C'ye kadar devam ettiği gözlemlenmiştir (Bkz. Şekil 4.27). Literatürde yüksek sıcaklıklara kadar devam eden bu ağırlık kaybı çok sıkı bağlarla gamasiklodekstrinin yapısında mevcut olan su moleküllerinin buharlaşmasıyla ilişkilendirilmiştir (Giordano ve diğerleri, 2001). Ayrıca gammasiklodekstrinin DSC termogramında 250 °C'nin üzerine kadar devam eden yayvan dehidrasyon piki elde edilen TGA bulgularıyla tutarlıdır.

Sonuç olarak TGA analizleriyle optimum formülasyonlarda yer alan tüm bileşenlerin uygulanan ekstrüzyon ve baskı sıcaklıklarında stabil olduğu gösterilmiştir.

### 5.2.5. XRD analizi

XRD analizi maddelerin polimorfik formunu ve kristal yapısını tayin etmek için kullanılmaktadır. Flutikazon propiyonatın form I ve form II olmak üzere iki farklı polimorfu tanımlanmıştır. Flutikazon propiyonat genellikle organik solvanlardan kristalizasyon yöntemiyle stabil polimorfik form I olarak elde edilmektedir. Literatürdeki XRD analiz bulgularına göre polimorfik form I 2θ'da 7,9° ve 10,0°'de gözlenen keskin piklerle karakterize edilmektedir (Murnane, 2008). WO 98/176 76 patentinde tanımlanan metastabil bir polimorf olan form II'nin ise superkritik sıvı ile

kristalizasyon yöntemi kullanılarak elde edildiği ve XRD analizinde  $2\theta$ 'da  $7,6^\circ$  ve  $9,8^\circ$  keskin pikleriyle karakterize edildiği rapor edilmiştir (Cooper, 1997; Moura ve diğerleri, 2016). Çalışmalarımızda kullanılan Flutikazon propiyonatın XRD kırınım deseni incelendiğinde  $2\theta$ 'da  $7,9^\circ$ ;  $10,0^\circ$ ;  $13,1^\circ$ ;  $14,8^\circ$ ;  $15,8^\circ$ ;  $16,2^\circ$ ;  $17,0^\circ$ ;  $18,2^\circ$ ;  $21,0^\circ$ ;  $23,9^\circ$  ve  $24,7^\circ$  de keskin piklerin olduğu görülmektedir (Bkz. Şekil 4.28). Elde edilen XRD kırınım deseninde  $2\theta$ 'da  $7,9^\circ$  ve  $10,0^\circ$  de keskin piklerin görülmesi etkin maddenin form I polimorfu olduğunu kanıtlamaktadır. Bu çalışmada elde edilen XRD karakterizasyon bulguları literatürle uyumlu olup kırınım deseninde  $2\theta$ 'da  $5-25^\circ$  arasında yoğunlaşan keskin pikler etkin maddenin kristalin bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir (Murnane, 2008).

### 5.2.6. FT-IR analizleri

FT-IR maddelerin kimyasal yapısındaki fonksiyonel grupları aydınlatmak için kullanılmaktadır. Etkin madde, polimerler ve optimum formülasyonlardaki diğer yardımcı maddeler için FT-IR analizleri yapılarak elde edilen spektrumlar Şekil 4.29-4.36'da verilmiştir.

Flutikazon propiyonatın FT-IR spektrumu incelendiğinde  $3313,23\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen yayvan absorpsiyon pikinin O-H gerilme tipi titreşiminden kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Spektrumda  $1740,26\text{ cm}^{-1}$ 'de ester karbonil,  $1696,47\text{ cm}^{-1}$ 'de tiyoester karbonil (S-C=O) ve  $1628,56\text{ cm}^{-1}$ 'de keton karbonil gruplarına ait C=O gerilme tipi titreşimlerinden kaynaklı olduğu düşünülen pikler gözlenmiştir. Bunun yanı sıra spektrumda  $1607,01\text{ cm}^{-1}$ 'de quinoid aromatik halka yapısına ait C=C gerilme tipi,  $1268,75\text{ cm}^{-1}$ 'de C-F gerilme tipi ve  $1022,74\text{ cm}^{-1}$ 'de C-F-S gerilme tipi titreşimleriyle ilişkili olduğu düşünülen spesifik absorpsiyon pikleri belirlenmiştir (Bkz. Şekil 4.29). Elde edilen bu bulguların literatürle uyumlu olduğu görülmüştür (Ali, Edwards, Kendrick ve Scowen, 2009; Alyami ve diğerleri, 2022; Thakral ve diğerleri, 2012).

Eudragit S100 polimerinin FT-IR spektrumunda görülen  $2993,60\text{ cm}^{-1}$  ve  $2948,87\text{ cm}^{-1}$ 'deki piklerin sırasıyla metil ve metilen C-H gerilme tipi,  $1723,49\text{ cm}^{-1}$ 'deki şiddetli pikin ester karbonil yapısına ait C=O gerilme tipi,  $1436,48$  ve  $1386,16\text{ cm}^{-1}$ 'deki piklerin metil C-H eğilme tipi,  $1242,66\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikin asit C-O gerilme tipi titreşimlerinden ve  $1189,54$  ve  $1147,61\text{ cm}^{-1}$ 'deki piklerin ise sırasıyla ester C-O-C yapısına ait assimetrik ve simetrik gerilme tipi titreşimlerinden kaynaklandığı düşünülmüştür (Bkz. Şekil 4.30) (Bruni ve diğerleri, 2015; De Leo ve diğerleri, 2020; Illangakoon, Yu, Ahmad, Chatterton ve Williams, 2015).

Etil selüloz polimerinin FT-IR spektrumu incelendiğinde  $3474,44\text{ cm}^{-1}$ 'de polimerin kapalı halka yapısı üzerinde yer alan O-H grubuna ait gerilme tipi ve  $2971,24$  ve  $2866,87\text{ cm}^{-1}$ 'de C-H gerilme tipi,  $1373,12\text{ cm}^{-1}$ 'de metil C-H eğilme tipi ve  $1052,56\text{ cm}^{-1}$ 'de siklik eter yapısına ait C-O-C gerilme tipi titreşimlerine karşılık gelen absorbsiyon pikleri literatürle uyumludur (Bkz. Şekil 4.31) (Desai ve diğerleri, 2006; Suthar, Pratap ve Raval, 2000).

Sitrik asit monohidratın FT-IR spektrumu incelendiğinde  $3279,68\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen yayvan pikin O-H gerilme tipi,  $1742,13$  ve  $1649,60\text{ cm}^{-1}$ 'deki piklerin C=O asimetric gerilme tipi ve  $1418,78$  ve  $1387,09\text{ cm}^{-1}$ 'deki piklerin ise C=O simetric gerilme tipi titreşimlerinden kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca spektrumda literatürle uyumlu olarak  $1135,49\text{ cm}^{-1}$ 'de C-OH gerilme tipi ve  $765,55\text{ cm}^{-1}$ 'de metilen C-H eğilme tipi titreşimlerinden kaynaklı absorbsiyon pikleri görülmüştür (Bkz. Şekil 4.32) (Pimpang, Sumang ve Choopun, 2018; Wang ve diğerleri, 2009).

Magnezyum stearatın FT-IR spektrumu incelendiğinde  $2915,33$  ve  $2846,37\text{ cm}^{-1}$ 'deki piklerin C-H gerilme tipi titreşimlerinden,  $1559,49$  ve  $1436,48\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen ikiz piklerin ise sırasıyla karboksilat (COO-) yapısına ait asimetric ve simetric gerilme tipi titreşimlerinden kaynaklı olabileceği düşünülmüştür (Bkz. Şekil 4.33) (Nep ve Conway, 2011; Ng, Wong ve Cheng, 2010).

Gelucire 48/16'nın FT-IR spektrumu incelendiğinde  $2878,05\text{ cm}^{-1}$ 'de O-H,  $1733,74\text{ cm}^{-1}$ 'de C=O,  $1340,50\text{ cm}^{-1}$ 'de O=S=O,  $1239,86\text{ cm}^{-1}$ 'de C-N ve  $1103,81\text{ cm}^{-1}$ 'de C-O-C yapılarına ait gerilme tipi titreşimlerinden kaynaklanan absorbsiyon pikleri literatürle uyumlu bulunmuştur (Bkz. Şekil 4.34) (Aldosari ve diğerleri, 2021; Sarabu ve diğerleri, 2021).

Talkın FT-IR spektrumu incelendiğinde  $3672,92\text{ cm}^{-1}$ 'de talkın yapısında mevcut olan su moleküllerinin hidroksil grubuna ait olabileceği düşünülen O-H eğilme ve bükülme tipi titreşimlerinden kaynaklı bir pik görülmüştür. Bunun yanısıra  $948,19\text{ cm}^{-1}$ 'deki güçlü absorbsiyon pikinin Si-O gerilme tipi ve  $664,91\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikin Si-O-Al gerilme tipi titreşimleriyle ilişkili olduğu düşünülmüştür (Bkz. Şekil 4.35) (Kalantari, Bin Ahmad, Shameli ve Khandanlou, 2013; Sani, Ahmad ve Saleh, 2016).

Gammasiklodekstrinin FT-IR spektrumu incelendiğinde  $3264,77\text{ cm}^{-1}$ 'de O-H gerilme tipi,  $2921,85\text{ cm}^{-1}$ 'de C-H gerilme tipi,  $1018,08\text{ cm}^{-1}$ 'de C-H eğilme tipi ve  $994,78\text{ cm}^{-1}$ 'de C-O gerilme tipi titreşimlerine karşılık gelen absorbsiyon piklerinin literatürle uyumlu olduğu görülmüştür (Bkz. 4.36) (Maksimowski ve Rumianowski, 2016).

### 5.3. Formülasyon Geliştirme Çalışmaları

#### 5.3.1. Filament formülasyonlarının geliştirilmesi

FDM 3DP ile tablet üretim prosesi, öncelikle yazıcının besleme materyali olarak kullanılacak filamentlerin sıcak eriyik ekstrüzyon yöntemiyle üretimini gerektirmektedir. Filament formülasyonları geliştirme çalışmalarında öncelikle HME ve FDM 3DP proseslerine ve kolona hedeflendirme amacına uygun formülasyon bileşenlerinin seçimi amacıyla plasebo formülasyonlar ile birtakım çalışmalar yürütülmüştür. Kolona hedeflendirme amacına uygun olarak filamentlerin ana matriks polimeri olarak pH'ya bağlı salım yapan Eudragit S100 ve HPMCAS gibi polimerler ile zaman kontrollü salım yapan etil selüloz polimeri kullanılarak plasebo filament formülasyonları geliştirilmiştir.

Bu çalışmanın ana amaçlarından biri olan kolona hedeflendirme için tercih edilen polimerlerin yüksek camsı geçiş sıcaklıklarına sahip olması tek başlarına HME prosesiyle FDM 3DP prosesi için basılabilir kalitede filament üretimini zorlaştırmaktadır (Duran, Sarısaltık-Yaşın ve Takka, 2022). HME prosesiyle filament üretimi polimerlerin Tg'sinden daha yüksek sıcaklık gerektirmektedir. Ayrıca FDM 3DP prosesi için gerekli sıcaklık genellikle HME prosesinde uygulanan sıcaklıktan yaklaşık olarak 40-50 °C daha yüksek olduğundan; HME ile filament üretim aşamasında sıcaklık mümkün olduğu kadar düşük tutulmak istenmektedir (Pereira ve diğerleri, 2020; Pietrzak ve diğerleri, 2015). Aksi takdirde birçok ısıya hassas ilaç ve polimer stabilite problemlerinden dolayı FDM 3DP prosesi için uygun olmaz. Dolayısıyla bu çalışmada kullanılan polimerlerin sahip olduğu yüksek Tg'yi düşürmek ve ekstrüzyon sırasında eriyik kütle akışını iyileştirmek için formülasyonlara çeşitli plastifiyan maddeler ve lubrikan maddeler dahil edilmiştir (Bkz. Çizelge 3.4). Plasebo filament üretimi sırasında formülasyon bileşenlerinin yanısıra prosese bağlı bazı faktörlerin basılabilir kalitede filament üretimini etkilediği gözlemlenmiştir. Filament üretiminde formülasyon bileşenlerinin ve prosesin etkisi aşağıdaki sunulduğu üzere ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

## Filament üretiminde formülasyon bileşenlerinin etkisi

### *Eudragit S100 bazlı filament formülasyonları*

Bu çalışmada Eudragit S100'ün ana matriks polimeri olarak kullanıldığı birçok filament formülasyonu denenmiş ve elde edilen bulgular değerlendirilmiştir (Bkz. Çizelge 3.5 ve Çizelge 4.11). HME ve FDM 3DP prosesi polimerlerin Tg'sinden daha yüksek sıcaklıklar gerektirdiğinden, 173 °C'lik Tg ve aynı zamanda bozunma sıcaklığına sahip olan Eudragit S100 polimerinin kullanıldığı filament formülasyonlarına çeşitli plastifiyan maddeler dahil edilmiştir (Gupta, Solanki ve Serajuddin, 2016). Plastifiyan maddeler polimer zincirleri arasındaki sürtünmeyi azaltıp, serbest hacmi artırır ve bu sayede polimer zincirinin mobilitasını artırır. Plastifiyanların molekül ağırlıkları azaldıkça plastifiye etme kapasiteleri artmaktadır (Li ve diğerleri, 2014). Bu çalışmada Eudragit S100'ün Tg'sini düşürmek için TEC, triasetin ve sitrik asit monohidrat gibi plastifiyan maddeler denenmiştir. Literatürde polimerlerin Tg'sini etkili bir şekilde düşürmek için TEC, triasetin ve PEG 400 gibi sıvı plastifiyan maddeler kullanılmıştır. Bunun yanı sıra çalışmalarda mannitol, sitrik asit monohidrat ve metil paraben gibi düşük molekül ağırlığına sahip bazı katı maddelerin de plastifiyan olarak kullanıldığı görülmüştür (Pereira ve diğerleri, 2020; Schilling, Shah, Waseem Malick ve McGinity, 2010).

Eudragit S100 polimerinin FDM 3DP üzerine yapılan kısıtlı sayıdaki çalışmaları incelendiğinde formülasyonlarda ana plastifiyan madde olarak sadece TEC kullanımına rastlanmıştır (Gioumouxouzis ve diğerleri, 2018b; Okwuosa ve diğerleri, 2021). Çalışmamızda Eudragit S100'ü %35 oranında TEC ile plastifiye ederek 165 °C'de ekstrüde ettiğimizde ekstrüder nozulünden düşük bir çıkış hızında çok az miktarda filament elde edilmiştir (P1). Ayrıca 165 °C'lik ekstrüzyon sıcaklığı polimerin bozunma sıcaklığının altında olmasına rağmen ekstrüzyon başladıktan bir süre sonra filamentin renginde koyulaşma ve yüzeyinde baloncuklar görülmüştür. Bu durumun filamentin ekstrüderin nozulünden çıkış hızının çok düşük olmasından kaynaklı ısıya maruziyet süresinin artmasıyla veya ekstrüderin sıcaklık ayarındaki olası dalgalanmalarla ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Literatür incelendiğinde aynı formülasyonun Gioumouxouzis ve diğerleri (2018b) tarafından 165 °C'de başarılı bir şekilde ekstrüde edildiği görülmüştür. Ancak bu literatür çalışmasında FDM 3DP prosesi polimerin bozunma sıcaklığının üzerinde (182 °C) gerçekleştirilmiş ve bu durumun baskı prosesinde sıcaklığa maruziyet süresinin kısa olmasından dolayı bir sorun teşkil etmediği ifade edilmiştir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçların literatürle uyumlu olmaması Gioumouxouzis ve diğerlerinin (2018b) çalışmalarında kullandıkları

ekstrüderin farklı olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Bunun üzerine bu çalışmada Eudragit S100 formülasyonlarında plastifiyan olarak TEC kullanımının yanısıra literatür esas alınarak talk, sitrik asit monohidrat, magnezyum stearat ve gliseril monostearat gibi yardımcı maddeler de kullanılmıştır (Bruce ve diğerleri, 2005; Goyanes ve diğerleri, 2017a; Okwuosa ve diğerleri, 2021).

Talk filament formülasyonlarında düşük oranlarda lubrikan veya antiaderan (yapışmayı önleyici ajan) olarak kullanılırken daha yüksek oranlarda dolgu maddesi olarak kullanılmaktadır (Alhnan, 2018; Okwuosa ve diğerleri, 2017; Okwuosa ve diğerleri, 2016). Çalışmamızda literatürde olduğu gibi %20 (Alhnan, 2018) ve %25 (Okwuosa ve diğerleri, 2021) oranlarında talkın dolgu maddesi olarak kullanıldığı P2 ve P3 formülasyonlarında hazırlanan toz karışımının yüksek ekstrüzyon sıcaklıklarına rağmen ekstrüderin içerisinde erimeden kaldığı gözlemlenmiştir. Talkın yüksek oranda kullanıldığında proses boyunca uygulanan sıcaklığı absorbe ederek toz karışımının erimesine ve filament olarak ekstrüde edilmesine engel olduğu düşünülmüştür (Mehrjerdi, Adl-Zarrabi, Cho ve Skrifvars, 2013). Bunun dışında TEC'in ana plastifiyan olarak kullanıldığı formülasyonlarda lubrikan olarak %4-10 oranlarında talk (P4-P5), gliseril monostearat (P6-P7, P9), magnezyum stearat (P10-P11) veya yardımcı plastifiyan olarak sitrik asit monohidrat (P8-P11) dahil edilmesi filament formülasyonlarında belirgin bir iyileşme sağlayamamıştır. Çalışmamızda denenen bu formülasyonlar (P1-P11) literatürle aynı veya benzer olmasına rağmen elde edilen bulgular literatürle uyumlu olmayıp bu formülasyonların hiçbirinden FDM 3DP prosesi için basılabilir kalitede filament elde edilememiştir (Alhnan, 2018; Bruce ve diğerleri, 2005; Gioumouxouzis ve diğerleri, 2018; Okwuosa ve diğerleri, 2021). Bu sonuçların kullanılan ekstrüderlerin yanısıra literatürlerde açık olarak belirtilmeyen toz hazırlama prosesinin farklılığından da kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ayrıca bu formülasyonlara ait bulgular değerlendirildiğinde genel olarak yüksek vizkoziteye sahip eriyik kütleden düşük verimde kalın filamentlerin elde edildiği görülmüştür. Bu durum kullanılan plastifiyan maddelerin polimerin Tg'sini etkili bir şekilde düşürmediğine işaret etmektedir.

Bu çalışmada Eudragit S100 bazlı filamentler geliştirmek için literatürden farklı olarak ana plastifiyan olarak TEC yerine triasetinin kullanıldığı farklı formülasyonlar denenmiştir. Triasetin nispeten daha düşük molekül ağırlığına sahip olduğundan Eudragit S100 için daha etkili bir plastifiyan olacağı düşünülmüştür. Ayrıca literatürde farklı polimerlerin plastifikasyonunda yaygın olarak kullanılmıştır (Arafat ve diğerleri, 2018b; Pietrzak ve diğerleri, 2015; Saydam ve Takka, 2020). Formülasyonlarda triasetin polimer ağırlığının %50'si oranında kullanılmıştır. Sıvı bir plastifiyan olan triasetin bu oranın üzerinde kullanıldığında polimerin agregasyonuna neden

olduğu için ekstrüde edilememiştir. Yüksek oranda sıvı plastifiyan kullanımının getirdiği kısıtlamalardan dolayı çalışmamızda sıvı plastifiyanlara ek olarak Eudragit S100'ün camsı geçiş sıcaklığını etkili bir şekilde düşürmek için katı plastifiyan olarak da %7-%15 sitrik asit monohidratın dahil edildiği formülasyonlar denenmiştir (P12-P23). Sitrik asit monohidratın Eudragit L 30D-55 (Bruce, Petereit, Beckert ve McGinity, 2003) Eudragit S100 (Bruce ve diğerleri, 2005; Schilling ve diğerleri, 2010) ve Eudragit RS PO (Schilling, Bruce, Shah, Malick ve McGinity, 2008) gibi belli metakrilat polimerleri üzerine plastifiyan etkisi daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Farklı plastifiyan maddelerin Eudragit S100'ün Tg'si üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada sitrik asit monohidrat, metil paraben ve trietilsitratın polimerin Tg'sini benzer düzeyde düşürdüğü gösterilmiştir (Schilling ve diğerleri, 2010). Bu çalışmada Eudragit S100'ün yüksek Tg'sini etkili bir şekilde düşürmek ve buna bağlı ekstrüzyon sıcaklığını düşürmek için formülasyonlara yardımcı plastifiyan olarak sitrik asit monohidrat dahil edilmiştir.

Çalışmamızda ana plastifiyan olarak triasetin ve yardımcı plastifiyan olarak %15 oranında sitrik asit monohidratın kullanıldığı formülasyonlarda lubrikan olarak talk ve magnezyum stearatın etkisi değerlendirilmiştir (P12-P23). Lubrikan olarak formülasyonlarda %5 veya %10 talk kullanımıyla başarılı bir filament ekstrüzyonu gerçekleşmemiştir (P12-P13). %5 talk kullanımına ek olarak formülasyona %5 magnezyum stearatın dahil edildiği P14 formülasyonunda sadece %10 talkın kullanıldığı P13 formülasyonuna göre filamentin ekstrüder nozülünden çıkış hızında gözle görülebilir bir artış olmuştur. Magnezyum stearat içeren formülasyonlarda filamentlerin ekstrüder nozülünden çıkış hızının göreceli olarak daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonucun daha önce Goyanes ve diğerleri (2017a) tarafından da belirtildiği gibi magnezyum stearatın aynı zamanda plastifiyan etki göstermesiyle ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Daha sonra formülasyondan talkın tamamen çıkarılıp magnezyum stearat oranının %10'a çıkarıldığı P15 formülasyonu başarılı bir şekilde ekstrüde edilmiş ve basılabilir kalitede filamentler elde edilmiştir. Ancak P15 formülasyonu farklı zamanlarda tekrar aynı şartlarda ekstrüde edildiğinde aynı kalitede filamentler elde edilememiş ve prosesin tekrarlanabilirliğinin düşük olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen tutarsız sonuçların kullanılan ekstrüderdeki sıcaklık dalgalanmaları ve toz hazırlama prosesiyle ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

#### *HPMCAS bazlı filament formülasyonları*

Bu çalışmada HPMCAS'ın ana matriks polimeri olarak kullanıldığı birçok plasebo filament formülasyonu geliştirilmiş ve elde edilen bulgular değerlendirilmiştir (Bkz. Çizelge 3.6 ve 4.12).

HPMCAS 119-122 °C'lık yüksek Tg'ye sahip pH duyarlı bir polimerdir. Bir HME çalışmasında HPMCAS'ın ekstrüzyonu için 3 farklı plastifiyan karşılaştırılmış ve en iyi plastifiyan etki %25 triasetinle elde edilmiştir (Mehuys ve diğerleri, 2005). Ancak çalışmamızda HPMCAS'ın %25 triasetinle plastifiye edildiği P24 formülasyonu 90 °C'de başarılı bir şekilde ekstrüde edilmesine rağmen elde edilen filamentlerin 3D baskı prosesi için aşırı esnek ve yapışkan bir yüzeye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun ana plastifiyan olarak kullanılan triasetinin yüksek oranıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda uygun polimer:triasetin oranını belirlemek için triasetin miktarı azaltılıp onun yerine formülasyonlara daha az plastifiyan etkiye sahip sitrik asit monohidrat ve magnezyum stearatın dahil edildiği formülasyonlar denenmiştir. Triasetin yerine sırasıyla %5 ve %10 magnezyum stearatın dahil edildiği P25 ve P26 formülasyonlarında benzer şekilde yapışkan yüzeye sahip aşırı esnek filamentler elde edildi. Formülasyonlara sırasıyla %10 ve %15 sitrik asit monohidratın ilave edildiği P27 ve P28 formülasyonlarından ve sitrik asit monohidrat ve magnezyum stearatın birlikte kullanıldığı P29 formülasyonundan elde edilen filamentlerin mekanik ve yüzey özelliklerinde hiçbir iyileşme gözlemlenmemiştir. %65 HPMCAS, %15 triasetin, %10 sitrik asit monohidrat ve %10 magnezyum stearatın kullanıldığı P30 formülasyonundan elde edilen filamentlerde de esneklik ve yüzey yapışkanlığı problemlerinin devam ettiği görülmüştür.

Bu çalışmada filamentlerin yüzey yapışkanlığını azaltmak için düşük oranda talkın dahil edildiği formülasyonlar denenmiştir. P30 formülasyonundaki magnezyum stearat oranının %5 düşürülüp aynı oranda talkın eklendiği P31 formülasyonunda filamentin yüzey yapışkanlığının azaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum daha önce bir FDM 3DP çalışmasında da tartışıldığı üzere talkın antiaderan özelliğiyle ilişkilendirilmiştir (Choudhury, Murty ve Banerjee, 2021). P30 formülasyonundaki %10 magnezyum stearat yerine talkın kullanıldığı P32 formülasyonundan basılabilir kalitede filamentler elde edilmiştir. Formülasyonda termal lubrikan olarak kullanılan magnezyum stearat aynı zamanda plastifiyan etkiye sahip olduğundan filamentlerin esnekliğini artırmıştır. Formülasyona magnezyum stearat yerine yüksek erime noktasına sahip talkın eklenmesi filamentlerin yüzey özelliklerine ek olarak sertliğini artırarak mekanik özelliklerini de iyileştirmiştir. Ancak Eudragit S100 içeren P15 formülasyonu gibi P24 formülasyonunun da tekrarlanabilirliği düşük bulunmuştur. Bu sonuçların benzer şekilde ekstrüderdeki sıcaklık dalgalanmaları ve toz hazırlama prosesi ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

### *Etil selüloz bazlı filament formülasyonları*

Bu çalışmada zaman kontrollü bir polimer olan etil selülozun ana matriks polimeri olarak kullanıldığı plasebo formülasyonlar geliştirilmiş ve elde edilen bulgular değerlendirilmiştir (Bkz. Çizelge 3.7 ve Çizelge 4.13). Etil selüloz 133 °C’lik yüksek camsı geçiş sıcaklığına sahip bir polimerdir. FDM 3DP çalışmalarında etil selüloz için kullanılan tek plastifiyan TEC olmasına rağmen polimer:TEC oranının 3 olduğu P33 formülasyonunda etil selüloz sıvı bir plasitifiyan olan TEC ile aşırı agrege olduğundan ekstrüde edilememiştir (Eleftheriadis ve diğerleri, 2019; Melocchi ve diğerleri, 2016; Shi ve diğerleri, 2021). TEC yerine aynı oranda triasetin kullanıldığında toz karışımı agrege olmayıp başarılı bir şekilde ekstrüde edilmiştir (P34). Ancak elde edilen filamentlerin aşırı yumuşak ve düşük sertliğe sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun etil selüloz için kullanılan plastifiyan miktarının aşırı yüksek olmasıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür. Etil selüloz oranının artırılarak polimer:plastifiyan oranının 3,5’a çıkarıldığı P35 formülasyonundan elde edilen filamentlerin mekanik özelliklerinde iyileşme olmasına rağmen filamentin ekstrüder nozülünden çıkış hızının düştüğü gözlemlenmiştir. Formülasyona polimer:triasetin oranı sabit tutularak yardımcı plastifiyan olarak %10 sitrik asit monohidrat ilave edildiğinde daha düşük sıcaklıklarda basılabilir kalitede filamentler elde edilmiştir (P36).

### Filament üretiminde prosesin etkisi

#### *Toz hazırlama prosesi*

Standart ve tekrarlanabilir bir filament üretimi için toz hazırlama aşamasının önemi literatürde çok nadir tartışılmıştır. Uygun polimerik taşıyıcı ve yardımcı maddelerle düzgün hazırlanmış bir toz karışımı uygun ekstrüzyon sıcaklığı ve hızında yeterli verimde iyi bir eriyik kütle akışına olanak sağlamaktadır. Bu şartlarda gerçekleştirilen ekstrüzyon daha az materyal kaybı ve de standardize bir üretimle sonuçlanacağından küçük ölçekte kişiye özel üretim için hedeflenen FDM 3DP için özellikle önemlidir. Ayrıca iyi bir akışa sahip bir eriyik kütle HME aşamasında tekdüze bir filament çapına, baskı aşamasında ise düzgün bir filament geçişine ve yazıcının nozülünden tekdüze bir eriyik akışına olanak sağlamaktadır (Fuenmayor ve diğerleri, 2018; Pereira ve diğerleri, 2020).

FDM 3DP için filament üretiminde izlenmesi gereken hiçbir standart toz hazırlama prosesi yoktur. Farmasötik polimerlerin filament formülasyonlarında yaygın olarak sıvı plastifiyan maddeler

kullanılmaktadır. Bu sıvı plastifiyanların homojen bir şekilde formülasyona dahil edilmesi önemlidir. Yüksek molekül ağırlığına sahip polimerlerin Tg'sini azaltmak için kullanılan plastifiyanlar, eriyik kütleye vizkoelastik özellik sağlar ve fleksibilitesini artırarak eriyik kütle akışını iyileştirmektedir (Nasereddin, Wellner, Alhijaj, Belton ve Qi, 2018). Ancak plastifiyanlardan bu beklenen etkinin sağlanması için plastifikasyon prosesinin dikkatli bir şekilde yapılması gerekmektedir. Bruce ve diğerleri (2005) başlangıçta Eudragit S100 polimerini TEC ile plastifiye ederek ön-plastifikasyon olarak adlandırılan bu işlemin ardından plastifiye Eudragit S100'ü diğer yardımcı maddelerle karıştırıp ekstrüde etmiştir. Aynı formülasyon ön-plastifikasyon işlemi uygulanmadan hazırlanmış ve iki farklı yöntemle elde edilen ekstrüdatların çözünme hızı profilleri kıyaslanmıştır. Ön-plastifikasyon işlemi uygulanmadan elde edilen ekstrüdatlarda azalan içerik tekdüzeliğinden dolayı çözünme hızındaki değişkenliğin arttığı görülmüştür. Bu sonuç ön-plastifikasyon aşamasının homojen bir toz karışımı için önemini ortaya koymuştur.

Shi ve diğerleri (2021) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ön-plastifikasyon işleminden sonra sıvı plastifiyanın polimere iyice nüfuz edebilmesi için ekstrüzyon öncesinde plastifiye edilmiş polimer bir gece boyunca bekletilmiştir. Dolayısıyla ön-plastifikasyon ve plastifiye tozun gece boyunca bekletilmesi gibi aşamaların toz hazırlama prosesine dahil edilmesi özellikle yüksek camsı geçiş sıcaklığına sahip polimerlerin Tg'sini etkili bir şekilde düşürmede önemli olacağı düşünülmüştür. Ayrıca plastifiye edilen toz karışımı gece boyunca bekletildikten sonra belli por büyüklüğüne sahip elekten elenmesinin homojen bir partikül büyüklüğü sağlayarak daha tekdüze bir filament akışı sağlayacağı öngörülmüştür (Fuenmayor ve diğerleri, 2018; Raje, Palekar, Banella ve Patel, 2022). Bu çalışmada toz hazırlama yöntemi 2 olarak belirtilen yöntem bu aşamaların tümü dahil edilmiştir. Çalışmamızın sonraki aşamasında bu yöntem kullanılarak yapılan ekstrüzyonların daha başarılı olduğu ve tekrarlanabilirliğinin yüksek olduğu gözlemlenmiştir (P15-P23, P32-P36, F1-F2).

