

DOSETAKSELİN SİKLODEKSTRİN TÜREVLERİ İLE FARKLI YÖNTEMLERLE KOMPLEKS OLUŞTURMASI
VE OLUŞAN İNKLÜZYON KOMPLEKSLERİNİN KARAKTERİZASYONU
COMPLEXATION OF DOCETAXEL IN CYCLODEXTRIN DERIVATES WITH DIFFERENT METHODS AND
CHARACTERIZATION OF INCLUSION COMPLEXES

Sedat ÜNAL¹, Çiğdem YÜCEL^{1*}, Serdar TORT², Merve Ç. TEKELİ¹, Yeşim AKTAŞ¹, Erem BİLENSOY³

¹Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Kayseri

²Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Ankara

³Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Ankara

ÖZ

Bu çalışmada, antikanser etki gösteren dosetaksel etkin maddesini içeren siklodekstrin-dosetaksel inklüzyon kompleksleri hazırlanmıştır. Elde edilen kompleksleri ve hazırlama yöntemlerini karşılaştırabilmek amacıyla, sabit molar oranda (siklodekstrin:dosetaksel/1:2) iki farklı siklodekstrin türevi [hidroksipropil-beta-siklodekstrin (HP-β-CD) ve metil-beta-siklodekstrin (M-β-CD)] ve iki farklı yöntem (birlikte dondurarak kurutma ve yoğurma) kullanılmış, toplamda dört farklı kompleks hazırlanmıştır. Elde edilen bu inklüzyon komplekslerinin faz çözünürlüğü çalışmaları, taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile morfolojik yapı tayinleri, diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ve fourier dönüşümlü infrared spektrofotometre (FT-IR) analizleri gerçekleştirilmiştir. Tüm bu çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde, dosetakselin her iki siklodekstrin türevleri ile başarıyla kompleks oluşturabildiği ve optimum sonuçların ise metil-β-siklodekstrin ve birlikte dondurarak kurutma yöntemi kullanılarak elde edildiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Siklodekstrin, dosetaksel, inklüzyon kompleksi, antikanser etki

GİRİŞ

Kanser, görülme sıklığı ve ölüm oranı hızla artan bir hastalık olarak günümüzde insan sağlığını tehdit etmektedir. Yirmi birinci yüzyılın başlarında ölüm oranına göre yedi ve sekizinci sıralarda yer alırken, bugün birçok ülkede kronik kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırayı almıştır. Bu artışa paralel olarak antikanser ilaçlar üzerine yoğunlaşan çalışmalar da artarak devam etmektedir. Antikanser ajan içeren birçok müstahzar, hali hazırda kullanılmakta ve bunlara ilişkin ileri çalışmalar da sürmektedir (1).

Dosetaksel, sitotoksik ajanların taksan sınıfının bir üyesidir ve meme, over, prostat ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri gibi pek çok maligniteye karşı antikanser etki gösteren bir ajandır (2). Suda çözünme-

ABSTRACT

In present study, cyclodextrin-docetaxel complexes containing active ingredient called docetaxel that shows anticancer effect were prepared. In order to compare the obtained complexes and preparation methods, two different cyclodextrin derivatives (hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (HP-β-CD) and methyl-beta-cyclodextrin (M-β-CD)) with fixed molar ratio (cyclodextrin:docetaxel 1:2) and two different methods were used and totally four different complexes were prepared. Phase solubility studies, morphological structure determination with scanning electron microscope (SEM), differential scanning calorimeter (DSC) and fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) analyses of these complexes were made. When all these studies were evaluated together, it was a concluded that docetaxel could form complexes with both cyclodextrin derivatives and optimum results are obtained with freeze-drying method and methyl-β-cyclodextrin.

Keywords: Cyclodextrin, docetaxel, inclusion complex, anticancer effect

mesi sebebiyle, dosetaksel için geliştirilen formülasyonlarda oldukça güçlü çözümlenmiştir ve bu formülasyonlara çeşitli sürfaktanlar dahil edilerek söz konusu çözünürlük sorunu aşılmaya çalışılmıştır. Günümüzde dosetakselin piyasa müstahzarları, dosetakselin polisorbata 80 (Tween 80) kullanılarak çözünürlük sorununun giderilmesi yaklaşımı ile hazırlanmıştır. Fakat dosetakselin çözünmesinde kullanılan polisorbata 80'in hasta üstüne olumsuz etkileri mevcuttur. Dosetaksel için klinik deneylerde Faz I hastalarının çoğunda, polisorbata 80'e bağlı olduğu düşünülen akut hipersensitivite reaksiyonları gözlenmiştir (3). Bu du-

Corresponding Author: Arş. Gör. Sedat ÜNAL
Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı 38039 Kayseri, Türkiye
Tel: 0352 207 66 66/28381
Cep Tel: 0505 554 67 70
Mail: sedatunal@hotmail.com

Makale Geliş Tarihi : 08.11.2016
Makale Kabul Tarihi: 11.07.2017

rum, dosetaksel uygulanacak hastalar için antihistaminiklerle ve glukokortikoidlerle rutin bir premedikasyonu gerekli ve zorunlu kılmaktadır (4-6). Bu sebeplerden dolayı taksan grubu antikanser ajanlar için (paklitaksel, dosetaksel), organizmada Cremophor EL veya polisorbata 80'e göre daha iyi tolere edilebilen, daha az toksik çözücülerle veya sistemlerle veya taşıyıcılarla yeniden formülasyon çalışmaları akılcı bir yaklaşımdır.

Siklodekstrinler, nişastanın enzimatik parçalanma ürünleridir ve suda çözünürlüğü zayıf ilaçlar ile kompleks oluşturmak suretiyle bu maddelerin çözünürlüklerini arttırmalarıdır. Çözünürlük artışının temelinde, siklodekstrinlerin çözelti içinde kovalanmayan inklüzyon kompleksleri oluşturmalarına dayanır. Diğer bir mekanizma da siklodekstrinlerin stabil, aşırı doygun ilaç çözeltileri oluşturmalarıdır. Çözünürlükteki bu artış, çözünme hızını ve biyoyararlanımı da artırır (7).

