

Su Ürünleri Dergisi J.Fish.Aquat.Sci.	Cilt No.18/1 Vol.18/1	Özel Sayı Suppl.	249 - 256 249 - 256	İzmir – Bornova 2001 İzmir – Bornova 2001
--	--------------------------	---------------------	------------------------	--

***Spirulina platensis* (Cyanophyta) ile Hazırlanan Tablet ve Kapsüllerin in vitro Kalite Kontrol Çalışmaları**

H. Yeşim Karasulu¹ Meltem Conk Dalay² Evren Şanal¹
Tamer Güneri¹

¹Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 35100, Bornova, İzmir, Türkiye.

²Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, 35100, Bornova, İzmir, Türkiye.

Abstract : *in vitro Quality Control Studies of Tablets and Capsules Prepared With Spirulina platensis (Cyanophyta).* In vitro quality control studies of *Spirulina platensis* tablets and capsules were evaluated according to the The United States Pharmacopoeia 23 (USP XXIII), British Pharmacopoeia (BP-1998), European Pharmacopoeia (1997).

Micromeritic investigations were carried out on granules of *S. platensis* in order to standardize the tablets and capsules and to optimize the pilot production of the dosage forms prepared with these granules. Bulk volume and weight, tapping volume and weight, fluidity, angle of repose, weight deviation, relative deviation, particle size distribution, density and porosity values of the granules were determined. In addition to evaluate whether some kind of glidant will be needed during tableting of granules Hausner ratio and consolidation index.

The particle size of the granules was determined by sieving from a combined sieve set. The weight of the granules in each sieve is found out and the percentages are calculated. The bulk volume and weight, tapping volume and weight, fluidity, angle of repose, weight deviation, relative deviation and the true density of the sieved granules were determined. The porosity of the granules was calculated from the density of the materials. The particle densities of the sieved granules were determined with a pycnometer by using cyclohexane.

Key Words : *Spirulina platensis*, tablet, capsule, quality control, micromeritic

Özet : *Spirulina platensis* granüleri kullanılarak hazırlanan tablet ve kapsüllerin in vitro kalite kontrol çalışmaları Amerikan Farmakopesi 23 (USP XXIII), İngiliz Farmakopesi (BP- 1998) ve Avrupa Farmakopesi' ne (1997) göre değerlendirildi.

Mikromeretik çalışmalar hem *S. platensis* granüleri ile hazırlanan tablet ve kapsüllerini standardize etmek hem de bu granüle ile hazırlanan dozaj şeklinin pilot üretimini optimize edebilmek için yapılmıştır. Granülenin küme hacim ve ağırlığı, sıkışabilme hacim ve ağırlığı, akışkanlığı, akış açısı, ağırlık sapması ve relatif sapma, partikül boyutu dağılımı, dansite ve porozite değerleri hesaplandı. Ayrıca granüleden tablet basılması esnasında herhangi bir kaydırıcıya ihtiyaç olup olmadığına Hausner oranı ve sıkışabilme indeksi hesaplanarak bakıldı.

Granülenin partikül boyutu dağılımı kombine elek sisteminden elenerek saptandı. Elenmiş her bir granülenin ağırlığı bulundu ve yüzdeleri hesaplandı. Bu elenmiş granüeller kullanılarak küme hacim ve ağırlığı, sıkışabilme hacim ve ağırlığı, akışkanlığı ve akış açısı, ağırlık sapması ve gerçek dansitesi hesaplandı. Granüle dansitesinden porozite hesaplandı. Elenmiş granüellerin partikül dansitesi sikloheksan ile piknometre kullanılarak saptandı.

Anahtar Kelimeler : *Spirulina platensis*, tablet, kapsül, kalite kontrol, mikromeretik

