

27. MİKROKÜRELER

Mikroküreler birkaç mikrometreden milimetre boyutlarına kadar değişik boy dağılımlarında, gözenekli veya gözeneksiz, vücutta parçalanabilen veya parçalanmayan, farklı yüzey ve yığın yapılarında hazırlanabilen mikrot taşıyıcı sistemlerdir. İlaç dağıtım sistemi olarak genellikle dispersiyon şeklinde uygulanırlar. Bu sistemler ağızdan alınarak geciktirilmiş ilaç salımında veya deri altına, kas dokusuna veya periton boşluğuna enjeksiyonla implante edilerek bölgesel kontrollü ilaç salımında ya da kan dolaşımına verilerek hedeflenmiş ilaç dağıtımında kullanılırlar. Mikrokürelerin bunların dışında da oldukça geniş kullanım alanları vardır. Örneğin; aglütinasyon testlerinde işaretleme, akışın izlenmesi için işaretleme ve diğer reolojik araştırmalar, ayırma işlemleri, biyoaffinite kromatografisinde taşıyıcı, biyolojik etkinliğe sahip maddelerin immobilizasyonu, elektron ve ışık mikroskopları ile partikül ve hücre sayaçlarında kalibrasyon, hücre çalışmalarında işaretleyici, hücre kültürlerinde taşıyıcı, araştırmalarda kan hücreleri, virüsler, kozmetik tozlar vb. gibi partiküllerin yerine, kromatografi kolonlarında kolon dolgu maddesi, plastik malzemelerde dolgu maddesi ve radyoimmunoassay ve diğer immunolojik test ve araştırmalarda kullanılırlar. İn vivo uygulamalarda mikroküreler, kullanım sonrası taşıyıcıların uzaklaştırılma zorluğu nedeniyle biyolojik sistemde parçalanabilen polimerlerden üretilirler. Mikrokürelerin en önemli uygulama şekillerinden olan taşıyıcı olarak hedeflenmiş tedavi amacıyla kan dolaşımına enjekte edilmesi fiziksel veya kimyasal olarak istenilen hücre, doku veya organlara hedeflenmeyi sağlar.

Mikrokürelerin hazırlanmasında kullanılan yöntemler şöyle sıralanabilir;

- Polimerizasyon: Emülsiyon polimerizasyonu, süspansiyon polimerizasyonu, misel polimerizasyonu,
- Koaservasyon: Basit koaservasyon, kompleks koaservasyon,
- Emülsiyon oluşturma/çözücü buharlaştırma: y/s emülsiyonu, y/y emülsiyonu, s/y/s emülsiyonu,
- İn-situ yöntem,
- Polikondenzasyon: Süspansiyon polikondenzasyonu, emülsiyon polikondenzasyonu,
- Püskürterek dondurma,
- Püskürterek kurutma,
- Delik = Orifis yöntemi,
- Dispers fazda jelleşme ve çapraz bağlanma.

Mikrokürelerin tanımlanmasında ve kullanımında; büyüklük ve yüzey özellikleri, yüklenen etkin madde miktarı, etkin maddenin salımı, biyolojik uyum ve toksisite, saklama ve sterilizasyon kriterleri incelenir ve esas alınır.

Mikrokürelerin klinik uygulamalarında uygulama alanları; antikanserojen ilaçlar, antienflamatuar ilaçlar, lokal anestezipler, ortopedik uygulamalar, kemoembolizasyon, beyine implantasyon, doku, hücre veya organa hedefleme, peptid ve proteinlere bağlanma ve aşılarda kullanılmaktadır.

Çalışma 27.1.

Etilselüloz	2.0 g
Alüminyum stearat	1.5 g
Potasyum klorür	2.0 g
Aseton	100 ml
Sıvı parafin	100 ml
n- Hekzan	50 ml

Hazırlama:

200 ml'lik bir beherde etilselüloz 100 ml asetonda tamamen çözülür. Ardından bu çözeltide alüminyum stearat ve potasyum klorür disperse edilir. Karışım 25°C'lik su banyosunda 10 dakika (150-350 rpm) karıştırılır ve 25°C'deki 100 ml sıvı parafın içine boşaltılır. Oluşan emülsiyon 45°C'ye ısıtılarak ve sürekli karıştırılarak aseton uçurulur. Ardından n-hekzanla yıkanarak süzülür ve 40°C'de kurutulur.

