

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

**pH'YA BAĞIMLI ÇÖZÜNÜRLÜĞE SAHİP ETKİN
MADDE İÇİN pH'DAN BAĞIMSIZ KONTROLLÜ SALIM
SİSTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE YAPAY SİNİR AĞLARI
İLE OPTİMİZASYONU**

Ecz. Elçin AKTAŞ

**Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

ANKARA

2010

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

**pH'YA BAĞIMLI ÇÖZÜNÜRLÜĞE SAHİP ETKİN
MADDE İÇİN pH'DAN BAĞIMSIZ KONTROLLÜ SALIM
SİSTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE YAPAY SİNİR AĞLARI
İLE OPTİMİZASYONU**

Ecz. Elçin AKTAŞ

**Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Levent ÖNER**

**ORTAK TEZ DANIŞMANI
Öğr. Gör. Hakan EROĞLU**

**ANKARA
2010**

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı :

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Levent ÖNER

(Hacettepe Üniversitesi)



Üye

Prof. Dr. Yılmaz ÇAPAN

(Hacettepe Üniversitesi)



Üye

Doç. Dr. Selma ŞAHİN

(Hacettepe Üniversitesi)



Üye

Doç. Dr. Sevgi TAKKA

(Gazi Üniversitesi)



Üye

Öğr. Gör. Hakan EROĞLU

(Hacettepe Üniversitesi)



ONAY:

Bu tez, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve yönetim kurulunun kararıyla kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Hakan S. ORER

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve desteği ile her zaman yanımda olan, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, saygıdeğer hocam Prof. Dr. Levent ÖNER'e verdiği tüm bu emekler için sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Bilimsel katkılarıyla tez çalışmama destek olan, yol gösteren değerli hocam Öğr. Gör. Hakan EROĞLU'na teşekkür ediyorum.

Çalışmalarım sırasında kullandığım etkin maddenin temininde yardımcı olan Sanovel İlaç Sanayi ve Tic. Ltd. Şti'ye,

YSA uygulamalarında yol gösteren, yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Y. Müh. Ümit KOÇKAN'a, DSC analizlerinin yapılmasına yardımcı olan Doç. Dr. Neslihan GÜRSOY'a, FT-IR analizlerinin yapılmasına olanak tanıyan Prof. Dr. Erhan PALASKA'ya, yine FT-IR çalışmalarının uygulamasında ve sonuçların yorumlanmasında yardımcı olan Ecz. (B.U) Keriman ÖZADALI ve Ecz. Ş.Şeyma SERT'e,

Hem lisans eğitimimde, hem de yüksek lisans tezim boyunca hep yanımda olan, bana destek veren Ecz. Merve GÜNBEYAZ, Ecz. Seren KAYIRAN, Ecz. Süheyla TOPRAK ve Ecz. Yılmaz YAZICI'nın yanı sıra Ecz. (B.U) Huriye DEMİR'e, Ecz. (B.U) Tuğba GÜLSÜN'e, ve Uzm. Bio. Eren AYATA'ya,

İçinde bulunmaktan mutluluk duyduğum Farmasötik Teknoloji bölümünde görev alan değerleri hocalarımdan tümüne, sevgili arkadaşlarıma ve diğer tüm bölüm çalışanlarına,

Tüm eğitim hayatım boyunca olduğu gibi bilim uzmanlığı tez çalışmam sırasında da daima yanımda olan, desteklerini her zaman hissettiğim sevgili aileme,

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNUYORUM.

ÖZET

Aktaş, E. pH'ya Bağımlı Çözünürlüğe Sahip Etkin Madde için pH'dan Bağımsız Kontrollü Salım Sisteminin Geliştirilmesi ve Yapay Sinir Ağları ile Optimizasyonu. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2010. Tez çalışmamızda zayıf bazik bir ilaç olan karvedilol etkin maddesi kullanılmıştır. Etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri; UV spektrumu, FT-IR (Fourier Transform Infrared Spektrofotometresi) spektrumu, DSC (Differential Scanning Calorimetry, Diferansiyel Taramalı Kalorimetre) ve partikül büyüklüğü dağılımı analizleri ile incelenmiştir. Karvedilol ile yapılan miktar tayinleri, validasyon çalışmaları, çözünme deneyleri, çözünürlük çalışmaları ve stabilite testleri için UV (ultraviyole) Spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. Karvedilol zayıf bazik bir ilaç olduğu için pH'ya bağımlı çözünürlüğe sahiptir. Tez çalışmasının amacı pH'ya bağımlı çözünürlüğe sahip karvedilol etkin maddesinin pH'dan bağımsız kontrollü salım sisteminin geliştirilmesidir. Bu amaçla hazırlanan formülasyonlarda farklı oranlarda nötral polimer ve pH'ya bağımlı davranış gösteren anyonik/katyonik polimerler kullanılmıştır. Formülasyonlardaki bağımsız değişkenler; nötral polimer, HPMC(Hidroksipropilmetil Selüloz) K4M ve anyonik polimer, EUDRAGIT™ L100'dür. Formülasyonların çözünme profili 0.1 N HCl (2 saat) - pH 6.8 + %0.5 SLS(2-24 saat) ortamlarında 24 saat izlenmiştir. Formülasyonlarda yer alan değişkenlerin, in-vitro çözünme profillerine etkisinin incelenmesi için yapay sinir ağları uygulamalarından yararlanılmıştır. Yapay sinir ağları kullanılarak elde edilen bulgular yardımıyla, farklı oranlarda HPMC K4M ve EUDRAGIT™ L100 içeren formülasyonlara ait % çözünen karvedilol miktarı tahmin edilmiştir. Çalışma sonucunda karşılaştırılan deneysel ve tahmini çözünme profillerinin f_2 değeri 76.33 bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Karvedilol, zayıf bazik ilaç, pH'dan bağımsız salım sağlayan sistem, yapay sinir ağları.

ABSTRACT

Aktaş, E. Development of pH-independent controlled release system for a drug with pH-dependent solubility and optimization with artificial neural network (ANN). Hacettepe University, Institute of Health Sciences, M. Sc. Thesis In Biopharmaceutics and Pharmacokinetics Programme, Ankara, 2010.

Carvedilol, a weakly basic drug, was used in our thesis study. The physicochemical properties of the drug were investigated by ultraviolet (UV) spectroscopy, Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy, Differential Scanning Calorimetry (DSC) and particle size distribution evaluations. The method used for the quantification of carvedilol in assay, validation, dissolution, solubility and stability studies was selected as UV-spectroscopy. Depending on its weakly basic structure, carvedilol has pH-dependent solubility. The aim of this thesis is to develop pH-independent controlled release system for carvedilol that has pH-dependent solubility. Therefore, prepared formulations were comprised of different amounts neutral polymer and anionic/cationic polymers, that show pH-dependent characteristics. The independent variables of formulations were the amounts of neutral polymer, hydroxypropylmethyl cellulose (HPMC K4M) and anionic polymer EUDRAGITTM L100. Dissolution profiles of formulations were determined in 0.1N HCl (0-2 hours)-pH 6.8+0.5%SLS (2-24 hours) for 24 hours. Artificial Neural Network (ANN) applications were used for investigation of the effects of formulation variables on in-vitro dissolution profiles. The dissolved percentage for carvedilol was predicted by ANN, in case different amounts of HPMC K4M and EUDRAGITTM L100 were incorporated in the formulation. The comparison of the experimental and predicted dissolution profiles for carvedilol resulted in a f2 value of 76.33.

Keywords: Carvedilol, weakly basic drug, pH-independent drug release, artificial neural networks

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xviii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kontrollü Salım Sistemleri	2
2.1.1 Kontrollü Salım Sistemlerinin Üstünlük ve Sakıncaları	2
2.1.2. Oral Kontrollü Salım Sistemleri Salım Mekanizmaları	4
2.1.3. Kontrollü Salım Sistemlerinde Kullanılan Polimerler	6
2.1.4. pH'dan Bağımsız Salım Sağlayan Oral Kontrollü Salım Sağlayan Sistemler	8
2.1.5. İlaç Salım Kinetikleri	12
2.2. Kalp-Damar Sistemi Hastalıkları	13
2.2.1. Kalp-Damar Sistemi Hastalıklarının Tedavisinde Kullanılan İlaçlar	14
2.2.2. Hipertansiyon	14
2.2.3. β -Blokör İlaçlar	17
2.3. Karvedilol	19
2.3.1. Fizikokimyasal Özellikleri	19
2.3.2. Etki Mekanizması	20
2.3.3. Farmakokinetik Özellikler	21
2.3.3.1. Hemen Salım Sağlayan Karvedilol Farmakokinetiği	21

2.3.3.2.	Kontrollü Salım Sağlayan Karvedilol Farmakokinetiği	22
2.3.4.	Piyasa Preparatları	24
2.3.5.	Kullanım Şekli ve Dozu	25
2.3.6.	İlaç Etkileşimleri	25
2.3.7.	Yan Etkileri	25
2.4.	Formülasyonda Kullanılan Yardımcı Maddeler	26
2.4.1.	Hidroksipropilmetil Selüloz	26
2.4.2.	Hidroksipropil Selüloz	27
2.4.3.	Metakrilik Asit Kopolimerleri	28
2.4.4.	Laktoz Monohidrat	30
2.4.5.	Magnezyum Stearat	30
2.5.	Yapay Sinir Ağları	31
2.5.1	Tanımı	31
2.5.2.	Yapay Sinir Ağlarının Üstünlükleri ve Sakıncaları	31
2.5.3.	Yapay Sinir Hücresi	32
2.5.4.	Yapay Sinir Ağlarının Sınıflandırılması	36
2.5.4.1.	Uygulamalarına Göre Yapay Sinir Ağları	37
2.5.4.2.	Yapısal Sınıflandırma	38
2.5.4.2.1.	Tek Tabakalı Yapay Sinir Ağları	38
2.5.4.2.2.	Çok Tabakalı Yapay Sinir Ağları (Multi Layer Perceptron, MLP)	39
2.5.4.3.	Bağlantı Biçimlerine Göre Yapay Sinir Ağları	41
2.5.4.3.1.	İleri Beslemeli (Feed-Forward) Yapay Sinir Ağları	41
2.5.4.3.2.	Geri Beslemeli (Feed-Back) Yapay Sinir Ağları	41
2.5.4.4.	Yapay Sinir Ağlarının Öğrenme Modelleri	42
2.5.4.4.1.	Danışmanlı Öğrenme (Supervised Learning)	42
2.5.4.4.2.	Danışmansız Öğrenme (Unsupervised Learning)	42
2.5.5.	Öğrenme Kuralları	43
2.5.5.1.	Hata Düzeltme Öğrenme Kuralı	43
2.5.5.2.	Perceptron Öğrenme Kuralı	44

2.5.5.3.	Geriye Doğru Yayılım Öğrenme Kuralı (Backpropagation Learning Rule)	45
2.5.5.4.	Diğer Öğrenme Kuralları	46
2.5.6.	Yapay Sinir Ağlarının Uygulama Alanları	48
2.5.6.1.	Genel Uygulama Alanları	48
2.5.6.2.	Farmasötik Alandaki Uygulamaları	48
2.5.6.2.1	Formülasyon Geliştirme Çalışmalarında Yapay Sinir Ağlarının Kullanımı	49
3.	DENEYSEL	52
3.1	Kullanılan Kimyasal Maddeler, Aygıtlar, Malzemeler	52
3.1.1	Kullanılan Kimyasal Maddeler	52
3.1.2	Kullanılan Aygıtlar	53
3.2.	Yöntemler ve Deneyler	54
3.2.1.	Etkin Madde Üzerinde Yapılan İncelemeler	54
3.2.1.1.	UV Spektrumu	54
3.2.1.2.	FT-IR Spektrumu	54
3.2.1.3.	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) ile Analiz	54
3.2.1.4.	Erime Derecesi Tayini	54
3.2.1.5.	Partikül Büyüklüğü Dağılımı Analizi	55
3.2.2.	Karvedilol Miktar Tayini ve Validasyonu	55
3.2.2.1.	Özgüllük (Specificity)	56
3.2.2.2.	Doğrusallık (Linearity)	57
3.2.2.3.	Aralık (Range)	57
3.2.2.4.	Doğruluk (Precision)	57
3.2.2.5.	Kesinlik (Accuracy)	58
3.2.2.6.	Tekrarlanabilirlik (Repeatability)	58
3.2.2.7.	Ara Kesinlik (Intermediate Precision)	58
3.2.2.8.	Tekrar Elde Edilebilirlik (Reproducibility)	59
3.2.2.9.	Saptama Limiti (Limit of Detection, LOD)	59

3.2.2.10.	Tayin Limiti (Limit of Qualification, LOQ)	59
3.2.2.11.	Dayanıklılık (Stability)	60
3.2.3.	Çözünürlük Çalışmaları	60
3.2.4.	Formülasyon Çalışmaları	60
3.2.5.	Çözünme Deneyleri	65
3.2.5.1.	Çözünme Ortamlarının Hazırlanması	65
3.2.5.2.	Çözünme Deneyi Koşulları ve Çözünme Profilleri	65
3.2.6.	Yapay Sinir Ağları Uygulamaları	66
4.	BULGULAR	70
4.1.	Etkin Madde ve Formülasyonlar Üzerinde Yapılan İncelemeler	70
4.1.1.	Karvedilolün UV Spektrumu	70
4.1.2.	FT-IR Spektrumu	71
4.1.3.	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) ile Analiz	75
4.1.4.	Erime Derecesi Tayini	77
4.1.5.	Partikül Büyüklüğü Dağılımı Analizi	77
4.2.	Karvedilol Miktar Tayin Validasyonu	78
4.2.1.	Özgüllük (Seçicilik, Spesifiklik)	78
4.2.2.	Doğrusallık	81
4.2.3.	Aralık	82
4.2.4.	Doğruluk	83
4.2.5.	Tekrarlanabilirlik	84
4.2.6.	Ara Kesinlik	86
4.2.7.	Saptama Sınırı (LOD)	87
4.2.8.	Tayin Sınırı (LOQ)	88
4.2.9.	Dayanıklılık	88
4.3.	Çözünürlük Çalışmaları	89
4.4.	Çözünme Deneyi Sonuçları	90
4.5.	Yapay Sinir Ağı Uygulamasına Ait Sonuçlar	105
4.5.1.	% Çözünen Miktarın Yapay Sinir Ağları ile Tahmini	114

5.	TARTIŞMA	120
5.1.	Etkin Madde Üzerine Yapılan Çalışmalar	120
5.2.	Karvedilolün Miktar Tayini Validasyonu	121
5.3.	Çözünürlük Çalışmaları	124
5.4.	Formülasyon Geliştirme Çalışmaları	124
5.5.	Çözünme Testleri	125
5.6.	Yapay Sinir Ağları Kullanılarak Çözünme Profilinin Tahmini	127
6.	SONUÇ	130
	KAYNAKLAR	132
	EKLER	
	EK I: Özgeçmiş	

SİMGELER ve KISALTMALAR

ADALINE	Adaptive lineer element
ADE	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
BR	Bayesian düzeltme kuralı
C_{maks}	Maksimum plazma konsantrasyonu
CR	Kontrollü salım
CRV	Karvedilol
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetri
E	Epinefrin
EAA	Eğri altında kalan alan
EC	Etil selüloz
EP	Avrupa farmakopesi
FT-IR	Fourier transform infrared spektrofotometre
HPC	Hidroksipropil selüloz
HPMC	Hidroksipropilmetil selüloz
HPMC-AS	Hidroksipropilmetil selüloz - asetat süksinat
HP- β -CD	Hidroksipropil- β -siklodekstrin
IR	Hemen salım
ISA	İntrinsik semptomimetik aktivite
KLUCEL	Hidroksipropil selüloz-ticari isim
LOD	Saptama limiti
LOQ	Tayin limiti
MADALINE	Multiple adaptive lineer element

METHOCEL	Hidroksipropilmetil selüloz-ticari isim
NE	Norepinefrin
PVP	Polivinil alkol
SLS	Sodyum lauril sülfat
SS	Standart sapma
T_{lag}	Gecikme zamanı
t_{maks}	Maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşmak için geçen zaman
VK	Varyasyon katsayısı
YSA	Yapay sinir ağları
λ_{maks}	Maksimum dalga boyu

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 2.1. Konvansiyonel ve kontrollü salım sistemleri için plazma profilleri	3
Şekil 2.2. Kontrollü salım mekanizmaları için bazı örnekler	5
Şekil 2.3. Hidrofilik(a) ve hidrofobik(b) matriksten ilaç salımı	6
Şekil 2.4. Dozaj şeklinin vücuda alınmasının ardından meydana gelen olaylar	9
Şekil 2.5. İnsan ölüm nedenlerinin dünya çapındaki dağılımı	13
Şekil 2.6. Ön hipertansiyon aşamasından hedef organ hasarına ve hastalığın son aşamasına kadar hipertansif kalp-damar hastalıklarının ilerleyişi	16
Şekil 2.7. Karvedilolün kimyasal yapısı	19
Şekil 2.8. Karvedilolün farklı pH değerlerindeki çözünürlüğü. HP- β -CD varlığında ve HP- β -CD içermeyen	20
Şekil 2.9. Karvedilol yapısında yer alan fonksiyonel gruplar	21
Şekil 2.10. Karvedilol R (+) izomerinin plazma konsantrasyon-zaman profili. CR:Kontrollü salım, IR:Hemen salım	23
Şekil 2.11. Karvedilol S (-) izomerinin plazma konsantrasyon-zaman profili. CR:Kontrollü salım, IR:Hemen salım	23
Şekil 2.12. Farklı dozlarda verilen karvedilol kontrollü salım sistemi için, karvedilol S (-) izomerinin plazma konsantrasyon-zaman profili	24
Şekil 2.13. Farklı dozlarda verilen karvedilol kontrollü salım sistemi için, karvedilol R (+) izomerinin plazma konsantrasyon-zaman profili	24
Şekil 2.14. Methocel K100LV için isimlendirme örneği	27
Şekil 2.15. Eudragit polimerlerin gastrointestinal kanalda çözündükleri bölgeler	30

Şekil 2.16.	Biyolojik sinir hücresi (a) ve iki biyolojik sinir hücresi arasındaki sinyal iletimi (b)	32
Şekil 2.17.	Yapay sinir hücresi modeli	33
Şekil 2.18.	YSA'larının çözümlediği problemler: yapısal sınıflandırma (a) kümeleme (b) yaklaşık olarak bulma (c) tahmin etme/kestirim yapma (d) şekil tamamlama (e)	38
Şekil 2.19.	McCulloch - Pitts modeli- tek tabakalı basit algılayıcı (perceptron)	39
Şekil 2.20.	İleri beslemeli yapay sinir ağı	41
Şekil 2.21.	Geri beslemeli yapay sinir ağları	42
Şekil 2.22.	Öğrenme kurallarının bağlantı biçimlerine göre sınıflandırılması	43
Şekil 2.23.	Kohonen öğrenme kuralı	47
Şekil 3.1.	Tablet formülasyonlarına ilişkin üretim akış şeması	64
Şekil 3.2.	Kullanılan yapay sinir ağı uygulamasının özellikleri	66
Şekil 3.3.	Kullanılan yapay sinir ağı modeli	68
Şekil 4.1.	Karvedilol çözeltisinin 0.1 N HCl ortamındaki UV spekturumu	70
Şekil 4.2.	Karvedilol çözeltisinin %0.5 SLS içeren pH 6.8 tamponundaki UV spekturumu	71
Şekil 4.3.	Karvedilole ait FT-IR spektrumu	73
Şekil 4.4.	Karvedilol ve polimer karışımına ait FT-IR spektrumu	74
Şekil 4.5.	Karvedilole ait DSC termogramı	75
Şekil 4.6.	Formülasyonlarda yer alan polimer karışımına ait DSC termogramı	76
Şekil 4.7.	Karvedilol ve formülasyonlarda yer alan polimerlerin birlikte bulunduğu karışıma ait DSC termogramı	76
Şekil 4.8.	Karvedilolün partikül büyüklüğü dağılımı	77
Şekil 4.9.	Karvedilole ait her bir örneğin ortalama partikül büyüklükleri dağılımı	78
Şekil 4.10.	0.1 HCl ortamına ait UV spektrumu	79

Şekil 4.11.	%0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamına ait UV spektrumu	79
Şekil 4.12.	Formülasyonlara giren diğer yardımcı maddelerin 0.1 N HCl ortamındaki UV spektrumu	80
Şekil 4.13.	Formülasyonlara giren diğer yardımcı maddelerin % 0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamındaki UV spektrumu	80
Şekil 4.14.	Karvedilolün 0.1 N HCl ortamındaki kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi	81
Şekil 4.15.	Karvedilolün %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamındaki kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi	82
Şekil 4.16.	Karvedilolün zamana karşı çözünürlük grafiği	89
Şekil 4.17.	CRV-A1 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5 SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili	93
Şekil 4.18.	CRV-A2 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5 SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili	93
Şekil 4.19.	CRV-A3 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili	94
Şekil 4.20.	CRV-A4 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili	94
Şekil 4.21.	CRV-A5 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili	95
Şekil 4.22.	CRV-A6 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili	95
Şekil 4.23.	CRV-A7 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili	96
Şekil 4.24.	CRV-A8 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili	96
Şekil 4.25.	CRV-A9 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili	97
Şekil 4.26.	Karvedilol kontrollü salım sağlayan tablet formülasyonlarının 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5 SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili	98

Şekil 4.27.	240.dk (4.saat) için cevap-yüzey ve kontur grafiği	100
Şekil 4.28.	360.dk (6.saat) için cevap-yüzey ve kontur grafiği	101
Şekil 4.29.	480.dk (8.saat) için cevap-yüzey ve kontur grafiği	102
Şekil 4.30.	600.dk (10.saat) için cevap-yüzey ve kontur grafiği	103
Şekil 4.31.	720.dk (12.saat) için cevap-yüzey ve kontur grafiği	104
Şekil 4.32.	Yapay sınır ağında Bayesian düzeltme öğrenme yöntemiyle elde edilen sonuçlar	110
Şekil 4.33.	240. dk(4.saat) için tahmini ve deneysel sonuçlar için korelasyon grafiği	111
Şekil 4.34.	360.dk(6.saat) için tahmini ve deneysel sonuçlar için korelasyon grafiği	111
Şekil 4.35.	480.dk(8.saat) için tahmini ve deneysel sonuçlar için korelasyon grafiği	112
Şekil 4.36.	600.dk (10. saat) için tahmini ve deneysel sonuçlar için korelasyon grafiği	112
Şekil 4.37.	720. dk (12.saat) için tahmini ve deneysel sonuçlar için korelasyon grafiği	113
Şekil 4.38.	Tüm zaman noktalarını içeren tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği	113
Şekil 4.39.	Karvedilol kontrollü salım sağlayan tablet formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5 SLS (2-24saat) ortamındaki tahmini ve deneysel çözünme profili	119

TABLOLAR

	Sayfa
Tablo 2.1. İlaç salım sistemlerinde yaygın olarak kullanılan polimerler	7
Tablo 2.2. Adrenerjik reseptörlerin sınıflandırması	17
Tablo 2.3. Transfer fonksiyonları	35
Tablo 2.4. Biyolojik sinir hücresi ile yapay sinir hücresinin yapısal bileşenlerinin karşılaştırılması	36
Tablo 2.5. Yapay sinir ağları yöntemi kullanılarak çalışılan farklı dozaj şekilleri	51
Tablo 3.1. Formülasyonlarda yer alan yardımcı maddeler ve fonksiyonları	61
Tablo 3.2. Hazırlanan formülasyonlara ilişkin % içerik	62
Tablo 3.3. Tablo 3.3. Hazırlanan formülasyonların birim formülleri (mg)	63
Tablo 3.4. Çözünme testlerinde kullanılan central composite modeli	67
Tablo 4.1. Karvedilolün 0.1 N HCl ortamındaki doğruluk sonuçları (n=6)	83
Tablo 4.2. Karvedilolün %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamındaki doğruluk sonuçları (n=6)	84
Tablo 4.3. Karvedilolün 0.1 N HCl ortamındaki tekrarlanabilirlik sonuçları (n=10)	85
Tablo 4.4. Karvedilolün %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamındaki tekrarlanabilirlik sonuçları (n=10)	85
Tablo 4.5. Karvedilolün 0.1 N HCl ortamındaki ara kesinlik verileri (n=6)	86
Tablo 4.6. Karvedilolün %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamındaki ara kesinlik verileri (n=6)	87
Tablo 4.7. Karvedilolün 0.1 N HCl ortamındaki dayanıklılık sonuçları	88

Tablo 4.8.	Karvedilolün %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamındaki dayanıklılık sonuçları	88
Tablo 4.9.	Karvedilolün 0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarındaki çözünürlük sonuçları (n=3)	89
Tablo 4.10.	Hazırlanan karvedilol kontrollü salım sağlayan tablet formülasyonlarının ortalama % çözünen miktarları	91
Tablo 4.11.	Formülasyonların 0. derece salımlarına ilişkin r^2 değerleri	105
Tablo 4.12.	Yapay sinir ağında kullanılan ölçütler	106
Tablo 4.13.	Yapay sinir ağı modeline girilen formülasyon değişkenlerinin düzeyleri ve % çözünen verileri	107
Tablo 4.14.	Seçilen bağımsız değişken düzeyleri	114
Tablo 4.15.	Deneysel olarak elde edilen % çözünen karvedilol miktarları	115
Tablo 4.16.	Yapay sinir ağından elde edilen tahmini % çözünen karvedilol miktarları	116
Tablo 4.17.	Deneysel ve tahmini veriler arasındaki % hata değerleri	117
Tablo 4.18.	Deneysel veriler ve yapay sinir ağından elde edilen tahmini veriler	118

1.GİRİŞ

Kontrollü salım sistemlerinin; ilacın plazma konsantrasyonundaki dalgalanmaları azaltması, yan etki görülme olasılığını düşürmesi, doz sıklığını azaltıp hasta uyuncunu arttırması gibi pek çok üstünlüğü söz konusudur. Ancak karmaşık formülasyonları ve üretim teknikleri nedeniyle hazırlanmaları ve piyasaya sunulmaları kolay değildir. pH'dan bağımsız salım sağlayan kontrollü salım sistemlerinin geliştirilmesi ise özellikle pH'ya bağımlı çözünürlüğe sahip zayıf asidik/bazik ilaçlarla çalışıldığında oldukça güçtür. Zayıf asidik/bazik ilacın pH'dan bağımsız kontrollü salım sağlayan sistemlerin geliştirilmesi için formülasyonlarında ek yardımcı maddelere gereksinim duyulmaktadır. Bu amaçla genellikle pH'ya bağımlı davranış gösteren anyonik/katyonik polimerlerden veya tamponlayıcı ajanlardan yararlanılmaktadır. Bu da pH'dan bağımsız kontrollü salım sağlayan formülasyonların daha karmaşık hale gelmesine neden olmakta ve elde edilecek çözünme profilinin tahmin edilmesini daha da zorlaştırmaktadır. Farklı formülasyon içerikleri ile elde edilecek çözünme profillerinin tahmini için pek çok istatistiksel yaklaşım söz konusudur. Son yıllarda bu amaçla doğrusal olmayan, karmaşık problemlerin çözümünde yapay sinir ağları (YSA) başarıyla kullanılmaktadır.

Bu tez çalışmasında pH'ya bağımlı çözünürlüğe sahip, zayıf bazik bir ilaç olan karvedilolün pH'dan bağımsız kontrollü salım sağlayan sisteminin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla formülasyonlarda pH'ya bağımlı davranış gösteren farklı polimerler kullanılmıştır. İlacın çözünme profilini en fazla etkileyen formülasyon değişkenleri belirlenerek, bu değişkenleri farklı düzeylerde içeren formülasyonlar hazırlanmış ve çözünme testleri gerçekleştirilmiştir. Seçilen değişkenlerin farklı düzeylerinde elde edilecek çözünme profillerinin tahmini için yapay sinir ağları kullanılmıştır. Elde edilen deneysel ve tahmini çözünme profilleri karşılaştırılarak yapay sinir ağının tahmin edebilme yeteneği incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kontrollü Salım Sistemleri

Kontrollü salım sistemleri; sentetik veya doğal polimerlerle ilacın kombine edilmesi ile oluşan, belirlenmiş bir zaman dilimi boyunca önceden tasarlanmış şekilde ve hızda ilaç salımını sağlayan sistemlerdir (1). Hedeflenen salım süresi formülasyona ve uygulamaya göre değişebilmektedir. İlacın salım süresi 24 saat (Toprol XL®) olabileceği gibi, 1 ay (Lupron Depot®) veya 5 yıl (Norplant®) gibi daha uzun süreler de olabilir.

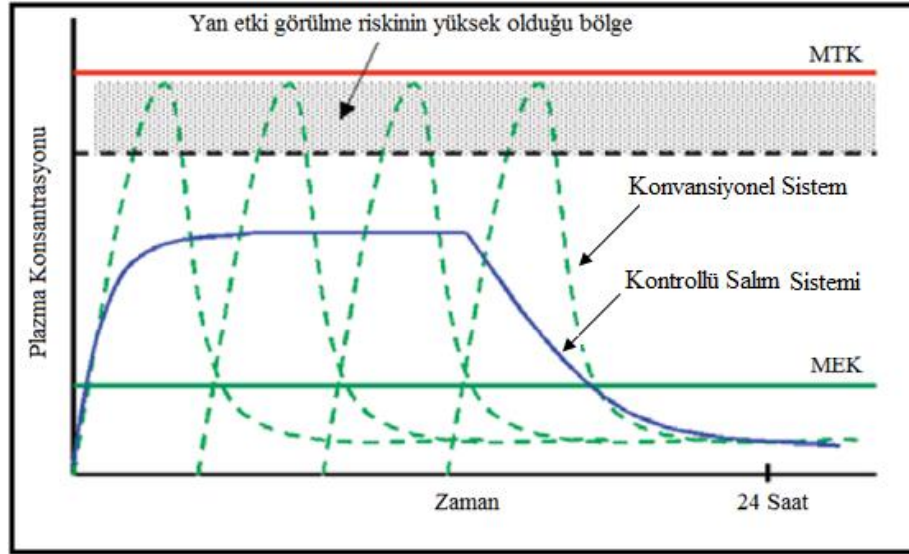
2.1.1. Kontrollü Salım Sistemlerinin Üstünlük ve Sakıncaları

Kontrollü salım sistemlerinin hemen salım sağlayan sistemlere oranla pek çok üstünlüğü söz konusudur (2,3). Bu üstünlükler;

- Plazma konsantrasyonundaki dalgalanmaları azaltması (Şekil 2.1) ve tedavi konsantrasyonundaki ilaç düzeyini belirlenen süre boyunca koruması,
- Dar bir aralıkta tedavi konsantrasyonunu sabit tuttuğu için yan etki görülme riskini en aza indirmesi,
- Doz sıklığını azalttığı için hasta uyuncunu arttırması,
- Hemen salım sağlayan sistemlere oranla toplam tedavi süresini ve giderlerini azalttığı için sağlık harcamalarını azaltmasıdır.

Sahip olduğu üstünlüklerin yanı sıra yüksek maliyetleri, doz boşalma riski taşımaları, önceden kestirilemez sistemler olmaları ve her madde için uygun olmamaları gibi bir takım sakıncalara da sahip sistemlerdir.

Kontrollü salım sağlayan ürünlerin geliştirilmesinde; ilacın fizikokimyasal özellikleri, kullanım yolu, hedeflenen doku/organ, akut yada kronik tedavide kullanılması, hastalığın cinsi ve hedeflenen hasta popülasyonu gibi pek çok değişken dikkate alınmalıdır.



Şekil 2.1. Konvansiyonel ve kontrollü salım sistemleri için plazma profilleri (2).

Tedavide kullanılacak her ilaç kontrollü salım sistemine uygun olmayabilir. Kontrollü salım sistemine uygun olmayan ilaç özellikleri şu şekilde sıralanabilir (4);

- Uzun eliminasyon yarılanma ömrü ($t_{1/2} > 8$ saat)
- Kısa eliminasyon yarılanma ömrü ($t_{1/2} < 2$ saat)
- Dar terapötik aralık
- Yüksek ilaç dozu
- Düşük absorpsiyon
- Aktif absorpsiyon
- Düşük veya yavaş çözünürlük
- Yüksek oranda ilk geçiş etkisidir.

Yarılanma ömrü 2 saatten kısa olan ilaç ayrıca yüksek dozda da verilecekse, kontrollü salım sisteminin terapötik konsantrasyonu uzun süre devam ettirilebilmesi için çok yüksek dozda ilaç içermesi gerekmektedir. Yarılanma ömrü 8 saatten uzun olan ilaçların kontrollü salım sağlayan uygulamaları, ilacın uzun süre vücutta kalmalarına neden olabileceğinden sakınca oluşturur.

2.1.2. Oral Kontrollü Salım Sistemleri Salım Mekanizmaları

Kontrollü salım sistemlerinin oral verilmesi; kullanım kolaylığı, hasta uyuncu, sterilite zorunluluğu olmaması ve geliştirilebilir esnek sistemler olması nedeniyle yaygın bir uygulamadır. Oral kontrollü ilaç salımı için pek çok farklı sistem geliştirilmiştir (2,5). Bu sistemlere örnek olarak;

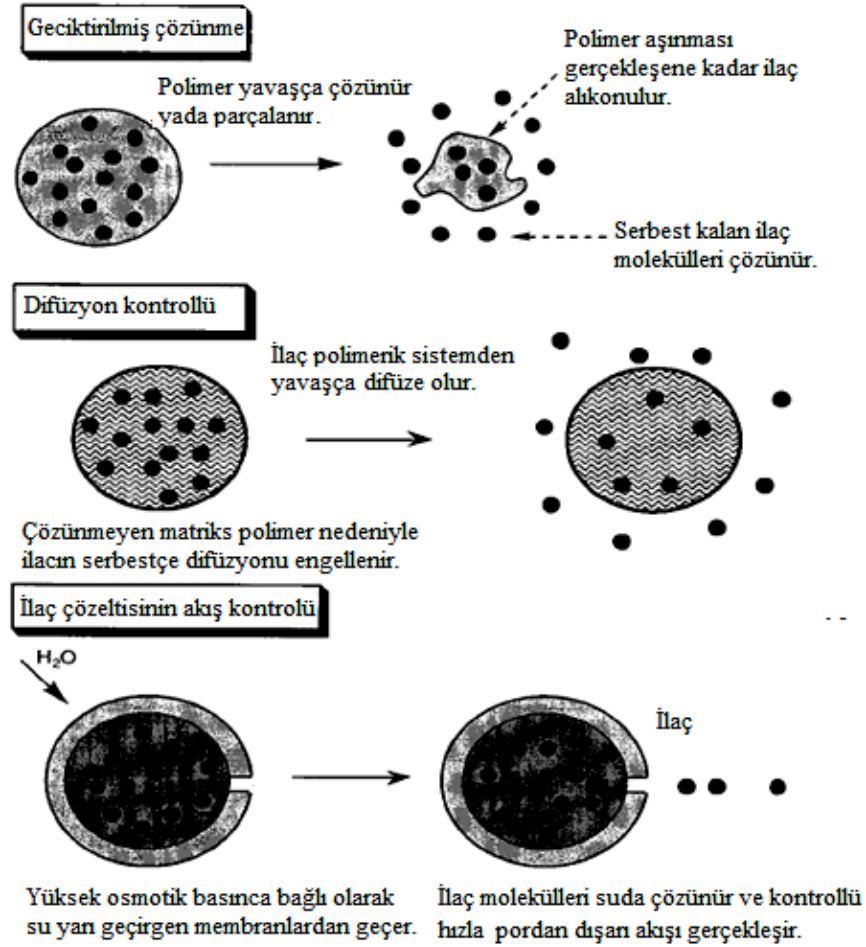
- Farklı polimerler kullanılarak tablet, boncuk ve pelletlerin kaplanması ile geliştirilen sistemler (kaplama teknolojisi),
- Şişebilen veya şişmeyen polimerlerle hazırlanan matriks sistemler,
- Yavaşça erozyona uğrayan/parçalanan sistemler,
- Osmotik kontrollü sistemler verilebilir.

Bunlardan birkaçı Şekil 2.2’de şematize edilmiştir (5). İlacın çözünme hızının yavaşlatıldığı sistemlerde; ilaç molekülü, ilaç salım sisteminin etrafında yer alan sıvıya maruz kalmaktadır. Çözünme hızını yavaşlatıcı etki, polimer kaplama ile veya ilaçtan daha yavaş çözünen matriks sistemlerle sağlanabilir.

Difüzyon kontrollü sistemlerde ilaç moleküllerinin difüzyonu; çözünmeyen polimer matriks ile azaltılmış olup ilacın sistemden çıkabilmesi için matriks içindeki kıvrımlı yolları aşması gerekmektedir (5). Hidrofilik polimerlerin kullanımı, kontrollü salım sağlayan oral ilaçlarda sıklıkla tercih edilen bir yoldur. İlaç salımını geciktirme mekanizması matriksin sulu sıvılarda hızla jel tabakası oluşturmaya bağlıdır. İlaç matriksten su dolu porlar aracılığıyla difüzyonla dışarı çıkmaktadır (6). Polimerik olmayan yardımcı maddelerin polimer matrikse eklenmesinin salım hızını artırıcı etkisi, matriksin suda çözünme özelliğini arttırması esasına bağlıdır. Salım hızındaki bu artış, yardımcı madde suda çözünüyorsa (örneğin laktoz) gözlenebilmektedir. Suda çözünmeyen trikalsiyum fosfat gibi maddelerin çözünürlüğü artırıcı etkisi yoktur.

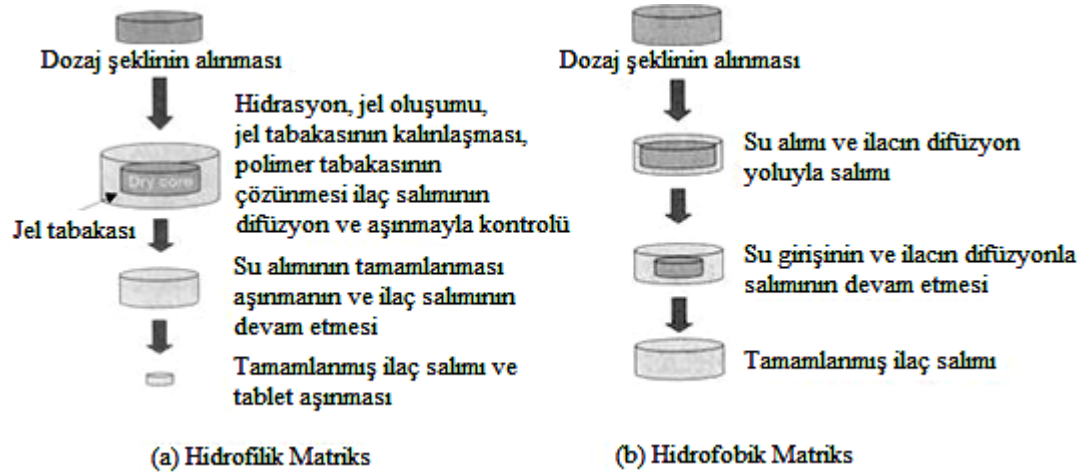
Kontrollü salım sağlayan matriks sistemlerde ilaç salımı Şekil 2.3’de gösterildiği gibi sadece difüzyon kontrollü olabileceği gibi hem difüzyon hem de aşınma (erozyon) kontrollü de olabilir. Bu farklılık kontrollü salım matriksinde kullanılan polimerin hidrofilik ya da hidrofobik olmasından kaynaklanır (7). Hidrofilik polimer içeren dozaj şeklinin vücuda alınmasının ardından sıvı girişine

bağlı olarak polimer şişer ve sistemin yüzeyinde jel oluşumu gözlenir, zamanla hidrofilik polimer çözünmeye başlar böylelikle jel yapısından kopmalar meydana gelir, bu şekilde sistemden ilaç salımı aşınma ve difüzyon yolu ile gerçekleşir. Hidrofobik polimer kullanılan sistemlerde sıvının sisteme girmesinin ardından polimer şişer ancak çözünmez. Bu nedenle matrikste parçalanma/aşınma meydana gelmez, bu tip sistemlerde ilaç salımı sadece difüzyon kontrollü olarak gerçekleşir.



Şekil 2.2. Kontrollü salım mekanizmaları için bazı örnekler (5).

Osmotik sistemler çözülmüş ilacın sistemden çıkışını kontrol eden sistemlerdir; yarı geçirgen polimer membran, ilaç çözeltisi için basınçlı bir hazne oluşturur (5). Bu basınç, ilaç çözeltisinin sistemden dışarı çıkmasını sağlar. Mikrometre boyutundaki por veya porlar sayesinde sistemden dışarı çıkış hızının kontrolü sağlanır.



Şekil 2.3. Hidrofilik (a) ve hidrofobik (b) matriksten ilaç salımı (7).

2.1.3. Kontrollü Salım Sistemlerinde Kullanılan Polimerler

Polimerler, monomer adı verilen moleküllerin tekrarından oluşmuştur (8). Çubuk, sarmal, ağ veya elek gibi pek çok farklı şekilde olabilirler. Polimer seçimi, doğaları gereği çeşitli yapılara sahip olmaları nedeniyle zorlayıcı bir konudur (9). İstenen kimyasal, yüzeyler arası, mekanik ve biyolojik işlevleri göstermesi için polimerin tüm yüzey ve küme özelliklerinin anlaşılması gerekmektedir. Küme özellikleri; polimerin geçirgenliği, difüzyon özellikleri ve parçalanma hızı gibi özellikleri içerir (10). Bu özellikler implant gibi uzun süreli uygulamalarda önemlidir. Polimer seçimi polimerin fizikokimyasal özelliklerine ek olarak biyokimyasal karakterizasyonlarına ve güvenilirliğinin kanıtı olan, özgün, klinik öncesi testlere bağlıdır (8).

İlaç salım sistemlerinde kullanılan polimerler sentetik ya da doğal kaynaklı olabilir (9). Sentetik polimerler biyoparçalanmayan ve biyoparçalanmayan polimerler olarak ikiye ayrılabilir. İlaç salım sistemlerinde yaygın olarak kullanılan polimerler Tablo 2.1’de listelenmiştir.

Tablo 2.1. İlaç salım sistemlerinde yaygın olarak kullanılan polimerler (8).

Sınıflandırma	Polimer
Doğal Polimerler	
Protein temelli polimerler	Kollajen, albumin, jelatin
Polisakkaritler	Agaroz, aljinat, karragenan, hyaluronik asit, dekstran, kitosan, siklodekstrinler
Sentetik Polimerler	
Biyoparçalanabilir Polimerler	
Poliesterler	Poli(laktik asit), Poli(glikolik asit), Poli(hidroksi bütirat), Poli(ϵ -kaprolakton), Poli(β -malik asit), Poli(dioksanon)
Polianhidritler	Poli(sebakik asit), Poli(adipik asit), Poli(terftalik asit) ve çeşitli kopolimerler
Poliamitler	Poli(imino karbonat), Poliaminoasitler
Fosfor temelli polimerler	Fosfonatlar, polifosfonatlar, polifosfazenler
Diğerleri	Poli(siyano akrilat), poliüretan, poliorto esterler, polidihidropiranlar, poliasetallar
Biyoparçalanmayan Polimerler	
Selüloz türevleri	Karboksimetil selüloz, etil selüloz, selüloz asetat, selüloz asetat propiyonat, hidroksipropilmetil selüloz
Silikonlar	Polidimetilsiloksan, koloidal silika
Akrilik polimerler	Polimetakrilatlar, poli(metil metakrilat), poli hidro(etil metakrilat)
Diğerleri	Polivinil pirolidon, etil vinil asetat, poloksamer, poloksaminler

Doğal polimerler sıklıkla veya genellikle biyolojik olarak parçalanır (10). En önemli sakınca tekrarlanabilir üretim yöntemlerinin geliştirilememesidir, çünkü karmaşık kimyasal yapıları modifikasyona ve saflaştırılma zorluğuna neden olur. Ek olarak yaşayan organizma içeren (bitki, kabuklu deniz canlısı) ‘biyohazırlama’

yöntemleri nedeniyle seriler arası belirgin değişkenlik gösterebilirler. Tüm bu sakıncalarına rağmen doğal polimerler mükemmel bir biyoyeçimlilik gösterirler (9). Biyolojik olarak parçalanma doğal bir süreçtir. Parçalanma; doğada bulunan organik kimyasalların basit bileşenlere dönüştürülmesi, mineralize edilmesi ve karbon, nitrojen, sülfür döngüsü gibi elemental döngülere geri dağıtımıdır. Biyoparçalanma sadece biyosferde meydana gelir, mikroorganizmalar biyodegradasyon sürecinde esas rolü oynar (11).

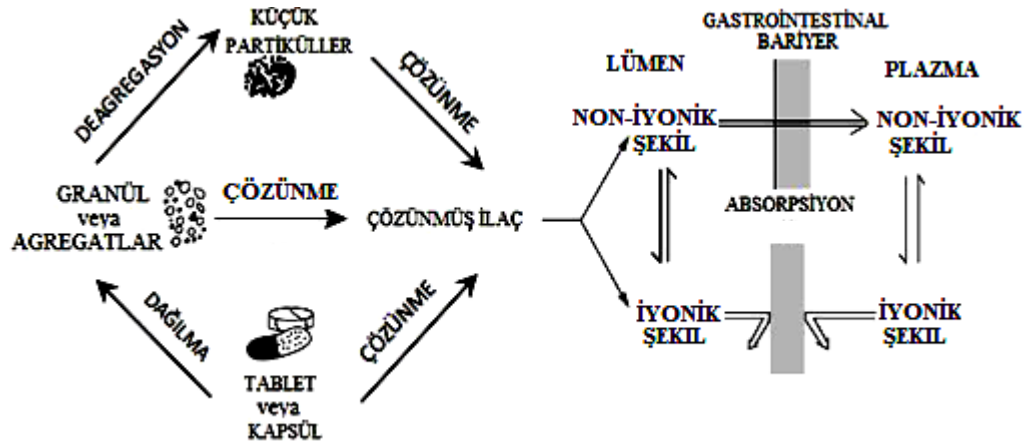
2.1.4. pH'dan Bağımsız Salım Sağlayan Oral Kontrollü Salım Sistemleri

Zayıf asidik ve zayıf bazik ilaçlar pH'ya bağımlı çözünürlük gösterir. Tez kapsamında geliştirilecek olan kontrollü salım sisteminde, zayıf bazik ilaç olan karvedilol etkin maddesinin pH'dan bağımsız salım sağlayan sisteminin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Kontrollü salım sistemlerinde ideal olan dozaj şeklinden ilaç salımının gastrointestinal kanal koşullarından bağımsız olması, dolayısıyla da pH'dan bağımsız olmasıdır (12). Çözünürlüğü pH'dan bağımsız olan ilaçlar için suda çözünmeyen polimerlerle kolaylıkla pH'dan bağımsız salım sağlayan sistemler geliştirilebilir. Ancak çoğu ilaç iyonize olma özelliğine sahiptir, zayıf asidik/zayıf bazik olan bu ilaçlar veya tuzları pH'ya bağımlı çözünürlük gösterir. Bu tip ilaçlar için pH'dan bağımsız ilaç salımı sağlayan sistemlerin geliştirilmesi daha karmaşıktır ve formülasyonlarında pH'dan bağımsız ilaç salımını sağlamak için ek yardımcı maddelere gereksinim duyulmaktadır. Kontrollü salım sistemi geliştirilen ilacın, pH'ya bağımlı çözünürlük göstermesi, ilacın in-vivo yanıtında ve biyoyararlanımında çeşitli değişkenliklere neden olmaktadır. Gastrointestinal sistemde pH'nın dereceli olarak değişmesinden dolayı zayıf asidik ve zayıf bazik ilaç gastrointestinal sistemin farklı bölgelerinde, farklı çözünme davranışı gösterecek, bu da ilaç absorpsiyonunda ve biyoyararlanımında birey-içi ve bireyler-arası değişkenliğe neden olacaktır. Tüm bu nedenlerden dolayı pH'dan bağımsız kontrollü salım sağlayan sistemler daha çok tahmin edilebilir yanıt, dolayısıyla tedavi sağladığı için tercih edilmektedir.