Giriş

Bir cyanobakteri olan *Spirulina* ticari önemi olan bir mikroalgdir. Bu özelliği, içinde bulunan kuru ağırlığının % 60-70' ini teşkil eden protein, düşük yağ, yüksek gammalinolenik asit içeriği, ayrıca vitamin konsantrasyonunun özellikle B₁₂ vitamininin zenginliğinden kaynaklanmaktadır (Dalay 1999, Becker 1994, Fox 1983, 1999, Vonshak 1996). *Spirulina*, besleyici özelliğe sahip düşük kalorili bir gıda olarak kullanılabilirliği gibi, yapılan çalışmalar *Spirulina*'nın insan sağlığı üzerindeki etkilerini deneysel olarak kanıtlamaktadır. *Spirulina*'da yüksek oranda bulunan linolenik asit, Prostaglandin (PGE₁) sentezini stimüle eder. Bu hormon da kandaki kolesterolü etkiler (Fox 1983). Yapılan çalışmalar, *Spirulina*'nın T lenfosit hücrelerinin fonksiyonlarını arttırdığını ve bu yolla vücudun savunma mekanizmasını kuvvetlendirdiğini göstermiştir. Ayrıca *Spirulina*'nın kanser ve AIDS tedavilerinde de etkili olduğu, yapısındaki β karoten nedeniyle antitümör özellik taşıdığı, mide ve deri kanserlerinde hastalığın seyrini yavaşlatıcı hatta tedavi edici olduğu da deneylerle kanıtlanmıştır (Manoj G ve diğ. 1992). β karotenden başka, *Spirulina*'da bulunan Kalsiyum Spirulan (Ca-Sp) maddesinin bir ilaç firması tarafından desteklenen bir çalışmayla akciğer tümör kolonizasyonu ve metastazlarında belirgin bir azalma sağladığı tespit edilmiştir (Mishima ve diğ. 1998).

Spirulina'nın insan sağlığına olan faydaları nedeni ile ilaç yapımında direkt veya içeriğinden ekstre edilen β karoten, ksantofil, γ linolenik asit gibi maddelerin kullanımı yoluyla indirekt olarak kullanılmaktadır. *S. platensis* tablet ve kapsülleri çeşitli sağlık sorunlarının giderilmesinde ve vücudun savunma mekanizmasını güçlendirici bir ürün olduğundan bu çeşit ürünleri farmasötik preparatların kalitesinde hazırlanması gerekir. Bu düşünceden hareketle, Türkiye koşullarında üretilen *S. platensis* granüelleri kullanılarak hazırlanan tablet ve kapsüllerin in vitro kalite kontrol çalışmaları Amerikan Farmakopesi (USP XXIII), İngiliz Farmakopesi (BP-1998) ve Avrupa Farmakopesi' ne göre yapıldı. Ayrıca mikromeretik çalışmalar hem *S. platensis* granüelleri ile hazırlanan tablet ve kapsülleri standardize etmek hemde bu granüle ile hazırlanan dozaj şeklinin pilot üretimini optimize edebilmek için yapılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Canlı materyalin tanımlanması

Ege Üniversitesi Rektörlüğü ve Ebiltem'in sağladığı imkanlarla kurulmuş olan pilot tesislerin havuzlarında kültürü yapılan *S. platensis* suşunun menşei Peru (Parachas Gölü) dur. Denemede kullanılan saf kültür, Fransa'dan ACMA (Association pour Combatre la Malnutrition par Algoculture) laboratuvarlarından Dr. Ripley D. Fox un koleksiyonundan elde edilmiş ve Ebiltem

Spirulina pilot tesisi seralarında üretilmiştir.

Havuz ortamında, birim miktarda suyun süzülmesi ile elde edilen ağırlık, mg. kuru ağırlık/lit. olarak hesaplanmıştır. Hasat ve kurutma işlemleri için kullanılan geleneksel yöntemler dışında sanayinin gerektirdiği seri üretimi sağlamaya yönelik denemeler yapılmıştır. Bu amaçla hasat için çeşitli yarı mekanik ve mekanik sistemler kullanılmıştır.

S. platensis granüelleri, pilot tesisin laboratuvarındaki yarı otomatik tablet ve kapsül makinelerinde, hiçbir yardımcı madde içermeksizin tablet (370 mg) ve kapsül (260 mg) dozaj şeklinde kullanıma sunulmaktadır.

Mikromeretik çalışmalar

S. platensis granüelleri kullanılarak hazırlanan tablet ve kapsüllerin partikül boyutu analizi kombine elek sistemi kullanılarak yapılmıştır. Her bir elekte bulunan granüle ağırlığı ve yüzdesi hesaplanmıştır. Granülenin küme hacmi ve ağırlığı, sıkışabilme hacmi ve ağırlığı, akışkanlığı, akış açısı ve gerçek dansitesi hesaplanmıştır (Kahrmanis ve diğ. 1998, Ertan ve diğ. 1995, Voight and Bornschein 1982). Granüle dansitesinden porozite hesaplanmıştır (Takenaka *et al.* 1980). Elenmiş granüellerin partikül dansitesi piknometre ile sikloheksan kullanılarak saptandı. Granüleden tablet basılması esnasında herhangi bir kaydırıcıya ihtiyaç olup olmadığına Hausner oranı ve sıkışabilme indeksi hesaplanarak bakıldı (Voight and Bornschein 1982).

