



ScienceDirect'te bulunan içerik listeleri

Çevresel Araştırma

dergi ana sayfası : www.elsevier.com/locate/envres

Mevzuat gereklilikleri doğrultusunda fonksiyonel bir yardımcı madde olarak fulvik asidin araştırılması



Kattamanchi Gnananatha, Kalakonda Sri Nataraja, Matta Chandra Reddy, Kolli Prabhanjan Kumarb, Mater H. Mahnashic, , Ahmet Ömer , Zeenat Iqbalf, ,1, Mohd Aamir Mirzaf,

^A Farmasötik Analiz ve Kalite Güvencesi Departmanı , Shri Vishnu Eczacı İli Fakültesi, Vishnupur, Bhimavaram, Andhra Pradesh, 534202, Hindistan

^B Farmasötik Farmakognozi ve Fitokimya Bölümü, AUCollege of Pharmaceutical Sciences, Vishakhapatnam, Andhra Pradesh, 530003, Hindistan

^C Farmasötik Kimya Anabilim Dalı , Eczacı İli Fakültesi, Najran Üniversitesi, Najran, 11001, Suudi Arabistan d

^E Eczacı İli Bölümü, Prince Sattam Bin Abdul Aziz University, PO Box 173, Al-Kharj, 11942, Suudi Arabistan Kimya Bölümü, Fen ve

^F Sanat Fakültesi ve Gelecek vaat eden Sensörler ve Elektronik Cihazlar Merkezi (PCSED), Najran Üniversitesi, Najran, 11001 , Suudi Arabistan

^F Eczacı İli Bölümü, SPER, Jamia Hamdard, Yeni Delhi, 110062, Hindistan

MAKALE BİLGİSİ

anahtar kelimeler:

hüyük maddeler

yardımcı madde uyumluluğu

Farmasötik yardımcı madde

Toksikite çalışmaları

ekspiyen stabilitesi

Diyet takviyesi

SOYUT

Fulvik asit, Shilajit, Turba, çözülmüş organik maddeler, vb. gibi farklı doğal kaynaklardan ekstrakte edilen, genellikle bir jeopolimer olarak kabul edilen hüyük bir maddedir. Farmakolojik özellikleri ve farmasötik ekspiyenler olarak potansiyeli hakkında birkaç rapor vardır. Biz de fonksiyonel yardımcı madde olma iddiasını güçlendirecek bir proje geliştirdik. Söz konusu proje için, bir besin takviyesi ürününün (turba türevli Fulvik asidin sulu bir çözeltisi) liyofilize edilmiş numunesi kullanıldı. Seçilen çalışmalar, fiziko kimyasal özellikler, akış özellikleri, diğer yardımcı maddelerle uyumluluk ve stabilize çalışmaları , klinik olmayan güvenlik çalışmaları (farelerde akut toksisite, sıçanlarda ise sub-akut toksisite) ve bazı işlevsellik testleri gibi bir ekspiyen geliştirme için tipikti. Ayrıca doğal fitokimyasallarla ortak kristal oluşturma yeteneğini de öneriyoruz. Grubumuz, farklı BCS sınıfları II ilaçları için çözümlürlüğünü ve/veya biyoyararlanımını artırma yeteneğini zaten bildirmiştir. Bundan böyle, Fulvik asidin fonksiyonel bir ekspiyen olarak daha fazla keşfedilmesi için iyi bir aday olduğunu ve IPEC, USDA ve USP'nin geri kalan tavsiyelerine göre değerlendirilmesi gerektiğini önerebiliriz.

1. Giriş

Hüyük maddeler, hem karasal hem de denizel kaynaklardan elde edilen, mikrobiyal bozunma ile doğal olarak üretilen, doğada her yerde bulunan heterojen organik bileşiklerdir (Senesi, 2010). Günümüzde bunlar, radikal polimerizasyonlar, abiyotik oksidasyon ve diğer enzimatik teknikler yoluyla sentetik olarak da üretilmektedir (Kiprop ve diğerleri, 2013). Fulvik asit (FA) ve hüyük asit (HA) gibi hüyük maddeler tarımsal uygulamalardan biyotübbada kadar çeşitli alanlarda kullanılmış olması na rağmen (Peñaméendez ve ark., 2005), ne yazık ki farmasötik yardımcı madde olarak kullanılmış halen devam etmektedir. alışıcı aşaması . Nitekim herhangi bir yeni yardımcı madde, ancak ilaç geliştirme sürecinde karşılaşılan engelleri çözmeye potansiyeline sahip olduğunda dikkate alınmaktadır. şaşırtıcı bir şekilde, FA çözümlürlüğü artırma yeteneğine sahiptir (Mirza ve diğerleri, 2011).

yeni ilaç dağıtım sistemleri geliştirmek ve üretim sürecini iyileştirmek için bir fırsat yaratmak ve her şeyden önce FA benzeri, antioksidan aktivite (Rodriguez ve diğerleri, 2011; Visser, 1987), anti-inflamatuar aktivite gibi FA'nın farklı farmakolojik potansiyellerine dair yeterli kanıt vardır. (Chien ve diğerleri, 2015) ve bağırsak sağlığı için iyileştirilmesi (Winkler ve Ghosh, 2018), vb. Kaynaklara bağılı olarak, FA'nın kullanılmaları diyet takviyelerinden ilaç ürününe değerir. Aslında, FA, doğal kökenli olduğundan ve kanıtlanmış bir klinik güvenlik geçmişiyle küresel olarak bir ilaç veya besin takviyesi olarak kullanılmışından "Atipik Aktifler" olarak kabul edilebilir. Ayrıca, farmasötik bir ekspiyen olarak Fulvik asidin (FA) geliştirilmesindeki ihtiyaç ve kapsam, şekil 1'den anlaşılabilir.

Daha önce de belirtildiği gibi, halihazırda dünyanın farklı yerlerinde (ABD, AB, İngiltere, Kanada, Avustralya, ABD, AB, İngiltere, Kanada, Avustralya) farklı potansiyelleri olan farklı diyet formları nda (> 150 ürün) bir besin takviyesi olarak tüketilmektedir.

Sorumlu yazar.

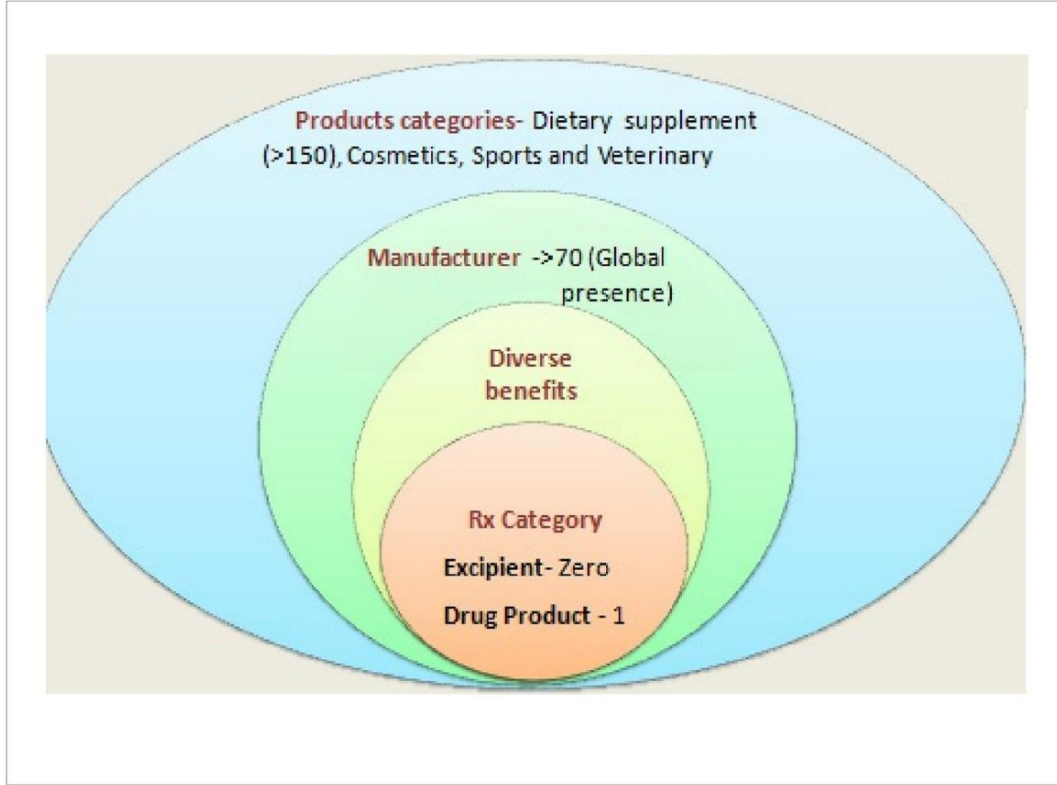
Sorumlu yazar. Eczacı İli Bölümü, Eczacı İli Eğitimi ve Araştırma Okulu, Jamia Hamdard, Yeni Delhi, 110062., Hindistan.

E-posta adresleri: ziqbaljh@yahoo.co.in (Z. İkbal), aamir_pharma@yahoo.com, aamir.mirza@jamiahamdard.ac.in (MA Mirza).

Not: Dr. ZeenatIqbal, sorumlu yazar olarak belirlenmelidir.

<https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109642> 19

Şubat 2020'de alınırdı; 13 Nisan 2020'de revize edilmiş haliyle alınırdı; 3 Mayıs 2020'de kabul edildi Çevrimiçi olarak 07 Mayıs 2020'de 0013-9351/ © 2020 Elsevier Inc. Tüm hakları saklıdır.