Bilindiği gibi ilaçlar iyonize halde çözünür, non-iyonize halde absorbe olur. Dozaj şeklinin vücuda alınmasının ardından gerçekleşen olaylar Şekil 2.4'te özetlenmiştir. pH'ya bağlı olarak zayıf asidik ilaç mide ortamında non-iyonik şekilde

olacağı için bu bölgeden absorpsiyona uğrar, ancak asidik olan bu bölgede çözünmeleri sınırlıdır (13). Zayıf bazik ilaçlar ise mide ortamında iyonize olarak çözünür, ancak iyonize halde olduğu için mideden absorpsiyon oranı düşüktür. Zayıf asidik ve bazik ilaçlar bu şekilde pH'ya bağlı davranış gösterse de bağırsağın sahip olduğu geniş yüzey alanı ve yüksek orandaki kanlaması nedeniyle ana absorpsiyon bölgesi ince bağırsaktır.



Şekil 2.4. Dozaj şeklinin vücuda alınmasının ardından meydana gelen olaylar (14)

Zayıf asidik ilaçların pH'ya bağımlı olan çözünürlük sorununun aşılması için literatürde az sayıda çalışma yer almaktadır. Zayıf asidik ilaçların pH'dan bağımsız salım sağlayan sistemlerinin geliştirilmesinde kullanılan yöntemler;

- Formülasyonlarında nötral polimerler ile sadece asidik pH değerlerine sahip ortamlarda çözünen polimerlerin kombine edilerek kullanılması
- Formülasyonlarına pH değiştirici/tamponlayıcı yardımcı maddelerin eklenmesidir.

Bu çalışmalarda bahsedilen yaklaşımlardan ilki nötral polimer ile sadece asidik pH'da çözünen polimer karışımları kullanılarak hazırlanan sistemlerdir. Asidik ortamda çözünür polimer olarak EUDRAGIT™ E tipi polimerler sıklıkla kullanılır (15). EUDRAGIT™ E sahip olduğu katyonik gruplar nedeniyle asidik ortamlarda çözünürken, bazik ortamlarda çözünmez. Dolayısıyla zayıf asidik ilacın

az çözündüğü asidik pH'larda EUDRAGIT™ E çözünerek bu pH'da düşük olan ilaç çözünürlüğünü dengeleyecek ve ilacın salım hızını artıracaktır.

Zayıf asidik ilaçların pH'dan bağımsız salım sağlayan sistemlerinin geliştirilmesi için diğer bir yaklaşım ise formülasyonlarına pH değiştirici/tamponlayıcı yardımcı maddelerin eklenmesidir. Bu amaçla magnezyum oksit, sodyum sitrat, sodyum karbonat gibi bazik yardımcı maddeler kullanılır (12). Formülasyona eklenen bazik madde mide ortamında çözünerek dozaj şeklinin etrafındaki sıvının pH'sını artıracak, artan pH da zayıf asidik maddenin midedeki düşük çözünürlüğünü artırarak, pH'dan bağımsız salım sistemlerinin geliştirilmesini sağlayacaktır.

Literatürde zayıf asidik ilaçlara oranla, zayıf bazik ilaçların pH'ya bağımlı çözünürlük problemlerini aşmak amacıyla yapılan çalışma sayısı daha fazladır. Zayıf bazik ilaçların pH'dan bağımsız salım sağlayan sistemlerinin geliştirilmesinde kullanılan yöntemler ise şu şekilde sıralanabilir;

- Enterik polimerler ile nötral polimerlerin formülasyonlarda birlikte kullanılması,
- Aljinatlar gibi yüksek pH'larda çok çözünür maddeler ile nötral polimerlerin kombine kullanılması,
- Formülasyonlarına pH değiştirici/tamponlayıcı yardımcı maddelerin eklenmesi,
- Suda çözünmeyen ve şişmeyen polimerler ile suda çözünür polimerlerin birlikte kullanılması ile geliştirilen sistemler.

Bu anlamda yapılan çalışmalardaki yaklaşımlardan ilki enterik polimer ve uzatılmış salım sağlayan polimer karışımlarının kullanılmasıdır. Enterik polimer olarak sıklıkla anyonik yapıya sahip Eudragit™ L ve S tipi polimerler kullanılmaktadır (16-18). HPMC ve Eudragit™ L içeren pH'dan bağımsız salım sağlayan formülasyon içeriği 1990 yılında patentlenmiştir (19). Bu sistemlerde, zayıf bazik ilacın çözündüğü asidik ortamda enterik polimer olan Eudragit™ L çözünmez ve matriksin bir parçası olarak işlev görerek ilaç salımının geciktirilmesini sağlar. Bağırsak ortamı gibi yüksek pH'ya sahip ortamlarda ise enterik polimer çözünür ve bu bölgede az çözünen ilacın çözünmesini dolayısıyla da permeabilitesini artırır.

HPMC-Asetat Süksinat (HPMC-AS) da bir enterik polimer olup pH 6.0'ın üzerindeki pH değerlerinde çözünür. Eudragit tipi enterik polimerlerle aynı amaçlarla zayıf bazik ilaçların pH'dan bağımsız salım sistemlerinin geliştirilmesi için formülasyonlarda kullanılır (20).

Aljinatlar da zayıf bazik ilaçların pH'dan bağımsız salım sisteminin geliştirilmesi için kullanılan maddelerden biridir, enterik polimerlerle aynı amaçla formülasyonlara eklenmektedir (16,21). Aljinatlar bazik pH'larda çok çözünür özelliğe sahiptir, bu özelliği sayesinde zayıf bazik ilaçların az çözündüğü bağırsak ortamındaki çözünürlüğünü artırır ve pH'dan bağımsız salım sisteminin geliştirilmesine katkı sağlar. Aljinat (anyonik polimer) ve HPMC (non-iyonik polimer) içeren formülasyonlar 1988 yılında patentlenmiştir (22). Düşük pH değerlerinde sodyum aljinat, jel tabakası oluşturarak aljinik asit şeklinde çöker, bu da sistemi aşınmaya karşı korur (23). Yüksek pH değerlerinde aljinat, çözünen tuzuna dönüşür, jel tabakasının geçirgenlik derecesinin artması ile zayıf bazik ilacın düşük çözünürlüğünü dengeler. Böylelikle farklı pH'larda sabit ilaç salımı sağlanır.

Eudragit ve aljinat gibi enterik/alkali pH'larda çözünür maddelerin zayıf bazik ilaçların formülasyonuna girmesinin yanında pH değiştirici asidik yardımcı maddelerin kullanılması da zayıf bazik ilaçların pH'dan bağımsız sistemlerinin geliştirilmesinde kullanılan diğer bir yaklaşımdır (21,23,24). Bu amaçla adipik asit, fumarik asit, tartarik asit gibi asidik yardımcı maddeler kullanılmaktadır. Kullanılan asidik yardımcı maddeler bağırsak ortamında çözündüğünde dozaj şeklinin etrafında yer alan sıvının pH'sını düşürür. Böylelikle zayıf bazik ilacın bağırsak ortamında düşük olan çözünme hızı dengelenerek pH'dan bağımsız salım sağlanır.

Suda çözünmeyen ve şişmeyen etil selüloz (EC) tipi polimerler ve HPMC gibi suda çözünür polimer karışımları (23,25), ksantan zamkı ve karbopol gibi anyonik polimerler ile HPMC gibi non-iyonik polimerler kombine edilerek (24) geliştirilen sistemler de zayıf bazik ilaçların pH'dan bağımsız salımını sağlamak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır.

Geliştirilen formülasyonların çözünme testlerinde, pH'dan bağımsız salım sağlandığının in-vitro olarak gösterilmesi için farklı yaklaşımlar söz konusudur. Bu yaklaşımlar şu şekilde sıralanabilir;

- Mide ortamını yansıtan asidik pH'larda ve bağırsak ortamını yansıtan bazik pH'larda hedeflenen salım süresi boyunca ayrı ayrı yapılan çözünme testleri ile elde edilen profillerin karşılaştırılması (21,23,24,26). Bu profillerin karşılaştırılmasında sıklıkla modelden bağımsız bir yöntem olan f_2 testi kullanılmaktadır.

- Dozaj şeklinin mide ortamını yansıtan asidik pH'da 1-2 saat, ardından bağırsak ortamını yansıtan bazik pH'da hedeflenen salım süresi boyunca çözünme profillerinin izlenmesi (20,27).

- Zayıf bazik maddelerin pH'dan bağımsız salım sağlayan sistemlerinin incelenmesinde mide ortamını yansıtan asidik pH'nın ardından (1-2 saat) bağırsak ortamını yansıtan bazik pH'lara geçildiğinde maddenin ıslanabilirliğini arttırmak için çözünme ortamına yüzey etkin madde eklenmesi de çalışmalarda yer almaktadır (16,18).

Tez kapsamında geliştirilen formülasyonların mide ortamını yansıtan 0.1 N HCl ortamında 2 saat, ardından bağırsak ortamını yansıtan pH 6.8 ortamında (2-24 saat) 24 saat boyunca çözünme testleri gerçekleştirilmiştir. Bağırsak ortamını yansıtan pH 6.8 ortamına yüzey etkin madde olarak %0.5 oranında sodyum lauril sülfat (SLS) eklenmiştir.

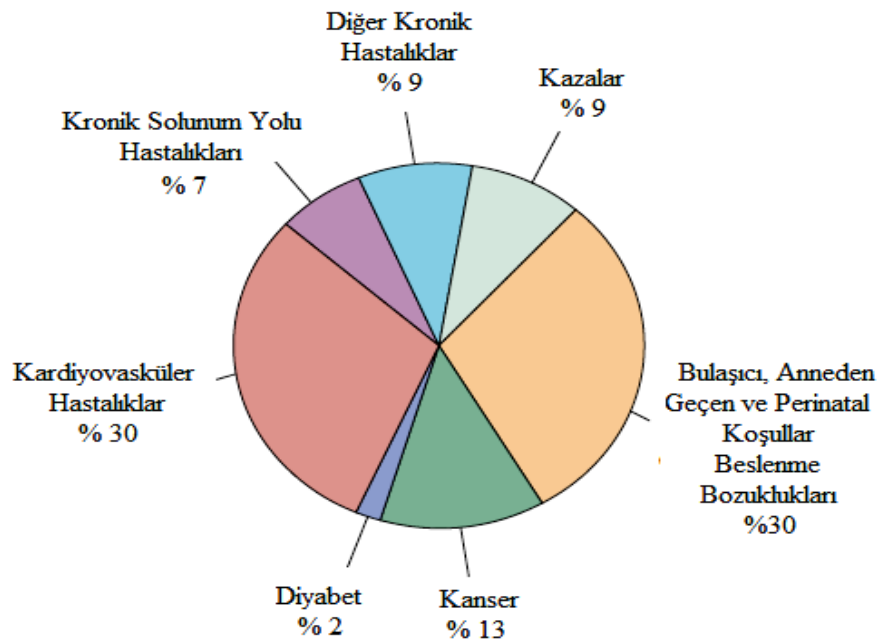
2.1.5. İlaç Salım Kinetikleri

Matriksten ilaç salımı ile ilgili önemli matematik modellerden seçilmiş pek çok kinetik model bulunmaktadır (28). Bu modeller başlıca 0. dereceden salım, 1.dereceden salım, Hixon Crowel, Higuchi, Langenbucher, Hopfenberg, RRSBW (Rosin-Rammler-Sperling-Bennett-Weibull) modelleridir (28,29). İlaç salımı için matematiksel bir eşitlik belirlemek pek çok fiziksel ve fizikokimyasal karakteristiğın dikkate alınması gerekliliğinden dolayı zor bir işlemdir. Dikkate alınması gereken hususlar; polimer matriks tipi, polimerin şişme mekanizması, ilacın sistem dışına difüzyonu, polimer çözünmesi, üç-boyutlu sistemlerde aksılar ve radial taşınma (transport), konsantrasyon, matriks boyutların değışmesi, porozite, içerik ve benzeri etkenlerdir. Salımı etkileyebilecek tüm bu etkenler ilaç salım kinetiğinin belirlenmesini zorlaştırır (28-30).

2.2. Kalp-Damar Sistemi Hastalıkları

Kalp-damar sistemi hastalıkları kalp ve kan damarları (arter ve venler) üzerinde etkili olan hastalıklar bütünüdür. Koroner kalp hastalıkları, kalp krizi, konjestif kalp yetmezliği, anjina, kalp kapakçığı hastalıkları, ateroskleroz gibi arteriyel hastalıklar, aritmi ve felç gibi kalp ve dolaşım sistemini etkileyen hastalıklardır. Her geçen yıl kardiyovasküler nedenlerle ölüm sayısı artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) verilerine göre (31) dünyada en çok ölüme neden olan hastalık grubu kalp-damar sistemi hastalıklarıdır, her yıl 17.1 milyon insan kalp-damar sistemi hastalıkları nedeniyle yaşamını yitirmektedir. Sigara kullanımı, sağlıksız beslenme, yüksek kan basıncı, hiperkolesterolemi, hipertrigliseridemi, diabetes mellitus; kalp krizi ve felç riskini arttırmaktadır. İlaçla tedavi öncesinde kalp-damar sistemi hastalıklarından korunmak amacıyla sağlıklı beslenme, egzersiz yapılması ve sigara-alkol kullanımının bırakılması önerilmektedir.

Dünya genelinde kalp-damar sistemi hastalıkları nedeniyle ölüm oranı oldukça yüksektir. İnsan ölüm nedenlerinin dünya çapındaki dağılımı Şekil 2.5'te gösterilmiştir. Bu verilere göre ölümlerin %30'u kalp-damar sistemi hastalıklarından kaynaklanmaktadır.



Şekil 2.5. İnsan ölüm nedenlerinin dünya çapındaki dağılımı (32).

2.2.1. Kalp-Damar Sistemi Hastalıklarının Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

Kalp-damar sistemi hastalıklarının tedavisinde pek çok farklı sınıftan ilaç kullanılmaktadır (33). Bunlar;

1. Antihipertansif ilaçlar
2. Periferik vazodilatörler
3. Antianjinal ilaçlar
4. Antiaritmik ilaçlar
5. Beta adrenerjik reseptör blokörleri
6. Hipolipidemik ilaçlar
7. Antitrombolitik ilaçlar
 - a. Antikoagülan ilaçlar
 - b. Antitrombotik ilaçlar
 - c. Trombolitik (fibrinolitik) ilaçlar
8. Hemostatik ilaçlar ve replasman için kullanılan hemostatik kan ürünleri
9. Plazma hacmini genişleten çözeltiler, kan ve plazma ürünleri

2.2.2. Hipertansiyon

Hipertansiyon kan basıncının devamlı yükselmesi ile kendini gösteren bir kalp-damar sistemi hastalığıdır (33). Hipertansiyon, zamanla arterlerde geri dönüşümsüz hasarlara yol açarak ciddi kardiyovasküler rahatsızlıklara neden olur. Primer (esansiyel) ve sekonder hipertansiyon olmak üzere 2 tip hipertansiyon vardır. Esansiyel hipertansiyon nedeni belli olmayan hipertansiyon olup, olguların %95' ini oluşturur. Kalan %5'ini oluşturan sekonder hipertansiyon ise bazı böbrek hastalıkları, hormonal bozukluklar ve renovasküler hastalıklar gibi kan basıncını yükselttiği bilinen hastalıklardan kaynaklı hipertansiyondur. Esansiyel hipertansiyon uzun yıllar belirtsiz olarak devam eder, tek belirtisi sistolik ve diastolik basıncın yükselmesidir. Hastalığının farkında olmayan veya ilaç kullanmayan hipertansiyon hastalarında tekrarlanan ölçümlerde sistolik basıncı 140 mm Hg, diastolik kan basıncının 90 mm Hg' den yüksektir, bu değerler hastalığın teşhisinde de kullanılır (34). Belirti vermemesi ve hasta açısından herhangi bir rahatsızlığın hissedilmemesi nedeniyle tanısı ve hastanın tedaviye tam uyumunun sağlanması oldukça zordur. Bu nedenle

hastalığın ilerlediği dönemde tedaviye başlamamak hastalığın sinsice ilerlemesine neden olmaktadır. Uzun yıllar bu şekilde ilerleyen hastalık arterlere ve kalbe zarar vererek geri dönüşümsüz hasarlar yaratabilir. İlaçla tedaviye başlamadan önce veya tedaviyle birlikte günlük tuz alımı azaltılması, alkol ve sigara kullanımının bırakılması, egzersiz yapılması gibi yardımcı yollara başvurulmalıdır.

Hipertansiyon tedavisinde pek çok farklı sınıftan ilaçlar kullanılabilir. Bu ilaçların başlıcaları şu şekilde listelenebilir; (33)

- Diüretikler
- Adrenerjik reseptör blokörleri
- Beta adrenerjik reseptör blokörleri
- Alfa adrenerjik reseptör blokörleri
- Adrenerjik nöron blokörleri
- Santral etkili sempatotitik ilaçlar
- Kalsiyum kanal blokörleri
- Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ADE inhibitörleri)
- Doğrudan etkili vazodilatörler ve potasyum kanal açıcı ilaçlar

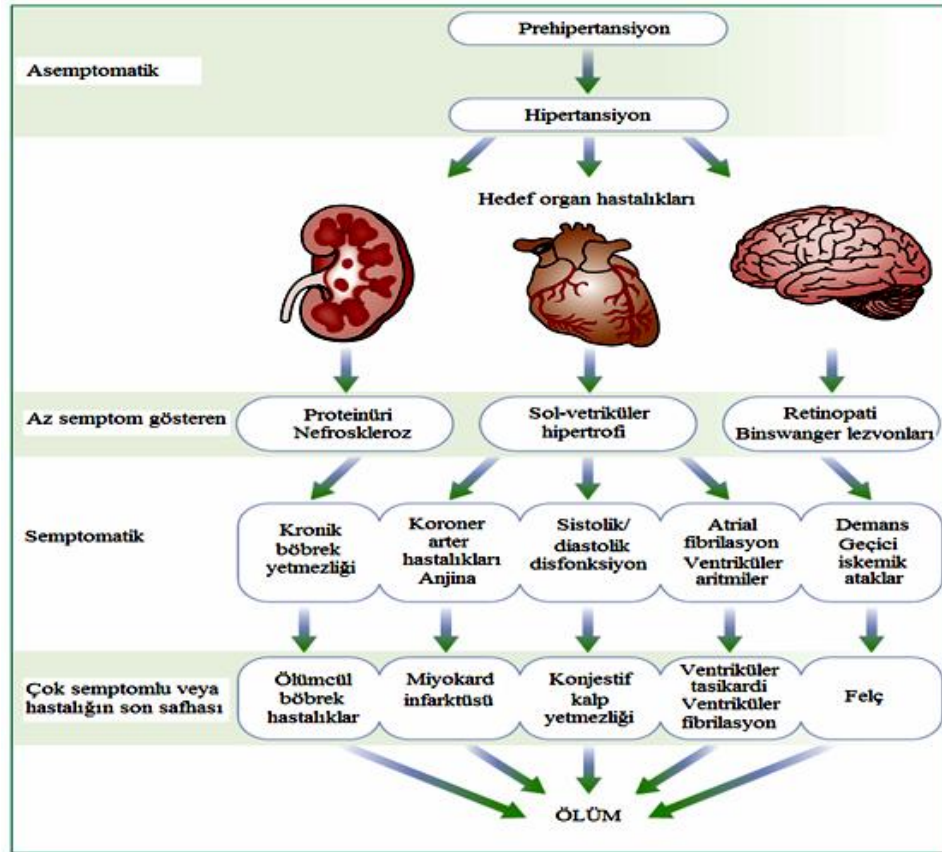
Bu ilaçlar tek tek kullanılabileceği gibi kombine edilerek de kullanılabilmektedir. Kombine tedavi, tek tip ilacın yüksek dozda verilerek yapıldığı tedaviyle karşılaştırıldığında pek çok üstünlüğe sahiptir (35).

Kombine tedavinin potansiyel üstünlükleri daha yüksek etkinlik, tedaviye cevap hızında artış, toleransın azalması, hasta uyuncunun iyileştirilmesi, daha düşük maliyetlerle tedavinin sağlanmasıdır. İki ilacın düşük dozlarının kombine edilmesiyle kan basıncındaki düşme, ilaçların ayrı ayrı daha yüksek dozlarında verilmesine oranla daha fazladır. Örneğin; tekli tedavide Hidroklorotiazid 6.25 mg'lık dozu veya Bisoprolol'ün en düşük dozu (2.5mg) kan basıncında herhangi bir düşme sağlamazken, bu iki ilacın aynı dozlarda kombine kullanılması ile sinerjik etki oluşmakta ve kan basıncı belirgin derecede düşmektedir.

Antihipertansif amaçla düşük doz ilaçların kombine tedavide birlikte kullanıldığı gruplar (36);

- β -Adrenerjik reseptör blokörleri - Diüretikler
- Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörleri - Diüretikler
- Anjiyotensin II reseptör antagonistleri - Diüretikler
- Kalsiyum kanal blokörleri - ADE inhibitörleridir.

Hipertansif kalp-damar sistemi hastalıklarının hasar verdiği organlar ve neden olduğu hastalıkların insan vücudundaki seyri Şekil 2.6'da özetlenmiştir. Buna göre kalp-damar sistemi hastalıkları böbrek, kalp ve beyin hasarı oluşturmasıyla meydana gelen bozukluklar sonucu ölüme neden olmaktadır.



Şekil 2.6. Ön hipertansiyon aşamasından hedef organ hasarına ve hastalığın son aşamasına kadar hipertansif kalp-damar hastalıklarının ilerleyişi (37).

2.2.3. β -Blokör İlaçlar

Sempatik sinir sisteminin bir parçası olan kateşolaminler hem sempatik nörotransmitter, hem de bir çeşit hormon olup, pek çok fizyolojik ve metabolik yanıtta sorumludur (38). Bu etkiler kateşolaminlerin pek çok dokuda yerleşmiş adrenerjik reseptörlerle etkileşimlerine bağlıdır. Kateşolamin sınıfında yer alan β -agonistler (Norepinefrin ve Epinefrin) endojen ve nörohormonal bileşikler olup pek çok dokuda bulunan adrenerjik reseptörlerle etkileşerek metabolik ve fizyolojik yanıt oluşumunu sağlarlar. β -agonist bileşikler temel olarak 2 tip reseptörle etkileşerek etkilerini gösterirler. Bunlar; α -adrenerjik ve β -adrenerjik reseptörlerdir. Bu reseptörler, vücutta ağırlıklı olarak bulunduğu bölge, ana etki ve agonist bileşiği açısından farklılık gösterirler. Adrenerjik reseptörlerin sahip oldukları bu özellikler Tablo 2.2’de özetlenmiştir.

Tablo 2.2. Adrenerjik reseptörlerin sınıflandırması (38).

Reseptör	Esas Bulunduğu Bölge	Esas Etki	Esas Agonisti
β_1 -Reseptörler	Kalp	Kalp hızını artırır	Norepinefrin
	Sinaptik boşluklarda	Kontraksiyonu artırır	
β_2 -Reseptörler	Periferel damar ağı	Vazodilatasyon	Epinefrin
	Bronşlar	Bronkodilatasyon	
α_1 -reseptörler	Sinaptik boşluklarda	Vazokonstriksiyon	Norepinerfin
α_2 -reseptörler	Ekstra-presinaptik bölgelerde	Vazokonstriksiyon	Epinefrin

β -adrenerjik reseptör bloke edici ajanlar, adrenerjik reseptörlere bağlanmak için kateşolaminlerle kompetitif inhibisyon halindedir. (38). Amerika ve Avrupa’da 20’yi aşkın β -blokör ilaç klinik kullanımdadır. Bu ajanların klinik açıdan pek çok farklılıkları vardır. Bu farklılıkların olması yanında klinik etkileri tahmin edilebilmektedir. Gösterdikleri pek çok etki bağlı oldukları sınıfa ilişkin etkilerdir. β -blokörlerin gösterdikleri klinik farklılığın esas nedeni farmakodinamik özelliklerine bağlıdır. En önemli farmakodinamik farklılık β -blokörlerin adrenerjik reseptörlerine

ve alt tiplerine farklı seçiciliklerinden kaynaklanmaktadır. Diğer farklılıklar daha az klinikle ilişkili olup intrinsik semptomimetik aktivite (ISA) gösterip göstermemesi ve yağıdaki çözünürlükleridir. Bu farklılıkları anlamak ilacın etkisinin kestirilmesinde ve uygun β -blokörün hastaya verilmesinde yardımcıdır.

β -blokörler, β -adrenoseptörlere bağlanarak epinefrin (E) ve norepinefrinin (NE) etkilerini bloke ederler. Bazı β -blokörler sadece sempatoaminlerin, β -adrenoseptörlere bağlanmasını engellemezler aynı zamanda bağlandıkları β -adrenoseptörlerin kısmi aktivasyonunu sağlarlar, bu aktivasyona “intrinsik semptomimetik aktivasyon (ISA)” denir (39).

β - blokör ilaçlar hipertansiyon, anjina, miyokardiyal infarktüs, aritmi ve kalp yetmezliği gibi kalp-damar sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanılırlar (39). β -blokörlerin farmakolojik etkilerine göre sınıflandırılması aşağıdaki şekildedir;

- Birinci kuşak β -blokörler
- Kardiyoselektif veya ikinci kuşak β -blokörler
- Vazodilatasyon sağlayan üçüncü kuşak β -blokörler

Propranolol gibi “birinci kuşak” β -blokörler hem β_1 - hem de β_2 -reseptörleri bloke eder (40). Bu bileşikler β_1 reseptörleri bloke ederek sinus ve atrioventriküler nodlarda ve miyokardiyal kontraksiyonlarda (negatif kronotropik, dromotropik ve inotropik etki) inhibisyon oluştururlar. Ek olarak β_2 - bronşiyal reseptörlerinin blokajına neden olarak bronkospazm riski oluştururlar (39).

1970’lerde “kardiyoselektif” veya “ikinci kuşak” adı altında yeni bir β -blokör ilaç grubu geliştirilmiştir. Birinci kuşak β -blokörlerin solunum sistemine olan yan etkilerinin engellenmesi için, geliştirilen bu yeni kuşak ilaçlarda, β_2 reseptörlere oranla β_1 reseptörlere seçicilik daha fazladır. Bu sınıf ilaçlardan en çok kullanılanlar bisoprolol ve metoprololdür (41).

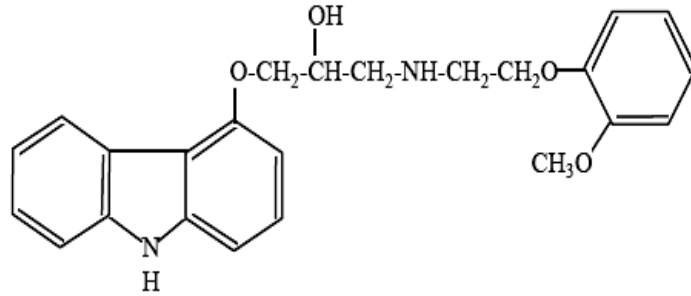
1970-1980’lerde vazodilatasyon sağlayan hipertansiyon tedavisinde kullanılacak yeni β -blokörlerin geliştirilmesi hedeflenmiştir (41). Bu amaçla “üçüncü kuşak” β -blokör adı altında geliştirilen β -blokörlerin prototipi labetaloldür. Labetolol α - ve β - bloke edici bir ajan olup, α_1 reseptörlerine olan ilgisi, β_1 - ve β_2 -

reseptörlere olandan daha fazladır. Nebivolol, karvedilol ve busindolol de 3. Kuşak β -blokörlere örnektir.

2.3. Karvedilol

2.3.1. Fizikokimyasal Özellikleri

Karvedilol hipertansiyon, kalp yetmezliği, miyokard infarktüsü ile sonlanan sol ventriküler yetmezliğin tedavisinde kullanılan β -blokör sınıfı bir ilaçtır. [(2RS)-1-(9H-karbazol-4-iloksi)-3-[[2-(2-(etoksifenoksi)etil]amino]propan-2-ol)] kimyasal formülüne sahiptir. Kimyasal yapısı Şekil 2.7’de gösterilmiştir.



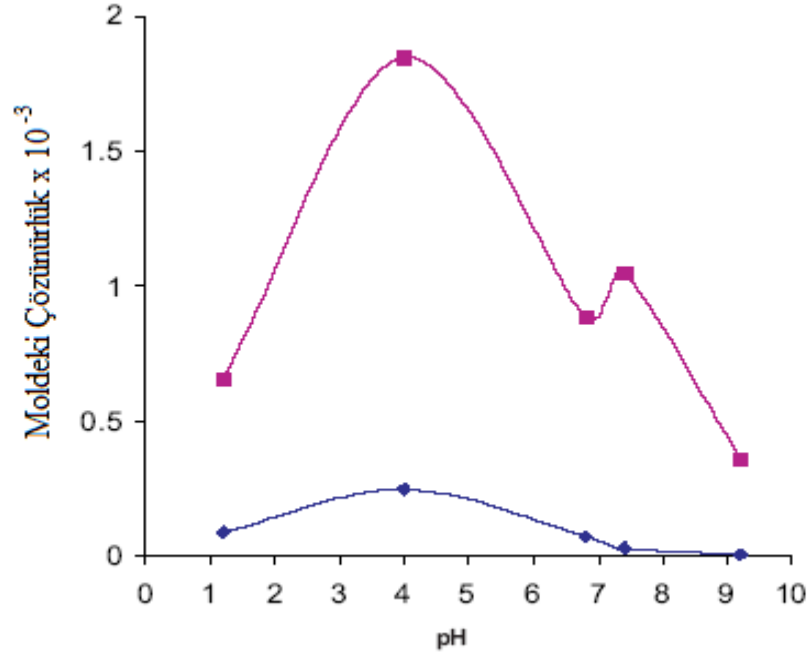
Şekil 2.7. Karvedilolün kimyasal yapısı (42).

Kapalı formülü $C_{24}H_{26}N_2O_4$, molekül ağırlığı 406.5 olan karvedilol beyaz-beyazımsı kristal tozdur (42). Erime derecesi ile ilgili olarak literatürde 116.91°C, 117°C, 118.71 °C gibi değerler verilmiştir (43-45). n-oktanol-su partisyon katsayısı (log P) 1.97’dir (46).

Karvedilol suda ve seyreltik asitlerde pratik olarak çözünmez, alkolde çok az çözünür. Yapısında α -hidroksi sekonder amin taşır ve pKa değeri 7.8 civarındadır (47). Karvedilol pH’ya bağımlı çözünürlük gösterir. Shewale ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada karvedilolün ve hazırlanan hidroksipropil- β -siklodekstrin (HP- β -CD) kompleksinin pH-çözünürlük profili pH 1.2 - pH 11.0 aralığında incelenmiş, elde edilen pH-çözünürlük profilleri karşılaştırılmıştır (Şekil 2.8). Sonuç olarak siklodekstrin kompleksiyle çözünürlüğünün arttırıldığı gösterilmiştir.

Karvedilolün pH-bağımlı çözünürlük gösterdiği pH-çözünürlük grafiğinden de anlaşılmakta olup, zayıf bazik yapı gösteren madde düşük pH değerlerinde daha

yüksek çözünürlük gösterirken, pH 7.0'dan sonra çözünürlüğünün minimum olduğu gözlenmektedir.



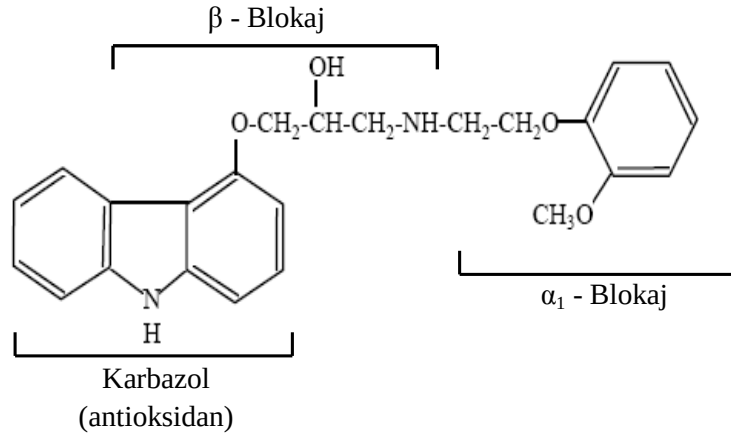
Şekil 2.8. Karvedilolün farklı pH değerlerindeki çözünürlüğü. HP-β-CD varlığında(■) ve HP-β-CD içermeyen (◆) (47).

2.3.2. Etki Mekanizması

Karvedilol üçüncü kuşak, vazodilatör etkili, kardiyoselektif olmayan bir β-blokördür (48). Yapısında β-blokör, α₁ blokör ve antioksidan etki gösteren gruplar yer almaktadır (40). İntrinsik sempatomimetik aktivite (ISA) göstermez. β-blokör etkisine ek olarak vasküler α₁-reseptör blokör aktivitesi (49-53), antioksidan (54-55) ve kalsiyum antagonist etkisi (54) de vardır.

Pek çok antihipertansif ilaç kalp debisini ve sistemik kan akışını azaltırken, damar direncini de azaltarak etki gösterir (56). Ancak alışlagelmiş β-blokörler (birinci kuşak) bu kuralın dışında davranış gösterir. Vazodilatasyon yapmayan birinci ve ikinci kuşak β-blokörler arteriyel kan basıncını düşürürken; kalp debisini de düşürür, ancak sistemik vasküler direnci değiştirmez, hatta bir miktar artırarak etki gösterir. Kısa süreli tedavide β-blokörler periferel direnci artırırken, kalp debisini düşürürler, uzun süreli tedavide ise kalp debisindeki düşüklük devam ederken periferel direnç düşer, ancak direnç normal düzeyin biraz üzerinde devam eder (57). Birinci ve ikinci kuşak β-blokörlerin tersine karvedilol arteriyel basıncı; kalp

debisine ek olarak periferel direnci de düşürerek azaltır. Atenolol, metoprolol gibi alışlagelmiş β -blokörler, β_1 -selektif blokörlerdir, ancak karvedilol β_1 , β_2 ve α -adrenerjik blokördür, vazodilatasyon etkisi β_1 -selektif ajanların tam tersidir. Karvedilol yapısında β -blokör, α_1 -blokör ve antioksidan etki göstermesini sağlayan fonksiyonel gruplar taşır. Bu gruplar Şekil 2.9’da gösterilmiştir.



Şekil 2.9. Karvedilol yapısında yer alan fonksiyonel gruplar (58).

2.3.3. Farmakokinetik Özellikler

2.3.3.1. Hemen Salım Sağlayan Karvedilol Farmakokinetiği

Karvedilolün biyoyararlanımı yüksek oranda ilk geçiş etkisine uğramasından dolayı %23’ tür (59). İlaç %95 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Karvedilol’ün absorpsiyonuna gıda etkisi vardır. Oral alımı takiben hızla absorbe olur, t_{maks} değeri 1-2 saattir. Yarılanma ömrü 6-8 saat aralığındadır. Yüksek oranda metabolize olur (58).

Karvedilol S(-) ve R(+) enantiyomerlerinden oluşan rasemik karışımı halinde kullanılır (58). Her iki izomeri de α -reseptörleri bloke eder, β -reseptör blokajından S(-) izomeri sorumludur. Karvedilol stereokimyasal yapısına göre yüksek oranda metabolize edilir, S(-) enantiyomer, R(+) enantiyomerine oranla daha yüksek klerense sahiptir. Yüksek oranda karaciğerde metabolizasyona uğrar, metabolizması sitokrom P-450 2D6 genetik polimorfizminden etkilenir. Sitokrom P-450 2D6 aktivitesini inhibe eden kinidin, paroksetin, fluksetin, propafenon gibi ilaçlarla birlikte kullanılması karvedilolün plazma konsantrasyonunu artırır. Bu nedenle

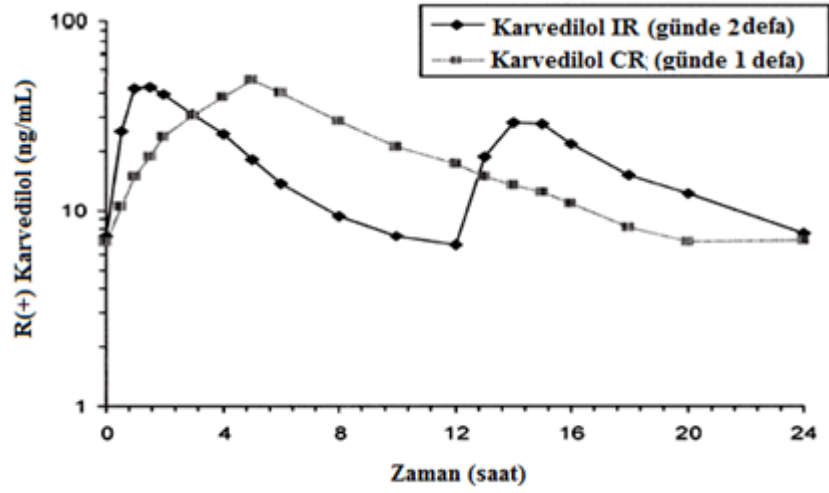
hastaların karvedilol ile birlikte bu ilaçları alması hipotansiyon riski oluşturur. Karvedilolün klerensi 65 yaşın üzerindeki hastalarda daha yavaştır, yaşlı hastalarda genç bireylere oranla karvedilol plazma konsantrasyonu %50 daha fazladır (40,50).

2.3.3.2. Kontrollü Salım Sağlayan Karvedilol Farmakokinetiği

Karvedilolün piyasada bulunan kontrollü salım sistemlerinde (COREG CR[®], Glaxo Smith Kline-GSK) etkin madde fosfat tuzu şeklindedir. Karvedilol fosfat, karvedilol serbest bazına oranla daha yüksek çözünürlüğe sahiptir (60). Karvedilolün kontrollü salım sağlayan sisteminin geliştirilmesindeki amaç; günde bir defa kullanılarak, günde iki kere kullanılan konvansiyonel sisteme eşdeğer biyoyararlanımı elde etmektir. Hemen salım sağlayan karvedilol sistemlerine oranla kontrollü salım sağlayan karvedilol formülasyonunda t_{maks} değerine 3.5 saat daha geç ulaşılmaktadır (61).

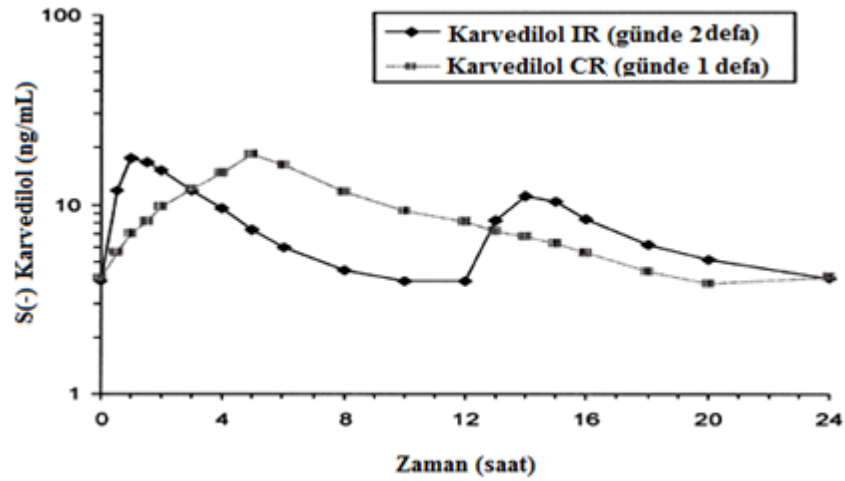
COREG CR 3 farklı tip karvedilol mikropartikülleri içerir (61). %12.5 oranında hemen salım mikropartikülleri, %37.5 oranında Mikropompa IIa, %50 oranında Mikropompa IIc içerir. Her bir mikropompa komponenti pH'ya duyarlı polimerlerle kaplanmıştır. (Mikropompa IIa pH 5.5, Mikropompa IIc pH 6.4-6.8). Bu 3 tip mikropartikül kapsüllere doldurulmuştur. Karvedilol CR formülasyonları 10, 20, 40 ve 80 mg dozlarında olup, günde bir defa kullanılır.

Günde 1 defa kullanılan karvedilol kontrollü salım formülasyonu ile günde 2 defa kullanılan karvedilol hemen salım sağlayan formülasyonlarında, karvedilolün hem R(+) hem de S(-) izomerleri; eğri altında kalan alan (EAA), maksimum plazma konsantrasyonu (C_{maks}) ve 2 maksimum konsantrasyon arasında kalan minimum konsantrasyonu (C_{min}) açısından biyoeşdeğerdir. (Şekil 2.10, Şekil 2.11)



Şekil 2.10. Karvedilol R (+) izomerinin plazma konsantrasyon-zaman profili.

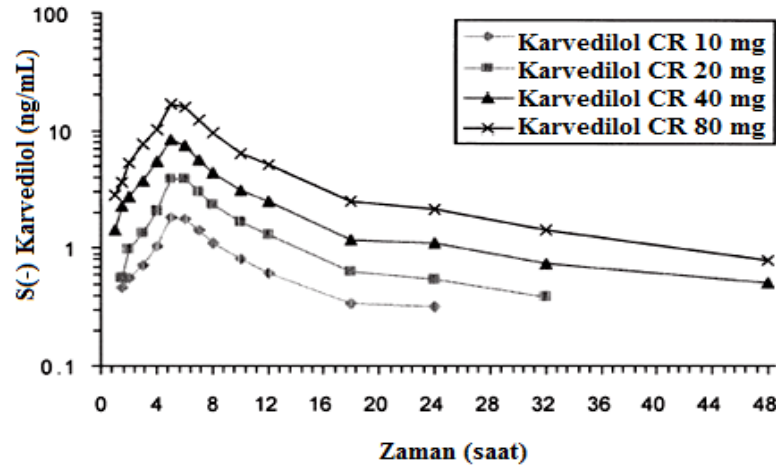
CR:Kontrollü salım, IR:Hemen salım (61).



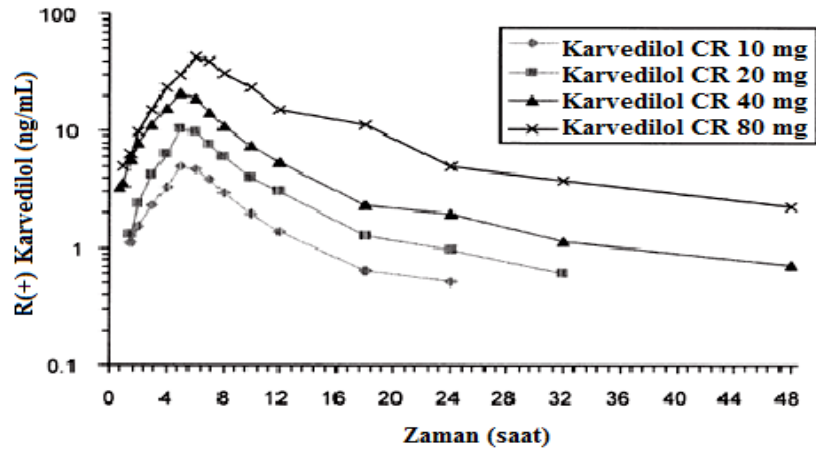
Şekil 2.11. Karvedilol S (-) izomerinin plazma konsantrasyon-zaman profili.

CR:Kontrollü salım, IR:Hemen salım (61).

Tenero ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada (61) karvedilolün hem R (+) hem de S (-) enantiomerlerinin Şekil 2.12 ve Şekil 2.13'te görüldüğü gibi doza bağlı farmakokinetik gösterdiği bildirilmiştir. Stereoselektif ilk geçiş etkisinden dolayı R (+) Karvedilolün plazma konsantrasyonu S (-) Karvedilole oranla daha yüksektir (62).



Şekil 2.12. Farklı dozlarda verilen karvedilol kontrollü salım sistemi için,
Karvedilol S (-) izomerinin plazma konsantrasyon-zaman profili (61)



Şekil 2.13. Farklı dozlarda verilen karvedilol kontrollü salım sistemi için,
Karvedilol R (+) izomerinin plazma konsantrasyon-zaman profili (61)

2.3.4. Piyasa Preparatları

Karvedilol hemen salım sağlayan tablet formülasyonları Roche ve Glaxo Smith Kline inovatörlüğünde sırasıyla Dilatrent® ve Coreg® ticari isimleri ile piyasada yer almaktadır (63). Türkiye’de Roche firmasına ait Dilatrent® ürünü Dilatrend® adı ile Deva firması aracılığıyla piyasaya sürülmekte, bu ürün haricinde piyasada 6 jenerik ürünü daha mevcuttur. Karvedilol hemen salım sağlayan tabletleri piyasada 25 mg, 12.5 mg, 6.25 mg, 3.125 mg dozlarında bulunmaktadır. Karvedilol

kontrollü salım pellet formülasyonu ise GSK patenti ile günümüzde korunmakta olup, Coreg CR[®] ticari adı ile Amerika pazarında satışı devam etmektedir. Piyasada 80 mg, 40 mg, 20 mg, 10 mg dozlarında bulunmaktadır. Türkiye piyasasında bu ürün bulunmamaktadır.

2.3.5. Kullanım Şekli ve Dozu

Piyasada karvedilol hemen salım sağlayan ürünleri 25 mg, 12.5 mg, 6.25 mg ve 3.125 mg dozlarında bulunur, günde 2 defa kullanılırlar (61). Kontrollü salım preparatı olan Coreg CR günde 1 defa kullanılır. Piyasadaki dozları 80 mg, 40 mg, 20 mg ve 10 mg'dır. COREG CR sabahları gıda ile birlikte alınır. Kapsül parçalanmadan yutulmalıdır, pelletler çiğnenmemeli, ezilmemeli veya bölünen dozlarda alınmamalıdır.

2.3.6. İlaç Etkileşimleri

Karvedilol yüksek oranda oksidatif metabolizasyona uğradığı için metabolizması ve farmakokinetiği sitokrom P450 enzimleri aracılığıyla inhibisyona ya da indüksiyona uğrayabilir (64).

Karvedilolün rifampin, simetidin, gliburid, hidroklorotiazid, digoksin, torsemid ve varfarin ile ilaç-ilaç etkileşimi incelenmiş, 12 gün boyunca günde 600 mg rifampin verilen 12 sağlıklı gönüllüde karvedilolün EAA ve C_{maks} değerlerinin %70 oranında azaldığı gözlenmiştir (64). 10 sağlıklı bireyde günde 1000 mg verilen simetidin ile EAA değerinin yaklaşık %30 azalırken, C_{maks} değerinde değişme olmadığı gösterilmiştir. 12 sağlıklı gönüllüde yapılan 4 ayrı çalışmada gliburid, hidroklorotiazid, torsemid ve varfarinin, karvedilolün farmakokinetiğinde herhangi bir değişiklik oluşturmadığı gösterilmiştir. Yine 12 sağlıklı gönüllüye 14 gün süre ile verilen günde 0.25 mg'lık digoksin ile karvedilolün kararlı durum EAA ve plato konsantrasyonunu değerlerinin sırasıyla %14 ve %16 oranında arttığı saptanmıştır.

2.3.7. Yan Etkileri

Karvedilolün olası yan etkileri; hasta ayağa kalktığında bayılma ve baş dönmesine neden olan düşük kan basıncı, yorgunluk, kalp atışında yavaşlama, alerjik reaksiyonlar, solunum yavaşlaması, kilo kaybı, diyare, gözyaşında azalma, gözlerde kuruluk ve denge bozukluğudur. Bunun yanında karvedilol kandaki şeker düzeyini

değiştirdiği için şeker hastalarında düşük kan şekere ait belirtileri ve hipertiroidizm belirtilerini gizleyebilir. Hastada göğüs ağrısı ve kalp krizi gözlenmekte ise ilaç hemen bırakılmalıdır (64,65).