Tablet ve Kapsülde kalite kontrol çalışmaları

S. platensis granüelleri kullanılarak hazırlanan tablet ve kapsüllerin kalite kontrol çalışmaları bitmiş üründe Amerikan Farmakopesi (USP XXIII), İngiliz Farmakopesi (BP-1998) ve Avrupa Farmakopesi' ne göre yapılmıştır. Bunun için, *S. platensis* kapsüllerinde ağırlık sapması kontrolü ve kapsülün distile su ve suni mide vasatında (SMV) dağılma zamanı kontrolü yapılmıştır. *S. platensis* tabletlerin de ise ağırlık sapması, çap kalınlık, sertlik, yükseklik, koku, görünüş, ufalanma-aşınma (friabilite) kontrolü ve distile su, suni mide ve bağırsak vasatında (SBV) dağılma kontrolü yapılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Mikromeretik çalışmada, granülenin küme hacim ve ağırlığı, sıkışabilme hacim ve ağırlığı, granülenin akış açısı, akışkanlığı, porozitesi, ağırlık ve relatif sapması, partikül boyutu dağılımı Tablo 1-4 de verilmiştir. Granülenin en geniş partikül boyutu dağılımını %40.9 oranında, 250-500µm arındadır. Ancak, pilot tesiste üretilen *S. platensis* granüelleri ilk elemenden sonra tablet ve kapsül üretimi esnasında direk olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle tüm kontrollerde granüle elenmeden kullanılmıştır. Tüm denemeler 3 kez tekrarlanmış ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

Sıkışabilme hacmi ve yığın açısı granülenin veya tozların statik bir özelliğidir ve genel durumları hakkında bilgi verir. Her iki deneyin sonuçları bize sürtünme kuvvetinin harekete geçebilme veya geçirilebilme yeteneği hakkında fikir verir. Genellikle yığın açısı 25°-40° arasında olan granüle veya tozların kolay aktığı saptanmıştır. Bu tozların partikül boyutu genellikle 150µm üstündedir. Tozların akma hızı partikül büyüklüğü ile orantılıdır. Akış hızının yığın açısı ile

ilişkisi vardır ve partikül küçüldükçe birbirine yapışma özelliği artar (İzgu 1983). Bu bilgiler ışığında hazırlanan granüle yığın açısı $<25^\circ$ den küçük ve akış süresi 1 sn olduğundan iyi akışkandır (Tablo 2-4). Granülin porozitesi 0.924 ± 0.016 olarak hesaplanmıştır. Granüle dansitesi ve porozitesi granüle hazırlama tekniğini ve formülasyonu etkileyebilir (Lieberman ve diğ. 1990).

Sıkışabilme indeksine ve Hausner oranına göre granüle iyi akış göstermiştir (Tablo 5) ve bu bulgu yığın açısı ile de desteklenmektedir. Bu sonuçlara göre *S. platensis* granülesi kullanılarak hazırlanacak tablet veya kapsüllerin üretimi esnasında herhangi bir kaydırıcıya ihtiyaç yoktur (Voight and Bornschein 1982).

Tabletlerin, karıştırma, granüle yapma ve makinede basılması esnasında birtakım değişiklikler meydana gelebilir. Bunlar

hakkında karar verebilmek ancak tabletlerin fiziksel ve kimyasal kontrollerinin yapılması ile mümkündür. Tabletlerde kalite kontrol, imalat safhasında ve imal edilmiş tabletlerde olmak üzere iki ana bölümde yapılır. Birinci bölümde imalatın her safhasından numuneler alınarak kontroller yapılır (inprocess) ikinci bölümde ise bitmiş üründe kontrol yapılır (process) ve uygun bir tablet elde edilip edilmediği araştırılır. Hatta birinci bölüm kontrollerinin doğru yapılıp yapılmadığını da gösterir (İzgu 1983).

Bu amaçla *S. platensis* granüleri kullanılarak hazırlanan tabletlerde, görüntü, renk, koku, çap ve kalınlık, sertlik, ağırlık sapması, ufalanma-aşınma kontrolü (friabilite) ve dağılma kontrolü yapılmış ve sonuçları Tablo 6 da verilmiştir. Tablo 7 de ise *S. platensis* granüleri ile hazırlanan kapsüllerin kalite kontrolü sonuçları verilmiştir.