### *Ekstrüzyon prosesi*

Bu çalışmada basit, maliyet açısından uygun ve sabit 15 rpm'lik dönüş hızına sahip tek vidalı bir ekstrüder kullanılmıştır. Bu ekstrüder küçük ölçekte farmasötik uygulamalar için tasarlanmamasına rağmen çok sayıda akademik araştırmada kullanılmıştır (Beck ve diğerleri, 2017; Kollamaram ve diğerleri, 2018). Daha yüksek kalitede filament eldesi için firma tarafından filament soğutucu, ön-ısıtıcı bant ve filament çekici gibi bazı ek parçalar sunulmaktadır. Ekstrüderlere dahil edilen bu ek parçalar daha kaliteli filament eldesine olanak sağlamasına

rağmen küçük ölçekte üretim için uygun olmamakla birlikte maliyeti de önemli derecede artırmaktadır. Bu nedenle bazı araştırmacılar kendi ekstrüderlerini tasarlama veya mevcut ekstrüderlerini modifiye etme girişiminde bulunmuştur. Melocchi ve diğerleri (2015, 2016) kullandıkları tek vidalı ekstrüderle uyumlu bir filament çekici, bir fanlı soğutucu ve farklı delik çaplarına sahip nozüller geliştirmiştir. Diğer bazı araştırmacılar daha yüksek kalitede filament eldesi için daha maliyetli in-house ekstrüderler geliştirmiştir (Kempin ve diğerleri, 2017; Krause, Bogdahn, Schneider, Koziolok ve Weitschies, 2019). Bu tez çalışmasında kullanılan ekstrüder de 3D yazıcı için basılabilir kalitede, tekrarlanabilirliği ve verimi yüksek filamentler üretebilmek için motor, vida dönüş hızı ve sıcaklık ayarları bakımından modifiye edilmiştir (Bkz. Resim 3.1).

Çalışmamızın başlangıcında Eudragit S100 ve HPMCAS bazlı formülasyonlar için kullanılan ekstrüder sabit 15 rpm'lik bir vida dönüş hızına sahipti. Ekstrüderin vida dönüş hızı sabit olduğundan bu formülasyonlarda eriyik kütlenin vizkozitesini etkileyen ekstrüder ile ilişkili tek parametre sıcaklıktı. Oysa HME prosesinde vida dönüş hızı çok önemli bir parametredir. Düşük vida hızları, eriyik kütlenin ekstrüder silindiri (barrel) içerisindeki kalış süresini uzatarak özellikle sıcaklığa hassas ilaçların bozunmasına yol açabilmektedir. Yüksek vida hızları mekanik enerjiden kaynaklı bir ısıya neden olduğundan ilaçların bozunmasını tetikleyebilmektedir. Bu yüzden tolere edilebilir bir vizkoziteye sahip eriyik kütlenin ekstrüzyonu için sıcaklığı artırmaksızın uygun bir vida dönüş hızı önemlidir (Aho, Boetker, Baldursdottir ve Rantanen, 2015; Ghosh, Vippagunta, Li ve Vippagunta, 2012). Bu çalışmada kullanılan ekstrüdere bir hız kontrol ünitesi takılarak vidanın 0-70 rpm dönüş hızında çalıştırılabilirliği sağlanmıştır. Ek olarak yüksek viskoziteye sahip bir eriyik kütleyi karıştırırken meydana gelen kayma gerilimini kompanse edecek torkuyu sağlaması için ekstrüdere daha yüksek kapasiteye sahip bir motor takılmıştır. Bu modifikasyonları takiben daha yüksek vida hızının filamentin ekstrüderin nozülünden çıkış hızını iyileştirerek çap değişkenliğini minimize ettiği gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda kullanılan ekstrüder barrel boyunca iki bağımsız ısıtıcıya sahip olmasına rağmen sadece nozül sıcaklığını belirlemek için tek bir termokupl ve bu sıcaklığı gösteren tek bir termostata sahipti. Bu çalışmanın başında elde edilen filamentlerin bazıları hem görünümeleri hem de mekanik özellikleri bakımından homojen değildi. Örneğin; aynı formülasyona ait filamentin bir kısmı opak diğer kısmı saydam görünüm veya filamentin bazı kısımları esnek diğer bazı kısımları kırılğan özellik sergileyebiliyordu. Elde edilen sonuçlar ekstrüde edilen toz karışımının ekstrüzyon boyunca sabit bir sıcaklığa maruz kalmamasıyla ilişkilendirilmiştir. Bu durum ekstrüder barreli boyunca tekdüze bir sıcaklık sağlamak için tek bir termokupl ve termostatin yetersiz kalmasına

bağlanmıştır. Sadece nozül bölgesine ait sıcaklığın ayarlandığı ekstrüderlerde nozüle yakın ilk ısıtıcı termostatta ayarlanan nozül sıcaklığını sağlamak için devamlı aktif kalırken beslenme hunisine yakın ikinci ısıtıcı zaman zaman inaktif hale geçmektedir. Bu durum ekstrüder barreli boyunca önemli sıcaklık farklılıklarına yol açmaktadır. Bu sorunun üstesinden gelmek için ekstrüdere ikinci bir termokupl ve termostat takılmıştır.

#### Etkin madde yüklü filamentlerin geliştirilmesi

İyileştirilmiş toz hazırlama prosesi (Bölüm 3.4.1’de verilen Yöntem 2) ve modifiye ekstrüder kullanılarak Eudragit S100, HPMCAS ve etil selüloz polimerleri için tekrarlanabilir ve basılabilir kalitede plasebo filamentler elde edilmiştir. Bu polimerlere ait formülasyonlar filament verimi ve ekstrüzyon sonrası alette kalan kalıntıların temizliği açısından kıyaslandığında Eudragit S100 formülasyonu öne çıkmaktadır. Etkin maddenin maliyeti göz önünde bulundurulduğunda en yüksek filament verimine sahip Eudragit S100 formülasyonunu istenilen şekilde optimize ederek etkin madde yüklü filamentlerin geliştirilmesine karar verilmiştir.

Bu çalışmada geliştirilen plasebo P15 Eudragit S100 filament formülasyonuna salım geciktirici ajan olarak zaman kontrollü bir polimer olan etil selüloz dahil edilerek farklı formülasyonlar geliştirilmiştir (P16-P23, F1-F2). Eudragit S100 polimerinin matriks oluşturucu ajan olarak kullanıldığı bir HME çalışmasında formülasyonlara %2,5 ve %5 oranlarında etil selüloz dahil edilmiştir. %2,5 etil selüloz etkin madde salımını 16 saatte kadar uzatırken, %5 etil selüloz etkin madde salımını 22 saatte kadar çıkardığı gözlemlenmiştir (Dumpa, Sarabu, Bandari, Zhang ve Repka, 2018). Filament formülasyonlarındaki optimum etil selüloz miktarı literatür bulguları ve elde edilen filamentlerin verim ve kalitesi dikkate alınarak %3 olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda çözünürlük artırıcı olarak filament formülasyonlarına Gelucire 48/16 ve gammasiklodekstrin dahil edilmiştir. Saydam ve Takka (2020) yaptıkları çalışmada filament formülasyonlarında çözünürlük artırıcı olarak %4 Gelucire 48/16 kullanarak etkin maddenin çözünürlüğünü artırmıştır. Bu çalışmanın sonuçları ve filament kalitesi göz önünde bulundurularak filament formülasyonundaki Gelucire 48/16 oranı %4 olarak belirlenmiştir. Gelucire 48/16’nın dahil edildiği formülasyonlara artan oranlarda (%5-15) talk ilave edilmiş, talk oranı arttıkça filamentin verim ve kalitesinin arttığı görülmüştür (Bkz. Çizelge 3.5) (P18-P22). Optimum plasebo formülasyonda (P22) talk oranı %15 olarak belirlenmiştir. P22 plasebo formülasyonu esas alınarak talk oranı %5 azaltılıp %5 oranında etkin maddenin dahil edildiği ilaç yüklü F1

formülasyonunun oldukça yüksek verimde (yaklaşık %85) basılabilir kalite özelliklerine sahip filamentler elde edilmiştir. Flutikazon propiyonatın çözünürlüğünü etkili bir şekilde artırmak ve çözünürlük artışını kıyaslamak amacıyla formülasyona çözünürlük artırıcı olarak ayrıca %7,5 oranında gammasiklodekstrin eklenmiştir. Çözünürlük artırıcı olarak %4 gelucire ve %7,5 gammasiklodekstrin içeren P23 plasebo formülasyonundaki talk oranı %5 azaltılıp %5 oranında flutikazon propiyonat eklenerek yüksek verimde (%80) basılabilir kalite özelliklerine sahip ilaç yüklü F2 filamenti elde edilmiştir. Etkin madde talk gibi ekstrüzyon ve baskı sıcaklığında erimediği için filament kalitesine aynı yönde etki edeceği düşünülerek ilaç yüklü F1 ve F2 filament formülasyonları geliştirilirken doğrudan plasebo formülasyonlardaki talkın yerine %5 oranında etkin madde dahil edilmiştir.

### 5.3.2. Etkin madde yüklü 3D tabletlerin hazırlanması

Hedef ağırlıkta tabletlerin boyutlarını belirlemek için altı farklı boyutta tasarlanan tabletlerin teorik hacimleri ve basılan tabletlerin ağırlıkları arasında lineer bir ilişki kurularak doğrusal bir denklem elde edilmiştir. Farklı dolgu yüzdesine sahip F1 ve F2 tabletleri için bu boyut belirleme çalışması ayrı ayrı gerçekleştirilerek farklı denklemler elde edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.15). Hedef ağırlıkta %50, %75 ve %100 dolgu yüzdesine sahip F1 tabletlerini ve %50 dolgu yüzdesine sahip F2 tabletlerini basmak için gerekli tasarım boyutları elde edilen bu denklemler kullanılarak belirlenmiştir (Bkz. Çizelge 4.16). Elde edilen denklemlerin korelasyon katsayılarının 1'e yakın olması ( $R^2 \geq 0,9971$ ) hedeflenen ağırlıkta tabletlerin kesin bir şekilde üretilmesini mümkün kılmakta dolayısıyla basılan tabletlerin ağırlık sapmasının da küçük olması beklenmektedir. Çalışmamızda tablet karakterizasyon çalışmalarından elde edilen bulgular bu beklentiye karşılamaştır. Ayrıca bu sonuçlar FDM 3D yazıcıların bireysel olarak bir hastanın ihtiyacına yanıt veren küçük bir doz artışı gerektiğinde kolaylıkla bilgisayar yazılımında tablet hacmi ayarlanarak doğru dozda tablet üretme potansiyelini de göstermektedir.

İlaç yüklü F1 ve F2 filamentleri kullanılarak bilgisayar ortamında belirlenen boyutlarda tasarlanan tabletler FDM 3DP yöntemiyle Çizelge 3.9'da verilen proses şartlarında başarılı bir şekilde basılmıştır. Tabletlerin baskı aşamasında herhangi bir kesintinin olmaması hazırlanan ilaç yüklü filamentlerin FDM 3DP için uygun kalite özelliklerine sahip olduğunu göstermektedir. FDM 3DP prosesinde uygun kaliteye sahip filamentler kullanılarak istenen kalite özelliklerine sahip tabletlerin basılmasında yazıcıya ait işlem parametrelerinin optimizasyonu oldukça önemlidir.

FDM 3DP prosesinde uygun bir baskı sıcaklığı yazıcı nozülünden ekstrüde edilen filament eriyiğinin sabit bir hızda akışını sürdürmek için gereklidir. Çalışmamızda 119-125 °C’de HME yöntemiyle üretilen F1 ve F2 filamentleri FDM 3DP yöntemiyle 165 °C’lik baskı sıcaklığında tablet olarak basılmıştır. FDM 3DP yönteminde HME sıcaklığından daha yüksek sıcaklık uygulanması literatürle uyumlu olup bu durum iki proste ekstrüzyon için gerekli eriyik vizkozitelerinin ve sıcaklığa maruziyet sürelerinin farklı olmasıyla ilişkilendirilmiştir (Pereira ve diğerleri, 2020; Pietrzak ve diğerleri, 2015). Ön çalışmalarda daha düşük baskı sıcaklığı (160 °C) kullanıldığında tablet basımı tamamlanmadan yazıcının nozülündeki tıkanmadan dolayı proses kesintiye uğramıştır. Ayrıca basılan tablet katmanlarının birbirine yeterince bağlanmadığı ve tabakaların birbirinden ayrıldığı gözlemlenmiştir. Bu durum daha düşük sıcaklıklarda eriyik vizkozitesinin artmasıyla ilişkilendirilmiş olup literatürle uyumludur (Yang, Wang, Li, Ou ve Yang, 2018). Daha yüksek baskı sıcaklığında (175 °C) tablet basımı gerçekleştirildiğinde ise yazıcının nozülünden ekstrüde edilen filament eriyiğinde baloncuklar gözlemlenmiştir. Baskı sıcaklığı tabletlerin kalitesinin yanısıra filament bileşenlerinin stabilitesi açısından da önemlidir. Tüm formülasyon bileşenlerine ait DSC ve TGA bulguları değerlendirildiğinde filamentin ana polimeri olan Eudragit S100’ün DSC termogramında 223 °C’de görülen oldukça yayvan degradasyon pikinin 170-175 °C civarında başlaması bu sonucu doğrulamaktadır. Elde edilen DSC ve TGA bulgularıyla bu çalışmada belirlenen 165 °C’lik baskı sıcaklığında tüm formülasyon bileşenlerinin termal olarak stabil olduğu kanıtlanmıştır.

Baskının üzerinde gerçekleştiği platformun (tablanın) sıcaklığı kesintisiz bir baskı prosesi için önemli bir işlem parametresidir. Platform sıcaklığı, ilk basılan tabakanın yazıcının tablasına yapışmasını sağlamaktadır. FDM 3DP prosesinde ilk tabakanın yazıcının tablasına yapışıp katılması daha sonraki tabakalara destek sağlaması için gereklidir. Çalışmamızda F1 ve F2 tabletleri için platform sıcaklığı sırasıyla 55 °C ve 75 °C olarak belirlenmiştir. Daha düşük platform sıcaklıkları denendiğinde tabletlerin tablaya yapışmadığı ve prosesin kesintiye uğradığı gözlemlenmiştir. Daha yüksek platform sıcaklıklarında tableti tabladan ayırmada zorluk yaşanmış, tabletler yazıcının tablasında alınırken deforme olmuştur. Belirlenen sıcaklıklarda F1 ve F2 tabletleri yazıcının tablasına proses boyunca tutunmuş ve baskı tamamlandığında ise tabletlerin kolaylıkla yazıcı tablasından alınması mümkün olmuştur.

Baskı hızı, FDM 3DP prosesinde tablet kalitesini etkileyen bir diğer önemli işlem parametresidir. Çalışmamızda F1 ve F2 tabletlerinin baskısında optimum baskı hızı sırasıyla 20 mm/s ve 30 mm/s olarak belirlenmiştir. Daha düşük ve daha yüksek baskı hızlarında proses kesintiye uğramıştır. 3D

baskı prosesinde sıcaklık ve hız parametrelerinin yanısıra basılan tabakaların yüksekliğinin de tabletlerin görünüm ve kalitesini etkilediği görülmüştür. Bu çalışmada 0,2 mm ve 0,4 mm olmak üzere iki farklı tabaka yüksekliği denenmiştir. Düşük tabaka yüksekliğinde basılan tabletlerin görünümünün daha iyi olduğu gözlenmiş olup elde edilen bu bulgu literatürle uyumludur (Yang ve diğerleri, 2018). Dolayısıyla bu çalışmada optimum tabaka yüksekliği 0,2 mm olarak belirlenmiştir. Dolgu yüzdesi, dolgu deseni, kabuk sayısı ve kabuk kalınlığı tabletlerin kalitesinden çok tabletlerin porozitesini etkilediğinden ilacın çözünme hızını etkileyen parametrelerdir. Bu çalışmada bu parametrelerden sadece dolgu yüzdesinin salım üzerindeki etkisini değerlendirmek için F1 tabletleri %50, %75 ve %100 olmak üzere üç farklı dolgu yüzdesinde basılmış olup diğer parametreler sabit tutulmuştur.

FDM 3DP prosesinde baskı sıcaklığı, platform sıcaklığı ve baskı hızı gibi işlem parametreleri besleme materyali olarak kullanılan filamentlerin bileşimine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Bu çalışmada geliştirilen iki filament formülasyonunun bileşimi birbirine oldukça benzer olmasına rağmen F1 filamentine ait işlem parametreleri değiştirilmeksizin F2 filamenti için uygulandığında baskı sırasında tabletin ilk katmanı tabladan ayrılarak prosesi kesintiye uğratmıştır. Platform sıcaklığı 20 °C artırılarak tabletin ilk basılan tabakasının tablaya tutunması sağlanmıştır. Ancak bu şartlarda basılan ilk tabaka tablaya yapışmasına rağmen tabletin diğer tabakalarının birbirine yeterince bağlanmadığı ve baskı sırasında birbirinden tamamen ayrılarak baskıyı kesintiye uğrattığı görülmüştür. Daha sonra baskı hızı 10 mm/s artırılarak bu sorun çözülmüştür. Baskı hızının artırılması, baskı süresini azalttığından yazıcının nozülünden ekstrüde edilen son tabakanın katılaşmadan önceki tabakayla birleşmesine olanak sağlamıştır. Sonuç olarak basılan ilaç yüklü F1 ve F2 tabletlerinin bilgisayar ortamında yapılan tasarımla uyumlu olması F1 ve F2 filamentleri için işlem parametrelerinin iyi optimize edildiğini göstermektedir.

## 5.4. Karakterizasyon Çalışmaları

### 5.4.1. Geçimlilik testleri

#### Fiziksel karışım, filament ve tabletlerde DSC analizleri

Flutikazon propiyonat yüklü F1 ve F2 formülasyonlarına ait fiziksel karışım, filament ve tabletlerde DSC analizi Bölüm 3.5.1'deki gibi yapıp elde edilen bulgular Şekil 4.37 ve 4.38'de sunulmuştur. Bu bulguların değerlendirilmesinde ham maddelere ait elde edilen DSC

termogramlarından da yararlanılmıştır (Bkz. Şekil 4.12-4.19). Buna göre F1 ve F2 formülasyonlarının fiziksel karışımlarına ait DSC termogramlarında 75 °C-100 °C arasında görülen geniş pikin Eudragit S100 ve magnezyum stearatın yapılarındaki kristal suyundan kaynaklı dehidrasyon piki olabileceği düşünülmüştür. Ancak bu fiziksel karışımları kullanarak elde edilen filament ve tabletlere ait termogramlarda bu pik gözlenmemiştir. Bu sonuç filament ve tablet üretimi sırasında uygulanan ekstrüzyon ve baskı sıcaklıklarında fiziksel karışımların yapısında yer alan suyun buharlaşmasıyla ilişkilidir. Ayrıca her iki formülasyonun fiziksel karışımlarına ait termogramlarda 160 °C civarında sitrik asit monohidrata ait erime piki görülmüştür. Filament ve tabletlere ait termogramlar incelendiğinde aynı endotermik pike rastlanmamıştır. Bu formülasyonda yer alan sitrik asit monohidratın filament ve tablet matriksi içerisinde çözündüğünü ve kristal yapısını kaybederek amorf forma geçtiğini göstermektedir (Andrews ve diğerleri, 2008). Gelucire 48/16'nın DSC termogramında yaklaşık 48 °C'de görülen endotermik pik fiziksel karışım, filament ve tabletlere ait DSC termogramlarında gözlemlenmiştir. Bu bulgu Gelucire 48/16'nın üretim prosesi boyunca fiziksel formunu koruduğunu göstermekte olup literatürle uyumludur (Saydam ve Takka, 2020). Ancak filament, tablet ve fiziksel karışımlarına ait termogramlarda etkin maddenin yaklaşık 284 °C'de gözlemlenen keskin endotermik piki gözlenmemiştir. Bu formülasyonlardaki etkin madde miktarının düşük olmasıyla (%5) ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Bunun yanısıra özellikle ana matriks polimeri olan Eudragit S100'ün 260 °C'den sonra görülen yoğun degradasyon piklerinin etkin maddenin erime pikini baskılamış olduğu düşünülmektedir. Filament, tablet ve fiziksel karışımlara ait termogramlarda yaklaşık olarak 180 °C'den sonra çok sayıda küçük pik gözlemlenmiştir. Ham maddelere ait DSC termogramları incelendiğinde sitrik asit monohidrat ve Eudragit S100'ün 180 °C civarında başlayan geniş degradasyon piklerinin yanısıra çok sayıda küçük degradasyon piklerine sahip olması da bu bulguyu desteklemektedir.

#### Fiziksel karışım, filament ve tabletlere XRD analizleri

Flutikazon propiyonat yüklü F1 ve F2 formülasyonlarına ait fiziksel karışım, filament ve tabletlere XRD analizi Bölüm 3.5.1'deki gibi yapıp elde edilen XRD difraktogramları flutikazon propiyonatın difraktogramıyla karşılaştırmalı olarak Şekil 4.39 ve 4.40'ta sunulmuştur. Buna göre her iki formülasyonda da filament ve tablete ait difraktogramların birbiriyle örtüştüğü görülmektedir. Bu sonuç formülasyon bileşenlerinin filament ve tablet içerisinde aynı fiziksel forma sahip olduğunu göstermektedir. Ancak fiziksel karışıma ait difraktogramlar incelendiğinde filament ve tabletlere ait difraktogramlara kıyasla daha yüksek şiddette ve daha yoğun pikler

gözlemlenmiştir. Bu durum fiziksel karışımda yer alan sitrik asit monohidratın filament ve tablet içerisinde çözünerek kristal yapısını kaybetmesiyle ilişkilendirilmiştir. Dolayısıyla filament ve tablet difraktogramlarında fiziksel karışım difraktogramlarından farklı olarak sitrik asit monohidrat kristallerine ait pikler kaybolduğundan pik yoğunluğunda azalma gözlenmiştir (Andrews ve diğerleri, 2008). Flutikazon propiyonatın difraktogramında 2θ'da 10,0°'de görülen keskin ve şiddetli pik F1 ve F2 formülasyonlarına ait tablet, filament ve fiziksel karışım difraktogramlarında net bir şekilde gözlemlenmiştir. Ancak flutikazon propiyonatın kırınım deseninde mevcut olan daha az şiddetteki diğer piklerin formülasyonlara ait difraktogramlarda belirgin olmadığı görülmüştür. Bu sonuçlar formülasyonlardaki etkin madde miktarının düşük olmasıyla (%5) ilişkilendirilmiştir. Etkin maddenin düşük şiddetteki piklerinin formülasyonlarda daha yüksek oranda kullanılan diğer bileşenlere ait pikler tarafından baskılandığı düşünülmüştür. Ayrıca flutikazon propiyonatın kırınım deseninde olmayıp F1 ve F2 formülasyonlarına ait tüm difraktogramlarda 2θ'da yaklaşık 28°'de talka ait olduğu düşünülen keskin bir pik görülmüştür (Okwuosa ve diğerleri, 2021). F1 formülasyonundaki talk oranı F2 formülasyonundan daha yüksek olduğundan F2 formülasyonlarına ait filament, tablet ve fiziksel karışım difraktogramlarında bu pikin şiddetinin daha düşük olduğu görülmüştür.

#### Fiziksel karışım, filament ve tabletlerde FT-IR analizleri

Flutikazon propiyonat yüklü F1 ve F2 formülasyonlarına ait fiziksel karışım, filament ve tabletlerde FT-IR analizi Bölüm 3.5.1'deki gibi yapıp elde edilen spektrumlar ana matriks polimeri ve etkin maddenin spektrumuyla karşılaştırmalı olarak Şekil 4.41 ve 4.42'de sunulmuştur. Bu bulguların değerlendirilmesinde diğer formülasyon bileşenlerine ait elde edilen FT-IR spektrumlarından da yararlanılmıştır (Bkz. Şekil 4.29-4.36). Her iki formülasyon için fiziksel karışım, filament ve tabletlere ait FT-IR spektrumlarının birbirine oldukça benzer olduğu görülmüştür. Elde edilen bu bulgular filament ve tablet üretiminde kullanılan HME ve FDM 3DP proseslerinin formülasyon bileşenlerinin arasında bir geçimsizliğe ve bileşenlerin yapılarında herhangi bir kimyasal değişikliğe yol açmadığını göstermektedir. Ayrıca F1 ve F2 formülasyonları yüksek oranda Eudragit S100 içerdiğinden fiziksel karışım, filament ve tabletlere ait spektrumlarda Eudragit S100'e ait tüm pikler gözlemlenmiştir. Formülasyonlarda etkin madde ve diğer formülasyon bileşenlerinin kullanım oranları ana polimere oranla çok düşüktür. Dolayısıyla etkin madde ve diğer formülasyon bileşenlerinin Eudragit S100'le aynı bölgede görülen tüm spesifik pikleri daha düşük şiddette olduğundan formülasyonlara ait spektrumlarda görülmemiştir. F1 ve F2 formülasyonlarına ait fiziksel karışım, filament ve tablette gözlenip ana matriks polimeri olan

Eudragit S100’de mevcut olmayan sadece üç pik gözlemlenmiştir. Bunlar magnezyum stearata ait C-H gerilme tipi titreşimlerinden kaynaklı 2915,33 ve 2846,37  $\text{cm}^{-1}$ ’deki pikler ve talka ait Si-O-Al gerilme tipinde kaynaklı 664,91  $\text{cm}^{-1}$ ’deki piktir. Talk oranı F2 formülasyonunda çok düşük olduğundan F2 formülasyonuna ait spektrumlarda bu pik çok belirgin değildir. Bu pikler Eudragit S100’e ait piklerle aynı bölgede olmadığından gözlenebilmiştir. Şekil 4.41 ve 4.42’de verilen FT-IR spektrumları incelendiğinde flutikazon propiyonatın tüm spesifik piklerinin Eudragit S100 ile aynı bölgede olduğu görülmektedir. Dolayısıyla fiziksel karışım, filament ve tabletlere ait FT-IR spektrumlarında formülasyonlarda %5 oranında kullanılan etkin madde pikleri gözlenememiştir.

#### 5.4.2. Etkin madde yüklü filamentlerde karakterizasyon çalışmaları

FDM 3DP prosesinde yazıcının besleme materyali olarak kullanılan filamentlerin üretilmesi ilk basamağı oluşturmaktadır. HME prosesi ile üretilen filamentlerin karakterizasyon çalışmaları yapılarak FDM 3DP prosesi için uygun kalitede olup olmadıkları öngörülebilmektedir. Basılabilir nitelikte olmayan filamentler yazıcının nozülünde, ekstrüderinde veya besleme dişlilerinin arasında tıkanmalara yol açabilmektedir. Yazıcıda meydana gelen bu tıkanmaların giderilmesi ve yazıcının tekrardan kalibre edilmesi oldukça zaman alıcı olduğundan ve bunun yanısıra baskı prosesinde kullanılan filamentlerin özellikleri basılan tabletlerin kalite özelliklerini doğrudan etkilediğinden baskı prosesinden önce filamentlerin karakterizasyon çalışmalarının yapılması önemlidir. Çalışmamızda HME yöntemiyle 119-125  $^{\circ}\text{C}$ ’de üretilen flutikazon propiyonat yüklü F1 ve F2 filamentleri için aşağıda sunulan karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

#### Görünüş

Bu çalışmada üretilen F1 ve F2 filamentlerinin görünümüne ait fotoğraflar Resim 4.2’de sunulmuştur. F1 ve F2 filamentlerinin beyaz renkli ve opak görünümlü olduğu gösterilmiştir. Filamentlerin opak görünümde olması, formülasyon bileşiminde yer alan ve ekstrüzyon sıcaklığında erimeden partiküler formda kalan etkin madde, talk ve siklodekstrinle ilişkilidir. Ayrıca fotoğraf incelendiğinde F1 ve F2 filamentlerinin düzgün bir yüzeye ve homojen görünüme sahip olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar HME prosesinin ve filament formülasyonunun iyi optimize edildiğini göstermektedir. Bandari ve diğerleri (2021) filamentlerin pürüzlü yüzeyleri ve homojen olmayan görünümünü formülasyon bileşenlerinin karışabilir olmamasıyla veya eriyik kütlenin yüksek vizkozitesiyle ilişkilendirmiştir. Zhang ve diğerleri (2017) çalışmalarında HME yöntemiyle ürettikleri HPMC filamentinin pürüzlü yüzeye sahip olmasını eriyik materyalin yüksek

vizkozitesiyle ilişkilendirmiş ve bu filamentlerin FDM 3DP prosesini kesintiye uğrattığını rapor etmiştir.

#### Filamentlerin çapı

Filament çapı FDM prosesini etkileyen en önemli parametrelerden biridir. Filamentin uygun çap değerlerine sahip olması filamentin yazıcının besleme dişlilerinin arasından ve ardından yazıcının ekstrüderinden kolaylıkla geçerek kesintisiz bir şekilde nozüle ulaşması için gereklidir. Çalışmamızda kullanılan yazıcı için ideal filament çapı 1,75 mm olmasına rağmen literatürde FDM 3D yazıcıların filament çapındaki 0,05 mm'lik sapmayı tolere edebildiği belirtilmiştir (Bandari ve diğerleri, 2021; Melocchi ve diğerleri, 2015). Bu durumda çapı 1,70 mm-1,80 mm aralığında değişen filamentlerin basılabilirlik için uygun olduğu söylenebilir. Çalışmamızda HME yöntemiyle 1,75 mm'lik nozülden ekstrüde edilen ilaç yüklü F1 ve F2 filamentlerinin ortalama filament çapı Bölüm 3.5.2'de anlatıldığı gibi hesaplanmış ve elde edilen bulgular Çizelge 4.17'de verilmiştir. Buna göre F1 ve F2 filamentlerin 6 farklı noktadan ölçülen çap değerleri 1,70-1,75 mm aralığında ve ortalama çap değerlerinin nozülin çapına oldukça yakın olduğu görülmektedir. Filamentlerin ortalama çap değerlerine ait SS ve %VK değerlerinin küçük olması, filament çaplarının homojen olduğunu göstermektedir. Tekdüze bir filament çapı sabit hızda bir eriyik kütle ekstrüzyonuyla mümkündür. Dolayısıyla bu sonuçlar F1 ve F2 formülasyonlarının uygulanan proses şartlarında ekstrüzyon için homojen ve uygun vizkoziteye sahip bir eriyik kütle oluşturduğunu kanıtlamaktadır.