Şekil 1. İlaç endüstrisinde hümkik madde bazlı ürünlerin kapsamı. 70'den fazla üretici tarafından diyet takviyeleri, kozmetik, spor ve veterinerlik kategorilerinde 150'den fazla ürün bulunmaktadır. Aynı zamanda güvenlik profilini destekleyen bir ilaç ürünü olarak da araştırılmaktadır. Bir yardımcı madde olarak geliştirildiği düşünülürse, çok fazla veri gerekli olmamalıdır.

Güney Afrika ve Hong Kong). FA bazlı ürünler için de birkaç klinik çalışmaya yapılmıştır (Gandy ve diğerleri, 2011, 2012; Botes ve diğerleri, 2018). Öte yandan, farmasötik eksipiyen potansiyelinin araştırılması alanında şimdiye kadar yapılmış araştırmaları çoğu, BCS sınıfı II ve IV ilaçlar için FA'nın (Shilajit'ten elde edilen) çözünürlük/biyoyararlanım arttırma potansiyeli öncülüne dayanmaktadır (Mirza ve ark., 2011a, 2011b; Javed ve diğerleri, 2018), çünkü hidrofobik ilaçlarla inklüzyon kompleksleri (Cyclodextrin gibi) oluşturması gerekiyor. FA'nın asit tamponlama, mukoadhezyon ve değiştirilmiş ilaç salınım potansiyeline ilişkin bir rapor da vardır (Mirza ve diğerleri, 2016). Bu nedenle, onu ticari ilaç ürünlerinde işlevsel bir eksipiyen olarak keşfetmek için yeterli PoC (Kavram Kanıtı) vardır. Tablo 1'de listelenen ürünler, birkaç yararlı özellik iddia etmektedir.

Ancak bunun şimdiye kadar yapılmamasını birkaç nedeni olabilir:

1. Farmasötik yardımcı madde bazlı araştırmaları çoğunda, Shilajit, FA elde etmek için bir kaynak olarak kullanılmıştır. Ticari ilaç ürününde bu tür FA'nın araştırılması ndaki en büyük darboğaz, Shilajit'in yüksek maliyeti ve daha az bulunabilirliğidir.
2. Hümkik maddeler (H2S) veya Fulvik asit başa çıkılması kolay bir madde değildir. Bir numune tipik olarak bir dizi farklı boyutta molekül içerir. Kaynak değişikliği ile kimyasal bileşim ve yapılarında değişiklik şansını her zaman vardır. Moleküller, fonksiyonel grupları hem sayısal olarak hem de tipine göre ve ayrıca boyuta göre değişebilir. Hümkik maddelerin özel bir özelliği, pH ve iyonik güç gibi çözelti koşullarını bir fonksiyonu olarak konformasyonlarında ve agregasyon durumlarında kendiliğinden değişiklikler gösterme kapasitesidir (Mirza, 2018). Bir yardımcı maddenin kimyasal bileşimindeki herhangi bir değişikliğin, kimyasal bileşimdeki değişiklik ne kadar küçük olursa olsun, yeni bir yardımcı madde ürettiği varsayılabilir. Dolayısıyla bu, bir ilaç ürününün gelişim yolunun tamamen farklı bir seyirini tetikleyebilir. Ayrıca, bir yardımcı madde listelenmemişse yeni veya yenidir (bu FA için geçerlidir).

Ben. FDA Etkin Olmayan İçerik Veritabanı (<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.cfm>).

[fda.gov/scripts/cder/iig/index.cfm](https://www.fda.gov/scripts/cder/iig/index.cfm).

- ii. Üç ana derlemeden herhangi biri, ABD Farmakopisi (USPNF), Avrupa Farmakopisi (Ph. Eur.) veya Japon Farmakopisi (JP).
 - iii. "Handbook of Pharmaceutical Excipients" veya "Fiedler: Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Cosmetics and Bitişik Alanlar" gibi yaygın olarak bilinen diğer özetler (İlaç, kozmetik ve ilgili kullanımlar için eksipiyenlerin ansiklopedisi).
3. Bitmiş ürün imalatçısı, kimyasal ve fiziksel özelliklerde bir örnek malzemeler sağlamak için büyük ölçüde yardımcı madde imalatçısına bağımlıdır. Bu, özellikle pivotal, klinik deneme grubu ("bio-batch") ve ticari büyütmeye lotları arasında biyoeşdeğerlik (BE) karşılaştırılmalarıyla yapıldığı farmasötik ürün onay süreci bağlamında önemlidir. Bitmiş ürün performansını yeterli güvencesini sağlamak için ticari partileri üretmek için kullanılan eksipiyen, biyo-partilerde kullanılanlardan önemli ölçüde farklı olmamalıdır. Bu nedenle, farklı eksipiyen partileri arasındaki varyasyonu en aza indirmek önemlidir. Bununla birlikte, klinik ve ticari ilaç ürününü lotları arasında kullanılan yardımcı madde lotları arasında önemli farklılıklar meydana gelirse, ilaç ürününün BE'sini belirlemek için bitmiş ürün üreticisi tarafından ek testler gerekebilir.

Yukarıda belirtilen nüanslarla ilgilenmek aslında en azından hümkik-kimya, düzenleyici ve ürün geliştirme bilimcisi içeren fonksiyonlar arası işler. Aynı amaçla, farklı uzmanlıklara sahip bir ekip oluşturuldu ve bazı muammaları ele almak ve FA'yı fonksiyonel bir yardımcı madde olarak belirlemek için bir miktar veri oluşturmak için bir girişimde bulunuldu.

Mevzuat ve ürün geliştirme zorluklarıyla başa çıkma için, bu çalışmayı tasarlayan aşağıdaki adımları attık:

Tablo 1

Küresel pazarda bulunan birkaç hümkik madde (esas olarak FA) bazlı besin takviyesi koleksiyonu. Bu nedenle, düzenleyici tavsiyelere göre, halihazırda farklı ülkeler tarafından tüketildiği için güvenlik çalışmaları kısıtlıdır. FA dozu, farmasötik eksojen durumda hariç tuttuğumuz durumla karşılaştırıldığında, birkaç durumda çok daha yüksektir.

Oral dozaj formları	Ürün	Üretici firma	Maksimum Yetişkin Dozu (günlük)
1.	Miessencefulvik asitler	Miessence	5-10 ml (%3 FA), 150-200 kez seyreltilen 10 ml (15 mg) 1-3 ons (FA-887-2661 mg) suyla seyreltilmiş 30 ml
2.	iz mineraller	Mineralife	
3.	En İyi Fulvik	Toprak Ana	
4.	Nanonize Fulvik asit	Nano Sağlıklı Çözümleri	
5.	Fulvik kuvvet (Kömür tahrikli)	Fulvik kuvvet	16-32 ml (%15'e kadar FA) 20
6.	Fulhum	toprak su	floz (400 mg HA-FA kompleksi) 0,75 fl. Oz (1252 mg HA-FA kompleksi)
7.	Sıvı Konsantre		
8.	POPTOPS Mineral konsantresi		8 fl. ons (1252 mg HA-FA kompleksi)
9.	FulHum Bir Litrelük Cam şişe		Fulvik/Hümkik Sıvı konsantre- %1 5 ml (%2,7-5,7 FA) 1 ml (FA-250 mg) 0,5-1 ml suyla seyreltilmiş (%10-15 FA)
10.	Fulvik asit sıvı mineral takviyesi	Fulvic X hücre Ürünleri Ltd.	
11.	iyonik fulvik asit	İz Mineral Araştırması	
12.	Fulvonik mineraller	elisa	
13.	Saf fulvik mineraller	Saf fulvik mineraller	Yetişkin-7-10 damla (%10-18 FA) 0,5 ml-1,0 ml/gün (%1-5 FA) ¼ fl. oz (%6,3 FA)
14.	MLG-A50™	Maden mantığı	
15.	Sıvı mineral desteği	Alfa Sağlıklı Desteği	1 fl.oz (18,75 mg Fulvic Bio kütle) Günde
16.	Fulvik mineral kompleksi	Hayati Toprak Mineralleri	1 ons (FA- 14,04 mg) 7 damla su, %21 FA 1 fl.oz (FA-2,7 g) 1 fl.oz (FA-1,2 g) 1 fl.oz (FA-2,7 g) 0,5 ons (%0,663 FA) 3-10 damla (%3 FA) Günde 2-3 kez 15 damla (%60 FA), günde 4-5 kez 2,5 ml (%60 FA), günde 2 defa 10 ml içerik (FA- 480 mg) 2 kapsül (FA-900 mg) 30 ml (FA-100 mg) 15 ml (FA-50 mg) 15 ml (FA-50 mg) 1/4 çay kaşığı Şilajit içinde günde 1 kapsül (FA- 500 mg) 2 kapsül (FA-40 mg) 2 kaplet (FA-100 mg) 2 tablet (FA-460 mg) 2 kapsül (FA-70 mg)
17.	Mineral Karışımlı Fulvik-Hümkik		
18.	Fulvik asit mineralleri	Kadim Saflıklı	
19.	intraMIN®	Yazıcı Laboratuvarları	
20.	intraKID®		
21.	intraMAX®		
22.	Wujinsan Fulvik Asit	Mana yaşam laboratuvarı (BioAg Corp'un bir bölümü)	
23.	Fulvik Asit Konsantresi	Humalife	
24.	Saf Konsantre Fulvik Asit	ISNatura	
25.	Saflaştırılmış Fulvik Asit Ekstra Set		
26.	HUMINIQUUM şurubu	Hymato	
27.	Metal-X-Synergy™ kapsülü	Sağlıklı İçin Tasarımlar	
28.	Sıvı Çoklu Vitamin Ve Mineral	Yeni Güneş®	
29.	Sıvı Çoklu	şİMDİ®	
30.	OrthoLiquid Çoklu	Yaşam Dengesi Protokolü	
31.	Fulvik Asit tozu	Biyosil	
32.	Fulvik asit Kapakları		
33.	çok kıvrımlı k	Irwin Doğalları	
34.	HDM™'yi test edin	Kas Teknolojisi™	
35.	Ortak DX	Doğal Dinamik Karışımlar	
36.	Gençleştirin™	Hasta Bir MediNutritionals™	

1. Turba dünya çapında bol miktarda bulunur ve Shilajit'ten nispeten daha ucuz FA kaynağıdır. Bu nedenle, turba türevli FA uygun bir alternatif olarak seçilmiştir.

