

1. GİRİŞ

Protein ve peptid yapısındaki ilaçların oral uygulamayı takiben emilimi, yüksek metabolik aktivite ve barsak epitelinin membranının düşük geçirgenliğe sahip olmasından dolayı, büyük ölçüde engellenir (1). Makromoleküler ilaçların sistemik etki açısından biyoyararlanımını arttırmak için, nazal, pulmoner ve peroral mukoza alternatif uygulama yolu olarak önerilmektedir (2). Bunlardan özellikle nazal mukoza, piyasada bulunan bureselin ve dermopresin gibi peptid yapısındaki ilaçların başarılı bir şekilde burun boşluğuna uygulanmasından ötürü, makromoleküler ilaçlar için potansiyel uygulama alanı olarak ilgi çekmektedir (3,4). Böylece, oral yolla hastaya verildiğinde, inaktif olan peptidlerin kronik parenteral tedavi yerine nazal yolla uygulanıp istenen düzeyde farmakolojik aktivite elde edilebilir.

Nazal kavite, burun boşluğundan nazofarinkse kadar uzanır. Genelde, 12-14 cm uzunluğundadır (5). Toplam hacmi, 15 ml; tüm yüzey alanı ise, 150 cm²'dir. 2-4 mm kalınlığında ve epitel tabakası içeren bir mukoza ile kaplıdır. Epitel tabakası ise, pH 5.5-6.5 olan mukus ile kaplıdır (6,7). Bukkal, peroral, rektal, transdermal ve vajinal yollarla kıyaslandığında, intranasal uygulama pek çok üstünlüklere sahiptir (8, 9):

- a.Oldukça fazla damarlanmış bir yapıya sahip mukozadan ötürü, intramusküler enjeksiyonla elde edilene benzer düzeyde hızlı emilim sağlar.
- b.Nispeten yüksek biyoyararlanım
- c.Hepatik ilk geçiş etkisinin olmaması
- d.Yüksek hasta uyuncu ve kendi kendine ilaç tatbik imkanı
- e.Kan beyin bariyerini atlayıp doğrudan santral sinir sistemini hedefleyebilme ve böylece, sistemik yan etkilerin azaltılması mümkün olmaktadır.

Tüm bu üstünlüklerinden dolayı, hem makromoleküller hem de küçük molekülü maddelerin intranasal uygulaması mümkün olmaktadır. Literatürde bu konuda pek çok çalışma mevcuttur (4).

İnsülin, peptid yapısında bir ilaç etkin maddesidir ve özellikle Tip 1 diyabetin tedavisinde ana ilaç olarak kullanılmaktadır (10). Oral yolla uygulandığında, gastrointestinal sistemdeki proteolitik enzimlerle parçalandığından biyoyararlanımı

düşüktür. Bu yüzden, genellikle, subkütan enjeksiyonla uygulanır. Biyoyararlanım açısından s.c. enjeksiyonu uygun bir yol olmasına karşın, uygulamadan sonra, bazı ciddi yan etkilerle karşılaşılabilir ve hastaların çoğu uyuncu açısından günde bir enjeksiyonu tercih etmektedirler (11). Ayrıca, hiperinsülinemi, emilimde değişiklikler ve öğünlerde endojen insülinin hızlı salımının uyarılmasında güçlük gibi bazı komplikasyonlarla da karşılaşmaktadır (12). Tüm bu sorunlardan ötürü, oral, bukkal, rektal, transdermal, intranazal ve pulmoner uygulama yolları da incelenmiştir (2). Bunlardan intranazal ve pulmoner uygulamalar umut vaad edici sonuçlar vermiştir.

Nazal uygulamanın daha çok tercih edilmesi, peptid moleküllerinin emiliminin nazal mukozadan fazla oluşudur. Bu yönüyle, parenteral insülin uygulamasına alternatif görünmektedir (13). Ayrıca, intranazal insülin uygulaması, endojen insülinin pulsatil sekresyonuna benzer davranış gösterir (14). Ancak, insülinin emilimi açısından nazal yolun etkinliği düşüktür (15). Bu nedenle, intranazal yolla uygulanan insülinin biyoyararlanımını arttırmak amacıyla çalışmalar yapılmaktadır (16-18). Bu çalışmalarda, antiproteolitik ajanlar kullanılarak enzimlerin etkisinden korunmakta; farklı penetrasyon arttırıcılarla burun mukozasından geçişi iyileştirilmekte; kimyasal modifikasyonlarla stabilitesi arttırılmakta; biyoadhesif sistemler, mikroküre ve nanopartiküller gibi kontrollü salım sistemleriyle ilaç etkinliğinin uzun sürmesi sağlanmaktadır. Bunlar arasında, penetrasyon arttırıcıların ilave edildiği topikal sistemler en pratik ve etkin olanlar gibi görünmektedir. Ancak, kullanılan penetrasyon arttırıcı ajanlar mukozada hasara yol açabilmektedir (19, 20). Önemli olan bu hasarın derecesi ve geri dönüşümlü olup olmadığıdır.

Bu tez çalışmasında, subkütan yola alternatif olarak insülinin jel spreylelerinin hazırlanması ve farmasötik bakım açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DİABETES MELLİTUS

2.1.1 Tanım

Diabetes mellitus, endojen insülinin yetersiz miktarda üretilmesi veya üretilen insülinin periferik dokularda etkisini gösterememesi sonucu ortaya çıkan sistemik kronik bir metabolizma hastalığıdır (21). Hiperglisemi, dislipidemi, glikozüri ve bunlara eşlik eden birçok klinik ve biyokimyasal bulgu ile seyreder (22).

Pankreas, kaslarımızın ve diğer dokuların kandan glikozu alıp enerji olarak kullanmalarını sağlayan "insülin" hormonunu üretir. Besinlerle kana geçen glikoz, insülin hormonu aracılığı ile hücrelere girer. Hücreler glikozu yakıt olarak kullanır. Eğer, glikoz miktarı vücudun yakıt ihtiyacından fazla ise karaciğerde, yağ dokusunda depolanır.

Bu hastalık, vücudun besinlerden yararlanmasını sağlayan normal süreçleri bozar ve kandaki glikoz düzeylerinin çok yükselmesine neden olur (hiperglisemi). Bu da şiddetli, hatta ölüme bitebilen etkilere yol açabilir.

2.1.2. Tarihçe

Diyabet, yeni bir hastalık değildir. Tarihçesi çok eskilere uzanır. Diyabetle ilgili en eski kayıtlar, İ.Ö. 1550'li yıllarda Mısır'da yazılmış bir papirüste bulunmuştur (23). O dönemde, halk arasında şeker hastalığı olarak adlandırılmıştır. Bu papirüslerde, diyabete benzer poliüri ile seyreden bir durumdan bahsedilmektedir. Hastalık ilk kez, M.S. 2. yüzyılda Kapadokyalı Arateus tarafından "Diyabet" olarak adlandırılmıştır.

Ayurveda'ya ait eski kayıtlarda da böcek, sinek ve karıncaların bazı insanların idrarının yapıldığı yere toplandığı yazmaktadır. Bu da, idrar yoluyla şeker kaybedilen bir hastalığın varlığını göstermektedir(23).

Paul Langerhans, 19. yüzyılda pankreas bezi içinde yer alan ve diyabetle ilişkili küçük hücre topluluklarının varlığını göstermiş ve bunları "Langerhans adacıkları" olarak isimlendirmiştir (23). 1875'te, Claude Bernard, kandaki glikozun karaciğerde glikojen olarak depo edildiğini keşfetmiş, diyabetin nöro-hormonal mekanizmasını aydınlatmıştır. 1889'da pankreasın hastalıkla alakalı merkez organ olduğunu V. Merin ve Minkowski tespit etmiştir. Banting ve Best'in 20. yüzyılın ilk çeyreğinde insülini izole etmesiyle diyabet tarihinde yepyeni bir sayfa açılmıştır (21,22)

2.1.3. Diyabetes mellitus'ta genel tanı kriterleri ve kontrol testleri

2.1.3.1. Tanı kriterleri:

Diyabeti olmayan bir bireyde kan glikoz düzeyleri (23):

- a. açlık halinde: 120 mg/dl,
- b. tokluk halinde (yemeğe başladıktan iki saat sonra): 140 mg/dl'nin üstüne çıkmaz.

Bir kişinin diyabetli olup olmadığı: “Açlık Kan Şekeri (AKŞ) ölçümü” veya Oral Glikoz Tolerans Testi (OGTT) yapılarak saptanır. AKŞ ölçümünün, 100-125 mg/dl olması, pre-diyabet (=gizli şeker) sinyalidir. AKŞ ölçüm sonucunun 126 mg/dl veya daha fazla olması ise, diyabetin varlığını gösterir. OGTT'de glikozdan zengin sıvı aldıktan 2 saat sonraki kan glikoz düzeyi önemlidir. İkinci saate ait kan glikoz düzeyinin ölçümü, 140-199 mg/dl ise, gizli şeker; 200 mg/dl veya daha yüksek ise diyabet tanısı konulur (21, 23).

2.1.3.2. Kontrol testleri:

Diyabetli hastalara tedavi süresince uygulanan 8 önemli test vardır (23):

- a. Total Kolesterol: 200 mg/dl ve altı olmalı
- b. HDL Kolesterol: Erkeklerde 35 mg/dl ve üstü;kadınlarda 45 mg/dl ve üstü olmalı
- c. LDL Kolesterol: 130 mg/dl ve altı olmalı
- d. Trigliserid: 200 mg/dl ve altı.
- e. İdrarda Protein
- f. Kan glikoz düzeyleri
- g. HbA1C: % 7'yi aşmamalı.
- h. Kan Basıncı: 130/85 mmHg ve altı olmalı

2.1.4. Sınıflandırma

Hastalığın hümorale ve dokusal bulgularının zengin olması yanısıra, pek çok komplikasyona da yol açması sınıflamada bazı kargaşalara neden olmuş, her ekol veya klinik kendine özgü sınıflandırma yapmıştır.

Genelde, Tip I ve II olmak üzere ikiye ayrılır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) yaptığı sınıflandırma ise Çizelge 1'de verilmiştir (24). Bunun dışında gebelik diyabeti, malnütrisyon diyabeti, pre-diyabet gibi türleri de mevcuttur. Ayrıca, son yıllarda, uzak doğuda sık rastlanan “tropikal diyabet” olarak adlandırılan, genellikle

pankreas kalsifikasyonları ve gıda toksisitesine bağılı olarak ortaya çıkan bir diyabet türü daha belirtilmiştir (21-24).

2.1.5. Epidemiyoloji

Diyabet, prevalans ve insidansı her geçen gün artmakta olan bir hastalıktır (22, 25). Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 1965 yılında 10 milyon diyabet hastası tespit edilmiştir. 1982 yılında, bu rakamın %50 arttığı saptanmıştır. 1937'de Almanya'da görülme sıklığı, %0.3 iken, 2. Dünya Savaşı'ndan sonra, bu rakamın 5 kat arttığı tespit edilmiştir. Diyabet insidansı, İsrail'de %3.8, Pakistan'da %1.6, İsviçre'de %4.3, İngiltere'de % 4.8, Avustralya'da %1.9, Türkiye'de ise, %1.6-2 civarındadır. Ülkemizde prevalans, %3.5-5'dir.

Diyabet epidemiyolojisi (özellikle Tip II diyabet), farklı toplumlarda insidans ve prevalans açısından farklılıklar göstermektedir (23). Bu, farklı etnik gruplarda genetik ve çevre faktörlerinin etkisinin farklı oluşundan, sosyo-ekonomik düzeyin farklılığından kaynaklanmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, en gelişmiş toplumlarda dahi kayıtlı Tip II olgusu kadar, hastalığa yakalandığının farkında olmadan yaşayan bireyin de mevcut olduğunu göstermiştir. Ülkemizde bu oran 1/3 gibi ciddi bir rakamdır (22-23). Tip II, Avrupa'da genellikle 50 yaşından sonra, Pasifik ve Asya ülkelerinde ise 25-30 yaşlarında ortaya çıkmaktadır. Ancak, hiperglisemi, hastalık tanısı konmadan yıllar önce başlayabilmektedir (24).

2.1.5.1. Tip I Diyabetin Epidemiyolojisi

Tip I diyabet, genellikle, çocukluk ya da erken yetişkinlik döneminde ortaya çıksa da toplumdaki sıklığı, ergenlik çağında (11-13 yaş) zirveye ulaşır (22, 24). Tüm diyabet olgularının %10'unu oluşturur. Pankreatik beta hücrelerinin otoimmün bozukluğundan kaynaklanır. Bu da, genetik duyarlılığı olan kişilerin bazı çevresel ajanlara maruz kalması neticesinde meydana gelir (24). Dolayısıyla, beta hücre otoimmünitesinin prevalansı ile Tip I diyabetin insidansı birbiri ile ilişkilidir. Örneğin, İsveç, Sardinya adası ve Finlandiya'da adacık hücresi antikör prevalansı %3-4.5 iken buna bağılı olarak ortaya çıkan Tip I diyabetin insidansı her yüzbin kişide 22-35 civarındadır (24).

Çocuk ve gençlerdeki Tip I diyabetin sıklığı, ilkbahar ve yazın azalıp sonbahar ve kışın artarak mevsimsel bir değişiklik gösterir (10, 21 - 23).

1.5.2. Tip II Diyabetin Epidemiyolojisi

Tip II diyabet, glikoz metabolizmasının heterojen bozukluğu ile karakterizedir. Tüm diyabet olgularının %90'ını teşkil eder. Genellikle, insülin salgılanmasında bozukluk ile ortaya çıkar (10, 22-25).

Hastalığın prevalansı ülkeler arasında farklılık göstermektedir (22, 23). ABD'de 20-74 yaş arasında %6.6'dır. Ancak, bilinen bir gerçek vardır ki her iki kişiden birinin tanı konmamış Tip II diyabet olgusu olma olasılığı çok yüksektir. Ülkemizde bir yeni diyabetliye üç gizli diyabetlinin düştüğüne inanılmaktadır. Kuzey Amerika yerlilerinde ve Pasifik'te prevalans yüksek, İngiltere'de düşük bulunmuştur. Genellikle, Kuzey Afrika yerlileri, Trinidatlılar ve göçmen popülasyonlarda (Singapur ve İngiltere'deki göçmenler ile ABD'deki Japon göçmenler) prevalansı yüksektir. Gelişmiş ülkelerde prevalansın yüksek oluşu, artan yaşlı nüfus ve kentsel yaşamdan kaynaklanmaktadır (22).

Tip II diyabetin prevalansı yaşla artış gösterir (10, 22-25). Orta ve ileri yaşlarda, Tip I diyabetten daha sık rastlanır. Hastalık tanısı genellikle adolesan dönemde konur. Bunun başlıca nedenleri, kalıtsal yatkınlık, adipoz dokunun artması ve yerleşik yaşam düzenidir. Kırsal bölgelerde hastalık daha az sıklıkta görülür. Tip II Diyabet, kadınlarda, erkeklerden daha çok görülür. Bazı etnik gruplarda (Beyaz Amerikalılar ile, İspanyol, Asya ve Afrika kökenli Amerikalılar; Pasifik adalarında yaşayan halk) sıklığı daha fazladır (22).

2.1.6. Diyabet Sıklığını Etkileyen Faktörler

Diyabetin görülme sıklığını etkileyen başlıca faktörler(21-23):

a. Coğrafya:

- Göç alan İsrail, Japonya, ABD'da siktir
- Alaska ve Grönland'da hemen hemen hiç yoktur

b. Yaş ve cins:

- Yaşlandıkça artar
- Kadınlarda daha çok görülür

c. Kalıtım:

- Birinci derece yakınlarında DM olanlarda sıklığı daha fazla

d. Şişmanlık:

- Diyabetik nüfusun %85'i şişmandır

e. Gebelik:

- Diyabetojen bir faktör
- Glikoz toleransı bozulur

f. Çevre faktörleri:

- Dengesiz beslenme
- Enfeksiyonlar
- Bilinçsiz ilaç kullanımı

2.1.7. Risk Grupları

Diyabetes mellitus riski taşıyan kişiler (23):

- Daha önce glikoz toleransı saptananlar
- Potansiyel olarak glikoz toleransında bozukluk olasılığı saptananlar
- Kırsal alandan göç etmiş gruplar
- BKİ>27 olan obezler
- Daha önce GDM ya da GIGT geçirmiş olanlar
- >4 kg ağırlığında bebek doğuran kadınlar
- Metabolik sendrom komplekslerini gösteren kişiler
- Diyabetojenik ilaç kullanmak zorunda kalanlar
- Glikozürisi bulunanlar
- 30 yaşın üzerinde ve ailesinde diyabet öyküsü bulunanlar

2.1.8. Tip I Diyabet

Tip I diyabetli kişilerde yeterli insülin üretimi yoktur ya da çok azdır (23, 26). Tip I diyabetliler, yaşam için zorunlu bir gereksinim olan, ancak, kendi vücutları tarafından üretilmeyen insülini, insülin enjeksiyonu, insülin kalemi veya insülin pompası yolu ile vücuda vermek zorundadırlar (23).

Çizelge 2.1. Diyabetes Mellitus'un sınıflandırılması.

Türler	Özellikleri ve/veya nedenleri
Tip I	- İnsüline bağımlı (IDDM) - Otoimmün bozuklukla karakterize - İdiyopatik
Tip II	- İnsüline bağımlı olmayan (NIDDM) - Non-obeze - Obez
Gestasyonel diyabet	Gebelik diyabeti
Malnutrisyona bağlı diyabet	Beslenme bozukluklarına bağlı seyrederek
Pre-diyabet	Gizli şeker
Sekonder diyabet	- <i>Endokrin hastalıklar:</i> - Agromegali veya atrojenik nedenlere bağlı seyreden diyabet - Cushing sendromu ile ortaya çıkan diyabet - Feokromositoma - Hipertroidi - Otoimmün poliglandüler sendrom - Büyüme hormonu yetersizliği - Hipertroidi - Multipl endokrin neoplazi sendromları (MEN) - <i>İlaçlar, kimyasal ajanlar ve toksinlerden kaynaklanan diyabet</i> - Diüretikler - Tiazid grubu antihipertansifler - Beta adrenerejik reseptör blokerleri - Psikoaktif ajanlar - Antikonvulzifler - Antineoplastik ajanlar - Antiprotozoer ilaçlar - <i>Pankreatik hastalıklar:</i> - Pankreatektomi - Pankreas tümörü - Pankreatit indüklü diyabet - Malnutrisyona bağlı diyabet (J tipi diyabet) - Hemokromatozis - <i>Genetik Sendromlar:</i> - β -hücre fonksiyonunun genetik bozukluğunun neden olduğu diyabet - İnsülin direnci sendromları - Kistik fibroz - Glikojen depo hastalığı - İnsülin reseptör anomalilerine bağlı olarak ortaya çıkan diyabet

Diyabetli kişilerin % 5-10'u Tip I diyabetlidir (10, 22, 23). Tip I diyabet, genel olarak, kuzey ülkelerinde daha sık görülmektedir. Tip I diyabet, çoğunlukla, 40 yaşından küçük kişilerde görülür. Pik insidansı ise: 10-14 yaş civarındadır (23).

Tip I diyabetin oluşmasına yol açan başlıca etkenler (21-26); genetik, çevresel ve beta hücrelerini yok eden otoimmün hastalık kökenlidir. Hastalık, genellikle, anne, baba, kardeş gibi birinci derecede yakın akrabalarında Tip I diyabet olanlarda; çok sayıda Tip II diyabetli yakını olan kişilerde; gebelik sırasında diyabet ortaya çıkan kadınlarda daha çok görülür.

Otoimmün hastalıklar grubuna dahildir (22). Bilinmeyen bir nedenle harekete geçen bağışıklık sistemi, insülin yapımını üstlenen pankreas beta hücrelerini tahrip etmektedir. Bu tahribat, %80'in üzerine ulaştığında hastalık belirtileri ortaya çıkar (23).

Glikoz, periferel dokular tarafından alınamaz; yorgunluk hissedilir (22). Kan glikoz düzeyleri artar. İnsülinin periferel kullanımı gerçekleşemez. Vücut hipoglisemik duruma geçer. Karşı-düzenleyici hormonlar, karaciğerdeki glikojenoliz ile serbestlenir. Glikoz, idrara doğrudan geçer (glikozüri). Bu esnada, suyu da beraberinde götürdüğü için poliüri oluşur (23). Dehidrasyon olur, susuzluk hissi (polidipsi) ortaya çıkar. Öte yandan alınan gıdalardan yararlanamayan vücut hücreleri, enerji kaynağı olarak depolardaki yağları kullanmaya başlar ve kişi zayıflar. Karbonhidrat, yağ ve protein üretimi ve yıkımı bozulur, pek çok organda komplikasyonlar ortaya çıkar (25).