#### Filamentlere etkin madde yükleme etkinliğinin tayini

Filamentlere etkin madde yükleme etkinliği filament örneklerindeki etkin madde miktarı ve bu etkin maddenin homojen olarak dağılıp dağılmadığı hakkında bilgi vermektedir. Dolayısıyla etkin madde yükleme etkinliği belirlenen filamentlerle basılan tabletlerin etkin madde miktarı ve içerik tekdüzeliği öngörülebilmektedir. Filamentlerin etkin madde yükleme etkinliği Bölüm 3.5.2'de anlatıldığı gibi hesaplanmış ve Çizelge 4.18'de sunulmuştur. Buna göre F1 ve F2 filamentlerinin etkin madde yükleme etkinlikleri literatürle uyumlu olarak yüksek bulunmuştur (Gültekin ve diğerleri, 2019; Gültekin ve diğerleri, 2021). Farklı bölgelerden alınmış filament örneklerinin etkin madde yükleme etkinliklerine ait hesaplanan SS ve %VK değerlerinin küçük olması flutikazon propiyonatın filament içerisinde homojen bir şekilde dağıldığını göstermektedir. Bu sonuçlar

filament ekstrüzyonu için hazırlanan toz karışımının homojen olduğunu ve HME ekstrüzyonundaki proses şartlarının uygun olduğunu kanıtlamaktadır.

#### Filamentlerin morfolojik özelliklerinin incelenmesi

Filamentlerin yüzey ve enine kesitlerinin taramalı elektron mikroskobu kullanılarak görüntülenmesi filamentlerin yüzey yapısı ve homojenitesi hakkında daha ayrıntılı bilgi vermektedir. Filamentlerin yüzey pürüzlülüğü daha önce belirtildiği gibi uygun olmayan formülasyon ve proses şartlarıyla; filamentlerin iç yüzeyinde hava kabarcıklarının görülmesi ise filament bileşenlerden birinin degradasyonu, formülasyon bileşenleri arasındaki etkileşimler ve ekstrüde edilen toz karışımının yüksek nem içeriğiyle ilişkilendirilmiştir (Bandari ve diğerleri, 2021; Zhang ve diğerleri, 2017). Çalışmamızda elde edilen F1 ve F2 Eudragit S100 filamentlerinin morfolojik yapısı SEM kullanılarak görüntülenmiştir (Bkz. Resim 4.3 ve 4.4). Bu filamentlerin yüzey SEM görüntüleri değerlendirildiğinde filamentlerin pürüzsüz ve düzgün bir yüzeye sahip oldukları görülmüştür. Ayrıca filamentlerin enine kesitlerine ait SEM görüntüleri filamentlerin iç yapılarında herhangi bir defekt, por ve baloncığa sahip olmadığını göstermiştir. Dolayısıyla çalışmamızda elde edilen F1 ve F2 filamentleri morfolojik yapıları bakımından FDM 3DP prosesi için uygun bulunmuştur. Giouxomouxouzis ve diğerleri (2018b) de çalışmalarında Eudragit S100 polimerini kullanarak ürettikleri placebo filamentlerin morfolojik yapılarını SEM ile incelemiş ve Eudragit S100 filamentinin pürüzsüz bir dış yüzeye ve kompakt, homojen bir iç yapıya sahip olduğunu rapor etmiştir.

#### Filamentlerin mekanik özelliklerinin tayini

Filamentlerin mekanik özelliklerinin karakterizasyonu filamentlerin basılabilirliklerini öngörmek açısından önemlidir. Filamentlerin yazıcının besleme dişlilerinin arasından nozüle kadar kesintisiz bir şekilde ilerleyip ekstrüde edilmesi uygun mekanik özellikler gerektirmektedir. Filamentlerin baskı sırasında yazıcının besleme dişlilerinin arasından veya ekstrüderinden geçerken kırılması veya bükülmesi istenmez. Farklı literatür çalışmalarında aşırı kırılmalı filamentlerin baskı sırasında kırılarak; aşırı yumuşak filamentlerin ise bükülerek 3D yazıcıda tıkanmalara sebep olduğu rapor edilmiştir (Borujeni ve diğerleri, 2019; Zhang ve diğerleri, 2017). Dolayısıyla filamentlerin sertlik, kırılmalı ve esneklik gibi mekanik özellikleri arasındaki denge FDM 3DP prosesi için kritik kabul edilmektedir.

Çalışmamızda geliştirilen ilaç yüklü filamentlerin gerilme kuvveti (tensile strength), elastik modül (young modulus) ve % uzama (strain %) gibi mekanik özellikleri tekstür analiz cihazı kullanılarak karakterize edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.19). F1 ve F2 filamentleri için sırasıyla filamentlerin farklı bölgelerinden alınan örneklerle ait gerilme-uzama (%) eğrileri Şekil 4.43 ve 4.44'te verilmiştir. Gerilme kuvveti (elastik limit) filamentte kalıcı bir deformasyon olmadan filamentin tolere edebildiği maksimum kuvveti; elastik modül ise gerilme-uzama (%) eğrisinde lineer bölgenin eğimini ifade etmektedir. Gerilme kuvveti, elastik modül ve filamentlere uygulanan kuvvetin filamentin boyutunda meydana getirdiği % uzama miktarı filamentlerin esneklik ve sertliklerini değerlendirmede kullanılmaktadır. Çalışmamızda elde edilen bulgular değerlendirildiğinde F1 ve F2 filamentlerinin yüksek % uzama (sırasıyla  $97,16 \pm 3,70$  ve  $95,25 \pm 2,58$ ), düşük esneklik katsayısı (sırasıyla  $7,89 \pm 0,21$  g/mm<sup>2</sup> ve  $6,54 \pm 1,1$  g/mm<sup>2</sup>) ve gerilme kuvveti (sırasıyla  $43,69 \pm 0,89$  g/mm<sup>2</sup> ve  $32,68 \pm 1,58$  g/mm<sup>2</sup>) değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar filamentlerin esnek yapısıyla ilişkilidir. Yüksek oranda plastifiyan kullanımı filamentlerin uzamaya dayanma kapasitesini artırırken, kırılmalık ve sertliğini azaltmaktadır. Yani daha yüksek % uzama daha düşük elastik modül ve gerilme kuvvetiyle sonuçlanmaktadır (Borujeni ve diğerleri, 2019; Nasereddin ve diğerleri, 2018; Shi ve diğerleri, 2021). Çalışmamızda yüksek oranda triasetin kullanımına ek olarak formülasyonlarda yer alan sitrik asit monohidrat, magnezyum stearat ve Gelucire 48/16'nın plastifiyan etkilerinden dolayı filamentlerin % uzama değerlerinin yüksek olduğu düşünülmüştür. Borujeni ve diğerleri (2019) çalışmalarında plastifiyan olarak %30, %20 ve %15 TEC içeren etil selüloz filamentlerinin mekanik özelliklerini karşılaştırdığında daha yüksek oranda plasitifiyan içeren filamentlerin daha esnek yapıda olduğunu göstermiştir. Ayrıca daha düşük % uzama değerini sahip %15 TEC içeren filamentlerin kırılmalık olduğu gözlemlenmiştir. Bir diğer çalışmada Saydam ve Takka (2020) filament formülasyonlarına Gelucire 48/16 dahil edildiğinde filamentlerin % uzama değerlerinin arttığını rapor etmiştir.

Literatür incelendiğinde basılabilir olduğu kanıtlanan filamentlerin mekanik özelliklerine ait gerilme kuvveti, elastik modül ve % uzama değerlerinin birbirinden oldukça farklı olduğu gözlemlenmiştir. Dolayısıyla filamentler için ideal bir gerilme kuvveti veya elastik modül değerinden söz edilememektedir. Bu noktada önemli olan elde edilen filamentlerin raf ömrü boyunca stabil kalması ve basılabilir olmasıdır. Çalışmamızda elde edilen F1 ve F2 filamentleri literatürde mekanik özellikleri incelenen basılabilir filamentlerle kıyaslandığında genel olarak daha yüksek % uzama miktarı ve daha düşük elastik modül ve gerilme kuvveti değerlerine sahip olduğu görülmüştür (Borujeni ve diğerleri, 2019; Shi ve diğerleri, 2021; Zhang ve diğerleri, 2017). Ancak F1 ve F2 filamentlerinin baskı prosesinde hiçbir kırılma ve bükülme probleminin

görülmemesi ve bu filamentler kullanılarak yüksek kalitede tabletlerin basılması filamentlerin sertlik ve esnekliklerinin basılabilirlik için yeterli olduğunu göstermektedir. Ayrıca filamentlerin farklı bölgelerinden alınan örneklerle ait gerilme kuvveti, elastik modül ve % uzama değerlerinin SS ve %VK değerlerinin düşük olması ve elde edilen gerilme-uzama (%) eğrilerinin benzer olması filamentlerin homojen yapıya sahip olduğunu göstermektedir.

#### 5.4.3. Etkin madde yüklü 3D tabletlerde karakterizasyon çalışmaları

##### Tabletlerin fiziko-farmasötik özelliklerinin karakterizasyonu

###### *Görünüş*

Bu çalışmada F1 ve F2 filamentleri kullanılarak FDM 3DP yöntemiyle basılan F1 ve F2 tabletlerinin üstten ve yandan görünümüne ait fotoğraflar sırasıyla Resim 4.5 ve 4.6'da sunulmuştur. Fotoğraflar incelendiğinde basılan tabletlerin besleme materyali olarak kullanılan F1 ve F2 filamentleri gibi beyaz renkte ve opak görünüme sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca basılan tabletlerin bilgisayar ortamında yapılan tasarımla benzer olması F1 ve F2 filamentleri için baskı prosesinin iyi optimize edildiğini göstermektedir.

###### *Çap ve kalınlık*

F1 ve F2 tabletlerinin çap kalınlık değerlerine ait bulgular Çizelge 4.20'de verilmiştir. Buna göre F1 ve F2 tabletleri için sırasıyla ortalama çap-kalınlık değerleri  $9,04 \pm 0,08$  mm- $3,58 \pm 0,06$  mm ve  $9,41 \pm 0,06$  mm- $3,78 \pm 0,05$  mm olarak bulunmuştur. Elde edilen bu çap kalınlık değerleri 200 mg'lık hedef ağırlığa sahip F1 ve F2 tabletler için bilgisayar ortamında yapılan tasarımın çap-kalınlık değerlerinden (sırasıyla 9,03-3,61 mm ve 9,39-3,76 mm) çok az sapma göstermiştir (Bkz. Çizelge 4.16). Bu sonuçlar tablet basımında kullanılan F1 ve F2 filament çaplarının yazıcının yazılımında girilen hedef filament çapına (1,75 mm) oldukça yakın değerlerde olmasıyla ilişkilidir. Ayrıca yazıcıdan ekstrüde edilen filamentlerin sıcaklığa bağlı olarak şişme göstermediği de söylenebilir. F1 ve F2 tabletlerinin çap kalınlık değerlerinin SS ve %VK değerlerinin oldukça düşük olması da basımda kullanılan filamentlerin çap tekdüzeliğiyle ilişkilidir. Tabletlerin çap-kalınlık değerleri için farmakopelerde herhangi bir kriter bulunmamaktadır. Ancak genel olarak çap-kalınlık değerlerine ait %VK'nın %5'ten küçük olması hedeflenmiştir (Prakash, Chandra, Sandhya, Bidur ve Samir, 2020).

### *Ağırlık tekdüzeliği*

F1 ve F2 tabletlerinin ağırlık tekdüzeliğine ait bulgular ve kabul sınırları Çizelge 4.21’de verilmiştir. Buna göre basılan tabletlerin ağırlıklarının Avrupa farmakopesinin tablet formülasyonları için belirlediği kabul sınırları içerisinde olduğu görülmüştür. F1 ve F2 tabletleri için elde edilen ortalama tablet ağırlık değerleri (sırasıyla  $201,65 \pm 5,61$  ve  $197,97 \pm 4,97$ ) hedef tablet ağırlığından (200 mg) çok az sapma göstermiştir. Bölüm 3.4.2’de anlatıldığı gibi çalışmanın başlangıcında optimum filamentler kullanılarak optimum proses şartlarında artan hacimlerde bir seri tablet basarak, basılan tabletlerin tasarım hacmi ve ağırlıkları arasında korelasyon kurmak hedef ağırlığa sahip tabletlerin tasarım boyutlarını doğru bir şekilde belirlemek için önemlidir. Bu çalışmada bu yöntem kullanılarak F1 ve F2 tabletleri için elde edilen denklemlerin korelasyon katsayısının 1’e yakın olduğu görülmüştür (Bkz. Çizelge 4.15). Dolayısıyla bu denklemlerden yararlanılarak hedef ağırlık için tablet boyutlarının belirlenmesi düşük ağırlık sapmasına sahip tabletlerin basılmasını mümkün kılmıştır. Denklemlere ait korelasyon katsayısının 1’e yakın olması tablet basımında kullanılan F1 ve F2 filamentlerinin çap değişkenliğinin küçük olması ve 3D baskı prosesinin iyi optimize edilmiş olmasıyla ilişkilidir.

Yang ve diğerleri (2018) çalışmalarında baskı sıcaklığı ve baskı hızı gibi işlem parametrelerinin basılan tabletlerin ağırlığını önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir. Başka bir çalışmada Crisan ve diğerleri (2022) geliştirdikleri 3D tabletlerin ağırlık sapması bakımından farmakope kriterlerini karşılamamasını, tablet basımında kullanılan filamentlerin çap değişkenliğinin yüksek olmasıyla ilişkili olabileceğini belirtmiştir. Ayrıca Pietrzak ve diğerleri (2015) çalışmalarında tabletlerin tasarım hacmi ve ağırlıkları arasında korelasyon kurarak tabletlerin boyutlarını belirlemiş, bu yöntemle tablet boyutlarının belirlemenin istenen dozlara sahip tabletleri kesin bir şekilde basmayı mümkün kıldığını belirtmiştir.

### *Sertlik tayini*

F1 ve F2 tabletlerinin sertlikleri geleneksel sertlik ölçüm cihazı kullanılarak ölçülememiştir. Ölçüm boyunca cihaz tarafından uygulanan kuvvet tabletlerde gözle görülebilir bir kırılma gerçekleştirilmeden tabletlerin ezilerek deforme olmasına yol açmıştır. Benzer şekilde FDM 3DP ile üretilen tabletlerin klasik sertlik ölçüm yöntemleriyle ölçülemediği literatürde rapor edilmiştir (Crisan ve diğerleri, 2022; Gültekin ve diğerleri, 2019; Shi ve diğerleri, 2021). Bu sonuçlar yüksek sıcaklıkta ekstrüde edilen termoplastik özellikteki eriyik filamentlerin tekrardan katılaşmasına

bağlı olarak bu yöntemle basılan tabletlerin genel olarak sert, kompakt ve plastik yapıda olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Ancak diğer taraftan Borujeni ve diğerleri (2019) çalışmalarında klasik sertlik ölçüm cihazı kullanarak geliştirdikleri etil selüloz bazlı 3D tabletlerin sertlik değerlerini ölçebilmiştir. Bu durumun filament formülasyonlarının bileşimiyle ilişkili olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda formülasyonların bileşiminde yüksek oranda yer alan plasitifiyan maddelerin eriyik kütleye sağladığı vizkoelastik özelliklerden dolayı basılan tabletler daha plastik yapıdadır. Dolayısıyla tabletlerin mekanik özellikleri klasik sertlik ölçüm cihazıyla değerlendirilememiştir.

#### *Friyabilite testi*

Konvasiyonel tabletlerin mekanik özelliklerini değerlendirmek için rutinde sertlik testinin yanı sıra friyabilite testi yapılmaktadır. Friyabilite testinde tabletlerin ağırlık kaybının %1'den küçük olması istenmektedir. Friyabilite testi F1 ve F2 tabletler için Bölüm 3.5.3'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu testin sonucunda F1 ve F2 tabletlerinin ağırlık kaybı %0 olarak bulunmuştur. Literatür incelendiğinde FDM 3DP yöntemiyle basılan tabletlerin genellikle friyabilite göstermediği ve ağırlık kaybının %0 olduğu görülmektedir (Gültekin ve diğerleri, 2019; Borujeni ve diğerleri, 2019; Sadia ve diğerleri, 2016). Bu sonuçlar bu yöntemle basılan 3D tabletlerin çok yüksek kırma direncine sahip olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla bu tabletlerin taşınma ve ambalajlama için uygun mekanik özelliklere sahip olduğu söylenebilir.

#### *Etkin madde miktar tayini*

F1 ve F2 tabletlerinde etkin miktar tayinin Bölüm 3.5.3'te anlatıldığı şekilde yapılarak elde edilen bulgular ve kabul sınırları Çizelge 4.22'de sunulmuştur. Buna göre F1 ve F2 tabletlerinin içerdiği etkin madde miktarının (sırasıyla  $9,99 \pm 0,21$  ve  $9,86 \pm 0,15$ ) hedef doz (10 mg) için Amerikan farmakopesi (USP 44-NF 39)'nde belirtilen  $\pm\%10$ 'luk sapma limitine uygun olduğu görülmektedir. Elde edilen bu sonuçlar tabletlerin basımında kullanılan F1 ve F2 filamentlerine istenen dozda ilacın homojen bir şekilde yüklenmesi ve basılan tabletlerin ağırlık sapmasının düşük olmasıyla ilişkilendirilmiştir.

#### *İçerik tekdüzeliği*

F1 ve F2 tabletlerinin içerik tekdüzeliği Bölüm 3.5.3'te anlatıldığı şekilde yapılarak elde edilen bulgular ve kabul sınırları Çizelge 4.23'te sunulmuştur. Buna göre basılan tabletlerin içerdiği %

etkin madde miktarının Avrupa farmakopesi (Ph. Eur. 10.0)'nin tablet formülasyonları için belirlediği kabul sınırları içerisinde olduğu görülmüştür. Tabletlerin içerdiği % etkin madde miktarı (sırasıyla  $99,4 \pm 2,2$  ve  $99,8 \pm 1,5$ ) literatürle uyumlu olarak oldukça yüksek bulunmuştur (Sadıa ve diğerleri, 2016; Saydam ve Takka, 2020; Zhang ve diğerleri, 2017). Bu sonuçlar FDM 3DP yöntemiyle hedef dozda tekrarlanabilir 3D tabletlerin basılabilirliğini göstermektedir.

#### Tabletlerin morfolojik özelliklerinin tayini

Çalışmamızda basılan F1 ve F2 tabletlerinin morfolojik yapısı SEM kullanılarak görüntülenmiştir (Bkz. Resim 4.7-4.8). F1 ve F2 tabletleri için elde edilen SEM görüntüleri tabletlerin morfolojik kalitesini kanıtlamaktadır. 3D tabletlerin yüzey SEM görüntüleri yazıcının nozulünden ekstrüde edilen filament eriyiğinin homojen şeritler şeklinde aralarında herhangi bir boşluk kalmaksızın birbiriyle birleştiğini göstermektedir. Tabletlerin yan görünümüne ait SEM görüntülerinden de tableti oluşturan eş tabakaların birbirine yapışarak düzgün bir şekilde üst üste dizildiği ve bu tabakaların aralarında herhangi bir boşluk ve çatlaklığın olmadığı anlaşılmaktadır. Bu sonuçlar tabletlerin basımında kullanılan filamentlerin homojen çap ve özelliklere sahip olduğunu, ayrıca bu filamentler için FDM 3DP prosesinde işlem parametrelerinin iyi optimize edildiğini kanıtlamaktadır.

#### Tabletlerin in vitro çözünme hızı çalışmaları

Bu çalışmada flutikazon propiyanatın kolona spesifik salım yapan 3D tablet formülasyonlarının geliştirilmesi amaçlanmıştır. İn vitro çözünme hızı çalışmaları hedef salım profiline sahip tablet formülasyonlarının geliştirilmesinde önemlidir. Literatürde yaygın olarak kolona hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler için in vitro çözünme hızı çalışmaları sırasıyla pH 1,2; pH 6,8 ve pH 7,4 tampon ortamlarında yapılmıştır (Bruce ve diğerleri, 2005; Kumar ve diğerleri, 2020; Nykanen, Sten, Jürjenson, Veski ve Marvola, 2004). Çalışmamızda Flutikazon propiyonat içeren F1 ve F2 tabletleri için çözünme hızı çalışmaları Bölüm 3.5.3'te anlatıldığı gibi 2 saat pH 1,2; 4 saat pH 6,8 ve 18 saat pH 7,4 tampon ortamlarında olmak üzere 24 saat süreyle sepet yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tabletlerin sırasıyla mide ve ince bağırsak taklit eden pH 1,2 ve pH 6,8 tampon ortamlarında minimum salım yapması kolonu taklit eden pH 7,4 tampon ortamında ise salımın kontrollü bir şekilde gerçekleşerek 24 saat içerisinde tamamlanması hedeflenmiştir.

F1 ve F2 formülasyonlarına ait salım profilleri incelendiğinde 3D tabletlerin ilk 2 saat pH 1,2 mide ortamında neredeyse hiç salım yapmadığı (%0-5), 2-6. saatler arasında ince barsak ortamını taklit eden pH 6,8 ortamında minimum salım yaptığı (%5-10) ve 8-14. saatler arasında kolonu taklit eden pH 7,4 ortamında ise içerdikleri etkin maddenin tamamına yakını (%91-98) saldıgı gözlemlenmiştir (Bkz. Şekil 4.45 ve 4.46). Oral yoldan kolona hedefleme amacına uygun olarak 6 saatlik bir gecikme zamanından sonra, salım büyük oranda (%90-95) kolonu taklit eden pH 7,4 ortamında kontrollü bir şekilde gerçekleşmiştir. Elde edilen bulgular tablet matrislerinden ilk 6 saat boyunca erozyon veya difüzyon mekanizmalarıyla neredeyse hiç salım gerçekleşmediğini göstermektedir. İlk 2 saat pH 1,2 mide ortamında tabletlerden erozyonla salımın gerçekleşmemesi beklenen bir durum olup, matriks polimeri olarak kullanılan Eudragit S100'ün pH duyarlı bir polimer olup asidik ortamda çözünmemesiyle ilişkilidir. Bununla birlikte formülasyonlarda yer alan triasetin gibi yüksek çözünürlüğe sahip plastifiyanların çözünme hızı boyunca tabletlerden sızarak tabletlerin içerisinde kanal oluşumuna yol açtığı bilinmektedir (Andrews ve diğerleri, 2008; Bruce ve diğerleri, 2005). F1 ve F2 formülasyonlarında ana plastifiyan olarak matriks polimerinin %50'si oranında triasetin kullanılmıştır. Ancak buna rağmen F1 ve F2 tabletlerin yüzeyinden veya oluşan bu iç kanallardan difüzyonla etkin madde salımı gerçekleşmemiştir. Bu sonuçlar etkin maddenin çözünürlüğünün düşük olması, tabletlerdeki etkin madde miktarının düşük olması (%5) ve 3D tabletlerin yüksek dansiteye sahip kompakt yapılarıyla ilişkili olabileceği düşünülmüştür (Zhang ve diğerleri, 2017). Bunların yanısıra tabletlerin pH 6,8 ince bağırsak ortamında minimum salım yapması sitrik asit monohidrat, etil selüloz ve magnezyum stearat gibi formülasyon bileşenlerinin salım geciktirici etkileriyle de ilişkilendirilmiştir.

F1 ve F2 formülasyonlarında yer alan sitrik asit monohidrat, etil selüloz ve magnezyum stearatın enterik polimerler kullanılarak kolona hedeflendirilmiş sistemlerde salım geciktirici etkileri literatürde tartışılmıştır (Bruce ve diğerleri, 2005; Dumpa ve diğerleri, 2018; Fukui, Miyamura ve Kobayashi, 2001). Enterik polimerler ilacı mide ve ince barsağın daha üst bölgelerinde (proksimal kısımlarında) koruyarak geciktirilmiş salıma olanak sağlamaktadır. Literatürde bu polimerlerin etkin maddeyi kolona spesifik olarak ulaştırmayı hedefleyen formülasyonlarda kaplama olarak kullanımları yaygın bir şekilde çalışılmıştır (Patole ve Pandit, 2017; Qiao, Zhang, Ma, Zhu ve Xiao, 2013). Ancak geleneksel geciktirilmiş salım formülasyonları kolonu hedeflemek için yeterince etkili değildir. Bu sistemlerin çözünürlüğü pH arttıkça artmasına rağmen bu yaklaşım bazı dezavantajlara sahiptir. Gastrointestinal sistem boyunca görülen pH dalgalanmaları, formülasyonların kolona ulaşmadan ince barsağın distal kısımlarında açılmasına neden olabilmektedir. Dolayısıyla bu sistemlerde kaplamanın açılmasıyla ince bağırsağın distal ve

kolonun proksimal kısımlarında daha yüksek miktarda ilaç salınırken, daha düşük miktarda ilaç kolonun distal kısımlarına ulaşmaktadır (Amidon ve diğerleri, 2015; Qelliny ve diğerleri, 2019). Literatürde enterik polimerlerle kolona hedeflendirilmiş sistemlerde, formülasyonlara sitrik asit gibi organik asitlerin dahil edilmesiyle salım sırasında formülasyonların etrafında asidik bir mikroçevre oluştuğu ve böylelikle ince bağırsakta görülen erken açılmaların önüne geçilerek salımın geciktirildiği gösterilmiştir (Bruce ve diğerleri, 2005; Nykanen ve diğerleri, 2004). Ayrıca formülasyonlara magnezyum stearat, kalsiyum stearat, gliseril monostearat gibi hidrofobik yardımcı maddelerin eklenmesiyle de gastrointestinal sistemlerin üst kısımlarında görülen erken açılmaların önüne geçildiği görülmüştür (Bruce ve diğerleri, 2005; Fukui ve diğerleri, 2001). Bunların yanısıra kolonda kontrollü salım yapan formülasyonlar geliştirmek için Eudragit RS PO, Eudragit RL PO ve etil selüloz gibi zaman kontrollü polimerler diğer bazı enterik polimerlerle kombine edilmiştir (Akhgari, Sadeghi ve Garekani, 2006; Handali ve diğerleri, 2018). Butün bu stratejiler enterik polimerlerin kaplama olarak kullanıldığı geleneksel tablet formülasyonlarında yaygın olarak kullanılmıştır. Ancak son zamanlarda HME yöntemiyle enterik polimerlerin tablet matriksi olarak kullanıldığı formülasyonlar kolona spesifik kontrollü salım özellikleriyle ön plana çıkmıştır.

Andrews ve diğerleri (2008) pH duyarlı polimer olan Eudragit L100-55'i matriks polimeri olarak kullanarak HME yöntemiyle tablet şeklinde ekstrüdatlar elde etmiştir. Bu çalışmada ayrıca elde edilen ekstrüdatlar öğütülerek direkt basım yöntemiyle basılmıştır. Direkt basım yöntemiyle basılan tabletler ve HME yöntemiyle edilen tabletlerin pH 1,2 mide ortamında salım özellikleri karşılaştırılmıştır. Direkt basım yöntemiyle basılan tabletlerde asidik ortamda %10'un üzerinde etkin madde salımı gerçekleşirken, HME ile elde edilen tablet şeklindeki ekstrüdatlarda nerdeyse hiç salım gerçekleşmemiştir. Bu durum HME ile üretilen tabletlerin göreceli olarak düşük poroziteye ve yüksek dansiteye sahip olmalarıyla ilişkilendirilmiştir (Schilling ve diğerleri, 2010). Bu sonuçlar HME yöntemiyle üretilen enterik matriks sistemlerin geleneksel enterik film kaplama proseslerine alternatif olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Diğer bir çalışmada Bruce ve diğerleri (2005) 5-ASA'yı kolona hedeflemek için polimerik taşıyıcı olarak Eudragit S100'ü kullanarak HME yöntemiyle enterik matriks tabletler hazırlamıştır. Bu çalışmada ilacın kolona etkili bir şekilde hedeflenmesi için formülasyona %10 sitrik asit monohidrat ve %6 oranında GMS eklenerek tabletlerin salımı optimize edilmiştir. İn vitro salım çalışmalarıyla formülasyona %10 sitrik asit monohidrat dahil etmenin 2-6. saatler arasında gerçekleşen etkin madde salımını minimize ettiği ve 12. saatin sonunda pH 7,4 ortamındaki etkin madde salımında da ciddi bir düşüşe neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca tabletlerde hidrofobik yapıdaki GMS oranı %6'dan

%12'ye çıkarıldığında özellikle pH 7,4 ortamında etkin madde salımını büyük ölçüde geciktirdiği görülmüştür. Başka bir çalışmada Dumpa ve diğerleri (2018) 6 saatlik bir gecikme zamanına sahip kronoterapötik ilaç taşıyıcı sistemler geliştirmek için matriks polimeri olarak Eudragit S100 ve salım geciktirici ajan olarak düşük oranlarda etil selüloz kullanmıştır. Bu literatür çalışmasında HME yöntemiyle hazırlanan Eudragit S100 bazlı matriks pellet formülasyonlarında %2,5 oranında etil selüloz kullanılmıştır. Elde edilen salım profiline göre ilk iki saat pH 1,2 mide ortamında hiç salımın olmadığı, 2-6. saatler arasında salımın %20'nin altında olduğu ve pH 7,4 ortamında ise 12. saatin sonunda ilacın tamamına yakınının salındığı görülmüştür. Tüm bu literatür çalışmalarının sonuçları değerlendirilerek çalışmamızda F1 ve F2 tablet formülasyonlarına salım geciktirici olarak sitrik asit monohidrat (%7), magnezyum stearat (%7) ve etil selüloz (%3) dahil edilmiştir. Ayrıca F1 ve F2 formülasyonlarına çözünürlük artırıcı olarak Gelucire 48/16 ve gammasiklodekstrin dahil edilerek bunların salım profilleri üzerine etkisi karşılaştırılmıştır.