2. Tablo 1'de belirtilen ürün listesinde, turbadan elde edilen birkaç besin takviyesi ürünü bulunmaktadır. Ayrıca, farklı ürünlerde tüketilen FA miktarı değişkendir ve birçok durumda çok yüksektir. Bu nedenle, FA halihazırda tüketildiği için (farklı yarıllarda bile) tam bir güvenlik çalışmaları dizisi yürütmek gerekli değildir.

3. Grubumuz yakınlıkta, turbadan (bu projede kullanılanlarla tamamen aynı kaynak) elde edilen FA'nın biyoyararlanımını artırma potansiyelinin, daha önce Shilajit türevli FA ile daha önce rapor edilen aynı ilaçlarla değerlendirildiği başka bir projeyi bitirmiştir. Böylece, kaynağı değiştirdikten (Shilajit'ten Peat'e) ve iki farklı kaynaklı veri setini birleştirdikten sonra turbadan türetilen FA'nın potansiyelini doğrulamak

ANCAK

Bu nedenle, FA'nın fizikokimyasal, mikrobiyal sayısal, fonksiyonel özellikleri ve diğer eksojenlerle uyumluluğunun yanı sıra toksikolojik profilini incelemeye değer görüldü. Bu projede, işlevselliğini daha fazla araştırmak için MTT tahlilini kullanarak sitotoksitesiyi de inceledik.

2. Materyaller ve metodoloji

2.1. Malzemeler

Turba kaynaklı FA, bedelsiz olarak NZFulvic Ltd'den (Mount Maunganui, Yeni Zelanda) temin edildi. Numune, küresel pazarda bulunan ve sulu bir FA çözeltisi olduğunu iddia edilen diyet takviyesinin (ticari bir ürün) liyofilize edilmesinden sonra elde edildi.

Yazarlar, turbadan FA'nın ekstraksiyon işlemi hakkında açık klanmadı, genel olarak asit-baz ekstraksiyon yöntemine dayanıyordu. Çalışmada kullanılan diğer tüm kimyasallar ve reaktifler ARS'nin fiyandıydı.

2.2. Fiziko-kimyasal değerlendirme

FA'nın çözünürlük, pH, toz akışı özellikleri aşağıdaki gibi değerlendirildi: farmakope tavsiyesi (Hint farmakopesi 2007).

A. çözünürlük

Suda ve benim gibi farklı solventlerde çözünürlük çalışması yapıldı. Etanol, etanol, aseton ve eter.

B. pH tayini

%1 w/v sulu FA çözeltisinin pH'ı, oda sıcaklığında kalibre edilmiş pH metre (M/s. Systronics, Model No: 361) ile belirlendi.

K. Gnananath ve ark.

Çevresel Araştırma 187 (2020) 109642

ısı sıcaklığı 25-27 °C.

C. Toz akı özellikleri

Yığılma yoğunluğu, Sıvı akış hızı, Carr indeksi (I) gibi akı özellikleri Hausner oranı (H) ve yatma açısı değerlendirildi (Shishir ve diğerleri, 2014).

2.3. FA'nın farklı analitik teknikler kullanılarak karakterizasyonu

2.3.1. Atomik kuvvet mikroskopik çalışmaları (AFM)

AFM çalışmaları nda; FA, aseton içinde dağıtıldı, ardından 50 °C'de 30 dakika sonikasyon yapıldı. Daha sonra küçük bir damla koloidal çözelti cam üzerinde geliştirildi ve kurumaya bırakıldı, daha sonra park sistemleri XE7 atomik kuvvet mikroskopu altı nda incelendi.

2.3.2. Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopik çalışmaları (FTIR)

FA tozunun IR spektral analizi ve diğer ekspiyantlarla FA uyumluluğu, potasyum bromür kullanılarak pres pelet tekniği kullanılarak yapıldı. IR spektrumu 4000 ile 400 cm⁻¹ arası ndaki bölgede ALPHA Bruker, IR spektrometre (Eco-ATR) kullanılarak kaydedildi.

2.3.3. Diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC)

Saf FA'nın termal özellikleri ve diğer yardımcı maddelerle FA uyumluluğu, diferansiyel taramalı kalorimetre (Model: Q20, TA Instruments, Inc., New Castle, DE, ABD) kullanılarak karakterize edildi. Sıvı tarama alüminyum kaplarda doğru şekilde tartılan numuneler (5 mg), 10 °C/dk hızıyla 30 °C ile 400 °C arası nda tek bir tarama döngüsüne tabi tutuldu.

Cihaz indiyum kullanılarak kalibre edildi. Örneklerin termal analizinden elde edilen veriler, yazılım (Universal Analysis, V.4.5A, build 4.5.0.5, TA Instruments, Inc., New Castle, DE, ABD) kullanılarak analiz edildi.

2.3.4. Toz X-ışını difraktometrisi (XRD)

FA ve diğer ekspiyantlarla FA uyumluluğunun Toz X-ışını kırınımı (XRD) çalışmaları, Ni filtreli Cu-K(α) radyasyonu kullanılarak Rigaku X-ışını difraktometre (D/MAX-B) ile yapıldı; 40 kV ve 30 mA akımı. Alıncı yarıgen genişliği 0,3 mm'dir.

Numune 2θ aralığında 10–90°, tarama hızı 4,0°/dk, tarama adımları ve tarama süresi sırasıyla 0,020° ve 0,3 s üzerinden analiz edildi.

XRD tekniği tahribatsız bir yapıya sahiptir ve bu nedenle numune daha fazla analitik doğrulama için kullanılabilir. Bununla birlikte, X-ışını kırınımı, katı formülasyonların polimorfizmi, kristallik derecesi ve amorf karakteri hakkında değerli bilgiler sağlar. Başka bir deyişle, herhangi bir fiziksel karışım arasındaki uyumluluğu değerlendirmek için ideal bir parmak izi alma tekniğidir.

2.3.5. Taramalı elektron mikroskopik çalışmalar (SEM)

FA tozunun morfolojik özellikleri, taramalı elektron mikroskopu (JEOL JSM-6360, Japonya) ile karakterize edildi. Kurutulmuş bir FA numunesi, bir elektron mikroskopu piriñç saplaması üzerine yerleştirildi ve bir iyon püskürtücüsünde altınlanarak kaplandı. FA'nın dijital görüntüleri, saplamadan 100, 300 ve 500 X büyütme oranları nda rastgele taranmasıyla alınmıştır.

2.3.6. SEM-EDX ile element analizi FA örneğinin

element analizi, taramalı elektron mikroskopu SEM-EDX (JEOL JSM-6360, Japonya) kullanılarak yapıldı. Numune, numunedeki bulunan elementlerin karakteristiği olan bir X-ışını üreten birincil enerjileri 10-20 keV olan bir elektron ışınına tabi tutuldu. SEM-EDX, tespit edilen her bir elementin tepe noktaları nın tespit edilmesini ve atomik yüzdesinin hesaplanması nı sağlayan otomatik tanımlama yazılımı ile donatılmıştır.

2.4. Diğer yardımcı maddelerle uyumluluk çalışması

Farklı yardımcı maddelerle birlikte FA, şeffaf cam şişelerde kapatıldı (1:1

w/w), nem koşullarına maruz kalmayı kolaylaştırmak için delinmiştir.

Bunlar daha sonra 1 ay boyunca stabilite bölmelerine (40 ± 2 °C/75 ± %5 RH) dolduruldu. Şişeler, görünümdeki herhangi bir değişikliği gözlemlemek için periyodik olarak incelendi. Son olarak 1 ay sonra FTIR, DSC ve XRD analizleri yukarıda belirtildiği gibi kimyasal ve fiziksel değişimlerin gözlemlenmesi için yapılmıştır (Balestrieri ve diğerleri, 1996; Stulzer ve diğerleri, 2008).

2.5. Stabilite çalışmaları

Stabilite çalışmaları, ICH kılavuzları nın (ICH Q1A R2) Zone IVb tavsiyelerine göre gerçekleştirilmiştir (uzun süreli - 25 ± 2 °C/60 ± %5 RH ve hızlı zlandı rılması - 40 ± 2 °C/75 ± %5 RH). Numuneler, yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE) şişelerde güvenli bir şekilde paketlenmiş ve stabilite bölmelerinde (M/s. Remi Instruments Ltd, Mumbai, Hindistan) tutuldu. ICH stabilite yönergelerine göre FA hızlı zlandı rılması çalışmalarına tabi tutuldu ve düzenli aralıklarla (0, 1, 2, 3 ve 6 ay) görünüm, pH, nem içeriği, FTIR ve DSC açısı ndan analiz edildi.