Siklik oligosakkarit yapıda olan siklodekstrinler, suda çözünürlüğü düşük olan ilaçların çözünürlüklerini, biyoyararlanımlarını ve çözünme oranlarını arttırmak için kullanılmaktadırlar. Kararsız ilaçların stabilitelelerini arttırarak intravenöz uygulamada etkinliklerini güçlendirirler. Hidrofilik dış yapı ve lipofilik iç kaviteden oluşurlar. Hidrofobik etkin maddeleri lipofilik iç kavitelere hapsederek çözünürlüklerini arttırmalarıdır. Doğal siklodekstrinlerin yapılarından kaynaklanan toksisitenin önüne geçebilmek için genellikle kimyasal olarak modifiye edilirler. Bu modifikasyon aynı zamanda siklodekstrinlerin, kompleks oluşturdukları ilaçların çözünürlük, stabilite, biyoyararlanım gibi fizikokimyasal özelliklerini değiştirmelerine olanak sağlar (8,9).

Bu çalışmada; dosetaksel gibi taksan grubu antikanser ajanların mevcut formülasyonlarında sürfaktan olarak kullanılan yardımcı maddelerin sebep olduğu başta nötropeni gibi alerjik reaksiyonların, istenmeyen etkilerin gözlenmesi ve ayrıca çözünürlük gibi temelde aşılması gereken bir sorun da göz önüne alındığında, bu sorunların formülasyon aşamasında yeni yaklaşımlar ile giderilebileceği düşüncesinden hareketle yeni bir formülasyon geliştirilmeye çalışılmıştır.

Çalışma kapsamında, iki farklı siklodekstrin türevi olan hidroksipropil-beta-siklodekstrin (HP-β-CD) ve metil-beta-siklodekstrin (M-β-CD) kullanılarak, dosetaksel ile sabit molar oranlarda (siklodekstrin:dosetaksel/1:2) karıştırmak suretiyle toplamda dört farklı inklüzyon kompleksi hazırlanmıştır. Hazırlama yöntemi olarak, literatürde mevcut olan, siklodekstrinler ile inklüzyon kompleksi hazırlama yöntemlerinden birlikte dondurarak kurutma yöntemi ve yoğurma yöntemi seçilmiştir (10,11). Elde edilen komplekslerin karakterizasyonu gerçekleştirilmiş ve sonuçlar bir bütün olarak değerlendirildiğinde, ilerleyen çalışmalarda fikir vermesi için optimum özelliklere sahip kompleks ve bu kompleksin hazırlanmasında kullanılan yöntem ve siklodekstrin türevi tespit edilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda, etkin madde olarak anhidr dosetaksel (Mustafa Nevzat®), inklüzyon kompleksi oluşturabilmek için kullanılan oligosakkarit olarak HP-β-CD ve M-β-CD (Wacker Chemie AG, Almanya) olmak üzere iki farklı siklodekstrin türevi kullanılmıştır. Formülasyonların

hazırlanmasında kullanılan solvanlar analitik özelliktedir.

Faz çözünürlüğü çalışmalarında etkin madde miktar tayini için UV-spektrofotometresi (Shimadzu-UV 1800) kullanılmıştır. Dosetaksel için dalga boyu taraması yapılmış, maksimum absorpsiyon değeri elde edilmiş ve tüm ölçümler üç paralel üzerinden yapılmıştır. Faz çözünürlüğü çalışmaları ve sonuçlarının yorumlanmasında Higuchi-Connor yöntemi esas alınmıştır (12). Faz çözünürlüğü çalışmaları için HP-β-CD ve M-β-CD'in farklı molar oranlarda çözeltilerinin (0,2,4,6,8,10 mM) her birine etkin madde dosetaksel'in aşırı miktarı (5 mg) ilave edilmiş ve karışım, komplekslerin oluşumu için yedi gün süreyle, oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karıştırma işleminin sonlanmasının ardından, her bir karışım 0,22 µm'lik membran filtre ile süzülür. Elde edilen her bir süpernatant için dosetaksel miktar tayini yapılmış faz çözünürlüğü grafikleri çizilmiştir. Faz çözünürlüğü grafiklerinden hareketle HP-β-CD:dosetaksel ve M-β-CD:dosetaksel komplekslerinin çözünürlük tipleri tayin edilmiştir.

Belirlenen siklodekstrin:dosetaksel oranında inklüzyon komplekslerinin hazırlanması amacıyla birlikte dondurarak kurutma ve yoğurma yöntemleri esas alınmıştır (13). Komplekslerin oluşturulması için çalışılan formülasyonlar, siklodekstrin:dosetaksel/1:2 molar oran olacak şekilde seçilmiştir. Birlikte dondurarak kurutma yöntemine göre; HP-β-CD ve M-β-CD'in gerekli miktarları hesaplanarak 10 mM sulu çözeltileri hazırlanmıştır. Diğer taraftan dosetakselin 20 mM etanol çözeltisi her bir siklodekstrin türevi için ayrı olarak hazırlanmıştır. Manyetik karıştırıcıda ayrı ayrı karışmakta olan siklodekstrin sulu çözeltilerinin her birine, hazırlanan dosetaksel çözeltileri damla damla ilave edilmiştir. Kompleks oluşumunun tamamlanması için karışımlar 7 gün süresince oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi süresince, karışımdaki etanol uzaklaşmıştır. Ardından karışım 0,22 µm'lik membran filtreden süzülür ve çözelti -20°C'de dondurulmuştur. Daha sonra liyofilizatörde (Labconco) her bir siklodekstrin türevi için dosetaksel içeren inklüzyon kompleksleri kuru toz halde elde edilmiştir.