2.4. Formülasyonda Kullanılan Yardımcı Maddeler

2.4.1. Hidroksipropilmetil Selüloz

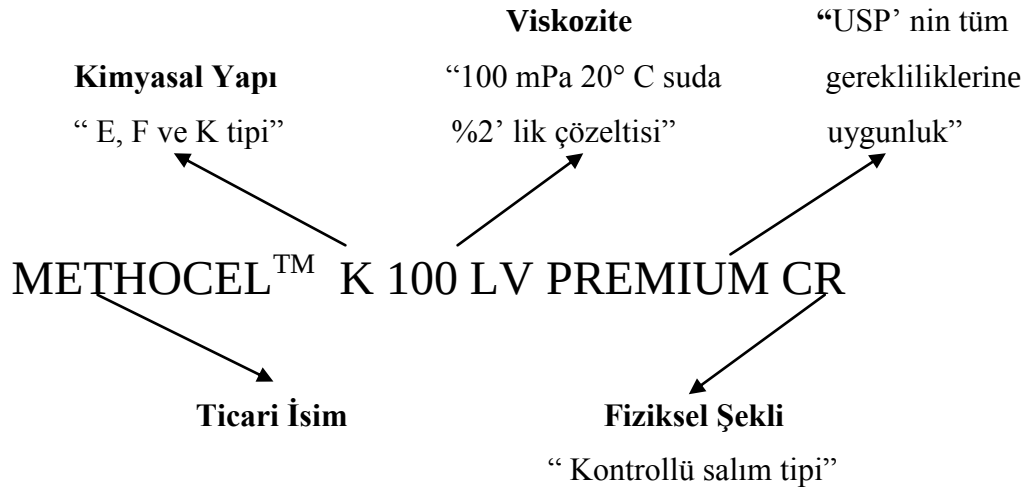
Hidroksipropilmetil selüloz (HPMC) kısmi O-metil ve O-(2-hidroksipropil) selüloz türevidir (42). Beyaz, sarımsı-beyaz veya grimsi beyaz renkli higroskopik bir tozudur. Sıcak suda, asetonda, etanolde ve toluende pratik olarak çözünmezken, soğuk suda kolloidal çözelti verecek şekilde çözünür. Molekül ağırlığı yaklaşık 10.000-1.500.000 aralığındadır (66). Süstitüsyon derecesi ve viskozitesine bağlı pek çok farklı tipi vardır. Farklı tipleri, %2 (a/a) sulu çözeltilerinin 20°C'deki görünür viskozite değerlerine (mPa) göre ayırt edilebilir. HPMC'nin süstitüsyon tipi USP 32'ye göre dört rakamla tanımlanır (67). İlk iki rakam moleküldeki metoksi grubunun (-OCH₃), sondaki iki rakam ise moleküldeki hidroksipropoksi (-OCH₂CH(OH)CH₃) grubunun yüzdesini temsil eder.

HPMC formülasyonlarda viskozite arttırıcı ajan, uzatılmış salım için hız kontrol edici polimer, stabilize edici ajan, bağlayıcı, kaplama ajanı, süspande edici ajan olarak sıklıkla kullanılmaktadır (66). Oral, oftalmik ve topikal dozaj şekillerinde kullanılmaktadır. Oral preparatlarda HPMC'nin bağlayıcı olarak kullanımı yaygındır (68-70). Bu amaçla kuru ve yaş granülasyonda %2-%5 aralığındaki konsantrasyonu kullanılır (66). Film oluşturuju ajan olarak kullanımı da yaygındır (71,72). Uzatılmış salım sağlayan tablet formülasyonlarında matriks oluşturma amacıyla da kullanılmaktadır (73-75). Yüksek viskoziteye sahip tipleri, ilacın salımını geciktirmesi amacıyla %10-%80 konsantrasyon aralığında tablet ve kapsül matriksi olarak kullanılır (66). Film kaplama çözeltilerinde, viskozite derecesine bağlı olarak film oluşturuju ajan olarak yaklaşık %20 (a/a) konsantrasyonda kullanılır. Düşük viskozite derecesine sahip tipleri su bazlı film kaplama çözeltilerinde, yüksek viskoziteye sahip tipleri ise organik çözücülerle kullanılır.

HPMC ayrıca topikal formülasyonlarda süspande edici ve kalınlaştırıcı ajan olarak kullanılır (66). Metil selüloz ile karşılaştırıldığında HPMC daha berrak sulu çözeltiler verir, çözeltilerde çok az sayıda asılı partikül gözlenir, bu nedenle oftalmik

çözeltilerin hazırlanmasında tercih edilir. Göz damlaları ve yapay göz yaşı çözeltilerinde %0.45-%1.0 (a/a) oranında kullanılır. Süspande edici ve stabilizan özelliğinden dolayı topikal jellerde ve merhemlerde koalesensi ve agglomerasyonu önleyerek sedimentasyon oluşumunu engeller.

Tez çalışmaları kapsamında METHOCEL™ ticari adı altında DOW Chemicals & COLORCON firmalarından sağlanan HPMC kullanılmıştır. METHOCEL™'in K100LV, K4M, K15M, K100M, E4M ve E10M ile tanımlanan pek çok tipi mevcuttur. Methocel'in isimlendirilmesinde kullanılan bu harf ve rakamlar maddenin çeşitli fizikokimyasal özelliklerini tanımlar (Şekil 2.14).



Şekil 2.14. METHOCEL™ K100LV için isimlendirme örneği (76).

Methocel'in viskozite değerini simgeleyen kısaltmalarda “LV” önde yer alan rakamın 1 ile çarpılması, “M” ise önde yer alan rakam 1000 ile çarpılması gerektiğini simgeler (76). Örneğin Methocel K4M'nin 20° C'deki %2'lik sulu çözeltisinin viskozitezi 4000 mPa iken, Methocel K100LV'nin aynı koşullardaki viskozite değeri 100 mPa'dır.

2.4.2. Hidroksipropil Selüloz

Hidroksipropil selüloz (HPC) kısmi O-(2-hidroksipropil) selüloz türevidir (42). En fazla %0.6 silika (SiO₂) içerir. Beyaz, sarımsı-beyaz, higroskopik toz veya granüllerdir. Soğuk suda çözünür, etanolde, metanolde, glasiyel asetik asitte, propilen glikolde, metanol-metilen klorür (10:90) karışımında kolloidal çözelti verirken, sıcak suda pratik olarak çözünmez.

HPC, topikal ve oral preparatlarda sıklıkla kullanılır (66). Oral preparatlarda bağlayıcı (77,78), salım geciktirici, matriks oluşturucu (79-81) ve film kaplama ajanı (82) olarak kullanılır. Tablet formülasyonlarında bağlayıcı olarak %2-%6 aralığında, uzatılmış salım formülasyonlarda matriks oluşturucu ajan olarak %15-%35 aralığında, tabletlerde film kaplama ajanı olarak %5 civarında kullanılmaktadır (66). Topikal formülasyonlarda, transdermal bantlarda ve oftalmik preparatlarda da kullanımı vardır. HPC'nin kozmetik ve gıda ürünlerinde de emülsifiye edici ve stabilize edici ajan olarak kullanımı yaygındır.

Tez çalışmaları kapsamında KLUCEL™ ticari adı altında AQUALON firmasına ait HPC kullanılmıştır. KLUCEL™ in farklı viskozite değerine sahip pek çok tipi mevcuttur. Bunlar azalan viskozite değerlerine göre sırasıyla KLUCEL™ HF, MF, GF, JF, LF ve EF'dir. En yüksek viskoziteye sahip olan KLUCEL™ HF'nin 25°C'deki %1'lik çözeltisi 1500-3000 mPa viskozite değerine sahipken, düşük viskoziteye sahip KLUCEL™ LF'nin aynı koşullardaki %5'lik çözeltisi 75-150 mPa, KLUCEL™ EF'nin %10'luk çözeltisi 200-600 mPa'lık viskozite değerine sahiptir.

2.4.3. Metakrilik Asit Kopolimerleri

Metakrilik asit-etil akrilat kopolimerinin ortalama molekül ağırlığı 250.000 civarındadır (42). Karboksilik gruplarının ester gruplarına oranı 1:1'dir. Bu kopolimer asit şeklinde (tip A) veya sodyum hidroksit ile nötralize edilmiş şekilde (tip B) olabilir. Sodyum dodesil sülfat veya polisorbitat 80 gibi yüzey etkin maddeler içerebilir. Beyaz-beyazımsı ve serbest akış gösteren bir toz olup, suda çözünmez (tip A) veya disperse olur (tip B), etanol ve 40 g/L' lik sodyum hidroksit çözeltisinde kolaylıkla çözünür, etil asetatla pratik olarak çözünmez. Metakrilik asit-etakrilat kopolimerinin sudaki %30'luk dispersiyonu da EP 6.0'da ayrı bir monografda tanımlanmıştır.

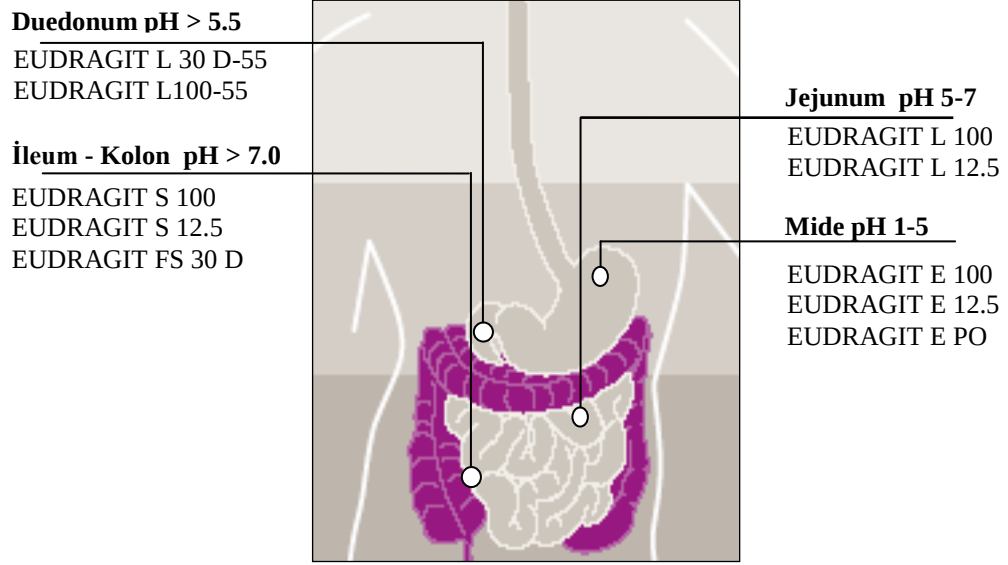
Metakrilik asit-metil metakrilat kopolimeri ortalama 135.000 molekül ağırlığına sahiptir (42). Karboksilik gruplarının ester gruplarına oranı 1:1'dir. Bunun yanında metakrilik asit-metakrilat kopolimeri için karboksilik asit gruplarının ester gruplarına oranı 2:1 olan tipi de mevcuttur. Ek olarak (2-dimetilaminoetil) metakrilat butil metakrilat ve metil metakrilat kopolimeri mevcut

olup, moleküldeki (2-dimetilaminoetil) metakrilat, butil metakrilat ve metil metakrilat gruplarının oranı 2:1:1'dir.

Polimetakrilat kopolimerleri tablet ve kapsül formülasyonlarında film oluşturuca ajan olarak kullanılır (83-85). Kullanılan polimerin tipine bağı olarak farklı çözünürlük gösterecekleri için pH'ya bağı salım sağılayan ilaçların formülasyonlarında kullanımları yaygındır (15,17,25). Polimetakrilatlar su ve organik çözücü ile yapılan yaş granülasyon proseslerinde de bağılayıcı olarak kullanılmaktadır (66).

Tez kapsamında DOW CHEMICALS'tan sağılanan polimetakrilat kopolimeri olan EUDRAGIT™'in farklı tipleri kullanılmıştır. EUDRAGIT™ tiplerinin gastrointestinal kanalda çözündükleri bölgeler Şekil 2.15'te gösterilmiştir.

Asidik veya alkali gruplara sahip olan EUDRAGIT™ L, S, FS, E poli(metil)akrilatları tuz oluşumuyla sindirim sıvılarında çözünerek etkin maddenin pH'ya bağımlı salımına olanak tanır. Bu polimerler gastrointestinal kanalın her bölgesinde kontrollü salım sağılamak ve tat maskelemek amacıyla formülasyonlarda kullanılabilir. Sindirim sıvılarında çözünmeyen ancak geçirgen olabilen alkali gruplara sahip EUDRAGIT™ RL, RS ve nötral gruplara sahip EUDRAGIT™ NE poli(metil)akrilatlar pH'dan bağımsız şişme göstererek etkin maddenin kontrollü salımını sağılarlar. Bu polimerler uzatılmış ve geciktirilmiş salım sağılamak amacıyla formülasyonlarda kullanılabilir.



Şekil 2.15. EUDRAGIT™ polimerlerin gastrointestinal kanalda çözündükleri bölgeler (86).

2.4.4. Laktoz Monohidrat

Laktoz monohidrat süttten elde edilen doğal bir disakkarit olup, bir glikoz, bir de galaktoz ünitesinden oluşmuştur (67). Suda çözünürken, etanolde pratik olarak çözünmez (42). Formülasyonlarda bağlayıcı, seyreltici-doldurucu olarak, inhaler preparatlarda kuru toz olarak kullanılır. Liyofilize ve infant formülasyonlarda kullanım yüzdesi sınırlıdır. Farklı partikül büyüklüğüne ve akış özelliğine sahip pek çok ticari tipi mevcuttur.

2.4.5. Magnezyum Stearat

Magnezyum stearat farklı yağ asitlerinin magnezyum tuzudur, bu yağ asitleri temel olarak stearik asit, palmitik asit ve diğer yağ asitleridir (42). Bu yardımcı madde %4'ten az, %5'ten fazla Mg içermez. Yağ asiti kısmında ise %4'ten az stearik asit içermezken, stearik ve palmitik asit içeriğinin toplamı %90'dan az değildir. Beyaz, beyazımsı hafif bir toz olup suda ve etanolde pratik olarak çözünmez. Magnezyum stearat tablet ve kapsül formülasyonlarında kaydırıcı olarak kullanılır (66). Formülasyonlarda kaydırıcı amaçla kullanım oranı %0.25 ve %5.0 aralığındadır.

2.5. Yapay Sinir Ağları

2.5.1 Tanımı

Yapay sinir ağları (YSA), beyin hücrelerinin öğrenme, genelleme yapma, deneyimsel hatırlama gibi işlevlerini farklı öğrenme yöntemlerini kullanarak taklit eden bilgisayar programlarıdır (87,88). Sahip oldukları öğrenme yeteneklerini deneme yoluyla kazanırlar. Bu nedenle yapay sinir ağları doğrusal olmayan, karmaşık problemlerin çözümünde sıklıkla kullanılmaktadır.

2.5.2. Yapay Sinir Ağlarının Üstünlükleri ve Sakıncaları

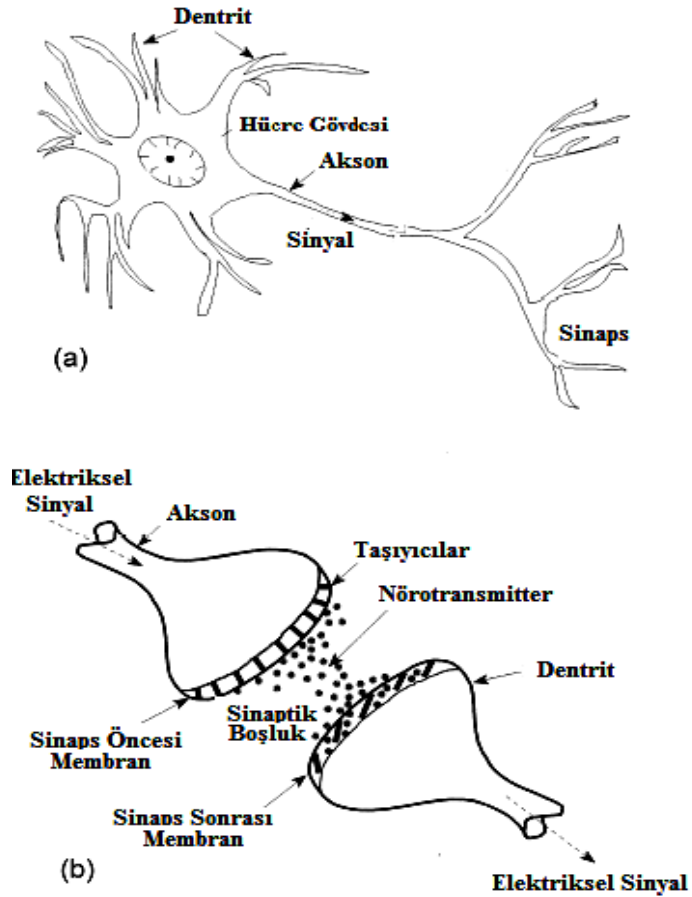
Yapay sinir ağlarının diğer istatistiksel yaklaşımlarla karşılaştırıldığında pek çok üstünlüğü söz konusudur (87,89). Bu üstünlükler şu şekilde sıralanabilir;

- Pek çok bağımlı ve bağımsız değişken kullanılarak tek bir yapay sinir ağı modelinde çalışılabilir.
- Öğrenme, uyum sağlama ve genelleme yapma yeteneğine sahiptir.
- Büyük ölçüde hata toleransına sahiptir.
- Hızlı ve etkilidir.
- Tamamlanmamış veriler ve çok küçük değişkenler arasında bile ayırım sağlayabilir.
- Yapay sinir ağları bağımlı ve bağımsız değişken arasındaki doğrusal olmayan ilişkinin modellenmesinde oldukça etkilidir.
- Bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkinin araştırmacı tarafından önceden bilinmesine gerek yoktur, YSA değişkenler arasındaki karmaşık ilişkiyi öğrenme yeteneğine sahiptir.
- YSA modeli tahmin edebilme yeteneğine sahiptir, model yeni verilerle güncellenebilir.
- YSA modellerinin karmaşık olan kontrollü salım sistemi formülasyonlarının optimizasyonunda da kullanımı mümkündür. Cevap yüzey yöntemi yaklaşımları ile karşılaştırıldığında YSA tahmin edebilme özelliği yönünden çok daha başarılıdır.

Tüm bu üstünlüklerinin yanı sıra çalışması için öncelikle öğrenmeye ihtiyaç duyması ve özellikle karmaşık sinir ağlarının uzun işlem süresine ihtiyaç duyması gibi sakıncaları da söz konusudur.

2.5.3. Yapay Sinir Hücresi

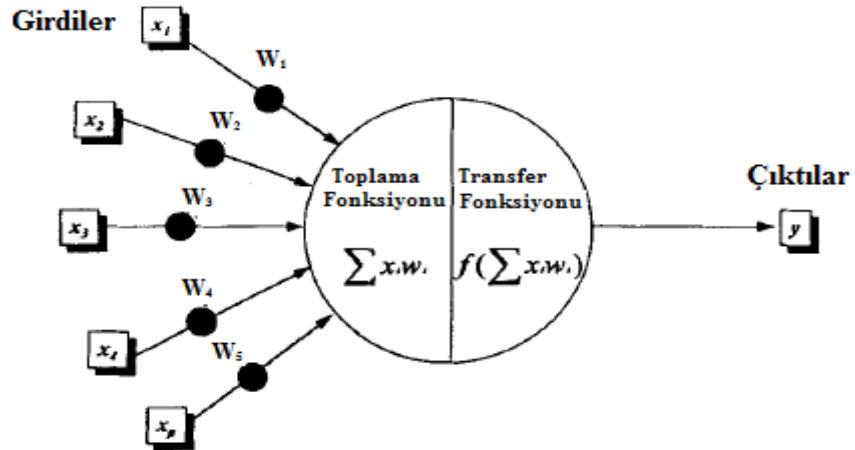
Yapay sinir hücreleri temelde biyolojik sinir hücrelerinin işlevini taklit eder. Bu nedenle sinir hücrelerinin çalışma mekanizmasının ve biyolojik sinir ağı ile yapay sinir ağı arasındaki benzerliklerin tam olarak anlaşılması gerekmektedir. Sinir sistemi milyarlarca sinir hücresinden oluşur. Şekil 2.16'da sinir hücresinin şekli ve bileşenleri gösterilmiştir.



Şekil 2.16. Biyolojik sinir hücresi (a) ve iki biyolojik sinir hücresi arasındaki sinyal iletimi (b) (90).

Sinir hücreleri dentrit, hücre gövdesi ve akson olmak üzere 3 ana kısımdan oluşur (90). Sinir hücrelerinin en önemli kısmı hücre gövdesidir. Hücre gövdesi kalıtsal özellikleri taşıyan çekirdeğe (nucleus) ve plazmaya sahiptir. Plazma nöron tarafından ihtiyaç duyulan yapıları üretmek için gerekli olan moleküler elementleri yapısında bulundurulur. Sinir hücresi dentriti sayesinde başka bir sinir hücresinden gelen uyarıları alır. İletim sinyalleri (transmitter) hücre gövdesinde üretilerek aksonlara doğru taşınır. Aksonun sonunda sinapslar yer alır. Sinaps, bir nöronun aksonu ile diğer nöronun dentriti arasında yer alan yapısal ve işlevsel bir bölgedir. Sinyal sinapsın sonuna geldiğinde nörotransmitter adı verilen kimyasallar salgılanır. Sinapsın tipine bağlı olarak reseptör inhibisyonu veya aktivasyonu amacıyla nörotransmitter sinaps boşluğunda difüze olur, reseptör kendi eğilimine göre elektriksel sinyaller oluşturur. Sinapsların etkinliği sinapstan geçen sinyallere göre ayarlanabilir, bu nedenle sinapslar katıldığı aktivitelerden öğrenme yeteneğine sahiptirler. Buna bağlı olarak hafıza görevi görürler.

Biyolojik sinir hücrelerini taklit eden yapay sinir hücresinin temel yapısı Şekil 2.17’de gösterilmiştir. Yapay sinir hücresi genel olarak girdiler, ağırlıklar, toplama fonksiyonu, transfer fonksiyonu ve çıktılarından oluşmaktadır.



Şekil 2.17 Yapay sinir hücresi modeli (88)

Yapay sinir ağının yapısında bulunan bu bileşenler aşağıda açıklanmıştır.

Girdi (input) : Yapay sinir hücrelerinde girdi genellikle “ x ” ile gösterilir. Girdi, yapay sinir ağlarına dışarıdan girilen verilerdir. Girdi değerleri sayısal olmalıdır. Sayısal olmayan veriler de sisteme öğretilmeden önce sayısal verilere dönüştürülebilir.

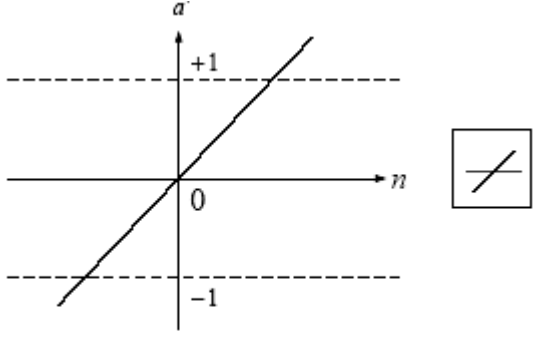
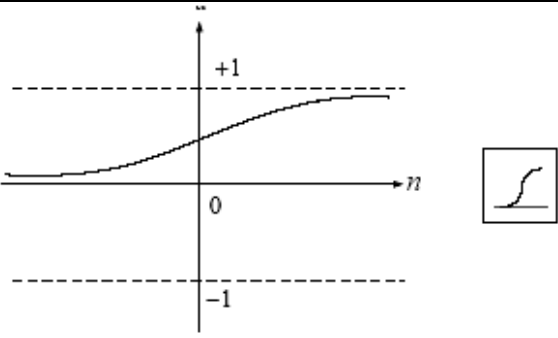
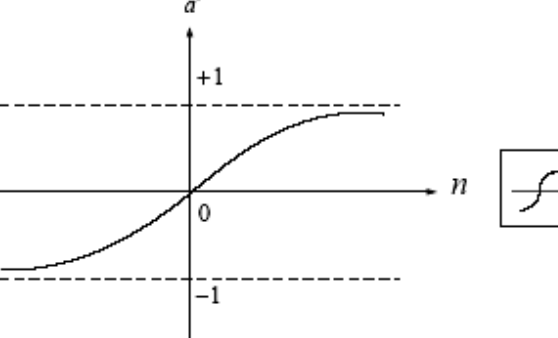
Ağırlık (weights): Ağırlıklar “ w ” ile gösterilir. Ağırlık, sinapslardaki bağlantı kuvvetinin ölçüsüdür. Her bir girdideki nöronun önemlilik derecesini tanımlayan bir ağırlığı vardır.

Toplama Fonksiyonu: Toplama fonksiyonu “ Σ ” ile gösterilir. Toplama fonksiyonu ile her bir girdi değeri, kendi ağırlık değeri ile çarpılarak toplanır, böylece net bir girdi değeri hesaplanır.

Transfer Fonksiyonu: Transfer fonksiyonu, aktivasyon fonksiyonu olarak da bilinir (89). Ağırlıklandırılmış girdi değeri transfer fonksiyonu yardımıyla işlenerek bir çıktı değeri oluşturulur. Yapay sinir ağlarında pek çok transfer fonksiyonu kullanılmaktadır. Bunlardan birkaçı Tablo 2.3’te özetlenmiştir. Yapay sinir ağlarında en sık kullanılan transfer fonksiyonu sigmoid-fonksiyondur.

Çıktı (output): Yapay sinir hücrelerinde çıktı genellikle “ y ” ile gösterilir. Çıktı yapay sinir ağından elde edilen tahmini veridir.

Tablo 2.3. Transfer fonksiyonları (91)

Transfer Fonksiyonları	Eşitlik
Doğrusal Transfer Fonksiyonu	 $a' = \text{purelin}(n)$
Log-sigmoid Transfer Fonksiyonu	 $a' = \text{logsig}(n)$
Tanjant-sigmoid Transfer Fonksiyonu	 $a' = \text{tansig}(n)$

Biyolojik sinir hücresi ile yapay sinir hücrelerinin yapısal bileşenleri Tablo 2.4'da karşılaştırılmıştır.

Tablo 2.4. Biyolojik sinir hücresi ile yapay sinir hücresinin yapısal bileşenlerinin karşılaştırılması (92).

Biyolojik	Yapay
Soma	Nod-Düğüm
Dentrit	Girdi
Akson	Çıktı
Sinaps	Ağırlık
Yavaş	Hızlı
Çok sayıda nöron - 10^9	Az sayıda nöron- 10^2 10^3

2.5.4. Yapay Sinir Ağlarının Sınıflandırılması

Yapay sinir ağları uygulamalarına, bağlantı biçimlerine, yapısal özelliklerine veya öğrenme yöntemlerine göre farklı açıdan sınıflandırılabilirler.

- Uygulamalarına göre YSA'lar
 - Yapısal sınıflandırma
 - Kümeleme
 - Yaklaşık olarak bulma
 - Tahmin etme
- Bağlantı biçimlerine göre YSA'lar
 - İleri beslemeli (Feed-forward) YSA
 - Geri beslemeli (Feed-back) YSA
- Yapısal Sınıflandırma
 - Tek tabakalı YSA
 - Çok tabakalı YSA
- Öğrenme Yöntemleri
 - Danışmanlı (Supervised) öğrenme
 - Danışmansız (Unsupervised) öğrenme

2.5.4.1. Uygulamalarına Göre Yapay Sinir Ağları

Yapay sinir ağları pek çok problemin çözümünde kullanılabilir. Bu problemler Şekil 2.18’de özetlendiği gibi yapısal sınıflandırma, kümeleme, yaklaşık olarak bulma, tahmin etme/kestirim yapma ve şekil tamamlama olabilir. (90,93)

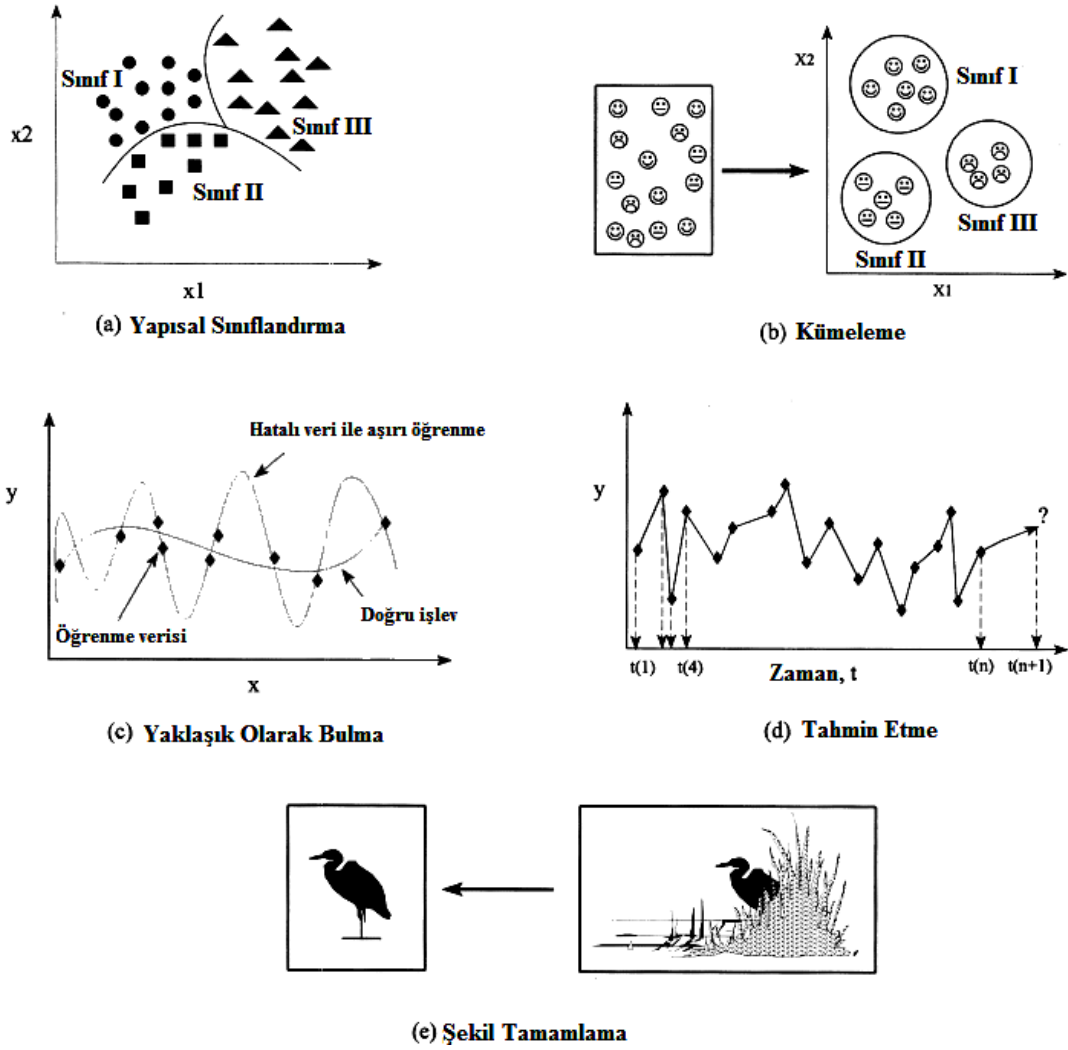
Yapısal sınıflandırma; bilinmeyen bir girdiyi daha önceden tanımlanmış bir çok sınıfın arasından kendine ait olan sınıfa ayırabilir (Şekil 18a). Hangi sınıfa ait olduğunu girdinin o sınıfa özgü bir veya daha fazla özelliği yansıtmasından dolayı belirleyebilmektedir. Bu amaçla konuşma tanıma, kan hücrelerini sınıflandırma, el yazısı simgelerini çözme gibi alanlarda kullanılmaktadır. Yapay sinir ağları bu sınıflandırmayı danışmanlı öğrenme modeliyle yapar.

Kümeleme; danışmansız yapısal sınıflandırma olarak da bilinir. Burada yapısal sınıflandırmadan farklı olarak daha önceden öğrenilmiş hiç veri yoktur. Yapısal olarak benzer girdileri bularak, benzer girdileri aynı küme altında toplar (Şekil 18b). Ağ, daha önce hiç karşılaşmadığı veriyi yeni bir sınıfa ayırır.

Yaklaşık olarak bulma; girdi ve çıktı verileriyle yapay sinir ağı uygulamasını içerir. Girdi ve çıktı arasındaki ilişkiyi yaklaşık olarak bulur (Şekil 18c). Bu yöntem veri gözlem ya da deneyimle elde ediliyorsa, herhangi bir modelin bulunmadığı problemlerde de kullanılmaktadır.

Tahmin etme; belirli zamanlarda örnek alınarak gerçekleştirilen yapay sinir ağı uygulamasının daha sonra örnek alınan zaman diliminin dışındaki zaman noktalarının kestiriminde kullanılmasıdır (Şekil 18d). “t” toplam veri alma zamanıyken, $Y(t-2)$, $Y(t-1)$ ve $Y(t)$ ’yi kullanarak $Y(t+1)$ ’in kestirilmesi yöntemidir.

Bunların yanı sıra YSA; şekil tamamlama, verilerin optimizasyonu, kontrolü ve ilişkilendirilmesi amacıyla da kullanılmaktadır.

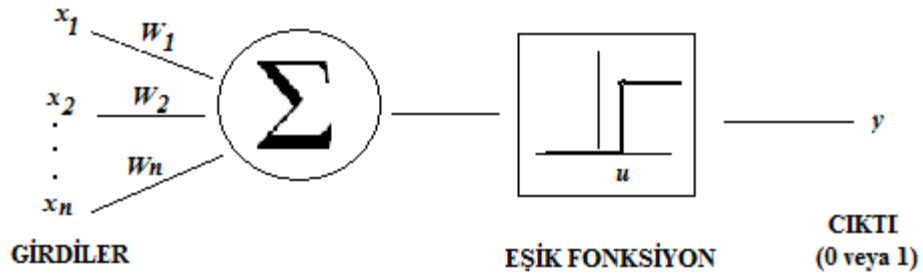


Şekil 2.18. YSA'larının çözümlediği problemler: yapısal sınıflandırma (a) kümeleme (b) yaklaşık olarak bulma (c) tahmin etme/kestirim yapma (d) şekil tamamlama(e) (90).

2.5.4.2. Yapısal Sınıflandırma

2.5.4.2.1. Tek Tabakalı Yapay Sinir Ağları

Tek tabakalı yapay sinir ağları girdi ve çıktı tabakasından oluşur. 1943 yılında McCulloch ve Pitts tarafından öne sürülen tek tabakalı perceptron modelinde eşik değer fonksiyonu kullanılmaktadır (90,93,94). Bir perceptron, değiştirilebilir ağırlıklara sahip ($w_i = 1, 2, \dots, n$) nöronlardan, eşik fonksiyondan (u), girdi ve çıktı tabakasından oluşur (Şekil 2.19).



Şekil 2.19. McCulloch - Pitts modeli- tek tabakalı basit algılayıcı (perceptron) (95).

Perceptron adı verilen basit algılayıcılar da birden fazla girdiden çıktı üreten tek tabakalı sistemlerdir. Perceptron bir yapay ağ olup, bir veya daha fazla işlemci eleman içerir, bu elemanlara da perceptron adı verilir (96). 1958 yılında bulunan perceptron sistemi McCulloch ve Pitts sisteminin gelişmiş modelidir. Ek olarak “b” olarak bilinen bias girdisi içerir.

Girdi sinyallerinin ($x_1, x_2, x_3 \dots x_n$) ağırlıklandırılmış toplamı ile bir çıktı elde edilir. Eğer çıktı değeri eşik değeri olan “u” nun üzerinde ise 1’dir, değilse 0 değerini alır. Ağırlık değeri pozitif bir değer olursa ($w_i > 0$) net sinyal artar ve nöronu uyarır, ancak negatif bir değer olursa net sinyali azaltarak nöronun aktivitesini inhibe eder, buna da engelleyici bağlantı denir.

1960 yılında Adaline (adaptive linear element) birimlerinden oluşmuş Madaline (multiple adaptive linear element) ağı ile çalışmalar yapılmıştır (97). Bu ağ perceptron ağından farklı olarak eşik fonksiyon içermez, doğrusal çıktı tabakasına sahiptir. Öğrenme kuralı olarak delta kuralını kullanmaktadır. Bu kurala göre ağırlıklar en küçük ortalama kareler toplamına göre normalize edilir.

2.5.4.2.2. Çok Tabakalı Yapay Sinir Ağları (Multi Layer Perceptron, MLP)

Tek tabakalı yapay sinir ağlarındaki sınırlamaların ortadan kaldırılması için yapıya bir veya daha fazla gizli tabaka eklenerek çok tabakalı yapay sinir ağları geliştirilmiştir. Çok tabakalı YSA’lar günümüzde en sık kullanılan modeldir. Çok tabakalı yapay sinir ağlarında öğrenme sistemi iki aşamalıdır. İlk olarak sisteme, girdiler ve deneysel olarak elde edilen çıktılar verilir. Sistem bu verileri kullanarak girdi ve çıktı arasında bir ilişki kurmaya çalışır (öğrenme aşaması). Öğrenme

aşamasından sonra sistem, yeni verilerle çıktılar üretir (tahmin aşaması). Çok tabakalı YSA’da dış bilgilerin alındığı girdi tabakası ile problemin çözümünün elde edildiği çıktı tabakasını birbirinden ayıran bir veya birden fazla gizli tabaka mevcuttur (98).

Pek çok yapay sinir ağı tek bir gizli tabakaya sahiptir. Tek gizli tabaka çoğu zaman doğru tahmin için yeterli olmaktadır. Girdi tabakasındaki nöron/düğüm sayısı araştırılmak istenen bağımsız değişken sayısıdır (87). Çıktı tabakasındaki düğüm sayısı bağımlı değişkendir. Gizli tabakadaki nöron sayısı;

- Girdi ve çıktı nöronlarının sayısına
- Problemin karmaşıklığına
- Ağın yapısına
- Gizli tabakadaki aktivasyon fonksiyonuna
- Öğrenme algoritmasına bağlıdır.

Gizli tabaka sayısı veya gizli tabakadaki nöron sayısının az olması ağın öğrenme kabiliyetinin azalmasına neden olurken, sayının çok olması “*overfitting*” adı verilen aşırı öğrenmeye neden olur. En uygun sayının belirlenmesi için pek çok araştırmacı tarafından çok sayıda yöntem çalışılmıştır. Bunlardan ilki *Kolmogorov* varsayımıdır (99). Kolmogorov varsayımına göre gizli tabakadaki nöron sayısı için; girdi değişken (bağımsız değişken) sayısının iki katından bir fazlası yeterlidir. Başka bir çalışmada gizli tabakadaki nöron sayısı Eşitlik 2.1’deki gibi hesaplanmaktadır (100).

$$N_{\text{hidden}} = N_{\text{trn}} / R + (N_{\text{inp}} + N_{\text{out}}) \quad \text{Eşitlik 2.1}$$

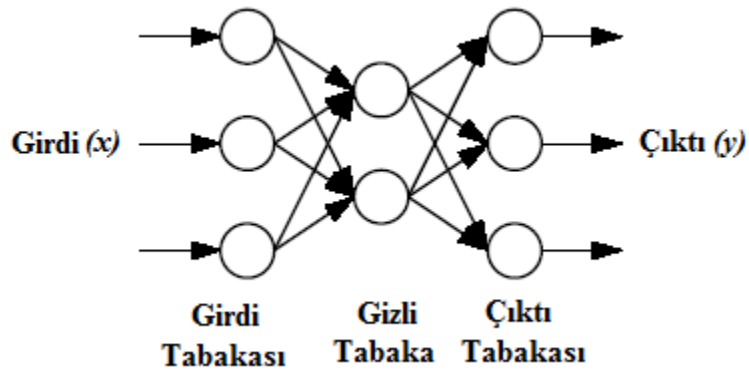
Bu eşitlikte N_{hidden} ; gizli tabakadaki nöron sayısı, N_{trn} ; çalışılan örnek sayısı, R ; 5 ile 10 arasında değişen bir sabit değer, N_{inp} ; girdi sayısı, N_{out} ; çıktı sayısıdır.

Gizli tabaka sayısı veya gizli tabakadaki nöron sayısını belirlemeye yönelik daha pek çok çalışma yapılmış olsa da en doğru sonuç veren yöntem deneme yöntemidir.

2.5.4.3. Bağlantı Biçimlerine Göre Yapay Sinir Ağları

2.5.4.3.1. İleri Beslemeli (Feed-Forward) Yapay Sinir Ağları

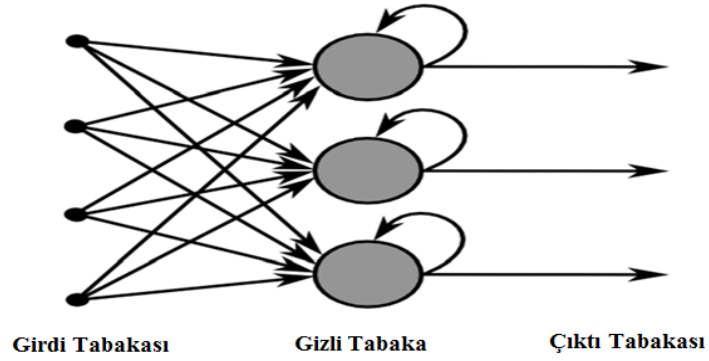
İleri beslemeli yapay sinir ağlarında nöronlar Şekil 2.20'deki gibi girdiden çıktıya doğru tek yönlü olarak ilerler, döngü gerçekleşmez (101). Sinyal her düğümden sadece bir kez geçer. İleri beslemeli ağlarda nöron bir önceki tabakadan aldığı uyarıyı bir sonrakine iletir. Geriye doğru herhangi bir döngü söz konusu değildir. İleri beslemeli yapay sinir ağlarında iletim ileriye doğru olduğu için ağın stabil hale gelmesi hızlı gerçekleşmektedir.



Şekil 2.20. İleri beslemeli yapay sinir ağı (102).

2.5.4.3.2. Geri Beslemeli (Feed-Back) Yapay Sinir Ağları

Geri beslemeli yapay sinir ağlarında bağlantıların etrafında döngüler vardır (Şekil 2.21). Bilginin akış yönü hem ileriye hem de geriye doğrudur (87). Bu da YSA'ya dinamik bir hafıza kazandırır. Geri beslemeli yapay sinir ağları, ileri beslemeli ağlara oranla çok daha yavaştır (103). Ek olarak ileri beslemeli YSA'larında, ağın stabil hale gelmesi kesin iken, geri beslemeli ağlarda sistemin stabil hale gelmesi için pek çok iterasyonun döngü halinde gerçekleşmesi sonucu sağlanabilir. Buna rağmen ağ stabil olmayabilir. Tüm bu sakıncalarına rağmen geri beslemeli YSA'lar ile diğer YSA'ların yapamadığı işlemler gerçekleştirilebilir. Geri beslemeli döngüler uyum sağlamaya, eğitime (adaptasyon) olanak tanır. Bazı durumlarda doğrusal ağların yetersiz kaldığı doğrusal olmayan ilişkilerin çözümünde çok daha iyi sonuç vermektedir.



Şekil 2.21. Geri beslemeli yapay sinir ağları (94).

2.5.4.4. Yapay Sinir Ağlarının Öğrenme Modelleri

2.5.4.4.1. Danışmanlı Öğrenme (Supervised Learning)

Danışmanlı öğrenme, öğretmenli öğrenme olarak da bilinir. Danışmanlı öğrenmede hem girdi verileri, hem de çıktı verileri sisteme verilir. Ağ çalışmaya küçük rastgele ağırlıklar vererek başlar ve bir çıktı değeri oluşturur. Bulunan çıktı değeri istenen ile karşılaştırılır ve aradaki farka göre bir hata değeri oluşturur. Hata değerini azaltmak için ağırlık değerleri ağ tarafından değiştirilir. Öğrenme yöntemi bu hata değerini azaltmaya çalışır. Girdi ağırlıklarının değiştirilmesi işlemi kabul edilebilir hata değerine ulaşıncaya kadar devam eder. (87).

2.5.4.4.2. Danışmansız Öğrenme (Unsupervised Learning)

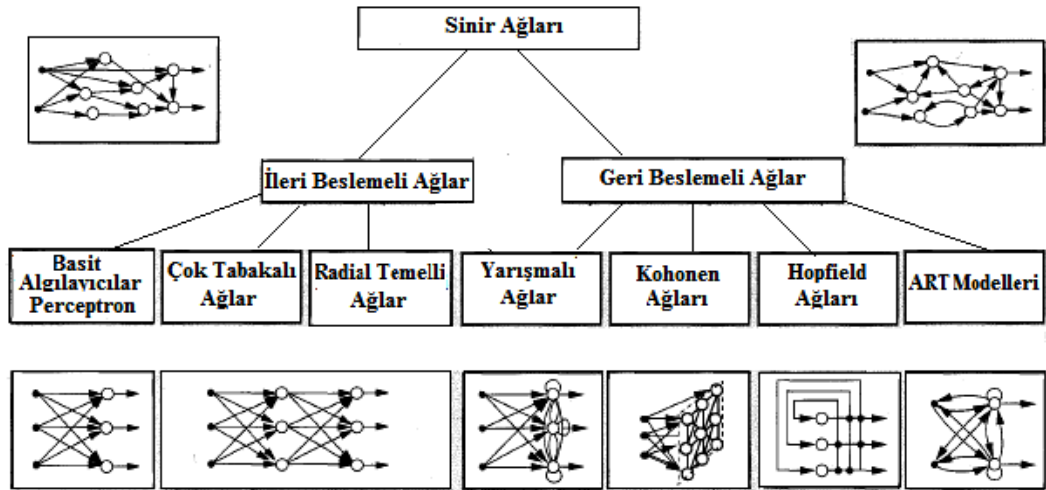
Danışmansız öğrenmede ağa sadece girdi verileri sunulur. Ağ sadece yapısal tanıma ve sınıflandırma yapar. İstenen bir çıktı yoktur. Ağ verilerin özelliklerini tanıyarak, benzer özellik gösteren verileri belirli gruplar altında toplar.

2.5.5. Öğrenme Kuralları

Yapay sinir ağlarında 4 tip öğrenme kuralı vardır (93). Bunlar;

- Hata düzeltme kuralı (error correction)
 - Perceptron öğrenme kuralı
 - Geriye doğru yayılım öğrenme kuralı
- Boltzmann kuralı
- Hebb's Kuralı
- Yarışmalı öğrenme kuralı
 - Kohonen Öğrenme Kuralı

En temel öğrenme kurallarının bağlantı biçimlerine ayrılması Şekil 2.22'de gösterilmiştir



Şekil 2.22. Öğrenme kurallarının bağlantı biçimlerine göre sınıflandırılması (93).

2.5.5.1. Hata Düzeltme Öğrenme Kuralı

Öğretmenli öğrenme kurallarında, ağ her bir girdi için rastgele bir çıktı değeri, “d” belirler (93). Öğrenme işlemi sırasında gerçek çıktı değeri “y”, sistem tarafından üretilir ve bu değer başlangıçta verilen “d” çıktı değerine eşit olmayabilir. Hata düzeltme öğrenme kurallarının temel prensibi hata sinyalini (d-y) kullanarak bağlantı ağırlıklarını (w) değiştirme yoluyla, hatayı dereceli olarak düşürmektir.

2.5.5.2. Perceptron Öğrenme Kuralı

Perceptron öğrenme kuralı hata düzeltme öğrenme kuralı esasına dayanır. Perceptron basitleştirilmiş bir yapay ağ birimidir. Basit algılayıcı ayarlanabilir ağırlığa sahip tek nörondan oluşmuştur (93). İşlev ağırlıklandırılmış girdilerin toplanmasıdır. Aktivasyon fonksiyonu; eşik fonksiyondur (96). Bu fonksiyon genellikle eşik birim adı ile anılır. Eşik birimdeki işlem Eşitlik 2.2’de özetlenmiştir.

$$f(x) = \begin{cases} 1 & \sum_i w_i x_i \geq 0 \\ 0 & \sum_i w_i x_i < 0 \end{cases} \quad \text{Eşitlik 2.2}$$

Sisteme verilen girdi ($x = x_1, x_2, \dots, x_n$) iken; net girdi Eşitlik 2.3 ‘deki gibidir.

$$\text{Net girdi} = v = \sum_{j=1}^n w_j x_j - u \quad \text{Eşitlik 2.3}$$

Bu şekilde elde edilen net girdi değeri, v , 0’dan büyükse çıktı (y), +1 değerini alır. Değilse çıktı değeri (y), 0 değerini alır

Perceptron öğrenme kuralında aşağıdaki sıra izlenir;

- Öğrenme, ağırlıklara ve eşik değere küçük rastgele rakamlar vererek başlatılır.
- Ağa girdi verileri ($x_1, x_2, \dots, x_n$) sunulur ve sistem tarafından eşik fonksiyon kullanılarak çıktı değeri oluşturulur.
- Elde edilen çıktı değeri, istenilen çıktı değerine eşit değilse Eşitlik 2.4’e göre ağırlıklar yeniden düzenlenir.

$$w(t+1) = w(t) + \eta (d-y) x_p \quad \text{Eşitlik 2.4}$$

Bu eşitlikte d ; hedeflenen çıktı değeri, t ; iterasyon sayısı, η ; öğrenme seviyesini ($0.0 < \eta < 1.0$) simgeler.