Özellikle, yağların aşırı yıkımıyla ketoasidoz oluşur (10, 22-25) Ketoasidozun belirtileri ise, karın ağrısı, hızlı solunum, aşırı halsizlik ve yorgunluktur. Böyle bir durumda, derhal acil olarak hastaneye başvurmak gerekir.

2.1.8.1. Tip I Diyabet Tedavisi Esnasında Karşılaşılan Acil Sorunlar

a. Hiperglisemi:

İnsülini uygun teknikle, yeterli dozda ve zamanında yapmayan, beslenme tedavisine uyum sağlayamayan, aşırı karbonhidrat tüketen ve egzersiz yapmayı aksatan hastalarda görülür (10, 22-23).

Hiperglisemi görülen hastada, sık idrara çıkma, ağız kuruluğu, çok su içme, ciltte kuruma, yaralarda geç iyileşme, halsizlik, yorgunluk ve zayıflama belirtileri de mevcuttur. Normoglisemiye hastayı döndürebilmek için, öncelikle, tedavi esnasında kullanılan insülinin son kullanım tarihinin, dozunun, uygulama tekniğinin doğru olup

almadığının araştırılması gerekir. Gerekli düzenlemeler yapılarak hastanın kan glikoz değerleri normoglisemik düzeye indirilebilir.

b. Hipoglisemi:

İnsülini aşırı dozda kullanan, önerilen besinleri özellikle de karbonhidrat içeren besinleri zamanında ve yeterince tüketmeyen, alkol kullanan ve aşırı egzersiz yapan kişilerde kan glikoz düzeyleri hızla düşer (23).

Kan glikoz düzeylerinde azalma hafif olduğu durumlarda; bu sorunu çözmek amacıyla, hastaya 5-6 adet kesme şekeri bir bardak ılık suda eritip içirilebilir ya da 1 büyük çay bardağı şekerli meyve suyu verilebilir. Büyük oranda bir düşüş görülüyorsa, hastada şuur kaybı gerçekleşecektir (10). İşte, o zaman, hastaya intramusküler glukagon enjeksiyonu yapılması gerekir.

2.1.9. Tip II Diyabet

Tip II diyabet olguları, tüm diyabet olgularının %80'ini oluşturur (10). Toplumumuzda görülme sıklığı %2-5'dir. Çoğunlukla, 40 yaş ve üzerindeki kişilerde görülür (22, 23).

Pankreasın yeterli miktarda insülin salgılayamaması veya salgılanan insülinin yeterli derecede kullanılmaması nedeniyle kan glikoz düzeylerinin yükselmesi durumudur (2). Hastalık, uzun yıllar klinik olarak belirti vermeden seyredebilir. Yaşamın ileriki yıllarında ortaya çıkan bir infeksiyon, stres, ameliyat, gebelik ya da fazla kilo alınması, zaten azalmış olan beta hücre rezervinin daha da düşmesine yol açarak diyabeti klinik olarak ortaya çıkarabilir (23).

Hastalığın başlıca belirtileri (10, 21-25); sık idrara çıkma (poliüri), ağız kuruluğu (polidipsi), çok su içme(polifaji), açlık hissi, cilt yaralarının geç iyileşmesi, kuru ve kaşıntılı bir cilt, sık sık infeksiyon gelişmesi, ellerde ve ayaklarda uyuşma, karıncalanmadır.

Tip II diyabet tedavisi iki basamaktan ibarettir (21-23). Birinci basamak tedavi planı; hastanın beslenme alışkanlıklarının düzenlendiği medikal beslenme tedavisi, yaşam tarzının değiştirilmesi ve egzersiz programlarının uygulamaya koyulmasını kapsar. İkinci basamak tedavi planı ise, birinci basamak tedavide başarı sağlanamayan olgulara uygulanır ve kan glikoz düzeyini düşürücü ilaçların oral

uygulamasını içerir. Bazı Tip II diyabet olgularında ise, Tip I diyabetlilerdeki gibi insülin kullanımı da gerekli olabilir.

2.1.9.1. Tip II Diyabet Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

Tip II diyabet tedavisinde genellikle “oral antidiyabetikler” kullanılır (21, 23). İnsülin yetersizliği olan olgularda ise, tedavi planına insülin de eklenir. Bunlar, beslenme planına uyum sağlamasına, egzersiz yapmasına ve aldığı ilaçlara rağmen kan glikoz düzeyleri yüksek seyreden hastalarla, peri-operatif veya postoperatif dönemdeki olgular, gebeliği esnasında diyabet tanısı konmuş ve hamilelikte kan glikoz değerleri normoglisemik düzeye çıkarılamamış olanlar, ağır bir infeksiyon geçirirken iyileşme göstermeyen hastalar, ayak yarası olanlar ve diyabete bağlı komplikasyonları gelişen kişilerdir. Tedavi programında insülin muhakkak yer almalıdır (23).

2.1.9.1.1. Oral Antidiyabetikler

2.1.9.1.1.1. Sülfonilüreler

Sülfonilüreler, pankreastan insülin salınımını artırır; vücudu insüline daha duyarlı hale getirirler. Başlıca yan etkileri ise, istenmeyen kilo alımı, hipoglisemi ve komadır. Bu gruba giren ilaçların başlıcaları ise; Betanorm, Diamicon, Diameprid, Diabinese, Gliben, Glutril, Glucotrol XL, Minidiab ve Amaryl'dir (21, 23).

2.1.9.1.1.2. Biguanidler

Biguanidler; insülin mevcudiyetinde hücrelere glikoz girişini arttırarak kan glikoz düzeylerini düşürürler (21). Ayrıca, karaciğerden kana glikoz verilmesini azaltıp, dokuların insüline hassasiyetini arttırırlar. Genellikle, şişman hastalarda tercih edilirler. Başlıca yan etkileri; Laktik asidoz, B12 vitamini eksikliği, ketonüri ve bağırsaktan glikoz emiliminin azalmasıdır. Glucophage, Glifor, Gluformin ve Glukofen biguanid grubu antidiyabetiklerin başlıcalarıdır.

2.1.9.1.1.3. α -glikozidaz inhibitörleri

Bu grupta yer alan ilaçlar, intestinal lümende α -glukozidaz aktivitesini, karbonhidrat absorpsiyonu ve postprandiyal plazma glukoz artışını azaltırlar (21, 23). Önemli yan etkileri ise; HbA1c'de azalma, malabsorpsiyon ve gastrointestinal semptomlardır.

2.1.9.1.1.4. Tiazolidindionlar

Tiazolidindionlar, periferde insülin direncini düşürüp glukoz transporter sayısını arttırarak etki gösterirler. Ayrıca, periferde serbest yağ asidi metabolizmasını düzenleyen genleri aktive ederler. Başlıca yan etkileri; vücutta su tutulması, kilo artışına, karaciğer hasarı ve anemiye yol açmasıdır (10).

2.1.9.1.1.5. Glinidler

Pankreasta insülin salgılayan beta hücrelerini kısa dönemde uyararak yemeklerden sonra oluşan tokluk kan glikoz artışını azaltarak etki gösteren glinidlerin başlıcaları; Nateglinid, Repaglinid (Novonorm, Starlix)'dir (22).

2.1.10. İnsülin Tedavisi

Vücutta yetersiz olan veya hiç üretilmeyen bir maddenin vücuda verilmesini esas aldığı için insülin tedavisi, bir replasman (=yerine koyma) tedavisi olarak adlandırılabilir (22). İnsülin tedavisi, bireye özgü düzenlenmelidir. Hastanın yaşam biçimine, alışkanlıklarına ve beklentilerine göre şekillendirilmelidir. Farmakoterapötik plan yapılırken kullanılacak insülin tipi, dozlam ve doz belirlenmelidir (22).

İnsülin tedavisiyle; bir yandan kan glikoz düzeyi normale getirilirken, öte yandan; diyabetes mellitus hastalığından dolayı oluşabilecek komplikasyonlar önlenebilir veya önlenemeyecek düzeyde komplikasyon oluşmuşsa ilerlemesi durdurulabilir; diyabetli çocuklarda büyüme ve gelişmenin normal seyri sağlanabilir; gebelik sırasında ortaya çıkabilecek komplikasyonların önüne geçilebilir (10, 22).

Dolayısıyla, insülin tedavisi; Tip I diyabet olgularına, oral yolla kan glikoz düzeyini düşürücü ilaçlar alınmasına rağmen kontrolü sağlanamayan Tip II diyabetlilere, hangi tip diyabet olursa olsun, akut metabolik komplikasyon (koma) gelişmiş hastalara, akut stres, kaza, yanık gibi travma, cerrahi girişim yapılacak tüm diyabetlilere, gebelik başlangıcından sonuna kadar tüm diyabetliler ve hamilelikte diyabeti ortaya çıkan kişilere uygulanır (10). Ayrıca, retinopati, nöropati, diyabetik ayak ve nefropati gibi komplikasyon gelişmiş tüm diyabetlilerle pankreası herhangi bir nedenle ameliyatla alınmış olan hastalara insülin tedavisinin uygulanması olumlu sonuçlar vermektedir (10, 22).

2.1.11. Diyabetes Mellitus'ta Farmasötik Bakım

Diyabetes mellitus; yağ, karbonhidrat ve protein metabolizmasında anormalliklerle seyreden, hiperglisemi ile karakterize bir metabolik bozukluktur. Tedavi edilmediği takdirde, mikrovasküler, makrovasküler ve nöropatik kronik komplikasyonlara neden olur (26).

Tüm dünyada mevcut olan diyabetik hasta sayısı, aslında sadece tanı konan kişi sayısıdır. Bunun yarısı kadar da tanı konmamış olgunun olduğu düşünülmektedir. Kronik bir hastalık olması nedeniyle, sağlık ekonomisi açısından önemlidir. Tedavinin maliyeti kadar, kronik komplikasyonlar nedeniyle ortaya çıkan iş gücü eksikliği ve izin günleri de ekonomiye önemli bir yük getirmektedir (26, 27).

Hastalığın tedavisi açısından hipergliseminin kontrol altına alınması ve bununla birlikte görülen semptomların önlenmesi önemli olduğu kadar, kronik komplikasyonların önlenmesi veya azaltılması ile hastanın yaşam kalitesinin artırılması da diyabetes mellitus hastalığının idaresi açısından önemlidir. Bu nedenle, hasta uyuncu ve biyoyararlanımı yüksek, toksisitesi ve maliyeti düşük ilaçlar ve dozaj şekillerinin, farmakoterapötik planın geliştirilmesi hedeflenmektedir (26, 27).

2.1.11.1 Tedavinin Hedefleri

Diyabetes mellitus hastalığının idaresinde primer hedefler; mikro ve makrovasküler komplikasyon risklerinin azaltılması, semptomların şiddetlenmesinin önlenmesi, mortalitenin azaltılması ve hastanın yaşam kalitesinin artırılmasıdır (27, 28). Hastanın kan glikoz düzeylerinin normoglisemik değerlere yaklaştırılması, mikrovasküler komplikasyonların gelişme riskini azaltacaktır. Ancak, kardiyovasküler komplikasyonların önlenmesi zordur. Hastanın sigarayı bırakma programına katılması, kan lipid düzeylerinin ve kan basıncının normale getirilmesi de gerekmektedir.

Hiperglisemi, sadece mikrovasküler hastalıklara yakalanma riskini arttırmakla kalmaz, yaraların iyileşmesini geciktirir. Akyuvarların işlevlerini olumsuz yönde etkiler, DM'nin poliüri, polidipsi, polifaji ve zayıflama gibi klasik semptomlarını da tetikler. Diyabetik ketoasidoz ve hiperozmolar hiperglisemi, kötü bir diyabet kontrolünün işaretidir. Hastanın muhakkak hastaneye yatırılması gerekir. Hastanın, verilen ilaçları zamanında ve düzenli olarak almasının yanısıra, yaşam tarzını da yeniden düzenlemesi gerekir ki komplikasyonlar ortaya çıkmasın veya azalsın. Bunun

için çoğunlukla, hekim gözetiminde diyet ve egzersiz programları önerilir. Ayrıca, kan basıncının düzenli olarak izlenmesi ve kontrol altında tutulması istenir.

2.1.11.2 Tedavide Genel Yaklaşım

Kan glikoz düzeylerinin hastanın kendisi tarafından düzenli bir şekilde izlenmesi gerekir. Bunun yanısıra, kan basıncı, lipid düzeyleri, diyet ve egzersizin de kontrol altında olması gerekir. Muhtemel komplikasyonların varlığı da incelenmelidir ki erken müdahale ile tedavi edilebilsinler.

2.1.11.2.1 Glisemik Kontrol

Literatürde mevcut çalışmalar (26, 27), hem Tip 1 hem de Tip 2 hastalarında mikrovasküler komplikasyonların azaltılması açısından glisemik kontrolün önemli olduğunu göstermektedir. Risk/yarar oranı büyük olmadığı sürece, yaşlı hastalar, ilerlemiş komplikasyonu olanlar ve diğer ağır hastalıklara sahip olgularda, HbA1C'nin %7'den az olması hedeflenir (26).

2.1.11.2.2 Komplikasyonların İzlenmesi

Diyabetes mellitus tanısı konduktan sonra, komplikasyonların ortaya çıkması olasılığına karşı hastanın yakın takibe alınması genellikle önerilir (26). Her ne kadar bu konuda bilim adamları ve hekimler bir ortak karara henüz varmamışsa da özellikle göz muayenesinin rutin olarak yapılması gerekir. Hastanın her vizitinde ayakların da incelenmesi önerilir. Yılda bir kez, mikroalbumin için idrar testi yapılmalıdır. Yine, her vizitte muhakkak kan basıncı ölçülmeli, lipid düzeyleri periyodik olarak belirlenmelidir.

2.1.11.2.3 Kan Glikoz Düzeylerinin Hastanın Kendisi Tarafından İzlenmesi

Hastanın kan glikoz düzeylerini kendisinin izleme alması, ilk kez 1980'li yıllarda önem kazanan bir yaklaşımdır. Bu, hastanın kan glikoz düzeylerini günün herhangi bir anında kolayca izleyebilmesini sağlar. Özellikle, Tip 1 diyabet hastalarında glisemik kontrol için optimum tedavinin sağlanması açısından önemlidir. Aksi takdirde, hasta, normoglisemikken insülin alabilir ve hipogliseminin ortaya çıkmasına neden olabilir. Bu da ölüme kadar giden ciddi sorunlara yol açabilir (28). Günde en az 4 kez

insülin enjeksiyonunu gerektiren yoğun insülin tedavisinin uygulandığı olgularda, hastanın kendini izlemesi çok önemlidir. Tip 2 diyabet hastaları açısından bu durumun önemi çok fazla değerlendirilmemiştir. Hastanın kendini izleme sıklığı kan glikoz düzeylerini normoglisemi düzeylerine getirmeye imkan verecek şekilde olmalıdır.

2.1.11.3 Diyabet Tedavisi

2.1.11.3.1 Non-farmakolojik Tedavi

2.1.11.3.1.1 Diyet

Tüm diyabet olgularına tıbbi beslenme tedavisi önerilir. Çok zayıf olan Tip 1 diyabet olguları için, insülin uygulamasının düzenli olmasını sağlamanın yanısıra, sağlıklı vücut ağırlığına ulaşmak da hedeflenmektedir. Her ne kadar, bilimsel anlamda tartışmaya açık bir durum arzetsede, çoğu olguda, yüksek karbonhidrat (basit şekerlerin az tüketimi gerekir), düşük yağ (özellikle doymuş yağlar açısından fakir) ve kolesterol oranı olan bir diyet önerilir. Tip 2 diyabet hastalarının çoğunun kilo kaybetmeleri gereklidir. Kalori kısıtlaması getirilir. Diyabetik bir diyet uygulamaktansa, hastanın kilo vermesini sağlayacak bir program tercih edilir. Eğer farmakolojik tedavi ile istenen hedeflere kolayca ulaşabiliyorsa, gece yatmadan önce veya öğün aralarında birşeyler yenmesi gerekmez.

2.1.11.3.1.2 Fiziksel Aktivite

Genellikle, diyabet hastalarının çoğu, fiziksel aktivitenin arttırılmasından yarar sağlar (28-31). Aerobik egzersizler, insülin direncini iyileştirir. Hatta, bazı hastalarda kan glikoz düzeylerini olumlu yönde etkiler. Hasta, yapmaktan hoşlandığı egzersizleri veya fiziksel aktiviteleri seçmelidir ki programa uyumda güçlük çekmesin. Daha önce, pasif bir yaşam tarzı olan kişilerde fiziksel aktivite yavaş yavaş arttırılmalıdır. Yaşlı hastalar, kronik hastalığı olan kişiler, birden fazla risk faktörü taşıyanlar ile aterosklerotik hastalık öyküsü olanlar, herhangi bir egzersiz programı önerilmeden önce, muhakkak kardiyolojik komplikasyonlar açısından muayene edilmelidir.

2.1.11.3.2 Farmakolojik Tedavi

1995 yılına değin, diyabet tedavisinde sadece 2 ilaç etkin maddesi kullanılmaktaydı: a) insülin ve b) sadece Tip 2 diyabet hastalarında kullanılan sulfonilüre gurubu ilaçlar. Her ikisi de hipoglisemik ilaçlardır. Kısa etkili insülin hariç, tüm diğer oral antidiyabetikler, genellikle, kan glikoz düzeylerini normal değerlerin altına düşürmez. Eğer, insülinle veya diğer antidiyabetik ilaçlarla kombine verilirlerse antihiperglisemik etki oluştururlar.

1995'ten bu yana, Tip 2 diyabet hastalarında hiperglisemiği azaltmak için yeni bazı ilaç etkin maddelerinin geliştirilmesi hedeflenmektedir. Bunların başlıcaları; sülfonilüreler, meglitidinler, biguanidler, tiyazolidindiyonlar ve alfa-glikozidaz inhibitörleridir. Ayrıca, piyasada insülin glarjin, insülin aspart ve lispro insülin karışımları da mevcuttur. Yeni insülin uygulama yolları da araştırılmaktadır. Oral ve inhale insülin uygulamaları bunlardan üstünde en çok çalışılanlardır.

2.1.11.3.2.1 Tip 1 Diyabet Tedavisinde Farmakolojik Yaklaşım

Tip 1 diyabet hastalarının tedavisinde ilaç seçimi çok kolaydır. Çünkü, tüm olgular, insüline gereksinim duyar. Ancak, insülinin uygulama yolu ve dozu hastadan hastaya, hatta, hekimden hekime bile farklılık gösterir. İnsülinin ilk uygulanmaya başlandığı 1921'de regüler insülin enjeksiyonu kullanılmaktaydı. Farmasötik kimyanın ve Farmasötik Teknolojinin gelişmesi ve yeni insülin moleküllerinin geliştirilmesi ile uzun süre etkili insülin süspansiyonlarının hazırlanması mümkün olmuştur. Böylece, dozaj sıklığı azalmış, günde 1 veya 2 enjeksiyon yeterli olmuştur. O günlerde HbA1C testleri ve hastanın kendini izlemesi mümkün olmadığından, ne hasta ne de hekim hastanın kan glikoz düzeylerinin ne düzeyde kontrol edilebildiğini direk bir yöntemle ölçemezdi. İdrar testleri de indirek kontrol sağlardı. Oysa, genç hastalarda bu testler iyi bir korelasyon verirken, yaşlılar ve renal hastalıkları olan olgularda sonuçlar değişken de olmakta ve pozitif korelasyonun sağlanması mümkün olmamaktaydı. 1980'lerde HbA1C testleri ve hastanın kendi kan glikoz düzeylerini kontrolü mümkün olduktan sonra, hastaların ve hekimlerin tedavinin gidişini doğrudan kontrol etmeleri mümkün olmuştur. Modern diyabet tedavisi, bu iki parametrenin kontrolünü zorunlu kılmaktadır.

Tip 1 diyabetes mellitus tedavisi, karbonhidrat alımının insülin uygulaması ve egzersizle bağlantılı olarak kontrol altına alınmasını hedefler. Diyet, tedavinin en önemli parçalarından biridir. Ancak, hastanın yine de mümkün olduğunca normal bir

yaşam tarzına sahip olmasına çalışılır. Hastanın bu konuda fazla strese girmesi istenmez.