2.6. Mikrobiyal sayım çalışmaları

Toplam aerobik sayım, mantar sayımı ve patojenik mikroorganizmalar için Indian Pharmacopoeia 2000 baskısı nda belirtildiği gibi mikrobiyal sayım yapıldı. Numunedeki canlı bakteri ve mantar hücrelerinin sayısını tahmin etmek için kullanılan plaka sayımı yöntemi. Kullanılan ortamlar sırasıyla bakteri ve mantarlar için sterilize edilmiş sıvı laştırılmış agar ve patates dekstroz agar ortamıydı. Her sıvı laştırılmış steril agar ortamına 1 g/mL FA çözümü yerleştirildi ve ortam Petri plakası na dökülerek katı laşmaya bırakıldı. Plakalar 5-10 °C'de 1 saat tutuldu ve 37 °C'de 18 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresinden sonra her plakada oluşan bakteri kolonilerinin sayısını sayıldı. Patates dekstroz agar besiyeri kullanılarak benzer prosedürde mantar sayısını belirlendi ve plakalar oda sıcaklığında (20-25 °C) 5 gün süreyle inkübe edildi. FA'da patojenik mikroorganizmaları n varlığı, mannitol tuzlu agar ortamı (Staphylococcus aureus), setrimid agar (Pseudomonas aeruginosa), MacConkey agar ortamı (Escherichia coli) ve deoksikolat sitrat agar ortamı (Salmonella sp.) gibi spesifik bireysel ortamlar kullanılarak tahmin edilmiştir.

2.7. Toksikite çalışmaları

2.7.1. Akut toksisite çalışmaları

FA'nın akut oral toksisite çalışması, OECD yönergeleri 423'e göre gerçekleştirilmiştir. Akut toksisite, adımlı başlangıçta üç tek cinsiyetli hayvanın (dişi fare) kullanıldığı aşamalı bir prosedürdür. Üç hayvan da doz uygulamadan önce aç bırakıldı. Açlık periyodunun ardından hayvanlar tartıldı ve FA tek doz yani 300 mg/kg ve ardından 2000 mg/kg oral sondalar halinde uygulandı ve ilk 30 dakika boyunca herhangi bir toksisite belirtisi açısı ndan, ilk 24 dakika boyunca periyodik olarak gözlemlendi. saat, ilk 4 saat ve sonrasında her gün olmak üzere toplam 14 gün özel ilgi gösterildi. Çalışma, kurumsal hayvan etik komitesi IAEC Ref NO 12/IAEC/SVCP/2018-19 tarafından onaylandı.

2.7.2. 28 günlük subakut toksik çalışmalar FA

ile ilgili subakut oral toksisite çalışmaları, kemirgenlerde OECD yönergeleri 407, tekrarlanan doz 28 günlük oral toksisite çalışması na göre gerçekleştirilmiştir (Okazaki ve diğerleri, 2001). 1000 mg/kg'lık tek doz seçilmiş, 10'ar hayvandan oluşan 2 grup (beş erkek ve beş dişi sıçan) alınmıştır.

Çalışma boyunca hayvanlar her gün herhangi bir toksisite belirtisi açısı ndan yakından gözlemlendi. Hayvanlara 28 günlük bir süre boyunca günlük olarak FA verildi. Akut toksisite çalışmaları na oldukça benzer şekilde, toksik etkiler, çalışma süresi boyunca her türlü klinik belirti ve semptom, vücut ağırlığı ndaki değişiklikler, gıda tüketimi, hematolojik parametreler ve organ ağırlıkları gibi izlendi. Son olarak hayvanlar sakrifiye edildi ve histopatolojik incelemeleri yapıldı. Taşıt kontrol grubundan ve tedavi grubundan tüm hayvanlara karbondioksitle boğulma ve ardından kan kaybıyla özenli uygulandı. otopsi

ötenazi uygulanan tüm hayvanlar üzerinde gerçekleştirilmiş ve brüt ve histopatolojik incelemeye tabi tutulmuştur. Ayrıca tüm hayvanlardan Karaciğerler, böbrekler ve Akciğerler toplandı ve %10 nötr tamponlu formalinde saklandı. Dokular kırıldı, işlendi ve parafin bloklara gömüldü, 3-5 µm'de kesildi ve hematoxilen ve eozin ile boyandı. Bu hayvanlara ait histopatoloji slaytları mikroskopik olarak değerlendirildi.

2.7.3. MTT tahlili

MTT tahlilinde, HEK 293 seçildi ve 100 ml ortam içinde 5.0 x 10⁴ hücre/göz oranında 96 oyuklu plakalara ekildi. Hücreler inkübe edildi (37 °C, %5 CO₂ gece boyunca kuyulara bağlanmaları na izin verildi. Bu inkübasyondan sonra, kültürlenen hücreler iki kez PBS ile yıkandı, ortamda çözünmüş FA ilave edilerek nihai konsantrasyonlar 5–300 µg/ml (5, 50, 100, 150, 200, 250, 300 µg/ml) üç kopya halinde Hücreler 24 saat inkübe edildi ve ardından her bir oyuğa 15 µL 0.5 mg/ml MTT solüsyonu eklendi. Hücreler

3 saat daha 37 °C'de kübe edildi ve absorbans, bir absorbans plakası okuyucusu üzerinde her oyuk için OD 570 nm'de ölçüldü. Kör DMSO, numune renginin neden olduğu absorbansı ve hücrelerin yokluğunda bir numunenin doğal MTT'yi azaltma kabiliyetini düzeltmek için aynı anda hazırlandı. İşlenmemiş kontrol hücreleri tarafından üretilen formazanın optik yoğunluğunun, bilite yoluyla %100'ü temsil ettiği kabul edilir (Riss ve Moravec, 2004).

2.8. Ko-kristallerin oluşumu

Ko kristal, çözelti yöntemleri yani kullanılarak hazırlandı. 1:1 ağırlıklı ko oranında FA (ko-former) ve istenen fitokimyasalın su: metanol: aseton (1:0.5:0.5) içinde birlikte çözündüğü ve çözeltinin hacim azalana kadar kaynatmaya devam edilerek konsantrasyon edildiği çözelti kristalleştirme tekniği yardımıyla indirildi ve son olarak çözelti, açık bir beher içinde kristalleşmesi için iğdüşel olarak oda sıcaklığına soğumaya bırakıldı. Mikrokristalimsi malzeme elde etmek için çözününün buharlaştırılması için birkaç gün gerekiyordu (Namjesnik-Dejanovic ve Maurice, 1997).

3. Sonuçlar ve tartışma

3.1. Fiziko-kimyasal değerlendirme

Çözünürlük çalışmaları nda, FA'nın tüm pH'larda suda serbestçe çözündüğü bulunmuştur. pH, farklı çözücülerdeki çözünürlük ve akış özellikleri verileri Tablo 2'de gösterilmiştir. Akış kabiliyetinin, etkisi kapsamlı olmayan kritik bir parametre olduğu açıktır. Üretim seviyesi değil, aynı zamanda formülasyon süreci boyunca zararlı sonuçları vardır. Herhangi bir başarılı formülasyon için, partikül boyutu dağılımı ve koloidal stabilite hakkında farkındalık sahibi olunmalıdır. Herhangi bir parçacığı hareketliliği, boyutundan yoğun bir şekilde etkilenir. SEM gözlemlerimizde, verilen FA örneğinin boyutunun partikül boyutu aralığına 2,3–6,23 mikrometre olduğunu fark etmemiş olsak da, bunlar topak biçiminde olsalar da

Tablo 2

FA numunesinin fiziko-kimyasal değerlendirmesinin sonuçları. Sonuçlar literatür raporları ile senkronize edilir. Veriler, farmasötik ekspanyon olarak iddiasını desteklemektedir.

S. No	parametreler	Sonuçlar
1.	çözünürlük	Tüm pH'larda suda serbestçe çözünür Aseton- Az çözünür Metanol- Çok az çözünür Etanol- Çok az çözünür Eter- Çözünmez
2.	pH	5,8
3.	Akış özellikleri	Kütle yoğunluğu- 0,85g/cc Sıvı kıvrılabilirlik indeksi (I)-15% Hausner oranı - 1,7
		Yatma açısı -36°

köşeli ila alt köşeli şekiller orta ila yüksek küresellik sergileyebilir. İyi Carr indeksi, Hausner's oranı ve iyi bir akış kabiliyetine işaret eden kabul edilebilir yatma açısı nın nedeni bu olabilir.

3.2. FA'nın farklı analitik teknikler kullanılarak karakterizasyonu

3.2.1. Atomik kuvvet mikroskopik

çalışmaları Normalde AFM, parçacık morfolojisi hakkında değerli bilgileri daha yüksek çözünürlükle gösterebilir. Ek olarak, üç boyutlu yüzey çizimleri sağlayabilir. AFM gözlemimizde FA, kum yığımları gibi düzensiz şekillere sahip yassı parçacıklar olarak ortaya çıktı. FA yüksekliği 34 nm ila 59 nm aralığındaydı; genişlik ise 214–385 nm aralığındaydı (Şekil 2 A). Parçacık yüzeylerinde, yüzeyin düzensiz doğasını gösteren ve çeşitli bileşenlerden oluşan koyu noktalar sergiledi. Benzer gözlemler başka bir grup tarafından da fark edilmiştir (Namjesnik-Dejanovic ve Maurice, 1997).