- Bu işleme; hedeflenen y değerine en yakın sonuç bulunana, hata değeri en küçük olana kadar devam edilir.

Eşik değer içeren perceptron ağırlıkları, hata adı verilen istenen çıktı değeri (Y) ile perceptron tarafından bulunan değer (y) arasındaki farka göre değişmektedir (90). Bu da hata düzeltme yönteminin temelini oluşturur.

2.5.5.3. Geriye Doğru Yayılım Öğrenme Kuralı (Backpropagation Learning Rule)

Geriye doğru yayılım öğrenme kuralı, çok tabakalı yapay sinir ağı modelidir. Girdi tabakası, çıktı tabakası ve bu iki tabaka arasındaki bağlantıyı sağlayan bir veya daha fazla gizli tabakadan oluşmuştur (87). Geriye doğru yayılım öğrenme kuralı bir danışmanlı öğrenmedir yani girdi değerleri ile istenen çıktı değerleri önceden ağa sunulur. (104). Geriye doğru yayılım algoritması en küçük kareler ortalaması (least mean squared algorithm) algoritmasından türetilmiş olup, bu algoritma ile hedeflenen ve bulunan çıktı değerinin arasındaki farktan doğan hata değerine göre, ağırlıkların değiştirilmesi sağlanır.

Geriye doğru yayılım öğrenme kuralında bağlantılar tümüyle ya da kısmi olabilir (87). Bağlantıların tümüyle olduğu ağlarda ilk tabakadaki her düğüm ikinci tabakadaki her düğüm ile bağlantılıdır. Kısmi bağlantılarda ise ilk tabakadaki her düğüm ikinci tabaka ile bağlantılı olmayabilir. Bağlantının yönü ileri beslemeli ya da iki yönlü (bi-directional) olabilir. İleri beslemeli ağlarda ilk tabaka çıktısını ikinci tabakaya gönderir ancak ikinci tabakadan herhangi bir girdi almaz. İki yönlü ağlarda ise ikinci tabakanın çıktısını taşıyan ayrıca bir bağlantı seti vardır, çıktıları birinci tabakaya iletir.

Geriye doğru yayılım öğrenme kuralında her bir düğümün net girdi değeri bir önceki düğümün ağırlıklandırılmış çıktı değerinin toplamına eşittir (Eşitlik 2.5). Burada “ $o[i]$ ” bir önceki tabakanın çıktı değeridir.

$$\text{Net girdi} = i[j] = \sum_i \{w[ji]o[i]\} \quad \text{Eşitlik 2.5}$$

Düğümlerdeki çıktı değerinin elde edilmesinde transfer fonksiyonları kullanılır. En çok kullanılan transfer fonksiyonu sigmoid fonksiyondur. Sigmoid transfer fonksiyonu kullanılarak düğümünden çıkan çıktı değeri ($o[j]$) Eşitlik 2.6’da açıklanmaktadır.

$$o[j] = 1 / \{1 + \exp(-i[j])\} \quad \text{Eşitlik 2.6}$$

Ağırlık etkeninin düzenlenmesi için kullanılan yöntem öğrenme algoritması denir. Geriye doğru yayılım öğrenme kuralında öğrenme algoritması olarak; “geriye doğru yayılım delta kuralı” algoritması kullanılır. Bu kuralda;

- Yapay sinir ağı modeli oluşturulduktan sonra her bir başlangıç ağırlık etkenine küçük rastgele değerler verilir.
- YSA devamlı iterasyon/yineleme ile çalışıp ağırlıkları günceller.
- Her bir iterasyon 2 aşama içerir. Bunlar
 - 1) İleri besleme aşaması (Feed-forward step)
 - 2) Geriye yayılım aşaması (Back-propagation step)
- İleri besleme aşamasında girdi değerleri sisteme sunulur. Eşitlik 2.5 yardımıyla girdi değerleri, rastgele verilen ağırlık değerleri kullanılarak toplanır.
- Transfer fonksiyonu kullanılarak Eşitlik 2.6 yardımıyla çıktı hesaplanır.
- Geri besleme aşamasında ise ilk olarak çıktı için hata değeri hesaplanır. Hata değeri, bulunan çıktı ile hedeflenen çıktı değeri arasındaki farktan hesaplanır.
- Tüm işlem düğümlerindeki hatalar ve ağırlık düzeltmeleri hesaplanır.
- Ağırlık düzeltmeleri tüm düğümlere yollanır ve iterasyon yeniden başlar.
- Bu işlem kullanıcının belirlediği hata değerine ulaşincaya kadar devam eder.

2.5.5.4. Diğer Öğrenme Kuralları

Yapay sinir ağlarında en çok kullanılan öğrenme kuralı geriye doğru yayılım öğrenme kuralıdır. Pek çok araştırmacı tarafından farklı çalışma prensiplerine ve özelliklere sahip öğrenme kuralları da çalışılmıştır. Örneğin Hopfield öğrenme kuralı bir çeşit geri beslemeli sinir ağları olup gizli tabaka içermemektedir (88). Sinaptik ağırlıkları simetriktir ($w_{ij}=w_{ji}$). İkili (binary) veri serilerini kullanırlar ($x_i = -1$ veya $x_i = +1$). Aktivasyon fonksiyonu, eşik fonksiyon olan bir ağıdır. Hopfield öğrenme kuralında ağırlıkların düzeltilmesi için kullanılan eşitlikler; Eşitlik 2.7 ve Eşitlik 2.8’de özetlenmiştir.

$$i=j \Rightarrow w_{ij}=0$$

Eşitlik 2.7

$$i \neq j \Rightarrow w_{ij} = \sum_k x_{ki} x_{kj}$$

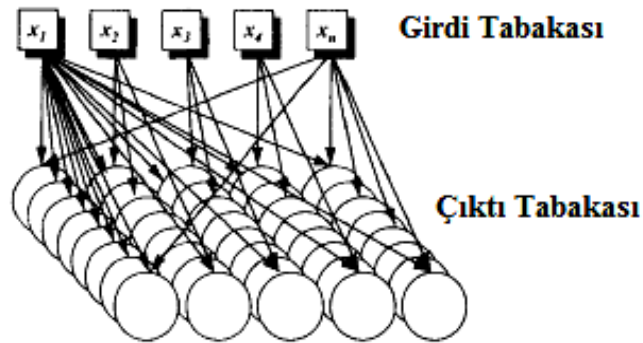
Eşitlik 2.8

Boltzmann adı verilen öğrenme kuralı ise geri beslemeli bir öğrenme kuralıdır (93). Hata düzeltme kuralının özel bir türü olup, hatanın doğrudan istenen ve bulunan çıktı değeri arasındaki farktan hesaplandığı yöntemde değil, hatayı kenetlenmiş iki çıktı nöronunun arasındaki korelasyondan hesaplayan ağlardır.

En eski öğrenme kurallarından biri olan Hebb's kuralında ise öğrenme bölgesel olarak gerçekleşir. Sinaps ağırlıklarındaki değişme sadece birbiriyle bağlantı halinde olan iki nöron arasındaki aktivite ile sağlanır. Sinapsın her iki tarafındaki nöronlar aynı anda ve tekrarlanarak uyarılıyorsa sinapstaki uyarı şiddeti seçici olarak artar.

Yarışmalı öğrenme kurallarında ise Hebb's kuralının aksine çıktı nöronları tek başlarına aktivasyon için diğerleri ile yarışır. Sonuçta sadece tek bir çıktı nöronu aktiftir.

Kohonen öğrenme kuralında yarışmalı öğrenme söz konusudur. Çok yönlü girdi verilerini 2 yönlü alanlara dönüştürür (Şekil 2.23). Kohonen ağırları bir girdi bir de çıktı tabakasına sahiptir. Gizli tabaka içermemektedir.



Şekil 2.23. Kohonen öğrenme kuralı (88).

2.5.6. Yapay Sinir Ağlarının Uygulama Alanları

2.5.6.1. Genel Uygulama Alanları

Yapay sinir ağları günümüzde pek çok alanda tahmin etme ve verilerin değerlendirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. En yaygın kullanım alanları; satış tahminleri, endüstriyel işlem (proses) kontrolü, el yazısı ve konuşma tanıma, müşteri portföyünün araştırılması, verilerin validasyonu, risk yönetimi, pazarlama, bankacılıkta kredi değerlendirilmesi, telekomünikasyon, sigortacılık, proje yönetimi ve virüs koruması gibi bilgisayar programlarıdır (101,105). Tüm bu kullanım alanlarını yanı sıra beyin hasarı çalışmalarında, DNA çalışmalarında, yeni moleküllerin taklidinde, çevre kirlenme seviyesinin kestiriminde, hava tahminlerinde, stok tahminlerinde ve bunlara benzer pek çok konuda yapay sinir ağları ile çalışmalar devam etmektedir.

2.5.6.2. Farmasötik Alandaki Uygulamaları

Farmasötik alanda yapay sinir ağlarının uygulama alanları;

- Epidemiyoloji ve klinik eczacılık
- İlaç tasarımı (moleküler modelleme)
- Dozaj şekillerinin tasarımı ve analizleri
 - Ölçek büyütme (scale-up)
 - Üretim işleminin optimizasyonu
- Kalite kontrol ve kalite güvence çalışmaları
- Formülasyon geliştirme çalışmaları
- Makromoleküllerin tanımlanması
 - Tanımlama/protein yapının tahmin edilmesi
- Biyofarmasötik çalışmalar
- Farmakokinetik ve farmakodinamik modellemeler
- İn-vitro/in-vivo korelasyon
- Biyoeşdeğerlik çalışmalarıdır (88).

2.5.6.2.1 Formülasyon Geliştirme Çalışmalarında Yapay Sinir Ağlarının Kullanımı

Yapay sinir ağları, formülasyon geliştirme çalışmalarının farklı aşamalarında yer alan değişkenlerin optimizasyonu amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Bitmiş ürünün performansını etkileyen değişkenler; formülasyon içeriği, ürün özellikleri (tablet sertliği gibi), üretim yönteminde kullanılan cihaz ölçütleri olabilmektedir. Yapay sinir ağlarının kontrollü salım sistemlerinde kullanımı yaygındır. Günümüzde oral, transdermal, enjeksiyonluk, implante sistemlerin yanında intrauterin araçlar gibi pek çok kontrollü salım sistemi geliştirilmekte ve piyasaya çıkmaktadır. Ancak istenilen in-vivo salımı sağlayacak kontrollü salım formülasyonun geliştirilmesinin karmaşık olması bu sistemlerin geliştirilmesindeki en büyük zorluktur. Kontrollü salım sistemleri için elde edilen ürünün performansını etkileyebilecek “*hot-melt*”, akışkan yatak ile granülasyon veya “*roller compaction*” adı verilen tozların sıkıştırılması ile kuru granülasyon sağlayan pek çok farklı üretim işlemi ve ekipmanı mevcuttur.

Üretim yöntemi ve formülasyondaki değişkenlerin yanı sıra in vivo veya in vitro salımı etkileyen pek çok etken vardır. Polinomial regresyona dayanan bir istatistiksel yaklaşım olan cevap-yüzey yöntemi ile farklı kontrollü salım formülasyonu ve üretim yöntemi optimizasyonu pek çok çalışmada kullanılmıştır. Ancak son yıllarda kontrollü salım sistemlerinin optimizasyonunda yapay sinir ağları başarı ile kullanılmaktadır.

Kontrollü salım formülasyonlarının karmaşık olması ve bu sistemlerin farklı üretim yöntemlerine sahip olmalarından dolayı yapay sinir ağları kullanılarak geliştirilen kontrollü salım sistemleri ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Hemen salım sağlayan sistemlerin daha kolay tahmin edilebilir sistemler olmalarından dolayı bu sistemlerle yapılan yapay sinir ağları uygulamalarının sayısı oldukça azdır.

Formülasyon içeriğinin ürünün performansına etkisinin araştırıldığı çalışmalarda sıklıkla polimerlerin farklı oranları incelenmiş ve istenilen salımı sağlayan en uygun formülasyona ulaşılmaya çalışılmıştır (106-110).

Polimerlerden farklı olarak formülasyonlarda yer alan bağlayıcı, (örn. PVP) (107, 111), kaydırıcı (111, 112), seyreltici-doldurucu (113) ve dağıtıcı (114) gibi diğer yardımcı maddelerin de farklı oran ve tiplerinin ürünün performansına etkisi yapay sinir ağları ile incelenmiştir. Yine pek çok çalışmada tabletlerin ya da partiküler sistemlerin % kaplama oranı bağımsız değişken olarak seçilerek ürünün performansına etkisi yapay sinir ağlarında incelenmiştir (110,114,115).

Ürün performansını test etmek amacıyla kontrollü salım sistemlerinde bağımlı değişken olarak genellikle in-vitro çözünme testinde belirlenen kritik zamanlardaki % çözünen ilaç miktarı seçilmektedir (106-108,111,114,116). Bunun yanında mikroküreler için partikül boyutu (109), lipozomlar için hapsedilen ilaç miktarı (117,118), transdermal sistemler için penetrasyon hızı (119) gibi farklı dozaj şekillerine göre değişen pek çok parametre bağımlı değişken olarak seçilerek yapay sinir ağları uygulanabilmektedir. Literatürde yer alan farklı dozaj şekli, bağımlı ve bağımsız değişken içeren çalışmalardan bazıları Tablo 2.5'te özetlenmiştir.

Tablo 2.5 Yapay sinir ağı yöntemi kullanılarak çalışılan farklı dozaj şekilleri

Dozaj Şekli	Bağımsız Değişkenler (Girdi)	Bağımlı değişkenler (Çıktı)	Referans
Kontrollü Salım Sağlayan Tablet	%Polimer/yardımcı madde Kaplama oranı	% Çözünen ilaç	106-109,113
Osmotik Pompa	Polimer oranı Kaplama oranı	% İlaç salımı	110
Enterik Tablet	Formülasyon ve proses değişkenleri	Gecikme zamanı (Tlag)	112
Mikropellet	Polimer oranı	% Çözünen ilaç	113
Mikropartikül – boncuk	%Kaplama oranı	% İlaç salımı	115
Mikroküre	Polimer oranı Karıştırma süresi	Partikül boyutu	109
Emülsiyon	Su:yağ:yüzey etkin madde	Reolojik özellikler	120
Toz	Toz özellikleri Elek açıklığı	Akış Hızı	121
Granül	Bağlayıcı çözeltisi Cihaz ölçütleri	Akış özellikleri	122
Lipozom	İlaç:yağ oranı Hidrasyon ortamının hacmi	%Hapsedilen ilaç	117,118
Transdermal	Molekül ağırlığı Partisyon katsayısı Hidrofilik:hidrofobik faz	Permeabilite katsayısı Gecikme zamanı	123,124
Hidrojel	% Penetrasyon arttırıcı ajan	Penetrasyon hızı Gecikme zamanı	119

3. DENEYSEL

3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler, Aygıtlar, Malzemeler

3.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Karvedilol	Dr. Reddy's, Hindistan
Hidroklorik Asit (%37)	Merck, Almanya
Trisodyum Fosfat Dodekahidrat	Merck, Almanya
Sodyum Hidroksit	Merck, Almanya
Sodyum Lauril Sülfat	Merck, Almanya
Laktoz Monohidrat (Lactochem)	Borculo Domo Ingredients, Hollanda
Hypromellose™ (HPMC) K4M	Colorcon&Dow Chemicals, Almanya
Hypromellose™ (HPMC) K100LV	Colorcon&Dow Chemicals, Almanya
Klucel™ HPC	Aqualon, ABD
Eudragit™ L100	Basf, Almanya
Eudragit™ EPO	Basf, Almanya
Magnezyum Stearat	Jungbunzlauer, İtalya

3.1.2 Kullanılan Aygıtlar

Erime derecesi tayin cihazı	Thomas Hoover, ABD
Manyetik karıştırıcı	Heidolph, Almanya
Analitik terazi AX200	Shimadzu, Japonya
pH metre	Sartorius, Almanya
Ultrasonik banyo	Advantage Lab, İsviçre
UV Spektrofotometre	Shimadzu, Japonya
FT-IR	Bruker Vector 22, ABD
DSC Q100	TA Instruments, USA
Partikül büyüklüğü tayin cihazı	Malvern Hydro 2000S, İngiltere
Çözünme hızı cihazı	Sotax AT7, İsviçre
Tablet makinası	Korsch-Erweka, Almanya
Yatay çalkalayıcı su banyosu	Memmert, Almanya

3.2. Yöntemler ve Deneyler

3.2.1. Etkin Madde Üzerinde Yapılan İncelemeler

Karvedilolün fizikokimyasal özelliklerinin incelenmesi amacıyla ultraviyole (UV) spektrumu alınmış, partikül büyüklüğü dağılımı analizi, Fourier Transform Infrared Spektrofotometre (FT-IR) analizi, erime derecesi tayini, diferansiyel taramalı kalorimetrik analizi yapılmış ve çalışılan ortamlardaki çözünürlük çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.1. UV Spektrumu

Karvedilolün UV spektrumu, çözünme ortamlarında (0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 tamponu) hazırlanan 25 µg /mL konsantrasyondaki stok çözeltisi kullanılarak alınmıştır. Spektrum alınmasında ve diğer tüm spektrofotometrik analizlerde kuartz küvet kullanılmıştır. UV spektrumu 200-400 nm dalga boyları arasında taranmış, karvedilolün maksimum dalga boyu (λ_{maks}) saptanmıştır.

3.2.1.2. FT-IR Spektrumu

Bruker Vector 22 FT-IR spektrofotometresi ile 650 – 4000 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında toz halinde olan karvedilol hammaddesi ve karvedilol ile formülasyonlarda yer alan polimerlerin birlikte bulunduğu karışım kullanılarak spektrum çekilmiş ve değerlendirilmiştir.

3.2.1.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) ile Analiz

Karvedilolün, formülasyonlarda yer alan polimerlerin karışımının ve karvedilol ile polimer karışımının birlikte olduğu 3 farklı tip örneğin DSC analizi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma DSC Q 100 (TA Instruments, ABD) diferansiyel taramalı kalorimetre kullanılarak yapılmıştır. Alüminyum panlar içine en az 5 mg olacak şekilde yerleştirilen örneklerin 10°C/dak hızda 25 – 300°C sıcaklık aralığında azot atmosferi altında DSC termogramları çekilmiştir. DSC cihazının kalibrasyonu indiyum standardı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.4. Erime Derecesi Tayini

Karvedilolün erime noktası Thomas Hoover Melting Point erime derecesi tayin cihazında saptanmıştır. Bu amaçla karvedilol toz halde kılcal tüp içerisine

konulmuştur. Cihaz beklenen erime derecesi olan 117-118°C'nin yaklaşık 20°C altına kadar ısıtıldıktan sonra, içinde karvedilol yerleştirilmiş olan kılcal tüpler cihaza yerleştirilmiştir. Aletin sıcaklığı yükseltilerek, karvedilolün erimeye başladığı sıcaklık ile erimenin tamamlandığı sıcaklık aralığı tespit edilmiştir.

3.2.1.5. Partikül Büyüklüğü Dağılımı Analizi

Karvedilolün partikül büyüklüğü dağılımının tespit edilmesi için Malvern Mastersizer Hydro 2000S cihazı kullanılmıştır. 10 mg karvedilol tartılmış ve 5 ml'lik balon jojelerde distile su ile dispersiyonu hazırlanmıştır. Karvedilol dispersiyonu 1 dakika boyunca ultrasonik banyoda tutulmuş ve daha sonra partikül büyüklüğü üç defa ölçülmüştür.

3.2.2. Karvedilol Miktar Tayini ve Validasyonu

Karvedilol için miktar tayini UV spektrofotometrede çalışılmıştır. Spekturumu alınarak maksimum absorbans verdiği dalga boyu belirlenmiş, spektrofotometrik yöntemle yapılan çözünme, çözünürlük, validasyon ve stabilite testlerinin tümünde belirlenen bu dalga boyunda çalışılmıştır.

İlaçların araştırılmasında, geliştirilmesinde, üretiminde analitik yöntem geliştirilmesinin ve validasyonunun önemi büyüktür. İncelenmesi gereken validasyon ölçütleri analitik yöntemin tipine göre değişebilmektedir. Analitik yöntemler başlıca 4 sınıfta toplanmıştır (125). Bunlar;

- Tanıma testleri
- Miktar tayini testleri
- Safsızlık (impürite) testleri: kantitatif
- Safsızlık testleri: limit belirleme testleri

Bu testler evrenseldir ancak partikül büyüklüğü analizi, X-ışını kırınımı analizleri gibi özgün testler etkin maddeye özgü özelliklerin kontrolü amacıyla kullanılan testlerdir.

Validasyon çalışmalarında incelenen ölçütler;

- Özgünlük (Specificity)
- Doğrusallık (Linearity)
- Aralık (Range)
- Doğruluk (Accuracy)
- Kesinlik (Precision)
- Saptama Limiti (LOD, Limit of Detection)
- Tayin Limiti (LOQ, Limit of Quantification)
- Sağlamlıktır (Robustness) (125-127).

Tanıma testlerinde sadece özgünlük ölçütü yeterlidir. Ancak kantitatif safsızlık yöntemleri gibi daha karmaşık yöntemlerin validasyonunda sayılan tüm bu validasyon ölçütleri incelenmelidir.

UV spektrofotometrede yapılan karvedilolün miktar tayini yöntem validasyonu için; özgünlük, doğrusallık, aralık, doğruluk, kesinlik, saptama limiti, tayin limiti ve dayanıklılık gibi validasyon ölçütleri incelenmiştir.

3.2.2.1. Özgünlük (Specificity)

Özgünlük, analitin diğer bileşenler varlığında net bir biçimde değerlendirilmesi yeteneği ile ilgili bir ölçüttür (126,127). Analitle beraber bulunabilecek diğer bileşenler;

- Safsızlıklar,
- Parçalanma ürünleri,
- Matriks/formülasyondaki yardımcı maddeler olabilir.

Özgünlüğün gösterilmesinde temsili kromatogram ve spektrumlar yardımıyla görsel olarak girişim olmadığının gösterilmesinden veya var olan 2 pik arasındaki rezolüsyonun hesaplanmasından yararlanılır.

Tez kapsamında çözünme ortamlarının, karvedilolün ve formülasyona giren diğer yardımcı maddelerin çözünme ortamındaki spektrumları ayrı ayrı incelenmiş ve çalışılan dalga boyunda çözünme ortamlarının ve formülasyonda yer alan yardımcı maddelerin pik vermediği gösterilmiştir.

3.2.2.2. Doğrusallık (Linearity)

Yöntemin doğrusallığı belirlenen aralıkta analitin konsantrasyonu ile orantılı test sonucu elde edebilme yeteneğidir (126,127). Doğrusallığın gösterilmesi için en az 5 nokta kullanılmalıdır. Doğrusallık için çözeltiler hammaddenin stok çözeltisinden seyreltme yolu ile veya bileşenlerin ayrı ayrı tartımları alınarak da hazırlanabilir. Çalışma sonucunda korelasyon katsayısı, y-intersept, regresyon doğrusunun eğimi ve elde edilen doğru sunulmalıdır. Bu amaçla karvedilol içeren stoktan seyreltme yolu ile 7 farklı konsantrasyonda, 6 seri hazırlanmıştır. Hazırlanan konsantrasyonlar 2 µg/mL, 3 µg/mL, 4 µg/mL, 5 µg/mL, 6 µg/mL, 7 µg/mL ve 8 µg/mL'dir. Bu konsantrasyonlarda 6 farklı seri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin konsantrasyonuna karşı elde edilen absorbans değerlerinin ortalamalarından regresyon analizi yapılarak; korelasyon katsayısı, y-intersept, regresyon doğrusunun eğimi hesaplanmış ve regresyon doğrusu elde edilmiştir.

3.2.2.3. Aralık (Range)

Analitik yöntemin kesin, doğru ve doğrusal sonuçlar verdiği konsantrasyon aralığıdır (126). Çalışılacak aralık doğrusallık çalışmalarından elde edilir. Spektrofotometrik çalışmalarda analitin konsantrasyonu cihazın duyarlılık aralığına göre seyreltmeler yapılarak ayarlanır. Analitik yöntemin belirlenen aralığının doğrulanması; aralığın içinde veya uç değerlerinde analit içeren örneklerle kabul edilebilir derecede doğrusal, kesin ve doğru sonuçlar elde edilmesiyle gerçekleştirilir.

3.2.2.4. Doğruluk (Precision)

Analitik yöntemin doğruluğu önceden kabul edilen gerçek/referans değer ile deneysel çalışma sonucu bulunan değerlerin yakınlığı şeklinde tanımlanır (127,128). Doğruluk % geri kazanım şeklinde de ifade edilir. Doğruluk formülasyonda yer alan diğer yardımcı maddelerin varlığında eklenen analitin tam olarak geri kazanılması ile ilgili bir ölçüttür.

Karvedilolün miktar tayini validasyonunda doğruluk ölçütünün hesaplanması için formülasyonda bulunan diğer yardımcı maddeler (plasebo) varlığında bilinen miktarda düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlarda karvedilol içeren çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çözeltiler UV-spektrofotometre cihazında okutularak karvedilolün yardımcı maddeler varlığında % geri kazanımı hesaplanmıştır.

3.2.2.5. Kesinlik (Accuracy)

Analitik yöntemin kesinliği, tanımlanan koşullarda örnek üzerinden alınan pek çok örnekleme ile elde edilen sonuçlar arasındaki yakınlık olarak tanımlanır (126-128). Analitik yöntemin kesinliği standart sapma, % varyasyon katsayısı ile ifade edilir. Kesinlik ölçütünün 3 düzeyi vardır. Bunlar;

- Tekrarlanabilirlik
- Ara kesinlik
- Tekrar elde edilebilirlik

3.2.2.6. Tekrarlanabilirlik (Repeatability)

Tekrarlanabilirlik; deney-içi (intra-assay) kesinlik olarak da ifade edilir (126). Tekrarlanabilirlik çalışmaları;

- Kısa zaman dilimlerinde,
- Aynı örnekten
- Aynı deney koşullarında yapılmalıdır.

Karvedilolün miktar tayini validasyonunda tekrarlanabilirlik ölçütünün gösterilmesi için aynı örnekten ardı ardına 10 okuma yapılmış ve sonuçlar standart sapma ve % varyasyon katsayısı şeklinde ifade edilmiştir.

3.2.2.7. Ara Kesinlik (Intermediate Precision)

Ara kesinlik laboratuvar-içi (intra-laboratory) kesinlik olarak da bilinir (126). Laboratuvar içi kesinlikte incelenen varyasyonlar gün, analist, ekipman ve cihaz farklılıklarından doğan varyasyonlardır. Bu varyasyonların tek tek incelenmesi gerekli değildir. Karvedilolün miktar tayini validasyonunda ara kesinlik ölçütünün gösterilmesi için günler arası kesinlik incelenmiş, bu amaçla birbirini takip eden üç günde düşük, orta ve yüksek konsantrasyonda hazırlanan karvedilol çözeltileri analiz edilerek günler arası varyasyon incelenmiştir.

3.2.2.8. Tekrar Elde Edilebilirlik (Reproducibility)

Tekrar elde edilebilirlik laboratuvarlar arası (inter-laboratory) kesinliktir (125). Farklı laboratuvarlarda kullanılan aynı yöntemle kabul edilebilir sonuçların elde edilebilirliğin gösterilmesidir. Yöntemin standardizasyonu için laboratuvarlar arası çalışmalar uygulanır. Özellikle kalite kontrol laboratuvarlarına taşınması gereken yöntemlerin validasyonunda bu ölçüt incelenmelidir. Bu nedenle tez kapsamında geliştirilen yöntemin validasyonunda bu ölçüt incelenmemiştir.

3.2.2.9. Saptama Limiti (Limit of Detection, LOD)

Örnekteki analitin saptanabilen en düşük miktarıdır (126,127,129). Burada miktarın kesin bir değerle saptanması gerekli değildir. Saptama limitinin hesaplanmasında Eşitlik 3.1'deki yanıtın standart sapmasına ve eğime bağlı yöntem kullanılmış olup, eğim; kalibrasyon doğrusunda yer alan eğim değeri, standart sapma; ayrı ayrı serilerin regresyon doğrusundaki y-intersept değerinin standart sapmasıdır.

$$\text{Saptama Limiti} = \frac{3.3\sigma}{S} \quad (3.1)$$

σ = Serilerin regresyon doğrusundaki y-intersept değerinin standart sapması

S = Kalibrasyon doğrusunda yer alan eğim değeridir.

3.2.2.10. Tayin Limiti (Limit of Qualification, LOQ)

Örnekteki analitin tayin edilebilen en düşük miktarıdır (126,127,129). Burada miktarın kesin bir değerle saptanması gereklidir. Tayin limitinin hesaplanmasında Eşitlik 3.2'deki cevabın standart sapmasına ve eğime bağlı yöntem kullanılmış olup, eğim; kalibrasyon doğrusunda yer alan eğim değeri, standart sapma; ayrı ayrı serilerin regresyon doğrusundaki y-intersept değerinin standart sapmasıdır.

$$\text{Tayin Limiti} = \frac{10\sigma}{S} \quad (3.2)$$

σ = Serilerin regresyon doğrusundaki y-intersept değerinin standart sapması

S = Kalibrasyon doğrusunda yer alan eğim değeridir.

3.2.2.11. Dayanıklılık (Stability)

Karvedilolün analiz süresince dayanıklılığının tespiti için 5 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan çözelti UV spektrofotometrede 0., 1., 6., 12. ve 24 saatlerde analiz edilmiştir. Test süresince çalışılan ortamlarda karvedilolün dayanıklı olduğu gösterilmiştir.

3.2.3. Çözünürlük Çalışmaları

Çözünme testlerinin yapıldığı 0.1N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarında karvedilolün çözünürlük çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Karvedilolün bu ortamlardaki çözünürlük değerinin saptanması için etkin maddenin aşırı miktarı 15 mL'lik cam flakonlara konulmuş, üzerine 10 mL çözünme ortamı eklenmiştir. Her bir flakona eklenen karvedilol miktarı 150 mg olarak seçilmiştir. Doldurulan flakonlar kauçuk ve alüminyum kapaklarla kapatılmıştır. Hazırlanan örnekler, önceden $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 'ye ısıtılmış yatay çalkalayıcıda 24 saat boyunca, dakikada 20 devir olacak şekilde çalkalanmıştır. Her iki ortamdaki çözünürlük değerinin tespiti için 1. ve 24. saatlerde örnekler alınarak UV spektrofotometrede okutulmuştur.

3.2.4. Formülasyon Çalışmaları

Formülasyon çalışmaları çerçevesinde 9 ayrı formülasyon çalışılmıştır. Formülasyonlarda etkin madde dışında seyreltici-doldurucu, kaydırıcı, pH'dan bağımsız ve pH'ya bağımlı davranış gösteren polimerler olmak üzere toplam 7 farklı yardımcı madde bulunmaktadır. Formülasyonlarda yer alan yardımcı maddeler ve fonksiyonları Tablo 3.1'de özetlenmiştir. Hazırlanan formülasyonlarda HPMC K4M ve EUDRAGIT™ L100'ün üç farklı düzeyi çalışılmıştır. Diğer tüm yardımcı maddelerin miktarları sabit tutularak tablet ağırlığı laktoz monohidrat miktarı değiştirilerek sabit tutulmuştur. Hazırlanan formülasyonların % içerikleri Tablo 3.2'de birim formülleri Tablo 3.3'te gösterilmiştir.

Hazırlanan tozlar tablet makinası yardımıyla doğrudan basım yöntemi kullanılarak basılmıştır. Üretim yöntemlerine ilişkin işlem Şekil 3.1'de açıklanmıştır. Tabletler 12 mm yuvarlak, düz, çentiksiz zimbalar kullanılarak 16-18 kP sertlikte, tablet ağırlığı 500 mg olacak şekilde hazırlanmıştır.

Tablo 3.1. Formülasyonlarda yer alan yardımcı maddeler ve fonksiyonları

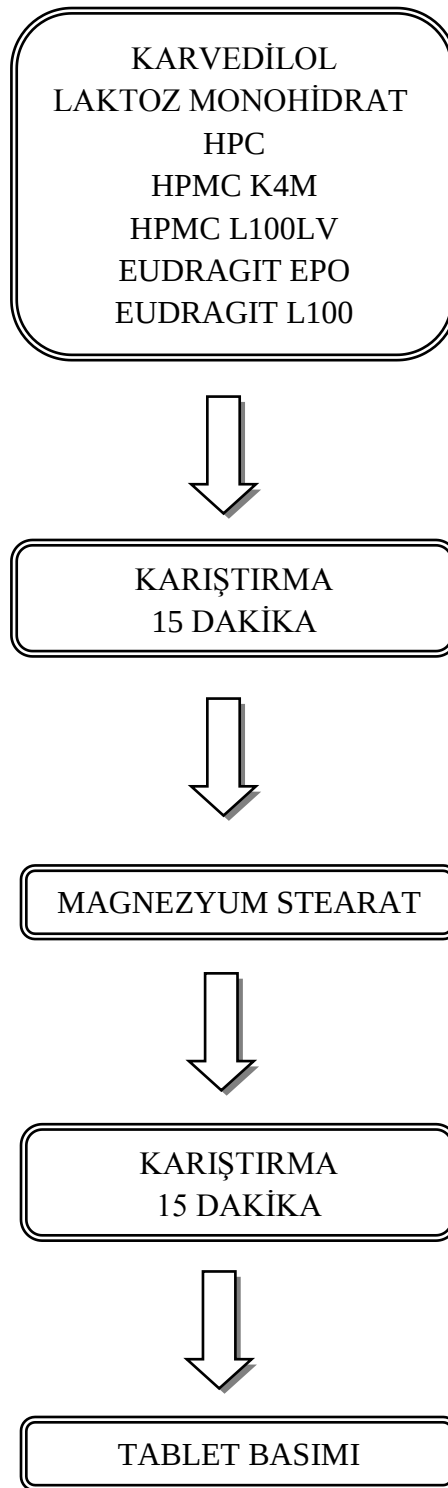
Madde	Fonksiyon
Karvedilol	Etkin madde
Laktoz Monohidrat	Seyreltici-doldurucu
HPC	Nötral polimer
HPMC K4M	Yüksek viskoziteli nötral polimer
HPMC K100LV	Orta viskoziteli nötral polimer
EUDRAGIT™ L100	Anyonik polimer
EUDRAGIT™ EPO	Katyonik polimer
Magnezyum Stearat	Kaydırıcı

Tablo 3.2. Hazırlanan formülasyonlara ilişkin % içerik

[illegible]

Tablo 3.3. Hazırlanan formülasyonların birim formülleri (mg)

[illegible]



Şekil 3.1. Tablet formülasyonlarına ilişkin üretim akış şeması

3.2.5. Çözünme Deneyleri

3.2.5.1. Çözünme Ortamlarının Hazırlaması

Çözünme deneyleri için “USP <711> Dissolution” bölümünde yer alan Yöntem A seçilmiştir. Yöntem A; asit faz ve tampon faz olmak üzere 2 ayrı aşama içerir.

Asit faz: 0.1 N HCl hazırlanarak çözünme beherlerine 750 mL olacak şekilde doldurulur. 37°C’de 2 saat deney sürdürülür.

Tampon faz: 2. saatin sonunda 750 mL 0.1 N HCl içeren çözünme beherlerine 37°C’ye ısıtılmış 250 mL 0.20 M tribazik sodyum fosfat eklenir. Beherlerin pH’sı kontrol edilerek pH değeri pH 6.8’den farklı ise 2N sodyum hidroksit veya 2N hidroklorik asit ile pH 6.8 ±0.05’e ayarlanır.

Hazırlanan karvedilol kontrollü salım tabletlerinin çözünme testinde Yöntem A’ya ek olarak pH 6.8’e geçiş aşamasında ortama %0.5 SLS de eklenmiştir.

3.2.5.2. Çözünme Deneyi Koşulları ve Çözünme Profilleri

Çözünme deneyi 24 saat boyunca izlenmiş, 12 ayrı zaman noktasında çözünme ortamından örnekler alınmıştır. Çözünen karvedilol miktarı UV spektrofotometre kullanılarak tayin edilmiştir. Alınan örnek miktarı kadar taze ortam eklenmiştir. Çözünme testindeki koşullar aşağıdaki gibi özetlenebilir;

Yöntem	: USP Yöntem II (Pedal yöntem)
Hız	: 75 rpm
Ortam	: 0.1 N HCl (2 saat)- pH 6.8 +%0.5 SLS (2-24 saat)
Sıcaklık	: 37°C
Ortam hacmi	: 750 mL (2saat) - 1000 mL (2-24 saat)
Örnek alma zamanları	: 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24. saat

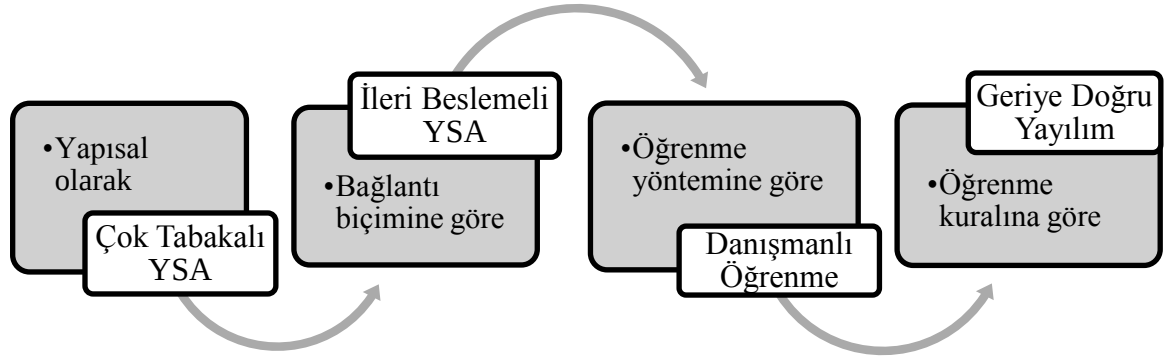
Yukarıda belirtilen örnek alma zamanlarındaki % çözünen karvedilol verileri kullanılarak çözünme profilleri elde edilmiştir. Formülasyonların 0. derece salım kinetikleri Eşitlik 3.3 kullanılarak hesaplanmıştır (130).

$$Q_t = Q_0 + k_0 t \quad (3.3)$$

Bu eşitlikte Q_t ; t zamanında çözünmüş ilaç miktarı, Q_0 ; başlangıçtaki çözünmüş ilaç miktarı (çoğu zaman bu değer 0’dır), k_0 ; 0. derece salım hız sabitidir.

3.2.6. Yapay Sinir Ağları Uygulamaları

MATLAB 7.0.1 programı yapay sinir ağları uygulamalarında kullanılmıştır. Bu amaçla kullanılan yapay sinir ağının tipi Şekil 3.2'deki gibidir.



Şekil 3.2. Kullanılan yapay sinir ağı uygulamasının özellikleri

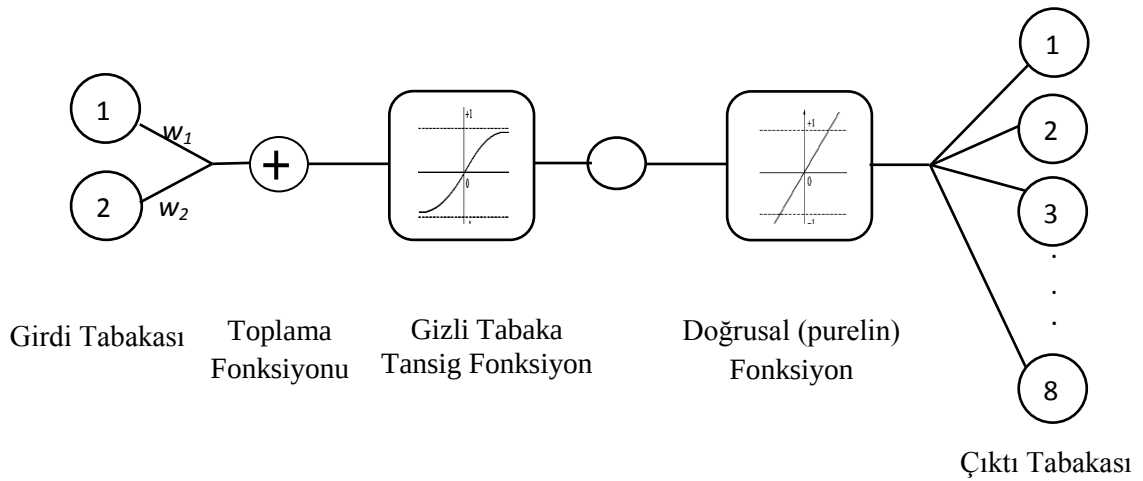
Yapay sinir ağı uygulamasında girdi ve çıktı tabakasının dışında bir veya daha fazla sayıda gizli tabaka içeren çok tabakalı ağ kullanılmış, geriye doğru yayılım öğrenme kuralı ile ileri beslemeli yapay sinir ağı (back-propagation feed-forward neural network) modeli seçilmiştir.

Yapay sinir ağının girdi tabakası, %HPMC K4M ve %EUDRAGIT™ L100 olmak üzere 2 bağımsız değişkenden oluşmaktadır. Bu iki bağımsız değişkenin 3 farklı düzeyine sahip formülasyonlar hazırlanmış ve zamana karşı % çözünen karvedilol değerleri elde edilmiştir (n=3). Deney tasarımı kullanılan “central composite” modeli Tablo 3.4’te özetlenmiştir. Bağımsız değişkenlerin orta düzeyi (0,0 düzeyi) toplamda 5 tekrarlı olarak çalışılmıştır. Böylelikle bağımsız değişkenlerin farklı düzeylerinde 13 çözünme testi gerçekleştirilmiştir. Çıktı tabakası ise belirlenen 12 ayrı zaman noktasında % çözünen karvedilol bağımlı değişkenidir.

Tablo 3.4. Çözünme testlerinde kullanılan central composite modeli

Deneme No	Bağımsız Değişken Kodları		Bağımsız Değişken Yüzdeleri	
	X_1	X_2	% X_1	% X_2
1	-1	-1	% 4.5	%0
2	-1	0	% 4.5	%15
3	-1	1	% 4.5	%30
4	0	-1	%7.5	%0
5	0	0	%7.5	%15
6	0	1	%7.5	%30
7	1	-1	%10.5	%0
8	1	0	%10.5	%15
9	1	1	%10.5	%30
10	0	0	%7.5	%15
11	0	0	%7.5	%15
12	0	0	%7.5	%15
13	0	0	%7.5	%15
Kod Düzeyi		-1	0	1
X1	% HPMC K4M	%4.5	%7.5	%10.5
X2	% Eudragit TM L100	%0	%15	%30

Yapay sinir ağının eğitilmesi için sisteme HPMC K4M ve EUDRAGIT™ L100'ün formülasyonlardaki yüzdeleri (girdi verileri) ile bu formülasyonların deneysel olarak bulunan 12 farklı zaman noktasındaki %çözünen karvedilol değerleri (çıkı verileri) girilmiştir. Ağın eğitilmesi sırasında en uygun gizli tabaka sayısı, gizli tabakadaki nöron sayısı, aktivasyon fonksiyonu deneme-yanılma yolu ile bulunmuştur. Girdi ve çıkı tabakası arasında 1 adet gizli tabaka, bu gizli tabakada 2 adet düğüm yer almaktadır. Aktivasyon fonksiyonu olarak gizli tabakada “tansig” adı verilen tanjant-sigmoid fonksiyon, çıkı tabakasında “purelin” adı verilen doğrusal fonksiyon kullanılmaktadır. Kullanılan yapay sinir ağı modeli Şekil 3.3'te gösterilmiştir.



Şekil 3.3. Kullanılan yapay sinir ağı modeli

Gizli tabakadaki aktivasyon fonksiyonu; yapay sinir ağlarında en sık kullanılan sigmoid fonksiyondur. Bu fonksiyon ile veriler 0-1 değerleri arasında normalize edilir. Yani öğrenme işlemleri sırasında tüm veriler 0-1 aralığında değerler alır. Sistemin ürettiği çıktılar da yine 0-1 aralığındadır. Öğrenme tamamlandığında veriler çevrilerek gerçek çıkı değerleri elde edilir.

Öğrenme; sisteme girilen istenen hata değerine ulaşınca kadar devam eder, istenilen hata değerine ulaşınca öğrenme durur. Yapay sinir ağının eğitilmesinde Bayesian düzeltme, BR (Bayesian Regulization) adı verilen bir yöntem kullanılmıştır. Bu yöntem öğrenme sırasında hata kareler toplamı (HKT), ağırlık kareler toplamı (AKT) ve etkili parametre sayısı gibi bazı ölçütleri minimize ederek daha iyi bir

genelleme yapmayı sağlamaktadır. Yapay sinir ağında Bayesian düzeltme yöntemi olan “*trainbr*” komutunu kullanmanın en önemli özelliği “*overfitting*” denilen aşırı öğrenme nedeniyle sonuçların kötü çıkmasını engellemektir. Yeterli sayıda yinelemeye (iterasyon/epochs) ulaşıncaya öğrenme durur. Bu da Bayesian düzeltme yönteminin sağladığı en önemli üstünlüğüdür.

Yapay sinir ağının öğrenme işlemi tamamlandığında; daha önce hiç çalışılmamış bağımsız değişken değerleri ile elde edilecek sonuçlar kestirilebilir. Sisteme girilen yeni girdi verileriyle ağ tahmini çıktı verilerini oluşturur. Sistemin tahmin yeteneği deneysel ve tahmini veriler arasındaki % hatanın düşük olmasıyla ölçülebilir. %Hata değerlerine ek olarak ağdan elde edilen tahmini verilerle deneysel veriler arasındaki korelasyon katsayısı ve f_2 benzerlik testleri ile sistemin tahmin yeteneği ölçülmüştür.

f_2 benzerlik testi çözünme profillerinin kıyaslanması için kullanılan modelden bağımsız bir testtir (131). f_2 değeri; test ve referans değerle yapılan karşılaştırmalarda hata kareler toplamının logaritmik dönüşümü sonucunda elde edilmektedir. f_2 değerinin hesaplanmasında Eşitlik 3.3 kullanılmaktadır. Karşılaştırılan iki çözünme profilinin f_2 değeri 50’nin üzerinde ise söz konusu iki profilin benzer olduğu düşünülür.

$$f_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\} \quad 3.3$$

R_t : t zamanında çözünen referans ilaç miktarı

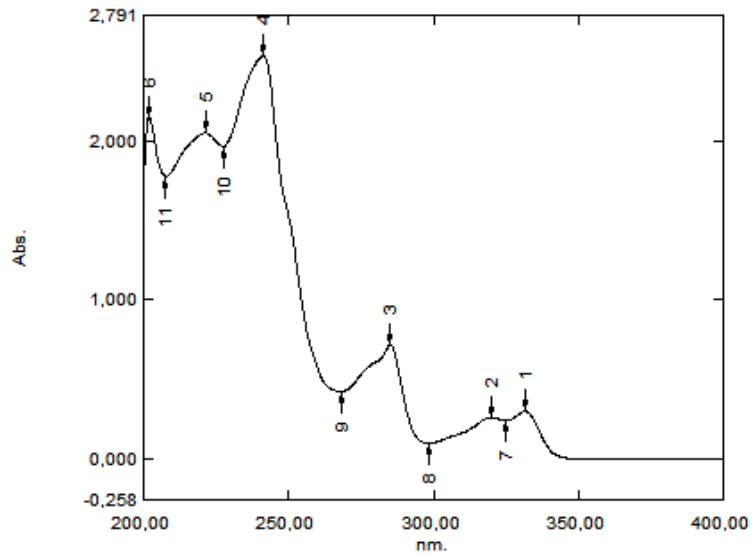
T_t : t zamanında çözünen test ilaç miktarı

4. BULGULAR

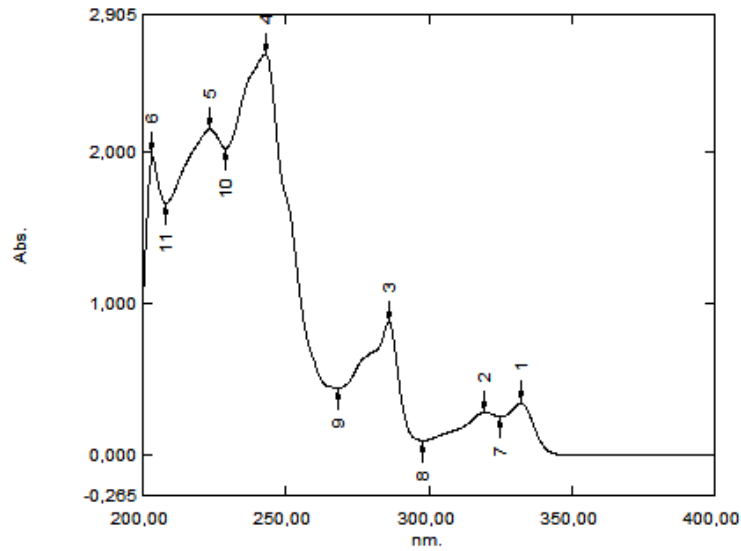
4.1 Etkin Madde ve Formülasyonlar Üzerinde Yapılan İncelemeler

4.1.1 Karvedilolün UV Spektrumu

Bölüm 3.2.1.1’de anlatıldığı gibi karvedilolün UV spektrumu, hazırlanan 25 µg/mL konsantrasyonundaki stok çözeltisi kullanılarak alınmıştır. Çözünme testlerinde kullanılan 0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarındaki UV spektrumu Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de gösterildiği gibi 200-400 nm dalgaboyları arasında taranmış, karvedilolün maksimum dalga boyu (λ_{maks}) değeri 241 nm olarak saptanmıştır. Spektrofotometrik yöntemle yapılan çözünme, çözünürlük, validasyon ve stabilite testlerinin tümü 241 nm’de gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.1. Karvedilol çözeltisinin 0.1 N HCl ortamındaki UV spektrumu



Şekil 4.2. Karvedilol çözeltisinin %0.5 SLS içeren pH 6.8 tamponundaki UV spekturumu

4.1.2 FT-IR Spektrumu

Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te görüldüğü gibi karvedilolün ve karvedilol ile formülasyonda yer alan polimerlerin birlikte bulunduğu karışımın 650 – 4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında FT-IR spektrumu çekilmiştir. İlk olarak karvedilole ait FT-IR spektrumu incelenmiştir.