27.1. Mikrokürelerde Yapılan Kontroller

- Etkin madde miktar tayini: Formülden bir miktar hassas olarak tartın. Polimer ve etkin maddenin ortak çözücüsü olan bir çözücüde çözün. Mikroküreler tamamen çözüldükten sonra süzün ve balonjojede belirli hacme çözücü ile tamamlayın. Çözeltinin, etkin maddenin maksimum absorbans verdiği dalga boyunda UV spektrofotometrede absorbansını ölçerek etkin maddeye ait kalibrasyon denklemi yardımıyla etkin madde miktarını hesaplayın.
- Partikül iriliği ve dağılımı: Bu amaçla elek analizi veya mikroskop yöntemi uygulanabilir. ASTM standartlarına uygun (DIN 4188) mini elek takımı ile cihazı 100 ayarında 10 dakika çalıştırın. Her elek üzerindeki fraksiyonu tartarak % olarak belirleyin ve grafiğini çizin.
- Akışkanlık – Yığın açısı: 10 cm üst çapı, 0.9 cm boyun genişliği ve 1 cm boyun uzunluğu olan bir cam huniyi, ağız noktasından 10 cm yükseğe yerleştirin. Bu huninin içine 10 g mikropellet koyarak alttaki kağıda serbest akışını sağlayın. Mikromeritik bölümünde anlatıldığı şekilde yığın açısını belirleyin.
- Küme hacmi ve yoğunluğu (mezürde): Mikrokürelerden 10 ml alın. 20 tapping yaparak hacmini ölçün. Ağırlığı bilinen toz kümesinin, ağırlığının hacmine bölünmesiyle yoğunluğunu hesaplayın.
- Çözünme hızı deneyi: İstenilen miktar etkin maddeyi içerecek şekilde hesaplayarak tarttığınız mikroküreleri 900 ml'lik çözünme ortamına koyarak palet ya da sepet yöntemi ile çözünme hızı deneyi uygulayın. Palet yöntemi uygulanıyorsa mikrokürelerin çözünme ortamı ile temas yüzeyini artırmak için ortama % 0.01-0.03 oranında Tween 60 ilave edebilirsiniz. Tespit edilen aralıklarla 5ml numune alarak (her defasında ortamdan alınan numune hacmi kadar taze çözelti çözünme ortamına ilave edin) belirlenen dalga boyunda spektrofotometrede absorbansı okuyarak kalibrasyon denkleminde etkin madde konsantrasyonunu hesaplayın.

Uygulanabilecek Diğer Kontroller

İşlem etkinliği
Şişme derecesi tayini

Sorular:

1. Mikroküre üretimi amacıyla laboratuvarında uyguladığınız yöntem hangisidir? Bu amaçla kullanılabilecek diğer yöntemler hangileridir?
2. Etkin maddelerin mikrokürelerinin hazırlanmasının avantaj ve dezavantajları nelerdir?
3. Elde ettiğiniz kuru mikroküreleri mikroskopta inceleyerek, kurumadan ve oluşumları esnasında gözlemlediklerinizle arasındaki farkları belirtin.

30. AEROSOLLER

Bir gaz fazı içinde sıvı veya katı taneciklerin dispersiyonu halinde püskürtülerek kullanılan tek veya çok fazlı sistemlerdir. Eczacılık ve tıpta solunum yoluyla veya haricen kullanılan preparatlarıdır.

Basınçla püskürtme gösterdiklerinden iki şekilde çalışırlar;

- İçeriğini dışarıdan verilen enerji ile verenler ki bunlara genellikle nebülizör ve atomizör isimleri verilmiştir,
- Enerji taşıyıcısını içeriğinde sıkıştırılmış ve/veya sıvılaştırılmış itici gaz olarak bulunduranlar ki bunlarda da genellikle aerosol veya sprej isimleri kullanılmaktadır.