Yoğurma yöntemine göre; siklodekstrin:dosetaksel 1:2 molar oranda olacak şekilde, HP-β-CD, M-β-CD ve dosetakselin gerekli miktarları hesaplanmış ve tozları karıştırılmıştır. Karışımların üzerine 1:1(h/h) oranında etanol:su karışımından toz karışımları pat kıvamına gelinceye kadar damla damla ilave edilmiştir ve her bir siklodekstrin türevi için elde hazırlanan toz karışımı 30 dk. süresince yoğurulmak suretiyle karıştırılmıştır. Yoğurma işleminin sonunda; kompleksleri içeren toz karışımları önce oda sıcaklığında, ardından da etüvde (Nüve FN 120) 70 °C'de 15 dk. Kurutulmuştur (13).

Hazırlanmış olan dört farklı komplekse ait karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Taramalı elektron mikroskopu (SEM-Leo 440) ile morfolojik yapı tayinleri, diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC-Shimadzu-DSC 60) ve fourier dönüşümlü spektrofotometre (FT-IR-Perkin Elmer Spectrum 400) analizleri yapılmıştır.

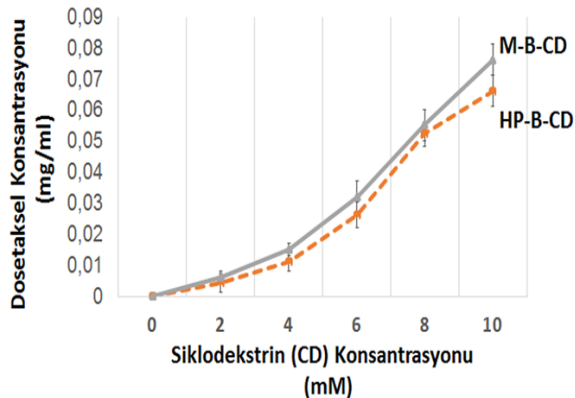
Taramalı elektron mikroskopu analizi, elde edilen inklüzyon komplekslerinin kristal yapılarının incelenmesi, uygulanan yöntem veya kullanılan siklodekstrin

türevi farklılığının, elde edilen inklüzyon komplekslerinin kristal yapılarını nasıl etkilediğini incelemek ve aydınlatmak amacıyla kullanılmıştır. Örnekler metal levhalar üzerine tespit edilerek, 135 Å kalınlığında, altın-palladyum alaşımı ile kaplanmak (Polaron SC7620) suretiyle incelenmiştir. Diferansiyel taramalı kalorimetre, kalitatif amaçlı olarak kullanılan ve konuk moleküllerin kompleksleşmesini açıklayan bir yöntemdir. Bazı moleküllerin erime pikinde gözlenen kayıp, kompleks oluşumunun göstergesidir. Maddenin erime pikinin gözlenmemesi, ortamda serbest halde madde bulunmaması ile açıklanabilir. Çalışmalar, 10°C/dk tarama hızında 250°C'ye kadar yapılmıştır. Örnekler, 2 mg tartılarak alüminyum örnek kaplarında pellet halinde basılmış ve aletin ısıtma hücresine yerleştirilmiştir. 20-250°C sıcaklık arasında azot atmosferi altında ölçümler gerçekleştirildi.

Fourier dönüşümlü infrared spektrofotometre (FT-IR) analizi, konuk molekülün spektral özelliklerindeki değişimleri saptar (14). İlaç molekülünün yapısındaki karakteristik kimyasal bağlara ilişkin spektrumlardaki kaybolma veya küçülme, serbest halde bulunan molekül sayısının azaldığını veya kalmadığını gösterir ve diğer yöntemlerle doğrulandığında, kompleks oluşumunu destekleyici bir veridir. Çalışmada, hazırlanan komplekslerin fonksiyonel grupları ATR FT-IR spektrofotometre kullanılarak analiz edilmiştir. FT-IR spektrumu alınacak örnek, ATR kristali üzerine yerleştirilmiş ve FT-IR spektrumu sabitleninceye kadar sıkıştırılmıştır. Daha sonra 400-4000 cm⁻¹ dalga boyunda tarama yapılarak spektrumlar elde edilmiştir. Deneyler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

Dosetaksel ile 0.5 mg/mL konsantrasyonda distile su:etanol (1:1) içerisindeki çözeltisi hazırlanmış ve UV spektrofotometresinde 281 nm dalga boyunda maksimum absorbans elde edilmiştir. Daha sonra 0.1-0.6 mg/mL konsantrasyon aralığında dosetaksel seri çözeltileri ile yapılan kalibrasyon doğrusunda r² değeri 0.99'un üstünde bulunmuş, yöntemin doğruluğu gösterilmiş ve doğru denklemi $y=1.3324x+0.0185$ olarak elde edilmiştir. Yöntemin LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0.0039 ve



Şekil 1: HP-β-CD ve M-β-CD için dosetaksel faz çözünürlüğü grafiği (n=3 ± SS)

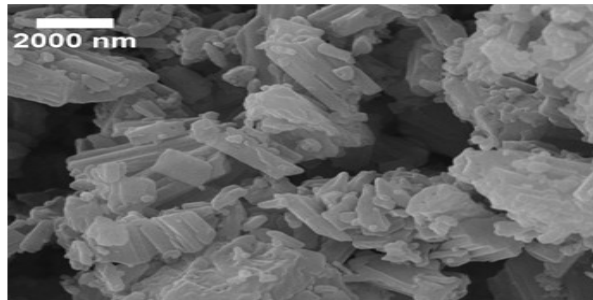
0.012 mg/mL olarak hesaplanmıştır. HP-β-CD ve M-β-CD için distile su içerisinde 6 farklı konsantrasyonda

(0,2,4,6,8,10 mM) olmak üzere, her bir siklodekstrin türevi için etkin madde dosetakselin aşırı miktarı (5 mg) kullanılarak faz çözünürlüğü çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen faz çözünürlüğü grafiği Şekil 1'de gösterilmiştir. Elde edilen grafiklerin Higuchi-Connor yöntemine göre "A tipi" çözünürlük eğrileri olduğu belirlenmiştir.