3000-3500 cm^{-1} 'de –OH ve –NH gruplarına ait pikler gözlenir. Karvedilole ait FT-IR spektrumunda 3341 cm^{-1} 'de görülen pik bu gruplara aittir. Karvedilolün yapısında hem –NH hem de sekonder –OH grupları yer almaktadır. Bu tip durumlarda bu gruplardan birinin pikinin görülmeme olasılığı yüksektir.

3000 cm^{-1} 'nin hemen altında alifatik –CH grupları beklenir. Karvedilole ait FT-IR spektrumunda 2925 cm^{-1} 'de görülen pik bu gruplara aittir.

1500-1650 cm^{-1} aralığında aromatik yapıya ait C=C rezonans çift bağ gerilim bantları beklenir. 1501 cm^{-1} 'de görülen pik bu gruplara aittir.

1100-1200 cm^{-1} aralığında C-O pikleri gözlenir. Karvedilole ait FT-IR spektrumunda 1096 cm^{-1} 'de görülen belirgin ve keskin pik bu gruba aittir.

650-1300 cm^{-1} aralığı parmak izi bölgesidir. Aromatik yapı varlığında bu bölgede pikler çok yoğun olur. Karvedilole ait FT-IR spektrumunda 650-1300 cm^{-1}

aralığında çok yoğun pikler gözlenmektedir. Bu da yapıda aromatik halka varlığını gösterir.

Daha sonra karvedilol ve formülasyonda yer alan polimerlerin birlikte bulunduğu karışıma ait FT-IR spektrumu incelenmiştir.

3341 cm^{-1} 'de gözlenen pik; 3000-3500 cm^{-1} aralığında gözlenebilen karvedilolün yapısında bulunan -OH veya -NH gruplarına ait piktir.

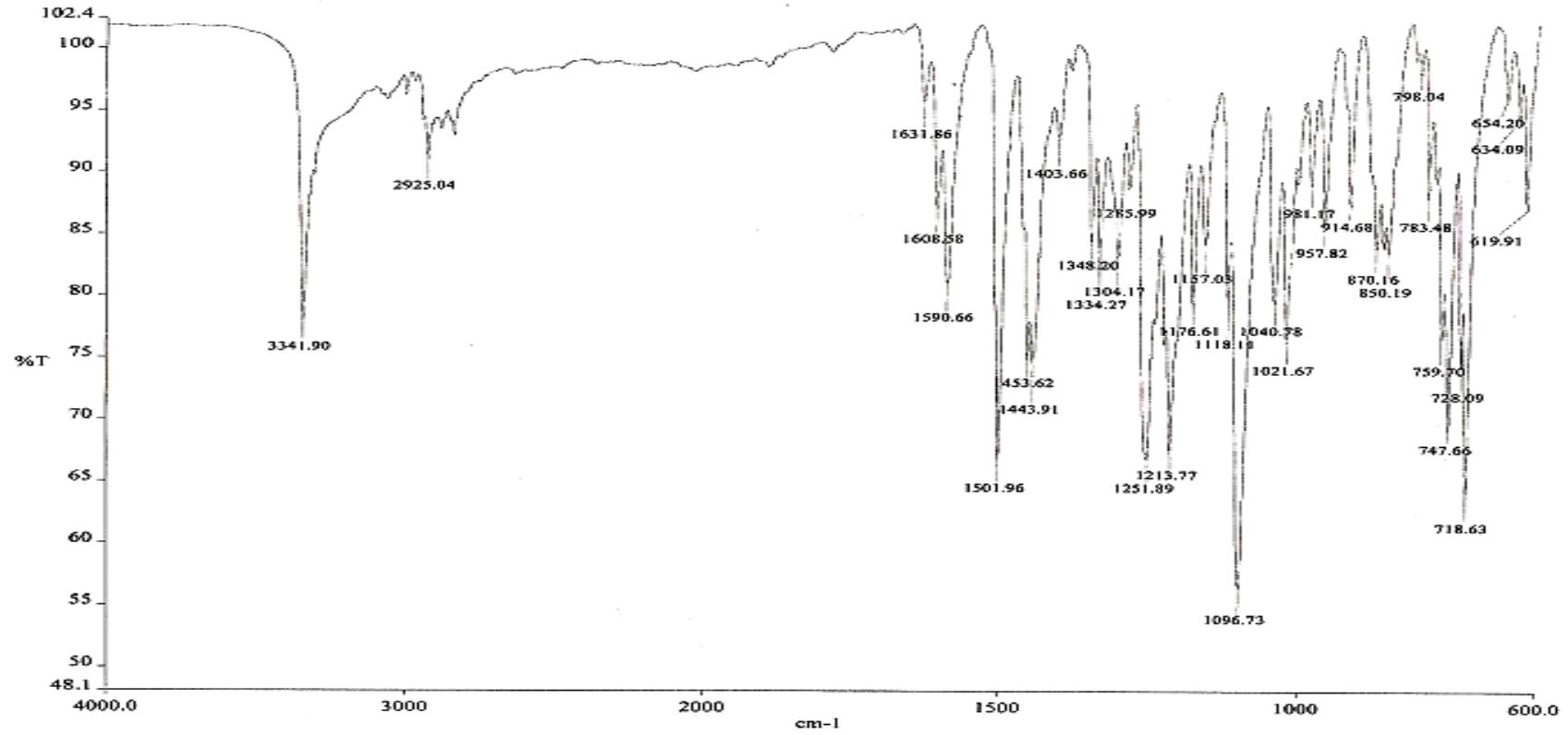
2925 cm^{-1} 'de görülen pik 3000 cm^{-1} 'nin hemen altında gözlenebilen karvedilolün yapısında bulunan alifatik -CH gruplarına ait piktir.

1502 cm^{-1} 'de görülen pik 1500-1650 cm^{-1} aralığında gözlenebilen karvedilolün yapısında bulunan aromatik yapıya ait C=C rezonans çift bağ gerilim bantlarına ait piktir.

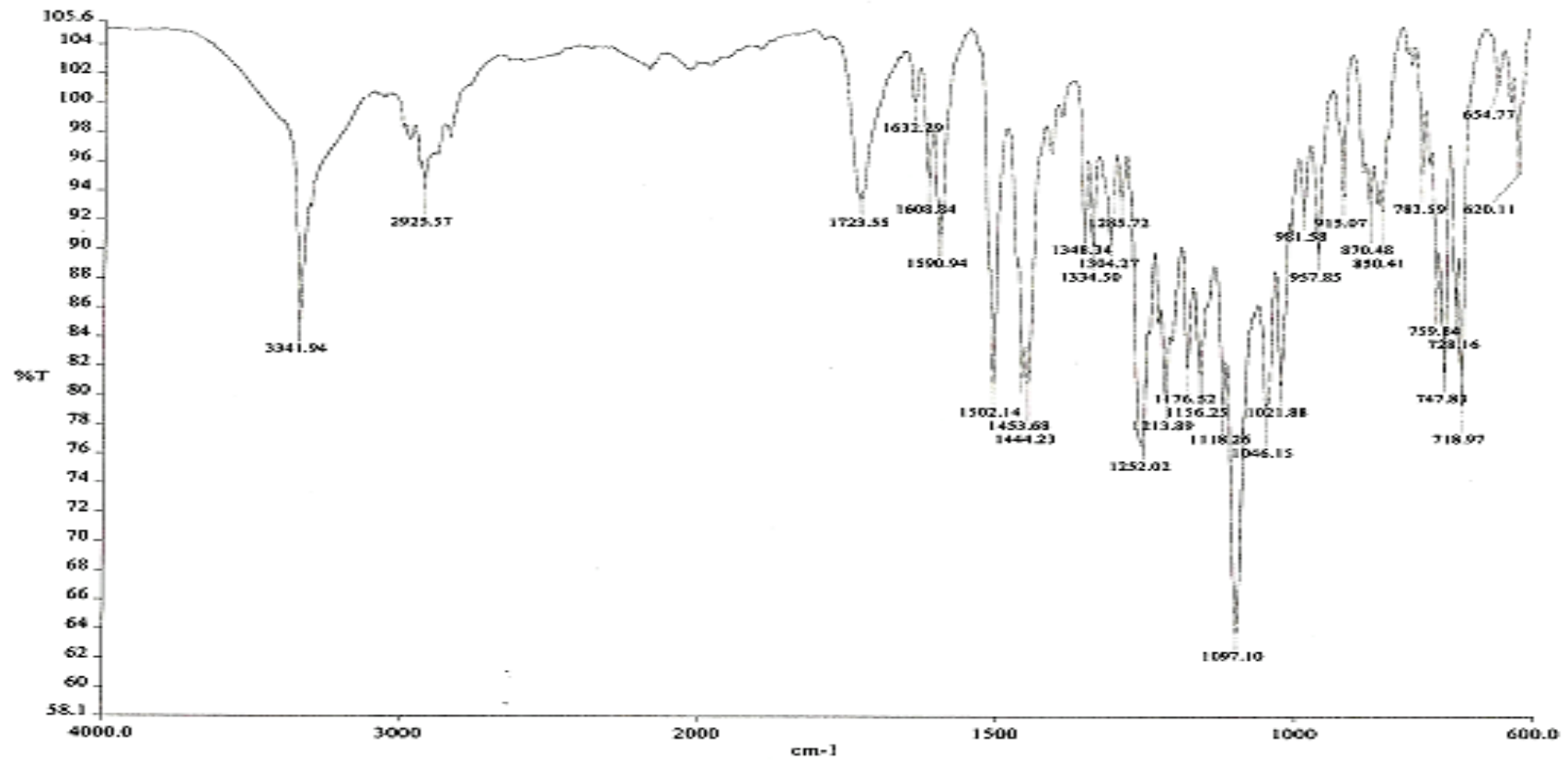
1097 cm^{-1} 'de görülen pik 1100-1200 cm^{-1} aralığında gözlenebilen karvedilolün yapısında bulunan C-O grubuna ait piktir.

650-1300 cm^{-1} aralığında çok yoğun pikler gözlenmektedir. Bu da karvedilolün yapısında bulunan aromatik halkaya ait piklerdir.

Karvedilolün tek başına ve polimerler varlığında FT-IR spektrumu incelendiğinde, karvedilole ait fonksiyonel gruplar polimerler varlığında da gözlenmiştir. Dolayısıyla FT-IR spektrumlarına bakılarak karvedilol ile polimerler arasında herhangi bir etkileşim olmadığı söylenebilir.



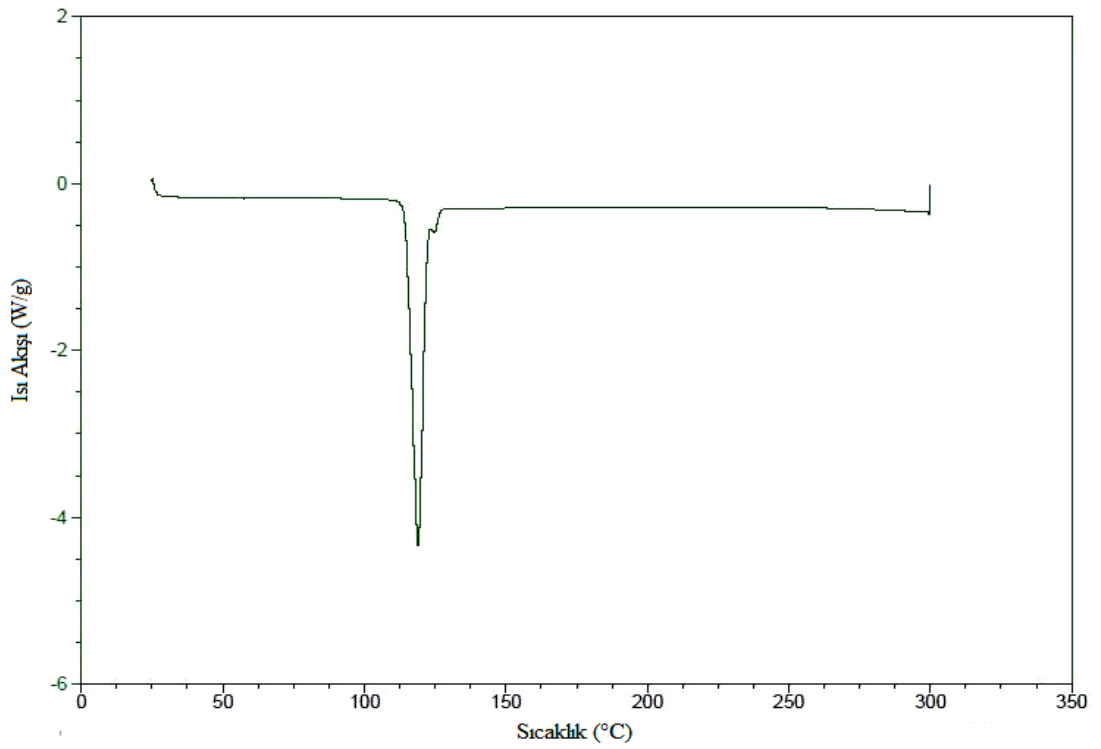
Şekil 4.3. Karvedilole ait FT-IR spektrumu



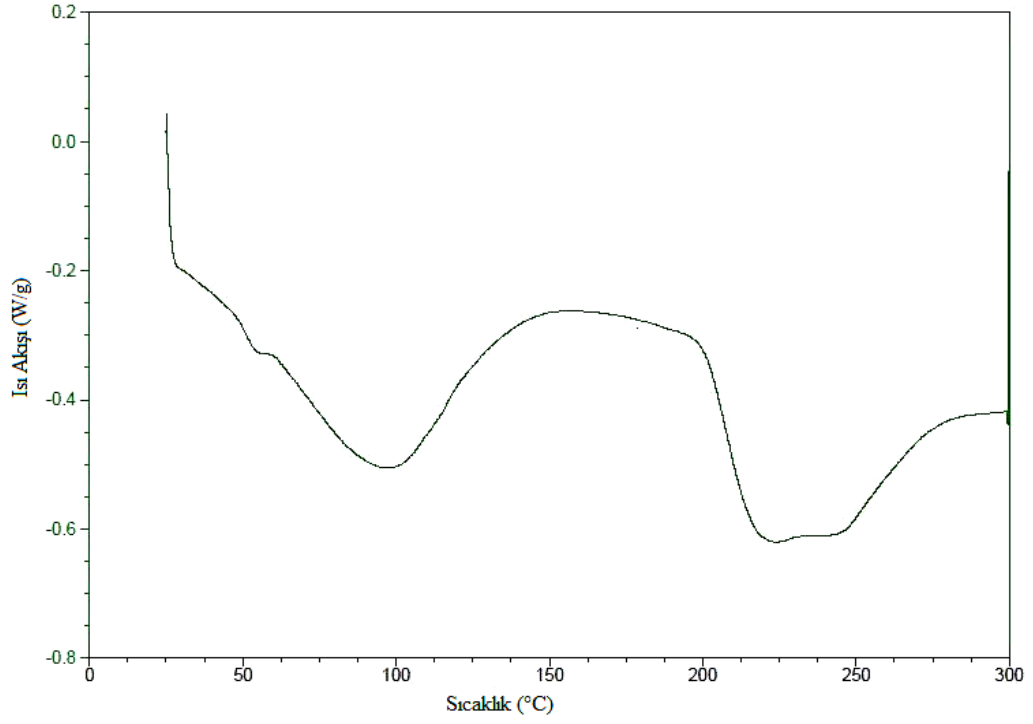
Şekil 4.4. Karvedilol ve polimer karışımına ait FT-IR spektrumu

4.1.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) ile Analiz

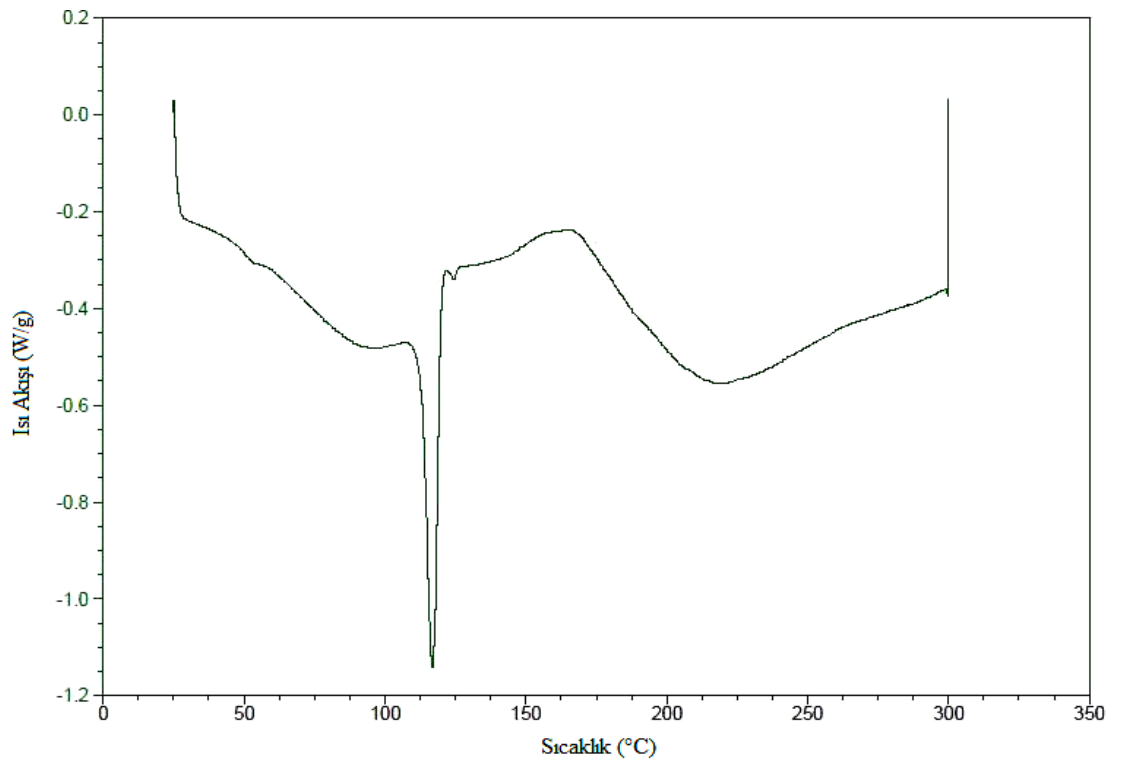
Bölüm 3.2.1.3'te belirtildiği gibi karvedilolün, formülasyonlarda yer alan polimerler karışımının ve karvedilol ile polimer karışımının birlikte olduğu 3 farklı tip örneğin DSC analizi gerçekleştirilmiş, karvedilolün polimerler varlığında DSC termogramında herhangi bir kayma, bozulma veya değişme gözlenmemiştir (Şekil 4.5-4.7). Karvedilolün polimerlerle herhangi bir etkileşimi söz konusu değildir. Karvedilolün hem tek başına, hem de polimerler varlığında erime piki 119°C 'de gözlemiştir.



Şekil 4.5. Karvedilole ait DSC termogramı



Şekil 4.6. Formülasyonlarda yer alan polimer karışımına ait DSC termogramı



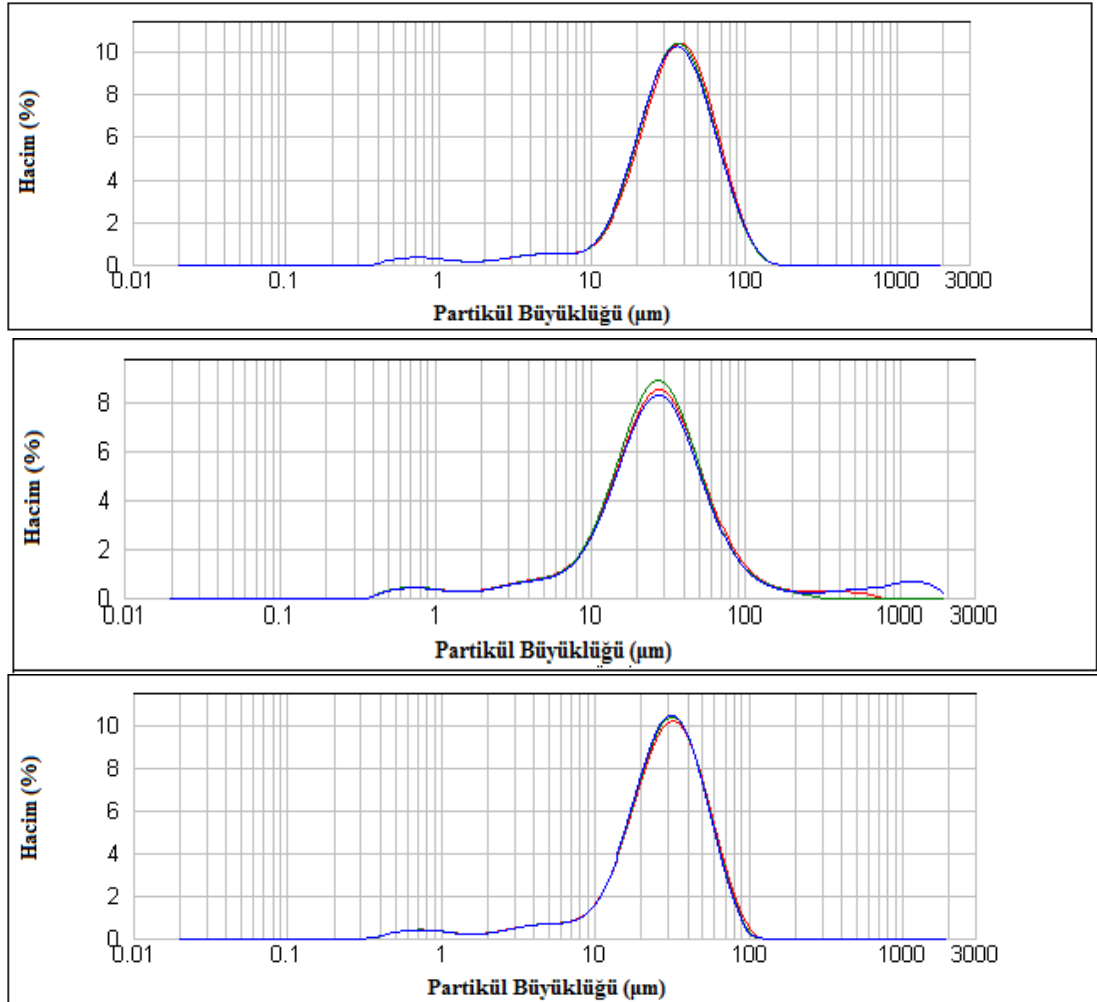
Şekil 4.7. Karvedilol ve formülasyonlarda yer alan polimerlerin birlikte bulunduğu karışıma ait DSC termogramı

4.1.4. Erime Derecesi Tayini

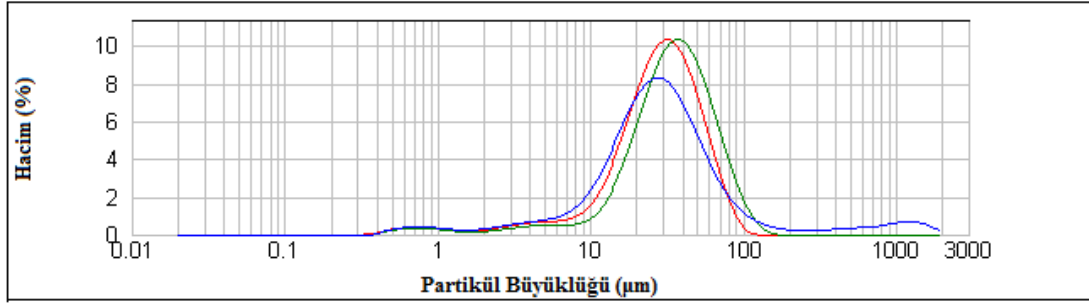
Karvedilolün erime derecesi tayini Bölüm 3.2.1.4'te anlatıldığı gibi gerçekleştirilmiştir. Erime derecesi 118°C-119°C bulunmuştur.

4.1.5. Partikül Büyüklüğü Dağılımı Analizi

Karvedilole ait partikül büyüklüğü analizi Bölüm 3.2.1.6'daki gibi yapılmıştır. Suda 2mg/mL karvedilol içeren 3 örnek hazırlanmış, her bir örnek 3 kere ölçülmüştür. Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da her bir örneğin partikül boyutu dağılımı ve 3 örneğin partikül boyutu dağılımına ait ortalamalarının kıyaslandığı grafikler yer almaktadır. Karvedilolün ortalama partikül büyüklüğü $70.74 \mu\text{m} \pm 14.26$ bulunmuştur.



Şekil 4.8. Karvedilolün partikül büyüklüğü dağılımı



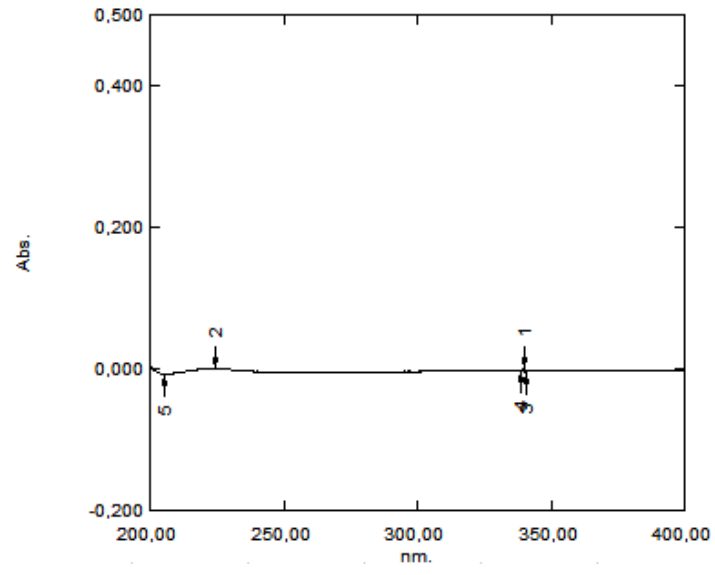
Şekil 4.9. Karvedilole ait her bir örneğin ortalama partikül büyüklükleri dağılımı

4.2. Karvedilol Miktar Tayin Validasyonu

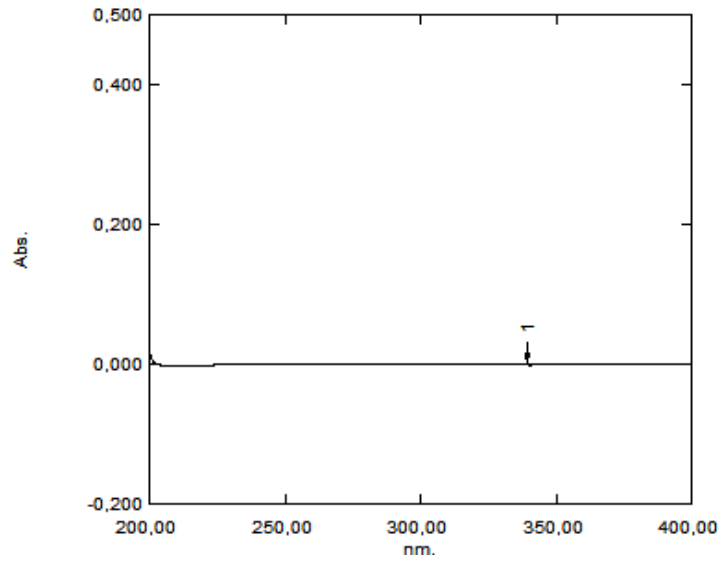
Karvedilol için UV spektrofotometrede yapılan miktar tayini yöntem validasyonunda; özgünlük, doğrusallık, aralık, doğruluk, kesinlik, saptama limiti, tayin limiti, dayanıklılık gibi validasyon ölçütleri incelenmiştir. Sonuçları aşağıda verilmiştir.

4.2.1. Özgünlük (Seçicilik, Spesifiklik)

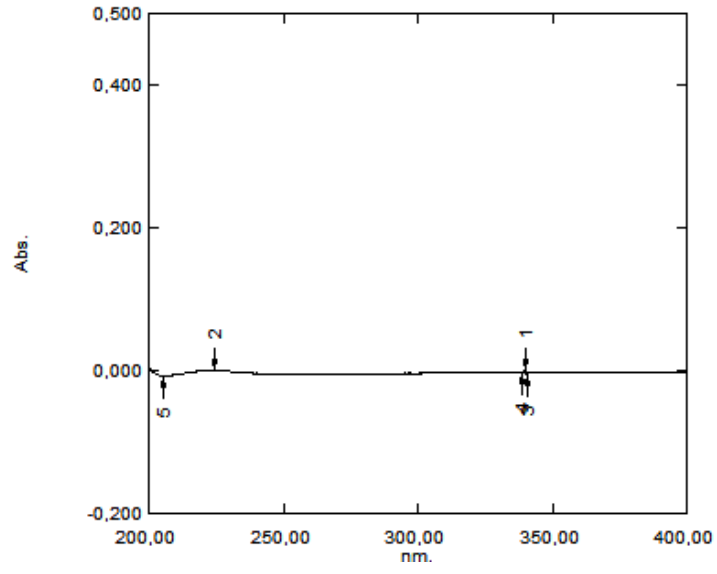
Bölüm 3.2.2.1'de açıklandığı gibi 0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarında karvedilolün maksimum absorbans verdiği 241 nm dalga boyunda çözünme ortamı ve formülasyona giren yardımcı maddelerin absorbans gösterip göstermediği test edilmiştir. Çözünme ortamlarının ve formülasyona giren diğer yardımcı maddelerin 200-400 nm dalga boyu aralığında spektrumları alınarak 241 nm'de herhangi bir absorbans vermediği gösterilmiştir. Alınan spektrumlar Şekil 4.10-Şekil 4.13'te gösterilmiştir. Geliştirilen yöntem karvedilol etkin maddesine özgün bir yöntemdir.



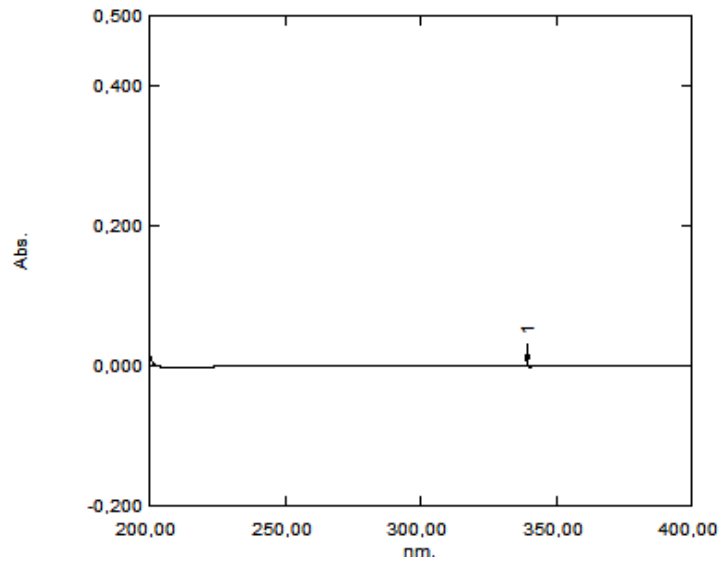
Şekil 4.10. 0.1 HCl ortamına ait UV spektrumu



Şekil 4.11. %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamına ait UV spektrumu



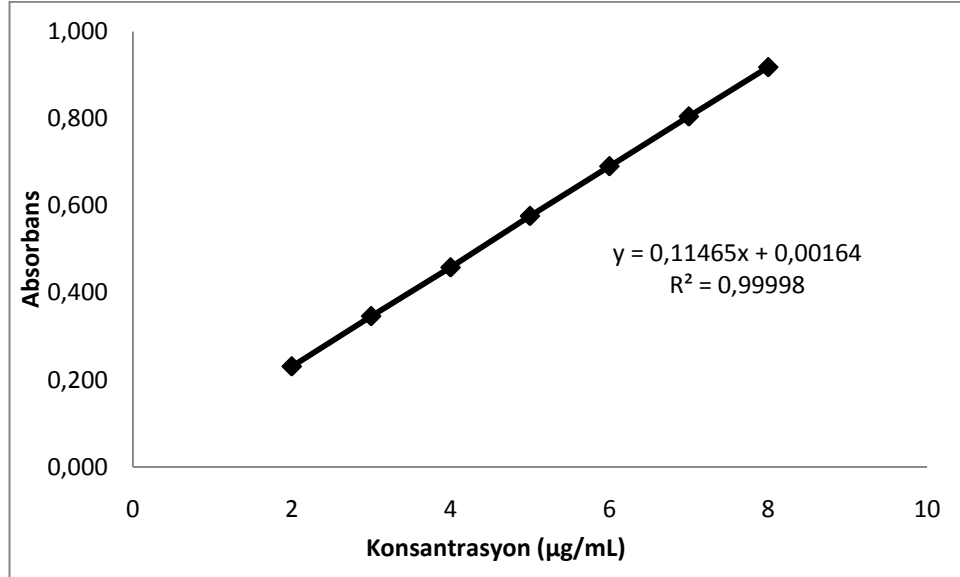
Şekil 4.12. Formülasyonlara giren diğer yardımcı maddelerin 0.1 N HCl ortamındaki UV spektrumu



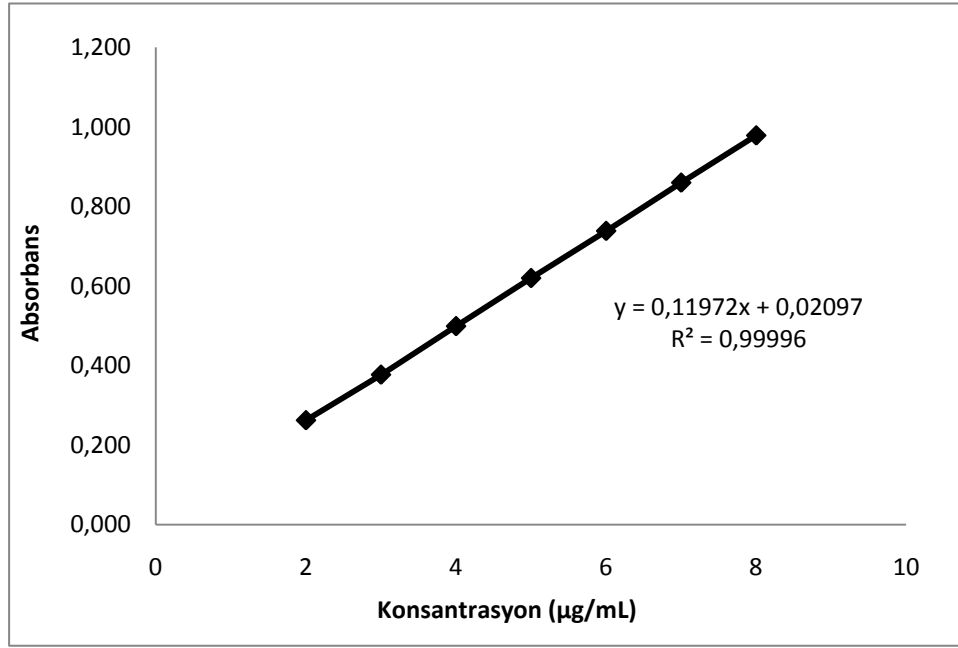
Şekil 4.13. Formülasyonlara giren diğer yardımcı maddelerin % 0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamındaki UV spektrumu

4.2.2. Doğrusallık

Bölüm 3.2.2.2’de açıklandığı gibi 0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 çözünme ortamlarında 2µg/mL, 3µg/mL, 4µg/mL, 5µg/mL, 6µg/mL, 7µg/mL, 8µg/mL olmak üzere 7 ayrı konsantrasyonda karvedilol çözeltileri hazırlanmış ve kalibrasyon doğrusu elde edilmiştir. Yapılan regresyon analizi sonucunda açıklayıcılık katsayısı (r^2) 0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarında sırasıyla 0.99996 ve 0.99998 bulunmuştur. Elde edilen kalibrasyon doğruları Şekil 4.14 ve Şekil 4.15’te verilmiştir.



Şekil 4.14. Karvedilolün 0.1 N HCl ortamındaki kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denkleminin (n=6)



Şekil 4.15. Karvedilolün %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamındaki kalibrasyon doğrusu ve kalibrasyon denklemi (n=6)

4.2.3. Aralık

Miktar tayininde çalışılan aralık UV Spektrofotometrenin duyarlılık aralığına göre seçilmiş olup doğrusallık çalışması da bu aralıkta gerçekleştirilmiştir. Çalışılan konsantrasyon aralığı; yaklaşık 0.200-1.000 değerleri arasında absorbans veren 2µg/mL-8µg/mL olarak seçilmiştir. Yapılan çözünme deneylerinde ve çözünürlük çalışmalarından elde edilen yüksek derişime sahip örnekler bu aralıktaki konsantrasyonlara seyreltilerek okutulmuştur.

4.2.4. Doğruluk

Miktar tayini validasyonunun ölçütlerinden biri olan doğruluğun gösterilmesi için Bölüm 3.2.2.4'te açıklandığı gibi formülasyona giren diğer yardımcı maddeler varlığında (plasebo) düşük, orta, yüksek konsantrasyonda olmak üzere üç ayrı konsantrasyonda karvedilol çözeltisi hazırlanarak %geri kazanım incelenmiştir. Sonuçlar Tablo 4.1 ve Tablo 4.2'de yer almaktadır. Elde edilen sonuçlara göre 0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamında her üç konsantrasyonda % geri kazanım değerleri %98-%102 aralığındadır.

Tablo 4.1. Karvedilolün 0.1 N HCl ortamındaki doğruluk sonuçları (n=6)

Eklenen Karvedilol			Bulunan Karvedilol			% Geri Kazanım		
Konsantrasyonu			Konsantrasyonu					
(µg/ mL)			(µg/ mL)					
2	5	8	2.028	4.960	8.040	%101.400	%99.200	%100.500
2	5	8	2.054	4.995	7.944	%102.700	%99.900	%99.300
2	5	8	1.970	5.091	7.979	%98.500	%101.820	%99.738
2	5	8	2.037	5.105	7.988	%101.850	%102.100	%99.850
2	5	8	2.002	4.969	8.014	%100.100	%99.380	%100.175
2	5	8	2.010	5.143	8.023	%100.500	%102.860	%100.288
Ortalama			2.017	5.044	7.998	%100.845	%100.873	%99.975
Standart Sapma			0.030	0.079	0.035	0.015	0.016	0.004
% Varyasyon Katsayısı			%1.466	%1.556	%0.434	%1.460	%1.557	%0.434

Tablo 4.2. Karvedilolün %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamındaki doğruluk sonuçları (n=6)

Eklenen Karvedilol Konsantrasyonu (µg/ mL)			Bulunan Karvedilol Konsantrasyonu (µg/ mL)			% Geri Kazanım		
2	5	8	1.961	4.953	8.036	%98.050	%99.060	%100.450
2	5	8	2.005	4.937	8.186	%100.250	%98.740	%102.325
2	5	8	2.013	4.945	8.144	%100.650	%98.900	%101.800
2	5	8	1.963	5.037	7.935	%98.150	%100.740	%99.188
2	5	8	1.946	5.129	8.002	%97.300	%102.580	%100.025
2	5	8	1.962	4.920	8.011	%98.100	%98.400	%100.138
Ortalama			1.975	4.987	8.052	%98.750	%99.737	%100.654
Standart Sapma			0.027	0.081	0.094	0.014	0.016	0.012
% Varyasyon Katsayısı			%1.376	%1.619	%1.172	%1.370	%1.620	%1.170

4.2.5. Tekrarlanabilirlik

Bölüm 3.2.2.6’da açıklandığı gibi 2µg/mL, 5µg/mL ve 8µg/mL’lık düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlarda hazırlanan karvedilol örnekleri 10 kere ardı ardına okutulmuş, varyasyon katsayıları %2’nin altında bulunmuştur (Tablo 4.3 ve Tablo 4.4).

Tablo 4.3. Karvedilolün 0.1 N HCl ortamındaki tekrarlanabilirlik sonuçları (n=10)

Analiz No	Konsantrasyon (µg/mL)		
	2 µg/mL	5 µg/mL	8 µg/mL
1	1.932	5.185	7.986
2	1.932	5.195	7.986
3	1.932	5.195	7.986
4	1.932	5.185	7.996
5	1.942	5.195	7.996
6	1.942	5.195	7.996
7	1.951	5.195	7.996
8	1.942	5.185	7.959
9	1.942	5.185	7.959
10	1.942	5.185	7.959
Ortalama	1.939	5.190	7.982
Standart sapma	0.007	0.005	0.016
% VK	%0.336	%0.101	%0.204

Tablo 4.4. Karvedilolün %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamındaki tekrarlanabilirlik sonuçları (n=10)

Analiz No	Konsantrasyon (µg/mL)		
	2 µg/mL	5 µg/mL	8 µg/mL
1	1.955	5.118	8.059
2	1.955	5.118	8.023
3	1.955	5.118	8.023
4	1.955	5.118	8.023
5	1.955	5.118	8.023
6	1.945	5.128	8.059
7	1.955	5.128	8.068
8	1.955	5.128	8.068
9	1.955	5.128	8.068
10	1.945	5.128	8.068
Ortalama	1.953	5.123	8.048
Standart sapma	0.004	0.005	0.022
%VK	%0.222	%0.096	%0.271

4.2.6. Ara Kesinlik

Miktar tayini validasyonunun ölçütlerinden biri olan ara kesinliğin gösterilmesi için günler arası tekrarlanabilirlik incelenmiştir. Üç farklı konsantrasyonda hazırlanan karvedilol çözeltileri birbirini takip eden 3 ayrı günde analiz edilmiş, günler arası varyasyon katsayısı %2'nin altında bulunmuştur. Bulunan sonuçlar ve ortalamalarından hesaplanarak elde edilen günlerarası varyasyon sonuçları Tablo 4.5 ve Tablo 4.6'da gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Karvedilolün 0.1 N HCl ortamındaki ara kesinlik verileri (n=6)

Günler	Konsantrasyon		
	2 µg/ mL	5 µg/ mL	8 µg/ mL
1. Gün	1.824	4.948	7.810
	1.867	4.983	7.871
	1.902	4.930	7.914
	1.911	4.913	8.010
	1.911	4.878	8.019
	1.894	4.895	8.010
2. Gün	1.928	4.729	8.080
	1.955	4.747	8.098
	1.972	4.729	8.115
	1.950	4.764	8.124
	1.946	4.729	8.115
	1.928	4.703	8.133
3. Gün	1.928	4.724	7.871
	1.972	4.712	7.845
	1.911	4.869	7.836
	1.894	4.852	7.784
	1.876	4.895	7.740
	1.902	4.869	7.827
Ortalama	1.915	4.826	7.956
Standart Sapma	0.038	0.095	0.136
% VK	%1.969	1.966%	%1.704

Tablo 4.6. Karvedilolün %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamındaki ara kesinlik verileri (n=6)

Günler	Konsantrasyon		
	2 µg/ mL	5 µg/ mL	8 µg/ mL
1. Gün	2.022	5.004	8.011
	2.047	4.970	8.002
	2.038	4.962	8.036
	2.005	4.995	8.044
	2.022	4.962	7.969
	1.988	4.920	8.011
2. Gün	2.047	5.062	8.077
	2.038	5.070	8.102
	2.030	5.029	8.111
	2.063	5.137	8.178
	2.055	5.112	8.244
	2.034	5.070	8.136
3. Gün	2.097	4.979	7.944
	1.997	4.953	7.952
	2.005	5.012	8.044
	2.114	4.995	8.036
	2.130	5.121	8.027
	2.080	5.137	8.136
Ortalama	2.045	5.027	8.059
Standart Sapma	0.040	0.068	0.080
% VK	%1.934	%1.355	%0.990

4.2.7. Saptama Sınırı (LOD)

Bölüm 3.2.2.9’da anlatıldığı gibi cevabın standart sapması ve eğim kullanılarak hesaplanan karvedilolün saptama sınırı 0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamında sırasıyla 0.297 µg/mL ve 0.322 µg/mL olarak bulunmuştur. Her iki ortamda da yapılan validasyon, çözünürlük çalışmaları ve çözünme testlerinde tayin edilen konsantrasyonlar saptama sınırlarının üzerindedir.

4.2.8. Tayin Sınırı (LOQ)

Bölüm 3.2.2.10'da anlatıldığı gibi cevabın standart sapması ve eğim kullanılarak hesaplanan karvedilolün tayin sınırı 0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamında sırasıyla 1.021 µg/mL ve 1.481 µg/mL olarak bulunmuştur. Her iki ortamda da yapılan validasyon, çözünürlük çalışmaları ve çözünme testlerinde tayin edilen konsantrasyonlar tayin sınırlarının üzerindedir.

4.2.9. Dayanıklılık (Stabilite)

Karvedilolün 5µg/mL konsantrasyonda hazırlanan çözeltisi, analiz süresince etkin maddenin dayanıklılığının gösterilebilmesi için değerlendirilmiştir. Karvedilolün dayanıklılığının tespiti için örnek 0., 1., 6., 12., ve 24.saatte analiz edilerek incelenmiş, başlangıç zamanına oranla 24. saat sonunda kalan karvedilol yüzdeleri 0.1 N HCl için %98.76, pH6.8 + %0.5 SLS ortamında %99.20 bulunmuştur. Sonuçlar Tablo 4.7 ve Tablo 4.8'de özetlenmiş olup, iki ortamda da karvedilol %95-%105 aralığında olduğundan dayanıklı bulunmuştur.

Tablo 4.7. Karvedilolün 0.1 N HCl ortamındaki dayanıklılık sonuçları

Zaman (saat)	Konsantrasyon (µg/mL)	Kalan Karvedilol (%)
0	4.899	%100.000
1	4.916	%100.347
6	4.812	%98.224
12	4.777	%97.510
24	4.838	%98.755

Tablo 4.8. Karvedilolün %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamındaki dayanıklılık sonuçları

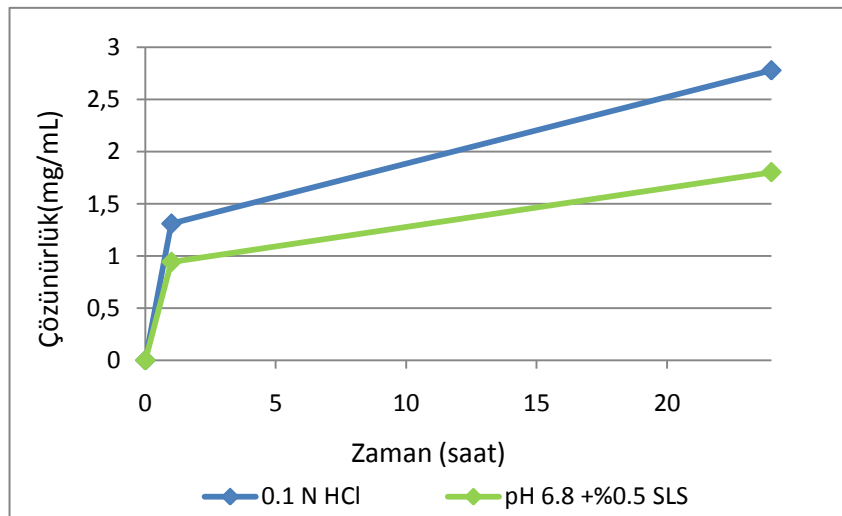
Zaman (saat)	Konsantrasyon (µg/mL)	Kalan Karvedilol (%)
0	5.070	%100.000
1	5.129	%101.164
6	4.970	%98.028
12	4.987	%98.363
24	5.029	%99.191

4.3. Çözünürlük Çalışmaları

Çözünürlük çalışmaları 0.1N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarında Bölüm 3.2.3'te anlatıldığı gibi $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 'de yatay çalkalayıcıda dakikada 20 devir hızda gerçekleştirilmiştir. Çözünürlük çalışmasına ilişkin sonuçlar Tablo 4.9'da özetlenmiştir. Her iki ortamda elde edilen zamana karşı çözünürlük profili Şekil 4.16' da yer almaktadır.