Kişi, normal insülin sekresyonunu, açlık, emilim sonrası dönem ve yemekten sonraki postprandiyal süreçte bazal düzeye getirebilir (32-34). İnsülin hassasiyeti ve salımı, gün boyunca aynı kalmaz. Bu da bazal değerin saptanmasında yanıltıcı olabilir. Yine de, pek çok hekim bu yaklaşımı tercih etmektedir. Diğer önemli unsurlar ise, insülinin etkisinin başlama zamanı, pik değeri ve süresinin öğün ve egzersiz planına uyarak hastayı gün boyunca normoglisemik düzeyde tutmaktır.

Eskiden beri, insülin uygulama stratejileri, hep günde kaç kez insülin enjeksiyonu yapıldığına bağlıdır. Günde bir enjeksiyon, asla normal fizyolojik değerleri sağlamaz. Bu nedenle de pek kullanılmaz. Benzer biçimde, günde iki insülin enjeksiyonu, normal insülin salım profilini elde etmemizi sağlamaz. Bu yüzden, bölünmüş dozda, karışım uygulanması önerilir. Örneğin, sabahleyin kahvaltudan önce, NPH ve regüler insülin karışımının uygulanması ve bunun akşam yemeğinden önce de yinelenmesi, istenen fizyolojik değerlerin sağlanmasını mümkün kılar. Burada, varsayılan sabah uygulanan NPH'ın bazal değerlere ulaşılmasını ve gün boyu bu değerlerde kalınmasını sağladığı, öğlen yemeğinden sonraki gereksinimi de karşıladığı; geceki bazal insülin düzeylerini ise, regüler insülinin sağladığı ve akşam yemeği sonrasındaki hiperglisemi sorununu çözdüğüdür. Eğer, hasta, tedaviyi büyük bir titizlikle uygulayan bir kişi ise, enjeksiyon ve öğün saatlerine kesinlikle uyuyorsa, bu tedavi planından büyük yarar sağlar. Ancak, hastaların çoğu böyle değildir. Bu yüzden tedavi planında değişiklikler yapılması gerekir.

Bunun için, akşam yemekten önce alınan NPH'ın yatmadan önce alınması şeklinde değişiklik yapılır. Çünkü, sabahki açlık glikoz düzeyi çok yüksektir. Bu yaklaşım, bazı hastalarda optimum sonuçlara ulaşılmasını sağlar. Ancak, hastaların çoğu, günlük yaşamlarında daha özgür olabilmek için daha yoğun bir tedavi planını tercih etmektedirler.

Bazal-bolus kavramı, normal insülin fizyolojisinin sağlanması açısından önemlidir. Orta veya uzun etkili insülinle bazal, kısa etkili insülinle ise, bolus sağlanır. Bazal için, günde 1 ya da 2 kez NPH, lente ya da ultralente insülin veya günde bir kez insülin glarjin uygulaması önerilmektedir. Hastaların çoğu günde iki kez uygulamaya yanıt verir (insülin glarjin hariç). İnsülin glarjin hariç bu sayılan insülinlerin hepsi, belli

ölçüde pik etkisi yapmaktadır. Bu da, öğünlerin ve egzersiz programının planlanmasında göz önünde bulundurulmalıdır. İnsülin glarjin ise, Tip 1 diyabet olgularının çoğunda bazal insülin sağlayıcısıdır. Uzun etkili insülin süspanسیونlarından ultralente ise, günde 2 kez uygulanır.

Bolus için, öğünden önce regüler insülin, lispro insülin veya insülin aspart uygulanır. Lispro insülin ve insülin aspartın etkisinin çabuk ortaya çıkması ve kısa sürmesi, normal fizyolojinin sağlanmasını mümkün kılar. Bu da, hastanın kendi kendine kan glikoz düzeylerini kontrol edip preprandiyal duruma, karbonhidrat alımına ve fiziksel aktiviteye göre, uygulanan insülin miktarını değiştirebilmesini sağlar.

Kabaca belirtmek gerekirse, hastalar, tedaviye genellikle, 0.6 IU/kg/d dozda bazal insülin ile başlar. Bu, toplam dozun %45'idir. Prandiyal insülin, toplam dozun %25'i; öğlen yemeği öncesi uygulanan %15'i ve ikindi öncesi ise, %15'dir. Tip 1 diyabet tedavisi genellikle, 0.5-1.0 IU/kg/d doz uygulamasını gerektirir. Bundan daha yüksek dozda insülin uygulamasının gerekliliği, insülin antikorlarının varlığı veya insülin direncinin oluşmasını işaret eder.

Sürekli olarak subkütan yoldan insülin infüzyonunun verilmesini kapsayan pompa tedavisi, genellikle, insülin lispro ile gerçekleştirilir. Bazal bolus insülin tedavisini mümkün kılar. Bu tedavinin en büyük avantajı, gün boyunca gereksinime göre bazal dozun değiştirilebilmesidir. Belli bazı hastalarda, bu, mükemmel bir glisemik kontrol sağlar. Ancak, pompa tedavisi uygulanan hastalarda, kendi kendine kan glikoz düzeylerinin izlenmesi daha büyük önem kazanmaktadır. İzlem, daha detaylı ve sık yapılmalıdır. Hasta, tedavi planına titizlikle uyacak özellikteyse bu dozaj şekli önerilmelidir.

Yoğun bazal bolus tedavisi ise, tüm yetişkin Tip 1 diyabet hastalarında tanı yapıldıktan hemen sonra, glisemik kontrolün önemini vurgulamak amacıyla önerilir. Eğer hasta günde sadece 2 kez enjeksiyon uygulanması hususunda ısrarcıysa, NPH ve regüler insülin kullanımı yeterli olabilir. Doz ise, 0.6 IU/kg olmalı ve bunun 2/3'ü sabah ve kalan 1/3'ü de akşam uygulanmalıdır. Sabahki dozun 2/3'ü ile akşamki dozun 1/3'ü de NPH olmalıdır. Total insülin dozunda değişiklik yapılması için, Hb1AC değerleri ve poliüri, polidipsi, ağırlık kaybı veya artışı gibi belirtiler esas alınmalıdır. Kendi kendine kan glikoz düzeylerinin izlemi esas alınarak ancak, çok küçük değişiklikler yapılabilir.

İnsülin tedavisi uygulanan tüm hastalar, bu bakımdan yoğun bir eğitim görmelidir. Hipoglisemiye tanıma ve oluşması halinde acil tedavi yaklaşımlarının öğretilmesi gerekir. Yılda bir ya da iki kez, vizite gelen hasta, bu açıdan sorgulanmalıdır. Hipoglisemi sıklığı, bunun giderilmesinde başkasının yardımı gerekip gerekmediği, bu yüzden acil servise ya da hastaneye kaldırılıp kaldırılmadığı muhakkak hasta ve hekim tarafından kaydedilmelidir. Tip 1 diyabet olgularının çoğunda hasta, hipogliseminin farkına bile varmaz. Hastalığın otonomik nöropatiye geçişiyle sonuçlanabilir. Böyle bir durumda, adrenerjik uyarı sinyallerinin yitirilmesi, yoğun insülin tedavisi açısından kontrendikasyon durumunu oluşturur. Çoğunlukla, Tip 1 diyabet hastaları, sık hipoglisemik krizler yüzünden uyarıcı sinyalleri yitirirler. Bu tip durumlarda, insülinin dozunun azaltılması gerekir.

Çocuklar ve ergenlik çağındaki olgular, yetişkinlere göre mikrovasküler komplikasyonlardan nispeten daha fazla korunurlar. Bu yüzden bu hastalara, ergenlik çağı bitene dek daha az yoğun (günde iki kez karışım insülin) bir tedavi uygulanması mümkündür.

Sayıları az olsa da bazı hastalar, insüline karşı antikor geliştirirler. Bu antikorların önemi azdır (35). İnsan insülini ile yapılan tedavi de bile, insülin alerjisi görülmektedir. Hastaların çoğun yerel reaksiyon görülür. Ancak, bu bir süre sonra geçer. Eğer, geçmiyorsa veya sistemik ise, o zaman müdahale şarttır (36). Lipohipertropi de diğer bir yan etkidir (32).

Tip 1 diyabetli hastalarda, glikoz düzeylerinde önemli ölçüde dalgalanmalara neden olan ve sık yapılan hataların başlıcaları aşağıda verilmiştir:

- a. Pik insülin kullanırken ve öğünlerle egzersiz programını planlarken, insülin etkisinin pik yaptığı anların ve dozların dikkate alınmaması (öğünler, pik değerlere göre belirlenmeli ve buna yakın planlanmalı)
- b. İnsülin enjeksiyon bölgesinin rastgele değiştirilmesi: insülin emilimi bölgeden bölgeye değişiklik gösterir. Bu da glikoz değerlerinde dalgalanmalara neden olur. En uygun bölge, karın duvarıdır. Hastalara öncelikli olarak bu bölge önerilmelidir. Eğer hasta bu bölgeye enjeksiyona karşı çıkıyorsa, o zaman, uygulama bölgesi değiştirilebilir. Karından başka kol da en çok kullanılan bölgelerden biridir. Hasta, çoğunlukla her gün, günün aynı zamanlarında hep

aynı yere enjeksiyon yapar. Örneğin kollar hep sabahları kullanılır. Bunun zaman zaman değiştirilmesi gerekir.

- c. Gereğinden fazla dozda insülin alımı yaygın olarak yapılan diğer bir hatadır. Kan glikoz düzeyleri yükselmiş hastaların tümü için tek çözüm insülin enjeksiyonu değildir. Hasta, insülinopenik olabilir ya da rebound etkisi görülebilir. Özellikle geceleri yapılacak kendi kendine kan glikoz düzeylerinin izlemi bu sorunun en uygun çözümü olabilir. Bazen de hekimler, Tip 1 ve 2 hastalarını doğru ayırt edememektedirler. Tip 1 diyabet hastaları kesinlikle insülinopeniktir, ancak, normal insülin hassasiyetine sahiptirler. Tip 2 diyabet hastaları ise, belli ölçülerde insülin direncine sahiptir. Dolayısıyla, tip 1 diyabeti olan bir hastada insülin dozunda bir ünitelik bir değişim, glikoz konsantrasyonlarında önemli etkilere yol açabilmektedir. Tip 2 diyabeti olan bazı hastalarda ise, 10-20 kez fazla insülin bile glikoz düzeylerinde çok ufak etkilere neden olur. Tip 1 diyabeti olan hastalarda insülin dozunda yapılacak büyük değişimler, genellikle, hastanın kan glikoz kontrolü kötü olmadığı sürece belirgin bir şekilde görülmez. Kendi kendine izlem sonuçlarındaki büyük değişimler ve/veya kilo artışı, çoğunlukla insülinin fazla alındığını gösterir.
- d. Şüpheli halde, hastanın insülin dozlamasını nasıl yaptığı, insülin enjeksiyonunu nasıl uyguladığı ve kendi kendine izlem sık sık kontrol edilmelidir. Bazen, bunlardan herhangi birinde meydana gelen en ufak bir hata bile glisemik kontrol açısından kötü sonuçlar doğurabilir.

2.1.11.3.2.2 Tip 1 Diyabetin Önlenmesi

Tip 1 diyabet, bağışıklık sistemini baskılayıcı ilaçlar veya insülin tedavisi ile önlenmeye çalışılsa da bugüne kadar başarı elde edilememiştir (37-38). Tip 2 diyabette ise, durum farklıdır. Tiazolidindion troglitazon ile bu 1999'da başarılmış; ancak, hastanın karaciğer yetmezliğinden ölümü üzerine tedavi durdurulmuştur (39).

2.1.11.3.2.3 Hasta Eğitimi

Diyabet hastasının eğitimi, eline bir ya da birkaç broşür vermekle sağlanamaz. Ömür boyu sürecek bir süreci kapsmalıdır. Diyabet tedavisinde başarıya götüren en önemli unsurlardan biri yaşam şeklinin değişimidir. Bu da tıbbi beslenme, fiziksel aktivite, kendi kendini izlem ve tedavi planına bağlılığı kapsar.

Farmakoterapötik planın belirlenmesi aşamasında, hasta da söz sahibi olmalıdır. Hastalık ve komplikasyonlarla ilgili mümkün olduğunca fazla bilgi edinmelidir. Bu komplikasyonların uygun biçimde yapılacak bir glisemik kontrol ve kardiyovasküler hastalık riskinin azaltılması ile önlenebileceği ya da en aza indirilebileceğinin hastaya bildirilmesi gerekir. Önemli bir kronik hastalık olması nedeniyle, eğitim, bu konuda özel olarak yetiştirilmiş personel tarafından yapılmalıdır. Bu personel, hemşire, eczacı, diyetisyen ve hekimi kapsamaktadır. Özellikle, birinci basamak sağlık hizmetinin sunulmasında etkin rol oynayan eczacıların bu konuda iyi eğitilmiş olması gerekir.

Eğitim programı aşağıdaki hususları kapsamalıdır:

- a. Diyabete genel bakış
- b. Stress ve psikososyal uyum
- c. Ailenin eğitimi
- d. Sosyal destek
- e. Beslenme
- f. Egzersiz ve diğer fiziksel aktiviteler
- g. İlaçla tedavi
- h. İzlem ve sonuçların değerlendirilmesi
- i. Beslenme, egzersiz, ilaçla tedavi ve kan glikoz düzeylerinin izlenmesi arasındaki ilişki
- j. Akut komplikasyonların önlenmesi, saptanması ve tedavisi
- k. Kronik komplikasyonların önlenmesi, saptanması ve tedavisi
- l. Ayak, cilt ve diş bakımı
- m. Davranış değişiklikleriyle ilgili stratejiler
- n. Tedavi hedeflerinin belirlenmesi
- o. Risk faktörlerinin azaltılması
- p. Sorunların çözümü
- q. Sağlık sistemlerinin kullanımı (SSK, Bağkur, Emekli Sandığı vb.)
- r. Geri ödemeler

2.1.11.3.2.4. Farmakoeconomik Değerlendirme

Kronik bir hastalık olması nedeniyle, diyabetes mellitus sağlık ekonomisi açısından önemlidir. İndirekt giderlerin çoğu, önemli ölçüde ortaya çıkan morbiditeden

dolayı üretkenliğin yitirilmesi (hastanede uzun süre kalma, görme kaybı, alt ekstremitelerin amputasyonu, böbrek yetmezliği ve kardiyovasküler sorunlar) ile ilgilidir. Bir toplumun %5-6'sını etkileyen bir hastalık olmasına karşın, tüm sağlık giderlerinin %11-12'si diyabete aittir. Özellikle, yoğun tedavi uygulanan hastalarda maliyet çok yüksektir. Bu nedenle, yeni bir dozaj şekli geliştirilirken biyoyararlanım ve toksikolojinin yanısıra, maliyet hesabının da yapılması gerekir. Bu amaçla, bu çalışmada yeni geliştirdiğimiz dozaj şeklinin hasta için aylık tedavi maliyeti hesaplanmış, en yaygın kullanılan “insülin kalemi” ile kıyaslanmıştır.

2.1.11.3.3 Diyabet Tedavisinde Farmasötik Bakımın Esasları

Yeni geliştirilen bir dozaj şeklinin farmasötik bakım-klinik eczacılık açısından değerlendirilmesi, mevcut sistemlerle biyoyararlanım ve toksisite açısından kıyaslama ve tedavi maliyetinin karşılaştırılması şeklinde yapılmalıdır. Çünkü, farmakoterapötik bir plan hazırlanırken aşağıdaki hususlar dikkate alınır:

- a. Diyabetes mellitus, yağ, karbonhidrat ve protein metabolizmasını kapsayan bir grup metabolik bozukluktan ibaret bir hastalıktır. İnsülin salımı, etkisi veya her ikisindeki bozukluktan kaynaklanır.
- b. Tip 1 (insülin yetersizliği) ve Tip 2 (insülin direnci ve kısmi yetersizlik) olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Her ikisi de mikro- ve makrovasküler komplikasyonlara neden olur.
- c. Tedavinin amaçları, hiperglisemi semptomlarını azaltmak, retinopati, nefropati ve nöropati gibi komplikasyonların ortaya çıkması ve ilerlemesini önlemek; kardiyovasküler risk faktörlerini azaltmak ve hastanın yaşam kalitesini arttırmak ve süresini uzatmaktır.
- d. Yoğun glisemik kontrol (minimum HbA1C < %7), mikrovasküler hastalıkların başlama ve ilerleme riskini azaltır. Tip 1 diyabette, bu günde birden fazla insülin enjeksiyonu veya insülin pompası kullanımı ile mümkündür.
- e. İnsülin preparatlarının farmakokinetik profilleri, hastanın öğün düzeninin içeriği (kalite ve kantite), aktivite düzeylerinin bilinmesi, hipoglisemi riski ile farmakolojik tedavinin diğer etkilerini azaltmak için kan glikoz düzeylerinin kontrolünün optimize edilmesi açısından gereklidir.

- f. Tedaviye yanıtı değiştirebilecek durumlar (diğer hastalıklar, ameliyat, stres), tedavi planı belirlenirken dikkate alınmalıdır.
- g. Hasta eğitimi ve kendi kendine izlem aktivitesini gerçekleştirme becerisi ile bunu sürdürebilmesi tedavide başarının sağlanması açısından önemlidir.
- h. Tedavide başarı, sağlık personelinin multidisipliner yaklaşımla çalışmasına bağlıdır. Bu bağlamda, hekim (aile hekimi, dahiliye uzmanı, endokrinolog, oftalmolojist, damar cerrahı, dermatolog), eczacı, hemşire, diyetisyen, sosyolog, psikolog ve sertifikalı diyabet eğitimcisi birlikte çalışmalıdır.

2.2. İNSÜLİN

İnsülin, ilk defa 1921 yılında Sir Frederick Grant Banting ve Charles Herbert Best tarafından köpeklerin pankreatik dokusundan ekstre edildi (23, 40). İnsülin, Langerhans adacıklarının beta hücrelerinden sentezlenmektedir.

İnsülin sekresyonu, kan dolaşımındaki glukoz konsantrasyonu ile kontrol edilir. Genellikle, yemek yiyince meydana gelen kan glukoz seviyesindeki artışla insülin konsantrasyonu da artar. İnsülin, vücudumuzdaki hücrelerin glukozu alıp kullanmasında önemli rol oynar. Kaslarda ve karaciğerde glikojen oluşumunu tetikler. Karaciğerde glikolizin artması, yağ asitlerinin sentezinin artmasına yardımcı olur. İnsülin; kas proteinlerinin sentezine yardımcı olan valin, lösin ve izolösünün kaslar tarafından alınmasını da kontrol altında tutar (10, 22).

2.2.1. Tedavide Kullanılan İnsülinin Kaynağı

İnsülin hormonu türler arasında benzerlik gösterdiği için, tedavide, domuz, sığır ve insan kaynaklı insülinler kullanılmaktadır (22). Domuz ve insan insülinleri arasında sadece üç fark bulunmaktadır. Bunlar, A (alfa) zincirinin 8. ve 10., B (beta) zincirinin ise 30. pozisyonundadır (41). İnsan insülininde alanin yerine 8. pozisyonda treonin bulunmaktadır. 10. pozisyonda yer alan valin yerine izolösün mevcuttur (Çizelge 2.2). B (beta) zincirinin 30. pozisyonundaki valinin yerini de treonin almaktadır (41).

Çizelge 2.2 Farklı kaynaklardan elde edilen insülinlerin yapısının karşılaştırılması.

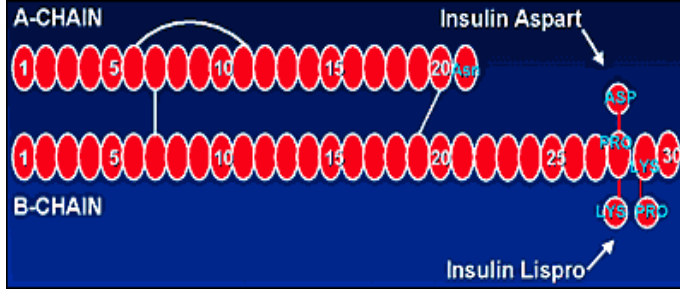
Amino asitler			
	A-Zinciri		B-zinciri
Kaynaklar	8. pozisyon	10. pozisyon	30. pozisyon
Sığır	Alanin	Valin	Alanin
Domuz	Treonin	İzolösin	Alanin
İnsan	Treonin	İzolösin	Treonin

İlk yıllarda kullanılan domuz ve sığır insülininin insan insülinine benzerliğinin fazla olmaması nedeniyle, bunlardan domuz kaynaklı olanı insan insülinine benzeyecek şekilde değişime uğrattılıp yarı sentetik insülinler elde edilmiştir (22, 41). Rekombinant tekniklerin gelişmesinden sonra, ilk farmasötik biyoteknoloji ürünü olarak insan insülini üretilip tedavide başarılı olmuştur (22).