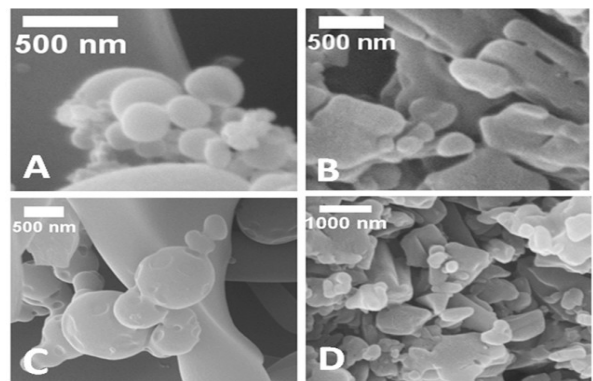
Serbest anhidr dosetaksel kristallerinin SEM görüntüleri Şekil 2'de, elde edilen inklüzyon komplekslerinin görüntüleri ise Şekil 3'te gösterilmektedir.

Elde edilen inklüzyon kompleksleri, HP-β-CD, M-β-CD ve dosetaksel için ayrı ayrı olmak üzere DSC analizi yapılmış ve sonuçları Şekil 4-7'de, hazırlama yöntemi ve farklı siklodekstrin türevlerine göre gösterilmektedir.

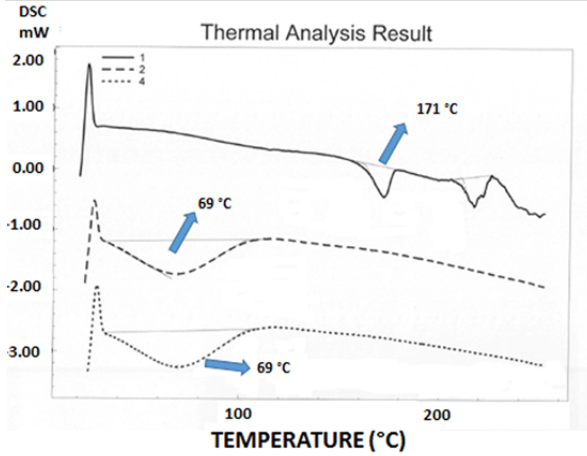
Elde edilen inklüzyon kompleksleri, HP-β-CD, M-β-CD ve dosetaksel için ayrı ayrı olmak üzere Fourier dönüşümlü infrared spektrofotometre (FT-IR) analizi yapılmış ve sonuçları Şekil 8-11'de gösterilmektedir. Dosetaksel'e ait FT-IR sonuçları incelendiğinde, dosetaksel için spesifik olarak kabul edilen 3480, 1741 ve 1109 cm⁻¹ dolaylarında pikler gözlenmiştir (15). Hazırlanan inklüzyon komplekslerine ait FT-IR sonuçlarında ise, birlikte dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanmış olan komplekslere ait spektrumlarda dosetaksel'e ait piklerin tamamen kaybolduğu, HP-β-CD ve M-β-CD'e ait piklerin ise varlığını koruduğu, yoğurma yöntemi ile hazırlanmış olan komplekslere ait spektrumlarda ise dosetaksel'e ait piklerin küçüldüğü fakat tamamen kaybolmadığı, HP-β-CD ve M-β-CD'e ait piklerin ise yine aynı şekilde varlığını koruduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda, FT-IR analizi verilerinin, DSC analizi sonuçlarımız ile paralel olduğu düşünülmektedir.



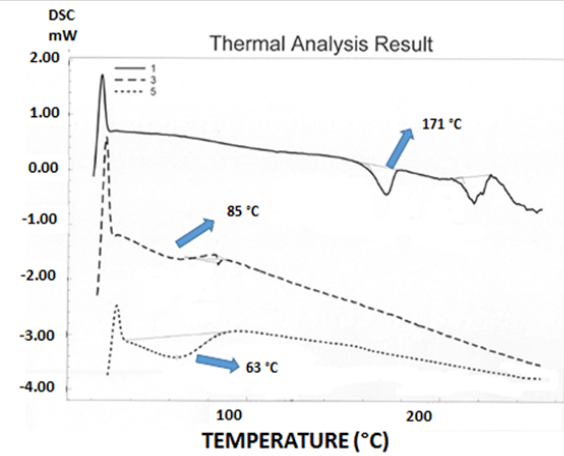
Şekil 2: Serbest dosetaksel anhidr kristallerinin taramalı elektron mikroskopu (SEM) görüntüsü.



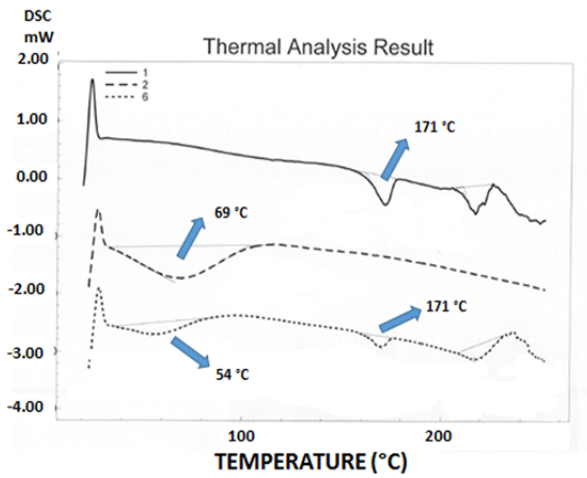
Şekil 3: Elde edilen inklüzyon komplekslerinin taramalı elektron mikroskopu (SEM) görüntüsü. Birlikte dondurarak kurutma yöntemi / HP-β-CD :Dosetaksel (A), yoğurma yöntemi / HP-β-CD :Dosetaksel (B), birlikte dondurarak kurutma yöntemi / M-β-CD :Dosetaksel (C), yoğurma yöntemi / M-β-CD :Dosetaksel (D).