3.2.2. Fourier, kızılötesi spektroskopik çalışmaları dönüşür

FA'nın FTIR spektrumu, Şekil 2B'de gösterilmiştir. Alkolik hidroksiller, aromatik ve alifatik karboksiller ve karboniller, alifatik C-H ve amidler gibi literatüre uygun fonksiyonel grupları nı varlığını gösterir (Francioso ve diğerleri, 1998). Gözlemimizde FA, 3427.63 cm⁻¹'de geniş bir bant göstermiştir; bu, fenol ve alkolden hidroksil grupları nın O-H gerilmesine ve/veya karboksilik gruplardan olanlara ve ayrıca amid ve amin N-H gerilmesine karşılık gelir. Ayrıca, metil (-CH₃) veya aromatik CH -gerilmesinin asimetrik C-H gerilmesine bağlı olarak 2920.43 cm⁻¹'de bir tepe görülebilir (Silverstein ve diğerleri, 1991). 1645.31 nitelik cm⁻¹'deki geniş bir bant, karboksilik asidin karbonil gerilmesine veya NH bükülmesine atfedilir.

1094,92 cm⁻¹'de C-O gerilmesine karşılık gelen bir bant fark edildi.

3.2.3. Diferansiyel tarama kalorimetrisi

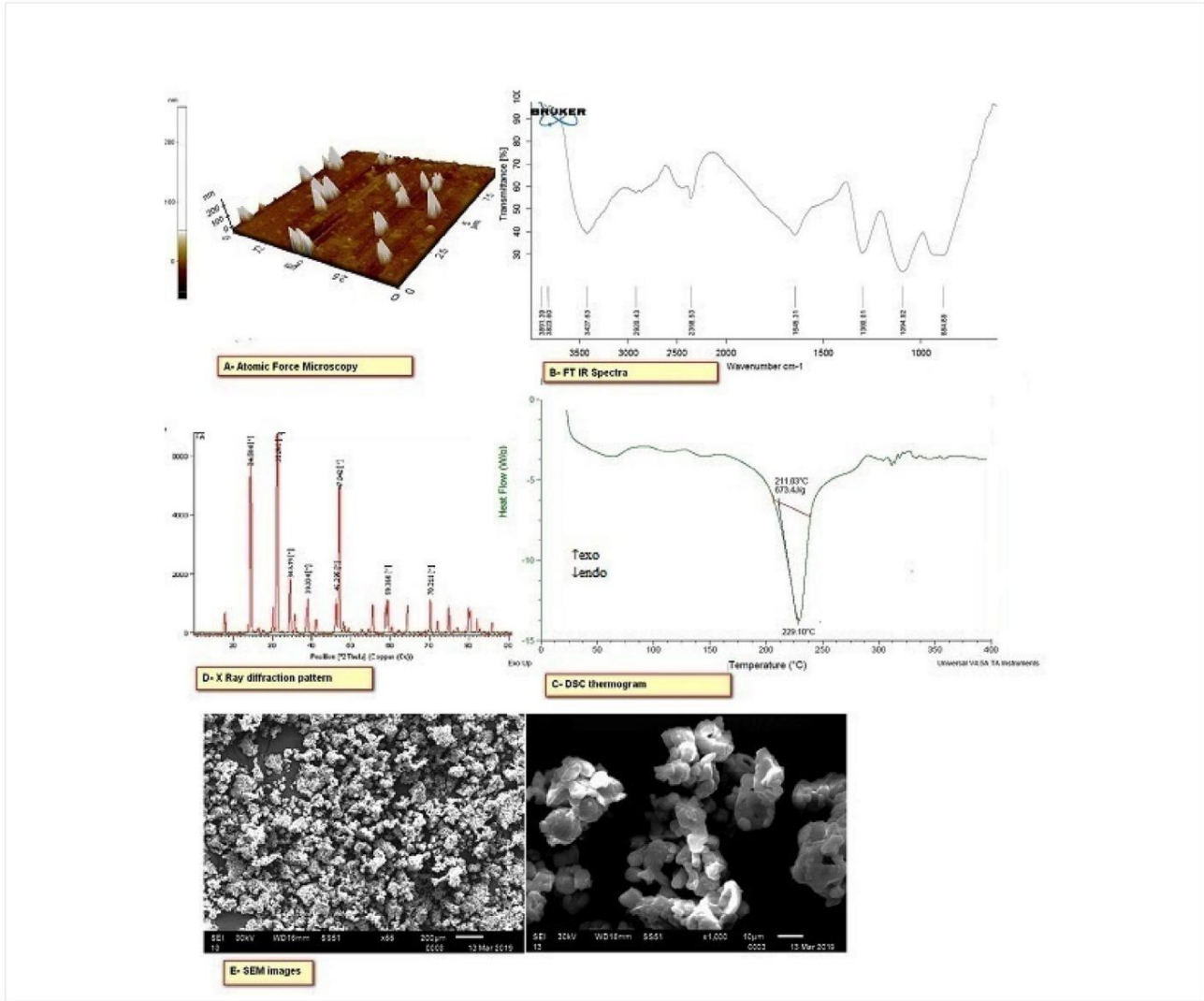
FA'nın DSC termogramı (Şekil 2 C), başlangıçta 60 °C'de küçük bir eğri (grafikte yorumlanmamıştır) iki endotermik tepelere sergilemiştir (grafikte yorumlanmamıştır), eklenen suyun buharlaşması na veya FA'ya adsorbe edilmesine karşılık gelir (Kucerik ve ark., 2012). Daha sonra, 229 °C'de geniş bir endoterm, basit ve kararsız organik yapıları nı ayrışması na bağlanabilir. Daha önceki bir rapor, FA'nın sabit ve keskin bir erime noktasına sahip olmadığını öne sürüyor (Mirza ve diğerleri, 2016). Bununla birlikte, hümkik maddelerin kaynağı na bağlı olarak termal davranış farklılık gösterebilir (Provenzano ve diğerleri, 2000).

3.2.4. Toz X-ışını difraktometrisi

Genel olarak, doğal kaynaklı FA'nın kırılma modeli amorf bir yapı sergilemiştir (Mirza ve diğerleri, 2011a,b, 2016). Mevcut gözlemimizde, FA'nın difraktogramı 2θ pozisyonunda sırasıyla 24.50, 31.36, 34.67, 39.03, 46.29, 59.36 ve 70.21 olmak üzere ince ve iyi tanımlanmış yedi tepe noktası sergilemiştir (Şekil 2 D). Kristalin tepe noktalarını nı nardaki nedene göre, hümden türetilen inorganik kıvrımları nı nardaki kaynakları yor olabilir (3.6 ve 3.7'de tartışıldı gibi). Ayrıca, kum temel olarak SiO₂'den oluşur, ince pikler söz konusu oksitten kaynakları yor olabilir.

3.2.5. Taramalı elektron mikroskopik

çalışmalar SEM, katı fazın homojenliğini kanıtlamak için kullanılabılır. FA, toprak, ekstraksiyon yöntemi ve pH gibi faktörlerden etkilenen SEM analizi ile farklı oluşumları sergileyebilir (Tan, 1985). Ayrıca, özellikle dondurularak kurutulmuş numune, altı tip oluşum yapı sergileyebilir, örneğin, lifli, liflerle bağlanmış sferoidler, liflerle dokunmuş saclar, delikli saclar, kanatlı ve parçalanmış saclar (Chen ve Schnitzer, 1976). SEM analizinde pH'ı değiştirmenin hümkik ve FA partiküllerinin şekli, boyutu ve topaklanma derecesi üzerindeki etkisini araştırdılar. SEM gözlemlerimizde, fibröz yapı nı nı yassı şekle (açık/altaçık/altaçık) varlığını ortaya çıkardı (Şekil 2 E).



Şekil 2. Fulvik asit numunesinin (A) Atomik Kuvvet Mikroskobu, (B) FT IR Spektroskopisi, (C) Diferansiyel tarama kalorimetrisi, (D) gibi farklı enstrümental değerlendirmesi X-Işını kırınımları, (E) Taramalı elektron mikroskopu. Analiz sonuçları önceki literatür raporları ile neredeyse uyumludur.

3.2.6. SEM-EDX ile element analizi FA'nın

element bileşimi üç farklı bölgede incelendi ve ek tarih Tablo S1'de verildi. SiO₂ partiküllerinin varlığını gösteren O, C, Al, Si, Cl, K, Au, Ca, Pd'nin varlığını gösterir, bu nedenle üreticiye DAX reçinesi ile daha fazla saflaştırma önerilir.