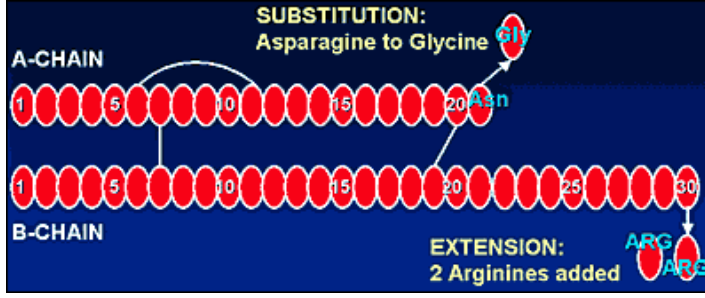
1980’li yıllarda rekombinant DNA teknolojisi ile insan insülininin hazırlanmasının ardından hayvansal kaynaklı insülinlerin kullanımı büyük ölçüde azalmıştır (22, 40). Sığır insülini ve sığır + domuz insülini artık ticari olarak mevcut değildir. FDA, sadece, bir hasta insan ya da domuz insülini ile tedavi edilemiyorsa, yabancı bir ülkeden sığır insülininin ithal edilmesine izin vermektedir (22). Domuz insülini, ABD’de hala daha Lilly firması tarafından İletin II adı ile üretilmektedir (22).

Günümüzde en çok kullanılan insülin, ya insan insülinidir ya da bunun analogudur. Rekombinant DNA tekniği ile insan insülininin elde edilmesi, insan proinsülin geninin *Saccharomyces cerevisiae* ya da *E. coli*’nin patojenik olmayan bir suşuna ilavesi ile mümkün olmuştur. Üretilen insan insülini, daha sonra buradan izole edilip saflaştırılmıştır (41).

Rekombinant DNA teknolojisi, insan insülininin yanısıra analogunun da elde edilmesinde kullanılmaktadır (10, 22, 42). Analoglarda, insülinin molekül yapısı, farmakokinetik özelliklerini (özellikle emilim) kısmen değiştirecek biçimde farklılaştırılmıştır. İnsülin molekülünün B26-B30 bölgesi, insülin tanıyan reseptörler açısından kritik değildir. Amino asitlerin süstitüsyon bölgesi burasıdır (42). Dolayısıyla, insülin analogları da insülin reseptörleri tarafından tanınma ve bağlanma özelliğine sahiptir. Şekil 2.1 ve 2.2’de üç insülin analogunun yapısı görülmektedir (insulin aspart, lispro ve insulin glarjin).



Şekil 2.1. İnsülin aspart ve lispro'nun yapısı.



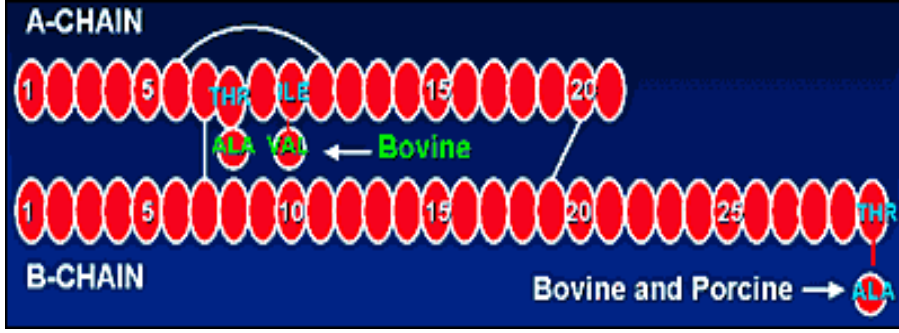
Şekil 2.2. İnsülin glarjinin yapısı

İnsülin analogları, farklılaştırılmış insan insülini olduğundan, güvenlik ve etkinlikleri de insan insülinine benzer (42). İnsülin lispro, insülin aspart ve insülin glarjin, metabolik ve mitojenik etkileri ile insülin ve IGF-1 (insülin benzeri büyüme faktörü) reseptörlerine bağlanma afiniteleri açısından insan insülininkiyile kıyaslanmıştır. İnsülin lispro ve aspart, tüm bu parametreler açısından insan insülinine benzer özelliktedir. Ancak, insülin lispro, IGF-1'e bağlanma bakımından insan insülininden 1.5 kat daha fazladır. İnsülin glarjinin mitojenik etkisi ve IGF-1 reseptör afinitesi insan insülinine kıyasla 6-8 kat daha fazladır. Bu farklılıkların klinik önemi tam olarak bilinmemektedir (43).

2.2.2.İnsülin Yapısı

İnsülin, pankreastaki Langerhans adacıkları hücrelerinin %70-80'nini oluşturur (22). Pankreatik sekretuar hücrelerdendir. İnsülin, 1955 yılında moleküller arası rekombinant teknolojisi ile sentezlenen ilk proteindir (22).

Yapı itibarıyla, tek bir insülin molekülü 2 polipeptid zincirinden ibarettir (42). Bunlar; 21 amino asitten oluşan A zinciri ile 30 amino asit içeren B zinciridir. Zincirler arasında iki disülfid bağı bulunur. A zincirinde üçüncü bir disülfid bağı daha vardır. Molekül ağırlığı, 56,000 Dalton'dur (42).



Şekil 2.3. Farklı kaynaklardan elde edilen insülinin karşılaştırmalı kimyasal yapısı.

2.2.3. İnsülinin Fizikokimyasal Özellikleri

Regular insan insülini, berrak bir çözelti halinde çözünmüş kristalize çinko insülinidir (22, 41). Subkütan, intramusküler ya da intravenöz uygulanabilir. İnsülin lispro ve aspart da kristalize çinko insülinidir ve berrak çözelti halindedir. Ancak, bu iki insülin analogu sadece subkütan yolla uygulanır. NPH, lente ve ultralente insülinler ise, regular insülinin süspansiyonudur. Genellikle, protamin (NPH: Nötral Protamin Hagedorn veya izofanın stokiyometrik karışımı) kompleksi ya da çinko iyonlarıyla karışım halinde (lente ve ultralente) bulunurlar. Bu durum, emilimi geciktirerek etki süresini uzatır (22, 40-43). İnsülin süspansiyonları, intravenöz uygulanmamalıdır. Glarjin hariç tüm insülinler, nötral pH'da formüle edilmektedir.

İnsülin glarjin, berrak çözelti halindedir ve pH'sı 4.0'dır. Bu ürünün asidik pH'sı, subkütan absorpsiyon açısından kritik bir durumdur. Dolayısıyla, sadece subkütan uygulanmalıdır (22).

2.4. İnsülinin Farmakolojik Etkinliği

İnsülin uygulamasının fizyolojik yanıt oluşturduğu, ilk defa, 1922 yılında, Kanadalı araştırmacılar tarafından Tip 1 diyabeti olan bir hastaya enjekte edilen hayvansal kaynaklı insülinle kanıtlanmıştır (22). İnsülinin, amino asit sekansı 1955 yılında tamamen tespit edilmiştir. Sekansı belirlenen ilk protein molekülüdür. İnsülin molekülü, birbirlerine disülfid bağları ile bağlı iki zincirden ve bu zincirlerde yer alan 51 amino asitten ibarettir. Yukarıda da tanımlandığı gibi, bu zincirlerden biri 21 amino asit içeren A zinciri; diğeri ise, 30 amino asit içeren B zinciridir (40).

Proinsulin ise, insülinin prekürsörüdür. 86 amino asit içeren tek bir peptid zincirinden ibarettir (42, 43). İnsülin ve bir bağlayıcı peptid olan C-peptide parçalanır. Bu iki parçalanma ürünü, beta hücrelerinden eşit molde salgılanır. C peptidin bugüne

kadar bir fizyolojik etkisi tespit edilememiştir. Ancak, bir kişinin C-peptid düzeylerinin saptanması beta hücrelerinin işlev görür durumda olduğunun göstergesidir (23).

İnsülin, tüm vücuttaki insülin reseptörlerine bağlanarak glikoz metabolizmasını etkiler. Bir yandan, glikozun yağ ve iskelet kas hücreleri tarafından alınmasını sağlarken, öte yandan da, hepatik glikoz çıkışını inhibe eder. Bunun sonucunda da kan glikoz düzeyleri düşer (22, 40, 42, 43).

Ticari insülin ürünleri, hem Tip 1 diyabetlilerde replasman tedavisi olarak hem de diyet, egzersiz ve oral antidiyabetiklere yanıt vermeyen Tip 2 diyabet hastalarında kullanılmaktadır (22).

İnsülinin etkisinin başlaması, maksimuma ulaşması ve etki süresi, farklı insülin türleri için farklıdır ve bu durum, klinik açıdan büyük önem arz eder (22, 42, 43). İnsülinin farmakolojik etkinliği, metabolik etkisi ile açıklanabilir. Ticari insülinler, hızlı etkili (ya da ultra kısa etkili), kısa etkili, orta derecede etkili ve uzun etkili olmak üzere etki sürelerine göre sınıflandırılırlar. Farklı insülinlerin farmakolojik özellikleri ise Çizelge 2.3’de verilmiştir (22, 23). Ancak, bu özellikler, bireyler arası farklılıklar gösterebilir. Her hasta insüline farklı yanıt verebilir. Hastanın kan glikoz düzeylerini sık sık kendi kendine ölçmesi ile kendini izlemesi sağlanarak hastaya özgü tedavi planının hazırlanması mümkün olabilir.

Çizelge 2.3. Farklı insülinlerin farmakolojik özellikleri (44).

İnsülin	Etkinin başlama süresi (sa)	Pik plazma konsantrasyonuna ulaşma süresi (sa)	Etki süresi (sa)	Preparatın Görünümü
İnsülin Lispro	15 dak	½-1½	3-5	berrak
İnsülin Aspart	15 dak	1-3	3-5	berrak
Regular	½-1	2-4	5-8	berrak
NPH	1-2	4-10	14+	bulanık
Lente	1-3	6-14	20+	bulanık
Ultralente	6	14-18	18-24	bulanık
İnsülin Glarjin	1.5	sabit	24	berrak

Regular, NPH ve lente insülinlerin farmakolojik özellikleri, doza bağımlıdır (10, 44). Büyük dozlarda, pik plazma konsantrasyonuna ulaşması gecikir ve etki süresi artar. Örneğin, 4 ünite NPH enjeksiyonu ile elde edilen farmakolojik yanıt vs. zaman profili, 30 ünite NPH enjeksiyonu ile elde edilenden farklıdır.

2.2.5 İnsülinin Farmakokinetiği

2.2.5.1 Absorpsiyon

Subkütan uygulanan insülin, doğrudan kan dolaşımına katılır. Burada, insülinin kan dolaşımına taşınmasında etkin olan lenfatik sistemdir (42, 43). Subkütan absorpsiyondan sonra, insan insülininin emilimi, aktivite açısından hız sınırlayıcı basamaktır. Bu absorpsiyon sabit bir değerde gerçekleşmez. T_{50} (uygulanan insülin dozunun %50'sinin emilimi için geçen süre), bireyden bireye farklılık gösterebilir (42, 43). Bu durum, genellikle, enjeksiyon bölgesindeki kan akımının farklılığından kaynaklanır (22). Regular insülinin karın bölgesinden absorpsiyonu diğer subkütan uygulama bölgelerindekinden 2 kez daha hızlıdır (10). Böylece, hastalar, enjeksiyon bölgesini zaman içerisinde güvenle değiştirebilir. Karın bölgesinin enjeksiyon için en uygun bölge olarak önerilmesinin nedeni ise, insülin absorpsiyonunu etkileyen faktörlere çok daha az duyarlı olmasındandır. İnsülin lispro ve aspart, absorpsiyon hızı açısından daha az günlük farklılık gösterir; hatta, farklı bölgelerden absorpsiyonları da çok büyük farklar arz etmez. (10, 42-44). İnsülin glarjinin farmakokinetik profili de uygulama bölgesine bağlı olarak değişmez (10).

Subkütan dokunun yerel kan akımı değiştiğinde, insülin absorpsiyonu da değişir. Dolayısıyla, subkütan dokudaki kan akımını arttıran faktörler, absorpsiyon hızını da arttıracaktır.

2.2.5.2 Dağılım

Sistemik dolaşıma katılan insülin, iki şekilde bulunur: serbest insülin ve IgG antikorlarına bağlı insülin (10). İkisi de eşit miktarlardadır. İnsülin antikorlarının varlığı, insülinin etkisinin başlamasını geciktirebilir. Bu da, serbest insülinin pik plazma konsantrasyonunu azaltır. İnsülinin biyolojik yarılanma ömrü uzar (10).

2.2.5.3 Atılım

Böbrekler ve karaciğer, insülinin degradasyonundan sorumlu ana organlardır. Normal koşullarda, pankreas tarafından salgılanan insülinin %60'ı karaciğerde, geri kalan %35-40'ı ise, böbreklerde metabolize olur (10, 44). İnsülin enjekte edildiğinde, doğrudan portal vene girmediğinden bozunma diğer bir deyimle metabolizma profili farklılaşır. Böbrekler, subkütan uygulanan insülinin degradasyonunda en önemli rolü oynar (%60) (10). Böbrekler insülinin degradasyonundan sorumlu olduğundan, böbrek fonksiyonları tam olmayan hastalarda, insülin kleransı azalacak, etkisi uzayacaktır. Kleranstaki azalma, oral antidiyabetiklerin kullanılması ya da insülin enjeksiyonunun uygulanması halinde görülür (10).

2.2.6 İnsülinin immunojenik özelliği

Domuz ve sığır insülinleri insan insülininden amino asit içeriği bakımından farklı olduğundan, ekzojen insan insülininden daha immünojeniktir. Bu insülinleri içeren eski formülasyonlar, o dönemlerdeki teknik yetersizliklerden ötürü, daha az saflıktaydı. Çoğu zaman, immünojenik reaksiyonlara neden olan adacık hücresi peptidleri, proinsülin, C-peptid, pankreatik polipeptidler, glukagonlar ve somastostatin içermektedirler (10). İnsülin preparatlarının bileşenleri (çinko, protamin) ile subkütan insülin agregatlarının da vücuda verildiğinde antikor oluşumuna neden olduğu düşünülmekteydi (10).

Ticari olarak piyasada mevcut olan insan kaynaklı insülinler, artık, çok daha saftır ve 1ppm'den daha az proinsülin içerirler (10, 22). İnsülinin yerel veya sistemik yan etkileri, insüline aşırı hassasiyet, lipodistrofi ve insülin direncine neden olan antikor oluşumudur (10). İnsan insülinin kolayca elde edilebilmesinden ve hayvansal kaynaklı insülinlerin immünojenik reaksiyonlara sebep olmasından ötürü, günümüzde, hayvansal kaynaklı insülinler çok daha az kullanılmaktadır. Diyabet hastalarının tedavisine, genellikle, insan insülini ile başlamak gerekir.

Nadir olarak görülen aşırı hassasiyet reaksiyonları; akut, yerel veya sistemik tiptedir (10). İnsüline karşı gerçekten de kuvvetli allerjik reaksiyon gösteren hastaların çoğu, geçmişte insülin kullanmış, bir süre bırakmış ve yeniden insülin tedavisine başlayınca bu reaksiyonla karşılaşmış kişilerdir. Bu reaksiyonlar, IgE odaklıdır. Diğer bir allerjik reaksiyon ise, IgG odaklı olup hayvansal insülin kullanımı ile daha geç ve

yerel olarak ortaya çıkar (10). Bunlara ilaveten, insülin tedavisi IgG sınıfı insülin

Çizelge 2.4 İnsülin absorpsiyonunu etkileyen faktörler (22, 44).

Faktör	Açıklamalar
Enjeksiyon alanına egzersiz yapılması	Enjeksiyon yapıldıktan sonra, 1 saat içinde kol ve bacakların ağır egzersize maruz kalması, regular insülin kullanılması halinde klinik açıdan önemli sorunlar yaratabilir.
Lokal masaj uygulaması	Enjeksiyon bölgesine bastırmak mümkün olsa da, bu bölge ovulmamalı ya da masaj yapılmamalı.
Sıcaklık	Sıcaklık, absorpsiyon hızını artırır. Dolayısıyla, enjeksiyondan sonra, sauna, duş ya da sıcak banyo yapılmamalı. Soğuk ise, tam ters etkiye sahiptir.
Enjeksiyon bölgesi	İnsülin, karından daha hızlı emilir. Bu durum, hızlı etkili insülin ve insülin glarjin açısından klinik bakımdan fazla önem arz etmez.
Lipohirptropi	Lipohipertropi olan alanlara enjeksiyon yapılması halinde insülin absorpsiyonu gecikir.
Jet enjektörler	Absorpsiyon hızı artar.
İnsülin karışımları	Lente insülin ile karıştırıldığında, regular insülin, kısa sürede gösterdiği etkiyi yitirir. Etkisi daha geç başlar.
İnsülin dozu	Büyük dozlar, etkinin başlaması geciktirir.
Fiziksel özellikler (çözelti vs. süspansiyon)	Süspansiyon halindeki insülinler, enjeksiyon öncesi iyice çalkalanmalıdır.

antikorlarının üretimine de yol açabilir. Çok yüksek IgG antikorlu hastalarda immünolojik insülin direnci oluşabilir.

Lipodistrofi, iki durumda ortaya çıkar: lipoatrofi ve lipohipertrofi. Lipoatrofi, bir immün sistem hastalığıdır. İnsülin enjeksiyon bölgesinde yağ dokusunun azalması ile karakterizedir (10). İnsan insülini kullanıldığında çok daha az ortaya çıkar. Hayvansal

kaynaklı insülinle tedavi olan hastalara, atrofiye uğramış kısımdan insan insülini verilir. Lipohipertrofi ise, immünolojik bir yan etki değildir. Genellikle, insülinin hep aynı yere defalarca enjekte edilmesinden kaynaklanır.

2.2.7. İnsülinin Toksik ve Yan Etkileri

İnsülinin en önemli yan etkisi hipoglisemidir (11). Kan glikoz değerleri 50 mg/dl'nin altına düştüğü zaman hipoglisemi görülür. Genellikle, titreme, dikkat dağınılığı, baş dönmesi şuur bulanıklığı, bulanık görme ve uykudan uyanamama hali hipoglisemiye işaret eder. Hipogliseminin önlenmesi için, hastaya hemen karbonhidratlı gıda veya glikoz tableti verilir.

İnsülin tedavisinde karşılaşılan diğer yan etkiler ise “insülin lipoatrofisi” ve “insülin hipertrofisi”dir (13). Bunlardan lipoatrofi, yukarıda da belirtildiği gibi, insülin enjeksiyonu yapılan yerlerde yağ dokusunun kaybı ile oluşur. Gençlerde ve kadınlarda daha sık görülür. İnsülin hipertrofisi ise, insülin enjeksiyon yerinde oluşan şişmedir. Uzun süre hep aynı yere enjeksiyon yapılması sonucunda gelişir. Çocuk ve genç diyabetlilerde sık görülür. Her iki durumun tedavisi de insülin enjeksiyon yerlerinin değiştirilmesidir.

En sık görülen yan etki ise, hipoglisemidir. Yoğun insülin tedavisinde, sık ortaya çıkan bir durumdur (10,11, 13).

Ağırlık artışı, diğer bir önemli yan etkidir. Bu, hastanın sık oluşan hipoglisemik episodlardan dolayı ortaya çıkan açlık duygusu karşısında gereğinden fazla yemesinden kaynaklanır. İnsülin, anabolik bir hormondur ve yağ asitlerinin yağ dokusu tarafından alınımını tetikler. Yoğun ve kronik insülin tedavisi gören hastalarda, ağırlık artışı genellikle 4 kg civarındadır (10, 11).

İmmünojenik reaksiyonlar, insülin tedavisi gören kişilerde nadiren ortaya çıkar. Lipohipertrofiyi önlemek için, hastaların enjeksiyon bölgesini zaman zaman değiştirmesi ve eski bölgeyi en az bir hafta süreyle kullanmaması istenir(22).

2.2.8. İnsülin Stabilitesi

2.2.8.1 Saklama Koşulları

Tüm insülin ürünlerinin son kullanma tarihi etiketinde belirtilmiştir ve ambalajı açılmadan buzdolabında muhafaza etmek koşulu için geçerlidir (22). Açılmadan,

insülin, buzdolabında 2°C-8°C’de muhafaza edilmelidir. Asla, dondurulmamalı ve 30°C’den yüksek oda sıcaklığında tutulmamalıdır. Kullanılmakta olan bir insülin flakonu, oda sıcaklığında yaklaşık bir ay muhafaza edilebilir. İnsülin kartuşları, önceden doldurulmuş insülin kalemleri ve diğer insülin taşıyıcı gereçler, farklı koşullarda muhafaza edilirler (Çizelge 2.4) (22). Ambalajı açıldıktan sonra, kartuş ve kalemler asla buzdolabına konmamalıdır.