Hangi tür enerji kullanımıyla uygulanırsa uygulansınlar hepsi fiziksel olarak aerosol sistemleridir. Genelde solunum yoluyla kullanılanlar inhalasyon aerosolleri, haricen kullanılanlar da püskürtme aerosolleri (sprej) olarak tanımlanırlar.

Kullanım bölgesine ve amacına göre farklı yapıda ve özelliktedirler. Gerçek aerosoller olarak nitelendirilenler içeriğinde %80'in üzerinde püskürtücü (itici) gaz bulundurlar ve püsküren parçacıkların boyutları 5 µm'nin altındadır. Haricen kullanılan ve yüzey sprejleri diye tanımlananlarda sıvılaştırılmış itici gaz oranı %40-70 arasında değişir ve püsküren partiküllerin boyutları 50-250 µm arasındadır. Püskürtücü gaz oranı %30'un altına düşerse ıslak sprejler diye tanımlanan preparatlar oluşur ki burada püsküren tanecikler bir demet şeklinde değil, 250-1000 µm arasındaki boyutta damlalar şeklinde olur. Etkin madde sıvılaştırılmış püskürtücü gaz ile emülsiyon oluşturuyorsa köpük aerosolleri ortaya çıkar, bunlarda püskürtücü gaz miktarı %10-20 arasındadır. Eğer etkin madde katı halde püskürüyorsa pudra sprejleri denilen aerosoller oluşur ve bunlarda itici gaz oranı %5-20 arasında değişir.

Bir aerosol sistemi başlıca ana kap, valf takımı, püskürtücü (itici veya sevk edici) gaz ile etkin maddeyi taşıyan konsantrattan oluşur.

Ana kap metal (alüminyum, çelik, teneke), cam veya plastikten yapılır ve tek parça (monoblok), iki parça veya üç parça (bodymaker) halindedir. Kabin yapısının seçimi kullanma tekniğine, içeriğin formülasyonuna ve ticari bakış açısına göre değişir. Cam kaplar diğer tip kaplara göre saydam olmasının yanı sıra, içerikle etkileşme tehlikesinin en az düzeyde olması dolayısıyla avantajlı görünürse de, mekanik ve termik dirençlerinin azlığı nedeniyle kullanımları sınırlı kalır. Metal kaplarda korozyon oranı yüksektir, buna karşı iç yüzeyleri inert bir tabakayla (laklama, plastik kaplama, vb.) kaplanarak kullanılırlar. Bunlar mekanik şoklara ve daha yüksek iç basınçlara dayanırlar. Plastik kaplar ise oldukça inerttirler ama ancak düşük basınçlı içerik taşıyabilirler, daha çok basınç enerjisini dışarıdan alan nebülizör sistemlerinde tercih edilirler.

Valf takımı sistemin püskürmesini ve püskürtme şeklini belirler. Kesintisiz (devamlı) ve ölçülü (belli dozda) püskürtme yapanlar olarak iki tiptedirler. Kesintisiz püskürtenler valfin üzerindeki aktivatör başlığına basılı tutuldukça devamlı püskürtme yaparken, ölçülü püskürtme yapanlara basıldığında ne kadar süre basılı tutulursa tutulsun sadece tek bir defa belirli dozda püskürtme yaparlar. Valf takımı çeşitli parçalardan oluşur, önde gelen iki kısmı püskürtme odacığı ve püskürtme deliğidir. Bu kısımlar aerosol sisteminin içeriğindeki itici gazla birlikte püsküren taneciklerin püskürme özelliklerini ve büyüklük dağılımını belirler.

Basınç enerjisini içinde taşıyan aerosollerin içeriğinde yer alan püskürtücü ise sıkıştırılmış ve/veya sıvılaştırılmış itici gazlardan (propellan) oluşur. Sıkıştırılmış gazlardan, sıvılaştırılmadan kullanılanlar; azot, azot oksidül, argon, karbondioksit gibi inert gazlardır. Sıvılaştırılarak kullanılanlar ise propan, bütan, izobütan gibi hidrokarbonlar veya vinil klorür, metil klorür, etil bromür, Frigen veya Freon adıyla tanımlanan klorlu-florlu hidrokarbonlar gibi halojenli hidrokarbonlardır. Püskürtme basınçları tiplerine ve karışım oranlarına göre değişir, tıp ve eczacılıkta genellikle 1-10 atm arasında iç basınç sağlayacak