F1 3D tablet formülasyonunda çözünürlük artırıcı olarak % 4 oranında Gelucire 48/16 mevcutken; F2 3D tablet formülasyonunda %4 Gelucire 48/16'ya ek olarak formülasyona %7,5 oranında gammasiklodekstrin dahil edilmiştir. Siklodekstrinlerin çoğunlukla ilaç molekülleriyle inklüzyon kompleksi oluşturarak ilaçların çözünürlüğünü artırdığı bilinmektedir. Ancak bu mekanizmanın dışında siklodekstrinler ilaç molekülleriyle misel benzeri yapıya sahip kendiliğinden oluşan agregatlar oluşturarak ilacın çözünürlüğünü artırabilmektedir. Ayrıca gammasiklodekstrinin sulu çözeltilerde agregasyon eğilimi  $\alpha$ - ve  $\beta$ - siklodekstrinlerden daha fazladır (Brewster ve Loftsson, 2007; Jansook, Ogawa ve Loftsson, 2018). F2 3D tablet formülasyonuna dahil edilen gammasiklodekstrin oranı (%7,5) flutikazon propiyonatla inklüzyon kompleksi oluşturmak için çok düşüktür (Tokumura ve diğerleri, 2015). Siklodekstrinlerin daha düşük konsantrasyonlarda (kritik agregat oluşturma konsantrasyonunun üzerinde) kendiliğinden oluşan agregatlar oluşturdukları bilinmektedir. Dolayısıyla bu çalışmada F2 formülasyonuna dahil edilen kritik agregat oluşturma konsantrasyonu %0,95 (w/v) olan gammasiklodekstrinin misel benzeri agregatlar oluşturarak çözünürlüğü artırması beklenmiştir (Messner, Kurkov, Jansook ve Loftsson, 2010; Saokham ve Loftsson, 2015). F2 3D tablet formülasyonlarının salım profili gammasiklodekstrin içermeyen F1 3D tablet formülasyonlarıyla kıyaslandığında 0-6. saatler arasında etkin madde salımının %5'ten %10'a çıktığı görülmüştür. Bu etkin maddenin çözünürlük artışıyla ilişkilendirilebilir. Ancak 14. saatin sonunda F1 3D tabletlerden ilacın yaklaşık %98'i salınırken F2 3D tablet formülasyonlarından ilacın yaklaşık %91'i salınmıştır. Literatürde formülasyonlarda siklodekstrin kullanımının henüz açıklanamayan bir mekanizmayla sürekli salıma (sustained-release) neden olduğu belirtilmiştir (Drumond, Sá Couto, Costa ve Cabral-

Marques, 2014). pH 7,4 ortamında salımın bir miktar yavaşlamasının bununla ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Ancak bununla birlikte F1 ve F2 tabletlerinin karşılaştırmalı çözünme hızı profilleri Şekil 4.47’de verilmiş olup iki profilin benzerliğini değerlendirmek için hesaplanan  $f_2$  değerinin 50’den büyük olduğu görülmüştür. Dolayısıyla iki profilin benzer olduğu ortaya çıkan farklılıkların anlamlı olmadığı anlaşılmıştır. F2 formülasyonu için elde edilen in vitro çözünme hızı profili etkin maddenin artması beklenen çözünürlük artışını yansıtmamaktadır. Çalışmamızda geliştirilen 3D tablet formülasyonlarında etkin maddenin çözünürlüğü Bölüm 3.9’da anlatıldığı gibi shake-flask yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir.

### Salım kinetikleri

F1 ve F2 tabletlerinden etkin madde salımının 0. derece, 1. derece, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, Hixon-Crowell ve Weibull gibi farklı kinetik modellere uyumlulukları değerlendirilmiştir. Her iki formülasyona ait in vitro salım verileri ayrı ayrı analiz edilerek kinetik modeller için uyumluluk ölçütü olarak kullanılan değerler ( $R^2$ ,  $R^2_{adj}$ , AIC, MSC ve modele özgü diğer katsayılar) hesaplanmıştır (Bkz. Çizelge 4.24). Korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) değeri aynı sayıda parametreye sahip modellerin karşılaştırılmasında kullanılan bir model uyumluluk ölçütüdür.  $R^2$  değerinin 1’e yakınlığı modele uyumluluğun göstergesidir. Ancak matematiksel modelde kullanılan parametre sayısı arttıkça  $R^2$  değeri artmaktadır. Farklı sayıda parametreye sahip modeller karşılaştırıldığında sonuçların hatalı yorumlanmaması için düzeltilmiş korelasyon katsayısı ( $R^2_{adj}$ ) hesaplanmaktadır. Dolayısıyla salım profili için en uygun model belirlenirken, en yüksek  $R^2$  değerine sahip modelden ziyade en yüksek  $R^2_{adj}$  değerine sahip model seçilmektedir (Costa ve Lobo, 2001). Model seçim ölçütü (MSC) ve Akaike bilgi ölçütü (AIC) değerleri modelin belirlenmesinde kullanılan diğer önemli uyumluluk ölçütleridir. En yüksek MSC değeri ve en düşük AIC değerine sahip model, salım profiline uyan en iyi model olarak kabul edilmektedir. Genellikle 2 ya da 3’ten büyük bir MSC değeri, modele uyumluluğu göstermektedir (Zhang ve diğerleri, 2010).

Çalışmamızda F1 ve F2 tablet formülasyonları için hesaplanan model uyumluluk ölçütleri incelendiğinde, her iki formülasyonun Weibull salım kinetiğiyle en yüksek uyumluluğu gösterdiği görülmüştür. F1 ve F2 formülasyonlarının Weibull salım kinetiğine uyumluluğu diğer kinetik modellerine kıyasla en yüksek  $R^2_{adj}$  değerleri (sırasıyla 0,995 ve 0,907), en düşük AIC değerleri (sırasıyla 63,62 ve 98,86) ve en yüksek MSC değerleriyle (sırasıyla 4,831 ve 2,100) belirlenmiştir. İn vitro salım profillerinin Weibull kinetik modeliyle eşleştirilmesine ait Şekil 4.48 ve 4.49’daki grafikler incelendiğinde F1 formülasyonuna ait salım profilinin F2 formülasyonuna kıyasla model

için tahmin edilen profile daha iyi örtüştüğü görülmüştür. Bu sonuç elde edilen uyumluluk ölçütleriyle tutarlı olup F1 formülasyonunun F2'ye göre Weibull salım kinetiğine daha yüksek uyum gösterdiğini kanıtlamaktadır.

Weibull kinetiğinde modele özgü katsayılar incelendiğinde “ $\alpha$ ” zamana bağımlılığı tanımlayan bir ölçek parametresiyken, “ $\beta$ ” salım profilinin şeklini belirleyen bir parametredir (Paarakh, Jose, Setty ve Christoper, 2018). Salım eğrisinin şekli,  $\beta$  değeri 1'e eşit olduğunda tam olarak  $k = 1/a$  sabitli bir üstel profile karşılık gelmektedir.  $\beta$  değerinin 1'den küçük olması durumunda salım eğrisinin şekli,  $\beta = 1$ 'e göre daha dik bir artış göstermektedir.  $\beta$  değerinin 1'den büyük olması durumunda ise bir dönüm noktasına sahip sigmoidal bir eğri gözlenmektedir (Khan ve diğerleri, 2020; Lokhandwala, Deshpande ve Deshpande, 2013). Çalışmamızda elde edilen veriler değerlendirildiğinde F1 ve F2 formülasyonları için  $\beta$  değerinin 1'den büyük olduğu (sırasıyla 4,235 ve 1,876) ve her iki salım eğrisinin de sigmoidal bir şekle sahip olduğu görülmektedir (Bkz. Çizelge 4.24 ve Şekil 4.45 ve 4.46).

Polimerik matrikslerden etkin madde salımının Weibull kinetiğine yüksek uyumluluk gösterdiği bilinmektedir. Weibull kinetiğinde  $\beta$  parametresi, ilacın polimerik matriksten salım mekanizması hakkında da bilgi vermektedir.  $\beta$ 'nın 1'den büyük olması ilacın polimerik matriksten kompleks bir mekanizmayla salındığını göstermektedir (Papadopoulou, Kosmidis, Vlachou ve Macheras, 2006; Turanlı, Tort ve Acartürk, 2019). F1 ve F2 formülasyonları için ana matriks bileşenini oluşturan Eudragit S100 ve salım geciktirici olarak kullanılan etil selüloz polimerlerinden dolayı ortam pH'sına bağlı olarak difüzyon ve erozyon mekanizmasının etkili olduğu kompleks bir salım mekanizması beklenmekte ve elde edilen verilerle tutarlılık göstermektedir. Ancak etkin maddenin düşük çözünürlüğünden dolayı özellikle bazik ortamlarda baskın salım mekanizmasının erozyon olacağı düşünülmektedir (Costa ve Lobo, 2001). Elde edilen salım kinetiği sonuçları literatürle uyumlu olup, Eudragit S100'ün tablet matriksi olarak kullanıldığı başka bir çalışmada etkin madde salımının Weibull kinetiğine uyduğu gösterilmiştir (Khan ve diğerleri, 2020).

### 5.5. 3D Tabletlerde Dolgu Yüzdesinin İn Vitro Salım Üzerine Etkisi

Dolgu yüzdesinin in vitro salım profili üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla %50, %75 ve %100 dolguyla basılan F1 tabletlerinin karşılaştırmalı in vitro çözünme hızı profilleri Şekil 4.50'de verilmiştir. Çözünme hızı profilleri incelendiğinde dolgu yüzdesi azaldıkça yani tablet içindeki boşluk miktarı arttıkça salım hızlarında bir miktar artış gözlemlenmiştir. Ancak farklı dolgu

yüzdesine (%50, %75 ve %100) sahip tabletlerin çözünme hızı profilleri  $f_2$  benzerlik faktörü ile kıyaslandığında profillerin benzer olduğu görülmüştür ( $f_2 > 50$ ). Tabletlerin dolgu yüzdesi arttıkça porozitesi azaldığından daha yüksek dolgu yüzdesine sahip tabletlerde etkin madde salım hızının düşmesi beklenmektedir (Thakkar ve diğerleri, 2020). Ancak çalışmamızda farklı dolgu yüzdesine sahip aynı ağırlıkta tabletler basmak için tasarım boyutları değiştirilmiştir. Aksi takdirde farklı dolgu yüzdelerinde basılan tabletlerin ağırlıkları arasında ciddi sapmalar görüldü. %50, %75 ve %100 dolgu yüzdesine sahip 200 mg tabletler basmak için belirlenen tablet boyutları Çizelge 4.16'da verilmiştir. Buna göre dolgu yüzdesi azaldıkça tabletlerin büyüklüğü artmıştır. Tablet büyüklüğünün artmasına bağlı olarak tabletlerde yüzey alanı/kütle oranı azaldığından ilacın salım hızının yavaşladığı düşünülmüştür (Pietrzak ve diğerleri, 2015; Skowrya, Pietrzak ve Alhnan, 2015). Dolayısıyla tabletlerin dolgu yüzdesi azaldıkça salım hızında beklenen artışın görülmemesi bu durumla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada basılan tüm tabletlerin 0,8 mm'lik dış kabuğa sahip olduğunu vurgulamak önemlidir. Tablet kabuğu iç dolgu yüzdesinden bağımsız olarak tabletlerin %100 dolgu yüzdesine sahip alt ve üst katmanlarını oluşturmaktadır. Dolayısıyla çalışmamızda basılan tabletler farklı iç dolgu yüzdelerine rağmen aynı dış kabuğa sahiptir. Aynı dış kabuğa sahip bu tabletlerde iç dolgu yüzdesinin değişmesi tablet porozitesini daha az etkilediğinden dolgu yüzdesindeki değişikliklerin salım hızını etkilemediği düşünülmüştür (Fanous ve diğerleri, 2021).

Thakkar ve diğerleri (2020) yaptıkları çalışmada tabletleri bir dış kabuk olmadan doğrudan %20, %40, %60 ve %80 dolgu yüzdesiyle hazırlayarak salım profillerini kıyaslamış ve dolgu yüzdesi arttıkça tabletlerin salım hızının arttığını göstermiştir. Tabletlerde bir dış kabuk olmadan tüm katmanların düşük dolgu yüzdesiyle basılması tablet porozitesini daha fazla artırdığından dolgu yüzdesi azaldıkça salım hızının arttığı görülmüştür. Bir diğer çalışmada seçilen dolgu desenine bağlı olarak dolgu yüzdesinin salım üzerindeki etkisinin değişebileceği gösterilmiştir. Paralel dolgu deseniyle basılan tabletlerde dolgu yüzdesi arttıkça salımın yavaşladığı ve zigzag dolgu deseniyle basılan tabletlerde dolgu yüzdesi arttıkça salımın hızlandığı gösterilmiştir (Obeid, Madzarevic, Krkobabic ve Ibrić, 2021). Fanous ve diğerleri (2020) başka bir çalışmada farklı salım özelliklerine sahip polimerlerle hazırlanan tabletlerde dolgu yüzdesinin salım hızını farklı etkilediğini göstermiştir. Salımın matriks erozyonuna dayandığı formülasyonlarda dolgu yüzdesi azaldıkça tabletlerin yüzey alanındaki artışa bağlı olarak salımın hızlandığı gösterilmiştir. Diğer taraftan bu çalışmada salımın difüzyonla gerçekleştiği hızlı salım yapan formülasyonlarda tabletlerin yüzey alanının artması salımı daha az etkilediğinden, dolgu yüzdesinin ilacın salım hızını etkilemediği gözlemlenmiştir. Benzer şekilde Gültekin ve diğerleri (2019) de hızlı salım

yapan formülasyonlarda dolgu yüzdesinin etkin maddenin salım hızını etkilemediğini göstermiştir. Dolayısıyla, 3D baskı yöntemiyle tabletlerin dolgu yüzdesi kolayca bilgisayar ortamında değiştirilerek ilacın salım hızı optimize edilmek istendiğinde yukarıda bahsedilen tüm faktörler göz önünde bulundurulmalıdır.

### 5.6. 3D Tabletlerde Boyut ve Ağırlığın İn Vitro Salım Üzerine Etkisi

İn vitro salım profili üzerine tabletin boyut ve ağırlığının etkisini değerlendirmek amacıyla Bölüm 3.7’de anlatıldığı gibi artan büyüklüklerde 100 mg, 200 mg ve 400 mg ağırlığında F2 tabletler basılmıştır (Bkz. Çizelge 4.16). Farklı dozlarda etkin madde içeren farklı büyüklük ve ağırlıktaki bu tabletler için in vitro çözünme hızı çalışmaları yapılarak salım profilleri karşılaştırmalı olarak Şekil 4.51’de verilmiştir. Farklı ağırlıklara (100 mg, 200 mg, 400 mg) sahip F2 tabletlerinin in vitro çözünme hızı profillerinin benzer olmadığı görülmüştür ( $f_2 < 50$ ). Elde edilen bulgular incelendiğinde tabletlerin büyüklük ve ağırlığı arttıkça etkin maddenin salım hızının düştüğü görülmüştür. Bu sonucun tablet büyüklüğü arttıkça tabletlerde yüzey alanı/kütle oranının azalmasıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür. Pietrzak ve diğerleri (2015) farklı büyüklük ve ağırlığa sahip bir seri tablet basarak salım profillerini kıyaslamıştır. Daha küçük tabletlerde salım hızının daha yüksek olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuç daha küçük tabletlerin daha büyük yüzey alanına sahip olmasıyla ilişkilendirilmiştir.

### 5.7. 3D Tabletlerde Dozun Kişiselleştirilmesi

İBH’nin tedavisinde kullanılacak flutikazon propiyonat yüklü tabletler için kişiye özgü tedavinin sağlanabilmesi önemlidir. Bu çalışmada 10 mg hedef dozda flutikazon propiyonat içeren F1 ve F2 tabletlerine ek olarak 5 mg ve 7,5 mg doza sahip tabletler geliştirilerek dozun kişiselleştirilmesi hedeflenmiştir. Bölüm 3.8’de anlatıldığı şekilde farklı dozlarda etkin madde içeren filamentler kullanılarak 5 mg doza sahip F1a ve F2a tabletleri ile 7,5 mg doza sahip F1b ve F2b tabletleri basılmıştır. Farklı dozlara sahip tüm tabletlerin ve bu tabletlerin basımında kullanılan tüm filamentlerin karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Çözünme hızı çalışmaları dışında elde edilen filament ve tablet karakterizasyon bulguları Çizelge 4.25’te 10 mg doza sahip F1 ve F2 tabletleriyle karşılaştırmalı olarak verilmiştir. F1 ve F2 formülasyonlarının farklı dozlarda hazırlanan filament ve tabletler için elde edilen karakterizasyon bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p > 0,05$ ). Ayrıca farklı dozlara sahip F1a, F1b ve F1 tabletlerde doz orantısallığını göstermek için F1a (5 mg) ve F1b (7,5 mg) tabletlerinin profilleri 10 mg doza sahip F1 tabletlerin

çözünme hızı profiliyle  $f_2$  benzerlik faktörü kullanılarak karşılaştırılmıştır. Hesaplanan  $f_2$  değerlerinin 50'den büyük olması çözünme hızı profillerinin benzer olduğunu göstermiştir (Bkz. Şekil 4.52). Benzer şekilde F2a (5 mg) ve F2b (7,5 mg) tabletlerin profilleri 10 mg doza sahip F2 tabletlerinin çözünme hızı profiliyle kıyaslanarak profillerin benzer olduğu gösterilmiştir ( $f_2 > 50$ ) (Bkz. Şekil 4.53). Dolayısıyla çalışmamızda 3D baskı yöntemiyle geliştirilen F1 ve F2 tabletlerinin farklı dozları hazırlanarak kişiye özgü tedavi uygulamanın mümkün olduğu gösterilmiştir.

### 5.8. 3D Tablet Formülasyonlarında Etkin Maddenin Çözünürlüğü

F1 ve F2 3D tablet formülasyonlarında etkin maddenin çözünürlük artışı değerlendirilmek için Bölüm 3.9'da anlatıldığı şekilde F1 ve F2 tablet tozlarının shake-flask yöntemiyle çözünürlük çalışmaları yapılarak elde edilen bulgular Çizelge 4.26'da verilmiştir. Bu yöntem katı amorf dispersiyonların sağladığı çözünürlük artışı göstermek için sıklıkla kullanılmaktadır (Chivate, Garkal, Hariharan ve Mehta, 2021; Islam ve diğerleri, 2020). Çalışmamızda saf etkin maddenin pH 7,4 ortamındaki çözünürlük değeri kullanılan miktar tayin yöntemiyle analiz edilemediğinden  $< 0,1 \mu\text{g/mL}$  olarak kabul edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.1). F1 ve F2 tablet tozlarıyla yapılan çözünürlük çalışmalarında etkin maddenin çözünürlüğü  $2 \mu\text{g/mL}$  ve  $20 \mu\text{g/mL}$  olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar F1 ve F2 formülasyonlarında etkin maddenin çözünürlüğünde sırasıyla 20 ve 200 kattan daha fazla artış olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda HME ve FDM 3DP prosesinde uygulanan sıcaklıklar etkin maddenin erime sıcaklığının çok altında olduğundan etkin maddenin polimer matriksi içerisinde erimeden/çözünmeden kristal formuyla disperse olduğu düşünülmüştür. Ayrıca tablet ve filament formülasyonlarına ait XRD analiz sonuçları etkin maddenin filament ve tabletler içerisinde kristal formunu koruduğunu doğrulamıştır (Bkz. Şekil 4.39-4.40).

Çalışmamızda ana matriks polimeri olan Eudragit S100'un amorf yapısından ve etkin maddenin kristal formundan ötürü geliştirilen formülasyonlar amorf katı dispersiyonların bir alt sınıfı olan "kristalin süspansiyon" olarak değerlendirilmiştir. Bu tip amorf katı dispersiyonların DSC profillerinde kristal formdaki etkin maddenin erime piki ve amorf polimerin camsı geçiş sıcaklığı ayrı ayrı gözlenmektedir (Bkz. Çizelge 2.7) (Almeida ve diğerleri, 2012: 43-69). Kristalin süspansiyonlarda sisteme çeşitli sürfaktan maddeler de dahil edilebilmektedir. Çalışmamızda sürfaktan olarak Gelucire 48/16 kullanılmıştır. Sürfaktanların dahil edildiği bu amorf katı dispersiyon sistemler 3. jenerasyon katı dispersiyonlar olarak da bilinmektedir. Formülasyonlarında kullanılan amorf polimerik taşıyıcılar ve sürfaktanlar, etkin maddenin

ıslanabilirliğini artırarak etkin maddenin çözünürlüğünü ve salım hızını artırmaktadır. Ayrıca formülasyona ilave edilen sürfaktanlar etkin madde ile polimerin karışabilirliğini sağlayarak ilacın fiziksel ve kimyasal stabilitesini de artırmaktadır (Vo, Park ve Lee, 2013).

Literatürde HME veya FDM 3DP ile hazırlanan katı dispersiyon formülasyonlarında sürfaktan olarak Gelucire türevlerinin yaygın bir şekilde kullanıldığı görülmüştür (Aldosari ve diğerleri, 2021; Real, Barberis, Camacho, Sanchez Bruni ve Palma, 2020; Tabriz ve diğerleri, 2021). Gelucire türevleri kimyasal olarak hidrofilik PEG kısımlarına ve lipofilik yağ asidi kısımlarına sahip non-iyonik sürfaktanlardır. Geniş bir HLB (hidrofilik-lipofilik balans) değeri aralığına sahip farklı türevleri sıklıkla suda az çözünen ilaçların çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını artırmak için kullanılmaktadır (Sarabu ve diğerleri, 2021). Gelucire türevleri HLB değerlerine göre farklı çözünürlük özelliklerine ve 33 °C-65 °C arası değişen erime noktalarına sahiptirler. Genellikle daha yüksek HLB değerine sahip türevlerinin çözünürlük artırıcı etkileri daha fazladır. Yüksek HLB değerine sahip Gelucire türevleri (Gelucire 44/14 ve Gelucire 48/16 gibi) suda çözünürlüğü düşük maddelerin çözünürlüğünü artırmada diğer yardımcı maddelerle birlikte veya tek başına kullanılmaktadır (Aldosari ve diğerleri, 2021; Tabriz ve diğerleri, 2021). Yapılan çalışmalarda suda çözünürlüğü düşük etkin maddeler için Gelucire 48/16 ve Gelucire 44/14'ün salım üzerine etkileri incelenmiş olup Gelucire 48/16'nın daha fazla çözünürlük artırıcı etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Jannin ve diğerleri, 2015; Saydam ve Takka, 2020). Çalışmamızda çözünürlük artırıcı olarak %4 oranında Gelucire 48/16 içeren F1 3D formülasyonunda flutikazon propiyonatın çözünürlüğünde 20 kattan daha fazla artış olduğu görülmüştür. Etkin maddenin çözünürlüğünde daha fazla artış sağlamak için F2 3D tablet formülasyonuna Gelucire 48/16'ya ek olarak %7,5 oranında gammasiklodekstrin ilave edilmiştir. Çözünürlük çalışmalarından elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde F2 formülasyonunda flutikazon propiyonatın çözünürlüğünde 200 kattan daha fazla artış olduğu görülmüştür. Daha önce Bölüm 5.4.3'te belirtildiği gibi formülasyonlara dahil edilen gammasiklodekstrinin misel benzeri agregatlar oluşturarak çözünürlüğü artırdığı düşünülmektedir.

Literatürde flutikazon propiyonatın İBH'de kullanımıyla ilgili herhangi bir in vivo çalışmaya rastlanmamasına rağmen çok düşük çözünürlüğe sahip olmasının kolon mukozasından lokal geçişine engel olduğu dolayısıyla bunun düşük tedavi etkinliğiyle sonuçlandığı belirtilmiştir. (Thakral ve diğerleri, 2012). Ancak buna rağmen flutikazon propiyonatın topikal olarak astım tedavisinde potent anti-inflamatuvar etkinliğe sahip olduğu bilinmektedir. Terakosolphan ve arkadaşları çalışmalarında flutikazon propiyonatın üç farklı simüle akciğer sıvısındaki

çözünürlüğünü araştırmış ve flutikazon propiyonatın bu sıvılardaki çözünürlüğünü 2,04 µg/mL, 3,89 µg/mL ve 20,28 µg/mL olarak bulmuştur. Bu çalışmada suda çözünürlüğü düşük steroid türevi ilaç partiküllerinin inhalasyonla akciğerlerin sürfaktan içeren sıvı filmlerle kaplı mukozal yüzeyine gönderildiği zaman etkili bir şekilde çözünebildiği belirtilmiştir (Terakosolphan ve diğerleri, 2016). Dolayısıyla flutikazon propiyonatın düşük çözünürlüğüne rağmen inhaler yoldan güçlü lokal etkiye sahip olması akciğerlerde bulunan doğal sürfaktanlarla ilişkilendirilmiştir. Flutikazon propiyonatın İBH'nin lokal tedavisinde oral yoldan kullanımına yönelik yapılan kısıtlı sayıdaki çalışmalarda etkin maddenin siklodekstrinlerle inklüzyon kompleksi oluşturularak veya farklı hidrofilik taşıyıcılarla katı dispersiyonları oluşturularak çözünürlüğü artırılmıştır. Ancak bu çalışmalarda geliştirilen formülasyonların İBH üzerindeki in vivo etkinliği araştırılmamıştır (Al-Zheery ve Kamal, 2016; Thakral ve diğerleri, 2012). Çalışmamızda flutikazon propiyonatın çözünürlük değerlerinin sırasıyla yaklaşık 20 ve 200 kat artırıldığı F1 ve F2 formülasyonlarının İBH'deki in vivo etkinlikleri karşılaştırılmıştır.

## 5.9. Filament ve Tabletlerde Stabilité Çalışmaları

### 5.9.1. Filamentlerde stabilite çalışmaları

FDM 3DP tekniğinin farmasötik alanda talebe bağlı üretim için potansiyeli büyük ölçüde tekrarlanabilir, uygun doza sahip ve raf ömrü boyunca fiziksel ve kimyasal olarak stabil kullanıma hazır filamentlerin HME yöntemiyle üretilmesine bağlıdır. Bu tekniği bu amaç için başarılı bir şekilde uygulamak için üretilen filamentlerin ambalajlama ve saklama koşullarının belirlenmesi dolayısıyla filamentler için stabilite çalışmalarının yapılması önemlidir (Okwuosa ve diğerleri, 2021). Bu çalışmada geliştirilen F1 ve F2 filamentlerinin hızlandırılmış ve uzun süreli stabilite çalışmaları Bölüm 3.10'da anlatıldığı şekilde gerçekleştirilerek elde edilen bulgular Çizelge 4.27 ve 4.28'de verilmiştir. Hızlandırılmış ve uzun süreli stabilite çalışmalarında elde edilen bulgulara göre F1 ve F2 filamentlerinin görünümünde 6 ay boyunca gözle görülebilir bir değişiklik görülmemiştir (Bkz. Resim 4.9-4.12). Tüm zaman noktalarında F1 ve F2 filamentleri kullanılarak 3D baskı yöntemiyle kesintisiz bir şekilde tabletlerin basılabildiği görülmüştür. Ayrıca stabilite test koşullarında bekletilen F1 ve F2 filamentlerinin tüm zaman noktalarında çap ve etkin madde yükleme etkinliğine ait elde edilen bulguları ile başlangıçtaki bulguları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ). Sonuç olarak F1 ve F2 filamentlerinin hem hızlandırılmış hem de uzun süreli test koşullarında 6 ay boyunca stabil olduğu görülmüştür (Bkz. Çizelge 4.27 ve 4.28). Okwuosa ve diğerleri (2021) çalışmalarında geliştirdikleri plasebo Eudragit S100 filamentlerinin

6 ay boyunca 5° C ve 30° C± %65 stabilite test koşullarında görünüm, çap ve basılabilirliklerinde herhangi bir değişiklik olmadığını gözlemlemiştir. Dolayısıyla Eudragit S100 polimeri kullanılarak saklama süresince stabil filamentler üretmenin mümkün olduğu söylenebilir.

### 5.9.2. Tabletlerde stabilite çalışmaları

Bu çalışmada geliştirilen F1 ve F2 tabletlerinin hızlandırılmış ve uzun süreli stabilite çalışmaları Bölüm 3.10’da anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Hızlandırılmış ve uzun süreli stabilite çalışmalarında elde edilen bulgulara göre F1 ve F2 tabletlerinin görünümünde 6 ay boyunca belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir (Bkz. Resim 4.13-4.16). Ayrıca stabilite test koşullarında bekletilen F1 ve F2 tabletlerinin belirlenen zaman noktalarında çap kalınlık tayini, ağırlık tekdüzeliği ve etkin madde miktar tayininden elde edilen bulguları ile başlangıçtaki bulguları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Bkz. Çizelge 4.29 ve 4.30). Hızlandırılmış ve uzun süreli stabilite koşullarında tutulan F1 ve F2 tabletlerinin 3. ve 6. aydaki salım profilleri testlerin başlangıcındaki salım profilleriyle  $f_2$  benzerlik faktörü kullanılarak karşılaştırılmıştır (Bkz. Şekil 4.54-4.57). Hesaplanan  $f_2$  değerlerinin 50’den büyük olması belirlenen zaman noktalarında elde edilen in vitro çözünme hızı profilleri ile testlerin başlangıcındaki salım profillerinin benzer olduklarını göstermiştir. Sonuç olarak F1 ve F2 3D tabletlerinin hem hızlandırılmış hem de uzun süreli test koşullarında 6 ay boyunca stabil olduğu gösterilmiştir.

## 5.10. İn Vivo Çalışmalar

### 5.10.1. Sıçanların tedavi süresince takip edilen fizyolojik özellikleri

#### Sıçanların ağırlık takibi

İn vivo çalışmanın başında oluşturulan deney grupları arasında sıçanların başlangıç ağırlıkları açısından bir fark olup olmadığı incelenmiş ve gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Bkz. Şekil 4.58) ( $p>0,05$ ). Deneye dahil edilen sıçanların başlangıç ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olmaması in vivo çalışmadan elde edilen sonuçların doğru bir şekilde değerlendirilmesi bakımından önemlidir. Ayrıca her grubun başlangıç ve tedavi öncesi ağırlıkları ile tedavi öncesi ve sonrası tespit edilen ağırlıkları arasında bir fark olup olmadığı incelenmiştir (Bkz. Şekil 4.59). Sıçanların başlangıç ağırlıkları ölçüldükten sonra kontrol grubu dışındaki tüm sıçanlara hastalık modeli oluşturmak için intrakolonik olarak TNBS uygulanmıştır. TNBS uygulanmasından 72 saat

sonra tedavi prosesine başlamadan hemen önce sıçanların ağırlıkları tekrar ölçülmüştür. Kontrol grubundaki sıçanlarda hastalık modeli oluşturulmadığından 72 saatlik süreçte beslenmeye bağlı olarak ağırlıklarında anlamlı bir artış görülmüştür ( $p<0,001$ ). Ancak diğer tüm gruplarda TNBS uygulandıktan 72 saat sonra sıçanların ortalama ağırlıklarında başlangıç ağırlıklarına kıyasla anlamlı bir düşüş olduğu görülmüştür ( $p<0,05$  veya  $p<0,01$ ). Sıçanlarda TNBS ile ülseratif kolit modeli indüklendikten sonra diyare ve iştahsızlık gibi semptomlara bağlı olarak kilo kaybı görülmüş olup bu durum literatürle uyumludur (Naeem ve diğerleri, 2015; Woodruff ve diğerleri, 2003; Yang ve diğerleri, 2014). Bu sonuçlar TNBS ile ülseratif kolit modelinin başarılı bir şekilde oluşturulduğuna işaret etmektedir. Deney hayvanlarında ülseratif kolit modeli oluşturmak için TNBS'nin yanısıra dekstran sodyum sülfat, asetik asit ve oksazolon gibi kimyasal maddeler de kullanılmaktadır (Naeem ve diğerleri, 2018; Niebel, Walkenbach, Beduneau, Pellequer ve Lamprecht, 2012; Patole ve Pandit, 2017). Ancak TNBS ile kolit modelinin indüklenmesi basit, tekrarlanabilir ve iyi bilinen bir yöntem olduğundan sıklıkla tercih edilmektedir. Hastalık modelinin hızlı bir şekilde geliştirmesi, kolona lokalize hasar oluşturmaya ve düşük maliyetli olması bu yöntemin diğer avantajları arasında yer almaktadır (Albuquerque ve diğerleri, 2020; Morris ve diğerleri, 1989; Seoane-Viano ve diğerleri, 2018).