Tablo 1. *S. platensis* ile hazırlanan granülelerinin partikül boyutu dağılımı

Partikül boyutu	g	%
> 500 µm	3.224	12.9
250-500µm	10.222	40.9
125-250µm	7.078	28.3
< 125 µm	4.227	16.9
% kayıp	0.249	0.99

Tablo 2. *S. platensis* ile hazırlanan granülelerinin küme hacim ve ağırlığı, sıkışabilme hacim ve ağırlığı, gerçek dansite ve porozitesi

<i>S. platensis</i> granüle	
Küme hacmi (ml/g)	1.383 ± 0.028
Küme ağırlığı (g/ml)	0.722 ± 0.015
Sıkışabilme hacmi (ml/g)	1.241 ± 0.018
Sıkışabilme ağırlığı (g/ml)	0.805 ± 0.012
Gerçek dansite (g/ml)	1.362 ± 0.031
Porozite	0.924 ± 0.016

Spirulina platensis ile Hazırlanan Tablet ve Kapsüllerin *in vitro* Kalite Kontrol Çalışmaları

Tablo 3. *S. platensis* ile hazırlanan granülerinin akış süresi (s) ve açısı (°)

<i>S. platensis</i>		
granüle miktarı	Akış süresi (s)	Akış açısı (°)
25 ml	1	20.23±0.887
1 g	1	2.671±1.038
2 g	1	2.892±1.225
4 g	1	3.205±0.317
6 g	1	5.514±2.454
8 g	1	7.417±2.225
10 g	1	9.043±2.314

Tablo 4. *S. platensis* ile hazırlanan granülerinin ağırlık sapması

<i>S. platensis</i>		
granüle miktarı	Ağırlık sapması (±mg)	Relatif sapma (±%)
1 ml	0.817 ± 0.007	0.902
2 ml	1.573 ± 0.007	0.445
4 ml	2.983 ± 0.067	0.246
5 ml	3.747 ± 0.034	0.907
6 ml	4.477 ± 0.047	1.060

Tablo 5. *S. platensis* ile hazırlanan granülerinin sıkışabilme indeksi (Carr's indeks) ve Hausner oranı

Sıkışabilme indeksi (Carr's indeks)	Hausner Oranı
10.310 % (mükemmel akış)	1.114 (iyi akış)

Tablo 6. *S. platensis* granüleri hazırlanan tabletlerin kalite kontrol sonuçları

Ağırlık Sapması (g)	Çap (cm)	Kalınlık (cm)	Yükseklik (cm)	Sertlik (kg/monsa nto)
0.372±0.012	0.94	0.411±0.02	2.287±0.011	1.5±.250

Dağılma Kontrolü (dk)	Friabilite (%)	Görünüş Renk	Koku
68.2±8.2	0.417	Homojen Yeşil	Kokusuz

Tablo 7. *S. platensis* granüleri hazırlanan kapsülün kalite kontrol sonuçları

Ağırlık Sapması (g)	Dağılma Kontrolü (dk)		
	Kapsülün erimesi	İçeriğinin Dağılması	İçeriğinin Tamamen Dağılması
0.260±.009	1.5	3	240

Tablo 8. *S. platensis* granüleri hazırlanan tablet ve kapsülün ağırlık sapması sonuçları

	<i>S. platensis</i> Tablet		<i>S. platensis</i> Kapsül	
Hedef ağırlık	0.370 g		0.260 g	
Üretilen ürün	0.372±.012 g		0.260±.009 g	
Farmakope Limiti	Düşük	Yüksek	Düşük	Yüksek
	0.3145	0.4225	0.270	0.250

Sonuç

Bir ilacın vücuda yararlı olabilmesi için öncelikle çözünmesi gerekir. Bunun için geleneksel tablet veya kapsüllerde ilk basamak, küçük partiküllere veya granülelere ayrılmasıdır. Bu işleme dağılma (desentegrasyon) denir. Bir tabletin veya kapsülün dağılma zamanı USP de tanımlanan desentegratör denen alet ile distile su kullanılarak yapılır. Tablo 6 ve 7 de tablet ve kapsüllerin dağılma kontrolü sonuçları verilmiştir. Ayrıca farmakopenin önerdiği kontroller dışında, *S. platensis* tabletlerde dağılma kontrolü suni mide ve suni bağırsak vasatında da yapılmıştır. Buna göre 6 tabletin hiçbiri 2 saat içerisinde tamamıyla suni mide vasatında dağılmamış fakat 207.8±34.4 dakikada bağırsak vasatında tamamıyla dağılmıştır. Yine *S. platensis* kapsüllerinin dağılma kontrolü suni mide vasatında yapılmış ve kapsül içeriği 118±14 dakikada tamamıyla dağılmıştır. Tablet sertliği ve friabilite tabletin taşınması ve kullanılması esnasındaki dayanıklılığını tanımlamada çok yaygın