Tablo 4.9. Karvedilolün 0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarındaki çözünürlük sonuçları (n=3)

Ortam	Çözünürlük (mg/mL)	
	1. Saat	24. Saat
0.1 N HCl	1.310 ± 0.073	2.780 ± 0.167
pH 6.8 + %0.5 SLS	0.943 ± 0.038	1.803 ± 0.212



Şekil 4.16. Karvedilolün zamana karşı çözünürlük grafiği

Çözünme testlerinin gerçekleştirildiği 0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarında sink koşullarının sağlanıp sağlanmadığı incelenmiştir. Sink koşul; çözünme testi sonunda ortamda çözünmüş ilaç konsantrasyonunun, ilacın doyumluk konsantrasyonunun %30'unu geçmemesi durumudur. Çözünürlük çalışmaları

sonucunda karvedilolün 0.1 N HCl ortamındaki çözünürlüğü ortalama 2.78 mg/mL bulunmuştur. Formülasyonlar 40 mg karvedilol içermekte tamamının 750 mL 0.1 N HCl'de çözünmesi durumunda ortamdaki konsantrasyon 53.3 µg/mL olacaktır. Bu değer doygunluk konsantrasyonu olan 2.78 mg/mL değerinin %30'undan çok daha küçüktür (~%1.9). Dolayısıyla 0.1 N HCl ortamında sink koşul sağlanmaktadır. Benzer şekilde %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamında yapılan çalışmada karvedilolün çözünürlüğü ortalama 1.80 mg/mL bulunmuştur. 40 mg karvedilolün tamamının 1000 mL %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamında çözünmesi durumunda ortamdaki konsantrasyon 40 µg/mL olacaktır. Bu değer doygunluk konsantrasyonu olan 1.80 mg/mL değerinin %30'undan çok daha küçüktür (%2.2). Dolayısıyla bu ortamda da sink koşul sağlanmaktadır.

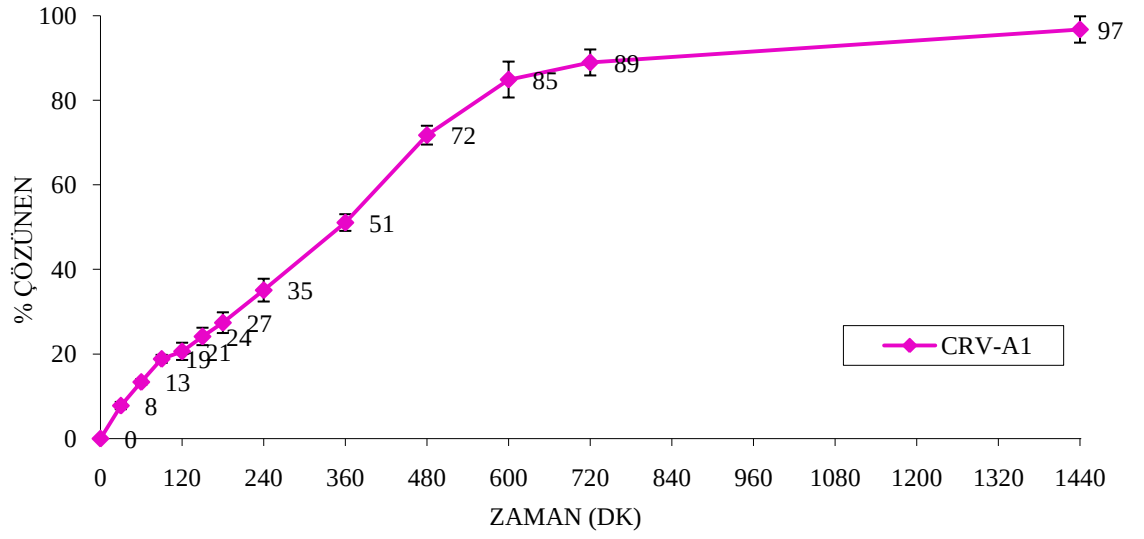
4.4. Çözünme Deneyi Sonuçları

Hazırlanan karvedilol kontrollü salım sağlayan tabletlerinin çözünme testleri Bölüm 3.2.5'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan karvedilol kontrollü salım sağlayan tablet formülasyonlarının zamana karşı elde edilen ortalama çözünen miktarları Tablo 4.10'da verilmiştir. Formülasyonlara ait çözünme profilleri Şekil 4.17-4.25'te gösterilmiştir. Tüm formülasyonların profilleri Şekil 4.26'da özetlenmiştir.

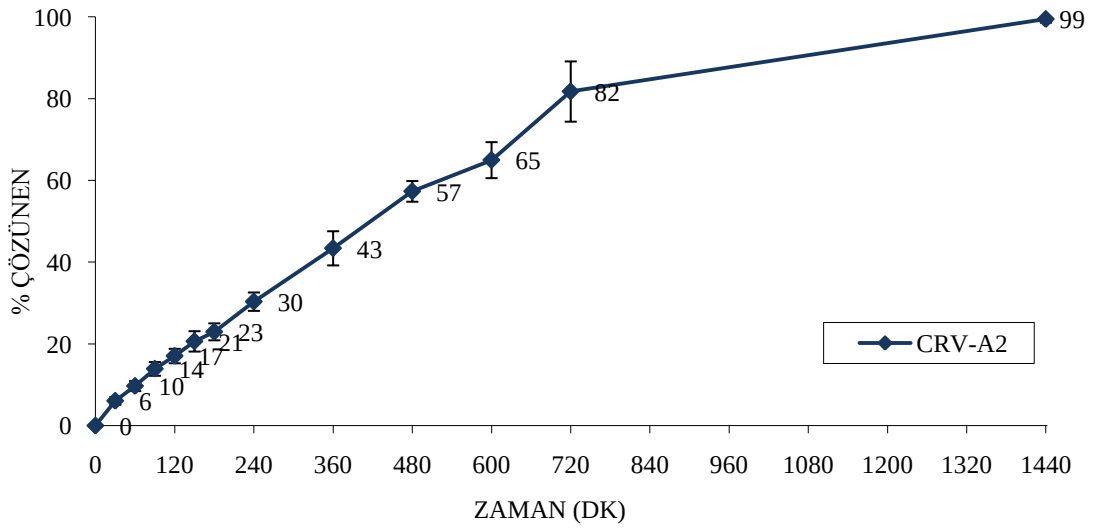
Tablo 4.10. Hazırlanan karvedilol kontrollü salım sağlayan tablet formülasyonlarının ortalama % çözünen miktarları (n=3)

X1	X2		Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12
%HPMC K4M	%Eud. L100		30.dk	60.dk	90.dk	120.dk	150.dk	180.dk	240.dk	360.dk	480.dk	600.dk	720.dk	1440.dk
CRV-A1														
4.5	0	$\bar{X}$	7.791	13.374	18.831	20.612	24.136	27.391	35.082	51.063	71.726	84.873	88.917	96.710
		%VK	%11.012	%4.942	%5.032	%9.872	%8.529	%8.942	%7.673	%3.867	%3.101	%5.002	%3.453	%3.221
CRV-A2														
4.5	15	$\bar{X}$	6.067	9.699	13.905	17.055	20.641	22.974	30.352	43.405	57.335	64.978	81.760	99.469
		%VK	%15.581	%12.587	%12.092	%10.374	%12.065	%9.038	%7.408	%9.628	%4.413	%6.777	%9.016	%0.874
CRV-A3														
4.5	30	$\bar{X}$	5.554	8.976	12.655	16.508	18.620	21.123	26.351	36.070	45.798	53.244	60.158	98.692
		%VK	%16.374	%11.662	%11.638	%10.418	%9.868	%9.845	%9.969	%8.665	%8.465	%2.177	%8.271	%1.583
CRV-A4														
7.5	0	$\bar{X}$	6.085	11.339	16.818	21.516	24.708	27.354	33.813	49.636	61.014	73.568	77.689	97.320
		%VK	%15.253	%9.785	%6.183	%5.433	%5.523	%1.734	%5.842	%8.229	%4.224	%7.275	%4.244	%2.841

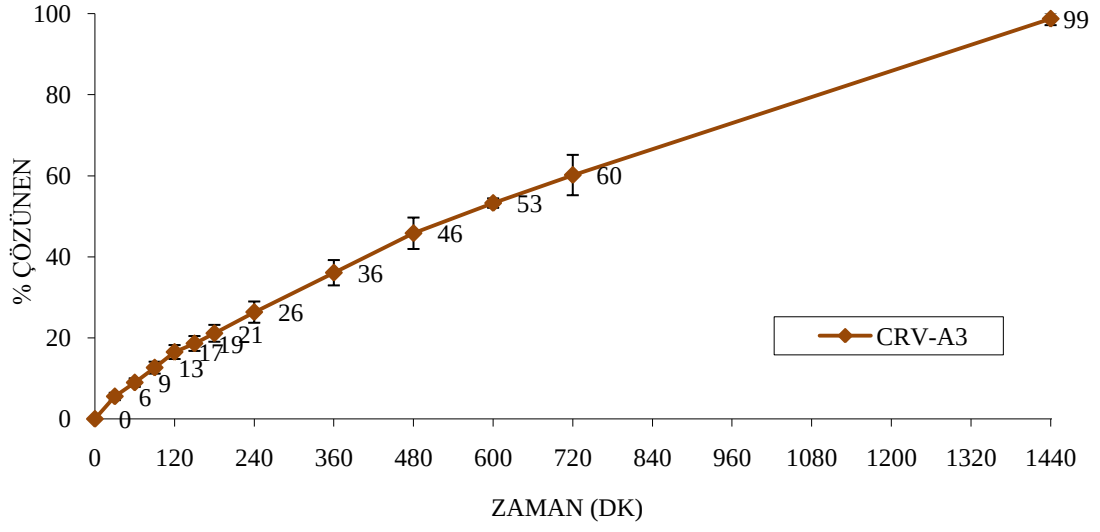
CRV-A5														
7.5	15	$\overline{X}$	6.334	10.702	15.508	19.463	22.486	25.337	31.742	42.334	51.717	59.827	64.020	92.775
		%VK	%16.431	%8.416	%9.120	%6.763	%8.526	%6.857	%12.934	%6.691	%8.039	%11.859	%9.395	%1.601
CRV-A6														
7.5	30	$\overline{X}$	7.208	9.865	13.108	15.473	18.496	20.470	24.933	30.923	41.907	48.278	58.383	90.756
		%VK	%10.027	%11.800	%11.093	%8.033	%8.046	%7.687	%10.840	%6.796	%6.961	%3.205	%8.998	%1.008
CRV-A7														
10.5	0	$\overline{X}$	5.691	9.169	12.913	15.750	18.682	20.774	26.539	37.717	47.963	58.159	68.871	95.914
		%VK	%9.091	%4.355	%3.679	%3.923	%3.452	%5.974	%7.866	%6.594	%6.082	%6.921	%5.239	%2.370
CRV-A8														
10.5	15	$\overline{X}$	5.676	8.653	11.946	15.397	17.524	19.920	25.255	34.587	43.272	48.078	57.188	99.157
		%VK	%19.247	%5.012	%1.634	%3.024	%6.552	%9.524	%10.984	%7.867	%7.834	%5.578	%7.951	%7.800
CRV-A9														
10.5	30	$\overline{X}$	5.248	8.714	12.127	14.301	15.803	17.369	20.296	31.702	39.786	47.251	51.785	91.149
		%VK	%8.146	%0.768	%2.058	%2.359	%4.483	%6.113	%7.955	%6.395	%2.285	%3.505	%3.894	%3.666



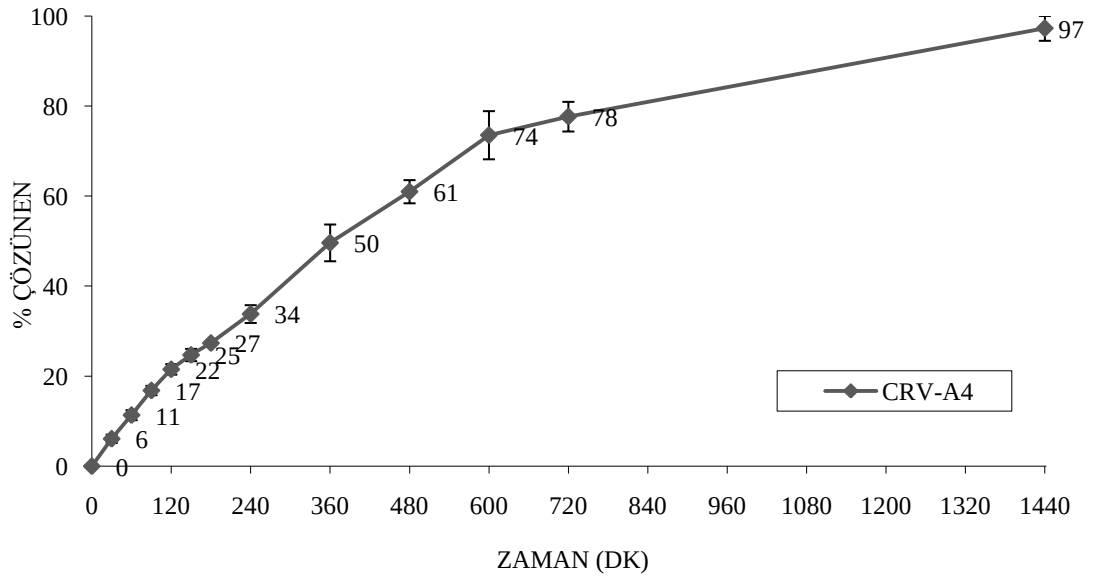
Şekil 4.17. CRV-A1 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5 SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili (n=3)



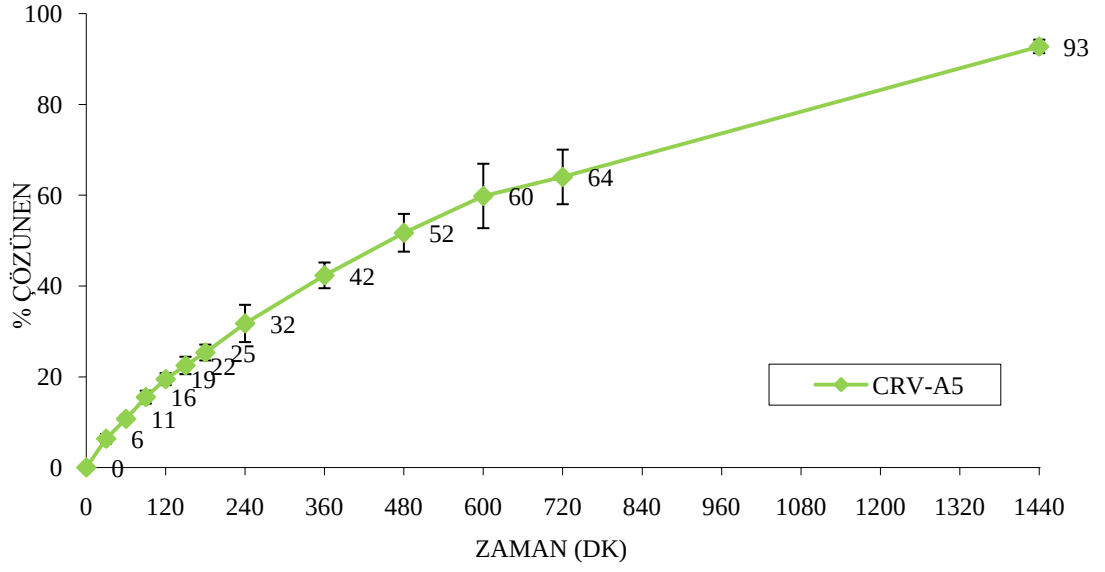
Şekil 4.18. CRV-A2 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5 SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili (n=3)



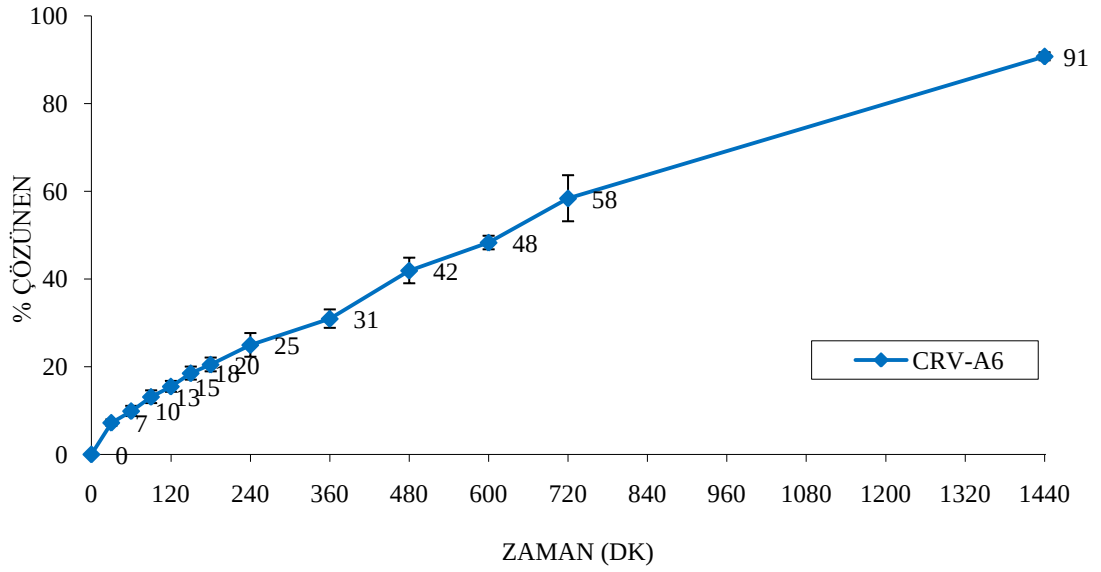
Şekil 4.19. CRV-A3 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili (n=3)



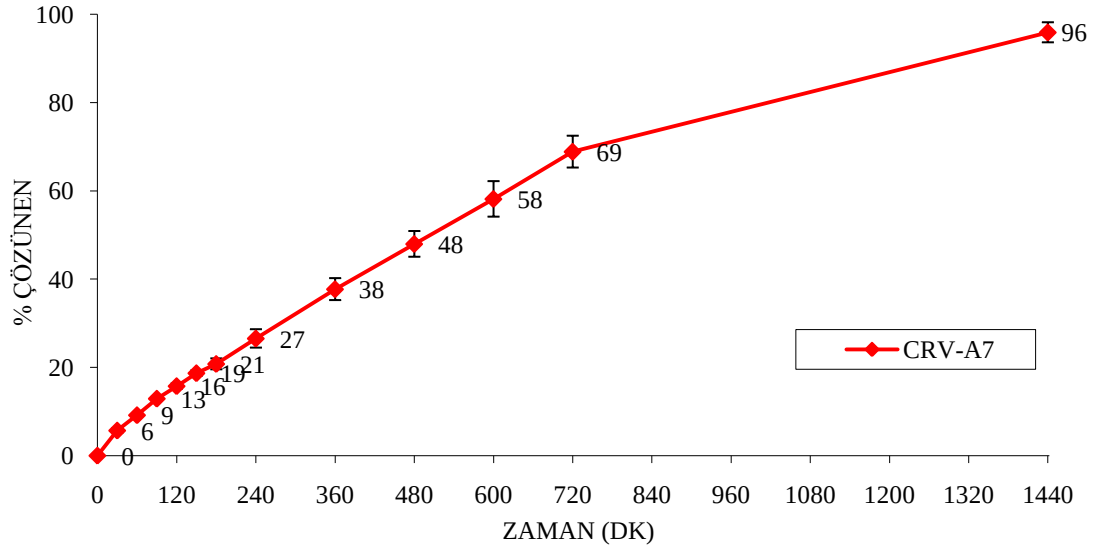
Şekil 4.20. CRV-A4 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili (n=3)



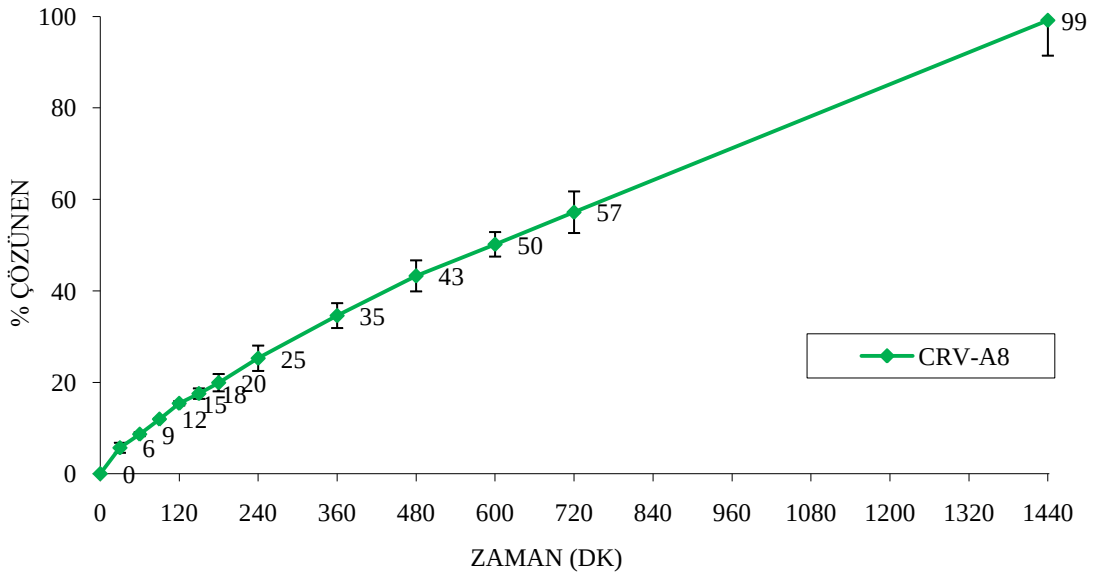
Şekil 4.21. CRV-A5 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili (n=3)



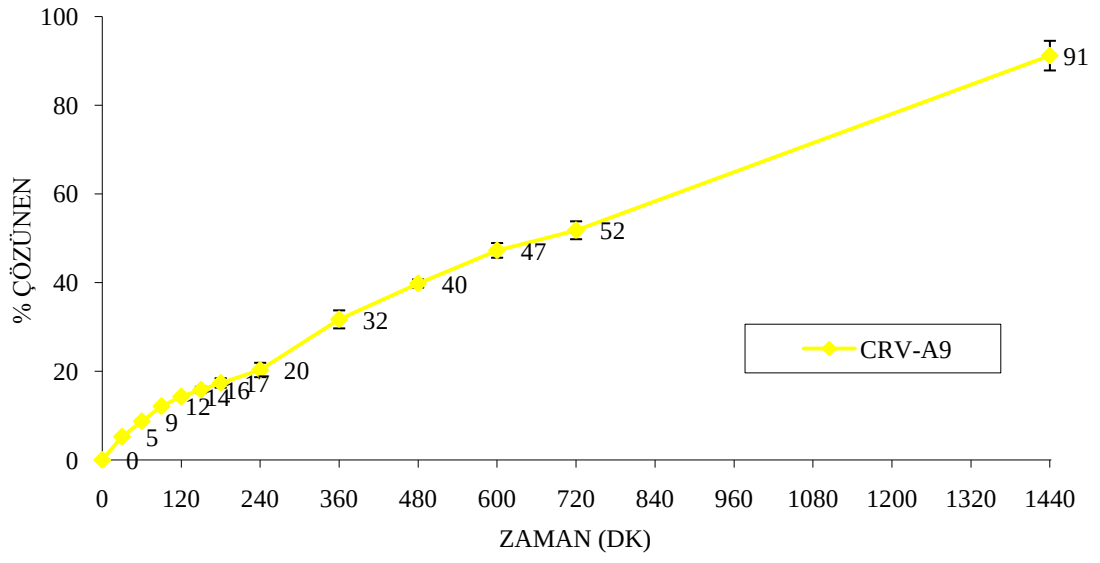
Şekil 4.22. CRV-A6 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili (n=3)



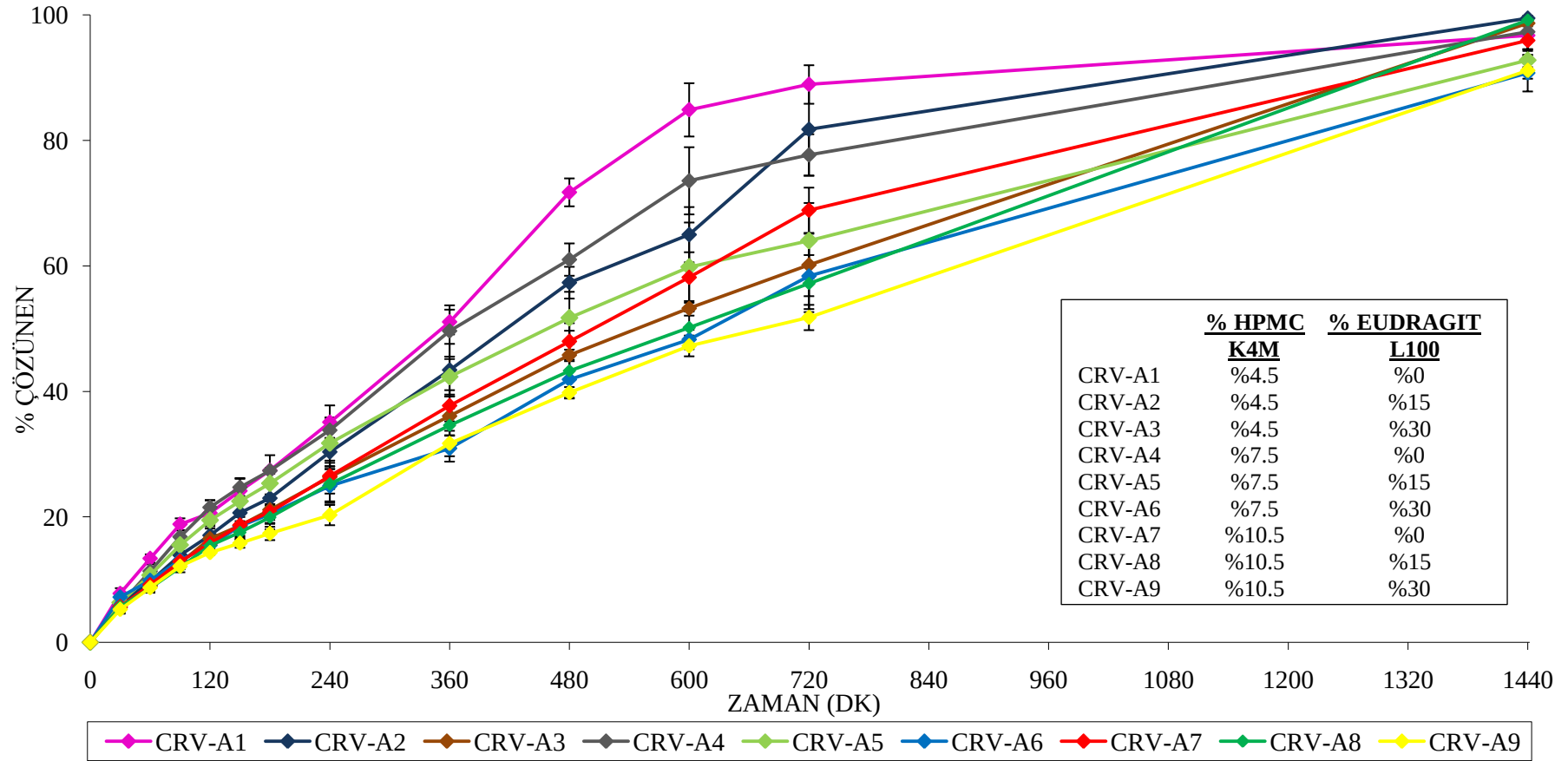
Şekil 4.23. CRV-A7 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili (n=3)



Şekil 4.24. CRV-A8 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili (n=3)



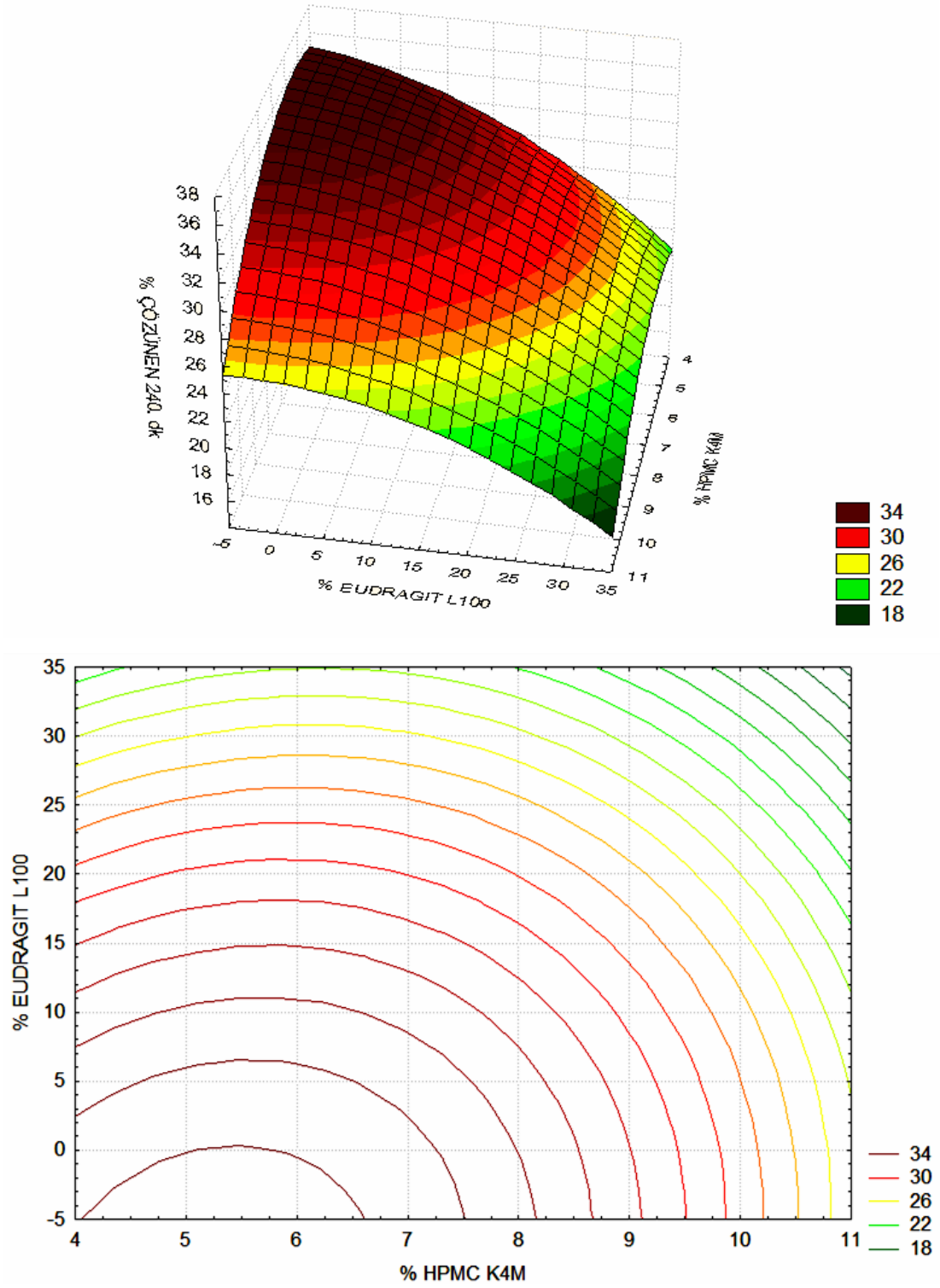
Şekil 4.25. CRV-A9 formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili (n=3)



Şekil 4.26. Karvedilol kontrollü salım sağlayan tablet formülasyonlarının 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5 SLS (2-24saat) ortamındaki çözünme profili

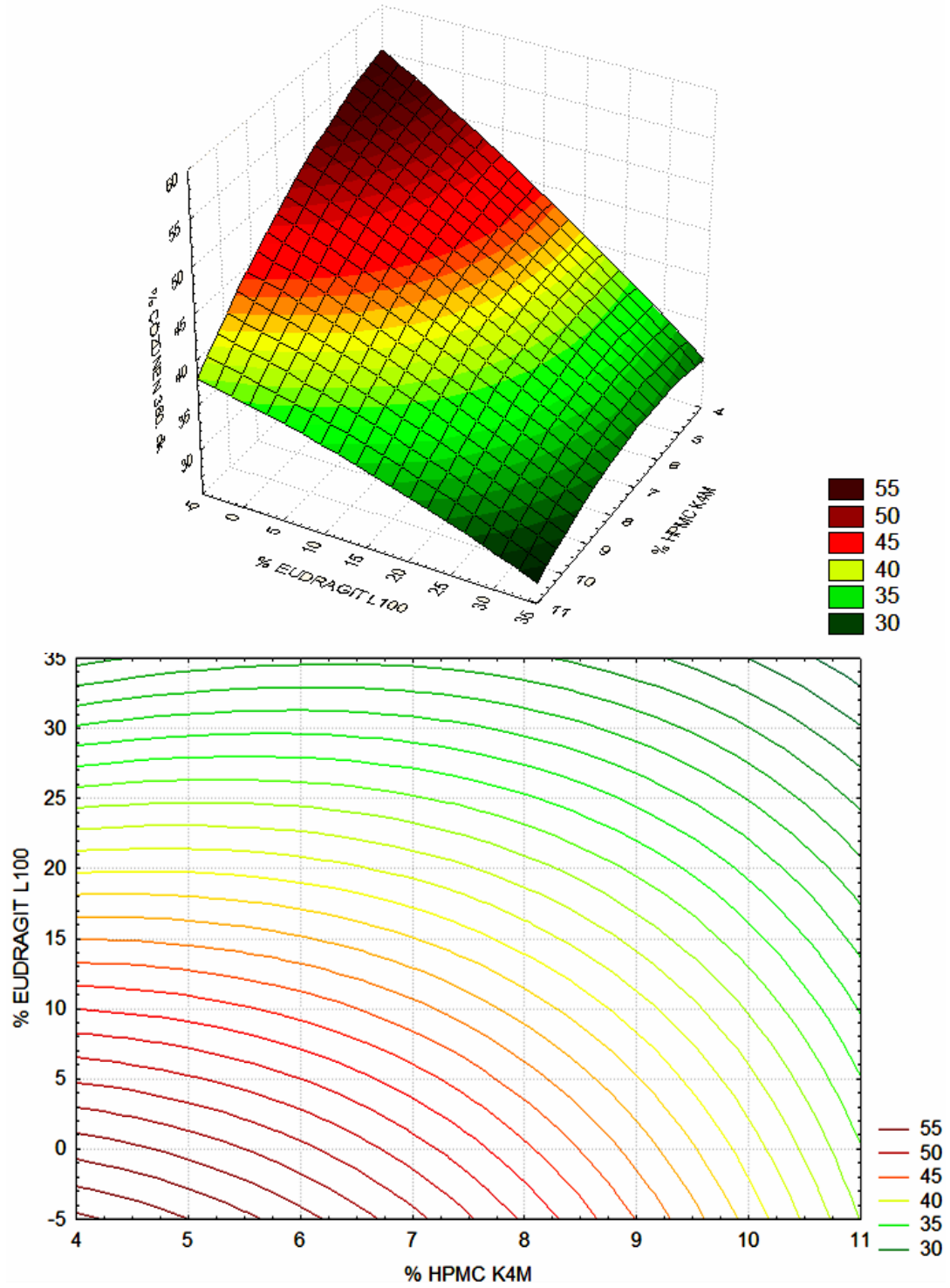
Formülasyonlarda kullanılan bağımsız değişkenler % HPMC K4M ve %EUDRAGIT™ L100'ün fonksiyonu olarak çözünme testinden elde edilen % çözünen karvedilol miktarlarına ait cevap-yüzey ve kontur grafikleri Şekil 4.27- Şekil 4.31'de gösterilmiştir. Şekil 4.26'da verilen çözünme profilinde görüleceği gibi çözünme profillerinin birbirinden ayrıldığı, formülasyona göre farklı davranış gösterdiği dakikalar 240. dk, 360. dk, 480. dk, 600.dk ve 720.dk'lardır. Diğer zaman noktalarında elde edilen % çözünen karvedilol değerleri birbirine çok yakındır. Bu nedenle cevap-yüzey grafikleri ve kontur grafiklerinde birbirlerine çok yakın sonuç veren bu zaman noktalarına ait grafikler verilmemiştir.

% ÇÖZÜNEN 240. dk = $25,6617 + 3,4481 \cdot x - 0,198 \cdot y - 0,3166 \cdot x^2 + 0,0138 \cdot x \cdot y - 0,0057 \cdot y^2$



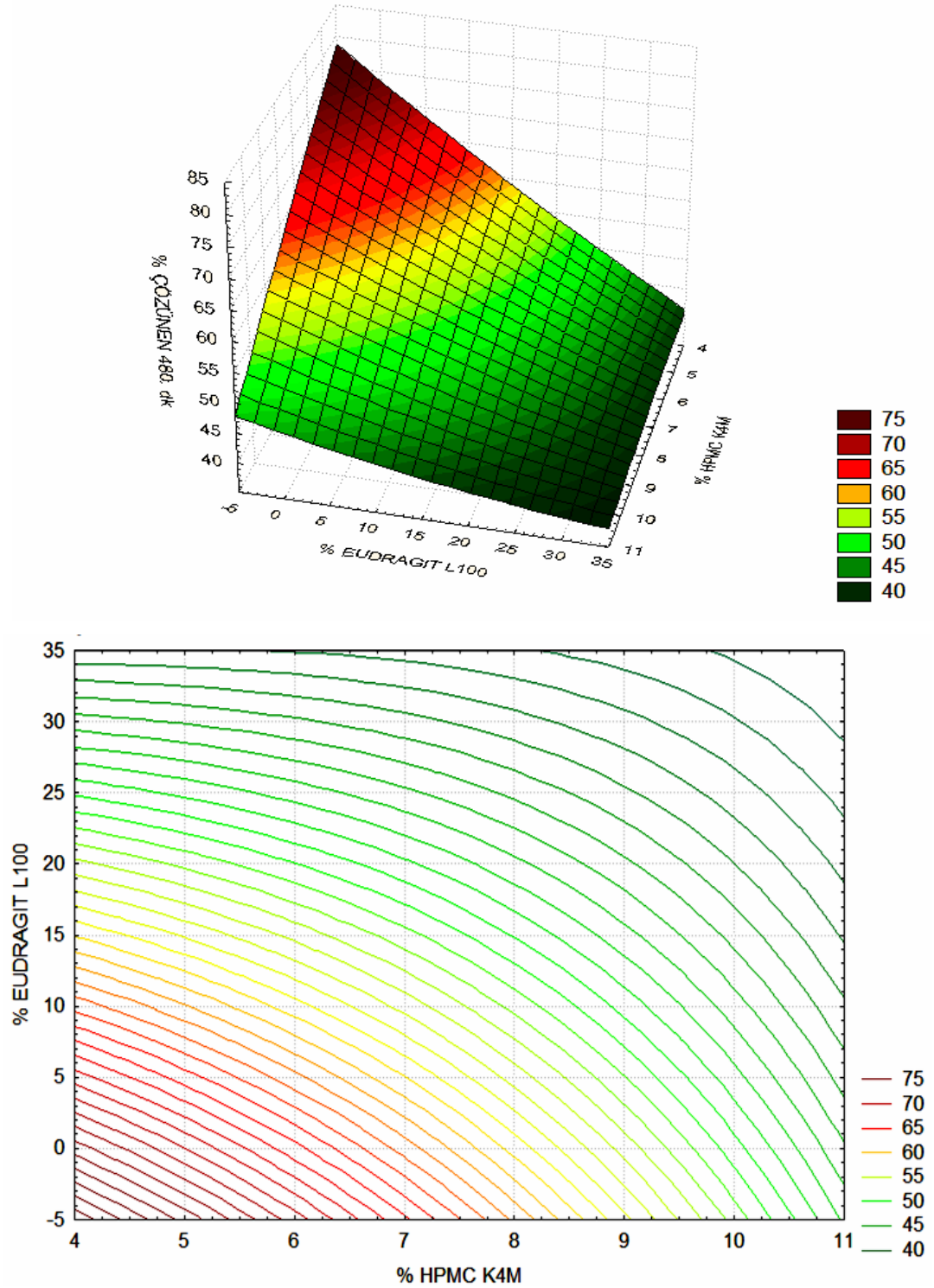
Şekil 4.27. 240.dk (4.saat) için cevap-yüzey ve kontur grafiği

% ÇÖZÜNEN 360. dk = $52,3421 + 0,9009 \cdot x - 0,7367 \cdot y - 0,2082 \cdot x \cdot x + 0,0499 \cdot x \cdot y - 0,0026 \cdot y \cdot y$



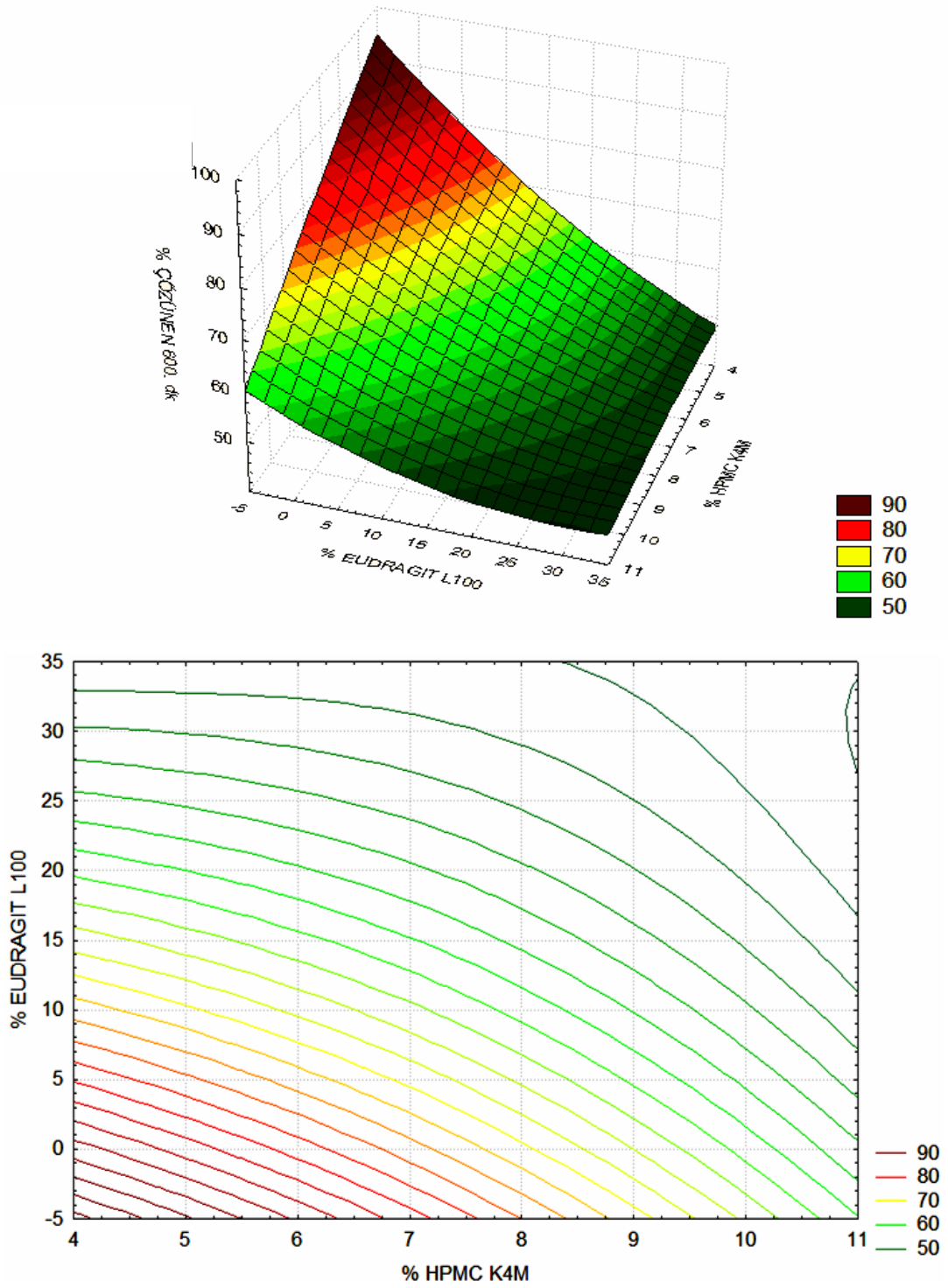
Şekil 4.28. 360.dk (6.saat) için cevap-yüzey ve kontur grafiği

% ÇÖZÜNEN 480. dk = $86,4363 - 2,9719 \cdot x - 1,4097 \cdot y - 0,0629 \cdot x^2 + 0,0986 \cdot x \cdot y + 0,0026 \cdot y^2$



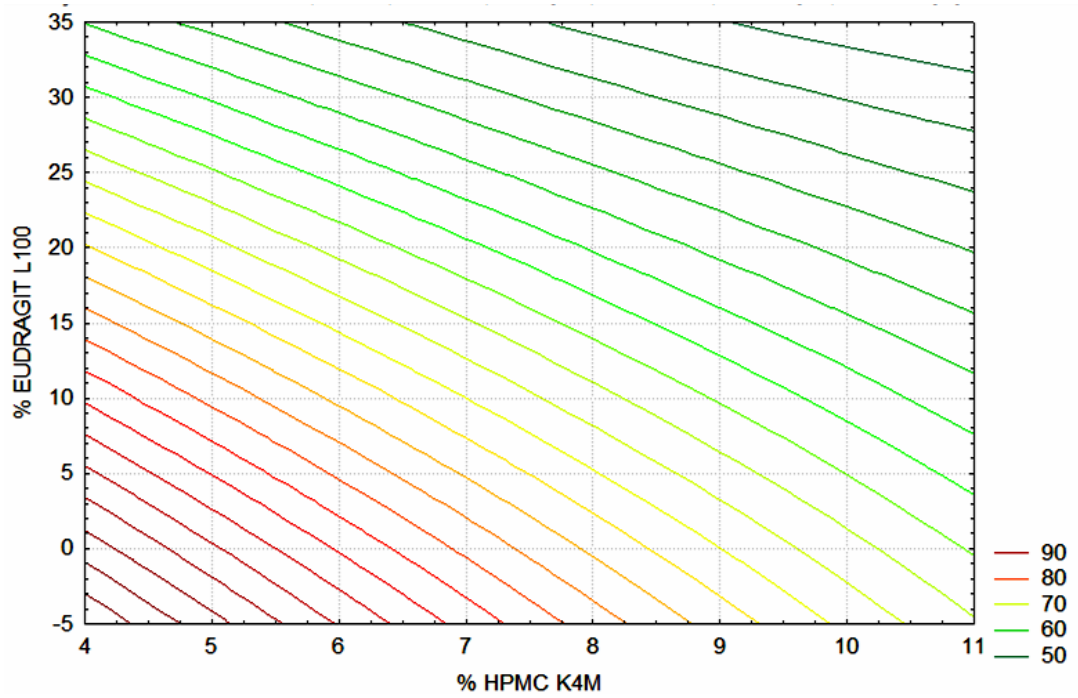
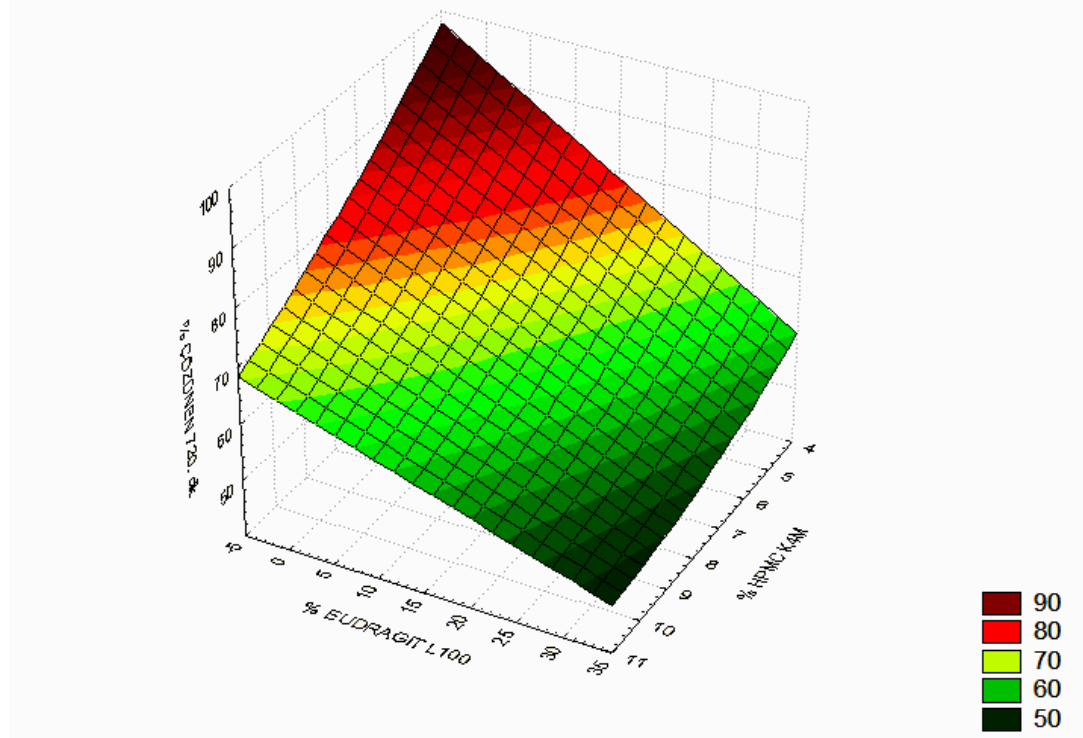
Şekil 4.29. 480.dk (8.saat) için cevap-yüzey ve kontur grafiği

% ÇÖZÜNEN 600. dk = $100,6022 - 3,069 \cdot x - 1,9599 \cdot y - 0,0865 \cdot x \cdot x + 0,1151 \cdot x \cdot y + 0,0114 \cdot y \cdot y$



Şekil 4.30. 600.dk (10.saat) için cevap-yüzey ve kontur grafiği

% ÇÖZÜNEN 720. dk = $115,7726 - 6,2764 \cdot x - 1,2074 \cdot y + 0,1573 \cdot x \cdot x + 0,0649 \cdot x \cdot y - 9,7445E-5 \cdot y \cdot y$



Şekil 4.31. 720.dk (12.saat) için cevap-yüzey ve kontur grafiği

Bölüm 3.2.5.2’de anlatıldığı gibi elde edilen % çözünme değerleri kullanılarak 0. derece salım kinetikleri hesaplanmıştır. Elde edilen r^2 değerleri Tablo 4.11’deki gibidir.