2.2.9. Uygulama Yolları

İnsülinin bulunması, diyabet tedavisinde yeni bir çığır açmıştır. Geçen 75 yıl süresince insülin, çoğunlukla subkütan yolla uygulanmıştır (45). Ancak, bu süre boyunca, sistemik insülin uygulamasına alternatif oluşturacak yeni dozaj şekillerinin geliştirilmesine yönelik pek çok çalışma yapılmıştır (46). Maalesef bunların hiçbiri insülinin fizyolojik sekresyonunu tam anlamıyla taklit edebilecek düzeyde değildir.

Subkütan insülin enjeksiyonu yaygın bir biçimde kullanılmaktaysa da uygulama esnasında az da olsa ağrı oluşturduğundan ve insülini sabit olmayan bir kinetikle yavaş serbestlediğinden en ideal dozaj şekli ve uygulama yolu olarak ifade edilemez (47). Aynı bireyde, aynı dozla bile farklı serum glikoz konsantrasyonları elde edilebilmektedir (48). Her zaman aynı kan glikoz konsantrasyonuna ulaşmak zordur. Hipoglisemi gibi yan etkilerle karşılaşılabilir (49). Bu nedenle, son yıllarda, normoglisemik değere ulaşmak ve bu değerde uzun süre kalabilmek için insülinin etkisinin başlamasını geciktirmek amacıyla çalışmalar yapılmakta, yeni dozaj şekilleri hazırlanmaktadır.

Yoğun ve kontrollü glikoz uygulamasının etkinin başlamasını geciktirdiği ve Tip 1 diyabette karşılaşılan mikroanjyopatik komplikasyonların ortaya çıkmasını nispeten önlediği tespit edilmiştir (50). Benzer durum, İngiltere’de Tip 2 diyabet hastalarında yapılan çalışmada da görülmüştür (51, 52). Bu yüzden, uzun süre normoglisemik plazma glikoz düzeylerinin (70-120 mg/dl) sürdürülmesi için yeni dozaj şekillerinin ve uygulama yollarının geliştirilmesi önemlidir (53). Bu konuda en başarılı yaklaşımlardan biri, insan insülin analoglarının geliştirilmesi ve diyabet tedavisinde kullanımı olmuştur. Çünkü, bu analoglar, mükemmel bir farmakokinetik profile sahiptir. Diğer bir önemli yaklaşım ise, noninvaziv yöntemlerle insülinin uygulanmasıdır.

Çizelge 2.5 Oda sıcaklığında insülinin muhafaza koşulları (22).

Ürün adı	Ambalaj Tipi	Oda Sıcaklığında Dayanıklılık Süresi (gün)
Humulin (R, NPH, Lente, ltralente) Novolin (R, NPH, Lente)	Flakon	28
Humulin Regular, Novolin Regular	Kartuş	28
Humulin		
NPH	Kartuş	7
NPH	Kalem	14
70/30	Kartuş	7
70/30	Kalem	10
Novolin		
NPH	Kartuş	14
70/30	Kartuş	10
Humalog	Flakon, Kalem	28
Novolog	Flakon, Flex Kalem	28
Humalog Mix 75/25 Pen 10 days		
Novolog Mix 70/30	Flakon	28
	FlexPen	14
	Kartuş	14
Lantus	Flakon	28
Innolet		
70/30	İlaç Taşıyıcı Sistem	10
NPH		14
R		28
Velosulin BR	Flakon	30

Periferik insülin, subkütan ya da intravenöz yolla uygulanır. Subkütan uygulama, değişken emilim profili ve hiperinsülinemiden dolayı çok güvenilir bir uygulama yolu değildir (54). Hiperinsülinemi, hastanın kilo almasına ve ateroskleroza sebep olmaktadır. İnsülin, yağların yakılmasını azaltır, kasların yıkımını arttırır. Ayrıca, kalorik glikoz tüketimini ve idrarla atılımını azaltır (55).

Normoglisemik bir kişide, pankreasın beta hücreleri insülini doğrudan portal vene salgılar. İnsülinin %50'si ilk geçiş etkisine maruz kalır. Karaciğer, normal koşullarda, periferik dokulardakinden 3-10 kez daha fazla insülin konsantrasyonu karşı karşıya gelir (56). Periferik uygulama, normoglisemik olmayan bir kişinin vücuduna insülin verilmesini sağlar. Burada, insülin, portal sirkülasyon yerine önce, sistemik dolaşıma girer. Dolayısıyla, insülinin normoglisemik kişilerde ortaya çıkan ilk geçiş etkisi, diyabet hastasında insülin enjeksiyonu ile engellenebilir. Sonuç olarak, periferik dokular, endojen insülinde çok daha yüksek konsantrasyona maruz kalır.

İntravenöz uygulama, beraberinde birtakım komplikasyonları da getirmektedir. Bunların en önemlileri; sepsis ve trombozdur (57). Bu yüzden, tedaviye intravenöz uygulama ile başlayan hastaların pek çoğu daha sonra, intraperitoneal uygulamaya yönlendirilmiştir (58).

İnsülin infüzyonunun intraperitoneal uygulanmasının en önemli üstünlükleri, portal sistem ve karaciğere doğrudan absorpsiyonunun mümkün olmasıdır (52). Peritonda çözünen insülinin hemen hemen tamamı hızla portal dolaşıma geçer ve uygulanan dozun %50'si ilk geçiş etkisi ile metabolize olur. Portal insülin konsantrasyonu artarken, sistemik insülin konsantrasyonu normal pankreatik insülin salımını taklit eder ve düşer (55).

İnsülinin peritondan sistemik dolaşıma geçişi, subkütan uygulamadakinden daha güvenilirdir (48). Subkütan uygulamada ise, insülin emilimi değişkendir ve lokal degradasyon minimum düzeyde görülür. Bu, özellikle, postprandiyal gliseminin kontrolü açısından önemlidir. İntraperitoneal uygulamayı takiben 15 dakika içinde serum insülin düzeyleri maksimuma ulaşır. Subkütan uygulamada ise, bu ancak, 60-90 dakika sonra mümkün olur.

İntraperitoneal uygulamanın diğer üstünlükleri ise, kan glikoz düzeylerinde dalgalanmanın daha az olması, lipid metabolizmasının daha az değişmesi ve uygulanan ilaca karşı daha az immun reaksiyonun gelişmesidir.

İnsülin enjeksiyon sistemlerinin başlıcaları:

a. Enjeksiyon kalemi: Dolma kaleme benzer (22). Bir ucunda kartuşu, diğer ucunda pistonu vardır (Şekil 2.4). Kartuştaki gösterge, istenilen dozun seçilmesini sağlar. Normal enjektörden daha pahalıdır. Fakat kullanışlıdır ve dozlama daha doğrudur. Topluluk içinde, okulda veya işte iğne ve enjektör kullanmaktan hoşlanmayan hastalar için idealdir. Her insülin türü kullanılamaz Uygulama esnasında 1-2 doz kaybı olur.



Şekil 2.4 İnsülin enjeksiyon kalemi.

b. Jet enjektörleri: Yüksek hızda insülini ince partiküller halinde püskürtür. Böylece, doğrudan deriden geçer. İğne kullanmaktan hoşlanmayanlar için idealdir. Ancak, pahalıdır. Özellikle zayıf kişilerde çürümeye sebep olabilir (22).

c. Flakondan insülin enjektörü ile: Günde tek doz, 2 doz veya 3-4 kez özel insülin enjektörü ile uygulanır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 İnsülin enjektörü.

Enjeksiyon uygulanırken edilirken iğne, deri altındaki dokuya ulaşacak derinliğe kadar gitmelidir (22, 23). Dokunun ince olması halinde, iğne yanlışlıkla kasa gelebilir. İnsülin hızla emilir. Kısa uçlu bir iğne ile (6 mm) kullanılarak veya daha yağlı bölgeye

enjeksiyon yapılarak bundan kaçınmak mümkündür. Muhakkak flakonun açıldığı tarih kaydedilmelidir. Asla çalkalanmamalıdır. Aksi takdirde, insülin parçalanabilir. Enjeksiyon gerçekleştirilmeden önce, şişede çökme, kristal oluşumu veya bulanıklık var mı kontrol edilmelidir.

Enjeksiyon bölgeleri; bacaklar, karın bölgesi, kalça ve üst kollarıdır (Şekil 2.6) (22). Enjeksiyon yapılırken aynı bölge içinde kalacak şekilde yerinin değiştirilmesi gereklidir. Aksi halde, sürekli aynı noktaya enjeksiyon yapmaktan ötürü ödem oluşur ve bunun sonucunda insülinin kan glikoz düzeylerine etki etmesi zorlaşabilir.



Şekil 2.6. Enjeksiyon bölgeleri.

2.2.10. Dozaj Şekilleri ve Cihazlar

İnsülin, yaygın olarak görülen kronik bir hastalık olması nedeniyle, dozaj şekli geliştirmek amacıyla üzerinde en çok çalışılan etkin maddelerden biridir. Geleneksel dozaj şekillerinin yanısıra, modern terapötik sistemler de insülin formülasyon çalışmalarında denenmiştir (Çizelge 2.5) (59). Ancak, bunların çoğunun faz çalışmaları hala sürmektedir.

En çok kullanılan insülin infüzyon dozaj şekilleri ve buna imkan veren cihazlar, açık veya kapalı sistem oluşlarına ya da glikoz sensörü içerip içermemelerine bağlı olarak sınıflandırılırlar (60):

- a. İnsülin pompası
- b. Bilgisayar kontrollü insülin pompası
- c. İmplant edilen hidrojeller
- d. İnsülin üreten dokuların nakli

e. Yapay Pankreas

2.2.10.1. İnsülin pompaları

İnsülin pompaları, açık sistemlerdir (Şekil 2.7). İlk sistem, 30 yıl önce geliştirilmiştir. Tekrarlanan subkütan enjeksiyonları azaltmak ve dolayısıyla, hasta uyuncunu arttırmak amacıyla dizayn edilmişlerdir. Pompa, insülin doldurulmuş enjektör içeren bir cihazdır. Çağrı cihazı büyüklüğündedir. Cepte taşınabilir. Bele takılabilir. Cihazdan ince plastik bir tüp çıkar ve ucunda iğne vardır. Genellikle, iğne, karın bölgesine, baldıra veya üst kola subkütan uygulanır. Pompa, her zaman küçük ama sabit miktarda insülin alımını sağlar. Buna “bazal doz” denir. Yemeklerden önce, ayrıca, ekstra bir doz verilebilir. Buna da “bolus dozu” adı verilir. İnsülin pompası, programlanabilir. Doz verilerini hafızasında saklayabilir. Glikoz seviyesinde dalgalanma olan kişiler için idealdir. Uykudayken insülin düzeyini kontrol altında tutar. Daha esnek yemek ve aktivite programı uygulanmasını mümkün kılar.



Şekil 2.7. İnsülin pompası.

İnsülin pompalarının dezavantajları; pahalı oluşları, kullanılan tüpün zamanla tıkanabilmesi, iğnenin yerinden çıkması, enjeksiyon bölgesinde enfeksiyon gelişme olasılığının yüksek olması ve yüksek ketoasidoz riskidir. Pompa kullanan kişilerde kan glikoz düzeylerinin sık sık kontrol edilmesi gerekir.

Günümüzde en çok kullanılan insülin pompaları; DMS (Disetronic Medical Systems, Amerika), MiniMed (Sylmar), ve Animas (Frasier)'tır.

İnsülin pompaları, diyabet hastalarında normoglisemiye ulaşılmasında ve bu glikoz düzeyinin uzun süre sürdürülmesinde etkili olmasından ötürü, en iyi insülin dozaj şekillerinden biri olarak kabul edilmektedir. Doz, kolayca bireyselleştirilebilir. Uzun

sürelili kullanımda klasik insülin uygulamasına kıyasla, komplikasyon oluşma riski

Çizelge 2.6 İnsülin formülasyonunda kullanılan modern terapötik sistemlerden örnekler.

İlaç taşıyıcı sistem	Uygulama Yolu	Ürün Adı	Geliştiren Firma	Araştırmanın Bulunduğu Aşama
Amfifilik polimer konjugatlar	Oral	---	Nobex Co.	Faz II
Mikroküre	Oral	---	Emisphere	Faz II
Mikrokapsül	Oral	Macrulin™	Provalis	Faz I
RapidMist™ adlı inhaler	Bukkal	Oralgen™ Oralin™	Generex Biotech	Faz III
Pulmosol toz teknolojisi	Pulmoner	---	Inhale Therapeutics	Faz III
Pille güdümlü Spiros sistemi™	Pulmoner	---	Dura Pharmaceuticals	Faz II
Lipozom	Oral	Orasome™	Endorex	Prelinik çalışmalar
Düşük dansiteli poröz partiküller (AIR™ teknolojisi)	Pulmoner	---	Alkermes	Faz I
Topikal toz (He gazı ile penetrasyon)	Topikal	---	PowderJect	Prelinik çalışmalar
İyontoforez	Transdermal	E-Trans™	Alza	Prelinik çalışmalar
Mikropor	Transdermal	---	Altea Dev.	Prelinik çalışmalar
Mikrokapsül	Transdermal	Biphax™	Helix Biopharma	Prelinik çalışmalar
Lipozom	Transdermal	Transferosomes™	Idea	Prelinik çalışmalar
Nanopartiküller	--	Basulin™	Flamel Technologies	Faz I
MLV lipozom (SR)	Transdermal	Depofoam™	Depotech	Prelinik çalışmalar

düşüktür. HbA1c düzeylerinde azalmaya sebep olur (50). Lipid düzeylerindeki anomalileri düzeltir (61, 62). Retinopati riskini azaltır (63).

İnsülin pompalarının en önemli üstünlükleri; daha fizyolojik olmaları, sabit insülin emilim profilinin elde edilebilmesi, yaşam standartları konusunda esneklik sağlaması ve kolay taşınır olmasıdır. Sirkadyan ritme uygun olarak bazal insülin düzeyini düşürür (64). Hastanın egzersiz yaptığı saatlerde plazma glikoz düzeylerini azaltma ve hareketsiz kaldığı anlarda ise arttırmaya yönelik programlama yapmak mümkündür (65). İnsülin lispro, insülin pompası ile birlikte kullanıldığında, daha iyi glisemik kontrol sağlamaktadır (63).

Bazı insülin pompaları, implante edilebilir. Bunlar, kapalı sistemlerdir. 3 kısımdan ibarettir: glikoz sensörü, pompa ve bilgisayar kontrol ünitesi (66). Hasta, bolus insülin dozlarını bir uzaktan kumanda yardımıyla uygular.

İnsülin pompalarında hastanın hareketi, sıcaklık değişiklikleri, pompa yüzeyi ile temas gibi nedenlerden ötürü, uygulanan insülin dozu değişkenlik gösterebilir. İnsülinin aktivitesini azaltan agregatlar oluşabilir veya kateter içinde protein çökebilir. Bunu önlemek için, insülin tamponlanmalı ve formülasyona viskozite artırıcı maddeler ilave edilmelidir.

2.2.10.2. Hidrojeller

Geri dönüşümlü sol-jel transformasyonuna bağlı olarak insülin serbestleyen hidrojeller, “oto-regülatör ilaç taşıyıcı sistemler” olarak geliştirilmiştir. Burada söz konusu olan sol-jel dönüşümü, pH veya sıcaklık etkisi ile gerçekleşebilecek şekilde düzenlenebilir. Hidrate durumda, mükemmel biyoyoum gösterirler.

Park ve ark. tarafından geliştirilen glikoza-hassas hidrojeller, glikoz içeren polimerler ile PEG’li konkanavalin A (Con A) karışımından ibarettir (67). Allil glikozun 3-sülfopropilakrilatın potasyum tuzu, N-vinil prolidon ve akrilamid gibi komonomerler yardımıyla kopolimerizasyonu sonucunda polimerik yapıya glikoz ilave edilir. Bu şekilde, diffüzyon kontrollü rezervuar ve matriks sistemler ile aşınma kontrollü matriks sistemler incelenmiştir. İn vitro çalışmalar, insülin salımının başlangıcının 30 dakikalık bir gecikmeye (lag-time) uğradığını göstermiştir. Bundan sonra, insülin salımı, 2 saat sürmüştür. Burada en önemli sorun, insülin salımının glikoz

konsantrasyonundaki değişimlere çok yavaş yanıt vermesidir. Bunu önlemek için, glikoza hassas membran ve matriks sistemleri kullanılmıştır.

Traitel ve ark. ise, pH-kontrollü sistemlerle çalışmıştır. Burada, 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), N,N-dimetilaminoetil metakrilat (DMAEMA) ve tetraetilen glikol dimetakrilat (TEGDMA) kullanılarak hidrojel hazırlanmıştır (68). Glikoz oksidaz, pH'ya hassas polimer ile immobilize edilmiş, doymuş insülin çözeltisi de bu hidrojele ilave edilmiştir. Eksternal glikoz konsantrasyonu arttıkça, glikoz membrana diffüze olmakta; glikoz oksidaz da glikozun glikonik aside dönüşümünü kataliz etmektedir. Bunun sonucu olarak, mikroortamda, pH düşer; membran şişer ve insülin geçirgenliği artar. Bu sistemin glikoz konsantrasyonundaki değişime yanıt verme süresi, mikroortamda oksijen olup olmasına bağlıdır. Bu, tüm implante edilebilen glikoz oksidaz tabanlı hassas cihazlarda karşılaşılan en önemli dezavantajdır. Bu sistemlerin diğer bir dezavantajı; hidrojel içerisinde hapsedilmiş olan insülinin uzun süreli kullanımda aktivitesini yitirmesidir. Bazı durumlarda, sistem sızma yapabilir. Bu da, insülinin hızla istem dışı serbestlenmesine neden olur. Hastanın hemen acil servise kaldırılması ve acil müdahale gerekir (22).

2.2.10.3. Oral İnsülin Uygulaması

İnsülin, kolayca barsaklar ve rektal mukozadaki interselüler kanallardan diffüze olabildiğinden oral yolla uygulanabilir (69). Oral yolla uygulandığında, insülin, barsaklardan doğruca karaciğere geçer. Portal dolaşıma yüksek oranda insülin ulaşır. Bu da, pankreasın fizyolojik sekresyon işlevini taklit eder. İnsülin, makromoleküler bir peptid olduğundan, oral yolla verildiğinde, hızla denatüre olur ve gastrointestinal kanalda proteolitik enzimlerce degradasyona uğrar. Bunu önlemek için, polimerlerle kaplama veya lipozom hazırlanması önerilmiştir. Ramdas ve ark., aljinat-kitozan jel kapsüllerini lipozomla enkapsüle etmişlerdir. Böylece, kapsüllerin insülin yükleme kapasitesi artmıştır. Öte yandan, lipozomal formülasyon diyabetik sıçanlara gavajla oral yolla verildiğinde, insülinin asidik mide ortamında değil de nötral barsak ortamında serbestlendiği gözlenmiştir. Bu da sonuç olarak, kan glikoz düzeylerinin düşmesini sağlamıştır (70).

Bir başka çalışmada, insülin amidasyona uğratılmış pektin hidrojel boncukları içinde tutulmuştur (71). Yine, tavşanlarda yapılan bir çalışmada ise, insülin poli-L-laktik asit (PLL) kullanılarak enkapsüle edilmiştir. Bu çalışmaların her ikisinde

de insülin biyoaktivitesini yitirmemiştir. Ancak, oral uygulanan enkapsüle insülinin kan glikoz seviyelerini düşürücü etkisi, değişkendir ve önceden tahmin edilmesi güçtür. Bu, değişken gastrointestinal emilimden kaynaklanıyor olabilir. Hastanın aç olması, alınan yiyeceklerin miktarı ve cinsi, içilen su miktarı, peristaltik hareketler, midenin boşalma süresi ve hızı ile sindirimle ilgili sorunlar gibi çeşitli faktörler buna yol açabilir (72). İşte, tüm bu sebeplerden ötürü, oral uygulama, klinikte, insülin enjeksiyonuna iyi bir alternatif teşkil etmez.