Çalışmamızda TNBS ile hastalık modeli oluşturulduktan sonra 9 gün boyunca tedavi uygulanmış ve sıçanların 10. günde tedavi sonrası son ağırlıkları kaydedilmiştir. Deney gruplarındaki sıçanların tedavi öncesi ve sonrası ağırlıkları kıyaslandığında hasta kontrol grubu olan ÜK-K ve boş formülasyon uygulanan PL gruplarının tedavi süreci sonunda ağırlıklarında beklediği üzere anlamlı bir artış görülmemiştir ( $p>0,05$ ). Bu gruplardaki sıçanlara süreç boyunca herhangi bir tedavi uygulanmadığından hastalık semptomları devam etmiştir. Hastalık modeli oluşturulmayan sağlıklı kontrol (K) grubunun 9 günlük tedavi süresinin sonunda ağırlıklarında beslenmeye bağlı olarak tedavi öncesine göre anlamlı bir artış görülmüştür ( $p<0,01$ ). Ayrıca etkin madde ve F1 3D tablet ile tedavi edilen (sırasıyla EM ve F1) grupların ağırlıklarında tedavi öncesi kıyaslandığında anlamlı bir artış gözlemlenmiştir ( $p<0,001$  ve  $p<0,05$ ). Bu sonuçlar bu iki gruptaki sıçanların uygulanan tedaviye yanıt vermesine bağlı olarak hastalık semptomlarının azalmasıyla ilişkili olabilir. Ancak diğer taraftan F2 3D tablet uygulanan F2 grubunun tedavi ağırlıklarında tedavi öncesine göre artış görülmesine rağmen bu farkın anlamlı olmadığı görülmüştür. Bu durum alınan tedavinin yeterince etkili olmamasıyla veya iyileşmenin henüz tam gerçekleşmemesiyle ilişkilendirilmiştir.

### Sıçanların tükettikleri yem miktarı

Hastalık modeli oluşturma sürecinde sıçanların tükettikleri ortalama günlük yem miktarları bakımından gruplar arasında fark olup olmadığı incelenmiş ve elde edilen bulgular Şekil 4.60'ta verilmiştir. Buna göre sağlıklı kontrol grubu (K grubu) diğer gruplarla kıyaslandığında aralarındaki farkların anlamlı olduğu görülmüştür ( $p<0,001$ ). Ancak hastalık modelinin oluşturulduğu diğer tüm gruplar kendi aralarında kıyaslandığında karşılaştırılan grupların hiçbirinde anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ). Hastalık sürecinde sağlıklı kontrol grubunun tükettiği günlük yem miktarı TNBS ile ülseratif kolitin indüklendiği diğer tüm gruplara göre oldukça fazladır (Bkz. Çizelge 4.32). TNBS uygulamasını takiben kolit modelinin oluşumuna bağlı olarak sıçanlarda iştahsızlık başladığından günlük yem miktarları ciddi ölçüde azalmıştır (Motavallian-Naeini ve diğerleri, 2012; Woodruff ve diğerleri, 2003). Kontrol grubu dışındaki diğer gruplar arasında görülen farkların anlamlı olmaması aynı şartlarda hastalık modeli oluşturulan deney gruplarındaki sıçanların sürece benzer şekilde yanıt verdiğini göstermektedir. Bu sonuçlar tedaviye bağlı gerçekleşen iyileşmeyi izlemek açısından önemlidir. Ayrıca çalışmamızda tedavi sürecinde sıçanların tükettikleri ortalama günlük yem miktarları bakımından gruplar arasında fark olup olmadığı incelenmiş ve elde edilen bulgular Şekil 4.61'de verilmiştir. Buna göre kontrol grubuyla kıyaslandığında ÜK-K ( $p<0,05$ ) ve PL ( $p<0,01$ ) gruplarında görülen farkların anlamlı olduğu, diğer taraftan EM, F1 ve F2 gruplarında görülen farkların anlamlı olmadığı görülmüştür ( $p>0,05$ ). Herhangi bir tedavi almayan gruplarda (ÜK-K ve PL) kolite bağlı iştahsızlık devam ettiğinden sağlıklı kontrol grubundan anlamlı düzeyde daha az yem tüketmişlerdir. EM, F1 ve F2 gruplarının tükettikleri günlük yem miktarı sağlıklı kontrol grubuna yaklaşmıştır (Bkz. Çizelge 4.32). Bu sonuçlar tedaviye bağlı olarak bu gruplarda görülen iyileşmeyle ilişkilendirilmiştir. Ancak kontrol grubu dışında kalan tüm gruplar kendi aralarında kıyaslandığında karşılaştırılan grupların hiçbirinde anlamlı bir fark görülmemiştir. Dolayısıyla tükettikleri günlük yem miktarları bakımından EM, F1 ve F2 grupları kontrol grubuna yaklaşıp bile henüz tedavi almayan diğer gruplardan anlamlı düzeyde bir farklılık göstermemiştir. Bu sonuçlar tedavi gruplarında da iştah kaybının kısmen devam ettiğini düşündürmüştür. Ancak tedavi süresi artarsa tükettikleri yem miktarları bakımından tedavi alan ve almayan gruplar arasındaki farkın açılması muhtemeldir.

### Sıçanların dışkı kıvamları

Çalışma boyunca sıçanların dışkı kıvamları günlük olarak incelenmiştir. Hastalık modeli oluşturma sürecinde kontrol grubu dışında TNBS uygulanan diğer tüm gruplarda yoğun bir şekilde

diyare gözlemlenmiştir. Bu durum kolit modelinin oluşumuna bağlı olarak görülmekte olup beklenen bir durumdur. Dışkı kıvamları, ülseratif kolit modelinin oluşturulduğu çalışmalarda tedavi süresince hastalık aktivitesindeki değişimi izlemek için sıklıkla değerlendirilen bir parametredir (Mohanta ve diğerleri, 2019; Naeem ve diğerleri, 2015; Yang ve diğerleri, 2014). Deney gruplarındaki sıçanların dışkı kıvamları tedavinin 2. gününden itibaren Bölüm 3.11.3'te belirtildiği şekilde skorlanarak elde edilen bulgular Şekil 4.62'de verilmiştir. Buna göre kontrol grubuyla kıyaslandığında ÜK-K ( $p<0,001$ ), PL ( $p<0,01$ ) ve F2 ( $p<0,05$ ) gruplarında görülen farkların anlamlı diğer taraftan F1 ve EM gruplarında görülen farkların anlamlı olmadığı görülmüştür. Daha yüksek dışkı skoru, diyare ve daha yumuşak dışkı kıvamı ile ilişkilidir. Dolayısıyla tedavi uygulanmayan grupların (ÜK-K ve PL) kontrol grubundan anlamlı düzeyde daha yüksek dışkı skoruna sahip olması beklenen bir durumdur (Mohanta ve diğerleri, 2019). Ancak tedavi gruplarından sadece F2 grubunun dışkı skorlarının kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek olması bu grubun daha düşük tedavi etkinliği ilişkili olabilir. Kontrol grubu dışındaki tüm gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında sadece ÜK-K grubu ile EM ( $p<0,05$ ) ve F1 ( $p<0,01$ ) grupları arasında görülen farklar anlamlı bulunmuştur. F1 ve EM gruplarının hem sağlıklı kontrol grubuyla aralarında anlamlı bir fark olmaması hem de hasta kontrol grubundan anlamlı düzeyde daha düşük dışkı skoruna sahip olması bu gruplarının tedavi etkinliğinin yüksek olduğuna işaret etmektedir. F2 tedavi grubunun dışkı skorları tedavi almayan gruplardan düşük olmasına rağmen mevcut farkın anlamlı olmaması tedavi süresinin yeterli olmamasıyla ilişkili olabilir. Mohanta ve diğerleri (2019) çalışmalarında etkin tedavi uygulanan gruplardaki sıçanların dışkı kıvamlarının tedavinin 14. gününden sonra normale döndüğünü gözlemlemiştir.

#### Sıçanlarda ülseratif kolite bağlı kanama bulgusu ve ölüm sayısı

Deney gruplarında tedavinin 2. gününden itibaren rektal kanama görülen ve ölen sıçan sayısı kaydedildi (Bkz. Çizelge 4.33). Rektal kanama görülen tüm sıçanların tedavi sürecini tamamlamadan öldüğü gözlemlenmiştir. Dolayısıyla tüm gruplarda rektal kanama görülen ve ölen sıçan sayısı eşit bulunmuştur. Elde edilen bulgular incelendiğinde çalışmanın sonuna kadar ÜK-K ve F2 gruplarında 2 sıçanın öldüğü PL grubunda ise 1 sıçanın öldüğü gözlemlenmiştir. Tedavi almayan gruplarda kolite bağlı ölüm ve/veya rektal kanama bulgusunun görülmesi olası bir durumdur (Woodruff ve diğerleri, 2003). Ancak F2 grubundan kolit grubuna benzer şekilde 2 sıçanın ölmesi tedavinin etkili olmaması veya sıçanların tedaviye yanıt vermemesiyle ilişkilendirilmiştir. Ayrıca aynı gruptaki sıçanlarda benzer deney sürecine rağmen farklılıkların gözlemlenmesi sıçanlar arasındaki bireysel farklılıklarla ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Sağlıklı kontrol, F1 ve EM gruplarındaki sıçanlarda rektal kanama bulgusuna ve ölüme rastlanmamıştır. Woodruff ve diğerleri (2003) TNBS ile ülseratif kolit modeli oluşturdukları çalışmalarında tedavi almayan kolit modelinde mortalite oranının yüksek olduğunu bir kortikosteroid olan prednisolonun uygulandığı grupta mortalite oranının ciddi derecede düştüğünü göstermiştir.

### 5.10.2. Kolon dokusu örneklerinin alınması ve incelenmesi

#### Kolon dokularının makroskopik görünümüleri

Bölüm 3.11.4'te anlatıldığı gibi sıçanlar sakrifiye edildikten hemen sonra batinları açılarak kolonları bir bütün olarak çıkarıldı ve makroskopik görünümünü değerlendirmek için tek tek görüntüledi (Bkz. Resim 4.17-4.22). Buna göre sağlıklı kontrol grubuna (K) ait kolonun genel görünümü değerlendirildiğinde kolon dokusunda herhangi bir yapısal değişiklik veya inflamasyon gözlemlenmemiştir. K grubuna ait kolon dokuları beklenildiği gibi normal boyut ve görünüme sahiptir (Bkz. Resim 4.17). Ülseratif kolit modeli oluşturulup herhangi bir tedavi almayan hasta kontrol grubuna (ÜK-K) ait kolon dokusu incelendiğinde neredeyse kolonun tamamını kapsayan bir inflamasyon, geniş ülser lezyonları ve yoğun bir şekilde granülomlar görülmektedir. Ayrıca bu inflamasyona bağlı kolon duvarında kalınlaşma ve kolon dokusunda genişleme gibi ciddi yapısal değişiklikler gözlemlenmiştir (Bkz. Resim 4.18). Kolit modeline ait bu görüntüler literatürle uyumlu olup TNBS ile ülseratif kolit modelinin başarılı bir şekilde oluştuğunu kanıtlamaktadır (Morris ve diğerleri, 1989; Stanojević ve diğerleri, 2018). TNBS ile kolit oluşturulduktan sonra plasebo tablet formülasyonu uygulanan PL grubuna ait kolon görüntülerinde de kolit grubuna benzer şekilde dokunun tamamını kapsayan inflamasyon ve yapısal değişiklikler görülmektedir (Bkz. Resim 4.19). Herhangi bir tedavinin uygulanmadığı bu grubun kolit grubundan farklılık göstermemesi beklenen bir durumdur. Etkin madde süspansiyonun uygulandığı EM grubuna ait görüntüler incelendiğinde kolit grubuyla kıyaslandığında kolondaki inflamasyonun azaldığı ve kolonun normal boyutlarına yaklaştığı görülmektedir (Bkz. Resim 4.20). F1 tablet formülasyonlarının uygulandığı F1 grubunda kolondaki inflamasyonun neredeyse tamamen ortadan kalktığı, kolonun normal boyutlarına ulaştığı görülmektedir (Bkz. Resim 4.21). F2 tablet formülasyonunun uygulandığı F2 grubunda ise kolonun üst bölgelerinde inflamasyon ve şişliğin azaldığı ancak kolonun distal kısmının tamamen nekroza uğradığı görülmüştür (Bkz. Resim 4.22). Bu sonuçlar etkin maddenin çözünürlüğünde yaklaşık 20 katlık bir artışın sağlandığı F1 tablet formülasyonlarının, daha yüksek çözünürlük artışının (yaklaşık 200 kat) elde edildiği F2 tablet

formülasyonlarından daha etkili olduğunu göstermektedir. Bu durum çözünürlük artışına bağlı olarak ince bağırsaklardan emilen flutikazon propiyonatın yüksek oranda ilk geçiş etkisine uğrayarak etkinliğini yitirmiş olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Bir diğer deyişle kolona daha az miktarda ulaşan flutikazon propiyonatın kolonun distal kısımlarına ulaşamadığı düşünülmüştür.

TNBS ile indüklenmiş kolit modelinde budesonid yüklü pektinle kaplı pellet formülasyonlarının tedavi edici etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada etkin maddenin ilk geçiş etkisine uğramasından dolayı kolona yeterli dozda ulaşmadığı ve kolonun distal kısımlarında etkin bir tedavi sağlayamadığı gösterilmiştir (Varshosaz ve diğerleri, 2012). GİS'den emilen flutikazon propiyonat budesonid gibi karaciğerde yüksek oranda ilk geçiş etkisine uğramaktadır. Ancak budesonide kıyasla çok daha düşük çözünürlüğe sahip flutikazon propiyonat çok az oranda mide ve ince bağırsak mukozal membranlarından emilmektedir. Dolayısıyla GİS'in üst kısımlarında emilimi çok düşük olan etkin maddenin ilk geçiş etkisine uğramadan kolona ulaşması ve burada lokal etki sağlaması beklenmektedir. Ancak yapılan çalışmalarda flutikazon propiyonatın suda çözünürlüğünün çok düşük olmasının kolondaki mukozal membranlardan lokal transportunu olumsuz etkilediği ve bunun düşük İBH etkinliğiyle sonuçlandığı rapor edilmiştir (Al-Zheery ve Kamal, 2016; Thakral ve diğerleri, 2012). Ancak çalışmamızda elde edilen sonuçlar flutikazon propiyonatın kolonda etkin bir lokal tedavi sağlaması için optimum düzeyde bir çözünürlük artışının gerekli olduğunu düşündürmüştür.

#### Kolonik ülser uzunluklarının belirlenmesi

Sıçanların kolon dokuları çıkarıldıktan sonra makroskobik olarak incelenerek varsa kolonik ülserlerin uzunlukları ölçülerek kaydedilmiştir (Bkz. Çizelge 4.34). Kolonik ülser uzunlukları bakımından gruplar arasında fark olup olmadığı incelenmiş ve elde edilen bulgular Şekil 4.63'te verilmiştir. Buna göre sağlıklı kontrol grubunda beklendiği üzere herhangi bir ülser bulgusuna rastlanmamıştır. Herhangi bir tedavi uygulanmayan ÜK-K ve PL gruplarında beklendiği gibi ortalama ülser uzunluğu en yüksek bulunmuştur. Tüm tedavi gruplarında (F1, F2 ve EM) ülser uzunluğunun tedavi uygulanmayan gruplardan daha düşük olduğu görülmüştür. Ancak istatistiksel olarak kontrol grubuyla kıyaslandığında ÜK-K ( $p<0,001$ ), PL ( $p<0,001$ ), F2 ( $p<0,001$ ) ve EM ( $p<0,05$ ) gruplarında görülen farkların anlamlı olduğu görülmüştür. Sadece ülser uzunluğunun en az olduğu F1 tedavi grubu ile kontrol grubu arasında farkın anlamlı olmadığı görülmüştür ( $p>0,05$ ). Ayrıca F1 tedavi grubunun ortalama ülser uzunluğu hem kolit grubundan (ÜK-K) hem de plasebo tabletin uygulandığı PL grubundan anlamlı düzeyde daha küçük bulunmuştur ( $p>0,05$ ).

Elde edilen sonuçlar F1 tabletlerinin tedavi etkinliğinin daha yüksek olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde Ahmadi ve diğerleri (2011) asetik asit ile kolit modeli oluşturdukları çalışmalarında uygulanan tedavinin etkinliği arttıkça kolondaki ülser alanının azaldığını göstermiştir.

#### Kolon dokularında makroskobik hasarın belirlenmesi

Sıçanların sakrifikasyonundan sonra çıkarılan kolon dokularının herbiri için Çizelge 3.12’de yer alan standard hasar skalası kullanılarak makroskobik skor belirlenmiştir (Bkz. Çizelge 4.35). Yüksek makroskobik skor kolondaki hasarın büyüklüğüyle ilişkilidir (Wallace ve diğerleri, 1989). Kolon örneklerinin makroskobik skorları bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı incelenmiş ve elde edilen bulgular Şekil 4.64’te verilmiştir. Buna göre en yüksek makroskobik skor tedavi uygulanmayan ÜK-K ve PL gruplarında görülmüştür. Bu gruplarda beklendiği gibi TNBS ile indüklenmiş kolit modeline bağlı olarak kolonda derin ülser alanları ve inflamasyon görüldüğünden kolondaki hasar düzeyi diğer gruplardan daha fazladır. Literatürde de benzer şekilde kolit modeli oluşturulup tedavi uygulanmayan gruplarda makroskobik skorun daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Varshosaz ve diğerleri, 2012; Woodruff ve diğerleri, 2005). Ancak çalışmamızda F2 tedavi grubu ile tedavi uygulanmayan iki grup (ÜK- K ve PL) arasında anlamlı bir fark görülmediği gibi etkin madde süspansiyonun uygulandığı EM grubuyla kolit grubu (ÜK-K) arasında da anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Tedavi grupları arasında (F1, F2 ve EM) en düşük skora sahip F1 grubunun makroskobik skorunun anlamlı düzeyde ÜK-K ( $p<0,01$ ), PL ( $p<0,001$ ) ve F2 ( $p<0,05$ ) gruplarından daha düşük olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar F1 grubunun en yüksek tedavi etkinliğine sahip olduğunu göstermesine rağmen F1 grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında görülen farkın anlamlı olması ( $p<0,05$ ) iyileşme sürecinin henüz tamamlanmadığını ve daha uzun süreli bir in vivo çalışmanın daha iyi sonuçlar verebileceğini desteklemektedir.

#### Sıçanların kolon ağırlıklarının belirlenmesi

DeneySEL ülseratif kolit modellerinde kolonik inflamasyonun şiddetini belirlemenin en basit ve güvenilir yöntemlerinden biri kolon ağırlığını incelemektir. Yapılan çalışmalar daha yüksek kolonik ağırlığın daha yoğun kolonik inflamasyon ve daha büyük kolonik hasarla ilişkili olduğunu göstermiştir (Ahmadi ve diğerleri, 2011; Mohanta ve diğerleri, 2019; Morris ve diğerleri, 1989). Çalışmamızda sıçanlar sakrifiye edildikten sonra çıkarılan kolon dokuları longitudinal olarak açılarak serum fizyolojik yardımıyla iyice temizlenip kurulanmış ve ağırlıkları ölçülmüştür (Bkz.

Çizelge 4.36). Sıçanların kolon ağırlıkları bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı incelenmiş ve elde edilen bulgular Şekil 4.65'te verilmiştir. Buna göre kontrol grubuyla kıyaslandığında tedavi uygulanmayan ÜK-K ve PL gruplarıyla kontrol grubu arasında görülen farkın anlamlı olduğu görülmüştür ( $p<0,001$ ). Benzer şekilde F2 tedavi grubuyla kontrol grubu arasındaki anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Etkin madde süspansiyonunun uygulandığı EM ve F1 tabletleri uygulanan F1 gruplarının kolon ağırlıkları kontrol grubundan biraz yüksek olmasına rağmen gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Ayrıca gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında kolon ağırlıkları bakımından EM ve F1 grupları ile ÜK-K, PL ve F2 grupları arasında görülen farkların anlamlı olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ). Bu sonuçlar F1 ve EM tedavi gruplarında inflamasyonun büyük ölçüde azaldığını göstermektedir. Ancak F2 tedavi grubuna ait kolon ağırlıkları tedavi uygulanmayan gruplardan çok az düşük olmasına rağmen bu farkın anlamlı olmaması bu grupta yüksek oranda kolonik inflamasyona işaret etmektedir. Elde edilen sonuçlara göre F1 ve EM gruplarının tedavi etkinliğinin F2 grubundan daha yüksek olduğu söylenebilir.

#### Sıçanların kolon/vücut ağırlıklarının belirlenmesi

Kolonik hasar ve inflamasyonun değerlendirilmesinde sıklıkla incelenen bir diğer parametre kolon/vücut ağırlığıdır. Kolonik inflamasyon indeksi olarak da değerlendirilen bu oranın yüksekliği, kolondaki yapısal değişiklikler ve inflamasyona bağlı kolon ağırlığında görülen artış ve sıçanlarda iştah kaybı ve diyare gibi semptomlara bağlı gerçekleşen ağırlık kaybıyla ilişkilidir (Mura ve diğerleri, 2011; Naeem ve diğerleri, 2015; Wang, Wang, Zhou, Gao ve Cui, 2016). Çalışmamızda sıçanların sakrifikasyon öncesi son ağırlıkları, kolon ağırlıklarına oranlanarak kolon/vücut ağırlığı değerleri belirlenmiştir (Bkz. Çizelge 4.37). Sıçanların kolon/vücut ağırlıkları bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı incelenmiş ve elde edilen bulgular Şekil 4.66'da verilmiştir. Elde edilen sonuçlar beklendiği üzere kolon ağırlığıyla aynı doğrultudadır. Bu sonuç yoğun inflamasyon ve kolonik hasarla ilişkili olarak kolon ağırlığının yüksek olduğu sıçanlarda ağırlık kaybının da yüksek olduğunu göstermektedir. F1 tedavi grubunda kolon/vücut ağırlıkları ÜK-K, PL ve F2 gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Ayrıca EM ve F1 gruplarının kolon/vücut ağırlıklarının sağlıklı kontrol grubuna önemli düzeyde yaklaşması bu gruplarda iyileşmenin büyük ölçüde sağlandığını göstermiştir.

### 5.10.3. Kolon dokusunda yapılan histolojik çalışmalar

Histolojik incelemeler için hematoksilin-eozin ile boyanan kolon doku kesitlerinden bilgisayar destekli ışık mikroskopuyla görüntüler alınmıştır (Bkz. Resim 4.23-4.33). Deney gruplarındaki tüm sıçanlara ait kolon dokusu görüntüleri değerlendirildikten sonra herbir doku örneği için Çizelge 3.13'te verilen histolojik hasar kriterlerine göre histopatolojik skor belirlenmiştir (Bkz. Çizelge 4.38). Deney gruplarındaki sıçanların histolojik hasar skorları bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı incelenmiş ve elde edilen bulgular ve Şekil 4.67'de verilmiştir. Sağlıklı kontrol grubundan alınan kolon kesitlerine ait görüntüler dokunun normal morfolojik yapısını göstermektedir (Bkz. Resim 4.23 ve 4.24). Tedavi uygulanmayan gruplarda (ÜK-K ve PL) yaygın ülserasyon, mukozal erozyon, nekroz ve inflamasyonla birlikte epitel dokudaki yapısal bütünlüğün bozulduğu gözlemlenmiştir (Bkz. Resim 4.25-4.27). Dolayısıyla tedavi uygulanmayan grupların (ÜK-K ve PL) histopatolojik skorları sağlıklı kontrol grubundan anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Literatürde TNBS ile indüklenmiş kolit modellerinde benzer histopatolojik durumlar görülmüştür (Albuquerque ve diğerleri, 2020; Stanojević ve diğerleri, 2018; Yang ve diğerleri, 2014). F2 tedavi grubu ile tedavi uygulanmayan gruplar arasında histopatolojik skor bakımından önemli bir fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ). F2 grubunda tedavi uygulanmayan gruplara benzer şekilde dokunun yapısal bütünlüğünün bozulduğu ve yoğun inflamasyon alanlarının mevcut olduğu görülmüştür (Bkz. Resim 4.33). F2 tedavi grubunun histopatolojik skoru tedavi almayan gruplardan biraz düşük olmasına rağmen aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Ancak F1 ve EM tedavi gruplarının histopatolojik skorları kolit grubu ile plasebo ve F2 tablet uygulanan gruplardan anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Bu sonuçlar fizyolojik bulgularla tutarlı bir şekilde F1 ve EM grubuna uygulanan tedavinin daha etkili olduğunu göstermektedir. Etkin madde süspansiyonunun uygulandığı EM grubunda tedaviye bağlı olarak ülserasyon alanlarının küçüldüğü, inflamasyonun azaldığı görülmüştür. Dokunun epitel bütünlüğünde kolit grubuna kıyasla büyük ölçüde düzelme görülmesine rağmen yer yer bazı kesintiler görülmüştür (Bkz. Resim 4.28 ve 4.29). F1 tedavi grubunda mukoza hasarının büyük ölçüde azaldığı ve tabakaların yapısal bütünlük gösterdiği görüldü. Tedaviye bağlı olarak inflamasyonun ciddi ölçüde azaldığı ve sadece bazı kesitlerde tunika mukoza ile sınırlı olduğu gösterildi (Bkz. 4.30-4.32). F1 grubunun histopatolojik skoru EM grubundan biraz düşük olmakla beraber aralarında anlamlı bir fark görülmemiştir. Ayrıca F1 ve EM gruplarında tedaviye bağlı olarak açık bir şekilde iyileşme görülmesine rağmen halen kontrol grubuyla aralarındaki farkın anlamlı olduğu görülmüştür ( $p<0,001$ ). Elde edilen sonuçlar bu gruplarda tedaviye bağlı iyileşme sürecinin halen devam ettiğini göstermektedir.

#### 5.10.4. Kolon mukozasında yapılan biyokimyasal çalışmalar

İBH, yaygın ülserasyon ve mukoza hasarı birlikte inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu ile karakterize bir hastalıktır. İnflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu, inflamatuvar yanıtın artışı ve doku tahribatından sorumlu çeşitli inflamatuvar mediyatörlerin üretimiyle sonuçlanmaktadır. Bu mediyatörler başlıca proinflamatuvar sitokinler, kemokinler, reaktif oksijen türleri, nitrik oksit ve eikosanoidleri kapsamaktadır (Woodruff ve diğerleri, 2005). İn vivo çalışmalar İBH’de yaygın olarak IL-1b, IL-8, IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerinde ve miyeloperoksidaz aktivitesinde dokudaki inflamasyonla orantılı olarak artış olduğunu göstermiştir (Yang ve diğerleri, 2014). Çalışmamızda inflamasyon belirteçleri olarak deney gruplarındaki sıçanların kolon mukozalarındaki TNF- $\alpha$  ve IL-6 düzeyleri Elisa yöntemi, MPO düzeyleri kalorimetrik yöntem kullanılarak belirlenmiştir.

##### TNF- $\alpha$ düzeyleri

TNF- $\alpha$  makrofajlardan salınan ve intestinal epitel dokuyu doğrudan etkileyen en önemli proinflamatuvar sitokinlerden biridir. Aşırı TNF- $\alpha$  sekresyonu inflamasyonu tetiklemenin yanı sıra epitelyal bariyer hasarı ve epitel hücrelerinde apoptozun başlamasına neden olmaktadır. Dolayısıyla TNF- $\alpha$  düzeyi inflamasyon belirteci yaygın olarak kullanılmaktadır (Naeem ve diğerleri, 2018; Yang ve diğerleri, 2014). Çalışmamızda deney gruplarındaki sıçanların TNF- $\alpha$  düzeyleri belirlenerek gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı incelenmiş ve elde edilen bulgular Çizelge 4.39 ve Şekil 4.68’de verilmiştir. Buna göre en yüksek TNF- $\alpha$  düzeyi kolit kontrol grubunda (ÜK-K) görülürken, en düşük TNF düzeyi sağlıklı kontrol grubunda (K) görülmüş olup bu durum literatürle uyumludur (Beloqui ve diğerleri, 2014; Naeem ve diğerleri, 2018). TNF- $\alpha$  düzeyleri bakımından kontrol grubuyla kıyaslandığında ÜK-K ( $p<0,001$ ), PL ( $p<0,01$ ) ve F2 ( $p<0,01$ ) gruplarında görülen farkların anlamlı, diğer taraftan EM ve F1 gruplarında görülen farkların anlamlı olmadığı görülmüştür ( $p>0,05$ ). EM ve F1 gruplarının TNF- $\alpha$  düzeylerinin kontrol grubuna yaklaşması bu tedavi gruplarında iyileşmenin büyük ölçüde gerçekleştiğini göstermektedir. Ayrıca F1 ve EM tedavi gruplarının TNF- $\alpha$  düzeyleri F2 ( $p<0,05$ ), ÜK-K ( $p<0,001$ ) ve PL ( $p<0,05$ ) gruplarından anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur. F2 grubuyla tedavi uygulanmayan gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ). Elde edilen bu sonuçlar histolojik ve fizyolojik bulgularla uyumlu olarak F1 ve EM gruplarında tedavi etkinliğinin yüksek olduğunu göstermektedir. Ancak F2 grubunda yeterli ve etkin bir tedavinin sağlanmadığı düşünülmüştür.