3.3. Diğer yardımcı maddelerle uyumluluk çalışmaları

Farklı bileşenler arasında etkileşimler ortaya çıkabilir ve yardımcı maddeler arasında ve yardımcı maddeler ile API arasındaki uyumluluk çalışmaları için ICH Rehberi tarafından şiddetle tavsiye edilir. FA, belirli API'lerle (Mirza ve diğerleri, 2011, 2016, Mirza, 2018) içerme kompleksi oluşturma yeteneğine sahiptir, bu nedenle fiziksel bir etkileşim türü oluşturduğu açıktır ve

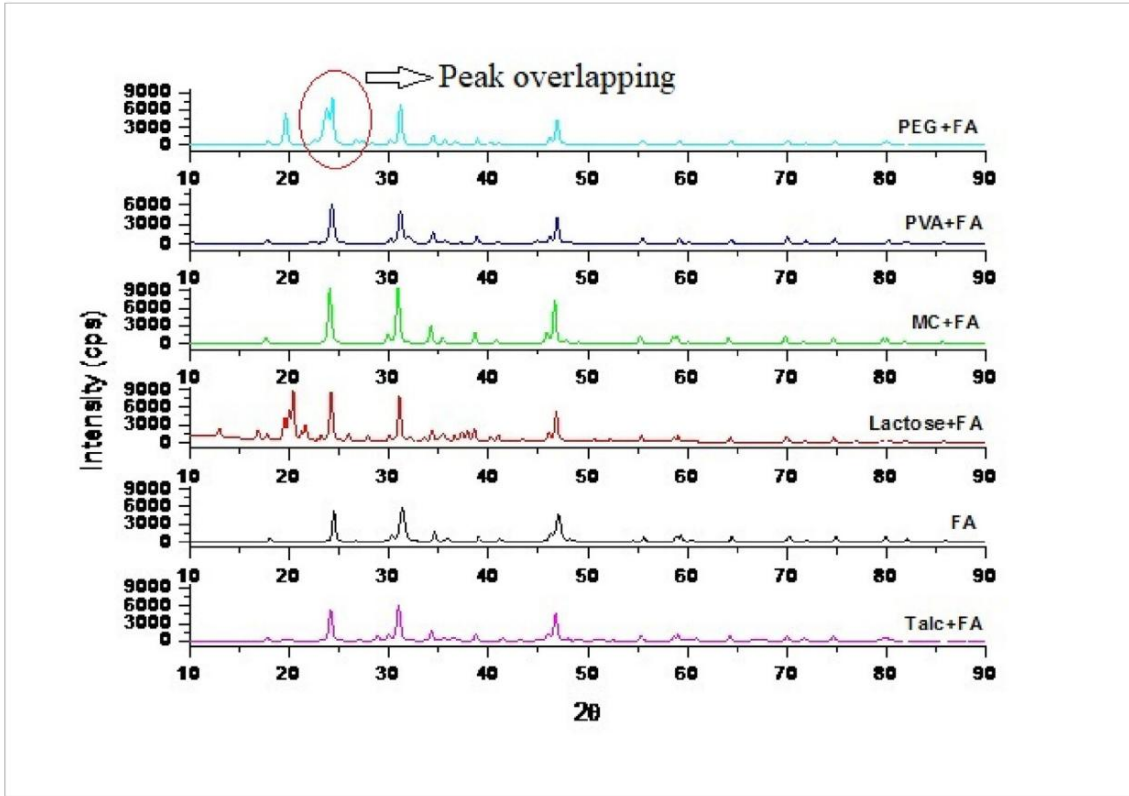
aktif maddelerin çözünürlüğünü/çözünmesini artırır ve sonuçta gelişmiş biyoyararlanımla sonuçlanan. Ancak yaygın olarak kullanılan diğer yardımcı maddelerle etkileşimi şimdiye kadar incelenmemiştir. Bu nedenle FA'nın sakkaritler (laktöz ve nişasta), Polivinil Pirolidon (PVP) ve Selülozlar (metil selüloz -MC), PEG ve FT-IR, DSC, XRD gibi Talking teknikleri/yöntemleri gibi diğer ekspiyanlarla uyumluluk çalışmaları yapıldı.

FTIR, fiziksel karışımdaki değişikliklerin değerlendirilmesi için basit bir tekniktir. Genel olarak, bu titreşim değişiklikleri, incelenen ekspiyanlar arasındaki potansiyel moleküller arasındaki etkileşimlerin sondası olarak hizmet edebilir (Hartauer ve Guillory, 1991). Gözlemlerimizde FA, CH esnemesi, -OH esnemesi, karbonil esnemesi ve C-O-C esneme titreşimi gibi karşılaşılan bölgelerindeki tüm karakteristik tepe noktalarını aynı şekilde korumuştur ve hiçbir fiziksel veya kimyasal uyumsuzluk yoktur.

Tablo 3

FT IR spektroskopik analizi ve diğer FA-ekspiyan karışımı ile karşılaştırıldığında Saf FA'nın Tepe Dalga Sayıları (cm⁻¹).

Atama	ANCAK	FA + PEG	FA + PVA	FA + ÇK	FA + Laktöz	FA + talk
OH esneme	3427.63	3456.68	3428.43	3425.96	3433.77	3394.46
C-H germe	2920.43	2877.12	2915.34	2928.01	2903.54	2865.55
NH bükme	1645.31	1643.34	1651.47	1643.15	1657.88	1638.74
C-O esneme	1094.92	1113.69	1090.01	1081.99	1021.40	1060.98



Şekil 3. Diğer ekşiyanlarla (FA'ya göre) uyumluluk çalışmaları için sonuçları için XRD üst üste bindirilmiş görüntüsü, PEG ile bir tepe çakışması fark edildiği durumlarda, uyumluluğunu kanıtlamak için daha fazla araştırma gerektirir. Numuneler protokole göre 30 gün süreyle saklandı ve daha sonra analiz edildi.

tepe konumları ve bunların nispi yoğunlukları, herhangi bir değişiklik olmasa bile FTIR spektrumları, değişikliklere yol açabileceği gözlemlendi (Tablo 3). Ancak laktoz gibi karbonhidrat kaynaklı yardımcı maddelerde metil selüloz karbonil grubunun FTIR değerlerinde 80–100 cm⁻¹ sapma göstermiştir. Fonksiyonel gruplara sahip yardımcı maddelerin fiziksel karışımların, fiziksel etkileşim nedeniyle olabilir. Fiziksel bir etkileşimdir ve fiziksel uyumsuzluk olarak değerlendirilmemelidir. Bununla birlikte, spektrumlarda üst üste binen piklerin varlığı, genel analizi engelleyebilir.

Toz X-ışını kırınımı (XRD) analizi, sıkıştırılabilirlik, ıslak granülasyon vb. proseslerde oluşabilecek uyumsuzluklarda yardımcı olur (Stulzer ve diğerleri, 2008). Çalışmamızda, diğer yardımcı maddelerle birlikte FA'nın XRD paterni analiz edildi ve çizildi (Şekil 3). FA'nın XRD kırınım paterni, ilgili fiziksel karışımda FA'nın piklerinde yoğunluk ve keskinlikte büyük farklılıklar olmamasına ve PEG durumu dışı, hemen hemen benzer pik paterni muhafaza edilmesine rağmen, incelenen tüm ekşiyan karışımları arasında ayrıntılı olarak tüm piklerini sergilemiştir. FA paterni üzerinde 24.50°'de PEG'nin bir üst üste binme etkisi veya zirve kaybı gözlemlendi, bu da bunun FA ile etkileşimini gösteriyor.

Uyumluluk tarama çalışmaları, termal analiz de çok önemli bir rol oynar ve fizikokimyasal uyumsuzluğun hızlı bir şekilde değerlendirilmesi için sıkı kullanılır. Son birkaç on yılda, DSC genellikle uyumluluk çalışmaları için tarama yapmak için başlıca termal analitik teknik olarak kabul edilir. Bununla birlikte, analiz için daha az numune ve daha kısa süre gerektirir. Genellikle bu teknikle saf bileşenlerin DSC termogramı, 1:1 fiziksel karışımlardan elde edilen termogramı, 1:1 fiziksel karışımlardan elde edilen termogramı, entalpi değişimi, vb.) korunursa, bileşenlerin uyumlu olduğu varsayılır. Bir eğrinin görünmemesi, bileşenlerin erime noktaları, önemli bir kayma veya fiziksel karışımda karşılaştıkları gelen reaksiyon entalpilerinde yeni bir ekzo/endotermik tepe noktası ve/veya saptanmasıyla ilişkilendirilebilir.

uyumsuzluğu belirtir (Balestrieri ve diğerleri, 1996). Bununla birlikte, karışım geometrisindeki olası farklılıklar nedeniyle pik şekli, yüksekliği ve genişliğinde hafif değişiklikler beklenmektedir. Mevcut çalışmada, diğer ekşiyanlarla birlikte FA'nın DSC termogramları Şekil 4'te gösterilmiştir. Ekşiyanlardaki karakteristik FA endotermik pikleri, kaybolduğu ve beklenmeyen bir ekzoendotermik pik oluşturduğu PEG haricinde mevcuttu. Bunun nedeni, PEG'de depolama sırasındaki birikebilen ve stabiliteyi etkileyebilen peroksit içeriğinin varlığı olabilir (Visser, 1987).