Tablo 4.11. Formülasyonların 0. derece salımlarına ilişkin r^2 değerleri

Formülasyon	r^2 değerleri
CRV-A1	0.7991
CRV-A2	0.9045
CRV-A3	0.9809
CRV-A4	0.9050
CRV-A5	0.9347
CRV-A6	0.9748
CRV-A7	0.9510
CRV-A8	0.9907
CRV-A9	0.9901

4.5 Yapay Sinir Ağı Uygulamasına Ait Sonuçlar

Yapay sinir ağı uygulamalarında hazırlanan formülasyonların çözünme deneyleri Bölüm 3.2.6’da anlatıldığı gibi 13 ayrı çözünme testi olacak şekilde yapılmıştır. Yapay sinir ağına bağımlı değişkenler olan % HPMC K4M ve % EUDRAGITTM L100’ün formülasyonlardaki % miktarları girdi verisi olarak, yapılan çözünme testleri ile elde edilen 12 ayrı zaman noktasındaki % çözünme miktarları da çıktı verisi olarak girilmiştir. Ardından yapay sinir ağına öğretme işlemi başlatılmıştır. Gizli tabaka sayısı, gizli tabakadaki nöron sayısı, gizli tabaka ve çıktı tabakasındaki aktivasyon fonksiyonu deneme-yanılma yolu ile belirlenmiştir. Bu ölçütlerin uygunluğuna deneysel ve tahmini veriler arasındaki % hata değeri değerlendirilerek karar verilmiştir. Yapay sinir ağında belirlenen ölçütler Tablo 4.12’de özetlenmiştir.

Tablo 4.12. Yapay sinir ağında kullanılan ölçütler

Gizli Tabaka Sayısı	Gizli Tabakadaki Nöron Sayısı	Gizli Tabaka Aktivasyon Fonksiyonu	Çıktı Tabakası Aktivasyon Fonksiyonu	Yineleme (Tekrar/İterasyon) Sayısı	Hedeflenen Hata Değeri (MSE)
1	2	Tansig Fonksiyon	Purelin - Doğrusal Fonksiyon	65	10^{-3}

Yapay sinir ağına öğretilen girdi ve çıktı verilerin tümü Tablo 4.13'te gösterilmiştir.

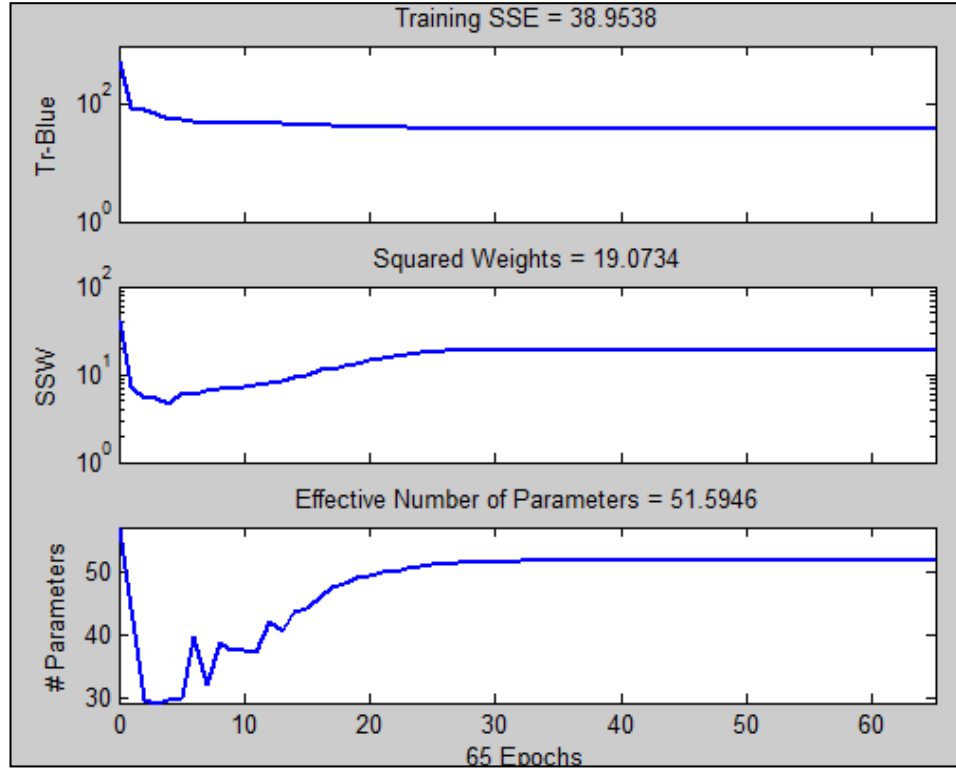
Tablo 4.13. Yapay sinir ağı modeline girilen formülasyon değişkenlerinin düzeyleri ve elde edilen % çözünen verileri

No	Formülasyon Değişkenleri		% Çözünen Değerleri											
	X ₁	X ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Y ₆	Y ₇	Y ₈	Y ₉	Y ₁₀	Y ₁₁	Y ₁₂
	%HPMC K4M	%Eudragit L100	30.dk	60.dk	90.dk	120.dk	150.dk	180.dk	240.dk	360.dk	480.dk	600.dk	720.dk	1440.dk
1	4.5	0	6.815	12.686	18.031	18.393	22.074	25.183	37.074	50.982	74.176	80.340	86.109	93.231
2	4.5	0	8.424	14.004	19.878	22.390	26.191	30.026	36.153	53.076	69.833	88.757	92.195	99.240
3	4.5	0	8.134	13.433	18.584	21.054	24.144	26.964	32.020	49.130	71.170	85.523	88.447	97.660
4	4.5	15.0	7.005	11.047	15.828	19.097	23.500	25.368	32.923	48.224	60.187	62.831	87.282	98.720
5	4.5	15.0	5.115	8.668	12.712	15.987	18.944	21.893	28.754	40.781	55.359	70.043	73.389	99.263
6	4.5	15.0	6.081	9.382	13.175	16.081	19.479	21.661	29.380	41.210	56.459	62.059	84.607	100.423
7	4.5	30.0	6.420	9.148	12.877	16.769	18.879	21.574	25.961	35.488	45.745	53.830	64.130	97.096
8	4.5	30.0	5.635	9.925	14.004	18.083	20.314	22.940	29.151	39.446	49.700	51.909	54.577	98.760
9	4.5	30.0	4.607	7.853	11.084	14.673	16.667	18.855	23.940	33.277	41.947	53.993	61.767	100.219
10	7.5	0	5.471	10.806	16.435	21.361	24.974	27.733	34.255	53.486	63.688	77.400	80.160	97.280

11	7.5	0	5.631	10.597	16.025	20.432	23.229	26.822	31.654	45.352	58.545	67.453	73.945	94.576
12	7.5	0	7.153	12.615	17.995	22.754	25.920	27.507	35.530	50.070	60.808	75.850	78.963	100.105
13	7.5	15.0	5.958	10.896	15.490	19.921	22.760	26.666	32.013	43.669	55.741	65.349	67.104	93.505
14	7.5	15.0	5.534	9.720	14.103	17.979	20.446	23.371	27.507	39.081	47.438	51.825	57.089	93.754
15	7.5	15.0	7.510	11.490	16.932	20.489	24.251	25.973	35.705	44.254	51.973	62.306	67.867	91.066
16	7.5	30.0	7.237	9.412	13.052	15.556	17.817	19.079	27.934	33.010	39.007	47.971	52.495	91.319
17	7.5	30.0	6.471	8.996	11.683	14.191	17.469	20.153	22.691	28.807	41.872	46.906	62.593	89.700
18	7.5	30.0	7.916	11.187	14.589	16.672	20.203	22.178	24.174	30.952	44.841	49.956	60.060	91.247
19	10.5	0	6.090	9.559	13.456	16.400	19.423	22.195	28.791	40.575	50.888	55.215	71.179	98.065
20	10.5	0	5.106	8.761	12.708	15.681	18.378	20.225	26.160	36.535	47.947	56.517	64.713	93.535
21	10.5	0	5.877	9.185	12.575	15.170	18.246	19.903	24.668	36.042	45.054	62.746	70.722	96.142
22	10.5	15.0	5.810	8.950	12.171	15.457	17.413	19.690	25.497	36.525	44.922	50.018	60.441	93.275
23	10.5	15.0	6.695	8.853	11.846	14.904	16.435	18.148	22.368	31.477	39.374	47.563	51.992	107.918
24	10.5	15.0	4.522	8.155	11.821	15.830	18.723	21.922	27.900	35.760	45.522	52.922	59.131	96.277
25	10.5	30.0	5.737	8.644	11.848	14.639	16.555	18.539	22.117	33.973	40.818	48.814	50.608	94.660

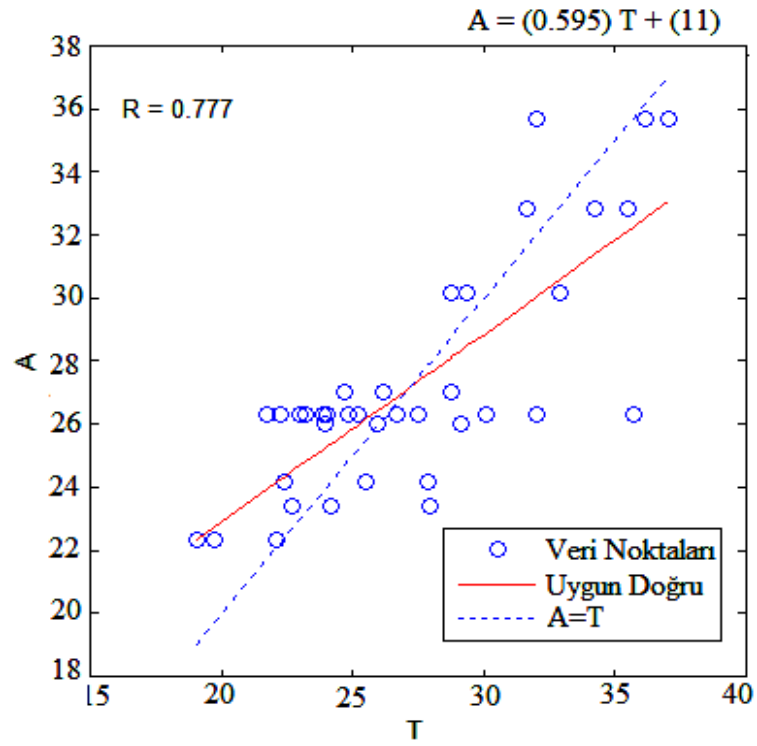
26	10.5	30.0	4.945	8.723	12.206	14.299	15.704	17.104	19.736	31.059	39.102	45.516	50.634	88.009
27	10.5	30.0	5.062	8.777	12.328	13.964	15.149	16.466	19.037	30.074	39.439	47.424	54.114	90.779
28	7.5	15.0	5.750	9.186	13.349	16.270	19.430	20.625	24.005	35.424	44.699	54.345	60.240	92.908
29	7.5	15.0	7.429	12.270	15.681	19.579	22.010	24.375	30.061	41.847	53.405	61.144	68.570	98.433
30	7.5	15.0	6.511	11.296	14.783	17.703	19.948	22.145	26.662	37.106	45.986	53.683	58.096	91.209
31	7.5	15.0	6.782	11.736	14.640	18.028	20.378	22.480	27.509	39.629	49.584	59.085	65.001	92.558
32	7.5	15.0	6.496	10.548	12.970	15.490	17.501	19.206	23.835	32.799	41.090	49.044	55.315	85.911
33	7.5	15.0	7.129	11.130	13.911	16.432	18.504	20.644	24.861	34.709	44.120	50.747	58.350	87.165
34	7.5	15.0	5.861	9.949	12.828	15.739	17.605	19.422	23.204	33.148	40.481	47.500	54.144	88.844
35	7.5	15.0	6.188	10.701	13.613	16.311	18.253	19.798	22.995	32.856	40.293	48.232	55.439	89.680
36	7.5	15.0	6.139	10.015	12.517	15.297	17.041	18.754	22.243	32.312	39.415	48.649	56.233	89.555
37	7.5	15.0	6.351	10.881	13.531	16.098	18.461	20.822	25.168	39.165	47.876	57.528	61.874	93.399
38	7.5	15.0	6.678	10.620	13.334	16.196	18.106	20.175	23.998	33.775	42.549	50.739	59.952	96.783
39	7.5	15.0	5.452	9.099	13.236	15.068	17.020	18.942	21.741	32.605	40.794	49.798	58.155	94.965

Uygulanan yapay sinir ağına tekrar (iterasyon) sayısı olarak 200 değeri girilmiştir. Ancak ağı çalışması sırasında öğrenme 65 tekrarda Bayesian düzeltme yöntemi ile durdurulmuştur. Böylelikle aşırı öğrenme engellenmiştir. Bayesian düzeltme yönteminde bulunan bazı ölçütler ve uygulanan yapay sinir ağından bu ölçütler için alınan sonuçlar Şekil 4.32’de gösterilmiştir.

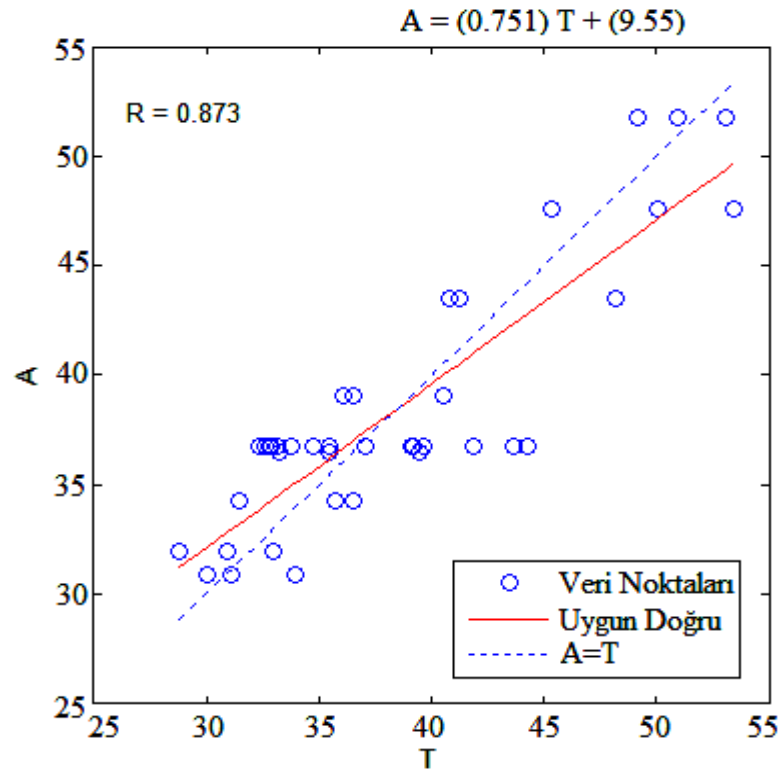


Şekil 4.32. Yapay sinir ağında Bayesian düzeltme öğrenme yöntemiyle elde edilen sonuçlar

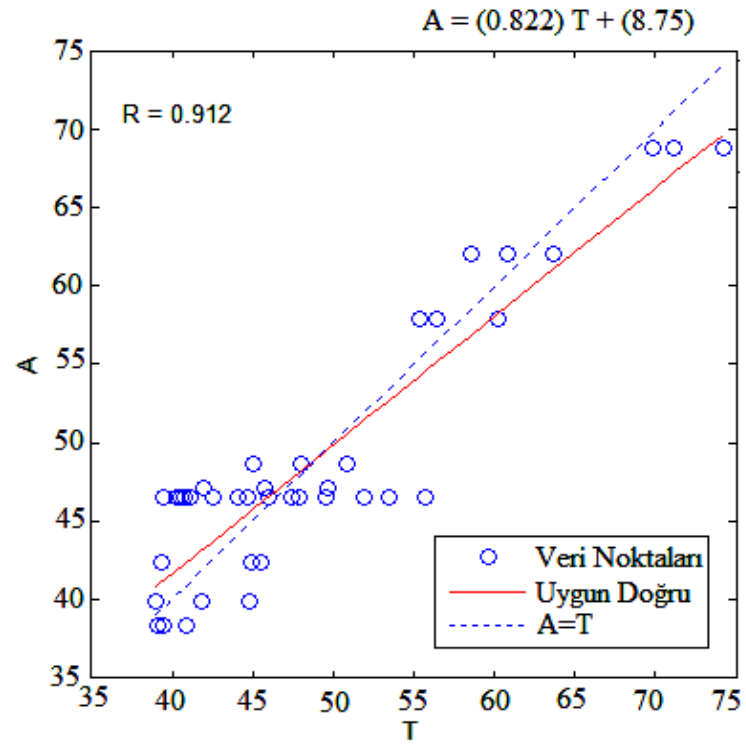
Formülasyonların farklı davranış gösterdiği zaman noktalarına ait (240. dk, 360. dk, 480. dk, 600.dk ve 720. dk) deneysel ve tahmini çıktı değerleri arasındaki korelasyon grafikleri Şekil 4.33-Şekil 4.37’de gösterilmiştir.



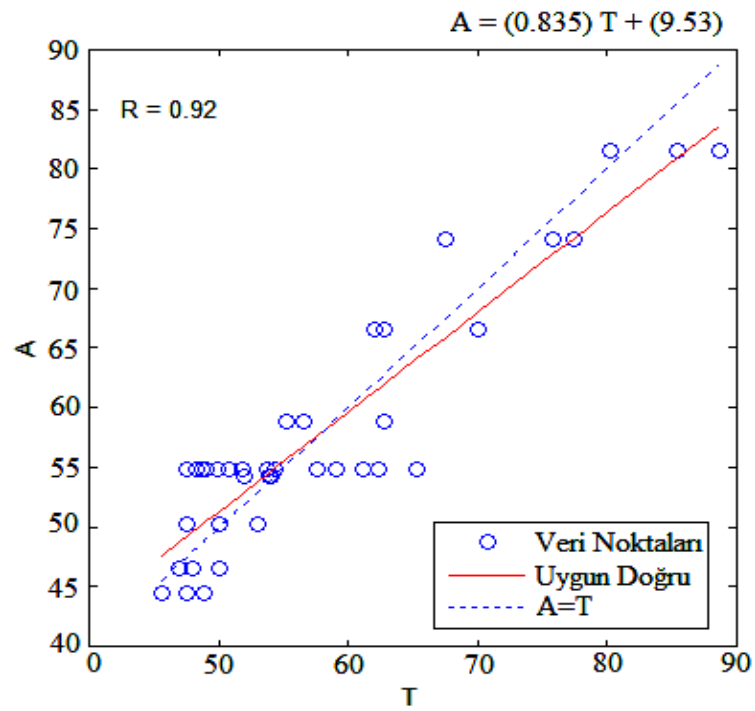
Şekil 4.33. 240. dk(4.saat) için tahmini ve deneysel sonuçlar için korelasyon grafiği



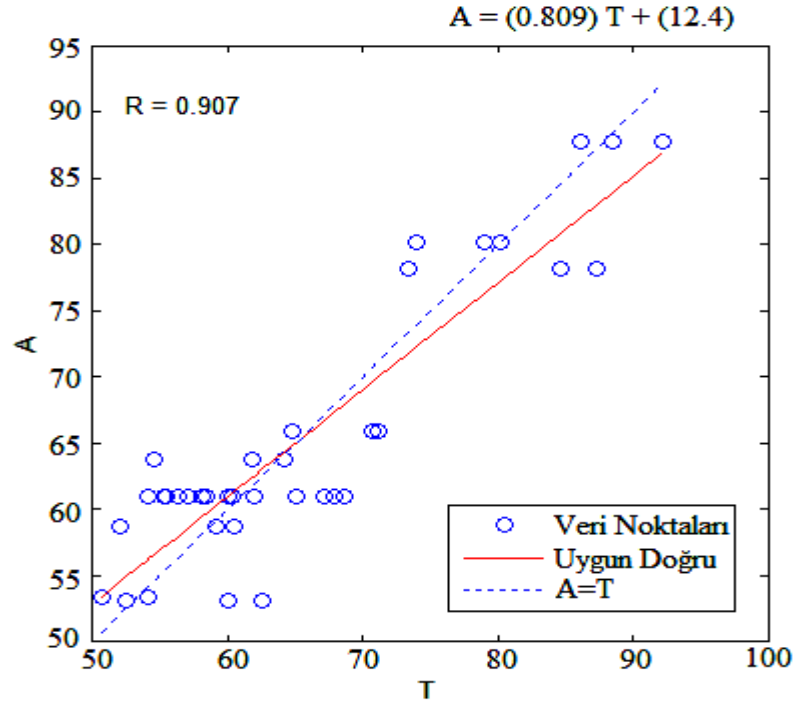
Şekil 4.34. 360.dk(6.saat) için tahmini ve deneysel sonuçlar için korelasyon grafiği



Şekil 4.35. 480.dk(8.saat) için tahmini ve deneysel sonuçlar için korelasyon grafiği

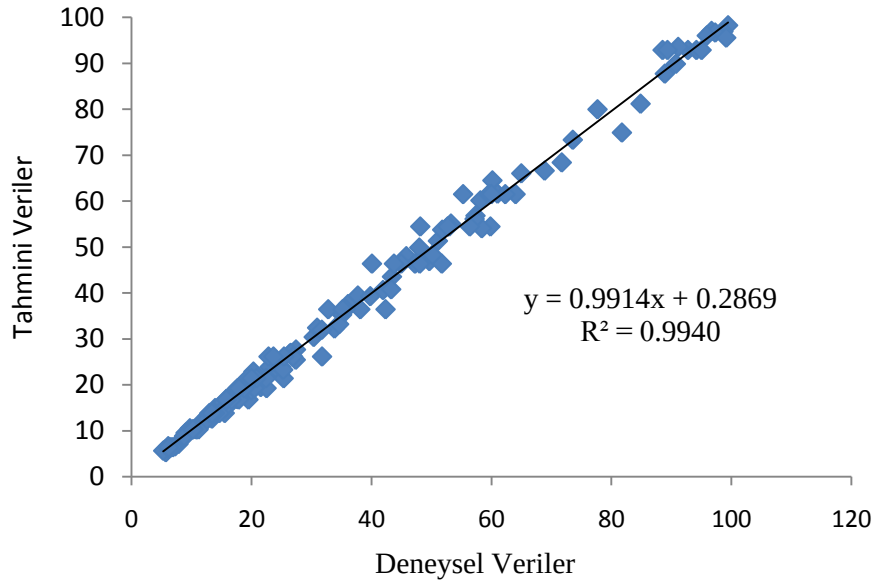


Şekil 4.36. 600.dk (10. saat) için tahmini ve deneysel sonuçlar için korelasyon grafiği



Şekil 4.37. 720. dk (12.saat) için tahmini ve deneysel sonuçlar için korelasyon grafiği

Bütün zaman noktaları için deneysel veriler ve yapay sinir ağları ile elde edilen tahmini veriler arasındaki korelasyon grafiği Şekil 4.38’de gösterilmiştir.



Şekil 4.38. Tüm zaman noktalarını içeren tahmini ve deneysel veriler arasındaki korelasyon grafiği

4.5.1. % Çözünen Miktarın Yapay Sinir Ağları ile Tahmini

Yapay sinir ağının öğrenme işlemi tamamlandıktan sonra daha önce hiç çalışılmamış bağımsız değişken düzeyleri ile hazırlanan formülasyonların çözünme profili tahmin edilebilir. Bunun için öncelikle seçilecek bağımsız değişken (%HPMC K4M, %EUDRAGIT™ L100) düzeylerinin daha önce yapay sinir ağına öğretilen aralıkta olması gerekmektedir. Bu bilgi ışığında bağımsız değişkenlerin Tablo 4.14'teki düzeylerinde elde edilecek çözünme profili yapay sinir ağı ile tahmin edilmiş ve ardından bu formülasyon çalışılarak çözünme profili deneysel olarak elde edilmiştir. Elde edilen deneysel veriler ile yapay sinir ağları ile tahmin edilen veriler karşılaştırılmıştır. Tablo 4.15'te yapay sinir ağları ile elde edilen tüm deneysel sonuçlar, Tablo 4.16'da tahmini sonuçlar ve Tablo 4.17'de % hata değerleri gösterilmiştir.

Tablo 4.14. Seçilen bağımsız değişken düzeyleri

Bağımsız değişkenler	
X1	X2
% HPMC K100M	% EUDRAGIT™ L100
% 8	% 10

Tablo 4.15. Deneysel olarak elde edilen % çözünen karvedilol miktarları

Girdiler		Deneysel Çıktı Verileri (% Çözünen)											
X1	X2	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12
% HPMC K4M	%EUDRAGIT L100	30.dk	60.dk	90.dk	120.dk	150.dk	180.dk	240.dk	360.dk	480.dk	600.dk	720.dk	1440.dk
4.5	0	7.791	13.374	18.831	20.612	24.136	27.391	35.082	51.063	71.726	84.873	88.917	96.710
4.5	15	6.067	9.699	13.905	17.055	20.641	22.974	30.352	43.405	57.335	64.978	81.760	99.469
4.5	30	5.554	8.976	12.655	16.508	18.620	21.123	26.351	36.070	45.798	53.244	60.158	98.692
7.5	0	6.085	11.339	16.818	21.516	24.708	27.354	33.813	49.636	61.014	73.568	77.689	97.320
7.5	15	6.334	10.702	15.508	19.463	22.486	25.337	31.742	42.334	51.717	59.827	64.020	92.775
7.5	30	7.208	9.865	13.108	15.473	18.496	20.470	24.933	30.923	41.907	48.278	58.383	90.756
10.5	0	5.691	9.169	12.913	15.750	18.682	20.774	26.539	37.717	47.963	58.159	68.871	95.914
10.5	15	5.676	8.653	11.946	15.397	17.524	19.920	25.255	34.587	43.272	50.168	57.188	99.157
10.5	30	5.248	8.714	12.127	14.301	15.803	17.369	20.296	31.702	39.786	47.251	51.785	91.149
7.5	15	6.563	10.917	14.604	17.851	20.463	22.382	26.909	38.125	48.030	56.391	62.302	94.183
7.5	15	6.803	11.138	13.840	16.650	18.794	20.777	25.402	35.712	44.931	52.959	59.555	88.545
7.5	15	6.062	10.222	12.986	15.782	17.633	19.325	22.814	32.772	40.063	48.127	55.272	89.360
7.5	15	6.160	10.200	13.367	15.788	17.863	19.980	23.636	35.181	43.740	52.688	59.993	95.049
8	10	5.217	9.118	12.486	14.922	17.271	18.714	24.582	34.842	43.508	52.737	62.550	91.313

Tablo.4.16. Yapay sinir ağından elde edilen tahmini % çözünen karvedilol miktarları

Girdiler		Tahmini Çıktı Verileri (% Çözünen)											
X1	X2	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12
% HPMC K4M	%EUDRAGIT L100	30.dk	60.dk	90.dk	120.dk	150.dk	180.dk	240.dk	360.dk	480.dk	600.dk	720.dk	1440.dk
4.5	0	7.137	12.638	18.046	21.093	24.735	27.692	35.265	51.337	68.407	81.191	87.730	97.031
4.5	15	6.232	10.553	14.948	18.335	21.264	23.884	30.426	43.557	56.823	66.034	74.910	98.258
4.5	30	5.908	9.552	13.192	16.584	19.041	21.352	26.811	37.573	48.007	55.109	64.501	96.947
7.5	0	6.653	11.571	16.473	19.522	22.767	25.459	32.253	46.940	61.612	73.340	79.976	96.671
7.5	15	6.412	10.308	13.875	16.800	19.285	21.431	26.169	36.453	46.383	54.469	61.506	92.880
7.5	30	6.589	10.257	13.326	16.030	18.280	20.187	23.941	32.441	40.644	47.729	54.077	89.863
10.5	0	5.760	9.678	13.745	16.758	19.313	21.526	26.956	39.445	49.884	60.154	66.623	96.020
10.5	15	5.338	8.468	11.716	14.869	16.915	18.850	23.296	33.218	40.801	48.323	56.123	95.563
10.5	30	5.673	8.861	11.932	14.941	16.973	18.847	22.896	31.996	39.300	46.368	53.768	93.553
7.5	15	6.412	10.308	13.875	16.800	19.285	21.431	26.169	36.453	46.383	54.469	61.506	92.880
7.5	15	6.412	10.308	13.875	16.800	19.285	21.431	26.169	36.453	46.383	54.469	61.506	92.880
7.5	15	6.412	10.308	13.875	16.800	19.285	21.431	26.169	36.453	46.383	54.469	61.506	92.880
7.5	15	6.412	10.308	13.875	16.800	19.285	21.431	26.169	36.453	46.383	54.469	61.506	92.880
8	10	6.372	10.408	14.204	17.137	19.726	21.942	26.998	38.106	48.667	57.541	64.355	93.611

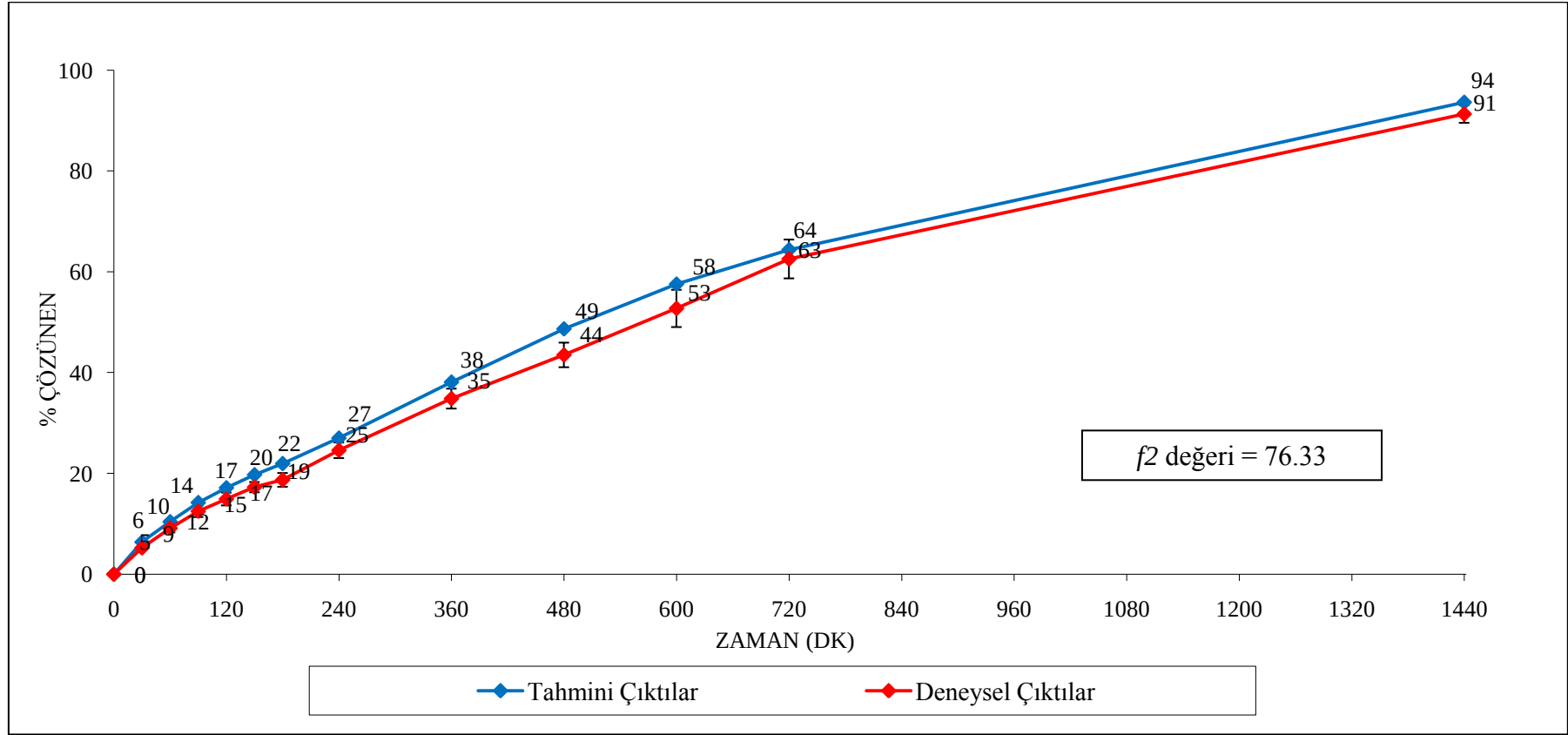
Tablo.4.17. Deneysel ve tahmini veriler arasındaki % hata değerleri

Girdiler		% Hata Değerleri											
X1	X2	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12
% HPMC K4M	%EUDRAGIT L100	30.dk	60.dk	90.dk	120.dk	150.dk	180.dk	240.dk	360.dk	480.dk	600.dk	720.dk	1440.dk
4.5	0	8.390	5.505	4.168	2.333	2.481	1.099	0.520	0.537	4.628	4.338	1.335	0.331
4.5	15	2.723	8.809	7.503	7.506	3.018	3.961	0.243	0.351	0.893	1.626	8.378	1.217
4.5	30	6.373	6.424	4.245	0.459	2.262	1.084	1.747	4.166	4.824	3.502	7.219	1.768
7.5	0	9.333	2.042	2.054	9.267	7.854	6.928	4.613	5.432	0.981	0.310	2.944	0.667
7.5	15	1.226	3.681	10.532	13.683	14.234	15.415	17.557	13.893	10.314	8.956	3.927	0.113
7.5	30	8.589	3.974	1.663	3.599	1.169	1.382	3.978	4.909	3.013	1.137	7.375	0.984
10.5	0	1.213	5.551	6.442	6.400	3.376	3.618	1.569	4.582	4.005	3.429	3.265	0.110
10.5	15	5.959	2.132	1.925	3.431	3.475	5.371	7.757	3.959	5.711	3.677	1.862	3.624
10.5	30	8.095	1.686	1.610	4.476	7.406	8.508	12.808	0.927	1.223	1.870	3.829	2.637
7.5	15	2.311	5.581	4.995	5.886	5.755	4.248	2.751	4.387	3.429	3.408	1.278	1.384
7.5	15	5.748	7.452	0.251	0.901	2.611	3.150	3.020	2.075	3.231	2.852	3.275	4.896
7.5	15	5.759	0.844	6.849	6.449	9.370	10.898	14.707	11.232	15.775	13.177	11.279	3.940
7.5	15	4.075	1.059	3.799	6.413	7.963	7.265	10.719	3.614	6.043	3.380	2.521	2.282
8	10	22.141	14.149	13.758	14.846	14.214	17.247	9.826	9.369	11.856	9.109	2.886	2.517

Daha önce çalışılmamış, Tablo 4.14’de yer alan düzeylerde HPMC K4M ve EUDRAGIT™ L100 içeren formülasyonun, 0.1N HCl (2 saat)-pH 6.8+/-0.5 SLS (2-24 saat) ortamında 24 saat çözünme testi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen deneysel veriler ve yapay sinir ağından elde edilen tahmini veriler Tablo 4.18’de gösterilmiştir. Deneysel çözünme profili ve tahmini çözünme profili f_2 testi ile karşılaştırılmıştır. f_2 değeri 76.33 bulunmuştur. Elde edilen profil Şekil 4.39’da gösterilmiştir.

Tablo.4.18. Deneysel veriler ve yapay sinir ağından elde edilen tahmini veriler

Zaman (dk)	% Çözünen (Deneysel)	% Çözünen (Tahmini)
30. dk	5.217	6.372
60. dk	9.118	10.408
90. dk	12.486	14.204
120. dk	14.922	17.137
150. dk	17.271	19.726
180. dk	18.714	21.942
240. dk	24.582	26.998
360.dk	34.842	38.106
480. dk	43.508	48.667
600.dk	52.737	57.541
720.dk	62.550	64.355
1440.dk	91.313	93.611



Şekil 4.39. Karvedilol kontrollü salım sağlayan tablet formülasyonunun 0.1 N HCl (2saat)- pH 6.8 + %0.5 SLS (2-24saat) ortamındaki tahmini ve deneysel çözünme profili

5. TARTIŞMA

5.1. Etkin Madde Üzerine Yapılan Çalışmalar

Tez çalışmaları kapsamında zayıf bazik bir ilaç olan ve pH'ya bağımlı çözünürlük gösteren karvedilol etkin maddesi kullanılmıştır. Karvedilol, β -blokör bir ilaç olup hipertansiyon tedavisinde tek başına veya kombine halde kullanılmaktadır.

Kullanılan karvedilol etkin maddesinin yapısının incelenmesi için pek çok çalışma yapılmıştır. Karvedilolün UV spektrofotometre cihazı ile analiz edilemeyeceği ile ilgili bilgi sağlamak için literatürden yararlanılmıştır (132-134). Literatürde yer alan çalışmalardan karvedilolün 242-244 nm dalga boyuna yakın dalga boylarında UV spektrofotometrede analiz edilebileceği saptanmıştır. Tez çalışması kapsamında karvedilolün UV spektrumu alınarak spektrofotometrik yöntemle en yüksek absorbans verdiği dalga boyu tayin edilmiştir. Bu çalışma sonucunda karvedilolün maksimum absorbans verdiği dalga boyu literatürde yer alan değerlere benzer şekilde 241nm olarak belirlenmiştir. Karvedilolün UV spektrumu, çözünme testlerinin gerçekleştirileceği 0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarının ikisinde de alınmış, iki ortamda da maksimum absorbans verdiği dalga boyu 241 nm olarak belirlenmiştir.

Karvedilol ile formülasyonlarda yer alan polimerler arasında herhangi bir etkileşim olup olmadığının belirlenmesi için FT-IR analizleri yapılmıştır. FT-IR analizlerinde 2 farklı örnek kullanılmıştır. Bunlar; karvedilolün tek başına bulunduğu ve karvedilolün polimerlerle birlikte bulunduğu örneklerdir. Karvedilolün tek başına bulunduğu örnekten çekilen FT-IR spektrumunda gözlenen, karvedilolün yapısında bulunan fonksiyonel gruplara ait pikler; kayma veya şekil bozuklukları olmaksızın, polimerler varlığında çekilen FT-IR spektrumunda da gözlenmiştir. Dolayısıyla FT-IR spektrumlarına bakılarak karvedilol ile polimerler arasında herhangi bir etkileşim olmadığı söylenebilir.

Karvedilol ve formülasyonlarda yer alan polimerlerin arasında herhangi bir etkileşim olup olmadığının belirlenmesi için FT-IR analizlerine ek olarak DSC (diferansiyel taramalı kalorimetri) analizleri de yapılmıştır. Bu amaçla karvedilolün

tek başına bulunduğu, karvedilolün polimerlerle birlikte bulunduğu ve sadece polimerlerin bulunduğu 3 farklı örnek kullanılmıştır. Karvedilolün tek başına bulunduğu örnekte karvedilole ait erime piki 119°C 'de gözlenmiştir. Karvedilol ve polimerlerin birlikte bulunduğu örneğe ait DSC termogramı incelendiğinde; polimerler varlığında karvedilole ait erime pikinde herhangi bir kayma, bozulma veya değişme gözlenmemiştir. Erime piki yine 119°C 'de gözlenmiştir. Dolayısıyla DSC termogramlarına bakılarak karvedilol ile polimerler arasında herhangi bir etkileşim olmadığı söylenebilir.

Erime noktasının tayini çalışmalarında etkin maddenin kılcal tüp içinde konularak analiz edildiği Thomas Hoover erime derecesi tayini cihazı kullanılmıştır. Karvedilolün erime derecesi ile ilgili olarak literatürde 116.91°C , 117°C , 118.71°C gibi değerler verilmiştir (43-45). Erime derecesi literatürde belirtilen ve DSC analizlerinde de gözlenen değere yakın olarak $118-119^{\circ}\text{C}$ olarak bulunmuştur.

Etkin maddenin partikül boyutu dağılımı analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 2 mg/mL konsantrasyonda karvedilol içeren 3 örnek hazırlanmış, her bir örnek 3'er kez analiz edilmiştir. Partikül boyutu dağılımı grafikleri incelendiğinde sonuçların tekrarlanabilir olduğu gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre karvedilolün ortalama partikül büyüklüğü $70.74\ \mu\text{m} \pm 14.26$ bulunmuştur.

5.2. Karvedilolün Miktar Tayini Validasyonu

Karvedilolün UV spektrofotometre cihazında miktar tayini validasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla yöntem validasyonunda; özgünlük, doğruluk, aralık, doğruluk, kesinlik, saptama limiti, tayin limiti ve dayanıklılık gibi validasyon ölçütleri incelenmiştir (126).

Yapılan özgünlük (spesifiklik) çalışmalarında; karvedilolün, çözünme çalışmalarında kullanılan ortamlar ve formülasyonlarda yer alan yardımcı maddelerle aynı dalga boyunda pik vermediği gösterilmiştir. Bu amaçla çözünme testlerinde kullanılan 0.1 N HCl, %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarının ve formülasyona giren diğer yardımcı maddelerin bu ortamlardaki UV spektrumları alınmıştır. Karvedilolün maksimum absorbands verdiği dalga boyu olan $241\ \text{nm}$ 'de çözünme ortamlarının ve

yardımcı maddelerin pik vermediği kromatogramlar da sunularak gösterilmiştir. Sonuç olarak geliştirilen UV yöntemi karvedilole özgü bir yöntemdir.

Miktar tayininde çalışılan aralık, UV Spektrofotometrenin duyarlılık aralığına göre seçilmiştir. Karvedilol için, çalışılan konsantrasyon aralığı olarak; yaklaşık 0.200-1.000 değerleri arasında absorban veren 2µg/mL-8µg/mL aralığı seçilmiştir. Doğrusallık çalışmalarında kullanılan konsantrasyonlar da yine bu aralıktaki seçilmiştir. Yapılan çözünme deneylerinden ve çözünürlük çalışmalarından elde edilen yüksek derişime sahip örnekler bu aralıktaki konsantrasyonlara seyreltilerek okutulmuştur.

Doğrusallık çalışmalarında 2µg/mL, 3µg/mL, 4µg/mL, 5µg/mL, 6µg/mL, 7µg/mL ve 8µg/mL olmak üzere 7 ayrı konsantrasyonda karvedilol çözeltileri hazırlanmış ve kalibrasyon doğrusu elde edilmiştir. 0.1N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarında elde edilen açıklayıcılık katsayısı (r^2) sırasıyla 0.99996 ve 0.99998 bulunmuştur. Bu ortamlarda gerçekleştirilen tüm çalışmalar elde edilen bu kalibrasyon doğruları kullanılarak okutulmuştur.

Yapılan miktar tayini validasyonu çalışmalarında doğruluk ölçütünün gösterilmesi için çözünme çalışmalarının gerçekleştirildiği iki ortamda da formülasyona giren diğer yardımcı maddelerin (plasebo) varlığında karvedilolün düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlardaki çözeltileri hazırlanmıştır. Doğruluk ölçütü; yardımcı maddelerin varlığında yapılan analiz ile eklenen madde miktarının tam olarak bulunabilmesi ilgili bir ölçüt olup, % geri kazanım veya % geri elde şeklinde ifade edilir. Yapılan validasyon çalışmasında % geri kazanımın %98-%102 aralığında olması beklenmiştir (135). Çalışma sonucunda her iki ortamda da limitler içinde % geri kazanım elde edilmiştir.

Kesinlik ölçütünün 3 düzeyinden biri olan tekrar elde edilebilirlik ölçütü; laboratuvarlar arası kesinliktir. Tez çalışması kapsamında yöntemin başka bir laboratuvara taşınma olasılığı bulunmamasından dolayı bu ölçüt çalışılmamıştır (126).

Kesinlik ölçütünün bir diğer düzeyi olan tekrarlanabilirlik ölçütünün gösterilmesi için aynı örnekten ardı ardına 10 okuma yapılmış olup, okumaların varyasyon katsayısının %2'nin altında olması beklenmektedir. 0.1N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarında düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlarda hazırlanan karvedilol çözeltilerinin ardı ardına okutulması ile elde edilen varyasyon katsayıları %2'nin altında bulunmuştur (136).

Ara kesinlik çalışmalarının yürütülmesi için günler arası kesinlik incelenmiştir. Bu amaçla karvedilolün, 0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarında hazırlanan düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlardaki çözeltileri birbirini takip eden 3 gün, UV spektrofotometre cihazında okutulmuştur. Günler arasında elde edilen sonuçlara ait varyasyon katsayısını %2'nin altında olması amaçlanmıştır (136). Çalışma sonucunda farklı günlerde düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlar için elde edilen varyasyon katsayıları 0.1 N HCl ortamı için sırasıyla %1.97, %1.96 ve %1.70 olarak bulunmuştur. %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamında ise sırasıyla %1.93, %1.36 ve %0.99 bulunmuştur. Dolayısıyla elde edilen sonuçlar limitler içinde bulunmuştur.