2.2.10.4. Pulmoner İnsülin Uygulaması

Akciğerlerin yüzey alanının fazla olması, iyi damarlanma, ultra-ince alveolar epitel ve yüksek solüt alışverişi, pulmoner uygulama yolunu, peptid ve protein yapısındaki ilaçlar için uygun bir seçenek haline getirmektedir (73). Son yıllarda yapılan çalışmalar, inhaler insülinin subkütan insüline alternatif olarak ortaya çıkmasını sağlamıştır. Tip 1 hastalarında yapılan rastgele kontrollü klinik çalışmalar, pre-prandiyal inhale intrapulmoner insülin ve yatarken yapılan ultralente enjeksiyonunun, günde 3 kez yapılan subkütan insülin enjeksiyonuna eşdeğer glisemik kontrol sağladığını göstermiştir (74). Benzer sonuçlar, yemekten sonraki insülin salımı ile de ilgili olarak elde edilmiştir.

Inhale insülin taşıyıcı sistem, insülini kuru toz halinde içerir. Ağız yoluyla inhaler uygulanır ve inhale edilen insülin doğrudan akciğerlere gider. Akciğerlerden sistemik dolaşıma katılır. Kuru toz halinde hastaya verildiği için, bu sistemin kullanılmadığı zamanlar buzdolabında muhafaza edilmesi gerekmez. Bu da özellikle, üçüncü dünya ülkelerinde yaşayan hastalar açısından önemli bir üstünlüktür (75).

Tip 1 diyabetli hastalarda, inhaler insülin, glisemik kontrolü sağlarken hasta uyuncunu da artırır (75). Bu sistemin en büyük dezavantajları; kullanılan insülin miktarının sadece %30'nun akciğerlere ulaştırılması, mukoz membranlardan geçişin kötü olmasıdır. Bu da, insülin yüksek dozda uygulanmasını ya da formülasyona penetrasyon arttırıcıların ilavesini gerektirir. Penetrasyon arttırıcı maddeler ise, nazal iritasyon, rinore gibi dozun kolayca değişmesine yol açan komplikasyonlara neden olabilir. İnsülin dozlamı tam ve kesin olmamaktadır. Tüm bu sınırlamalara rağmen, yakın zamanda inhaler insülin piyasaya çıkmıştır. Özellikle, yatalak hastalar, tropiklerde yaşayanlar için alternatif dozaj şekli olarak görülmektedir.

2.2.10.5. Transdermal İnsülin Uygulaması

Tekrarlanabilir ve yeterli dozlarda insülinin deriden geçişine imkan vermez (76). Bu sorunları ortadan kaldırmak için formülasyonlara, penetrasyon arttırıcı maddeler ilave edilebilir ya da insülinin deriden geçişi iyontoforez, elektroporasyon ve ultrason gibi yöntemlerle iyileştirilebilir (77-80).

Düşük elektrik akımının stratum corneumun geçirgenliğini önemli ölçüde değiştirdiği bilinmektedir. Bu sayede, insan insülinin fizyolojik dozlarda transdermal absorpsiyonu istenen düzeyde sağlanabilir (81).

2.2.10.6. Oküler Yolla İnsülin Uygulaması

Kedilerde yapılan bir çalışmada, insülinin penetrasyon arttırıcılar varlığında, oküler yolla uygulanması incelenmiştir (82). Ancak, serum glikoz ya da insülin konsantrasyonu değiştirmedeği tespit edilmiştir.

2.2.10.7. Rektal İnsülin Uygulaması

Yamasaki ve ark., insülin içeren rektal supozituar hazırlamış ve bunları, normoglisemik kişilerle Tip 2 nonobez diyabet hastalarında denemiştir. Günde 3 kez yemeklerden sonra, insülin supozituarı uygulanan hastalarda postprandiyal hipergliseminin önemli ölçüde iyileştiği ve idrarda glikoz miktarının azaldığı tespit edilmiştir (83).

1988'de Ritschel ve ark. ise, insülin içeren pH 8 tampon çözeltisi ile hazırlanmış bir emülsiyon sistemi kullanarak rektal jeller formüle etmişlerdir (84). Ancak, rektal absorpsiyonun hızının önceden tahmin edilmesinin güç olması ve biyoaralanımının düşük oluşundan dolayı, rektal yol, klinik açıdan subkütan uygulamaya alternatif teşkil edemez. Üstelik hasta uyuncu da oldukça düşüktür.

2.2.11. İlaç Etkileşimleri

İnsülinin etkisini değiştiren bazı ilaçlar mevcuttur (10, 22). Bunlar, hipoglisemiye neden olabilir. Bu ilaçların kullanımı neticesi hipoglisemi oluşumunu önlemek için, insülinin dozunun azaltılması gerekir. Bu ilaçların başlıcaları: alkol, fenelzin gibi MAO (monoamino oksidaz) inhibitörleri, propranolol gibi beta blokörler, aspirin gibi salisilatlar ve metiltestosteron gibi anabolik steroidlerdir. Bu etki,

tetrasiklinler (ör.: doksisiklin), guanetidin, bazı oral antidiyabetik ajanlar (ör.: gliburid), sulfadiazin ve kaptopril gibi ilaçlarla birlikte kullanım halinde çok daha az şiddette ortaya çıkar.

Nadiren olsa da bazı ilaçlar, birlikte kullanıldıklarında insülinin etkisini azaltırlar (22). Bunların en önemlileri; diltiazem, niyasin, prednison, östrojenler, oral kontraseptifler, levotroksin, isoniyazid, hidroklorotiyazid ve furosemiddir.

2.2.12. Sınıflandırılması:

İnsülinler, etki süresinin başlangıçlarına, etkinin en yüksek olduğu zamana ve etki süresinin uzunluğuna göre sınıflandırılır (10, 22):

a. Hızlı etkili insülin analogları: etkileri çabuk başlar. Yemekten hemen önce uygulanmalıdır. Etki süreleri 3-5 saat arasındadır. Görünümleri berraktır. Başlıcaları: insülin lispro ve asparttır.

i. İnsülin lispro:

14 Haziran 1996'da FDA'den onay almış bir insülin analogudur (10, 22). İnsülin molekülünün B28 (prolin) ve B29 (lizin) amino asit sekansları, insülin lispro'da tam ters yöndedir; lizin-prolin şeklindedir. Bu da, emilimin 15 dakika gibi çok kısa bir süre de gerçekleşmesini sağlar. Bu yüzden, etkisi çabuk başlar ve pik plazma konsantrasyonuna çok çabuk ulaşır. Regular insülininden etki süresi daha kısadır.

Humalog bir insülin lispro ürünüdür ve yemekten hemen sonra enjekte edilmelidir. Hastaya öğün ayarlamada, daha esnek olma ve güvenle yemek yeme imkanı tanır. Postprandiyal plazma glikoz düzeylerini düşürmede daha etkili olabilir ve hipoglisemi riskini azaltır (10, 22). Bunun nedeni, insülin etkisinin ve gıda emiliminin çok daha iyi olmasıdır (22). Ayrıca, daha az immünojeniktir (10, 22).

ii. İnsülin Aspart:

İnsülin aspart, 7 Haziran 2000'de FDA tarafından onaylanmış bir insülin analogudur. İnsülin molekülünde, B28 amino asidi prolin yerine aspartik asit bulunur. Bu da etkinin çabuk başlamasına sebep olur. İnsülin aspart, yemekten 5-10 dakika önce enjekte edilmelidir. İnsülin lispronun avantajlarına sahiptir (22).

Novolog, insülin pompalarında kullanılmak üzere geliştirilmiş bir insülin aspart ürünüdür. Molar bakımdan lispro ile aspart aynı in vivo etkinliğe sahip olmasına rağmen, aspart ile daha yüksek pik plazma konsantrasyonlarına erişilmektedir (22).

Dolayısıyla, regular insülininden insülin aspart veya lisproya geçerken 1:1 oranı kullanılsa da zamanla doz düşürülebilir. Bu doz değişikliği, daha iyi postprandiyal kontrol elde edilmesini sağlar.

b. Kısa etkili insülin (22): Regular insulinin etkisi yarım saatte başlar ve 8 saat sürer. Yemekten yarım saat önce enjekte edilmelidir. Görünümü berraktır. Hasta uyuncu düşüktür.

c.Orta etkili insülin (Nötral protamin hagedorn: NPH) (10, 22): NPH ve lente insülin, orta etkili insülinlerdir. Farmakodinamik profilleri, genellikle, birbirine benzer. Etki 1 saatte başlar. 6-14 saatte pik değerine ulaşır ve bu etki, doza bağlı olarak 24 saat sürer. Lente insülinin pik değerine nispeten daha geç ulaşılır. Orta etkili insülinler, uygulama zamanına bağlı olarak, bazal insülin ve/veya prandiyal insülin görevi görürler. Genellikle kısa etkililerle karıştırılarak veya onlara ek olarak kullanılır. Görünümü bulanıktır.

c. Uzun etkili insülinler:

Bazal insülin görevi görürler (10, 22). Bunlardan Ultralente 24 saat etkiye sahiptir. Ancak, hastaların çoğu, 24 saat boyunca, hepatik glikoz çıkışını baskılamak için yeterli düzeyde bazal insüline gereksinim duyarlar ve bunun için günde iki kez bu insülini uygularlar. Ultralente'nin pik etkisi yoktur.

d. Hazır karışım insülin analogları (22): Hızlı etkili insülin analogu glarjin ile protamine edilmiş hızlı etkili insülin analogunun belli oranda karışımıdır. Yemekten hemen önce enjekte edilebilir. Unutulursa, yemekten 15 dakika sonrasına kadar enjekte edilebilir. Genellikle sabah kahvaltı öncesi ve akşam yemeği öncesi olmak üzere günde 2 defa kullanılır. Bulanık görünümlüdür.

e. Hazır karışım insülin (22): Kısa ve orta etkili insülinin önceden karıştırılmış halidir. İnsülinin günde 2 kere alınması halinde genellikle kısa ve orta etkili insülin karışımı kullanılır. Bulanıktır.

2.3. DERİ

Derinin kendisi, transdermal preparatlar için önemli bir etkidir. Deri ve deriye ait özellikler, deriden penetre olan ilaç miktarına etki eder (85).

2.3.1 Derinin Yapısı

İnsan derisi, birçok bileşenden ibaret, yaşayan, dinamik bir membrandır (86). Vücudun en büyük organı olup, vücut ağırlığının %16'sını meydana getirir. Yetişkin bir bireyde insan derisinin yüzey ölçümü 1.5-3.0 m²'dir (85). Derinin vücudun farklı kısımlarında kalınlığı ve bileşimi değişiklik göstermektedir (87, 88).

Derinin başlıca görevleri; organizmayı fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik etkenlere ve UV ışığının zararlı etkilerine karşı korumak, vücut sıcaklığı ile ısı içeriğini ayarlamaktır. Derinin pH'sı: 4.5-6.5 arasında değişir (89).

Deri, anatomik açıdan kompleks bir yapıdadır. Genel olarak, 3 ana tabakadan ibarettir:

1. Epiderma: derinin en dış tabakası.
2. Derma: derin tabaka
3. Hipoderma: deri altı yağ dokusu

2.3.1.1 Epiderma

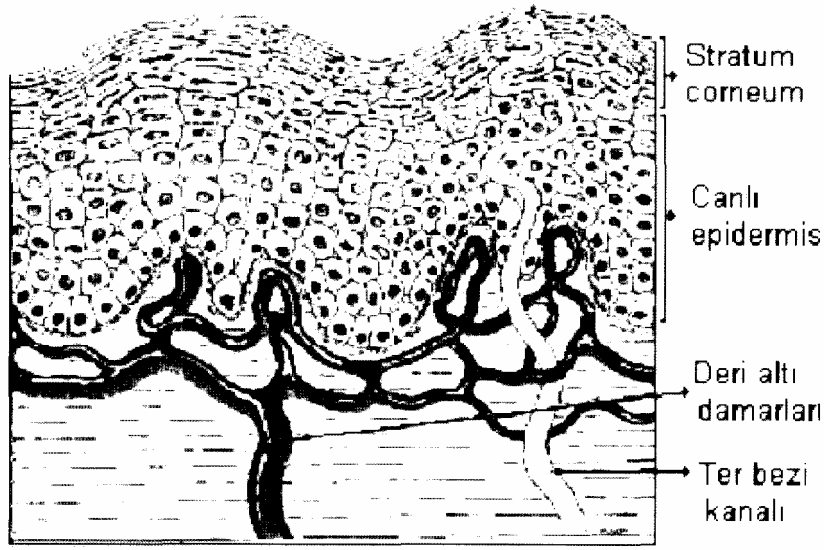
Derinin yüzeysel tabakasıdır (87). Lokal etkili ilaçların ve kozmetik preparatların uygulandığı tabakadır. Beş farklı kısımdan ibarettir:

- a. Stratum corneum
- b. Stratum lucidum
- c. Stratum granulosum
- d. Stratum spinosum
- e. Stratum germinativum

Bu tabakalardan son dördü, canlı epidermayı oluşturur.

2.3.1.1.1 Stratum corneum

Tamamen keratinize olmuş, ölü ve ince hücrelerden yapılmış, metabolik olarak inaktif bir tabakadır (87). Alttan gelen hücrelerle sürekli kendini yeniler. İç kısmı, su kaybını önleyici işleve sahiptir. Bu tabakanın dış kısmı ise, yabancı maddelerin girişine karşı bir bariyer görevi üstlenmiştir.



Şekil 2.8. Epiderminin yapısı.

Stratum corneumun bileşiminde yer alan keratin, higroskopik özelliğe sahiptir. Polar çözücülerde çözünen hidrofilik ilaçlar için depo özelliği gösterir. Bu durum, özellikle, su penetrasyonu açısından önemlidir. Lipofilik etkin maddeler için ise, stratum corneum, hız sınırlayıcı engel oluşturur (90-92).

2.3.1.1.2 Canlı epiderma

4 farklı tabakadan oluşur. Proteinler gibi molekül ağırlığı büyük olan ilaçların deriden geçişinde bariyer görevi görür.

Bu tabakalardan, Stratum lucidum; ince ve yağmsı bir tabakadır. Su geçişini düzenler (93). Stratum granulosum ise, derinin matlığını ve beyazlığını sağlar (93). Stratum spinosum, tek sıralı hücrelerden oluşmuş bir tabakadır.

2.3.1.2 Derma

Deriye esneklik ve dayanıklılık veren bu tabaka; kıl folikülleri, yağ ve ter bezleri, sinir uçları, kan ve lenf damarlarını içerir (93, 94).

2.3.1.3 Hipoderma

Derma'nın altında yer alan gevşek bir yağ dokusudur (85). pH'sı 5-6'dır. Buna derinin asit mantosu adı da verilir. Deriyi dış etkenlerden korur.

2.3.2 Deriden Geçiş

Etken maddenin deriden geçişi, pasif diffüzyonla gerçekleşir. Pasif diffüzyon, moleküllerin yüksek konsantrasyonlu bir bölgeden düşük konsantrasyonlu bölgeye geçiş işlemidir (kinetik kitabı). Pasif diffüzyonu başlatan güç, hücre membranı ile, membranın diğer tarafındaki konsantrasyon farkıdır. Bu durum, Fick'in 1. kanununa uygunluk gösterir (95):

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{DAK}{h} \Delta C$$

dQ/dt : diffüzyon hızı

D: diffüzyon katsayısı

K: partiyon katsayısı

A : membranın yüzey alanı

h : membran kalınlığı

ΔC : konsantrasyon farkı

Membranın her iki tarafı arasındaki konsantrasyon farkı Şekil 2.9'da gösterilmektedir (96).

Membrandan ilacın maksimum geçişi, genellikle deri üzerinde yerleşmiş olan taşıyıcıdaki ilacın doymuş konsantrasyonu ile gerçekleşir. Tabakalı bir yapıya sahip olan derinin her bir tabakasının ilacın geçişi için ayrı bir membran oluşturduğu düşünölmektedir. 3 tabakadan ibaret olan bu membranın direnci ise aşağıdaki eşitlikle ifade edilir:

$$R_{TOTAL} = \Sigma r_{RT} = R_1 + R_2 + R_3$$

R: tabaka direnci

R1: stratum corneum

R2: canlı epiderma tabakası

R3: derma tabakası

Bir ilaç molekülünün deriden penetrasyonuna karşı en çok direnç gösteren tabaka, stratum corneum tabakasıdır. Derma ise, ilaçlar için depo görevi üstlenmiş

tabakadır (86). Fick'in 1. kanunu, penetrasyonun denge durumunda olduğu haller için geçerlidir. Diğer durumlarda ise, Fick'in 2. kanunu uygulanmaktadır.

$$\frac{dC}{dt} = D \frac{d^2C}{dx^2}$$

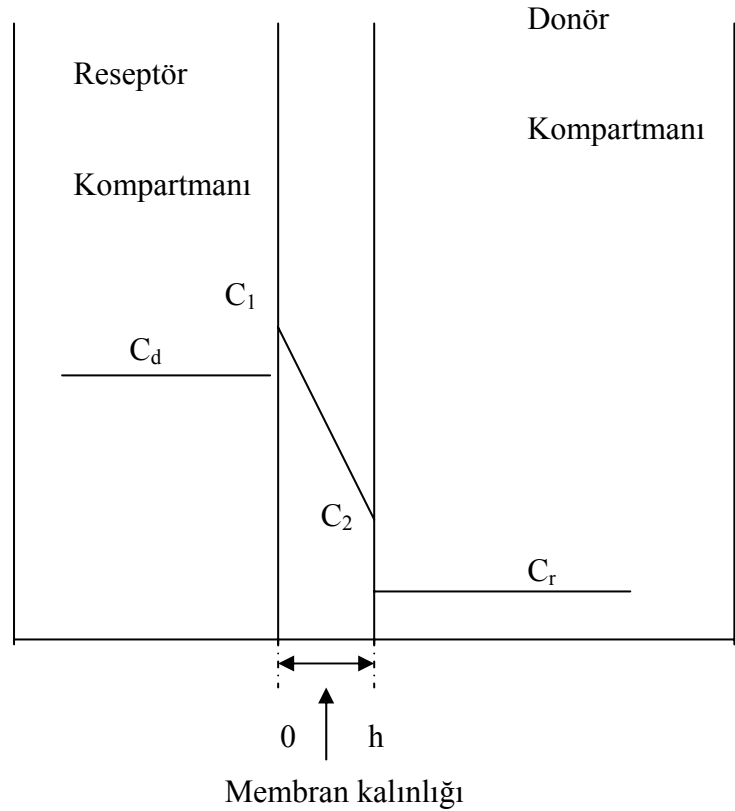
C: diffüzyona uğrayan madde konsantrasyonu

t: zaman

D: diffüzyon katsayısı

X: kalınlık

Yukarıdaki eşitliğe göre, diffüzyon bölgesindeki bir noktada zamanla konsantrasyonda meydana gelen değişme hızı, o noktada, konsantrasyon farkında oluşan değişim hızı ile orantılıdır (97).



$$K = C_1/C_d = C_2/C_r$$

Şekil 2.9. Membranın her iki tarafındaki konsantrasyon farkına bağlı olarak gerçekleşen pasif diffüzyonunun şematik gösterimi.

2.3.3 Perkütan absorpsiyon (Deriden Emilim)

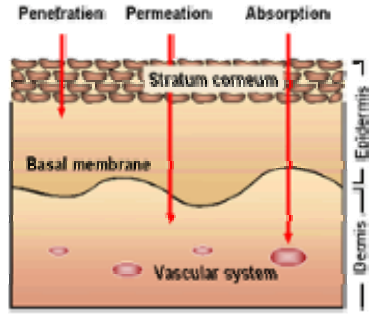
19. yüzyılın sonlarına kadar, ilaçların deriden geçemediği düşünölmekteydi. Ancak, daha sonraları, iyonize tuzlar, elektrolitler ve suda çözünen maddelerin penetrasyonu incelendiğinde, yağda çözünen maddelerin deriden yüksek oranda emilebildiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar, derinin kılcal kan damarları zengin bir ortam oluşturması nedeniyle, sistemik etkinin elde edilebilmesi için etkin maddelerin deriye uygulanmasının mümkün olacağını göstermiştir. Deri yoluyla uygulanabilen ilk etkili dozaj şekli 1970'li yıllarda geliştirilmiştir (98).