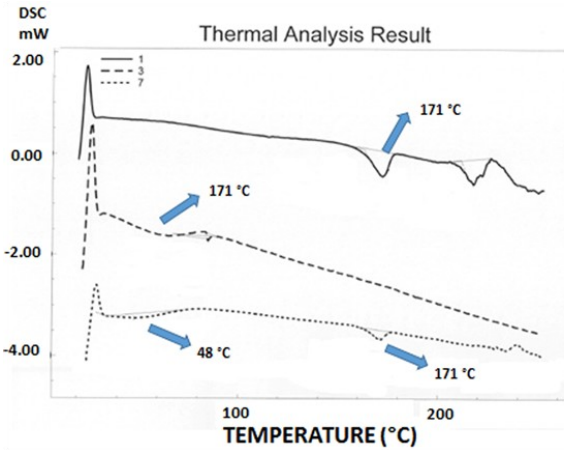
Şekil 4: Etkin madde Dosetaksel (1), HP-β-CD (2) ve birlikte dondurarak kurutma yöntemiyle hazırlanan HP-β-CD: Dosetaksel inküzyon kompleksine (4) ait DSC termogramları.



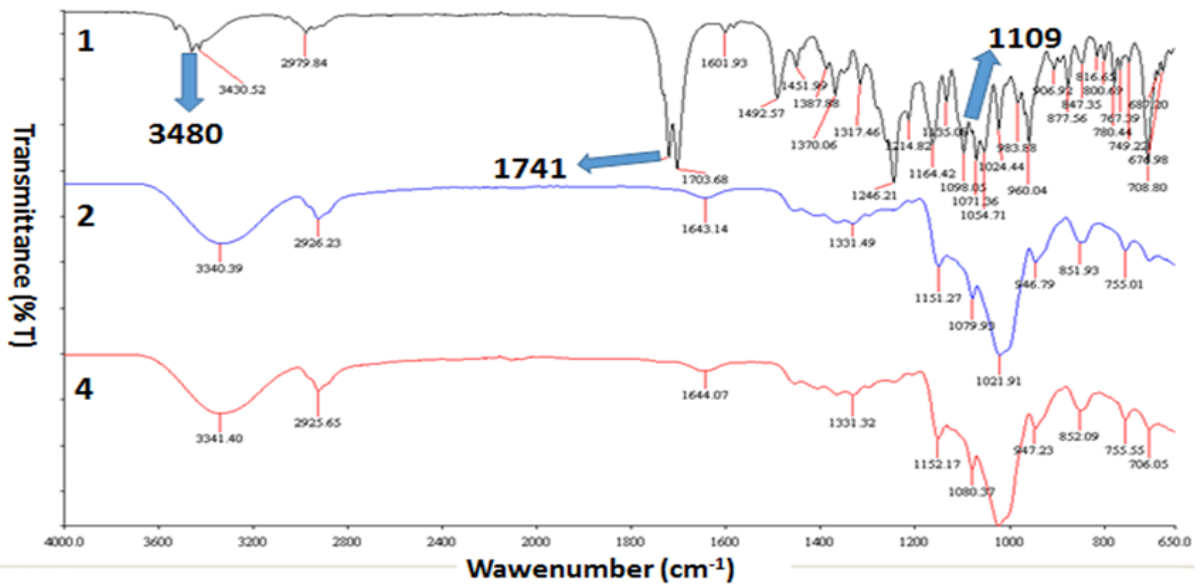
Şekil 6: Etkin madde Dosetaksel (1), Metil-β-CD (3) ve birlikte dondurarak kurutma yöntemiyle hazırlanan M-β-CD: Dosetaksel inküzyon kompleksine (5) ait DSC termogramları.



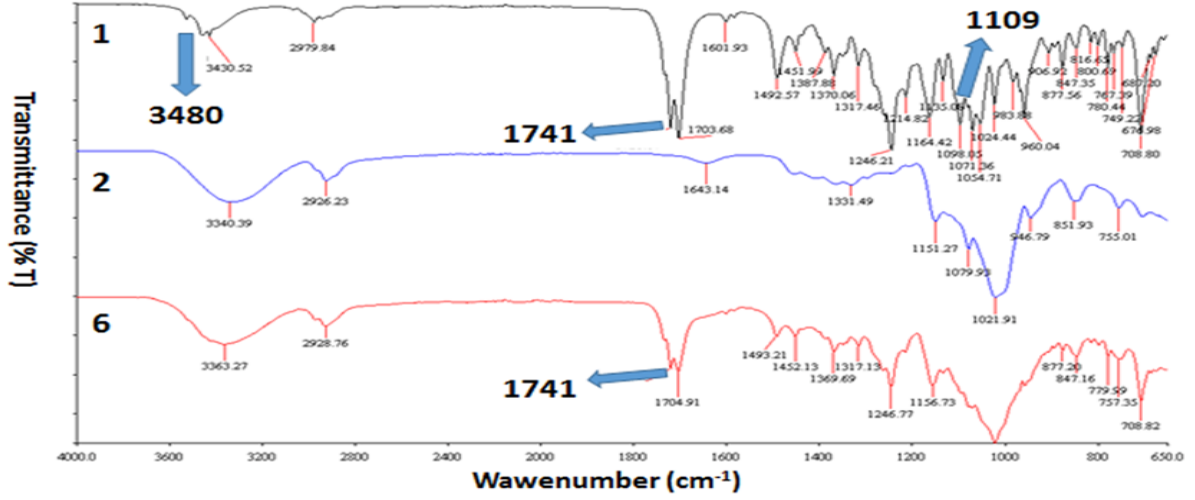
Şekil 5: Etkin madde Dosetaksel (1), HP-β-CD (2) ve yoğurma yöntemiyle hazırlanan HP-β-CD: Dosetaksel inküzyon kompleksine (6) ait DSC termogramları.