oranlarda kullanılır. Genel olarak havaya püskürtülecek aerosollerde basıncın 3-4 atm civarında olması istenirken, haricen deri üzerine püskürtülecek aerosollerde basıncın 3-5 atm civarında, inhalasyon aerosollerinde ise daha da düşük olması gerekir. İnhalasyon aerosollerinde basınç/partikül büyüklüğü ilişkisi çok önem kazanır. 20-30 µm büyüklükte püsküren parçacıklar trakeada kalırken, 10-20 µm arasındakiler bronşlara, 5-10 µm arasındakiler ise bronşiyollere ulaşırlar. Daha küçük boyuttakiler ise alveollere inerler.

Bir aerosol sisteminde konsantrat olarak tanımlanan kısım ise etkin madde, çözücü ve yardımcı çözücü (kosolvan) ve formülasyonda gerekli olan diğer yardımcı maddelerden (yüzey etken maddeler vb. gibi) oluşur. Eğer etkin madde içeren konsantrat sıvılaştırılmış itici gaz fazında çözünerek homojen bir karışım oluşturuyorsa iki fazlı bir aerosol sistemi ortaya çıkar, böyle bir sistemde fazlar; üstte buharlaşmış itici gaz ve altta ise sıvı faz halinde geri kalan bütün karışım bulunur. Buna karşın üstte buharlaşmış itici gaz, bunun altında ayrı ayrı iki faz halinde etkin madde konsantratı ve sıvılaştırılmış itici gaz fazları duruyorsa üç fazlı bir aerosol sistemi oluşur. Bunlar iyice çalkalanarak kullanılmalıdır.

Aerosollerin üretimi soğukta basınç kullanmadan veya normal sıcaklıkta basınçla yapılır. Soğukta doldurma işleminde – 40°C'ye kadar soğutulan konsantrat ve sıvılaştırılmış itici gaz ayrı ayrı kaba doldurulur ve valf sistemi kaba takılarak kapatılır. Normal sıcaklıkta basınçla doldurmada ise önce kaba etkin madde konsantratı konur, valf sistemi takılır ve sıvılaştırılmış püskürtücü gaz valf ağzından basınçla itilerek içeri doldurulur. Sıvılaştırılmamış itici gaz kullanımında da bu yöntem uygulanır.

Püskürtme enerjisini içeriğinde taşımayan aerosol sistemleri ise esnek plastikten yapılmış kabın sıkılarak içeriğin dışarı püskürtülmesiyle veya kaba eklenmiş bir puarın sıkılmasıyla çalışan ve itici gaz içermeyen yapıdadır. Bunlar sıkma basıncına ve püskürtme deliğinin inceliğine göre değişik büyüklükte ve miktarda damlacığı sis şeklinde püskürtür.

Çalışma 30.1.

Antimikotik Etkin Maddeli Aerosol İmalatı

Oksikonazol	250 g
Etil alkol (%96)	10.5 g
Freon 12	15.9 g

Hazırlanışı:

Oksikonazol etil alkolde çözülür ve önceden temizlenmiş aerosol tüplerine 13'er ml olarak doldurulur. Valfin daldırma borusu kullanılacak tüpe göre ayarlanır ve aerosol kapatma cihazında tüplere valfleri takılır. Daha sonra bu tüplere aerosol dolum cihazında itici gaz gerektiği kadar doldurulur. Uygun şekilde etiketlenir.

Çalışma 30.2.

Aerosollerde Kontroller

1. Püskürtme hızı kontrolü

En az dört aerosol kabı alınır. Kapağı ve koruyucusu çıkartılır. Herbiri iki-üç saniye süre ile püskürtülür ve tam olarak tartılır. Kaplar $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'deki su banyosuna daldırılıp iç basınçları dengeye gelinceye kadar tutulur. İç basıncın dengeye gelip gelmediği Madde 2' de açıklandığı gibi ölçülür. İç basınçları dengeye gelen kaplar su banyosundan alınır, kurulanır ve her kutu 5 saniye süre ile püskürtülür (zamana tespit için kronometre kullanılır). Her kap tekrar tartılır. Kaplar sıcaklığı ayarlanmış su banyosuna tekrar daldırılır ve püskürtme ve tartma işlemi üç defa tekrarlanır. Her saniye için gram olarak ortalama püskürtme miktarı hesaplanır.