Deri üzerine uygulanan etkin maddenin sistemik etki gösterebilmesi için ön koşul, perkütan absorpsiyondur. Perkütan absorpsiyon, ilk defa 1954 yılında, Rothman tarafından tanımlanmıştır. Deriye uygulanan bir dozaj formundan etkin maddenin salınıp, deriden penetrasyona uğradığı ve daha sonra, damarları geçerek kan dolaşımına katılıp, sistemik etki gösterdiği tespit edilmiştir (99). Derideki engellerin karmaşık olması nedeniyle, deriden geçişle ilgili sorunların çözümlenmesi kolay olmamaktadır (100). Deriye uygulanan etkin maddelerin deriden penetrasyonu 3 yolla gerçekleşir (Şekil 2.10):

1. Stratum corneum hücrelerinin arasından ve hücrelerin içinden
2. Kıl foliküllerinden
3. Ter ve yağ bezlerinden.

Stratum corneum, perkütan absorpsiyonda, bariyer görevi üstlenir. Eğer, derinin stratum corneum tabakasını çıkartırsak, elde edilen derinin tam deriye oranla daha fazla geçirgen olduğunu görürüz (101). Stratum corneumun hız sınırlayıcı bariyer özelliği, kimyasal içeriği ile ilişkilidir. Bu tabakanın yapısında lifli bir protein olan keratin ile lipitler mevcuttur. Böylece, su ve hidrofilik yapıdaki maddelerin geçişi engellenir. Eğer, stratum corneumun lipit ve proteinlerini uzaklaştırırsak, suyun çok kolayca geçtiğini görürüz.

Stratum corneum tabakasının oluşturduğu bariyer, derinin yapısında yer alan saç folikülleri, ter ve yağ bezleri tarafından bozular. Bu etkenler, ilaç etkin maddesinin epiderma hücrelerinden ve hücreler arasından sınırlı da olsa geçişine yardımcı olur (101).



Şekil 2.10 Deriden penetrasyon.

2.3.3.1 Perkütan absorpsiyonu etkileyen faktörler

Deriye uygulanan bir ilacın perkütan absorpsiyonunu etkileyen başlıca faktörler:

2.3.3.1.1 Biyolojik faktörler

- Derinin yaşı
- Derinin durumu
- Derinin bölgeleri
- Derinin metabolizması
- Kan dolaşımının etkisi
- Tür farklılıkları
- İrk farklılıkları

2.3.3.1.2 Fizikokimyasal faktörler

- Derinin hidrasyonu
- Taşıyıcının etkisi
- pH'nın etkisi
- Sıcaklığın etkisi
- Diffüzyon katsayısı
- Partisyon katsayısı
- Molekül büyüklüğü

2.3.3.1.1 Perkütan absorpsiyonu etkileyen biyolojik faktörler

- Derinin yaşı

İlaçların deriden geçişi ile hastanın yaşı arasındaki ilişkiyi inceleyen pek çok çalışma yapılmıştır. Çocuklarda ve enflamasyonlu deride yapılan çalışmalarda, deriden geçişin sağlıklı yetişkinlerdekinden daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Fetusta yapılan çalışmalar da fetus derisinin daha geçirgen olduğunu kanıtlamıştır (97). Hamile ve çocuklarda, suyun geçişinin aynı olduğu saptanmıştır (86).

Genellikle, lokal uygulanan ilaçların kan konsantrasyon değerlerinin yetişkinlere kıyasla, bebeklerde daha yüksektir (102). Bundan yola çıkarak, teofilin gibi sistemik etkili ilaçların prematüre bebeklere yüksek dozda verilebileceği düşünülmüştür (103). Deriden geçişi engelleyen bariyer oluşumu, hamileliğin son trimesterinde gerçekleşmektedir (104).

Yaşlılarda ise, hidrokortizon, benzoik asit, aspirin ve kafein gibi ilaçların perkütan absorpsiyonu sağlıklı yetişkinlerden daha az olmaktadır (105). Yaşlandıkça deri kalınlaşır ve su içeriği azalır.

b. Derinin durumu

Eğer, fiziksel, kimyasal ya da patolojik nedenlerle derinin yapısı bozulmuşsa, stratum corneum bu durumdan etkilenir. Derinin geçirgenliği değişebilir (99, 106). Psoriasis gibi bazı hastalıklar ilaçların deriden geçişini arttırırken; ichthiosis ve nasır gibi hastalıklar ise azaltır (107). Ayrıca, UV, IR veya radyasyona maruz kalmış kişilerde deriden geçişin artmaktadır (97). Yüksek sıcaklıkla yanmış bir deriden ise, suyun sağlam deriye oranla 2-4 kat daha fazla geçtiği tespit edilmiştir (108).

d. Derinin bölgeleri

İnsan vücudunun farklı bölgelerindeki deri tabakalarının yapısının farklı olması, farklı bölgelerden ilaç penetrasyonunun da farklı olabileceğine işaret etmektedir. Örneğin, skopolaminin transdermal penetrasyonunun incelendiği bir çalışmada, ilaç etkin maddesinin en çok kulak arkasından, en az bacaklardan geçtiği tespit edilmiştir. Kulak arkasında olduğu gibi bazı bölgelerde, stratum corneum tabakası, daha incedir ve bu bölgede, derinin sıcaklığı da 4-6°C daha fazladır. Sıcaklık derinin kan dolaşımını arttırır ve dolaşım hızı arttıkça ilaç dermada daha uzun süre kalır (97).

İlaç, deriye uygulandığında, bir “gecikme süresi” gözlenir. Emilim pasif diffüzyonla gerçekleşir. Membranın her iki tarafında konsantrasyon açısından dengeye erişildiği zaman, Stratum corneumdan emilim gerçekleşir. Stratum corneumun depo etkisi gecikme süresine yol açar (109). Yapılan çalışmalar, stratum corneumun kalınlığı,

bileşimi ve yoğunluğu açısından ilaçların farklı bölgelerden farklı düzeylerde geçtiğini ve bu faktörlerin “gecikme zamanı”nı da etkilediğini göstermiştir (86, 98, 110-112).

e. Derinin metabolizması

Canlı epidermada önemli enzimler yer almaktadır. Bunlar, oksidasyon, redüksiyon, hidroliz ve konjugasyondan sorumlu katalizörlerdir. Bu durum özellikle ön-ilaçlar açısından önemlidir. Transdermal uygulanan ön-ilaçlar, derideki bariyeri hızla geçerek sistemik etkili bir ana ilaç molekülüne dönüşebilir (113). Öte yandan, yapılan çalışmalar, deri tarafından absorbe edilen bileşiklerin biyotransformasyonu ile inaktif metabolitlerin oluşabileceğini göstermiştir (97).

f. Kan dolaşımının etkisi

Genellikle, derinin kan dolaşımı arttıkça, perkütan absorpsiyon da artar. Örneğin, metotreksat üzerinde yapılan çalışmalar, normal kan akımı ile dermal kleransın arttığını göstermiştir (98). Öte yandan, kortikosteroidlerle yapılan bir çalışmada ise, vazokonstriksiyon nedeniyle deriden geçişin geciktiği tespit edilmiştir (114).

g. Tür farklılıkları

Ex vivo çalışmalarda insan derisinden çok deney hayvanlarının (fare, tavşan, domuz vb) derisi model olarak kullanılmaktadır. Ancak, bu çalışmalarda, hayvan türleri arasında derinin yapısı açısından farklılıklar olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Ex vivo çalışmalarda, çoğu maddeye insandan daha hassas olması nedeniyle, en çok tavşan derisi tercih edilir (101, 114). İkincil tercih ise, sıçan derisidir.

Genel olarak türler arasında deri geçirgenliği açısından bir sıralama yapılacak olursa:

Maymun>köpek>kedi>at>tavşan>keçi>sıçan>kobay>fare

Ancak, bu sıralama, tüm ilaç etkin maddeleri için geçerli değildir. Örneğin, kortizonla yapılan bir çalışmada, sıçan ve tavşan derisinde %25-30 oranında absorpsiyonun gerçekleştiği tespit edilmiştir. Domuz derisinden ise, etkin maddenin geçişinin daha az olduğu saptanmıştır.

h. Irk farklılıkları

Türlerin yanısıra, farklı etnik köken ve ırklardan gelen insanların derisinin de perkütan absorpsiyon açısından farklılıklar gösterebileceği tespit edilmiştir. Örneğin, siyah ırk daha kalın bir deriye sahiptir. İskoç ırkının derisi ise, Akdeniz ırkından olanlara kıyasla toksik maddelere karşı daha hassastır (97).

2.3.3.1.2 Fizikokimyasal faktörler

a. Derinin hidratasyonu

Derinin su kapasitesi arttığında, geçirgenliği de belirgin ölçüde artar. Bu durumdan yararlanılarak deriyi hidratize edici bileşikler içeren ve “doğal nemlendirme faktörü” olarak adlandırılan formülasyonlarla dermatoz ve kuruluğu giderici tedavide başarılı sonuçlar elde edilmektedir (97). Stratum corneum, %11 lipit ve %30 oranında doğal nemlendirme faktörü içermektedir (115). Derinin yapısında bulunan sodyum pirolidon karboksilat su tutma kapasitesi yüksek bir maddedir ve gliserinden daha güçlü bir nemlendiricidir (116). Bu durumdan yararlanılarak, kortikosteroidlerin penetrasyonu sodyum pirolidon karboksilat uygulayarak artırılmıştır (117). Ortamdaki rölatif nem de önemlidir. Rölatif nem ne kadar az ise, penetrasyon o oranda azalır (118). Nem içeriğindeki artış depo etkiyi artırır (109).

b. Taşıyıcının etkisi

Etkin maddenin deriden geçişi uygulanan dozaj şekline (losyon, krem, çözelti, merhem, aerosol vb.) ve kullanılan taşıyıcıya bağlı olarak farklılıklar gösterebilir (97). Merhemler, patlar ve kremler, stratum corneumdan suyun buharlaşmasını önleyerek perkütan absorpsiyonu etkileyebilir (101). Salisilik asit ve karbinoksamin ile yapılan çalışmalarda, sıvı parafin, oleik asit, hekzadesil alkol ve izopropil alkol içinde etkin maddelerin tutulduğu ve deriden absorpsiyonun zayıf olduğu tespit edilmiştir (119). Taşıyıcıdaki ilaç etkin maddesinin çözünürlüğü, diffüzyon hızı ve salım hızını etkiler (114).

c. pH'nın etkisi

Transdermal preparatların pH'sı derinin keratinini değişime uğratabilir. Bu da, hidratasyonu etkileyebilir. Yapılan çalışmalar, pH:1 –10 aralığında, dokuda şişme ve hidrasyon gibi istenmeyen durumların oluşmadığını, pH:10'un üstüne çıkıldığında ise, suyun diffüzyon hızının arttığını ve buna bağlı olarak derinin su tutma kapasitesinin azaldığını, keratinin çözündüğünü göstermiştir (97).

Higuchi'nin pH5.5 ve 7.5 arasında histaminle yaptığı bir çalışmada ise, perkütan absorpsiyonun pH 7.5'da 10 kez daha fazla olduğu saptanmıştır (120). Dolayısıyla, sadece, noniyonize haldeki moleküller lipofilik yapıda olmalarından dolayı derinin tabakalarından önemli ölçüde absorbe olurlar (98).

d. Sıcaklığın etkisi

Stratum corneum tabakası 60°C gibi yüksek sıcaklıklara tolere edebilme özelliğine sahiptir. Klinik açıdan incelenecek olursa, patolojik durumlarda ve üzeri kaplandığında, derinin sıcaklığı artar. Sistemik etki söz konusu olduğunda, sıcaklık ve deriden geçiş arasında doğrudan bir ilişki mevcuttur (107). Lokal uygulamalarda bu etki göz ardı edilebilecek kadar azdır. Bunun nedeni, sebum viskozitesinin düşmesi ve kan damalarının genişleyerek dolaşımın artmasıdır (121).

e. Diffüzyon katsayısı

İlaç etkin maddelerinin artan hidrojen bağlama kapasitesi, deriden diffüzyonun azalmasına neden olur. Diffüzyon katsayısı, bir ilacın penetrasyon hızının göstergesidir (97).

f. Partisyon katsayısı

Yağ-su partisyon katsayısı, deriden geçişi etkileyen en önemli faktördür. Partisyon katsayısı düşük olan maddeler, deriden geçemezler. Stratum corneum'da çözünmeden kalırlar (97). Partisyon katsayısı 1'e yakın olan maddelerin perkütan absorpsiyonu da iyidir. Örneğin, nonelektrolit nikotinik asit esterleri ve fenilboronik asit bileşikleriyle yapılan çalışmalarda yağ-su partisyon katsayısı fazla olanın daha iyi absorbe olduğu tespit edilmiştir (114).

g. Molekül büyüklüğü

Penetrasyon hızı ile ilaç etkin maddelerinin molekül büyüklüğü arasında doğru orantı vardır. Molekül büyüklüğü azaldıkça, penetrasyon hızı artar (114). Albümin ve dekstran gibi makromoleküllerin penetrasyonu güçtür. Bu maddeler, ancak, lipit çözünürlüğü yüksek olan çözücüler içinde uygulanırlarsa Stratum corneum'dan geçebilirler (101).

2.3.4 DERİDEN GEÇİŞİ ARTTIRICI MADDELER

İlaçların deriden geçişi bazı maddeler veya yöntemler kullanılarak artırılabilir. İlaçların deriden geçişini kolaylaştıran maddelere “penetrasyon arttırıcılar”

adı verilir. Bu maddeler, ciddi irritasyon ya da hasar oluşturmadan bir ilaç etkin maddesinin deri veya mukozadan emiliminin artmasını sağlarlar.

Kullanılan ilk penetrasyon arttırıcılar, Stratum conreum'un bütünlüğünü bozan basit, yıkıcı ve keratolitik maddelerdi. Zamanla bu maddelerin yerini diffüzyon bariyerini daha zararsız bir biçimde ve geri dönüşümlü olarak azaltan ajanlar almıştır (122).

Penetrasyon arttırıcı maddeler, etkin maddenin dozaj şeklinden çabuk salınmasını sağlamak, perkütan absorpsiyondaki gecikme süresini kısaltmak ve deriden emilimi hızlandırmak amacıyla kullanılır (123). Kimyasal penetrasyon arttırıcılar, Stratum corneum'un biyokimyasal ortamı stabilize ederek deriden geçişi arttırırlar (124).

Penetrasyon arttırıcı maddelerin etki mekanizmalarını 3 grupta toplayabiliriz:

a. Stratum corneum lipitlerinin yapısını bozarak

Yağ asitleri, oleik asit, azon ve terpenler bu mekanizmayla etki gösterirler.

b. Hücre içi proteinlerle etkileşme

Noniyonik yüzey etkin maddeler ve üre stratum corneumun hücre içi proteinleriyle etkileşerek penetrasyonu arttırırlar.

c. İlaç etkin maddesinin partisionunun düzeltilmesi

Pirolidon, stratum corneumdaki ilaç etkin maddelerinin partisionunu düzelterek etki gösterir.

Penetrasyon arttırıcı kimyasal maddelerin bazı özelliklere sahip olmalıdır:

a. Toksik olmamalı, irritasyona yol açmamalı

b. Allerjik reaksiyonlara neden olmamalı

c. Etkisini hemen göstermeli ve bu etki geri dönüşümlü olmalı

d. Materyal deriden uzaklaştırıldığında, doku normal özelliklerine dönebilmeli

e. İnert olmalı

f. Renksiz, kokusuz ve lezzetsiz olmalı

g. Ucuz olmalı (97).

h. Büyük ölçüde permeasyon arttırıcı özellik göstermeli

i. Dozaj şeklinden kolayca serbestlenmeli

j. Fiziksel ve kimyasal stabilitesi yüksek olmalı (125).

Mevcut penetrasyon arttırıcıların hiçbiri bu özelliklerin hepsine birden sahip değildir.

2.3.4.1 Penetrasyon Arttırıcı Çözücüler:

a. Su

Doğal penetrasyon arttırıcıdır (125). Stratum corneum'un hidrasyonu ile tabakanın bariyer fonksiyonunda bir azalma olur ve bu durum etkin maddenin geçişini kolaylaştırır (126).

b. Alkoller

Başta etanol olmak üzere alkollerin deriden geçişi, Stratum corneum tabakasındaki lipitlerin ekstraksiyonu ile gerçekleşir (127).

c. Alkil metilsülfoksitler

Miçel tipi kimyasal maddelerdir. Bunlardan dimetil sülfoksit (DMSO), üzerinde en çok çalışılan ajandır. Su ve organik çözücüler ile karışabilen dipolar, higroskopik bir maddedir. Formülasyonlara kolaylıkla ilave edilebilir. Steroid, salisilat ve antimikotik etkili bileşiklerin deriden geçişini hızlandırdığı tespit edilmiştir (126). Ayrıca, dimetilasetamid, dimetilformamid ve alkil metilsülfoksitlerin homologlarından desilmetil sülfoksitler (DCMS) de penetrasyon arttırıcı özelliklerinden dolayı transdermal preparatların formülasyonunda kullanılmaktadır (126, 127).

d. Prolidonlar

Prolidonların penetrasyon arttırıcı etkileri olmasına rağmen yüksek konsantrasyonda deri üzerinde hasar yapıcı etkilerinden dolayı yaygın kullanılmamaktadırlar (127).

e. Laurokapram

Azon olarak da bilinen bu madde, hidrofilik ve hidrofobik her ilaç için kullanılabilen etkin bir penetrasyon arttırıcıdır. Etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak, epidermadaki lipitlerin yapısını bozarak penetrasyonu arttırdığı düşünülmektedir (126). %0.1-5 konsantrasyonunda etkilidir. Ancak, bu kadar düşük konsantrasyonda dahi iritasyona sebep olmaktadır (127).

2.3.4.2 Yüzey Etkin Maddeler

Farmasötik preparatlarda, emülgatör, süspansiyon ajanı, ıslatıcı ve çözücü ajan olarak kullanılmalarının yanısıra, deriden penetrasyonu arttırıcı olarak topikal preparatların formülasyonunda da yer alırlar (113).

Hidrofilik bir baş grubuyla, lipofilik bir kuyruk kısmından ibarettirler. Hidrofilik baş grubunun taşıdığı elektriksel yüke göre sınıflandırılırlar:

a. Anyonik yüzey etkin maddeler

Anyonik yüzey etkin maddelerin penetrasyon arttırıcı etkisi yapılarındaki alkil zincirinin uzunluğuna bağlıdır. Bu grupta yer alan maddelerden sodyum dodesil sülfatın (SDS), kloramfenikol ve naproksenin deriden geçişini önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir (128, 129).

b. Katyonik yüzey etkin maddeler

Anyonik yüzey etkin maddelerden daha iritan olduklarından daha az tercih edilirler. Bu grupta yer alan dodesil analogları, deriden geçiş üzerine diğer uzun alkil zincirli maddelerden daha etkilidirler (126). Alkilaminlerde ise, etoksilasyon derecesi arttıkça penetrasyon arttırıcı etki azalmaktadır (130).

c. Noniyonik yüzey etkin maddeler

İritasyon etkisi en az olan yüzey etkin maddelerdir (113). Etki mekanizmaları, hidrofilik-lipofilik dengeden ziyade molekül şekline bağlıdır (131). Ancak, penetrasyon arttırıcı etkileri anlamlı ölçüde fazla değildir (132, 133). Başlıcaları; polisorbattlar (Tween), polioksietileneter ve esterleri (Brij ve Myrj), polioksietilen alkil fenil eteri (Triton), polaksamerler (Pluronic)'dir.

2.3.4.3 Yağ asitleri

Uzun zincirli yağ asitleri, çeşitli ilaçların deriden penetrasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. En çok çalışılan oleik asittir. Propilen glikol içeren bir formülasyonda betametazon-17benzoat'ın biyoyararlanımını arttırdığı saptanmıştır (134).

2.3.4.4 Üre

Kokusuz, renksiz, kristal yapıda hidrofilik bir toz olan üre, psöriasis ve ichthiosis gibi deri hastalıklarının tedavisinde hidrasyon ajanı olarak kullanılır. Ürenin penetrasyon arttırıcı özelliği beraberinde kullanılan ko-solvanla bağlıdır. En önemli özelliği Stratum corneum'un su tutma kapasitesini arttırmasıdır. Tek başına kullanıldığında anlamlı bir artış göstermez (125). Doymuş siklik üre analogları, vücut içinde parçalanabilen penetrasyon arttırıcılar olarak kullanılmaktadır (135).

2.3.4.5 Siklodekstrinler

Merkezde lipofilik bir boşluk ile hidrofilik bir dış yüzeyden yapılmış, 6-8 glikopiranoz ünitesi içeren siklik oligosakkaritlerdir. Hidrofilik ilaç etkin maddeleriyle inklüzyon bileşikleri oluşturarak çözünürlüklerini arttırlar (125). Beta siklodekstrin ve hidroksi beta siklodekstrinler, deriden penetrasyonu arttırıcı özelliğe sahiptirler (136).

2.3.4.6 Esansiyel yağlar, terpenler ve terpenoidler

Kozmetik formülasyonlarda koku verici olarak kullanılan esansiyel yağların, son yıllarda penetrasyon arttırıcı özellikleri de incelenmektedir (127). Özellikle mentol, d-limonen, alfa-terpineol deriden geçişi anlamlı ölçüde arttırmaktadır (137-142).