Yöntem validasyonunda, saptama limitinin (LOD) belirlenmesi için yanıtın standart sapmasına ve eğime bağlı yöntem kullanılmış olup (126), saptama limiti 0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarında sırasıyla 0.297 µg/mL ve 0.322 µg/mL olarak bulunmuştur. Her iki ortamda da yapılan validasyon, çözünürlük çalışmaları ve çözünme testleri gibi tüm testlerde çalışılan konsantrasyon aralığı UV spektrofotometrenin duyarlılık aralığına göre seçilmiş olup, yaklaşık 0.200-1.000 değerleri arasında absorbans veren 2µg/mL-8µg/mL konsantrasyon aralığıdır. Bu aralık her iki ortam için hesaplanan saptama limitlerinin üzerinde olduğundan çalışılan konsantrasyon aralığı için saptama limiti açısından herhangi bir sakınca söz konusu değildir.

Tayin limitinin (LOQ) belirlenmesinde de cevabın standart sapmasına ve eğime bağlı yöntem kullanılmıştır (126). Tayin limiti; 0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarında sırasıyla 1.021 µg/mL ve 1.481 µg/mL olarak bulunmuştur. Her iki ortamda da yapılan validasyon, çözünürlük çalışmaları ve çözünme testleri gibi

testlerde çalışılan konsantrasyon aralığı 2µg/mL-8µg/mL aralığında olduğu için tayin limiti açısından herhangi bir sakınca söz konusu değildir.

Karvedilolün analiz süresince dayanıklılığının belirlenebilmesi için çalışmalar yapılmış. Çözünme çalışmalarının gerçekleştirildiği 0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarında 1. 6. 12. ve 24. saatlerde kalan karvedilol yüzdeleri başlangıçta (0.saat) ölçülen konsantrasyona oranla sırasıyla %98.76, %99.20 bulunmuştur. Her iki ortamda da kalan karvedilol miktarı %95-%105 aralığında olduğundan analiz süresince dayanıklı bulunmuştur.

5.3. Çözünürlük Çalışmaları

Çözünürlük çalışmaları Bölüm 3.2.3'te anlatıldığı gibi gerçekleştirilmiştir. Karvedilolün çözünme testlerinde kullanılan 0.1 N HCl ve %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarındaki çözünürlük değerleri saptanmıştır. Elde edilen çözünürlük verilerinden yola çıkarak bu ortamlarda karvedilol için sink koşulların sağlanıp sağlanmadığı incelenmiştir. Yapılan hesaplar doğrultusunda sink koşulların her iki ortamda da sağlandığı saptanmıştır. Çözünme testlerinde; ilaçların çözünme ortamı hacmi seçilirken (500 mL, 900 mL, 1000mL) sink koşullarının sağlanmasına dikkat edilir (137). Karvedilol için hem 0.1 N HCl, hem de %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamlarında sink koşullar sağlanmaktadır.

5.4. Formülasyon Geliştirme Çalışmaları

Bu tez çalışmasında amaç; zayıf bazik bir ilaç olan ve pH'ya bağımlı çözünürlük gösteren karvedilol etkin maddesinin pH'dan bağımsız kontrollü salım sağlayan sisteminin geliştirilmesidir. Bunun için çalışmamızda matriks tipi tablet formülasyonu geliştirilmiştir.

Zayıf bazik ilaç olan karvedilol, asidik olan mide ortamında iyonize şekle dönüşüp çözünecek, bazik olan bağırsak ortamında ise non-iyonize şekle dönüşecektir. Bilindiği gibi ilaçlar iyonize olduğunda çözünür, non-iyonize durumda ise absorbe olur. Tez çalışması kapsamında zayıf bazik karvedilolün bağırsak ortamındaki düşük çözünürlüğünü artıran, pH'dan bağımsız salımını sağlayan formülasyonunun geliştirilmesi amaçlanmıştır. Geliştirilen tablet formülasyonunda kullanılan yardımcı maddeler de bu doğrultuda seçilmiştir.

Karvedilolün bazik ortamda düşük olan çözünürlüğünü dengeleyebilmek için formülasyona anyonik bir polimer olan EUDRAGIT™ L100 eklenmiştir (17). EUDRAGIT™ L100 bir çeşit enterik polimer olup, asidik pH'ya sahip mide ortamında çözünmeyecek böylelikle düşük pH'da yüksek çözünürlüğe sahip karvedilolün çözünmesini yavaşlatacaktır. Bağırsak ortamında ise EUDRAGIT™ L100 çözünecek ve matriks yapısında porlar oluşturarak veya deformasyon yaratarak karvedilolün çözünmesini hızlandıracak böylelikle karvedilolün düşük çözünürlüğünü dengeleyecektir. Bu şekilde geliştirilen formülasyonlarla dozaj şekliinden karvedilolün pH'dan bağımsız salımının gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

Formülasyonlarda yer alan yüksek viskoziteye sahip HPMC K4M, düşük viskoziteye sahip HPMC K100LV ve HPC matriks yapısını oluşturan nötral polimerlerdir. Formülasyonlarda ek olarak katyonik bir polimer olan ve mide ortamında çözünüp, bağırsak ortamında çözünmeyen EUDRAGIT™ EPO kullanılmıştır. EUDRAGIT™ EPO'nun formülasyona eklenmesindeki amaç, tabletin en çok 1-2 saat kaldığı mide ortamında HPMC matriksin yeteri kadar ıslanmamasından dolayı meydana gelebilecek olan düşük çözünmeyi, matriks yapısında porlar oluşturarak dengelemektir. Formülasyonlara laktoz monohidrat suda çözünür seyreltici doldurucu, magnezyum stearat ise kaydırıcı amaçla eklenmiştir.

5.5. Çözünme Testleri

Çözünme deneyleri için “USP <711> Dissolution” bölümünde yer alan Yöntem A seçilmiştir. Bu yöntemle göre çözünme ortamları 0.1 N HCl (2 saat) - pH 6.8 fosfat tamponudur (2-24 saat). Bu koşullarda yapılan çözünme testlerinde çözünme ortamının yüzey gerilimini düşürüp karvedilolün ıslanabilirliğini arttırmak için pH 6.8 ortamına %0.5 oranında SLS ilave edilmiştir. Fizyolojik yüzey gerilimi vücutta bulunan doğal yüzey aktif maddeler dolayısıyla düşüktür. İnce bağırsakta lesitin, safra tuzları, monoolein gibi pek çok doğal yüzey aktif madde bulunmaktadır (138). Bu doğal yüzey aktif maddelerin sulu ortamlara ilavesi yüzey gerilimini düşürerek az çözünür ilaçların çözünürlüğünü 100 kattan daha fazla oranda arttırdığı bilinmektedir. Yapılan çözünme testlerinde de SLS aynı amaçla pH 6.8 ortamına ilave edilmiştir. SLS kritik misel konsantrasyonun üzerinde minimum yüzey gerilimi sağlar. Çözünme deneylerinde pH 6.8 ortamına ilave edilen SLS oranı %0.5'tir Bu

oranın seçiminde literatürde yer alan karvedilol gibi zayıf bazik maddelerle yapılan çalışmalardan yararlanılmıştır. Bu çalışmalarda pH'dan bağımsız salımı amaçlanan zayıf bazik maddeler için bağırsak ortamını yansıtan pH 6.8 ortamına %0.1 - %1 aralığında SLS eklenmiştir (16,18,139). Tez çalışmaları kapsamında da pH 6.8 ortamına eklenecek SLS oranı olarak literatürdeki aralığın içinde yer alan %0.5 değeri seçilmiştir. Yapılan çözünme deneylerinde pH 6.8 ortamına SLS ilavesiyle yüzey gerilimi düşürülmüş, sink koşul sağlanmıştır.

Anyonik bir yüzey aktif madde olan SLS'nin, formülasyonların matriks yapısında herhangi bir bozulmaya neden olup olmadığı incelenmiş, 24 saatlik çözünme testleri boyunca %0.5 SLS içeren pH 6.8 ortamında, matriks polimerlerin yapısında herhangi bir bozulma olmadığı, 24 saat boyunca matriksin yapısını koruduğu gözlenmiştir.

Hazırlanan 9 farklı formülasyonun çözünme testleri; değişkenlerin orta değerine sahip formülasyonun 5 defa diğer tüm formülasyonların 1 defa olmak üzere toplam 13 çözünme testi olacak şekilde 0.1 N HCl (2 saat) – pH 6.8 + %0.5 SLS (2-24 saat) ortamlarında gerçekleştirilmiştir. Yapılan çözünme testleri sonucunda formülasyonların çözünme profilleri elde edilmiştir. Elde edilen verilerden yola çıkılarak formülasyonlardaki bağımsız değişkenler % HPMC K4M ve % EUDRAGIT™ L100 değerleri ile profillerin birbirinden farklı davranış gösterdiği yani formülasyon farklılıklarının profillere yansıdığı 4. saat, 6. saat, 8. saat, 10. saat, 12. saatteki çözünme verileri kullanılarak yüzey yanıt ve kontur grafikleri çizilmiş ve bu grafikleri yansıtan polinomal eşitlikler elde edilmiştir. Bu eşitlikler yardımıyla kritik zaman noktalarında çözünen karvedilol miktarı tahmin edilebilir. Ancak yapay sinir ağları ile karşılaştırıldığında yüzey yanıt grafiklerinin tahmin yeteneğinin daha zayıf olduğu bilinmektedir.

Elde edilen çözünme profilleri Tablo 4.26'da yer almaktadır. Bu profiller incelendiğinde EUDRAGIT™ L100 içermeyen CRV-A1, CRV-A4 formülasyonları 0.1 N HCl ortamında hızlı çözünme ve matriks yapısında bozulma gösterdiği için bu ortamda elde edilen % çözünen verileri daha yüksektir. Bunun nedeni enterik polimer olan EUDRAGIT™ L100'ün bulunmadığı bu formülasyonlarda yer alan

katyonik yapıya sahip EUDRAGIT™ EPO'nun asidik ortamda çözünerek matriks yapısında por oluşturmaktadır. Oluşan porlar nedeniyle matriks yapısından kopmalar ve parçalanmalar meydana gelmektedir. Bu parçalanmalar nedeniyle matriks yapısını pH 6.8 ortamında da koruyamamakta ve bu ortamda da yüksek çözünme göstermektedir. Formülasyonun içeriğine EUDRAGIT™ L100 eklenmesiyle anyonik ve katyonik yapılar dengelenmekte ve pH'dan bağımsız salım elde edilmektedir. EUDRAGIT™ L100 miktarının %15 ve yukarısında olduğu formülasyonlarda zayıf bazik karvedilolün düşük çözünürlüğe sahip olduğu pH 6.8 ortamında EUDRAGIT™ L100'ün çözünerek porlar oluşturmaları nedeniyle pH'dan bağımsız salım elde edilebilmiştir.

Çözünme testlerinden elde edilen veriler kullanılarak çalışılan formülasyonların 0. derece salım kinetikleri incelenmiş ve açıklayıcılık katsayıları (r^2) hesaplanmıştır (130). r^2 değeri CRV-A3, CRV-A6, CRV-A8, CRV-A9 formülasyonlarında 1'e en yakın bulunmuştur. Bu formülasyonlarda elde edilen r^2 değerleri sırasıyla 0.9809, 0.9748, 0.9907 ve 0.9901'dir. Bu formülasyonlarda 0. derece kinetiğe ait r^2 değerleri 1'e çok yakın bulunduğu için bu formülasyonlarda pH'dan bağımsız salım elde edildiği söylenebilir. CRV-A3 ve CRV-A6 formülasyonlarında HPMC K4M oranları sırasıyla %4.5 ve %7.5 iken enterik polimer olan %EUDRAGIT™ L100 oranı her iki formülasyonda da %30'dur. Bu doğrultuda HPMC K4M'nin düşük düzeylerinde EUDRAGIT™ L100 miktarı artırılarak 0. derece salım elde edilebileceği söylenebilir. CRV-A8 ve CRV-A9 formülasyonlarında %HPMC K4M oranı %10.5 iken EUDRAGIT™ L100 oranı sırasıyla %15 ve %30'dur. Dolayısıyla HPMC K4M'nin yüksek düzeylerinde EUDRAGIT™ miktarının %15-%30 olmasıyla 0. derece salım elde edilmiştir. Bu veriler ışığında EUDRAGIT™ L100 ve HPMC K4M düzeyleri değiştirilerek formülasyonların çözünme profillerinin davranışı değiştirilebilir.

5.6. Yapay Sinir Ağları Kullanılarak Çözünme Profilinin Tahmini

Yapay sinir ağları uygulamalarında; MATLAB 7.0.1 programı kullanılmıştır. Öğrenme işlemi başlamadan önce ağa iki formülasyon değişkeni (bağımsız değişkenler) girdi verisi olarak, 12 ayrı zaman noktasındaki % çözünen karvedilol değerleri ise çıktı verisi olarak (bağımlı değişkenler) sunulmuştur. Formülasyonlarda

yer alan % HPMC K4M ve %EUDRAGIT™ L100'ün çözünme profilini en fazla etkileyeceği göz önünde bulundurularak bu değişkenler uygulanan yapay sinir ağı modelinde bağımsız değişkenler olarak seçilmiştir. Bu iki değişkenin üç düzeyini içeren 9 formülasyon hazırlanmış, central composite modeline göre iki değişkenin orta düzeyini içeren formülasyon için 5 defa çözünme testi yapılarak toplamda 13 adet çözünme testi yapılmıştır (107). Çözünme testinde her tablet için elde edilen bulgular yapay sinir ağına sunulmuştur. Geliştirilen yapay sinir ağı çok tabakalı, ileri beslemeli bir ağ olup, danışmanlı öğrenme kuralı olan geriye doğru yayılım öğrenme kuralı kullanılmıştır. Deneme yanılma yolu ile yapay sinir ağı ile tahmin edilen ve deneysel olarak bulunan sonuçlar arasında en düşük % hata değeri elde edilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla gizli tabaka sayısı, gizli tabakadaki nöron sayısı, gizli tabakada ve çıktı tabakasında farklı transfer fonksiyonları denenerek en uygun sinir ağı modeli belirlenmeye çalışılmıştır. Yapay sinir ağına hedeflenen hata değeri öğrenme sırasında ağa sunulmuştur. Yapılan uygulamada bu hata değeri 10^{-3} olarak seçilmiştir. Öğrenme sırasında ağ bu hata değerine ulaşarak öğrenme işlemini tamamlayabilmiştir. Bu hata değerine ulaşamaması durumunda yapay sinir ağının kolay elde edebileceği daha büyük bir hata değeri sisteme girilebilir. Ağa öğretilen çok fazla sayıda veri olması, verilerin birbirine çok yakın olması veya çok fazla iterasyon/yinelemenin olması durumunda aşırı öğrenme durumu ortaya çıkabilmektedir. Bu durumun engellenebilmesi için uygulanan yapay sinir ağına “trainbr” komutu ile “Bayesian Düzeltme” yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem ile yeterli sayıda iterasyona ulaşınca, ağın kendini tekrarlayıp aşırı öğrenmeye yol açmaması için sistem öğrenmeyi durdurur. Tez kapsamında geliştirilen yapay sinir ağına da Bayesian Düzeltme yöntemi kullanılmıştır. Öğrenme işlemi için ağa rastgele 200 iterasyon/tekrar sayısı girilmiş ancak 65 tekrarda yeterli iterasyona ulaşıp hata değeri minimum olduğundan Bayesian Düzeltme yöntemi ile öğrenme durdurulmuş, böylece hatanın büyümesi ve aşırı öğrenme engellenmiştir.

Öğrenme işlemi sonunda deneysel ve tahmini veriler arasındaki tüm noktaları kapsayan korelasyon grafiğinde açıklayıcılık katsayısı (r^2) 0.994 olarak bulunmuştur. Sisteme girilen tüm çıktı verileri ile sistemin öğrenme sonunda belirlediği tahmini verilerin % hata değerleri incelenmiş ve elde edilen hata değerleri düşük değerler olduğu için (genellikle %10'un altında) sonuçlar uygun bulunmuştur.

Yapay sinir ağının öğrenme işlemi tamamlandığında sistemin tahmin yeteneğinin ölçülmesi için sisteme daha önce tanımadığı girdi verileri sunulmuş, tahmini çıktı değerleri elde edilmiştir. Bu girdi değerleri HPMC K4M'nin %8, EUDRAGIT™ L100'ün %10 olduğu değerlerdir. Bağımsız değişkenlerin bu düzeylerini kullanarak yapay sinir ağından tahmini veriler elde edilmiştir. Bu değişkenleri ağı girilen düzeylerde içeren formülasyon hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyonun çözünme testi gerçekleştirilmiştir. Çözünme testi sonucunda deneysel veriler elde edilmiştir. Deneysel veriler ile elde edilen çözünme profili ile yapay sinir ağının tahmin ettiği çözünme profili benzerlik testi (f_2 testi) ile karşılaştırılmıştır. Sonuçta f_2 değeri 72.66 bulunmuştur. f_2 değerinin 50'den büyük olması halinde iki profilin benzer olduğu söylenir (131). Yapılan çalışmada f_2 değeri 72.66 bulunduğu için tahmini çözünme profili ile deneysel çözünme profili benzer bulunmuştur.

6. SONUÇ

Tez çalışmasında zayıf bazik ilaç olan karvedilolün fizikokimyasal özellikleri incelenmiş, miktar tayini için UV Spektrofotometrik yöntem geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Yapılan çözünürlük çalışmaları, çözünme deneyleri ve stabilite analizlerinde valide edilen UV yöntemi kullanılmıştır.

pH'ya bağımlı çözünürlük gösteren zayıf bazik karvedilolün pH'dan bağımsız salım sağlayan kontrollü salım sisteminin geliştirilmesi hedeflenmiş, bu amaçla matriks tipi tablet formülasyonları geliştirilmiştir. Doğrudan basım yöntemi ile hazırlanan matriks tabletlerde ilacın salımını en çok etkileyen 2 formülasyon değişkeni HPMC K4M ve EUDRAGIT™ L100 olarak belirlenmiştir. HPMC K4M yüksek viskoziteye sahip olması dolayısıyla matriks yapısını koruması nedeniyle seçilmiş, EUDRAGIT™ L100 ise enterik polimer olması dolayısıyla zayıf bazik ilacın bağırsaktaki düşük çözünürlüğünü dengelemesi dolayısıyla seçilmiştir. Bu iki bağımsız değişkeni 3 farklı düzeyde içeren formülasyonlar geliştirilmiş ve 24 saatlik çözünme testleri yapılmıştır. 12 ayrı zaman noktasında örnek alınarak çözünme profilleri elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar kullanılarak yüzey yanıt grafikleri çizilmiştir. Çözünme profilleri incelendiğinde HPMC K4M'nin düşük düzeylerinde EUDRAGIT™ L100 miktarı artırılarak 0. derece salım elde edilebileceği söylenebilir. HPMC K4M'nin yüksek düzeylerinde EUDRAGIT™ L100 içeren formülasyonlarda da 0. derece salım elde edilmiştir.

Kontrollü salım sistemlerinin çözünme profillerini tahmin etmek, formülasyonlarında pek çok salımı geciktirici/değiştirici yardımcı maddeler ve polimerler bulunmasından dolayı oldukça güçtür. Kontrollü salım sistemlerinin çoğunun çözünme testleri 24 saat sürdüğü için analizleri uzundur. Bu nedenle az sayıda denemeyle uygun formülasyona ulaşmak zaman ve maliyet açısından oldukça önemlidir. Tez kapsamında yapay sinir ağları kullanılarak HPMC K4M ve EUDRAGIT™ L100'ün fonksiyonu olarak % çözünen karvedilol tahmin edilmiştir. Geliştirilen yapay sinir ağı ile tahmin edilen ve deneysel olarak elde edilen veriler arasındaki tüm noktaları kapsayan korelasyon grafiğinde r^2 değeri 0.994 olarak bulunmuştur. Daha önce yapay sinir ağına öğretilmemiş düzeylerde HPMC K4M ve

EUDRAGIT™ L100 içeren formülasyona ait tahmin edilen ve deneysel olarak elde edilen çözünme profilleri karşılaştırıldığında f_2 değeri 72.66 bulunmuştur.

Sonuç olarak pH'ya bağımlı çözünürlük gösteren zayıf bazik karvedilolün pH'dan bağımsız salım sağlayan formülasyonları geliştirilmiştir. Yapılan çalışmada yapay sinir ağları kullanılarak karvedilolün çözünme profili tahmin edilebilmiştir. Hemen salım sağlayan sistemlerle kıyaslandığında formülasyonları karmaşık olan ve çözünme testleri çok daha uzun olan kontrollü salım sağlayan sistemlerde uygulanan yapay sinir ağları, formülasyon değişikliklerinde elde edilecek çözünme profilinin tahmin edilmesinde yol gösterici olacaktır. Böylelikle denenecek formülasyon sayısını azaltarak az sayıda deneme ile istenen salımı sağlayan formülasyon belirlenmesinde faydalı olacaktır. Yapay sinir ağları ile etkin maddenin in-vitro davranışının tahmin edilmesinin yanı sıra in-vivo yanıtının tahmin edilmesi ve in-vitro in-vivo korelasyonunun kurulması mümkündür.

KAYNAKLAR

1. Brannon-Peppas, L. (1997). Polymers in controlled drug delivery. *Medicinal Plastics and Biomaterials*, 4, 34-44.
2. Das, N.G., Das, K.D. (2003). Controlled release of oral dosage forms. *Formulation, Fill & Finish*, 10-16.
3. Saks, R.S., Samuel, R., Gardner, B.L. (1997). The pharmacoeconomic value of controlled release dosage forms. *Journal of Controlled Release*, 48, 237-242.
4. Welling, P.G., Dobrinska, M.R., (1987). Dosing Consideration and Bioavailability Assessment of Controlled Drug Delivery Systems. J.R. Robinson, V.H.L.Lee (Ed.). *Controlled Drug Delivery* (s. 253-291). New York: Marcel Dekker.
5. Uhrich, K.E., Cannizzaro, S.M., Langer, R.S., Shakesheff, K.M. (1999). Polymeric systems for controlled drug release. *Chemical Reviews*, 99, 3181-3198.
6. Espinoza, R., Hong, E., Villafuerte, L. (2000). Influence of admixed citric acid on the release profile of pelanserine hydrochloride from HPMC matrix tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 201, 165–173.
7. Qui, Y. (2009). Rational Design of Oral Modified-Release Drug Delivery Systems. Y. Qui, Y. Chen, G.G.Z. Zhang (Ed.). *Developing Solid Oral Dosage Forms* (s.469-499). New York: Academic Press.
8. Pillai, O., Panchagnula, R. (2001). Polymers in drug delivery. *Current Opinion in Chemical Biology*, 5(4), 447-451.
9. Controlled Release Drug Delivery from Hydrogels. Student's Guide: CSIP Graduate Fellow Cornell University. Cornell Science Inquiry Partnerships. Erişim: 11 Eylül 2009, Ağ Sitesi: <http://csip.cornell.edu>
10. Angelova, N., Hunkeler, D. (1999). Rationalizing the design of polymeric biomaterials. *Trends in Biotechnology*, 17(10), 409-421.
11. Chandra, R., Rustgi, R. (1998). Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*, 23, 1273–1335.
12. Riis, T., Bauer-Brandl, A., Wagner, T., Kranz, H. (2007). pH-independent drug release of an extremely poorly soluble weakly acidic drug from

- multiparticulate extended release formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 65, 78–84.
13. Shargel, L., Yu, A.B.C. (2007). Biopharmaceutics. J. Swarbrick (Ed.). Encyclopedia of Pharmaceutical Technology Third Edition (s.208-227). New York: Informa Healthcare.
 14. Blanchard, J. (1978). Gastrointestinal absorption II. formulation factors affecting drug bioavailability. *American Journal of Pharmacy*, 150(5), 132-151.
 15. Rao, V.M., Engh, K., Qui, Y. (2003). Design of pH-independent controlled release matrix tablets for acidic drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 25, 281-286.
 16. Huang, Y.B., Tsai, Y.H., Lee, S.H., Chang, J.S., Wu P.C. (2005). Optimization of pH-independent release of nifedipine hydrochloride extended-release matrix tablets using response surface methodology. *International Journal of Pharmaceutics*, 289, 87-95
 17. Takka, S., Rajbhandari, S., Sakr, A. (2001). Effect of anionic polymers on the release of propranolol hydrochloride from matrix tablets. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 52, 75-82.
 18. Kuchekar, B.S., Boldhane, S.P. (2009). Preformulation and formulation studies of novel pH-independent controlled release drug delivery system of quetiapine fumarate. *Journal of Pharmacy Research*, 2(1), 110-119.
 19. Oren, P.L., Seidler, W.M.K. (1990). *Sustained Release Matrix*, U.S. Patent No. 4,968,508.
 20. Munday, D.L. (2003). Film coated pellets containing verapamil hydrochloride: enhanced dissolution into neutral medium. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 29(5), 575–583.
 21. Gutsche, S., Krause, M., Kranz, H. (2008). Strategies to overcome pH-dependent solubility of weakly basic drugs by using different types of alginates. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 34, 1277–1284.
 22. Howard, J.R., Timmins, P. (1988). *Controlled Release Formulation*. U.S. Patent No. 4,792,452.

23. Kranz, H., Guthmann, C., Wagner, T., Lipp, R., Reinhard, J. (2005). Development of a single unit extended release formulation for ZK 811 752, a weakly basic drug. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 26, 47–53.
24. Varma, M.V.S., Kaushal, A.M., Garg, S. (2005). Influence of micro-environmental pH on the gel layer behavior and release of a basic drug from various hydrophilic matrices. *Journal of Controlled Release*, 103, 499–510.
25. Streubel, A., Siepmann, J., Dashevsky, A., Bodmeier, R. (2000). pH-independent release of a weakly basic drug from water-insoluble and -soluble matrix tablets. *Journal of Controlled Release*, 67, 101–110.
26. Dashevsky, A., Kolter, K., Bodmeier, R. (2004). pH-independent release of a basic drug from pellets coated with the extended release polymer dispersion Kollicoat SR 30 D and the enteric polymer dispersion Kollicoat MAE 30 DP. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 58, 45–49.
27. Ensslin, S., Moll, K.P., Metz, H., Otz, M., Mäder, K. (2009). Modulating pH-independent release from coated pellets: effect of coating composition on solubilization processes and drug release. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72, 111–118.
28. Khan, G.M. (2001). Controlled release oral dosage forms: some recent advances in matrix type drug delivery systems. *The Sciences*, 1(5), 350-354.
29. Ertan, G., Karasulu, H.Y., Karasulu, E., Ege, M.A., Köse, T., Güneri, T. (2000). A new in vitro/in vivo kinetic correlation method for nitrofurantoin matrix tablet formulations. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 26(7), 737–743.
30. Shoaib, M.H., Tazeen, J., Merchant, H.A., Yousuf, R.I. (2006). Evaluation of drug release kinetics from ibuprofen matrix tablets using HPMC. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19(2), 119-124.
31. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Online Erişim 25 Aralık 2009, <http://www.who.int>
32. Strong, K., Mathers, C., Leeder, S., Beaglehole, R. (2005). Preventing chronic diseases: how many lives can we save? *Lancet*, 366, 1578-1582.

33. Kayaalp, O. (2009). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. O. Kayaalp (Ed.) Kalp Damar Sistemi İlaçları (s.357-534). Ankara: Pelikan Yayıncılık.
34. Hyman, D.J., Pavlik, V.N. (2001). Characteristics of patients with uncontrolled hypertension in the United States. *The New England Journal of Medicine*, 345(7), 479-486.
35. Moser, M., Black, H.R. (1998). The role of combination therapy in the treatment of hypertension. *American Journal of Hypertension*, 11, 73–78.
36. Neutel, J.M. (1999). Low-dose antihypertensive combination therapy: its rationale and role in cardiovascular risk management. *American Journal of Hypertension*, 12(8), 73-79.
37. Messerli, F.H., Williams, B., Ritz, E. (2007). Essential hypertension. *Lancet*, 370, 591–603.
38. Reiter, M.J. (2004). Cardiovascular drug class specificity: β -blocker. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 47(1), 11-33.
39. Ahmed, R., Branley, H.M. (2009). Reversible bronchospasm with the cardio-selective beta-blocker celiprolol in a non-asthmatic subject. *Respiratory Medicine CME*, 2, 141-143.
40. Stafylas, P.C., Sarafidis, P. (2008). Carvedilol in hypertension treatment. *Vascular Health and Risk Management*, 4(1), 23–30.
41. Bristow, M.R. (2000). Beta-adrenergic receptor blockade in chronic heart failure. *Circulation*, 101(5), 558-569.
42. European Pharmacopeia, EP 6.0. (2008). Ligugé (Fransa), Aubin Ltd.
43. Ubaidulla, U., Reddy, M.V.S., Ruckmani, K., Ahmad, F.J., Khar, R.K. (2007). Transdermal therapeutic system of carvedilol: effect of hydrophilic and hydrophobic matrix on in vitro and in vivo characteristics. *AAPS Pharmaceutical Science and Technology*, 8(1), 1-8.
44. Li, W.J., Guo, L., Nie, S., Pan, W., Sun, P., Liu, H. (2007). Investigations of a novel self-emulsifying osmotic pump tablet containing carvedilol. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 33, 990–998.

45. Pokharkar, V.B., Mandpe, L.P., Padamwar, M.N., Ambike, A.A., Mahadik, K.R., Paradkar, A. (2006). Development, characterization and stabilization of amorphous form of a low Tg drug. *Powder Technology*, 167, 20-25.
46. Doze, P., Elsinga, P.H., Maas, B., Waarde, A.V., Wegman, T., Vaalburg, W. (2002). Synthesis and evaluation of radiolabeled antagonists for imaging of β -adrenoceptors in the brain with PET. *Neurochemistry International*, 40(2), 145-155.
47. Shewale, B.D., Sapkal, N.P., Raut, N.A., Gaikwad, N.J., Fursule, R.A. (2008). Effect of hydroxylpropyl- β -cyclodextrin on solubility of carvedilol. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70(2), 255-257.
48. Horio, T., Itoa, S., Aoyama, M., Takeda, Y., Suzumura, H., Nakatac, K. ve diğ erleri. (2001). Effect of carvedilol on atrioventricular conduction in the ischemic heart. *European Journal of Pharmacology*, 412(2), 145-153.
49. Gilbert, E.M., Abraham, W.T., Olsen, S., Hattler, B., White, M., Mealy, P. ve diğ erleri. (1996). Comparative hemodynamic, left ventricular functional, and antiadrenergic effects of chronic treatment with metoprolol versus carvedilol in the failing heart. *Circulation*, 94, 2817-2825.
50. Frishman, W.H. (1998). Carvedilol. *The New England Journal of Medicine*, 339, 1759-1765.
51. Yoshikawa, T., Port, J.D., Asano, K., Chidiak, P., Bouvier, M., Dutcher, D. (1996). Cardiac adrenergic receptor effects of carvedilol. *European Heart Journal*, 17, 8-16.
52. Bañares, R., Moitinho, E., Piqueras, B., Casado, M., García-Pagán, J.C., Diego, A.D. ve diğ erleri. (2003). Carvedilol, a new nonselective beta-blocker with intrinsic anti- α 1-adrenergic activity, has a greater portal hypotensive effect than propranolol in patients with cirrhosis. *Hepatology*, 30(1), 79-83.
53. Sanderson, J.E., Chan, S.K.W., Yip, G., Yeung, L.Y.C., Chan, K.W., Raymond, K. ve diğ erleri. (1999). Beta-blockade in heart failure: A comparison of carvedilol with metoprolol. *Journal of the American College of Cardiology*, 34(5), 1522-1528.

54. Yue, T.L., Ruffolo, R.R., Feuerstein, G. (1999). Antioxidant action of carvedilol: a potential role in treatment of heart failure. *Heart Failure Reviews*, 4, 39–51.
55. Noguchi, N., Nishino, K., Niki, E. (2000). Antioxidant action of the antihypertensive drug, carvedilol, against lipid peroxidation. *Biochemical Pharmacology*, 59, 1069-1076.
56. Messerli, F.H., Grossman, E. (2004). β -Blockers in hypertension: is carvedilol different? *American Journal of Cardiology*, 93, 7-12.
57. Veld, A.J.M., Meiracker, A.H.V., Schalekamp, M.A. (1988). Do beta-blockers really increase peripheral vascular resistance? Review of the literature and new observations under basal conditions. *American Journal of Hypertension*, 1(1), 91-96.
58. Sica, D. (2006). Design of a novel controlled-release formulation of carvedilol: pharmacology and clinical aspects. Introduction. *American Journal of Cardiology*, 98(7), 1-4.
59. Baek, I., Yun, M., Yun, H., Kwon, K. (2008). Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling of the cardiovascular effects of beta blockers in humans. *Archives of Pharmacol Research*, 31(6), 814-821.
60. Chakraborty, S., Shukla, D., Jain, A., Mishra, B., Singh, S. (2009). Assessment of solubilization characteristics of different surfactants for carvedilol phosphate as a function of pH. *Journal of Colloid and Interface Science*, 335(2), 242-249.
61. Tenero, D.M., Henderson, L.S., Baidoo, C.A., Harter, A.H., Campanile, A.M., Danoff, T.M. ve diğerleri. (2006). Pharmacokinetic properties of a new controlled-release formulation of carvedilol. *The American Journal of Cardiology*, 98(7), 5-16.
62. Neugebauer, G., Akpan, W., Kaufmann, B., Reiff, K. (1990). Stereoselective disposition of carvedilol in man after intravenous and oral administration of the racemic compound. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 38, 108-111.
63. Karvedilol, RxMedia (2009). Bilgisayar sürümü. Erişim Tarihi: 12.12.2009
64. Coreg CR FDA Label. Erişim: 13 Ekim 2009, Ağ Sitesi: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/022012s010s013lbl.pdf.

65. Vela, M. (1998). Carvedilol: A new agent for chronic heart failure. *Journal of the Pharmacy Society of Wisconsin*, 31-37.
66. Handbook of Pharmaceutical Excipients. (2006). London, Pharmaceutical Press.
67. United States Pharmacopeia, XXXII. Edition. (2009). Rockville. United Book Press.
68. Planinšek, O., Pišek, R., Trojak, A., Srčič, S. (2000). The utilization of surface free-energy parameters for the selection of a suitable binder in fluidized bed granulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 207, 77–88.
69. Hancock, B.C., York, P., Rowe, R.C., An assessment of substrate-binder interactions in model granule systems. (1993). *Journal of Materials Science*, 28(24), 6729-6736.
70. Rossetti, D., Simons, S.J.R., Pagliai, P., Ward, R., Fitzpatrick S. (2004). Predicting the performance of granulation binders through micro-mechanistic observations. *Particle & Particle Systems Characterization*, 21, 284-292.
71. Dansereau, R., Brock, M., Redman-Furey, N. (1993). The solubilization of drug and excipient into a hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)-based film coating as a function for the coating parameters in a 24 Accela-Cota. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 19(7), 793-808.
72. Maffione, G., Iamartino, P., Guglielmini, G., Gazzaniga, A. (1993). High-viscosity HPMC as a film-coating agent. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 19(16), 2043-2053.
73. Reza, S., Quadir, M.A., Haider, S.S. (2003). Comparative evaluation of plastic, hydrophobic and hydrophilic polymers as matrices for controlled-release drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(2), 282-291.
74. Koester, L.S., Xavier, C.R., Mayorga, P., Bassani, V.L. (2003). Influence of β -cyclodextrin complexation on carbamazepine release from hydroxypropyl methylcellulose matrix tablets. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 55, 85–91.
75. Katzhendler, I., Azoury, R., Friedman, M. (1998). Crystalline properties of carbamazepine in sustained release hydrophilic matrix tablets based on hydroxypropyl methylcellulose. *Journal of Controlled Release*, 54, 69–85.

76. Dow Chemicals internet sitesi. Online Erişim: 04 Şubat 2010
<http://www.dow.com/>
77. Rajniak, P., Mancinelli, C., Chern, R.T., Stepanek, F., Farber, L., Hill, B.T. (2007). Experimental study of wet granulation in fluidized bed: impact of the binder properties on the granule morphology. *International Journal of Pharmaceutics*, 334, 92-102.
78. Badawy, S.F., Gray, D.B., Hussain M.A. (2006). A study on the effect of wet granulation on microcrystalline cellulose particle structure and performance. *Pharmaceutical Research*, 23(3), 634-640.
79. Roy, D.S., Rohera, B.D. (2002). Comparative evaluation of rate of hydration and matrix erosion of HEC and HPC and study of drug release from their matrices. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16, 193–199.
80. Nerurkar, J., Jun, H.W., Price, J.C., Park, M.O. (2005). Controlled-release matrix tablets of ibuprofen using cellulose ethers and carrageenans: effect of formulation factors on dissolution rates. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 61, 56–68.
81. Nellore, R.V., Rekhi, G.S., Hussain, A.S., Tillman, L.G., Augsburger L.L. (1998). Development of metoprolol tartrate extended-release matrix tablet formulations for regulatory policy consideration. *Journal of Controlled Release*, 50, 247–256.
82. Badjik, J., Regdon, G., Marek, T., Erős, I., Süvegh, K., Pintye-Hódi, K. (2005). The effect of the solvent on the film-forming parameters of hydroxypropyl-cellulose. *International Journal of Pharmaceutics*, 301(1-2), 192-198.
83. Fan, T.Y., Wei, S.L., Yan, W.W., Chen, D.B., Li, J. (2001). An investigation of pulsatile release tablets with ethylcellulose and Eudragit L as film coating materials and cross-linked polyvinylpyrrolidone in the core tablets. *Journal of Controlled Release*, 77, 245–251.
84. Amighi, K., Moës, A. J. (1995). Evaluation of thermal and film forming properties of acrylic aqueous polymer dispersion blends: application to the formulation of sustained-release film coated theophylline pellets. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 21(20), 2355-2369.

85. Bajdik, J., Pintye-Hódi, K., Regdon, G., Fazekas, P., Szabó-Révész, P., Erőss, I. (2003). The effect of storage on the behaviour of EUDRAGIT NE free film. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 73, 607-613.
86. Using dow excipients for controlled release of drugs in hydrophilic matrix systems. Erişim: 6 Ekim 2009, Ağ Sitesi: <http://www.pharmapolymers.com/pharmapolymers/en>.
87. Sun, Y., Peng, Y., Chen, Y., Shukla, A.J. (2003). Application of artificial neural networks in the design of controlled release drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55, 1201–1215.
88. Bourquin, J., Schmidli, H., Hoogevest, P.V., Leuenberger, H. (1997). Basic concepts of artificial neural networks (ANN) modeling in the application to pharmaceutical development. *Pharmaceutical Development and Technology*, 2(2), 95-109.
89. Rowe, R.C., Roberts, R.J. (1998). Artificial intelligence in pharmaceutical product formulation: neural computing and emerging technologies. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 1(5), 200-205.
90. Basheer, I.A., Hajmeer, M. (2000). Artificial neural networks: fundamentals, computing, design, and application. *Journal of Microbiological Methods*, 43, 3–31.
91. Hayati, M., Yousefi, T., Ashjaee, M., Hamidi, A., Shirvany, Y. (2007). Application of artificial neural networks for prediction of natural convection heat transfer from a confined horizontal elliptic tube. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 28, 269-274.
92. Rowe, R.C., Roberts, R.J., (1998). Intelligent Software for Product Formulation Neural Networks. Genetic Algorithms and Fuzzy Logic (s. 55-76). New York: CRC Press.
93. Jain, A.K., Mao, J., Mohiuddin, K.M. (1996) Artificial neural network: Tutorial. *IEEE Xplore*, 31–44.
94. Artificial Neural Networks. Online Erişim: 21 Kasım 2009 http://en.wikibooks.org/wiki/Artificial_Neural_Networks/Print_Version
95. Artificial neural networks. Artificial intelligence technologies tutorial. Online Erişim: 11 Aralık 2009. <http://www.learnartificialneuralnetworks.com/>

96. Wu, J.K. (1994). Neural networks and simulation methods. (s.60-66) New York: Marcel Dekker.
97. Widrow, B., Hoff, M.E. 1960. Adaptive switching circuits. *IRE Western Electric Show and Convention Record*, 4, 96-104.
98. Zhang, G., Patuwo, B.E., Hu, M.Y. (1998). Forecasting with artificial neural networks: the state of the art. *International Journal of Forecasting*, 14, 35–62.
99. Hecht-Nielsen, R. (1987). Kolmogorov's mapping neural network existence theorem. *International Joint Conference on Neural Networks*, 1, 11–14.
100. Jadid, M.N., Fairbairn, D.R. (1996). Predicting moment-curvature parameters from experimental data. *Engineering Applications of Artificial Intelligence*, 9, 303–319.
101. Buscema, M. (2002). A brief overview and introduction to artificial neural networks. *Substance Use & Misuse*, 37(8), 1093-1148.
102. Stich, T.J., Spoerre, J.K., Velasco, T. (1999). The application of artificial neural networks to monitoring and control of an induction hardening process. *Journal of Industrial Technology*, 16(1), 1-11.
103. Kermanshahi, B. (1998). Recurrent neural network for forecasting next 10 years loads of nine Japanese utilities. *Neurocomputing*, 23(1-3), 125-133.
104. Mehrotra, K., Mohan, C.K., Ranka, S. (1998). Elements of artificial neural. *IEEE Transactions On Neural Networks*, 9(1), 344.
105. Smith, K.A., Gupta, J.N.D. (2000). Neural networks in business: techniques and applications for the operations researcher. *Computers & Operations Research*, 27, 1023-1044.
106. Ibric, S., Jovanovic, M., Djuric, Z., Parojcic, J., and Solomun, L. (2002). The application of generalized regression neural network in the modeling and optimization of aspirin extended release tablets with Eudragit RS PO as matrix substance. *Journal of Controlled Release*, 82(2-3), 213-222.
107. Mandal, U., Gowda, V., Ghosh, A., Bose A., Bhaumik U., Chatterjee B. and Pal, T.K. (2008). Optimization of metformin HCl 500 mg sustained release matrix tablets using artificial neural network (ANN) based on multilayer perceptrons (MLP) model. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 56(2) 150-155.

108. Chen, Y., McCall, T.W., Baichwal, A.R., Meyer, M.C. (1999). The application of an artificial neural network and pharmacokinetic simulations in the design of controlled-release dosage forms. *Journal of Controlled Release*, 59, 33-41.
109. Yüksel, N., Türkoğlu, M., Baykara, T. (2000). Modelling of the solvent evaporation method for the preparation of controlled release acrylic microspheres using neural networks. *Journal of Microencapsulation*, 17, 541–551.
110. Wu, T., Pan, W., Chen, J., Zhang, R. (2000). Formulation optimization technique based on artificial neural network in salbutamol sulfate osmotic pump tablets. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 26, 211-215.
111. Božič, D.Z., Vrečer, F., Kozjek, F. (1997). Optimization of diclofenac sodium dissolution from sustained release formulations using an artificial neural network. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5, 163–169.
112. Leane, M.M., Cumming, I., Corrigan, O.I. (2003). The use of artificial neural networks for the selection of the most appropriate formulation and processing variables in order to predict the in vitro dissolution of sustained release minitables. *AAPS Pharmaceutical Science and Technology*, 4(2), 1-12.
113. Peh, K.K., Lim, C.P., Quek, S.S., Khoh, K.H. (2000). Use of artificial neural networks to predict drug dissolution profiles and evaluation of network performance using similarity factor. *Pharmaceutical Research*, 17, 1384-1388.
114. Xie, H., Gan, Y., Ma, S., Gan, L., Chen, Q. (2008). Optimization and evaluation of time-dependent tablets comprising an immediate and sustained release profile using artificial neural network. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 34(4), 363 – 372.
115. Vaithiyalingam, S., Khan, M.A. (2002). Optimization and characterization of controlled release multi-particulate beads formulated with a customized cellulose acetate butyrate dispersion. *International Journal of Pharmaceutics*, 234, 179–193.
116. Hussain, A.S., Yu, X.Q., Johnson, R.D. (1991). Application of neural computing in pharmaceutical product development. *Pharmaceutical Research*, 8, 1248–1252.

117. Subramanian, N., Archit, Y., Murthy, R.S.R. (2004). Artificial neural network as an alternative to multiple regression analysis in optimizing formulation parameters of cytarabine liposomes. *AAPS Pharmaceutical Science and Technology*, 5(1), 1-9.
118. Arulsudar, N., Subramanian, N., Murthy, R.S.R. (2005). Comparison of artificial neural network and multiple linear regression in the optimization of formulation parameters of leuprolide acetate loaded liposomes. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(2), 243-258.
119. Takayama, K., Takahara, J., Fujikawa, M., Ichikawa, H., Nagai, T. (1999). Formula optimization based on artificial neural networks in transdermal drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 62, 161–170.
120. Gašperlin, M., Tušar, L., Kristil, J., Šmid-Korban, J. (1998). Lipophilic semisolid emulsion system viscoelastic behavior and prediction of physical stability by neural network modeling. *International Journal of Pharmaceutics*, 168, 243-254.
121. Kachrimanis, K., Karamyan, V., Malamataris, S. (2003). Artificial neural networks (ANNs) and modeling of powder flow. *International Journal of Pharmaceutics*, 250(1), 13-23.
122. Behzadi, S.S., Klocker, J., Hüttlin, H., Wolschann, P., Viernstein, H. (2005). Validation of fluid bed granulation utilizing artificial neural network. *International Journal of Pharmaceutics*, 291(1-2) 139-148.
123. Değim, T., Hadgraft, J., İlbasmış, S., Özkan, Y. (2003). Prediction of skin penetration using artificial neural network modeling. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 92, 656-663.
124. Kandimalla, K.K., Kanikkannan, S.M. (2000). Optimization of a vehicle mixture for the transdermal delivery of melatonin using artificial neural Networks and response surface method. *Journal of Controlled Release*, 68, 175-186.
125. ICH Q2A International Conference on Harmonization (ICH). Validation of analytical methods: Definitions and terminology. 1994. U.S Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER)

126. ICH Q2B International Conference on Harmonization Validation of analytical procedures: Methodology. (1996). U.S Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER)
127. Breaux, J., Jones, K., Boulas, P. (2003). Understanding and implementing efficient analytical methods development and validation. *Pharmaceutical Technology, Analytical Chemistry & Testing*, 3, 6-13.
128. Gölcü, A. (2008). New simple and validated UV-spectrophotometric method for the estimation of some beta blockers in bulk and formulations. *Journal of Analytical Chemistry*, 63(6), 538–543.
129. Causon, R. (1997). Validation of chromatographic methods in biomedical analysis, viewpoint and discussion. *Journal of Chromatography*, 689, 175-180.
130. Costa, P., Lobo, M.J.S. (2001). Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13, 123–133.
131. Guidance for industry: dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research, August 1997.
132. Ieggli, C.S., Cardoso, S.G., Belle, L.P. (2005). Validation of UV spectrophotometric and nonaqueous titration methods for the determination of carvedilol in pharmaceutical formulations. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1299-1303.
133. Singh, S.K., Verma, P.R.P., Razdan, B. (2009). Development and characterization of a carvedilol loaded self-microemulsifying delivery system. *Clinical Research and Regulatory Affairs*, 26(3), 50–64.
134. Yamsani, V.V., Gannu, R., Kollim, C., Rao, M.E.B., Yamsani, M.R. (2007). Development and in vitro evaluation of buccoadhesive carvedilol tablets. *Acta Pharmaceutica Scientia*, 57, 185–197.
135. Analytical method validation. International Quality Systems. IPO. Online erişim tarihi: 12.01.2010, <http://www.scribd.com/doc/11516196/Analytical-Method-Validation>
136. Seno, S., Ohtake, S., Kohno, H. (1997). Analytical validation in practice at a quality control laboratory in the Japanese pharmaceutical industry.

Accreditation and Quality Assurance: Journal for Quality, Comparability and Reliability in Chemical Measurement, 2(3), 140-145.

137. Dressman, J.B., Amidon, G.L., Reppas, C., Shah, V.P. (1998). Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. *Pharmaceutical Research*, 15(1), 11-22.
138. Hörter, D., Dressman, J.B. (2001). Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1-3), 75-87.
139. Siepe, S., Lueckel, B., Kramer, A., Ries, A., Gurny, R. (2008). Assessment of tailor-made HPMC-based matrix minitabets comprising a weakly basic drug compound. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 34, 46–52.

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Konya’da doğdu. İlkokulu Konya Barbaros İlköğretim Okulunda tamamladıktan sonra ortaokul ve lise öğrenimini Konya Süleyman Demirel Milli Piyango Anadolu lisesinde tamamladı. 2003 yılında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde lisans eğitime başladı ve 2007 yılında mezun oldu. 2007 yılında özel bir şirkette Ar-Ge bölümünde çalışmaya başladı. Aynı yıl yüksek lisans eğitime Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Bölümü Biyofarmasötik ve Farmakokinetik Programında başladı. Halen özel bir şirkette Ar-Ge uzmanı olarak çalışmaya devam etmektedir.