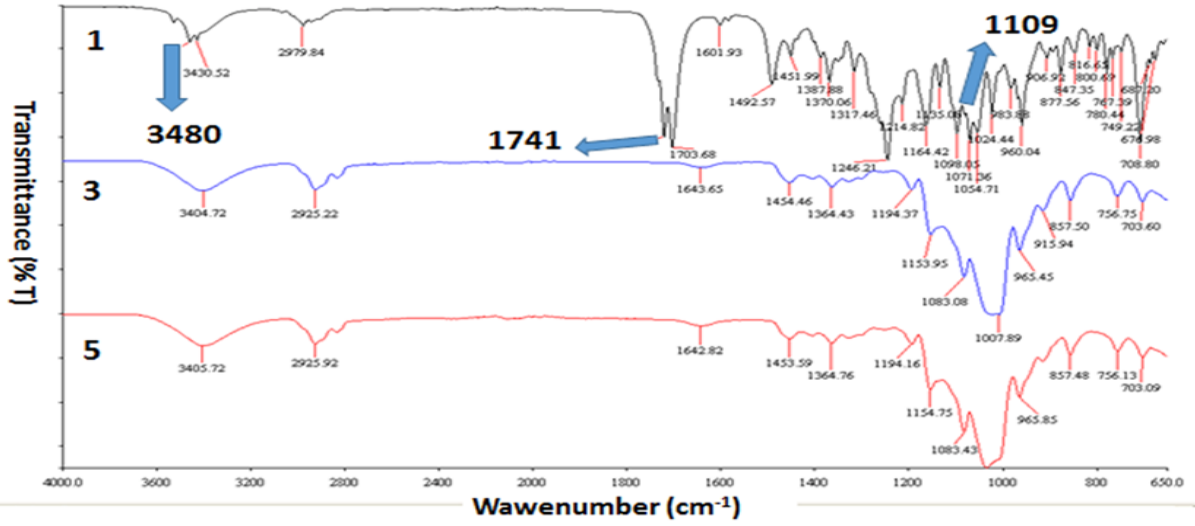
Şekil 7: Etkin madde Dosetaksel (1), Metil-β-CD (3) ve yoğurma yöntemiyle hazırlanan M-β-CD: Dosetaksel inküzyon kompleksine (7) ait DSC termogramları.



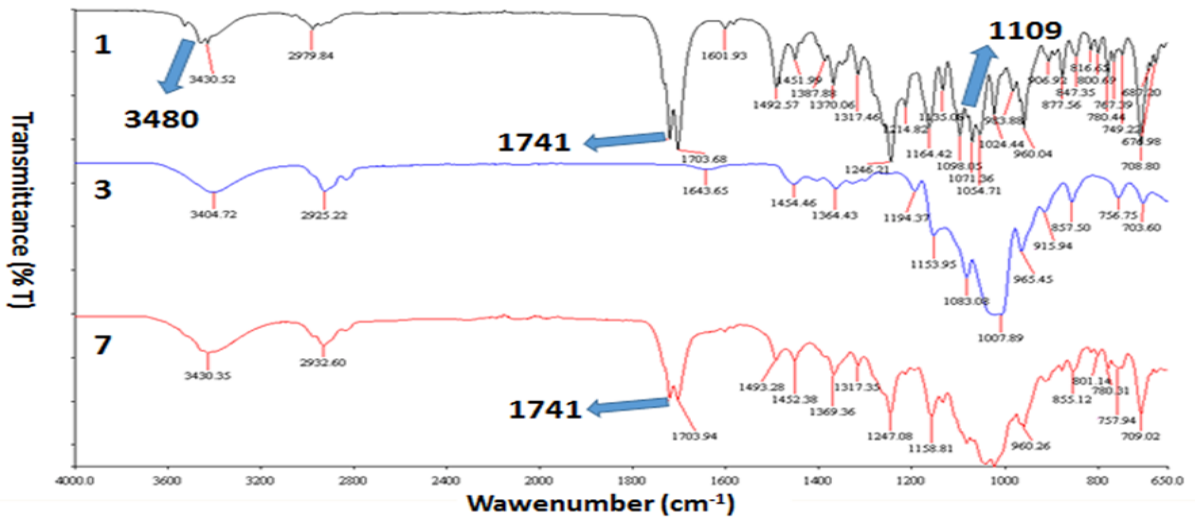
Şekil 8: Etkin madde Dosetaksel (1), HP-β-CD (2) ve birlikte dondurarak kurutma yöntemiyle hazırlanan HP-β-CD: Dosetaksel inküzyon kompleksine (4) ait FT-IR analizi verileri.



Şekil 9: Etkin madde Dosetaksel (1), HP- β -CD (2) ve yoğurma yöntemiyle hazırlanan HP- β -CD :Dosetaksel inklüzyon kompleksine (6) ait FT-IR analizi verileri.



Şekil 10: Etkin madde Dosetaksel (1), Metil- β -CD (3) ve birlikte dondurarak kurutma yöntemiyle hazırlanan M- β -CD :Dosetaksel inklüzyon kompleksine (5) ait FT-IR analizi verileri.



Şekil 11: Etkin madde Dosetaksel (1), Metil- β -CD (3) ve yoğurma yöntemiyle hazırlanan M- β -CD :Dosetaksel inklüzyon kompleksine (7) ait FT-IR analizi verileri.

TARTIŞMA

Literatürde bazı çalışmalarda, suda çözünürlük sorunu olan taksan sınıfı antikanser ajanların formülasyonlarında kullanılan sürfaktan özellikli maddelerin sebep olduğu ciddi yan etkiler belirtilmiştir ve bu yan etkilerin giderilebilmesi amacıyla yeni formülasyonlar geliştirilmesi yaklaşımına yönelik çalışmalar mevcuttur (2,4,6,8). Bu çalışmada, literatürde özellikle suda çözünürlük sorunu olan etkin maddelerin formülasyonları için olumlu ve umut verici etkileri gösterilmiş siklodekstrinlerin iki farklı türevi, HP- β -CD ve M- β -CD ile dosetaksel inküzyon kompleksleri elde etmek amaçlanmıştır. Kompleksler başarıyla elde edilmiştir. Faz çözünürlüğü çalışmaları sonucu elde edilen grafikler, Higuchi-Connor yöntemi esas alınarak yorumlanmıştır ve dosetaksel-siklodekstrin inküzyon komplekslerinden dolayı artan siklodekstrin konsantrasyonuna paralel olarak suda çözünen dosetaksel miktarının arttığı gösterilmiştir. Faz çözünürlüğü grafiklerinden hareketle, elde edilmiş eğrilerin çözünen kompleksleri ifade eden "A tipi" çözünürlük eğrisine uyduğu gösterilmiştir (13).