### IL-6 düzeyleri

Sitokinler, inflamasyon sürecinde makrofajlar tarafından üretilen hücreler arası sinyal polipeptitleridir. İBH'de inflamasyon belirteci olarak kullanılan bir diğer önemli proinflamatuvar sitokin IL-6'dır (Mendoza ve Abreu, 2009). Çalışmamızda deney grupların sıçanların IL-6 düzeyleri belirlenerek gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı incelenmiş ve elde edilen bulgular Çizelge 4.40 ve Şekil 4.69'da verilmiştir. En yüksek IL-6 düzeyi kolit grubunda, en düşük IL-6 düzeyi sağlıklı kontrol grubunda görülmüş olup elde edilen sonuçların literatürle uyumlu olduğu bulunmuştur (Niebel ve diğerleri, 2012; Stanojević ve diğerleri, 2018). IL-6 düzeyleri bakımından sağlıklı kontrol grubuyla kıyaslandığında tedavi uygulanmayan gruplarda (ÜK-K ve PL) görülen farkların anlamlı olduğu ( $p<0,001$ ) tedavi uygulanan gruplarda (F1, EM ve F2) görülen farkların ise anlamlı olmadığı ( $p>0,05$ ) görülmüştür. F1( $p<0,001$ ), F2( $p<0,01$ ) ve EM( $p<0,001$ ) gruplarının IL-6 düzeyleri anlamlı düzeyde kolit grubundan daha düşük bulunmuştur. Ayrıca tedavi grupları kendi aralarında kıyaslandığında aralarında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $p>0,05$ ). Elde edilen IL-6 düzeylerine göre tüm tedavi gruplarında inflamasyonun önemli ölçüde azaldığı söylenebilir.

### MPO düzeyleri

Miyeloperoksidaz inflamasyonlu dokuya sızan nötrofillerde bolca bulunan bir enzimdir. Dolayısıyla İBH'de inflamasyonun şiddetini değerlendirmek kullanılan önemli bir belirteçtir. Çalışmamızda deney gruplarındaki sıçanların MPO düzeyleri belirlenerek gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı incelenmiş ve elde edilen bulgular Çizelge 4.41 ve Şekil 4.70'te verilmiştir. Buna göre en yüksek MPO düzeyleri kolit kontrol grubunda, en düşük MPO düzeyi sağlıklı kontrol grubunda görülmüş olup elde edilen sonuçlar literatürle uyumludur (Makhlof, Tozuka ve Takeuchi, 2009; Mura ve diğerleri, 2011). MPO düzeyleri bakımında sağlıklı kontrol grubuyla kıyaslandığında ÜK-K ( $p<0,001$ ), PL ( $p<0,001$ ) ve F2 ( $p<0,05$ ) gruplarında görülen farkların anlamlı olduğu, F1 ( $p>0,05$ ) ve EM ( $p>0,05$ ) gruplarıyla görülen farkların ise anlamlı olmadığı gözlemlenmiştir. F1 grubunun MPO düzeyleri tedavi uygulanmayan gruplardan anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Ancak F2 ve EM gruplarıyla tedavi uygulanmayan gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ). Elde edilen MPO düzeyine göre F1 grubunun tedavi etkinliğinin yüksek olduğu ve kolite bağlı gelişen inflamasyonu büyük ölçüde azalttığı söylenebilir. Ancak EM grubuyla sağlık kontrol grubu arasındaki farkın anlamlı olmadığı dikkate alındığında EM grubunun MPO düzeyini düşürdüğü ve etkili bir tedavi sağladığı

düşünülmüştür. Diğer taraftan EM grubunun MPO düzeyi tedavi uygulanmayan gruplardan daha düşük olmasına rağmen gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bu sonuç diğer in vivo bulgularla uyumlu olmayıp EM grubuna ait MPO düzeylerinin standart sapmasının yüksek olmasıyla ilişkili olabilir. Bireysel değişkenliklerden ötürü aynı grup içerisinde yer alan sıçanların MPO düzeyleri farklılık göstermiş ve standart sapması yüksek bulunmuştur.

#### 5.10.5. Tedavi gruplarının etkinliği

##### Grup EM: FLT süspansiyonu uygulanan grup

İn vivo çalışmalarda incelenen birçok parametre bakımından etkin madde süspansiyonunun uygulandığı grupta tedavi uygulanmayan gruplara göre anlamlı bir iyileşme görülmüştür. Bu grubun kolon dokularına ait makroskobik ve mikroskobik görüntüler de bunu kanıtlamıştır. Çalışmamızda ilk defa flutikazon propiyonat süspansiyonu oral yoldan kolit modeli oluşturulmuş sıçanlara uygulanmış ve etkili bir tedavi sağladığı gösterilmiştir. Flutikazon propiyonatin İBH'de kullanımıyla ilgili yapılan literatür çalışmalarında çok düşük çözünürlüğe sahip olmasının kolondaki mukozal membranlardan lokal transportunu olumsuz etkilediğini ve bunun düşük İBH etkinliğiyle sonuçlandığı belirtilmiştir. Bu çalışmalarda flutikazon propiyonatin oral yoldan kolona hedeflendirilmiş formülasyonları hazırlanırken çeşitli yöntemlerle etkin maddenin çözünürlüğü artırılmıştır. Ancak bu çalışmalarda çözünürlük artışına bağlı olarak tedavi etkinliğinin arttığı in vivo çalışmalarla gösterilmemiştir (Al-Zheery ve Kamal, 2016; Thakral ve diğerleri, 2012). Çalışmamızda saf etkin madde süspansiyonunun uygulandığı EM grubunda kolit modelinde büyük ölçüde iyileşme gözlemlenmiş olup elde edilen bu sonuçlar literatürle uyumlu değildir. Çalışmamızdan elde edilen bu sonuçlar etkin maddenin in vivo çalışmalarda %0,5'lik CMC çözeltisi içerisinde süspande edilmesiyle ilişkilendirilmiştir. Çalışmamızda hazırlanan formülasyonlar ve etkin madde hidrofobik yapılarından dolayı suda disperse edilerek oral gavajla sıçanlara uygulanamadığından, CMC çözeltisi içerisinde disperse edilmiştir. Flutikazon propiyonatu %0,5'lik CMC jeli içerisinde disperse ederek uygulamanın kolon mukozasıyla temas süresini artırarak lokal etkinliğini artırmış olabileceği düşünülmüştür.

##### Grup F1: FLT yüklü F1 tableti uygulanan grup

İn vivo çalışmalarda incelenen tüm parametreler F1 grubunda tedavi uygulanmayan gruplara göre anlamlı bir iyileşme olduğunu kanıtlamıştır. Genel olarak incelenen parametrelerde F1 grubunda

görülen iyileşme EM grubundan daha fazla olmasına rağmen aralarında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Makroskobik ve mikroskobik görüntüler de F1 grubunun EM grubuna göre nispeten daha etkili bir iyileşme sağladığını göstermiştir. F1 formülasyonunda etkin maddenin çözünürlüğü yaklaşık 20 kat artırılmış ve Eudragit S100 polimeri kullanılarak kolona hedeflendirilmiş tablet formülasyonları geliştirilmiştir. Etkin maddenin çözünürlüğündeki artış tablet matriksinden erken salınması açısından bir risk oluşturmaktadır. Ancak buna rağmen F1 formülasyonunun kolonda etkili bir tedavi sağlaması etkin maddenin kolona kadar başarılı bir şekilde ulaştığını göstermektedir. Çalışmamızdan elde edilen in vitro salım bulguları da bunu desteklemektedir. F1 formülasyonun nispeten etkin madde süspansiyonundan daha etkili olması etkin maddenin çözünürlüğündeki artışa bağlı olarak etkin maddenin kolon mukozasından daha başarılı geçişiyle ilişkilendirilmiştir (Al-Zheery ve Kamal, 2016; Thakral ve diğerleri, 2012). Bunun yanı sıra bu durumun saf etkin maddenin az da olsa GİS'in üst kısımlarında emilip karaciğerde ilk geçiş etkisine uğramasından ve daha az miktarda etkin maddenin kolona ulaşmasıyla da ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

#### Grup F2:FLT yüklü F2 tableti uygulanan grup

İn vivo çalışmalarda incelenen birçok parametre bakımından F2 grubunda görülen iyileşme tedavi almayan gruplardan daha fazla olmasına rağmen aralarında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. F2 grubuna ait makroskobik görüntüler incelendiğinde kolonun üst kısımlarında inflamasyonun nispeten azaldığı ancak kolonun distal kısımlarının nekroza uğradığı görülmüştür. Bu sonuç daha önce de belirtildiği gibi in vivo çalışmalarda etkin maddenin çözünürlüğündeki artışa bağlı olarak (yaklaşık 200 kat) tablet matriksinden GİS'in üst kısımlarında salınması ve emilerek ilk geçiş etkisine uğramasıyla ilişkilendirilmiştir. Kolona daha az miktarda etkin maddenin ulaşması F2 formülasyonlarında daha düşük tedavi etkinliğiyle sonuçlanmış olabileceği düşünülmüştür (Varshosaz ve diğerleri, 2012).

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez kapsamında FDM 3DP teknolojisi kullanılarak ülseratif kolit ve Crohn hastalığı gibi inflamatuvar bağırsak hastalıklarının lokal tedavisinde kullanılacak flutikazon propiyonat içeren kolona hedeflendirilmiş 3D tabletler başarılı bir şekilde hazırlanmış ve karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu tez çalışmasında piyasada farklı endikasyonlar için ölçülü doz inhaler, kuru toz inhaler, nazal sprey, merhem, krem ve losyon gibi dozaj formları mevcut olan flutikazon propiyonatın tablet formülasyonları geliştirilmiş ve elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

- Ana matriks polimeri olarak pH duyarlı bir polimer olan Eudragit S100 ve salım geciktirici olarak zaman kontrollü bir polimer olan etil selüloz kullanılarak ilk kez HME yöntemiyle flutikazon propiyonat yüklü filamentler (F1 ve F2) hazırlanmıştır.
- F1 ve F2 filamentleri kullanılarak FDM 3DP yöntemiyle ilk kez flutikazon propiyonat yüklü 3D tabletler (F1 ve F2) basılmıştır.
- İn vitro karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilerek geliştirilen filament ve tabletlerin farmasötik kalitesi ve yöntemin tekrarlanabilirliği kanıtlanmıştır.
- Formülasyonlarında çözünürlük artırıcı olarak sadece Gelucire 48/16 içeren F1 tabletlerinde flutikazon propiyonatın çözünürlüğünde yaklaşık 20 katlık bir artış sağlarken; Gelucire 48/16'ya ilaveten gammasiklodekstrin içeren F2 tabletlerinde flutikazon propiyonatın çözünürlüğünde 200 katlık bir artış sağlanmıştır.
- İn vitro salım çalışmalarıyla F1 ve F2 tabletlerin mide ve ince bağırsak taklit eden pH 1,2 (0-2. saat) ve pH 6,8 (2-6. saat) ortamlarında minimum salım yaptığı (%5-10), kolonu taklit eden pH 7,4 ortamında (8-14. saat) ise içerdikleri etkin maddenin tamamına yakını (%91-98) saldığı dolayısıyla F1 ve F2 tabletlerinin oral yoldan kolona hedefleme amacına uygun bir in vitro salım profili sergilediğı gösterilmiştir.
- Farklı dolgu yüzdelerinde (%50, %75 ve %100) basılan tabletlerin salım profilleri benzer bulunmuştur. Tabletlerin büyüklük ve ağırlığı arttıkça yüzey alanı/kütle oranının azalmasına bağlı olarak etkin maddenin salım hızında düşüş gözlenmiştir.
- Farklı dozlarda flutikazon propiyonat içeren F1 ve F2 3D tabletlerinin üretilebilirliği gösterilerek dozun hastalığın evresine göre büyük ölçüde değişkenlik gösterdiği İBH'de kişiselleştirilmiş tedaviye olanak sunulmuştur.

- Stabilité çalışmaları geliştirilen filament ve tabletlerin hızlandırılmış ve uzun süreli test koşullarında 6 ay boyunca stabil oldukları gösterilmiştir.
- İn vivo çalışmalarda flutikazon propiyonat yüklü F1 tabletlerinin TNBS ile kolit oluşturulmuş sıçan modelinde etkili bir iyileşme sağladığı gösterilmiştir.
- İn vivo çalışmalarda F1 tabletlerine kıyasla etkin maddenin daha yüksek çözünürlüğe sahip olduğu F2 tabletlerinin tedavi edici etkinliği daha düşük bulunmuştur. Bu durum tabletlerin erken açılıp flutikazon propiyonatın ince bağırsaklarda emilerek ilk geçiş etkisine uğraması ve daha az etkin maddenin kolona ulaşmasına bağlanmıştır.
- İn vivo çalışmalarda düşük çözünürlüğüne rağmen etkin madde süspansiyonun tedavi edici etkinliği yüksek bulunmuştur. Bu sonuç hidrofobik yapısından dolayı suda disperse edilemeyen etkin maddenin karboksimetil selüloz çözeltisi içerisinde disperse edilerek uygulanmasıyla ilişkilendirilmiştir. Karboksimetil selüloz çözeltisinin etkin maddenin kolonda kalış süresini dolayısıyla dokuyla temas süresini artırarak tedavi etkinliğini artırmış olabileceği düşünülmüştür.
- Sonuç olarak bu çalışmada ilk kez flutikazon propiyonat içeren tablet formülasyonlarının İBH'de etkili bir lokal tedavi sağladığı in vivo çalışmalarla kanıtlanmıştır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçların desteklenmesi ve daha ileri çalışmalar için öneriler şunlardır;

- F1 ve F2 3D tabletlerinin gastrointestinal sistemde izlenmesi ve hangi bölgelerde açıldığını belirlemek için formülasyonlara etkin madde yerine floresan madde yüklenerek gastrointestinal sistem dokularında floresan mikroskopla inceleme yapılabilir.
- İn vivo çalışmalarda dozun tedavi üzerindeki etkisini değerlendirmek için farklı dozda flutikazon propiyonat içeren formülasyonların karşılaştırıldığı bir doz çalışması tasarlanabilir.
- Etkin maddenin çözünürlüğünü artırma stratejileri dışında kolonda kalış süresini artırmak için mukoadhezif sistemler geliştirilebilir. Saf etkin madde, etkin maddenin çözünürlüğünün artırıldığı katı dispersiyonlar ve etkin madde içeren mukoadhezif sistemlerin antiinflamatuvar etkisi in vivo ya da ex vivo kolit modellerinde karşılaştırılabilir.

## KAYNAKLAR

- Abdelmegid, A. M., Abdo, F. K., Ahmed, F. E. and Kattaia, A. A. (2019). Therapeutic effect of gold nanoparticles on DSS-induced ulcerative colitis in mice with reference to interleukin-17 expression. *Scientific Reports*, 9(1), 1-16.
- Abeykoon, C., Sri-Amphorn, P. and Fernando, A. (2020). Optimization of fused deposition modeling parameters for improved PLA and ABS 3D printed structures. *International Journal of Lightweight Materials and Manufacture*, 3(3), 284-297.
- Ahmadi, F., Varshosaz, J., Emami, J., Tavakoli, N., Minaiyan, M., Mahzouni, P. and Dorkoosh, F. (2011). Preparation and in vitro/in vivo evaluation of dextran matrix tablets of budesonide in experimental ulcerative colitis in rats. *Drug Delivery*, 18(2), 122-130.
- Aho, J., Boetker, J. P., Baldursdottir, S. and Rantanen, J. (2015). Rheology as a tool for evaluation of melt processability of innovative dosage forms. *International Journal of Pharmaceutics*, 494(2), 623-642.
- Akhgari, A., Sadeghi, F. and Garekani, H. A. (2006). Combination of time-dependent and pH-dependent polymethacrylates as a single coating formulation for colonic delivery of indomethacin pellets. *International Journal of Pharmaceutics*, 320(1-2), 137-142.
- Alatab, S., Sepanlou, S. G., Ikuta, K., Vahedi, H., Bisignano, C., Safiri, S., Sadeghi, A., Nixon, M. R., Abdoli, A. and Abolhassani, H. (2020). The global, regional, and national burden of inflammatory bowel disease in 195 countries and territories, 1990–2017: A systematic analysis for the global burden of disease study 2017. *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, 5(1), 17-30.
- Albuquerque, R. M., Pizzitola, M. P., Araújo e Silva, A. C., Dittz, D., Freitas, K. M., Ferreira, Ê., Salas, C. E. and Lopes, M. T. P. (2020). The proteolytic fraction from *vasconcellea cundinamaricensis* latex displays anti-inflammatory effect in a mouse model of acute TNBS-induced colitis. *Scientific Reports*, 10(1), 1-11.
- Aldosari, B. N., Almurshedi, A. S., Alfagih, I. M., AlQuadeib, B. T., Altamimi, M. A., Imam, S. S., Hussain, A., Alqahtani, F., Elzayat, E. and Alshehri, S. (2021). Formulation of gelucire(R)-based solid dispersions of atorvastatin calcium: In vitro dissolution and in vivo bioavailability study. *AAPS PharmSciTech*, 22(5), 161.
- Algahtani, M. S., Mohammed, A. A. and Ahmad, J. (2018). Extrusion-based 3D printing for pharmaceuticals: Contemporary research and applications. *Current Pharmaceutical Design*, 24(42), 4991-5008.
- Alhnan, M. A. (2018). *Solid dosage form production*. Publication No. WO 2016/038356 (17.03.2016 Gazette 2016/11). United Kingdom: European Patent Office.
- Alhnan, M. A., Okwuosa, T. C., Sadia, M., Wan, K. W., Ahmed, W. and Arafat, B. (2016). Emergence of 3D printed dosage forms: Opportunities and challenges. *Pharmaceutical Research*, 33(8), 1817-1832.

- Ali, H. R., Edwards, H. G., Kendrick, J. and Scowen, I. J. (2009). Vibrational spectroscopic study of fluticasone propionate. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 72(2), 244-247.
- Allahham, N., Fina, F., Marcuta, C., Kraschew, L., Mohr, W., Gaisford, S., Basit, A. W. and Goyanes, A. (2020). Selective laser sintering 3D printing of orally disintegrating printlets containing ondansetron. *Pharmaceutics*, 12(2), 110.
- Almeida, A., Claeys, B., Remon, J. P. and Vervaet, C. (2012). *Hot-melt extrusion developments in the pharmaceutical industry*. Chichester, UK: John Wiley&Sons, 43-69.
- Aloi, M., Nuti, F., Stronati, L. and Cucchiara, S. (2014). Advances in the medical management of paediatric IBD. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 11(2), 99-108.
- Alyami, M. H., Dahmash, E. Z., Ali, D. K., Alyami, H. S., AbdulKarim, H. and Alsudir, S. A. (2022). Novel fluticasone propionate and salmeterol fixed-dose combination nano-encapsulated particles using polyamide based on L-lysine. *Pharmaceutics*, 15(3), 321.
- Al-Zheery, W. H. and Kamal, B. A. (2016). Formulation and evaluation of fluticasone propionate colon targeted tablet. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 41(2), 322-329.
- Amidon, S., Brown, J. E. and Dave, V. S. (2015). Colon-targeted oral drug delivery systems: Design trends and approaches. *AAPS PharmSciTech*, 16(4), 731-741.
- Amin, P. M., Gangurde, A. B. and Alai, P. V. (2015). Oral film technology: Challenges and future scope for pharmaceutical industry. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research*.
- Andrews, G. P., Jones, D. S., Diak, O. A., McCoy, C. P., Watts, A. B. and McGinity, J. W. (2008). The manufacture and characterisation of hot-melt extruded enteric tablets. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 69(1), 264-273.
- Angus, P., Snook, J., Reid, M. and Jewell, D. (1992). Oral fluticasone propionate in active distal ulcerative colitis. *Gut*, 33(5), 711-714.
- Anthony, R. D. (1987). *Use of fluticasone propionate in the treatment of bowel diseases*. Publication No. 0 278 174 A2. United Kingdom: European Patent Office.
- Arafat, B., Qinna, N., Cieszyńska, M., Forbes, R. T. and Alhnan, M. A. (2018a). Tailored on demand anti-coagulant dosing: An in vitro and in vivo evaluation of 3D printed purpose-designed oral dosage forms. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 128, 282-289.
- Arafat, B., Wojsz, M., Isreb, A., Forbes, R. T., Isreb, M., Ahmed, W., Arafat, T. and Alhnan, M. A. (2018b). Tablet fragmentation without a disintegrant: A novel design approach for accelerating disintegration and drug release from 3D printed cellulosic tablets. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 118, 191-199.
- Araújo, M. R., Sa-Barreto, L. L., Gratieri, T., Gelfuso, G. M. and Cunha-Filho, M. (2019). The digital pharmacies era: How 3D printing technology using fused deposition modeling can become a reality. *Pharmaceutics*, 11(3), 128

- Armuzzi, A., Bortoli, A., Castiglione, F., Contaldo, A., Daperno, M., D'Inca, R., Labarile, N., Mazzuoli, S., Onali, S., Milla, M., Orlando, A., Principi, M., Pugliese, D., Renna, S., Rizzello, F., Scribano, M. L. and Todeschini, A. (2022). Female reproductive health and inflammatory bowel disease: A practice-based review. *Digestive and Liver Disease*, 54(1), 19-29.
- Asghar, L. F. and Chandran, S. (2008). Design and evaluation of pH modulated controlled release matrix systems for colon specific delivery of indomethacin. *Pharmazie*, 63(10), 736-742.
- Awad, A., Hollis, E., Goyanes, A., Orlu, M., Gaisford, S. and Basit, A. W. (2023). 3D printed multi-drug-loaded suppositories for acute severe ulcerative colitis. *International Journal of Pharmaceutics*: X, 5, 100165.
- Awad, A., Madla, C. M., McCoubrey, L. E., Ferraro, F., Gavins, F. K. H., Buanz, A., Gaisford, S., Orlu, M., Siepmann, F., Siepmann, J. and Basit, A. W. (2022). Clinical translation of advanced colonic drug delivery technologies. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 181.
- Awad, A., Trenfield, S. J., Gaisford, S. and Basit, A. W. (2018). 3D printed medicines: A new branch of digital healthcare. *International Journal of Pharmaceutics*, 548(1), 586-596.
- Awad, A., Trenfield, S. J., Goyanes, A., Gaisford, S. and Basit, A. W. (2018). Reshaping drug development using 3D printing. *Drug Discovery Today*, 23(8), 1547-1555.
- Awad, A., Yao, A., Trenfield, S. J., Goyanes, A., Gaisford, S. and Basit, A. W. (2020). 3D printed tablets (printlets) with braille and moon patterns for visually impaired patients. *Pharmaceutics*, 12(2), 172.
- Bajerski, L., Rossi, R. C., Dias, C. L., Bergold, A. M. and Froehlich, P. E. (2010). Development and validation of a discriminating in vitro dissolution method for a poorly soluble drug, olmesartan medoxomil: Comparison between commercial tablets. *AAPS PharmSciTech*, 11(2), 637-644.
- Bak, A., Ashford, M. and Brayden, D. J. (2018). Local delivery of macromolecules to treat diseases associated with the colon. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 136-137, 2-27.
- Bandari, S., Nyavanandi, D., Dumpa, N. and Repka, M. A. (2021). Coupling hot melt extrusion and fused deposition modeling: Critical properties for successful performance. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 172, 52-63.
- Beck, R. C. R., Chaves, P. S., Goyanes, A., Vukosavljevic, B., Buanz, A., Windbergs, M., Basit, A. W. and Gaisford, S. (2017). 3D printed tablets loaded with polymeric nanocapsules: An innovative approach to produce customized drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 528(1-2), 268-279.
- Beloqui, A., Coco, R., Memvanga, P. B., Ucar, B., des Rieux, A. and Preat, V. (2014). pH-sensitive nanoparticles for colonic delivery of curcumin in inflammatory bowel disease. *International Journal of Pharmaceutics*, 473(1-2), 203-212.
- Bhatt, S., Roy, D., Kumar, M., Saharan, R., Malik, A. and Saini, V. (2020). Development and validation of in vitro discriminatory dissolution testing method for fast dispersible tablets of BCS class II drug. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(1), 74-80.

- Borujeni, S. H., Mirdamadian, S. Z., Varshosaz, J. and Taheri, A. (2019). Three-dimensional (3D) printed tablets using ethyl cellulose and hydroxypropyl cellulose to achieve zero order sustained release profile. *Cellulose*, 27(3), 1573-1589.
- Bounartzi, M., Panagopoulou, A., Kantiranis, N., Malamataris, S. and Nikolakakis, I. (2014). Effect of plasticiser type on the hot melt extrusion of venlafaxine hydrochloride. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 66(2), 297-308.
- Brambilla, C. R., Okafor-Muo, O. L., Hassanin, H. and ElShaer, A. (2021). 3DP printing of oral solid formulations: A systematic review. *Pharmaceutics*, 13(3), 358.
- Brattsand, R. (1990). Overview of newer glucocorticosteroid preparations for inflammatory bowel disease. *Canadian Journal of Gastroenterology*, 4(7), 407-414.
- Brewster, M. E. and Loftsson, T. (2007). Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(7), 645-666.
- Bruce, L. D., Petereit, H. U., Beckert, T. and McGinity, J. W. (2003). Properties of enteric coated sodium valproate pellets. *International Journal of Pharmaceutics*, 264(1-2), 85-96.
- Bruce, L. D., Shah, N. H., Malick, A. W., Infeld, M. H. and McGinity, J. W. (2005). Properties of hot-melt extruded tablet formulations for the colonic delivery of 5-aminosalicylic acid. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 59(1), 85-97.
- Bruni, G., Maggi, L., Tammaro, L., Canobbio, A., Di Lorenzo, R., D'Aniello, S., Domenighini, C., Berbenni, V., Milanese, C. and Marini, A. (2015). Fabrication, physico-chemical, and pharmaceutical characterization of budesonide-loaded electrospun fibers for drug targeting to the colon. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 104(11), 3798-3803.
- Cai, Z., Wang, S. and Li, J. (2021). Treatment of inflammatory bowel disease: a comprehensive review. *Frontiers in Medicine*, 2681.
- Cailleaux, S., Sanchez-Ballester, N. M., Gueche, Y. A., Bataille, B. and Soulairol, I. (2021). Fused Deposition Modeling (FDM), the new asset for the production of tailored medicines. *Journal of Controlled Release*, 330, 821-841.
- Charbe, N. B., McCarron, P. A., Lane, M. E. and Tambuwala, M. M. (2017). Application of three-dimensional printing for colon targeted drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 7(2), 47.
- Chivate, A., Garkal, A., Hariharan, K. and Mehta, T. (2021). Exploring novel carrier for improving bioavailability of Itraconazole: Solid dispersion through hot-melt extrusion. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 63, 102541.
- Choudhury, D., Murty, U. S. and Banerjee, S. (2021). 3D printing and enteric coating of a hollow capsular device with controlled drug release characteristics prepared using extruded Eudragit(R) filaments. *Pharmaceutical Development and Technology*, 26(9), 1010-1020.
- Collnot, E. M., Ali, H. and Lehr, C. M. (2012). Nano-and microparticulate drug carriers for targeting of the inflamed intestinal mucosa. *Journal of Controlled Release*, 161(2), 235-246.

- Cooper, S. (1997). *A novel polymorphic crystalline form of fluticasone propionate. A method for its production and pharmaceutical compositions thereof*. Publication No. WO 98/17676. London: World Intellectual Property Organization.
- Costa, P. and Lobo, J. M. S. (2001). Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(2), 123-133.
- Coward, S., Clement, F., Benchimol, E. I., Bernstein, C. N., Avina-Zubieta, J. A., Bitton, A., Carroll, M. W., Hazlewood, G., Jacobson, K., Jelinski, S., Deardon, R., Jones, J. L., Kuenzig, M. E., Leddin, D., McBrien, K. A., Murthy, S. K., Nguyen, G. C., Otley, A. R., Panaccione, R., Rezaie, A., Rosenfeld, G., Pena-Sanchez, J. N., Singh, H., Targownik, L. E. and Kaplan, G. G. (2019). Past and future burden of inflammatory bowel diseases based on modeling of population-based data. *Gastroenterology*, 156(5), 1345-1353.
- Crisan, A. G., Iurian, S., Porfire, A., Rus, L. M., Bogdan, C., Casian, T., Lucacel, R. C., Turza, A., Porav, S. and Tomuta, I. (2022). QbD guided development of immediate release FDM-3D printed tablets with customizable API doses. *International Journal of Pharmaceutics*, 613, 121411.
- Crowley, M. M., Zhang, F., Repka, M. A., Thumma, S., Upadhye, S. B., Kumar Battu, S., McGinity, J. W. and Martin, C. (2007). Pharmaceutical applications of hot-melt extrusion: part I. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 33(9), 909-926.
- Cui, M., Pan, H., Su, Y., Fang, D., Qiao, S., Ding, P. and Pan, W. (2021). Opportunities and challenges of three-dimensional printing technology in pharmaceutical formulation development. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 11(8), 2488-2504.
- Dai, J., Liang, X. and Su, W. (2015). Improvement on solubility of fluticasone propionate with cyclodextrins by mechanochemical activation. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 28(2), 799-806.
- Davies, N. M. and Feddah, M. R. (2003). A novel method for assessing dissolution of aerosol inhaler products. *International Journal of Pharmaceutics*, 255(1-2), 175-187.
- De Kaski, M. C., Peters, A., Lavender, J. and Hodgson, H. (1991). Fluticasone propionate in Crohn's disease. *Gut*, 32(6), 657-661.
- De Leo, V., Di Gioia, S., Milano, F., Fini, P., Comparelli, R., Mancini, E., Agostiano, A., Conese, M. and Catucci, L. (2020). Eudragit S100 entrapped liposome for curcumin delivery: anti-oxidative effect in caco-2 cells. *Coatings*, 10(2), 114.
- Delaney, S. P., Nethercott, M. J., Mays, C. J., Winquist, N. T., Arthur, D., Calahan, J. L., Sethi, M., Pardue, D. S., Kim, J., Amidon, G. and Munson, E. J. (2017). Characterization of synthesized and commercial forms of magnesium stearate using differential scanning calorimetry, thermogravimetric analysis, powder x-ray diffraction, and solid-state NMR spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 106(1), 338-347.
- Derendorf, H., Nave, R., Drollmann, A., Cerasoli, F. and Wurst, W. (2006). Relevance of pharmacokinetics and pharmacodynamics of inhaled corticosteroids to asthma. *European Respiratory Journal*, 28(5), 1042-1050

- Desai, J., Alexander, K. and Riga, A. (2006). Characterization of polymeric dispersions of dimenhydrinate in ethyl cellulose for controlled release. *International Journal of Pharmaceutics*, 308(1-2), 115-123.
- Dew, M. J., Hughes, P. J., Lee, M. G., Evans, B. K. and Rhodes, J. (1982). An oral preparation to release drugs in the human colon. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 14(3), 405-408.
- Dew, M. J., Ryder, R. E., Evans, N., Evans, B. K. and Rhodes, J. (1983). Colonic release of 5-amino salicylic acid from an oral preparation in active ulcerative colitis. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 16(2), 185-187.
- Dey, A. and Yodo, N. (2019). A systematic survey of FDM process parameter optimization and their influence on part characteristics. *Journal of Manufacturing and Materials Processing*, 3(3), 64.
- Dogbe, M. G., Mafilaza, A. Y., Eleuterio, C. V., Cabral-Marques, H., Simoes, S. and Gaspar, M. M. (2019). Pharmaceutical benefits of fluticasone propionate association to delivery systems: In vitro and in vivo evaluation. *Pharmaceutics*, 11(10).
- Doktorovova, S., Araujo, J., Garcia, M. L., Rakovsky, E. and Souto, E. B. (2010). Formulating fluticasone propionate in novel PEG-containing nanostructured lipid carriers (PEG-NLC). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75(2), 538-542.
- Dortunç, B. (2002). Kolona İlaç Taşıyan Sistemler., A. Zırh. (Editör). Kontrollü Salım Sistemleri. İkinci baskı. Ankara. Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayınları, s. 283-297.
- Drumond, N., Sá Couto, A., Costa, A. and Cabral-Marques, H. (2014). Study of aerodynamic and release properties of inhaled particles containing cyclodextrins. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 80(1-2), 25-30.
- Dubois-Camacho, K., Ottum, P. A., Franco-Munoz, D., De la Fuente, M., Torres-Riquelme, A., Diaz-Jimenez, D., Olivares-Morales, M., Astudillo, G., Quera, R. and Hermoso, M. A. (2017). Glucocorticosteroid therapy in inflammatory bowel diseases: From clinical practice to molecular biology. *World Journal of Gastroenterology*, 23(36), 6628-6638.
- Dugad, A., Nalawade, P., Thakhre, R. and Kakade, S. (2018). Colon targeted drug delivery system-a review. *Current Pharma Research*, 9(1), 2604-2635.
- Dumpa, N. R., Bandari, S. and Repka, M. A. (2020). Novel gastroretentive floating pulsatile drug delivery system produced via hot-melt extrusion and fused deposition modeling 3D printing. *Pharmaceutics*, 12(1), 52.
- Dumpa, N. R., Sarabu, S., Bandari, S., Zhang, F. and Repka, M. A. (2018). Chronotherapeutic drug delivery of ketoprofen and ibuprofen for improved treatment of early morning stiffness in arthritis using hot-melt extrusion technology. *AAPS PharmSciTech*, 19(6), 2700-2709.
- Dumpa, N., Butreddy, A., Wang, H., Komanduri, N., Bandari, S. and Repka, M. A. (2021). 3D printing in personalized drug delivery: An overview of hot-melt extrusion-based fused deposition modeling. *International Journal of Pharmaceutics*, 600, 120501.