2. Basınç testi

Dört taneden az olmayan aerosol kabı alınır. Kapağı ve koruyucusu çıkarılır ve iç basınç sabit hale gelinceye kadar $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'deki su banyosunda tutulur. Kaplar su banyosundan alındıktan sonra iyice çalkalanır. Püskürtücü başlığı çıkarılır, ıslaklık varsa kurulanır. Her kap dik tutularak valfe basınç ölçer (manometre) sıkıca bağlanır. Basınç ölçer yaklaşık olarak beklenen basınca önceden ayarlanmış olmalı, valflere uygun adaptör ile sıkıca bağlanmalıdır. Basınç doğrudan doğruya manometre göstergesinden okunur.

3. İki fazlı aerosollerde damlacık büyüklüğü tayini

Bu metod boya-talk karışımı ile muamele görmüş bir kağıt parçasının püskürtme ile lekelenmesi esasına dayanır. Bu amaçla değişik seri ve değişik püskürtücü başlıkların gösterdiği püskürtme farklılığını ölçmek üzere özel cihaz kullanılır.

Deney, içeriğin özelliğine göre yağda veya suda çözünen boyaların formüle eklenmesi ile yapılır. Partiküller kağıda çarptığında absorbe olur ve bu kağıt karşılaştırma için kullanılır.

Özel cihazda kağıt, dönen diskin hemen arkasına sabit olarak bağlanır. Aerosol kabı cihaza yerleştirilir. Bir veya iki saniye püskürtme yapılır; kağıt alınıp üzerinde homojen damla dağılımı görülüp görülmediği incelenir. Belirli bir alandaki damlacıkların sayısı ve büyüklüğü uygun büyütme cihazları (örneğin mikroskop) kullanılarak % olarak hesaplanır.

Sonuçlar log-olasılık grafiğine geçirilir. Buradan ortalama damlacık büyüklüğü ve standart sapma hesaplanır.

4. Katı partikül taşıyan aerosollerde tanecik büyüklüğü tayini

Aerosol kabı iyice çalkalanır ve sabit olarak yerleştirilir. Aerosol iki-üç saniye püskürtülerek etkili püskürtme uzaklığı saptanır. Bu uzaklığın yarısında, püskürtücü başlık ile aynı düzlem üzerinde iyice temizlenmiş bir lamın köşelerine aerosol püskürtülür. Lam üzerine yapışan tozlar uygun bir sıvağ kullanılarak dağıtılır. Mikroskop yöntemiyle katı partiküllerin boyutları saptanır. En az 1200 partikül sayarak boyutlarına göre sınıflandırılır. Sonuçlar log-olasılık grafiğine geçirilerek ortalama tanecik büyüklüğü ve standart sapma hesaplanır.

5. Birim doz püskürten aerosollerde püskürtme hacmi tayini

Aerosol formülasyonunun önceden yoğunluğu saptanır. Aerosol kabı iyice kurularak tartılır ve darası alınır. Aktivatöre basarak püskürtme yapılır. Kap tekrar temizlenir, kurulanır ve tartılır. Ağırlık kaybı

hassas olarak saptanır. Bu işlem en az on defa uygulanır. Saptanan sonuçların ortalaması alınır. Formülasyon yoğunluğu, ortalama ağırlık kaybına bölünerek püskürtme hacmi bulunur. Sonuç, valf spesifikasyonu ile karşılaştırılır.

6. Sızdırma Testi

7. Net ağırlık saptanması

8. Kabın korozyona dayanıklılığının kontrolü

Sorular

1. Hangi tip içerik yapısı ile hangi tip aerosol kapları kullanılmalıdır, neden ?
2. Aerosollerde ne kadar basınç olmalı ve kaplar ne kadar basınca dayanabilmelidir ?
3. Birim doz püskürten aerosollerde miktar tayininin önemini açıklayınız.