olarak kullanılır ve hesaplanır. Tablet sertliği direk olarak tabletin çözünürlüğü ve dağılmasını etkiler. Granüle boyutunun farklılığı tablet veya kapsülün ağırlığındaki farklılığa neden olabilir. Eğer granülenin partikül büyüklüğü birbirinden çok farklı ise tabletin ve kapsülün ağırlığındaki homojenite sağlanmaz ve ağırlık sapması oldukça büyük olur. Hazırlanan tablet ve kapsüllerin ağırlık sapması farmakopelerde verilen limitlerin içerisinde yer almaktadır (Tablo 8). Tablet kalınlığı her üretimde kontrol edilmelidir. Kalınlık, tabletin ağırlığında farklılık olmadan granülenin dansitesindeki ve tabletin basımı sırasında uygulanan basınçtan dolayı değişiklik gösterebilir. İdeal bir tablette friabilite %0.8'i geçmemelidir. Hazırlanan tablette bu oran %0.417' dir (İzgu 1983). Bütün bu çalışmaların sonucunda, *S. platensis* granüleri ile hazırlanan tablet ve kapsüllerin kalite kontrol sonuçları farmakope limitlerine uygundur.

Kaynakça

- Becker, E.W. 1994. Microalgae-Biotechnology and Microbiology. Cambridge University Press. Cambridge-England.
- British Pharmacopoeia, London: Her Majesty's Stationary office. 1998.
- Delay, M.C. 2000. The developing of *Spirulina* production technology in our country (Ülkemiz koşullarına uygun *Spirulina* üretim teknolojisinin geliştirilmesi). E.Ü. Araştırma Fonu, Proje No:99/Bil/006 (in Turkish).
- Ertan, G. et al. 1995. Micromeritic properties of nitrofurantoin microcapsules. Drug Development and Industrial Pharmacy. 21(11):1323-1328.
- European Pharmacopoeia 1997.
- Fox, R.D. 1983 Algoculture, The Microalga *Spirulina* (Cyanophyceae), A study of the conditions necessary for their growth. These de Doctorat. France
- Fox, R.D. 1999. La *Spirulina*: Technique Pratique Et Promesse. Edisud, Aix-en-Prouence,1999. France
- Izgi, E., 1983. General and industrial pharmaceutical technology II (Genel ve endüstriyel farmasötik teknoloji II). A.Ü. Eczacılık Fak. Yayınları, Ankara. (in turkish).
- Kahrimanis, K., Ktistis, G. and Malamataris, S., 1998. Crystallisation conditions and physicochemical properties of ibuprofen- Eudragit S100 Spherical crystal agglomerats prepared by the solvent- change technique, Internatinal Journal of Pharmaceutics. 173: 61-74.
- Lieberman, H.A., Lachman, L. and Schwartz, J.B. 1990. Pharmaceutical dosage forms: Tablets volume II Marcel Dekker, inc. New York.
- Manoj, G. et al. 1992. Antioxidant properties of *Spirulina* (*Spirulina platensis*), C.V. and N. jeej: Bai (Eds) *Spirulina*, ETTA Nat Symp. MCRC, Madras-India.
- Mishima, T. et al. 1998. Inhibition of tumor Invasion and Metastasis by calcium spirulan (Ca-Sp), a novel sulfated polysacchoride derived from a blue gren alga, *Spirulina platensis*. Clinical and Experimental Metastasis, vol.16, No:6 pp.541-550. Kluwer Academic Publishers.
- Takenaka, H., Kawashima, Y., and Lin, S.Y. 1980. Micromeritis properties of sulfamethaxozole microcapsules prepared by gelatin- acacia coacervation. Journal of Pharmaceutical Science. 69:513-516.
- The United States Pharmacopeia XXIII, Easton: Meck Publishing Co., 1995

H.Y. Karasulu, M. Conk Dalay, E. Şanal, T. Güneri

Unight, R. and Borschein, M. 1982. Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie. (Vrelag Chemic, Weinheim). pp.164-165.

Vonshak, A. 1996. Spirulina Platensis (Arthrospira): Physiology, Cell biology and biotechnology. Taylor and Francis Publishers. pp.79-99.