- Duran, C., Sarısaltık-Yaşın, D. and Takka, S. (2022). Formulation development studies of three-dimensional printable filaments containing eudragit S100 polymer with high-glass transition temperature. *Journal of Gazi University Health Sciences Institute*, 4(3), 143-151.
- Đuranović, M., Obeid, S., Madžarević, M., Cvijić, S. and Ibrić, S. (2021). Paracetamol extended release FDM 3D printlets: Evaluation of formulation variables on printability and drug release. *International Journal of Pharmaceutics*, 592, 120053.
- Edsbäcker, S. and Andersson, T. (2004). Pharmacokinetics of budesonide (Entocort™ EC) capsules for Crohn's disease. *Clinical Pharmacokinetics*, 43, 803-821.
- Edsbäcker, S., Bengtsson, B., Larsson, P., Lundin, P., Nilsson, Å., Ulmius, J. and Wollmer, P. (2003). A pharmacoscintigraphic evaluation of oral budesonide given as controlled-release (Entocort) capsules. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 17(4), 525-536.
- Ehtezazi, T., Algellay, M., Islam, Y., Roberts, M., Dempster, N. M. and Sarker, S. D. (2018). The application of 3D printing in the formulation of multilayered fast dissolving oral films. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 107(4), 1076-1085.
- Eleftheriadis, G. K., Ritzoulis, C., Bouropoulos, N., Tzetzis, D., Andreadis, D. A., Boetker, J., Rantanen, J. and Fatouros, D. G. (2019). Unidirectional drug release from 3D printed mucoadhesive buccal films using FDM technology: In vitro and ex vivo evaluation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 144, 180-192.
- Elkasabgy, N. A., Mahmoud, A. A. and Maged, A. (2020). 3D printing: An appealing route for customized drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 588, 119732.
- Fadda, H. and Basit, A. (2005). Dissolution of pH responsive formulations in media resembling intestinal fluids: bicarbonate versus phosphate buffers. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 15(4), 273-279.
- Falcoz, C., Oliver, R., McDowall, J. E., Ventresca, P., Bye, A. and Daley-Yates, P. T. (2000). Bioavailability of orally administered micronised fluticasone propionate. *Clinical Pharmacokinetics*, 39, 9-15.
- Fanous, M., Bitar, M., Gold, S., Sobczuk, A., Hirsch, S., Ogorka, J. and Imanidis, G. (2021). Development of immediate release 3D-printed dosage forms for a poorly water-soluble drug by fused deposition modeling: Study of morphology, solid state and dissolution. *International Journal of Pharmaceutics*, 599, 120417.
- Fanous, M., Gold, S., Muller, S., Hirsch, S., Ogorka, J. and Imanidis, G. (2020). Simplification of fused deposition modeling 3D-printing paradigm: Feasibility of 1-step direct powder printing for immediate release dosage form production. *International Journal of Pharmaceutics*, 578, 119124.
- Freire, F., Aragão, C. F. S., De Lima e Moura, T. F. A. and Raffin, F. N. (2009). Compatibility study between chlorpropamide and excipients in their physical mixtures. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 97(1), 355-357.
- Friend, D. R. (2005). New oral delivery systems for treatment of inflammatory bowel disease. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(2), 247-265.

- Fu, J., Yu, X. and Jin, Y. (2018). 3D printing of vaginal rings with personalized shapes for controlled release of progesterone. *International Journal of Pharmaceutics*, 539(1-2), 75-82.
- Fuenmayor, E., Forde, M., Healy, A. V., Devine, D. M., Lyons, J. G., McConville, C. and Major, I. (2018). Material considerations for fused-filament fabrication of solid dosage forms. *Pharmaceutics*, 10(2), 44.
- Fukui, E., Miyamura, N. and Kobayashi, M. (2001). An in vitro investigation of the suitability of press-coated tablets with hydroxypropylmethylcellulose acetate succinate (HPMCAS) and hydrophobic additives in the outer shell for colon targeting. *Journal of Controlled Release*, 70(1-2), 97-107.
- Fuller, R., Johnson, M. and Bye, A. (1995). Fluticasone propionate-An update on preclinical and clinical experience. *Respiratory Medicine*, 89, 3-18.
- Gazzaniga, A., Maroni, A., Sangalli, M. E. and Zema, L. (2006). Time-controlled oral delivery systems for colon targeting. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 3(5), 583-597.
- Genina, N., Holländer, J., Jukarainen, H., Mäkilä, E., Salonen, J. and Sandler, N. (2016). Ethylene vinyl acetate (EVA) as a new drug carrier for 3D printed medical drug delivery devices. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90, 53-63.
- Ghebremeskel, A. N., Vemavarapu, C. and Lodaya, M. (2007). Use of surfactants as plasticizers in preparing solid dispersions of poorly soluble API: Selection of polymer-surfactant combinations using solubility parameters and testing the processability. *International Journal of Pharmaceutics*, 328(2), 119-129.
- Ghosh, I., Vippagunta, R., Li, S. and Vippagunta, S. (2012). Key considerations for optimization of formulation and melt-extrusion process parameters for developing thermosensitive compound. *Pharmaceutical Development and Technology*, 17(4), 502-510.
- Giordano, F., Novak, C. and Moyano, J. R. (2001). Thermal analysis of cyclodextrins and their inclusion compounds. *Thermochimica Acta*, 380, 123-151.
- Gioumouxouzis, C. I., Baklavaridis, A., Katsamenis, O. L., Markopoulou, C. K., Bouropoulos, N., Tzetzis, D. and Fatouros, D. G. (2018a). A 3D printed bilayer oral solid dosage form combining metformin for prolonged and glimepiride for immediate drug delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 120, 40-52.
- Gioumouxouzis, C. I., Chatzitaki, A. T., Karavasili, C., Katsamenis, O. L., Tzetzis, D., Mystiridou, E., Bouropoulos, N. and Fatouros, D. G. (2018b). Controlled release of 5-fluorouracil from alginate beads encapsulated in 3D printed pH-responsive solid dosage forms. *AAPS PharmSciTech*, 19(8), 3362-3375.
- Gioumouxouzis, C. I., Katsamenis, O. L., Bouropoulos, N. and Fatouros, D. G. (2017). 3D printed oral solid dosage forms containing hydrochlorothiazide for controlled drug delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 40, 164-171.
- Goole, J. and Amighi, K. (2016). 3D printing in pharmaceutics: A new tool for designing customized drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 499(1-2), 376-394.

- Gorbach, S. L. (1971). Intestinal microflora. *Gastroenterology*, 60(6), 1110-1129.
- Goyanes, A., Buanz, A. B., Basit, A. W. and Gaisford, S. (2014). Fused-filament 3D printing (3DP) for fabrication of tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 476(1-2), 88-92.
- Goyanes, A., Chang, H., Sedough, D., Hatton, G. B., Wang, J., Buanz, A., Gaisford, S. and Basit, A. W. (2015a). Fabrication of controlled-release budesonide tablets via desktop (FDM) 3D printing. *International Journal of Pharmaceutics*, 496(2), 414-420.
- Goyanes, A., Det-Amornrat, U., Wang, J., Basit, A. W. and Gaisford, S. (2016). 3D scanning and 3D printing as innovative technologies for fabricating personalized topical drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*, 234, 41-48.
- Goyanes, A., Fina, F., Martorana, A., Sedough, D., Gaisford, S. and Basit, A. W. (2017a). Development of modified release 3D printed tablets (printlets) with pharmaceutical excipients using additive manufacturing. *International Journal of Pharmaceutics*, 527(1-2), 21-30.
- Goyanes, A., Hatton, G. B. and Basit, A. W. (2015b). A dynamic in vitro model to evaluate the intestinal release behaviour of modified-release corticosteroid products. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 25, 36-42.
- Goyanes, A., Robles-Martinez, P., Buanz, A., Basit, A. W. and Gaisford, S. (2015c). Effect of geometry on drug release from 3D printed tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 494(2), 657-663.
- Goyanes, A., Scarpa, M., Kamlow, M., Gaisford, S., Basit, A. W. and Orlu, M. (2017b). Patient acceptability of 3D printed medicines. *International Journal of Pharmaceutics*, 530(1-2), 71-78.
- Guo, Y., Zong, S., Pu, Y., Xu, B., Zhang, T. and Wang, B. (2018). Advances in pharmaceutical strategies enhancing the efficiencies of oral colon-targeted delivery systems in inflammatory bowel disease. *Molecules*, 23(7), 1622.
- Gupta, S. S., Solanki, N. and Serajuddin, A. T. (2016). Investigation of thermal and viscoelastic properties of polymers relevant to hot melt extrusion, IV: Affinisol HPMC HME polymers. *AAPS PharmSciTech*, 17(1), 148-157.
- Gültekin, H. E., Tort, S. and Acartürk, F. (2019). An effective technology for the development of immediate release solid dosage forms containing low-dose drug: fused deposition modeling 3D printing. *Pharmaceutical Research*, 36(9), 128.
- Gültekin, H. E., Tort, S., Tuğcu-Demiröz, F. and Acartürk, F. (2021). 3D printed extended release tablets for once daily use: An in vitro and in vivo evaluation study for a personalized solid dosage form. *International Journal of Pharmaceutics*, 596, 120222.
- Handali, S., Moghimipour, E., Rezaei, M., Kouchak, M., Ramezani, Z. and Dorkoosh, F. A. (2018). In vitro and in vivo evaluation of coated capsules for colonic delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 47, 492-498.
- Harding, S. M. (1990). The human pharmacology of fluticasone propionate. *Respiratory Medicine*, 84, 25-29.

- Haware, R. V., Dave, V. S., Kakarala, B., Delaney, S., Staton, S., Munson, E., Gupta, M. R. and Stagner, W. C. (2016). Vegetable-derived magnesium stearate functionality evaluation by DM(3) approach. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 89, 115-124.
- Haware, R. V., Vinjamuri, B. P., Sarkar, A., Stefik, M. and Stagner, W. C. (2018). Deciphering magnesium stearate thermotropic behavior. *International Journal of Pharmaceutics*, 548(1), 314-324.
- Hawthorne, A., Record, C., Holdsworth, C., Giaffer, M., Burke, D., Keech, M. and Hawkey, C. (1993). Double blind trial of oral fluticasone propionate v prednisolone in the treatment of active ulcerative colitis. *Gut*, 34(1), 125-128.
- Hogger, P. and Rohdewald, P. (1994). Binding kinetics of fluticasone propionate to the human glucocorticoid receptor. *Steroids*, 59(10), 597-602.
- Holländer, J., Genina, N., Jukarainen, H., Khajeheian, M., Rosling, A., Mäkilä, E. and Sandler, N. (2016). Three-dimensional printed PCL-based implantable prototypes of medical devices for controlled drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 105(9), 2665-2676.
- Hsiao, W. K., Lorber, B., Reitsamer, H. and Khinast, J. (2018). 3D printing of oral drugs: A new reality or hype? *Expert Opinion on Drug Delivery*, 15(1), 1-4.
- Hua, S., Marks, E., Schneider, J. J. and Keely, S. (2015). Advances in oral nano-delivery systems for colon targeted drug delivery in inflammatory bowel disease: Selective targeting to diseased versus healthy tissue. *Nanomedicine*, 11(5), 1117-1132.
- Illangakoon, U. E., Yu, D. G., Ahmad, B. S., Chatterton, N. P. and Williams, G. R. (2015). 5-Fluorouracil loaded Eudragit fibers prepared by electrospinning. *International Journal of Pharmaceutics*, 495(2), 895-902.
- Islam, N., Irfan, M., Abbas, N., Syed, H. K., Iqbal, M. S., Ullah Khan, I., Rasul, A., Inam, S., Hussain, A. and Arshad, M. S. (2020). Enhancement of solubility and dissolution rate of ebastine fast-disintegrating tablets by solid dispersion method. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 19(9), 1797-1805.
- Iswandana, R., Putri, K. S. S., Putri, F. A., Gunawan, M. and Larasati, S. A. (2022). Challenge and Development Strategy for Colon-Targeted Drug Delivery System. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(1), 3.
- Jain, A., Ran, Y. and Yalkowsky, S. H. (2004). Effect of pH-sodium lauryl sulfate combination on solubilization of PG-300995 (an anti-HIV agent): A technical note. *AAPS PharmSciTech*, 5(3), e45.
- Jain, V., Haider, N. and Jain, K. (2018). 3D printing in personalized drug delivery. *Current Pharmaceutical Design*, 24(42), 5062-5071.
- Jamroz, W., Szafraniec, J., Kurek, M. and Jachowicz, R. (2018). 3D printing in pharmaceutical and medical applications - Recent achievements and challenges. *Pharmaceutical Research*, 35(9), 176.

- Jannin, V., Chevrier, S., Michenaud, M., Dumont, C., Belotti, S., Chavant, Y. and Demarne, F. (2015). Development of self emulsifying lipid formulations of BCS class II drugs with low to medium lipophilicity. *International Journal of Pharmaceutics*, 495(1), 385-392.
- Jansook, P., Ogawa, N. and Loftsson, T. (2018). Cyclodextrins: Structure, physicochemical properties and pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 535(1-2), 272-284.
- Johnson, M. (1998). Development of fluticasone propionate and comparison with other inhaled corticosteroids. *Journal Allergy Clinical Immunology*, 101(4-2), 434-439.
- Joo, Y., Shin, I., Ham, G., Abuzar, S. M., Hyun, S.-M. and Hwang, S.-J. (2020). The advent of a novel manufacturing technology in pharmaceuticals: Superiority of fused deposition modeling 3D printer. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 50, 131-145.
- Kadry, H., Al-Hilal, T. A., Keshavarz, A., Alam, F., Xu, C., Joy, A. and Ahsan, F. (2018). Multi-purposable filaments of HPMC for 3D printing of medications with tailored drug release and timed-absorption. *International Journal of Pharmaceutics*, 544(1), 285-296.
- Kalantari, K., Bin Ahmad, M., Shameli, K. and Khandanlou, R. (2013). Synthesis of talc/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanocomposites using chemical co-precipitation method. *International Journal of Nanomedicine*, 8, 1817-1823.
- Kaliner, M. A. (2006). Pharmacologic characteristics and adrenal suppression with newer inhaled corticosteroids: A comparison of ciclesonide and fluticasone propionate. *Clinical Therapeutics*, 28(3), 319-331.
- Kaminski, K., Adrjanowicz, K., Kaminska, E., Grzybowska, K., Hawelek, L., Paluch, M., Tarnacka, M., Gruszka, I. and Kasprzycka, A. (2012). Impact of water on molecular dynamics of amorphous alpha-, beta-, and gamma-cyclodextrins studied by dielectric spectroscopy. *Physical Review E*, 86(3-1), 031506.
- Kassem, T., Sarkar, T., Nguyen, T., Saha, D. and Ahsan, F. (2022). 3D printing in solid dosage forms and organ-on-chip applications. *Biosensors*, 12(4), 186.
- Kawalkar, R., Dubey, H. K. and Lokhande, S. P. (2022). A review for advancements in standardization for additive manufacturing. *Materials Today: Proceedings*, 50, 1983-1990.
- Kempin, W., Domsta, V., Grathoff, G., Brecht, I., Semmling, B., Tillmann, S., Weitschies, W. and Seidlitz, A. (2018). Immediate release 3D-printed tablets produced via fused deposition modeling of a thermo-sensitive drug. *Pharmaceutical Research*, 35, 1-12.
- Kempin, W., Franz, C., Koster, L. C., Schneider, F., Bogdahn, M., Weitschies, W. and Seidlitz, A. (2017). Assessment of different polymers and drug loads for fused deposition modeling of drug loaded implants. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 115, 84-93.
- Khaled, S. A., Burley, J. C., Alexander, M. R., Yang, J. and Roberts, C. J. (2015). 3D printing of five-in-one dose combination polypill with defined immediate and sustained release profiles. *Journal of Controlled Release*, 217, 308-314.

- Khan, A. M., Hanif, M., Bukhari, N. I., Shamim, R., Rasool, F., Rasul, S. and Shafique, S. (2020). Artificial neural network (ANN) approach to predict an optimized pH-dependent mesalamine matrix tablet. *Drug Design, Development and Therapy*, 2435-2448.
- Khan, M. Z., Prebeg, Z. and Kurjakovic, N. (1999). A pH-dependent colon targeted oral drug delivery system using methacrylic acid copolymers. I. Manipulation Of drug release using Eudragit L100-55 and Eudragit S100 combinations. *Journal of Controlled Release*, 58(2), 215-222.
- Kinget, R., Kalala, W., Vervoort, L. and Van den Mooter, G. (1998). Colonic drug targeting. *Journal of Drug Targeting*, 6(2), 129-149.
- Kollamaram, G., Croker, D. M., Walker, G. M., Goyanes, A., Basit, A. W. and Gaisford, S. (2018). Low temperature fused deposition modeling (FDM) 3D printing of thermolabile drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 545(1-2), 144-152.
- Kozuch, P. L. and Hanauer, S. B. (2008). Treatment of inflammatory bowel disease: a review of medical therapy. *World Journal of Gastroenterology*, 14(3), 354-377.
- Krause, J., Bogdahn, M., Schneider, F., Koziolk, M. and Weitschies, W. (2019). Design and characterization of a novel 3D printed pressure-controlled drug delivery system. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 140, 105060.
- Krueger, L., Miles, J. A. and Popat, A. (2022). 3D printing hybrid materials using fused deposition modelling for solid oral dosage forms. *Journal of Controlled Release*, 351, 444-455.
- Kukkonen, J., Ervasti, T. and Laitinen, R. (2022). Production and characterization of glibenclamide incorporated PLA filaments for 3D printing by fused deposition modeling. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 77, 103843.
- Kumar, A., Gulati, M., Singh, S. K., Gowthamarajan, K., Prashar, R., Mankotia, D., Gupta, J. P., Banerjee, M., Sinha, S., Awasthi, A., Corrie, L., Kumar, R., Patni, P., Kumar, B., Pandey, N. K., Sadotra, M., Kumar, P., Kumar, R., Wadhwa, S. and Khursheed, R. (2020). Effect of co-administration of probiotics with guar gum, pectin and eudragit S100 based colon targeted mini tablets containing 5-Fluorouracil for site specific release. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 60.
- Kurakula, M., Gorityala, S. and Moharir, K. (2021). Recent trends in design and evaluation of chitosan-based colon targeted drug delivery systems: Update 2020. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 64, 102579.
- Lamichhane, S., Bashyal, S., Keum, T., Noh, G., Seo, J. E., Bastola, R., Choi, J., Sohn, D. H. and Lee, S. (2019). Complex formulations, simple techniques: Can 3D printing technology be the Midas touch in pharmaceutical industry? *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(5), 465-479.
- Li, Y., Pang, H., Guo, Z., Lin, L., Dong, Y., Li, G., Lu, M. and Wu, C. (2014). Interactions between drugs and polymers influencing hot melt extrusion. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 66(2), 148-166.

- Lim, S. H., Kathuria, H., Tan, J. J. Y. and Kang, L. (2018). 3D printed drug delivery and testing systems - a passing fad or the future? *Advanced Drug Delivery Reviews*, 132, 139-168.
- Lokhandwala, H., Deshpande, A. and Deshpande, S. (2013). Kinetic modeling and dissolution profiles comparison: An overview. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(1), 728-773.
- Luzuriaga, M. A., Berry, D. R., Reagan, J. C., Smaldone, R. A. and Gassensmith, J. J. (2018). Biodegradable 3D printed polymer microneedles for transdermal drug delivery. *Lab on a Chip*, 18(8), 1223-1230.
- Ma, C., Battat, R., Dulai, P. S., Parker, C. E., Sandborn, W. J., Feagan, B. G. and Jairath, V. (2019). Innovations in oral therapies for inflammatory bowel disease. *Drugs*, 79(12), 1321-1335.
- Mahnaj, T., Ahmed, S. U. and Plakogiannis, F. M. (2013). Characterization of ethyl cellulose polymer. *Pharmaceutical Development and Technology*, 18(5), 982-989.
- Makhlof, A., Tozuka, Y. and Takeuchi, H. (2009). pH-Sensitive nanospheres for colon-specific drug delivery in experimentally induced colitis rat model. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72(1), 1-8.
- Maksimowski, P. and Rumianowski, T. (2016). Properties of the gamma-cyclodextrin/CL-20 system. *Central European Journal of Energetic Materials*, 13(1), 217-229.
- Malayandi, R., Kondamudi, P. K., Ruby, P. K. and Aggarwal, D. (2014). Biopharmaceutical considerations and characterizations in development of colon targeted dosage forms for inflammatory bowel disease. *Drug Delivery and Translational Research*, 4(2), 187-202.
- Mancilla-De-la-Cruz, J., Rodriguez-Salvador, M., An, J. and Chua, C. K. (2022). Three-dimensional printing technologies for drug delivery applications: Processes, materials, and effects. *International Journal of Bioprinting*, 8(4).
- Marieb, E. N. and Hoehn, K. (2007). *Human anatomy & physiology* (11th edition). Pearson, 873,907.
- Mehrjerdi, A. K., Adl-Zarrabi, B., Cho, S. W. and Skrifvars, M. (2013). Mechanical and thermo-physical properties of high-density polyethylene modified with talc. *Journal of Applied Polymer Science*, 129(4), 2128-2138.
- Mehuys, E., Remon, J. P. and Vervaet, C. (2005). Production of enteric capsules by means of hot-melt extrusion. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 24(2-3), 207-212.
- Melocchi, A., Parietti, F., Loreti, G., Maroni, A., Gazzaniga, A. and Zema, L. (2015). 3D printing by fused deposition modeling (FDM) of a swellable/erodible capsular device for oral pulsatile release of drugs. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 30, 360-367.
- Melocchi, A., Parietti, F., Maroni, A., Foppoli, A., Gazzaniga, A. and Zema, L. (2016). Hot-melt extruded filaments based on pharmaceutical grade polymers for 3D printing by fused deposition modeling. *International Journal of Pharmaceutics*, 509(1-2), 255-263.

- Melocchi, A., Ubaldi, M., Briatico-Vangosa, F., Moutaharrik, S., Cerea, M., Foppoli, A., Maroni, A., Palugan, L., Zema, L. and Gazzaniga, A. (2021). The chronotopic™ system for pulsatile and colonic delivery of active molecules in the era of precision medicine: Feasibility by 3D printing via fused deposition modeling (FDM). *Pharmaceutics*, 13(5), 759.
- Mendoza, J. L. and Abreu, M. T. (2009). Biological markers in inflammatory bowel disease: practical consideration for clinicians. *Gastroenterologie Clinique et Biologique*, 33, 158-173.
- Messner, M., Kurkov, S. V., Jansook, P. and Loftsson, T. (2010). Self-assembled cyclodextrin aggregates and nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 387(1-2), 199-208.
- Mirdamadian, S. Z., Varshosaz, J., Minaian, M. and Taheri, A. (2022). 3D printed tablets containing oxaliplatin loaded alginate nanoparticles for colon cancer targeted delivery: An in vitro/in vivo study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 205, 90-109.
- Moghimpour, E., Dorkoosh, F. A., Rezaei, M., Kouchak, M., Fatahiasi, J., Angali, K. A., Ramezani, Z., Amini, M. and Handali, S. (2018). In vivo evaluation of pH and time-dependent polymers as coating agent for colonic delivery using central composite design. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 43, 50-56.
- Mohamed-Ebrahim, H. R. S. A. K., Chungath, T. T., Sridhar, K., Siram, K., Elumalai, M. R., Ranganathan, H. and H. Muthusamy, S. (2021). Development and validation of a discriminative dissolution medium for a poorly soluble nutraceutical tetrahydrocurcumin. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 18(5), 565-573.
- Mohanta, S., Singh, S. K., Kumar, B., Gulati, M., Kumar, R., Yadav, A. K., Wadhwa, S., Jyoti, J., Som, S., Dua, K. and Pandey, N. K. (2019). Efficacy of co-administration of modified apple polysaccharide and probiotics in guar gum-Eudragit S100 based mesalamine mini tablets: A novel approach in treating ulcerative colitis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 427-435.
- Morris, G. P., Beck, P. L., Herridge, M. S., Depew, W. T., Szewczuk, M. R. and Wallace, J. L. (1989). Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology*, 96(3), 795-803.
- Motavallian-Naeini, A., Andalib, S., Rabbani, M., Mahzouni, P., Afsharipour, M. and Minaian, M. (2012). Validation and optimization of experimental colitis induction in rats using 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 7(3), 159-169.
- Moura, C., Neves, F. and Costa, E. (2016). Impact of jet-milling and wet-polishing size reduction technologies on inhalation API particle properties. *Powder Technology*, 298, 90-98.
- Mura, C., Nacher, A., Merino, V., Merino-Sanjuan, M., Carda, C., Ruiz, A., Manconi, M., Loy, G., Fadda, A. M. and Diez-Sales, O. (2011). N-Succinyl-chitosan systems for 5-aminosalicylic acid colon delivery: in vivo study with TNBS-induced colitis model in rats. *International Journal of Pharmaceutics*, 416(1), 145-154.
- Murnane, D., Marriott C. and Martin, G. P. (2008). Crystallization and crystallinity of fluticasone propionate. *Crystal Growth & Design*, 8(8), 2753-2764.

- Naeem, M., Bae, J., Oshi, M. A., Kim, M. S., Moon, H. R., Lee, B. L., Im, E., Jung, Y. and Yoo, J. W. (2018). Colon-targeted delivery of cyclosporine A using dual-functional Eudragit((R)) FS30D/PLGA nanoparticles ameliorates murine experimental colitis. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 1225-1240.
- Naeem, M., Cao, J., Choi, M., Kim, W. S., Moon, H. R., Lee, B. L., Kim, M. S., Jung, Y. and Yoo, J. W. (2015). Enhanced therapeutic efficacy of budesonide in experimental colitis with enzyme/pH dual-sensitive polymeric nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 4565-4580.
- Nair, A. B. and Jacob, S. (2016). A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 7(2), 27.
- Nasereddin, J. M., Wellner, N., Alhijjaj, M., Belton, P. and Qi, S. (2018). Development of a simple mechanical screening method for predicting the feedability of a pharmaceutical FDM 3D printing filament. *Pharmaceutical Research*, 35(8), 151.
- Nashed, N., Lam, M. and Nokhodchi, A. (2021). A comprehensive overview of extended release oral dosage forms manufactured through hot melt extrusion and its combination with 3D printing. *International Journal of Pharmaceutics*, 596, 120237.
- Nep, E. I. and Conway, B. R. (2011). Preformulation studies on grewia gum as a formulation excipient. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 108(1), 197-205.
- Ng, S. C., Shi, H. Y., Hamidi, N., Underwood, F. E., Tang, W., Benchimol, E. I., Panaccione, R., Ghosh, S., Wu, J. C. Y., Chan, F. K. L., Sung, J. J. Y. and Kaplan, G. G. (2017). Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: A systematic review of population-based studies. *The Lancet*, 390(10114), 2769-2778.
- Ng, W. F., Wong, M. H. and Cheng, F. T. (2010). Stearic acid coating on magnesium for enhancing corrosion resistance in Hanks' solution. *Surface and Coatings Technology*, 204(11), 1823-1830.
- Niebel, W., Walkenbach, K., Beduneau, A., Pellequer, Y. and Lamprecht, A. (2012). Nanoparticle-based clodronate delivery mitigates murine experimental colitis. *Journal of Controlled Release*, 160(3), 659-665.
- Nober, C., Manini, G., Carlier, E., Raquez, J.-M., Benali, S., Dubois, P., Amighi, K. and Goole, J. (2019). Feasibility study into the potential use of fused-deposition modeling to manufacture 3D-printed enteric capsules in compounding pharmacies. *International Journal of Pharmaceutics*, 569, 118581.
- Noory, C., Tran, N., Ouderkirk, L. and Shah, V. (2000). Steps for development of a dissolution test for sparingly water-soluble drug products. *Dissolution Technologies*, 7(1), 16-19.
- Norman, J., Madurawe, R. D., Moore, C. M., Khan, M. A. and Khairuzzaman, A. (2017). A new chapter in pharmaceutical manufacturing: 3D-printed drug products. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 108, 39-50.
- Nunes, T., Barreiro-de Acosta, M., Marin-Jimenez, I., Nos, P. and Sans, M. (2013). Oral locally active steroids in inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis*, 7(3), 183-191.