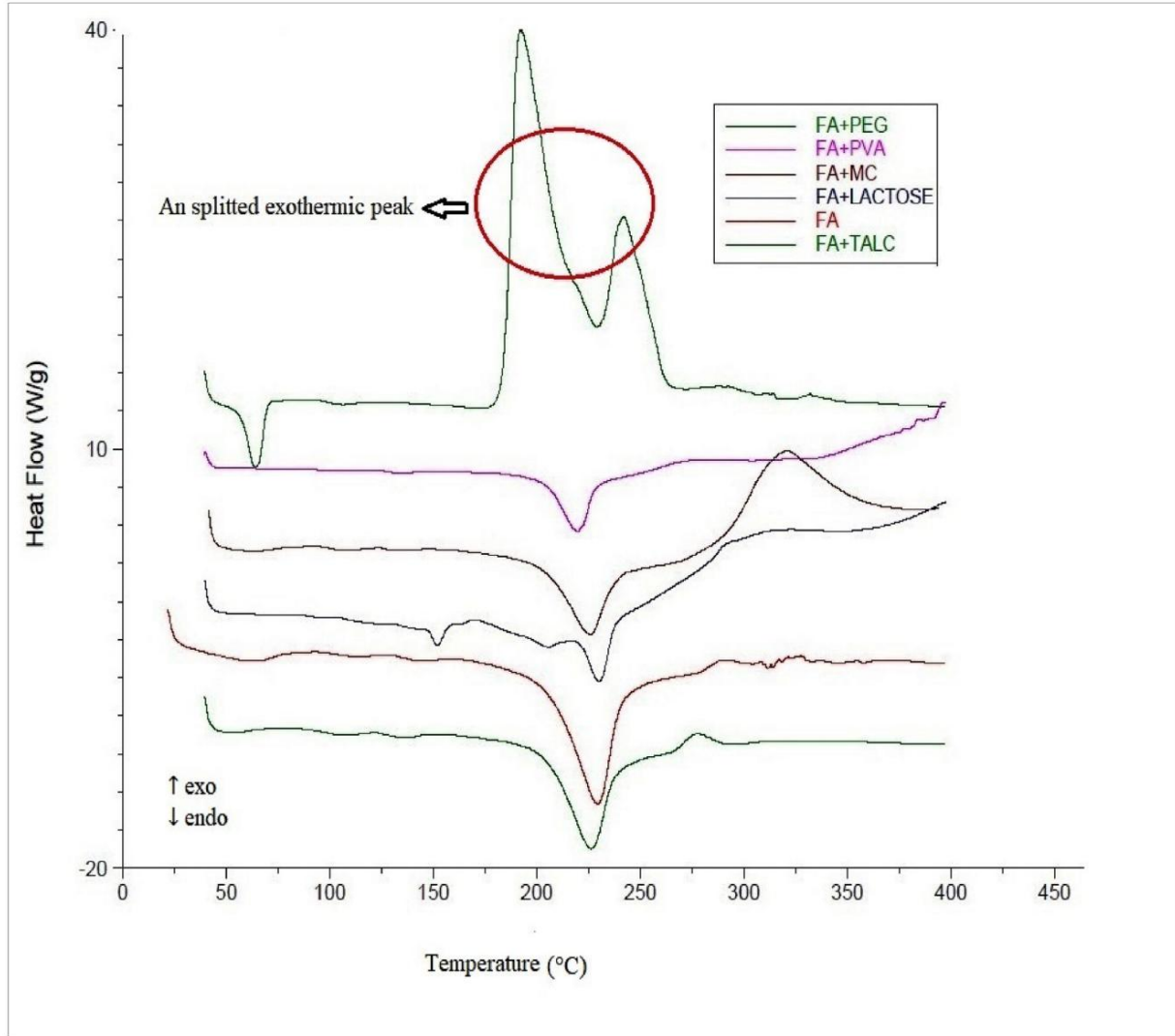
Özetle, FTIR, DSC ve XRD verileri gibi deneysel çalışmalarda, PEG 6000 dışı, incelenen tüm ekşiyanlar FA ile neredeyse uyumluydu. FA ile uyumsuzluğunu doğrulamak için daha ayrıntılı araştırma öneriyoruz.

3.4. Stabilite çalışmaları

Herhangi bir ilaç molekülünün stabilitesi (kimyasal veya fiziksel), kimyasal yapısı tarafından yönlendirilen güçlü bir özelliktir. Belki de ilacın bitmiş bir ürünündeki stabilitesi, üretim süreci, ambalaj ve saklama koşulları gibi diğer çeşitli faktörlere bağlı olabilir. Diğer yardımcı maddelerin varlığı da önemli bir rol oynar. Yardımcı maddeler genellikle biyolojik veya doğal kaynaklı olup, inorganik veya organik, sentetik veya yarı sentetik olabilir. Çoğu, diğer malzemelerle etkileşime girebilen işlevsel gruplara sahiptir.

Ek olarak, eser miktarda safsızlıkların ilaç veya diğer yardımcı maddelerle reaksiyona girme olasılığı olabilir ve ayrıca toksik olabilen (bozunma ürünlerinin oluşumu) veya klinik etkinliğini azaltmasıyla (güç kaybı) sonuçlanabilecek istenmeyen etkiler gösterebilir.

Altı aylık çalışmada, hızlandırılmış çalışmada maksimum değişiklikler gözlemlendi, örneğin pH'daki %3,4'lük düşüşün nedeni yüksek sıcaklık olabilir, LOD'deki %2,1'lik artışa bağlı olmayan durumda ya da bir parçası olarak var olabilecek nem kaybından kaynaklanmaktadır. kristal yapı. HAYIR



Şekil 4. Diğer yardımcı maddelerle (FA'ya göre) uyumluluk çalışmaları için sonuçları için DSC kaplama görüntüleri. Diğer analizlerin sonuçları gibi, FA + PEG de diğerleriyle senkronize değildir. Herhangi bir uyumsuzluk göstermez, ancak daha fazla değerlendirmeye işaret eder.

görünüm, FTIR ve DSC çalışmaları arasında farklılık gözlemlendi.

3.5. Mikrobiyal sayım çalışmaları

Önceki çalışmalara uygun olarak FA, mikropları bulunmadığına gösterdi (ek tarih Tablo S2). FA, E. coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus ve Salmonella sp. Sonuçlar, FA'nın ne bakteri ne de mantar gelişimini desteklemediğini açıkça göstermektedir. Dolayısıyla FA'nın mikrobiyal kalitesi tatmin ediciydi ve farmasötik preparasyonlar için gerekli olan Hint Farmakopesi gerekliliklerini karşıladı.

3.6. Toksikite çalışmaları

3.6.1. Oral toksisite çalışmaları

Herhangi bir yeni ekşiyan, klinik olmayan çalışmalardan geçmelidir (<http://academy.gmp-compliance.org/guidemgr/files/NONCLINICAL%20STUDIES.PDF>), ekşiyanların potansiyel toksik maddeler olabileceği ve bu nedenle buna göre değerlendirme yapılması esastır. Yeni bir yardımcı maddenin toksikoloji ve farmakokinetik profilini ve IPEC ve FDA tarafından önerilen test yaklaşımlarını oluşturmak zorunludur. Bunu göz önünde bulundurarak, FA'nın güvenli bir farmasötik yardımcı madde olarak iddia edilme potansiyeline sahip olup olmadığını inceledik. Turba

türetilmiş FA, dünya çapında farklı sağlık ürünlerinde tüketilmektedir, bu nedenle güvenli olduğu varsayılabilir. Oral toksisite çalışmaları, test edilen üç farede 2000 mg/kg dozda bile güvenli olduğu bulundu.

3.6.2. Alt akut toksisite çalışmaları

Uzun süreli kullanımdan sonra güvenliğini değerlendirmek için 28 gün boyunca subakut toksisite yapıldı. FA ne toksik etki ne de öldürücü etki göstermedi. Ayrıca deri ve kürk, vücut ağırlığı, gözler ve mukoza zarı, solunum, dolaşım, otonom ve merkezi sinir sistemi ve davranış örüntüsünde herhangi bir değişiklik görülmedi. Deney süresi boyunca titreme, kasılma, tükürük salgılama, ishal, uyuşukluk, uyku ve koma belirtileri bile yoktu. Brüt patolojide, hiçbir hayvanda tedaviye bağlı dış ve iç brüt patolojik bulgular gözlemlenmedi. Histopatolojide, karaciğer, böbrekler ve akciğerlerde gözlemlenen tedaviye bağlı histopatolojik bulgular yoktu (ek veriler Şekil S1a, S1b ve S1c'de gösterilmektedir).

3.6.3. MTT tahlili

MTT tahlilinde genellikle sitotoksik potansiyel, hücre büzülmesi, sitoplazmik yoğunlaşma, yuvarlama ve yüzeyden ayrılmama ve filopodial uzunluktaki değişiklikler vb.

değişiklikler fark edildi, ayrı ca hücreler 500 µg/ml konsantrasyona kadar 72 saat sonra bile canlı kalmaya devam etti. Sonuçlar, FA'nı n memeli hücrelerine uyumluluğunu düşündüren herhangi bir sitotoksositeye sahip olmadığı ni açığa gösterdi.

3.7. Ko-kristallerin oluşumu

Hem ikili hem de üçlü Ko-kristaller, incelenen birkaç fitokimyasalla başarılı bir şekilde oluşturuldu (veriler sunulmadı). FA'nı n, zayıf su ve dolayısıyla yla kayganlığına sahip fitokimyasallarla ko-kristal sentezini öneriyoruz. Dolayısıyla yla gelecekte FA, supramoleküler sentezde ko-former olarak kullanılabilir.

4. Sonuç

Mevcut ilaç onay süreçlerinde, yeni ekşiyanlar düzenleyici kurum tarafından bağımsız olarak değerlendirilmez; sadece yardımcı maddeyi içeren ilk ilaç uygulaması bağlamında incelenirler. USFDA'da yardımcı maddelerin DMFLeri vardı. Eşsiz bir molekül olarak yeni bir ekşiyan için özel olarak herhangi bir düzenleyici onay süreci yoktur. Küresel olarak, Uluslararası Uyumlaştırmaya Konferansı'nın (ICH) özel ekşiyan güvenlik değerlendirme yönergeleri yoktur, ancak yardımcı madde güvenlik değerlendirmesine ilişkin FDA kılavuzu ve IPEC tarafından hazırlanan yönergeler, birkaç ICH güvenlik testi yönergelerinden (örn., ICH S1A, S2B, S3A, S5A) alınıyor. S7A ve M3) güvenlik testlerinin yürütülmesi için referans malzemeler olarak. Dünya çapında farklı besin takviyesi ürünlerinde tüketilmesi, güvenliğini sağlar. Dolayısıyla yla güvenlik çalışmaları nı kısıtlanabilir. Bu nedenle, paylaşılan verilere dayanarak, farmasötik bir yardımcı madde olarak FA'nı n daha fazla araştırılması nı savunabiliriz.