SEM ile hem etkin madde hem de formülasyon sonucu oluşan kompleksler siklodekstrin türevlerine ve yöntemlere göre ayrı ayrı incelenmiştir. Elde edilen mikrograflarda, tek başına incelenen etkin madde dosetakselin ipliksi kristal yapısı belirgin bir şekilde gözlenmiştir. HP- β -CD ve M- β -CD için ayrı ayrı uygulanan her iki hazırlama yöntemi sonucu elde edilen SEM görüntülerinde, siklodekstrinlerin amorf, kaviteli küresel yapıları belirgin şekilde gözlenmiştir. Özellikle yoğurma yöntemiyle elde edilen komplekslerde, etkin madde dosetakselin kristal yapısı, serbest halde, görüntülerde yoğun olarak gözlenmiştir. Bu durum, yöntemin etkinliğinin birlikte dondurarak kurutma yöntemine göre daha az etkili olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Birlikte dondurarak kurutma yönteminde ise, elde edilen komplekslerin partikül büyüklüklerinin daha küçük olarak elde edildiği, elde edilen komplekslerin görüntülerinde dosetaksel kristallerinin kompleksleştiği ve bunun siklodekstrin kavitelerindeki şekillerden de gözlenerek doğrulanabildiği, oluşan komplekslerin daha düzgün olduğu ve ortamda serbest kalan dosetaksel kristallerinin bulunmadığı yorumu yapılmıştır. Tüm bu yorumlardan hareketle; hazırlanacak inküzyon kompleksinde, kullanılacak siklodekstrin türevine ve kullanılacak yöntemine göre elde edilen SEM görüntülerinde farklılıklar olduğu gözlenmiştir.

DSC analizi sonucunda elde edilen termogramlar incelendiğinde, dosetaksel'e ait erime piki 171°C civarında gözlenmiştir ve bu değer literatüre uygundur (16). Dosetakselin 171°C'de gözlenen erime pikininin, her iki siklodekstrin türevi içinde birlikte dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan komplekslerinin DSC termogramlarında tamamen kaybolduğu ve sadece siklodekstrine ait piklerin olduğu gözlemlenmiştir. Yoğurma yöntemi ile hazırlanan komplekslerin DSC termogramları incelendiğinde ise, dosetaksel'e ait piklerin küçüldüğü fakat tamamen kaybolmadığı gözlemlenmiştir. Bu durum, yoğurma yöntemi ile hazırlanan komplekslerde, ortamda serbest halde dosetaksel kristallerinin kalabildiği, öte yandan birlikte dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan komplekslerde ise or-

tamda serbest halde dosetaksel kalmadığı ve daha verimli bir kompleksleşme işlemi gerçekleştiği şeklinde yorumlanmıştır. Ayrıca, birlikte dondurarak kurutma yöntemiyle hazırlanmış komplekslerde oluşan komplekse ait erime piki, kompleksin hazırlandığı siklodekstrin türevinin erime piki ile karşılaştırıldığında aralarında neredeyse fark olmadığı, yoğurma yöntemi ile hazırlanmış komplekslerde ise oluşan kompleksin erime piki ile kompleks için kullanılan siklodekstrin türevine ait erime pikinin birbirinden uzaklaşmış olduğu ve komplekslere ait piklerin derecesinin azaldığı gözlenmiştir. Bu durum ise yoğurma yöntemiyle elde edilen komplekslerin DSC termogramlarında erime dereceleri bakımından yeni özellikler gösterdiği şeklinde yorumlanmıştır.

Fourier dönüşümlü infrared spektrofotometre (FT-IR) analizi sonucu elde edilen spektrumlar incelendiğinde; Dosetaksel'e ait spesifik üç pikin (3480, 1741 ve 1109 cm⁻¹) varlığı, literatür verilerine uygunluk göstermiş ve literatürde dosetaksel için spesifik olarak kabul edilen pikler gözlenmiştir (15). Komplekslere ait spektrumlarda ise dosetaksel'e ait spesifik piklerin, birlikte dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan komplekslerde tamamen yok olduğu, yoğurma yöntemi ile hazırlanan komplekslerde ise piklerin küçüldüğü fakat tamamen kaybolmadığı gözlemlenmiştir. Her iki siklodekstrin türevi için her iki yöntemle hazırlanan komplekslere ait spektrumlarda, siklodekstrin türevlerine ait pikler varlıklarını korumuştur.

Birlikte dondurarak kurutma yönteminde, dosetaksel'e ait piklerin hem DSC analizinde hem de FT-IR analizinde kaybolması, bu yöntemlerle elde edilen komplekslerde dosetakselin tamamen kompleks oluşturabilmesi ve ortamda serbest dosetaksel kalmamış olması ile açıklanırken, yoğurma yöntemi ile hazırlanan komplekslerde, dosetaksel'e ait piklerin varlığı kompleks oluşturamamış ve ortamda serbest halde bulunan dosetakselden kaynaklı olduğu şeklinde yorumlanmıştır. FT-IR analizi sonuçlarının DSC analizi sonuçları ile uyumlu olduğu ve birbirlerini doğrular nitelikte olduğu fikrine varılmıştır. Çalışma elde edilen tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde; HP- β -CD ile elde edilen komplekslere kıyasla M- β -CD ile elde edilen komplekslerin dosetakselin çözünürlüğünü daha fazla artırabildiği faz çözünürlüğü eğrilerinden anlaşılmaktadır. Bu durum ilk etapta M- β -CD ile elde edilen komplekslerin dosetakselin çözünürlüğünü artırma amacına daha iyi hizmet edebildiğini göstermiştir. Her iki yöntem ve her iki siklodekstrin türevi ile de inküzyon kompleksleri elde edilebilmiştir. Fakat yoğurma yöntemiyle elde edilen verilere kıyasla, dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen komplekslerin SEM, DSC ve FT-IR analizi sonucu, ortamda serbest dosetaksel bulunmadığı ve birlikte dondurarak kurutma yönteminin daha etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu veriler ışığında, M- β -CD'in kullanıldığı ve birlikte dondurarak kurutma yöntemi esas alınarak hazırlanan kompleksin, karakterizasyonu ve komplekslerin analiz sonuçları, yoğurma yöntemine ve HP- β -CD türevine göre daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. Literatürde benzer şekilde yapılmış çalışmalarda, hidrofobik yapıdaki dosetaksel etkin maddesinin farklı siklodekstrin türevleri ile oluşturulan inküzyon komplekslerinde artan çözünürlük ve yüksek *in vitro* salım profilleri gözlenmiştir (17). Elde ettiğimiz sonuçların, söz konusu literatür