- Nykanen, P., Sten, T., Jürjenson, H., Veski, P. and Marvola, M. (2004). Citric acid as a pH regulating additive in granules and the tablet matrix in enteric-coated formulations for colon-specific drug delivery. *Pharmazie*, 59(4), 268-273.
- Obeid, S., Madzarevic, M., Krkobabic, M. and Ibric, S. (2021). Predicting drug release from diazepam FDM printed tablets using deep learning approach: Influence of process parameters and tablet surface/volume ratio. *International Journal of Pharmaceutics*, 601, 120507.
- Okafor-Muo, O. L., Hassanin, H., Kayyali, R. and ElShaer, A. (2020). 3D printing of solid oral dosage forms: numerous challenges with unique opportunities. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 109(12), 3535-3550.
- Okwuosa, T. C., Pereira, B. C., Arafat, B., Cieszyńska, M., Isreb, A. and Alhnan, M. A. (2017). Fabricating a shell-core delayed release tablet using dual FDM 3D printing for patient-centred therapy. *Pharmaceutical Research*, 34(2), 427-437.
- Okwuosa, T. C., Sadia, M., Isreb, A., Habashy, R., Peak, M. and Alhnan, M. A. (2021). Can filaments be stored as a shelf-item for on-demand manufacturing of oral 3D printed tablets? An initial stability assessment. *International Journal of Pharmaceutics*, 600, 120442.
- Okwuosa, T. C., Stefaniak, D., Arafat, B., Isreb, A., Wan, K. W. and Alhnan, M. A. (2016). A lower temperature FDM 3D printing for the manufacture of patient-specific immediate release tablets. *Pharmaceutical Research*, 33(11), 2704-2712.
- Özkan, T. B. (2003). İnflamatuvar barsak hastalıkları. *Güncel Pediatri*, 1(1), 79-91.
- Paarakh, M. P., Jose, P. A., Setty, C. and Christopher, G. (2018). Release kinetics—concepts and applications. *International Journal of Pharmacy Research & Technology*, 8(1), 12-20.
- Palekar, S., Nukala, P. K., Mishra, S. M., Kipping, T. and Patel, K. (2019). Application of 3D printing technology and quality by design approach for development of age-appropriate pediatric formulation of baclofen. *International Journal of Pharmaceutics*, 556, 106-116.
- Papadopoulou, V., Kosmidis, K., Vlachou, M. and Macheras, P. (2006). On the use of the Weibull function for the discernment of drug release mechanisms. *International Journal of Pharmaceutics*, 309(1-2), 44-50.
- Parhi, R. (2021). A review of three-dimensional printing for pharmaceutical applications: Quality control, risk assessment and future perspectives. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 64, 102571.
- Parulski, C., Jennotte, O., Lechanteur, A. and Evrard, B. (2021). Challenges of fused deposition modeling 3D printing in pharmaceutical applications: Where are we now? *Advanced Drug Delivery Reviews*, 175, 113810.
- Patel, A., Bhatt, N., Patel, K., Patel, N. and Patel, M. (2011). Colon targeted drug delivery system: a review system. *Journal of Pharmaceutical Science and Bioscientific Research*, 1(1), 37-49.

- Patel. (2011). Cutting-edge technologies in colon-targeted drug delivery systems. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 8(10), 1247-1258.
- Patil, H., Tiwari, R. V. and Repka, M. A. (2016). Hot-melt extrusion: from theory to application in pharmaceutical formulation. *AAPS Pharmscitech*, 17, 20-42.
- Patole, V. C. and Pandit, A. P. (2017). Mesalamine-loaded alginate microspheres filled in enteric coated HPMC capsules for local treatment of ulcerative colitis: In vitro and in vivo characterization. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 48(3), 257-267.
- Pawar, R. and Pawar, A. (2022). 3D printing of pharmaceuticals: approach from bench scale to commercial development. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(1), 1-17.
- Pereira, G. G., Figueiredo, S., Fernandes, A. I. and Pinto, J. F. (2020). Polymer selection for hot-melt extrusion coupled to fused deposition modelling in pharmaceuticals. *Pharmaceutics*, 12(9), 795.
- Philip, A. K. and Philip, B. (2010). Colon targeted drug delivery systems: a review on primary and novel approaches. *Oman medical journal*, 25(2), 79.
- Pietrzak, K., Isreb, A. and Alhnan, M. A. (2015). A flexible-dose dispenser for immediate and extended release 3D printed tablets. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 96, 380-387.
- Pimpang, P., Sumang, R. and Choopun, S. (2018). Effect of concentration of citric acid on size and optical properties of fluorescence graphene quantum dots prepared by tuning carbonization degree. *Chiang Mai Journal of Science*, 45(5), 2005-2014.
- Pithadia, A. B. and Jain, S. (2011). Treatment of inflammatory bowel disease (IBD). *Pharmacological Reports*, 63(3), 629-642.
- Prakash, G., Chandra, S. A., Sandhya, P., Bidur, C. and Samir, D. (2020). Pharmacopoeial comparison of in-process and finished product quality control test for pharmaceutical tablets. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 11(3), 155-165.
- Prantera, C. and Marconi, S. (2013). Glucocorticosteroids in the treatment of inflammatory bowel disease and approaches to minimizing systemic activity. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 6(2), 137-156.
- Pyteraf, J., Jamróz, W., Kurek, M., Bąk, U., Loskot, J., Kramarczyk, D., Paluch, M. and Jachowicz, R. (2023). Preparation and advanced characterization of highly drug-loaded, 3D printed orodispersible tablets containing fluconazole. *International Journal of Pharmaceutics*, 630.
- Qelliny, M., Aly, U., Elgarhy, O. and Khaled, K. (2019). Colon drug delivery systems for the treatment of inflammatory bowel disease. *Journal of Advanced Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 2(4), 164-184.
- Qiao, M., Zhang, L., Ma, Y., Zhu, J. and Xiao, W. (2013). A novel electrostatic dry coating process for enteric coating of tablets with Eudragit(R) L 100-55. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 83(2), 293-300.

- Quodbach, J., Bogdahn, M., Breitzkreutz, J., Chamberlain, R., Eggenreich, K., Elia, A. G., Gottschalk, N., Gunkel-Grabole, G., Hoffmann, L., Kapote, D., Kipping, T., Klinken, S., Loose, F., Marquetant, T., Windolf, H., Geissler, S. and Spitz, T. (2022). Quality of FDM 3D printed medicines for pediatrics: considerations for formulation development, filament extrusion, printing process and printer design. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science*, 56(6), 910-928.
- Qureshi, A. M., Momin, M., Rathod, S., Dev, A. and Kute, C. (2013). Colon targeted drug delivery system: A review on current approaches. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*, 1(4), 130-147.
- Raje, V., Palekar, S., Banella, S. and Patel, K. (2022). Tunable drug release from fused deposition modelling (FDM) 3D-printed tablets fabricated using a novel extrudable polymer. *Pharmaceutics*, 14(10), 2192.
- Real, J. P., Barberis, M. E., Camacho, N. M., Sanchez Bruni, S. and Palma, S. D. (2020). Design of novel oral ricobendazole formulation applying melting solidification printing process (MESO-PP): An innovative solvent-free alternative method for 3D printing using a simplified concept and low temperature. *International Journal of Pharmaceutics*, 587, 119653.
- Ribaldone, D. G., Brigo, S., Mangia, M., Saracco, G. M., Astegiano, M. and Pellicano, R. (2020). Oral manifestations of inflammatory bowel disease and the role of non-invasive surrogate markers of disease activity. *Medicines*, 7(6), 33.
- Sadia, M., Arafat, B., Ahmed, W., Forbes, R. T. and Alhnan, M. A. (2018a). Channelled tablets: An innovative approach to accelerating drug release from 3D printed tablets. *Journal of Controlled Release*, 269, 355-363.
- Sadia, M., Isreb, A., Abbadi, I., Isreb, M., Aziz, D., Selo, A., Timmins, P. and Alhnan, M. A. (2018b). From 'fixed dose combinations' to 'a dynamic dose combiner': 3D printed bi-layer antihypertensive tablets. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 123, 484-494.
- Sadia, M., Sosnicka, A., Arafat, B., Isreb, A., Ahmed, W., Kelarakis, A. and Alhnan, M. A. (2016). Adaptation of pharmaceutical excipients to FDM 3D printing for the fabrication of patient-tailored immediate release tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 513(1-2), 659-668.
- Sahu, R. S. and Jain, D. (2020). Compatibility studies of montelukast with pharmaceutical excipients used in tablet formulations using thermal and chromatographic techniques. *Journal of Bioanalysis and Biomedicine*, 12(2), 1-10.
- Sales-Campos, H., Basso, P. J., Alves, V. B., Fonseca, M. T., Bonfa, G., Nardini, V. and Cardoso, C. R. (2015). Classical and recent advances in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 48(2), 96-107.
- Samiei, N. (2020). Recent trends on applications of 3D printing technology on the design and manufacture of pharmaceutical oral formulation: A mini review. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 9(1), 1-12.

- Sangnim, T., Tangpanithanon, A., Khamtheantong, M., Charoenwai, J. and Huanbutta, K. (2021). Development of personalized colonic drug delivery systems prepared by 3D-printing technology. *Key Engineering Materials*, 901, 144-150.
- Sani, H. A., Ahmad, M. B. and Saleh, T. A. (2016). Synthesis of zinc oxide/talc nanocomposite for enhanced lead adsorption from aqueous solutions. *RSC Advances*, 6(110), 108819-108827.
- Saokham, P. and Loftsson, T. (2015). A new approach for quantitative determination of  $\gamma$ -cyclodextrin in aqueous solutions: Application in aggregate determinations and solubility in hydrocortisone/ $\gamma$ -cyclodextrin inclusion complex. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 104(11), 3925-3933.
- Sarabu, S., Kallakunta, V. R., Butreddy, A., Janga, K. Y., Ajjarapu, S., Bandari, S., Zhang, F., Murthy, S. N. and Repka, M. A. (2021). A one-step twin-screw melt granulation with gelucire 48/16 and surface adsorbent to improve the solubility of poorly soluble drugs: effect of formulation variables on dissolution and stability. *AAPS PharmSciTech*, 22(3), 79.
- Saydam, M. and Takka, S. (2020). Improving the dissolution of a water-insoluble orphan drug through a fused deposition modelling 3-Dimensional printing technology approach. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 152, 105426.
- Schilling, S. U., Bruce, C. D., Shah, N. H., Malick, A. W. and McGinity, J. W. (2008). Citric acid monohydrate as a release-modifying agent in melt extruded matrix tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 361(1-2), 158-168.
- Schilling, S. U., Shah, N. H., Malick, A. W. and McGinity, J. W. (2010). Properties of melt extruded enteric matrix pellets. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 74(2), 352-361.
- Schver, G. C. and Lee, P. I. (2021). On the usefulness of sink index in characterizing the degree of nonsinkness in dissolution studies. *International Journal of Pharmaceutics*, 605, 120845.
- Scoutaris, N., Ross, S. A. and Douroumis, D. (2018). 3D printed “Starmix” drug loaded dosage forms for paediatric applications. *Pharmaceutical Research*, 35, 1-11.
- Seoane-Viano, I., Gomez-Lado, N., Lazare-Iglesias, H., Barreiro-de Acosta, M., Silva-Rodriguez, J., Luzardo-Alvarez, A., Herranz, M., Otero-Espinar, F., Antunez-Lopez, J. R., Lamas, M. J., Aguiar, P., Fernandez-Ferreiro, A. and Ruibal, A. (2018). Longitudinal PET/CT evaluation of TNBS-induced inflammatory bowel disease rat model. *International Journal of Pharmaceutics*, 549(1-2), 335-342.
- Seoane-Viaño, I., Gómez-Lado, N., Lázare-Iglesias, H., García-Otero, X., Antúnez-López, J. R., Ruibal, Á., Varela-Correa, J. J., Aguiar, P., Basit, A. W. and Otero-Espinar, F. J. (2020). 3D printed tacrolimus rectal formulations ameliorate colitis in an experimental animal model of inflammatory bowel disease. *Biomedicines*, 8(12), 563.
- Seoane-Viaño, I., Trenfield, S. J., Basit, A. W. and Goyanes, A. (2021). Translating 3D printed pharmaceuticals: From hype to real-world clinical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 174, 553-575.

- Shah, V. P., Konecny, J. J., Everett, R. L., McCullough, B., Noorizadeh, A. C. and Skelly, J. P. (1989). In vitro dissolution profile of water-insoluble drug dosage forms in the presence of surfactants. *Pharmaceutical Research*, 6(7), 612-618.
- Shi, K., Salvage, J. P., Maniruzzaman, M. and Nokhodchi, A. (2021). Role of release modifiers to modulate drug release from fused deposition modelling (FDM) 3D printed tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 597, 120315.
- Simon, G. L. and Gorbach, S. L. (1986). The human intestinal microflora. *Digestive Diseases and Sciences*, 31, 147-162.
- Skowrya, J., Pietrzak, K. and Alhnan, M. A. (2015). Fabrication of extended-release patient-tailored prednisolone tablets via fused deposition modelling (FDM) 3D printing. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68, 11-17.
- Smith, D. M., Kapoor, Y., Klinzing, G. R. and Procopio, A. T. (2018). Pharmaceutical 3D printing: Design and qualification of a single step print and fill capsule. *International Journal of Pharmaceutics*, 544(1), 21-30.
- Solanki, N. G., Tahsin, M., Shah, A. V. and Serajuddin, A. T. (2018). Formulation of 3D printed tablet for rapid drug release by fused deposition modeling: screening polymers for drug release, drug-polymer miscibility and printability. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 107(1), 390-401.
- Stanković, M., Frijlink, H. W. and Hinrichs, W. L. (2015). Polymeric formulations for drug release prepared by hot melt extrusion: Application and characterization. *Drug Discovery Today*, 20(7), 812-823.
- Stanojević, S., Blagojević, V., Ćuruvija, I., Veljović, K., Soković Bajić, S., Kotur-Stevuljević, J., Bogdanović, A., Petrović, R., Vujnović, I. and Kovačević-Jovanović, V. (2018). Oral treatment with *Lactobacillus rhamnosus* 64 during the early postnatal period improves the health of adult rats with TNBS-induced colitis. *Journal of Functional Foods*, 48, 92-105.
- Sun, D. D., Ju, T. C. and Lee, P. I. (2012). Enhanced kinetic solubility profiles of indomethacin amorphous solid dispersions in poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 81(1), 149-158.
- Sunoqrot, S. and Abujamous, L. (2019). pH-sensitive polymeric nanoparticles of quercetin as a potential colon cancer-targeted nanomedicine. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 52, 670-676.
- Suthar, V., Pratap, A. and Raval, H. (2000). Studies on poly (hydroxy alkanoates)/(ethylcellulose) blends. *Bulletin of Materials Science*, 23(3), 215-219.
- Şengel Türk, C. T., Hasçıçek, C. and Gönül, N. (2006). *Kolona hedeflenen ilaç taşıyıcı sistemler*.
- Tabriz, A. G., Fullbrook, D. H. G., Vilain, L., Derrar, Y., Nandi, U., Grau, C., Morales, A., Hooper, G., Hiezl, Z. and Douroumis, D. (2021). Personalised tasted masked chewable 3D Printed fruit-chews for paediatric patients. *Pharmaceutics*, 13(8), 1301.

- Tagami, T., Hayashi, N., Sakai, N. and Ozeki, T. (2019). 3D printing of unique water-soluble polymer-based suppository shell for controlled drug release. *International Journal of Pharmaceutics*, 568, 118494.
- Tambe, S., Jain, D., Agarwal, Y. and Amin, P. (2021). Hot-melt extrusion: Highlighting recent advances in pharmaceutical applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 63, 102452.
- Terakosolphan, W., Hassoun, M., Kumar, A. and Forbes, B. (2016). Solubility of fluticasone propionate and beclomethasone dipropionate in simulated lung lining fluids. *Drug Delivery to the Lungs*, 27, 1-4.
- Teruel, A. H., Gonzalez-Alvarez, I., Bermejo, M., Merino, V., Marcos, M. D., Sancenon, F., Gonzalez-Alvarez, M. and Martinez-Manez, R. (2020). New Insights of Oral Colonic Drug Delivery Systems for Inflammatory Bowel Disease Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18).
- Thabet, Y., Lunter, D. and Breitzkreutz, J. (2018). Continuous inkjet printing of enalapril maleate onto orodispersible film formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 546(1-2), 180-187.
- Thakkar, R., Pillai, A. R., Zhang, J., Zhang, Y., Kulkarni, V. and Maniruzzaman, M. (2020). Novel on-demand 3-dimensional (3-D) printed tablets using fill density as an effective release-controlling tool. *Polymers*, 12(9), 1872.
- Thakral, N. K., Ray, A. R., Jacobsen, J., Bar-Shalom, D. E., André H.M., and Dipak K. (2012). Colon targeting of fluticasone propionate inclusion complex: a novel approach in inflammatory bowel disease. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 75(1-2), 175-184.
- Tita, B., Fuliş, A., Szabadai, Z., Rusu, G., Bandur, G. and Tita, D. (2010). Compatibility study between ibuprofen and excipients in their physical mixtures. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 105(2), 517-527.
- Tokumura, T., Isaka, H., Kanou, M., Miyazaki, E., Kaneko, N. and Kurita, T. (2015). An inclusion complex of fluticasone propionate with  $\gamma$ -cyclodextrin in aqueous solution and in a solid state. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 26, 24-27.
- Triantafillidis, J. K., Merikas, E. and Georgopoulos, F. (2011). Current and emerging drugs for the treatment of inflammatory bowel disease. *Drug Design, Development and Therapy*, 5, 185-210.
- Turanlı, Y. and Acartürk, F. (2021). Fabrication and characterization of budesonide loaded colon-specific nanofiber drug delivery systems using anionic and cationic polymethacrylate polymers. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 63, 102511.
- Turanlı, Y., Tort, S. and Acartürk, F. (2019). Development and characterization of methylprednisolone loaded delayed release nanofibers. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 49, 58-65.

- Van den Mooter, G. and Kinget, R. (1995). Oral colon-specific drug delivery: a review. *Drug Delivery*, 2(2), 81-93.
- Varan, C., Şen, M., Sandler, N., Aktaş, Y. and Bilensoy, E. (2019). Mechanical characterization and ex vivo evaluation of anticancer and antiviral drug printed bioadhesive film for the treatment of cervical cancer. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 130, 114-123.
- Varshosaz, J., Emami, J., Tavakoli, N., Minaiyan, M., Rahmani, N., Dorkoosh, F. and Mahzouni, P. (2012). Pectin film coated pellets for colon-targeted delivery of budesonide: In-vitro/in-vivo evaluation in induced ulcerative colitis in rat. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 11(3), 733.
- Vatanara, A., Najafabadi, A. R., Gilani, K., Asgharian, R., Darabi, M. and Rafiee-Tehrani, M. (2009). Precipitation of fluticasone propionate microparticles using supercritical antisolvent. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(1), 6-12.
- Vaz, V. M. and Kumar, L. (2021). 3D printing as a promising tool in personalized medicine. *AAPS Pharmscitech*, 22, 1-20.
- Vemula, S. K. (2015). Formulation and pharmacokinetics of colon-specific double-compression coated mini-tablets: Chronopharmaceutical delivery of ketorolac tromethamine. *International Journal of Pharmaceutics*, 491(1-2), 35-41.
- Verstraete, G., Samaro, A., Grymonpre, W., Vanhoorne, V., Van Snick, B., Boone, M. N., Hellemans, T., Van Hoorebeke, L., Remon, J. P. and Vervaet, C. (2018). 3D printing of high drug loaded dosage forms using thermoplastic polyurethanes. *International Journal of Pharmaceutics*, 536(1), 318-325.
- Vlachou, M., Kikionis, S., Siamidi, A., Kyriakou, S., Tsotinis, A., Ioannou, E. and Roussis, V. (2019). Development and characterization of eudragit((R))-based electrospun nanofibrous mats and their formulation into nanofiber tablets for the modified release of furosemide. *Pharmaceutics*, 11(9), 480.
- Vo, C. L., Park, C. and Lee, B. J. (2013). Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 85(3), 799-813.
- Wallace, J. L., MacNaughton, W. K., Morris, G. P. and Beck, P. L. (1989). Inhibition of leukotriene synthesis markedly accelerates healing in a rat model of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 96(1), 29-36.
- Wang, A., Yin, H., Lu, H., Xue, J., Ren, M. and Jiang, T. (2009). Effect of organic modifiers on the structure of nickel nanoparticles and catalytic activity in the hydrogenation of p-nitrophenol to p-aminophenol. *Langmuir*, 25(21), 12736-12741.
- Wang, H., Dumpa, N., Bandari, S., Durig, T. and Repka, M. A. (2020). Fabrication of taste-masked donut-shaped tablets via fused filament fabrication 3D printing paired with hot-melt extrusion techniques. *AAPS PharmSciTech*, 21, 1-11.

- Wang, J., Zhang, Y., Aghda, N. H., Pillai, A. R., Thakkar, R., Nokhodchi, A. and Maniruzzaman, M. (2021). Emerging 3D printing technologies for drug delivery devices: Current status and future perspective. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 174, 294-316.
- Wang, N., Shi, H. and Yang, S. (2022). 3D printed oral solid dosage form: Modified release and improved solubility. *Journal of Controlled Release*, 351, 407-431.
- Wang, Q. S., Wang, G. F., Zhou, J., Gao, L. N. and Cui, Y. L. (2016). Colon targeted oral drug delivery system based on alginate-chitosan microspheres loaded with icariin in the treatment of ulcerative colitis. *International Journal of Pharmaceutics*, 515(1-2), 176-185.
- Watts, P. J. and Lllum, L. (1997). Colonic drug delivery. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 23(9), 893-913.
- Woodruff, T. M., Arumugam, T. V., Shiels, I. A., Newman, M. L., Ross, P. A., Reid, R. C., Fairlie, D. P. and Taylor, S. M. (2005). A potent and selective inhibitor of group IIa secretory phospholipase A2 protects rats from TNBS-induced colitis. *International Immunopharmacology*, 5(5), 883-892.
- Woodruff, T. M., Arumugam, T. V., Shiels, I. A., Reid, R. C., Fairlie, D. P. and Taylor, S. M. (2003). A potent human C5a receptor antagonist protects against disease pathology in a rat model of inflammatory bowel disease. *The Journal of Immunology*, 171(10), 5514-5520.
- Wu, W., Ye, C., Zheng, Q., Wu, G. and Cheng, Z. (2016). A therapeutic delivery system for chronic osteomyelitis via a multi-drug implant based on three-dimensional printing technology. *Journal of Biomaterials Applications*, 31(2), 250-260.
- Xenikakis, I., Tzimitzimis, M., Tsongas, K., Andreadis, D., Demiri, E., Tzetzis, D. and Fatouros, D. G. (2019). Fabrication and finite element analysis of stereolithographic 3D printed microneedles for transdermal delivery of model dyes across human skin in vitro. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 137, 104976.
- Yan, J., Wang, Y., Zhang, X., Zhao, X., Ma, J., Pu, X., Wang, Y., Ran, F., Wang, Y. and Leng, F. (2019). Snakegourd root/Astragalus polysaccharide hydrogel preparation and application in 3D printing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 309-316.
- Yang, M., Lin, H. B., Gong, S., Chen, P. Y., Geng, L. L., Zeng, Y. M. and Li, D. Y. (2014). Effect of Astragalus polysaccharides on expression of TNF-alpha, IL-1beta and NFATc4 in a rat model of experimental colitis. *Cytokine*, 70(2), 81-86.
- Yang, Y., Wang, H., Li, H., Ou, Z. and Yang, G. (2018). 3D printed tablets with internal scaffold structure using ethyl cellulose to achieve sustained ibuprofen release. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 115, 11-18.
- Zeeshan, M., Ali, H., Khan, S., Khan, S. A. and Weigmann, B. (2019). Advances in orally-delivered pH-sensitive nanocarrier systems; an optimistic approach for the treatment of inflammatory bowel disease. *International Journal of Pharmaceutics*, 558, 201-214.
- Zhang, F. (2016). Melt-Extruded Eudragit(R) FS-Based Granules for Colonic Drug Delivery. *AAPS PharmSciTech*, 17(1), 56-67.

- Zhang, J., Feng, X., Patil, H., Tiwari, R. V. and Repka, M. A. (2017a). Coupling 3D printing with hot-melt extrusion to produce controlled-release tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 519(1-2), 186-197.
- Zhang, J., Yang, W., Vo, A. Q., Feng, X., Ye, X., Kim, D. W. and Repka, M. A. (2017b). Hydroxypropyl methylcellulose-based controlled release dosage by melt extrusion and 3D printing: Structure and drug release correlation. *Carbohydrate Polymers*, 177, 49-57.
- Zhang, Y., Huo, M., Zhou, J., Zou, A., Li, W., Yao, C. and Xie, S. (2010). DDSolver: an add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles. *The AAPS Journal*, 12, 263-271.





## EK-1. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 28.12.2022-E.546398



T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : E-66332047-604.01.02-546398  
Konu : Değerlendirme ve Onay

28.12.2022

Sayın Dr.Öğr.Üyesi Diren SARISALTIK YAŞIN  
Dicle Üniversitesi  
Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı

Araştırmacı grubu Diren SARISALTIK YAŞIN, Sevgi TAKKA, Cennet DURAN ve Saadet Özen AKARCA DİZAKAR'dan oluşan, G.Ü.ET-22.118 kod numaralı ve "*Üç Boyutlu Baskı Teknolojisi Kullanarak Flutikazon Propiyonat'ın Kolona Hedeflendirilmiş Tablet Formülasyonlarının Geliştirilmesi*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-22.118 and entitled "*Development of Colon-targeted Tablet Formulations of Fluticasone Propionate by using Three Dimensional Printing Technology*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

Hayvan Türü : Sıçan Wistar  
Hayvan Sayısı : 48

Prof. Dr. Fazlı POLAT  
Rektör Yardımcısı

Ek: 1 Liste

## EK-1. (devam) Etik Kurul Onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
 Evrak Tarih ve Sayısı: 28.12.2022-E.346398  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM  
 LİSTESİ**

| TOPLANTI TARİHİ : 23/12/2022                 |  | TOPLANTI SAYISI : 12 |  |
|----------------------------------------------|--|----------------------|--|
| ADI-SOYADI                                   |  | İMZA                 |  |
| Prof.Dr.Mustafa ARSLAN<br>(Başkan)           |  |                      |  |
| Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL<br>(Başkan Yrd.) |  |                      |  |
| Prof.Dr.İlker ŞEN                            |  |                      |  |
| Prof.Dr.Mustafa KAVUTÇU                      |  |                      |  |
| Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK                  |  |                      |  |
| Prof.Dr.İpek SÜNTAR                          |  |                      |  |
| Prof.Dr.Serkan YAVUZ                         |  |                      |  |
| Prof.Dr.Şule COŞKUN CEVHER                   |  |                      |  |
| Prof.Dr.Fatma Gökçe APAYDIN                  |  |                      |  |
| Doç.Dr.Elvan ANADOL                          |  |                      |  |
| Doç.Dr.Yeliz KILINÇ                          |  |                      |  |
| Doç.Dr.Zeliha Aycan ÖZDEMİRKAN               |  |                      |  |
| Doç.Dr. Duygu AĞAGÜNDÜZ                      |  |                      |  |
| Dr.Öğr.Üyesi Şevki Mustafa DEMİRÖZ           |  |                      |  |
| Dr.Öğr.Üyesi Sühan GÜRBÜZ                    |  |                      |  |
| Dr.Öğr.Üyesi Zeynep YIĞMAN                   |  |                      |  |
| Dr.Öğr.Üyesi Nur Banu BAL                    |  |                      |  |
| Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM                        |  |                      |  |
| Öğr.Gör.Dr. Beyza AYDOĞAN                    |  |                      |  |
| Vet.Hek.Burcu AVCI                           |  |                      |  |
| Osman İÇ                                     |  |                      |  |

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : DURAN, Cennet

Uyruğu : T.C.

| Eğitim Derecesi | Okul/Program                                                                        | Mezuniyet Yılı |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| Doktora         | Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü<br>Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı | Devam ediyor   |
| Lisans          | Hacettepe Üniversitesi/ Eczacılık Fakültesi                                         | 2014           |
| Lise            | Derik Lisesi                                                                        | 2009           |

### İş Deneyimi,

| Yıl               | Yer                | Görev               |
|-------------------|--------------------|---------------------|
| 2016-devam ediyor | Dicle Üniversitesi | Araştırma Görevlisi |
| 2016-2018         | Gazi Üniversitesi  | Araştırma Görevlisi |

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

Duran, C., Sarısaltık-Yaşın, D. ve Takka, S. (2022). Formulation development studies of three-dimensional printable filaments containing Eudragit S100 polymer with a high-glass transition temperature. *Journal of Gazi University Health Sciences Institute*, 4(3), 143-151.

### Bildiriler

Duran, C., Sarısaltık-Yaşın, D. ve Takka, S. (2021). *Fabrication of 3D printable filaments using pharmaceutical polymers with high glass transition temperature*. 3rd International Gazi Pharma Symposium Series (3<sup>rd</sup> GPSS), September 8-10, Sözlü Bildiri, Ankara, Turkey. (Best younger researcher award -3rd winner)

- Duran, C., Sarısaltık-Yaşın, D., Cetin, O. ve Takka, S. (2022). *Development of Eudragit S100 based 3D tablet formulations for colon-specific delivery of highly soluble drugs*. 20th International Pharmaceutical Technology Symposium. (20<sup>th</sup> IPTS), February 21-23, Sözlü Bildiri, Ankara, Turkey.
- Duran, C., Sarısaltık-Yaşın, D., ve Takka, S. (2021). *Evaluation of the effect of the infill density and tablet geometry on disintegration of 3D printed tablets*. 3rd International Gazi Pharma Symposium Series (3<sup>rd</sup> GPSS), September 8-10, Poster Bildiri, Ankara, Turkey.
- Duran, C., Yaşın-Sarısaltık, D., ve Takka, S. (2021). *Development of a printable coating filament for 3D colon targeting tablets*. In 13th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS) Proceeding Book. Ankara: Ankara University Faculty of Pharmacy Publication No. 130, 18-20.
- Sarısaltık-Yaşın, D., Duran, C. ve Takka, S. (2022). *Fabrication of 3DP colon-targeted tablets including fluticasone with enhanced solubility by  $\gamma$ -cyclodextrin*. 9th BBBB International Conference on Pharmaceutical Sciences (9th BBBB), September 15-17, Sözlü Bildiri, Ljubljana, Slovenia

## Projeler

- Üç Boyutlu Baskı Tekniği İle Yetim İlaç İçeren Katı İlaç Formülasyonlarının Tasarımla Kalite (Qbd) Prensiplerine Dayanılarak Geliştirilmesi*, Gazi Üniversitesi SBE BAP, Proje Kodu: 02/2017-2018, Araştırmacı.
- Üç Boyutlu Baskı Teknolojisiyle Flutikazon Propiyonatın Kolona Hedeflendirilmiş Enterik Kaplı Matriks Tablet Formülasyonlarının Geliştirilmesi*, Proje No: 219S197, Tübitak 3501, Bursiyer.
- İnflamasyonlu Bağırsak Hastalıklarının Tedavisi İçin Üç Boyutlu Baskı Teknolojisiyle Tablet Formülasyonlarının Geliştirilmesi*, Dicle Üniversitesi BAP, Proje No: ECZACILIK.20.004, Araştırmacı.



*GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..*