Rekabet eden menfaat beyanı

Hiçbiri.

Teşekkür

Yazarlar 1 ve 2, küçük araştırma projesi UGCNo: MRP-6806/16 (SERO/UGC) şeklinde mali destek sağladığı için Hindistan Üniversitesi Hibe Komisyonuna müteşekkirimiz.

Ek A. Tamamlayıcı veriler

Bu makaleye ek veriler çevrimiçi olarak <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109642> adresinde bulunabilir.

Referanslar

- Balestrieri, F., Magri, AD, Magri, AL, Marini, D., Sacchini, A., 1996. Diferansiyel taramalı kalorimetrisinin ilaç-ekşiyan uyumluluğu çalışması na uygulanması. Termokim. Ağa 285 (2), 337–345. [https://doi.org/10.1016/0040-6031\(96\)02904-8](https://doi.org/10.1016/0040-6031(96)02904-8).
- Botes, ME, Gilada, IS, Snyman, JR, Labuschagne, JP, 2018. Karbohidrat türevli fulvik asit sağlığı k i çeceği: ART öncesi HIV-1 pozitif deneklerde tolerabilitesi, güvenliği ve hastalık belirticileri üzerindeki etkisi. Afr. Dostum. Pratik 60 (3), 91–96. <http://hdl.handle.net/2263/68622>.
- Chen, Y., Schnitzer, M., 1976. Bir hümkik asidin ve bir maddenin taramalı elektron mikroskopu fulvik asit ve metal ve kil kompleksleri 1. Soil Sci. Sos. Am. J.40 (5), 682–686. <https://doi.org/10.2136/sssaj1976.03615995004000050024x>.
- Chien, SJ, Chen, TC, Kuo, HC, Chen, CN, Chang, SF, 2015. Fulvik asit, insan monositlerinde homosistein kaynaklı siklooksijenaz-2 ekspresyonunu zayıflatır. BMC Kompl. Alternatif Med. 15 (1), 61. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0583-x>.

Francioso, O., Sanchez-Cortes, S., Tugnolo, V., Ciavatta, C., Gessa, C., 1998. Turba fulvik asit fraksiyonlarını n FT-IR, SERS ve ¹³C NMR spektroskopisi ile karakterizasyonu. Uygulama Spectrosc. 52 (2), 270–277. <https://doi.org/10.1366/0003702981943347>.

Gandy, JJ, Snyman, JR, Van Rensburg, CE, 2011. Randomize, paralel grup, ezamanlı n tipikal tedavisinde karbohidrat türevi fulvik asitin etkinliğini ve güvenliğini değerlendirmek için çift kör, kontrollü çalışma. klinik kozmetik Yayı n m. Dermatol. 4, 145. <https://doi.org/10.2147/CCID.S23110>.

Gandy, JJ, Meeding, JP, Snyman, JR, van Rensburg, CE, 2012. Karbohidrattan türetilmiş fulvik asidin akut ve subakut güvenliğine ve kavram kanıtı etkinliğine ilişkin Faz 1 klinik çalışması . klinik Eczacı lı k: Av. Uygulama 4, 7. <https://doi.org/10.2147/CCID.S23110>.

Hartauer, KJ, Guillory, JK, 1991. Dağı nı k yansı ma FT-IR tayfı nı n karşı laştı rması Bir ilaç-ekşiyan etkileşiminin karakterizasyonunda skopi ve DSC. İlaç Dev. End. eczane 17 (4), 617–630. <https://doi.org/10.3109/03639049109044268>.

Kiprop, AK, Marie-Camille, J., Poutrier, E., Kimutai, S., Kirui, S., 2013. Hümkik ve fulvik asitlerin sentezi ve bunları n optik spektroskopisi (ATR FTIR ve UV-Görünür) kullanılarak karakterizasyonu. Int. J. Uygulama Bilim Teknoloji 3 (8), 28–35.

Kucerik, J., Bursakova, P., Prusova, A., Grebikova, L., Schaumann, GE, 2012. DSC tarafı ndan incelenen hümkik ve fulvik asitlerin hidrasyonu. J. Term. Anal. Kalori. 110 (1), 451–459. <https://doi.org/10.1007/s10973-011-2178-1>.

Mirza, MA, 2018. Farmasötik yardımcı madde olarak hümkik maddelerin geleceği. Eczacı lı k. bilim Anal. Res J 1 (1), 180004.

Mirza, MA, Agarwal, SP, Iqbal, Z., 2011a. Fulvik asidin oral yoldan verilmesine etkisi Karbamazepin. bilim Av. Anne. 3 (2), 223–232. <https://doi.org/10.1166/sam.2011.1149>.

Mirza, MA, Ahmad, N., Agarwal, SP, Mahmood, D., Anwer, MK, Iqbal, Z., 2011b.

Ağı zdan ilaç vermede hümkik maddelerin karşı laştı rmalı değerlendirmesi. Sonuçlar Ecz. bilim 1 (1), 16–26. <https://doi.org/10.1016/j.rinphs.2011.06.001>.

Mirza, MA, Talegaonkar, S., Ahmad, FJ, Iqbal, Z., 2016. Vajinal ilaç iletimi için yeni ve çok işlevli bir ekşiyan. J. Yardı mcı Maddeler Gi da Kimyası 2(4), 1119.

Namjesnik-Dejanovic, K., Maurice, PA, 1997. Toprağı n atomik kuvvet mikroskopisi ve fulvik asit akışı . Colloids Surf., A 120 (1–3), 77–86. [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(96\)03678-3](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(96)03678-3).

Okazaki, K., Okazaki, S., Nishimura, S., Nakamura, H., Kitamura, Y., Hatayama, K., Nakamura, A., Tsuda, T., Katsumata, T., Nishikawa, A., Hirose, MA, 2001. Geliştirilmiş OECD Test Yönergesi 407'ye dayalı olarak sı çanlarda metoksiklorun tekrarlanan 28 günlük oral doz toksisite çalışması endokrin bozucu kimyasalları n taranması . Ark. Toksikol. 75 (9), 513–521. <https://doi.org/10.1007/s002040100273>.

Peña-Méndez, EM, Havel, J., Patočka, J., 2005. Hümkik maddeler-yapı sı hala bilinmeyen bileşikler: tarihi m, endüstri, çevre ve biyom tı bbi ndeki uygulamalar. J. Uygulama Biyomed. 3 (1), 13–24. <https://doi.org/10.32725/jab.2005.002>.

Pharmacopoeia, J., 2002. Avrupa Farmakopesi. Avrupa Konseyi, Strasbourg.

Provenzano, M., Ouatmane, A., Hafidi, M., Senesi, N., 2000. Farklı kaynaklardan kompostları nı ş malzemelerin diferansiyel taramalı kalorimetrik analizi. J. Term. Anal. Kalori. 61 (2), 607–614. <https://doi.org/10.1023/A:1010146207459>.

Riss, TL, Moravec, RA, 2004. Hücre bazlı sitotoksosite deneylerinde inkübasyon süresinin, toksin dozunun ve kaplama yoğunluğunun etkilerini araştırma için çoklu analiz uç noktaları nı n kullanımı . Tahil İlaç Dev. Teknoloji 2 (1), 51–62. <https://doi.org/10.1089/154065804322966315>.

Rodriguez, NC, Urrutia, EC, Gertrudis, BH, Chaverri, JP, Mejia, GB, 2011.

Fülvik asidin antioksidan aktivitesi: canlı maddeden türetilen biyoaktif bir bileşik. J. Gi da Tari m. çevre. 9 (3&4), 123–127. <https://doi.org/10.1234/4.2011.2236>.

Senesi, N., 2010. Çevrede her yerde bulunan doğal nanopartiküller olarak hümkik maddeler ment. İçinde: Dünya'nı n Kritik Ortamı ndaki Arayüzlerde Moleküler Çevresel Toprak Bilimi

Alan. Springer, Berlin, Heidelberg, s. 249–250. https://doi.org/10.1007/978-3-642-05297-2_72.

Shishir, MRI, Taip, FS, Aziz, NA, Talib, RA, 2014. Püskürterek kurutulmuş pembe guava (Psidiumguajava) tozunun fiziksel özellikleri. Agric. bilim Procedia 2 (7), 74–81.

Silverstein, RM, Bassler, GC, Morrill, TC, 1991. Kı zı ltesi spektroskopisi. İçinde: Organik Bileşiklerin Spektrometrik Tanı mlaması . John Wiley & Sons Inc, New York, s. 91–164.

Stulzer, H., Rodrigues, P., Cardoso, T., Matos, J., Silva, M., 2008. Kaptopril ile tablet formülasyonları nda kullanılan farmasötik ekşiyanlar arası ndaki uyumluluk çalışmaları . J. termik Anal. Kalori. 91 (1), 323–328. <https://doi.org/10.1007/s10973-006-7935-1>.

Tan, KH, 1985. Taramalı elektron mikroskopu hümkik maddeden etkilenecek hazı rlama yöntemleri.

Toprak Bilimi Sos. Am. J.49 (5), 1185–1191. <https://doi.org/10.2136/sssaj1985.03615995004900050023x>.

Visser, SA, 1987. Hümkik maddelerin mitokondriyal solunum ve oksidatif fosforilasyon üzerindeki etkisi. bilim Toplam Çevre. 62, 347–354. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(87\)90521-3](https://doi.org/10.1016/0048-9697(87)90521-3).

Winkler, J., Ghosh, S., 2018. Kronik inflamatuvar hastalık lar ve diyabette fulvik asidin terapötik potansiyeli. J. Diyabet Res. 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/5391014>.