çalışmaları ile uyumlu olduğu ve birbirlerini destekler nitelikte olduğu gözlenmektedir. Ayrıca, mevcut formülasyonların çözünürlüğü artırmaya yönelik olarak içerdiği sürfaktan maddelerin kullanımından vazgeçilebilmesi ve böylelikle bu maddelerin neden olduğu yan etkilerin ortadan kaldırılabilmesi de önemli bir katkı

SONUÇ

Sonuç olarak, HP- β -CD ve M- β -CD türevleri ile güçlü bir antikanser olan dosetaksel etkin maddesinin başarıyla kompleks oluşturabildiği karakterizasyon çalışmaları ile gösterilmiştir. Çalışmada, M- β -CD'in kullanıldığı ve birlikte dondurarak kurutma yöntemi esas alınarak hazırlanan kompleksin, karakterizasyonu ve komplekslerin analiz sonuçlarına göre diğer yöntem ve siklodekstrin türevine göre daha olumlu sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir. Elde edilebilen bu inklüzyon komplekslerinin yeni dosetaksel formülasyonlarında çözünürlük sorununun aşılabilmesi, bu sayede biyoyararlanımın artırılabilmesi ve mevcut formülasyonların içerdiği sürfaktan maddelerin neden olduğu yan etkilerden kaçınılabilmesi açısından umut verici olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, bu çalışma, aynı koşullar altında iki farklı yöntem kompleks oluşturma etkinliğinin incelenebilmesi açısından önem taşımaktadır.

**Bu çalışma, herhangi bir kurum tarafından desteklenmemiş ve herhangi bir kongrede sunulmamıştır.*

KAYNAKLAR

- Garcia M, Jemal A, Ward EM, et al. Global cancer facts & figures. Atlanta, GA, USA: The American Cancer Society 2007.
- Hennenfent KL, Govindan R. Novel formulations of taxanes: a review. Old wine in a new bottle? Ann Oncol 2006; 17(5):735-749.
- Varan C, Bilensoy E. Development of hydroxypropyl β -cyclodextrin:Polycaprolactone nanoparticles for the controlled delivery of docetaxel to solid tumors. J Inclusion Phenom Macro Chem 2014; 80(1-2):9-15.
- Immordino ML, Brusa P, Arpicco S, et al. Preparation, characterization, cytotoxicity and pharmacokinetics of liposomes containing docetaxel. J Control Release 2003; 91(3):417-429.
- Van Zuylen L, Verweij J, Sparreboom A. Role of formulation vehicles in taxane pharmacology. Invest New Drugs 2001; 19(2):125-141.
- Baker J, Ajani J, Scotté F, et al. Docetaxel-related side effects and their management. Eur J Oncol Nurs 2009; 13(1):49-59.
- Yavuz B. Siklodekstrin Kompleksi Oluşturarak, Ekzemestan'ın Çözünmesinin ve İn Vitro Geçirgenliğinin Arttırılması. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2009; ss 2.
- Terwogt JM, Nuijen B, Ten Bokkel Huinink WW, et al. Alternative formulations of paclitaxel. Cancer Treat Rev 1997; 23(2):87-95.
- Panchagnula R. Pharmaceutical aspects of paclitaxel. Int J Pharm 1998; 172:1-15.
- Yurtdaş G. Flukonazol ve Ketokonazol'ün B-Siklodekstrin İle Hazırlanan Kompleksleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir 2010; ss 6-9.
- Yavuz B, Bilensoy E, Vural İ, et al. Alternative oral exemestane formulation: improved dissolution and permeation. Int J Pharm 2010; 398(1-2):137-145.
- Higuchi T, Connors KA. Phase-solubility techniques. Adv Anal Chem Instr 1965; 4:117-212.
- Taneri F. Bazı Antimikrobiyal Maddelerin Siklodekstrin Komplekslerinin Hazırlanması ve Bunların Farmasötik Formülasyonlarda Kullanımı. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir 2004; ss 27-30.
- Bratu I, Veiga F, Fernandes C, et al. Infrared spectroscopic study of triacetyl- β -cyclodextrin and its inclusion complex with nicardipine. Spectroscopy 2004; 18:459-467.
- Kulhari H, Pooja D, Shrivastava S, et al. Cyclic-RGDfK peptide conjugated succinoyl-TPGS nanomicelles for targeted delivery of docetaxel to integrin receptor over-expressing angiogenic tumours. Nanomedicine 2015; 11(6):1511-1520.
- Ma Y, Zheng Y, Liu K, et al. Nanoparticles of poly (lactide-co-glycolide)-d-a-tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate random copolymer for cancer treatment. Nanoscale Res Lett 2010; 5 (7):1161-1169.
- Ferrati S, Nicolov E, Bansal S, et al. Docetaxel/2-hydroxypropyl β -cyclodextrin inclusion complex increases docetaxel solubility and release from a nanochannel drug delivery system. Curr Drug Targets 2015; 16(14):1645-1649.