2.3.5 DERİDEN GEÇİŞİ KOLAYLAŞTIRICI TEKNİKLER

İlaç etkin maddelerinin deriden geçişi, fiziksel olaylar vasıtasıyla kolaylaştırılabilir. Bu amaçla transdermal sistemlere uygulanan tekniklerin başlıcaları:

2.3.5.1 İyontoforez

İyonize maddeler içeren bir çözeltildeki iyonların elektrik akımı etkisiyle göç etmesi olayıdır (143). İlaç etkin maddelerinin normal fizyolojik koşullarda deriden absorbe olabilmeleri için ön koşul, noniyonize halde bulunmalarıdır. Ancak, her ilaç etkin maddesi noniyonize formda mevcut değildir. İyonize halde bulunan ilaçların deriden dokuya nüfus etmesi oldukça güçtür. Etkin madde moleküllerinin anyonik veya katyonik yapıda oluşuna bağlı olarak, transdermal sistemden elektrik akımı geçirilip bu iyonize moleküllerin deriden geçişi kolaylaştırılabilir (144).

Elektrik akımı ile sağlanan kolaylaştırılmış akış aşağıdaki eşitlik ile ifade edilir (49pe):

$$Q/t = t_j \cdot i / zF$$

Q: iyontoforetik akım

t: akım süresi

t_j: transfer olan iyon sayısına ait parametre

i: uygulanan elektrik akımı

z: iyon değerliği

F: Faraday sabiti

Deriden iyontoforetik geçişe, pH, iyonik güç elektrotların elektriksel yükü ve yapısı, elektrik akımı uygulama süresi ve şiddeti, deri-ilaç konsantrasyonunun elektriksel direnci, taşıyıcı tipi ve bileşenleri, ilacın çözünürlüğü, taşıyıcının viskozitesi gibi çeşitli fizikokimyasal faktörler etki eder.

İyontoforetik transdermal sistemler, pek yaygın kullanılan sistemler olmamakla beraber; travma, enfeksiyon riski ve yara hasarlarını azalttıkları için tercih edilirler. Parenteral ilaç uygulamasına iyi bir alternatif teşkil ettikleri söylenebilir. Oral yolla alındıklarında biyoyararlanımı düşük olan pek çok protein ve peptid yapısındaki ilaçlar için uygun bir dozaj şekli olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Gonadotropin serbestleştirici hormon, Faktör VIII C, Hepatit B, insan büyüme hormonu, interferon – alfa-2a, interferon –alfa-2b, monoklonal antikolar, somatotropin ve doku plazminojen aktivatörü iyontoforetik uygulama açısından başarılı sonuçlar elde edilen protein ve peptid yapısındaki ilaçların bazılarıdır (143).

İyontoforetik yolla uygulanan diğer ilaçlar ise; lidokain HCl, pilokarpin, verapamil, metoprolol, oksikodon, propranolol, histamin, metilen mavisi, deksametazon, penisilin, streptomisin ve tetrasiklidir (143).

Dezavantajlarının başında, maliyetlerinin yüksek olması gelmektedir. Bu sistemlerle uygulanan ilaç etkin maddeleri de genellikle pahalıdır. Bu da sistemin birim fiyatını iyice arttırmaktadır. Öte yandan, 8,000-12,000 Dalton molekül ağırlığına sahip makromoleküllerin uygulanmasında kararlı salım hızının elde edilemeyişi ve düşük voltajlarda dahi deride yanıklara neden olması bu sistemlerin daha az tercih edilmesine neden olmaktadır (143).

İyontoforez, doğru veya kesintili akımla uygulanabilir:

a. Doğru akımlı iyontoforez:

Doğrusal akımın kesintisiz bir biçimde devamlı olarak uygulanması ile gerçekleştirilir. Bazı yamalar (powerpatch) bu şekilde hazırlanıp insülin gibi bazı ilaçların deriden geçişinin kolaylaştırılması sağlanmaktadır (145).

Bu sistemin sakıncası, uygulamadan kısa bir süre sonra, uygulama bölgesinde oluşan elektriksel polarizasyonun deriden geçen akımı azaltmasıdır. Bu da, iyontoforezi ve dolayısıyla, deriden etkin madde geçişinin azalmasına sebep olur.

b. Kesintili akımla iyontoforez

Doğrusal akım uygulamasında karşılaşılan sorunlar, kısa süreler için devrenin açılıp kapatılması ile oluşan kesikli akım uygulamasıyla çözümlenebilir. Devrenin açık olduğu ve akımın geçtiği süreçte, yüklü ilaç molekülleri deriden iyontoforez prensibine uyarak serbestlenirler. Deri polarize olmadan devre kapatılır ve depolarizasyonun oluşması sağlanır. Bu şekilde deriden ilaç geçişini sağlayan iki sistem geliştirilmiştir:

- i. Gelişmiş depolarize kesintili akım iyontoforez sistemi (ADIS)
- ii. Transdermal periyodik iyontoterapötik sistem (TPIS)

Bu sistemler, beta-blokörler ve vazopresinin deriden geçişinde başarı ile uygulanmıştır (145).

2.3.5.2 Sonoforez

Ultrasonik dalgalar etkisi ile deriden ilaç moleküllerinin kolaylaştırılmış penetrasyonudur. Fonoforez olarak da adlandırılır (105). Çeşitli frekanslarda uygulanan ultrasonik dalgaların deriden sistemik dolaşıma geçişi arttırıcı mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Deney hayvanlarında salisilik asitle yapılan bir çalışmada, 2, 10 ve 16 MHz frekansta sonoforez uygulanması ile deriden geçişin pasif yolla uygulamaya kıyasla 4 kat daha arttığı tespit edilmiştir (146).

Sonoforez, deriden geçişi kolaylaştırmakta, ancak, etkin maddenin dozaj şeklinden salım kinetiğini değiştirmemektedir.

2.3.5.3 Elektroporasyon

Lipid tabakası ve hücre membranlarında elektrik akımı etkisiyle geçirgen porlar oluşturması ve bu porlar vasıtasıyla, DNA gibi makromoleküllerin deriden geçişinin kolaylaştırılması işlemidir (147).

2.3.6 PERKÜTAN ABSORPSİYON ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

2.3.6.1 İN VİTRO YÖNTEMLER

İn vitro çalışmalarda, taze insan derisinin kullanılması, yasal kısıtlamalar nedeniyle mümkün olmadığından kadavra veya deney hayvanlarının derisinden yararlanılır. Bu durumda, derinin hangi türe ait olduğu, derinin alındığı kişi veya hayvanın yaşı, vücudunun hangi bölgesinden alındığı, cinsiyeti, vücuttan izolasyondan in vitro deneylerin başlamasına kadar geçen sürede hangi koşullarda muhafaza edildiği

ve kullanılan deri kalınlığı belirtilmelidir. 1 yıl boyunca dondurularak bekletilmiş kadavra derisi, taze insan derisinden geçirgenlik açısından çok büyük farklılıklar göstermez.

Lipit kompozisyonu ve Stratum corneumun yapısı açısından insan derisinden farklı olmasına rağmen, yüksek miktarlarda elde edilmesi mümkün olduğundan hayvan derisi, *in vitro* deneylerde daha çok tercih edilir. Ancak, bazı kemirgen türlerinde derinin izolasyondan sonra en fazla 12 saat içerisinde kullanılması gerekir.

In vitro koşullarda, deriden etkin madde geçişi, diffüzyon hücreleri kullanılarak ölçülebilir. Diffüzyon hücreleri, yan yana veya dikey olarak dizayn edilmişlerdir.

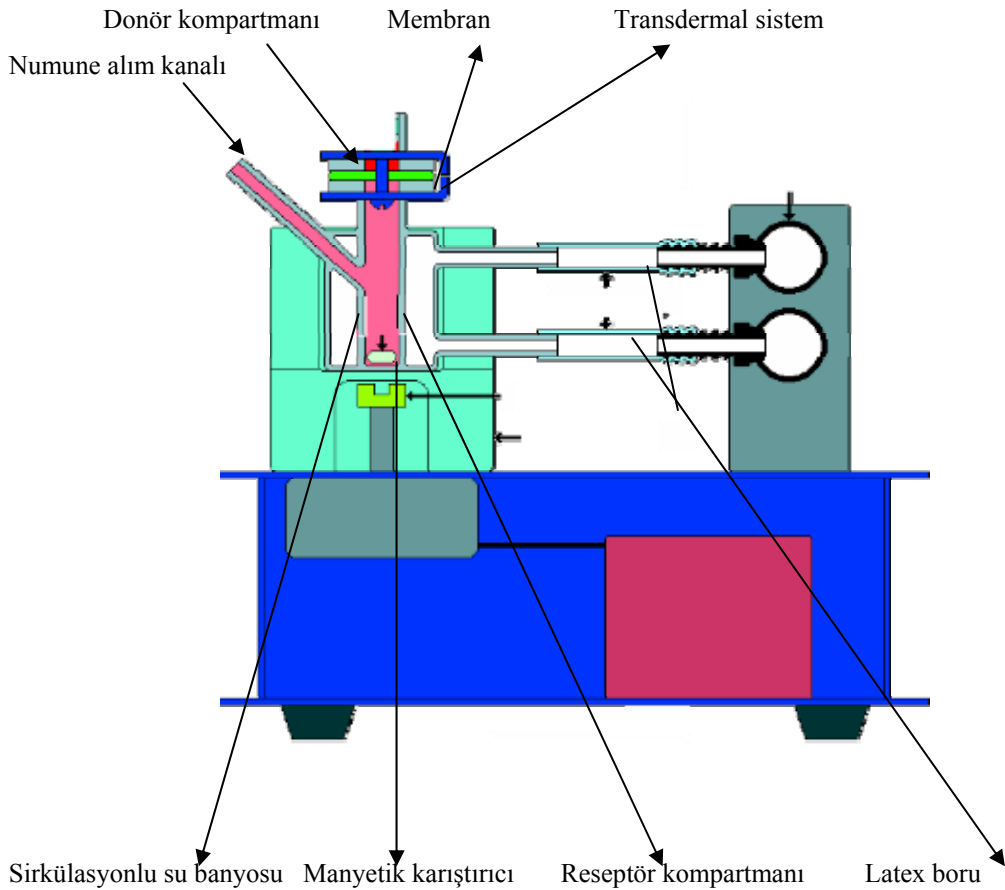
Bunlardan dikey olanları, *in vivo* durumlara benzer koşullar sağlamak üzere tasarlanmıştır. Reseptör fazının bulunduğu alt kompartman dikey pozisyonda duracak şekilde tasarım yapılmıştır. Bu da, deneylerdeki “sonsuz seyreltme” koşulunun sağlanmasını mümkün kılar. Bu sistemde en büyük avantaj, donör taşıyıcının yapısını değiştirmeyi sağlayabilmesidir. Merhemler, patlar, sentetik membranlar ve transdermal preparatlardan ilaç salımı, dikey diffüzyon hücresi kullanılarak çalışılabilir (148). Dikey diffüzyon hücrelerinden en çok kullanılanı 1975 yılında Thomas J. Franz tarafından geliştirilen “Franz diffüzyon hücresi”dir (149). *In vitro* ve *in vivo* korelasyonu mümkün kıldığı için en çok tercih edilen diffüzyon hücre tipidir. Donör ve reseptör kompartmanları arasına membran yerleştirilip, klips yardımıyla birbirine kenetlenir (Şekil 2.11). Membranın üzerine transdermal preparat belli bir miktar ve kalınlıkta uygulanır. Reseptör kompartmanına reseptör fazı (genellikle fizyolojik tampon) konur ve 37°C’ye su ceketini ile ısıtılır. Reseptör faz, belli bir devirde karıştırılarak salınan ilaç etkin maddesinin reseptör fazda homojen dağılımı sağlanır. Belli zaman aralıklarında reseptör fazdan numune alınarak salınan ilaç etkin maddesinin konsantrasyonu tespit edilir. Burada en büyük sorun, karıştırmanın yetersiz olmasıdır. Bu da, akışkan hücre içeren sistemlerle çözülmüştür (148). Ancak, Marzulli ve arkadaşları tarafından geliştirilen bu sistemler de birtakım dezavantajlara sahiptir. Deri yüzeyinin altında hava kabarcıkları tutulmakta, kullanılan biyolojik membranlar narin olduklarından işlem yapmak güçleşmekte ve stratum corneumun su içeriğinin sabit tutulması zor olmaktadır.

2.3.6.2 İN VİVO YÖNTEMLER

İn vivo koşullarda gerçekleştirilen insan ve hayvan deneyleri, yeni ilaç formülasyonlarının geliştirilmesinde önemli rol oynar (150). Bu çalışmalarda, vücut sıvılarındaki ilaç etkin maddesinin miktar tayini ve onun oluşturduğu farmakolojik yanıtın değerlendirilmesi esas alınır (97).

2.3.6.2.1 İlaç Etkin Maddelerinin Vücut Sıvılarındaki Miktar Tayini

In vivo çalışmalarda, ilaç uygulandıktan belli bir süre sonra, genellikle, kan ve idrar numuneleri toplanarak etkin madde miktar tayini için analizler yapılır (99,



Şekil 2.11 Franz diffüzyon hücresi kullanılarak transdermal sistemlerde in vitro koşullarda etkin madde salımının incelenmesinin şematik gösterimi.

106). Böylece, deriden geçen etkin madde miktarı hesaplanır. Bunun yanısıra, çeşitli farmakokinetik parametreler de (C_{max} , T_{max} , AUC vb.) tespit edilebilir (97, 151).

Ayrıca, radyoaktif işaretlenmiş ilaçlar deney hayvanlarına verilerek plazma veya idrardaki etkin madde miktarı analiz edilebilir (152). Perkütan absorpsiyon çalışmalarında çoğunlukla insan yerine hayvanlar denek olarak kullanılır (153-156).

2.3.6.2.2 İlaçların Farmakodinamik Özelliklerinin Belirlenmesi

Perkütan absorpsiyona uğrayan bir ilaç, dokulara dağıldığı zaman, bir fizyolojik ya da farmakolojik yanıt oluşturuyorsa, bu etki ilaç etkin maddesinin deriden geçiş hızı ve stratum corneumun geçirgenliği hakkında bilgi edinilmesini sağlayabilir (97). Bunun için, çoğunlukla, ilaç etkin maddesinin fizyolojik parametrelerde oluşturduğu değişiklikler incelenir. Uygulanan doz veya etkin madde konsantrasyonuna karşı, ilacın oluşturduğu yanıt eğrileri çizilerek farmakodinamik incelemeler yapılır (152).

2.4. NAZAL SİSTEMLER

Nazal yol, uzun yıllardır ilaç uygulamalarında etkin bir biçimde kullanılmaktadır (152, 157). Özellikle, büyük molekül ağırlığına sahip veya gastrointestinal kanalda enzimatik parçalanmaya uğrayan peptid ve protein yapısındaki ilaç etkin maddelerinin sistemik etki göstermesi amacıyla parenteral yola alternatif olarak düşünülmektedir. Oksitosin, vazopresin ve analogu, kalsitonin, psikotropik ilaçlar, bazı antibiyotikler, bazı dekonjestanlar, antihistaminikler ve kokain bu yolla uygulanan ilaçların başlıcalarıdır.

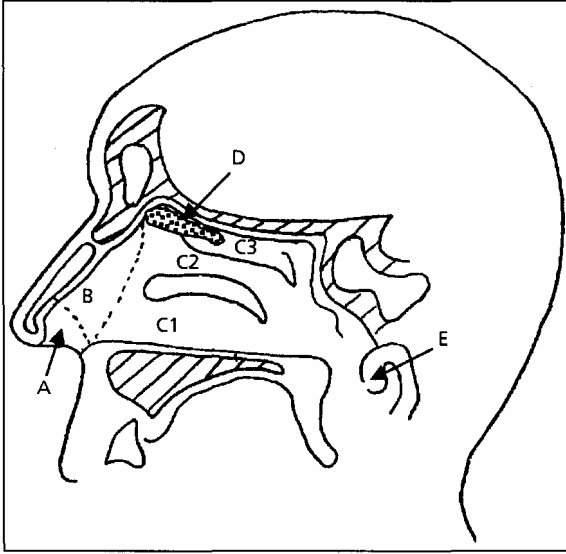
2.4.1. Nazal yolla ilaç kullanımının üstünlükleri

- a. Karaciğerden ilk geçiş etkisinin olmaması
- b. Barsak duvarındaki metabolik etkiden ve mide barsak kanalındaki enzimatik yıkımdan korunması
- c. Nazal epitelin mikrovillüsler açısından zengin bir yapıya sahip olması ve yüzey alanının geniş olması
- d. Nazal mukozada damarlanmanın zengin oluşu
- e. Nazal mukozanın yüksek geçirgenliğe sahip olması
- f. Nazal yolla uygulanan ilaçların nazal mukozadan emilim hızlarının ve plazma konsantrasyonlarının intravenöz uygulama ile karşılaştırılabilir düzeyde olması

g. Kolay uygulanabilir olması.

2.4.2. Burun boşluğunun anatomisi

Kafatası iskeleti, içindeki hassas yapıları koruyan iki fonksiyonel kısımdan ibarettir. Nörokranium, beyni çevreleyip korurken, viserokranium, gözleri, ağız ve burun boşluğunu korur. Burun boşluğu, nazal septum ile iki simetrik yarıya bölünmüştür ve arkada nazofarenkse kadar uzanır (Şekil 2.12). Burun boşluğunun anterior kısmı olan vestibül ise, nostrile açılır. Atrium, vestibül ile solunum yolu arasında kalan bölümdür. Solunum yolu, nazal konka ve tırbünler, burun boşluğunun büyük bir kısmını oluşturur. Lateral duvarlarla üç kısma ayrılır: a) en üstte, superior nazal tırbün; b) orta nazal tırbün ve c) en altta ise, inferior tırbün yer alır. Bunlar, küçük bir hacmi olmasına rağmen burun boşluğunun çok geniş bir yüzey alanına sahip olmasını sağlar.



Şekil 2.12 Burun boşluğunun anatomik yapısı. A: Nazal vestibül, B: solunum yolu, C1: inferior tırbün, C2: orta tırbün, C3: superior tırbün, D: koklama duyu bölgesi, E: nazofariks (179).

2.4.3. Burun boşluğunun fizyolojisi

Solunumla alınan havanın akciğerlere ulaşmadan önce ısıtılması ve nemlendirilmesi, partiküllerin filtrasyonu, mukosilyar klerans, antimikrobiyel, antiviral

ve immunolojik aktiviteler, koku alma ve tınlama burnun temel işlevlerini oluşturur. Anatomik açıdan burun boşluğu, bu işlevlerin optimum düzeyde yerine getirilmesine imkan verecek özelliğe sahiptir. Koku duyusundan sorumlu olan bölge, superior nazal tribünün üstünde bulunur ve burada, koku almadan sorumlu sinir hücreleri yer alır (179).

2.4.4. Nazal Boşlukta İlaç Tutulması

İntranazal biyoyararlanım ve absorpsiyon hızı, ilaçların burun mukozasında uygulandığı alana göre farklılık gösterir. Burun damlalarının absorpsiyonu, burun deliklerindeki kılların filtre etkisinden dolayı ve bu bölgede mukosilier taşınmanın eksikliğinden ötürü düşük oranda gerçekleşir (179). İlacın burnun kıvrımlı bölgesine ve en arkadaki nazofarenks kısmına ulaşması halinde, buradaki hızlı mukosilier taşınmadan dolayı burundaki kalış süresi kısalır. Nazal boşlukta etkin maddenin tutulması, partikül büyüklüğünün ve solunum olayının bir işlevidir. Partiküllerin tutulması, patiküllerin dansitesi, şekli, higroskopisitesi ve burun boşluğundaki patolojik durumdan etkilenir. Solunum yoluyla, 10-20 µm büyüklüğündeki partiküllerin hemen hemen tamamı tutulur. Çok küçük partiküllerin belli bir kısmı burunda tutulurken, 2 µm'den küçük partikül büyüklüğüne sahip olanlar akciğerlere geçer (157). Nazal boşluğa ilaçlar, nazal sprey, burun damlaları, aerosol sprey, toz inhaler, ölçülü doz inhaler ve nebulizör gibi ilaç taşıyıcı sistemler ile uygulanmaktadır.

2.4.5. Nazal Emilim Yolları

Sistemik etki sağlamak için nazal yolla uygulanan ilaçlar, nazal epitelin oluşturduğu bariyeri geçerek kan dolaşımına katılırlar. Nazal mukozanın en üst katmanı olan epitel hücreleri birbirlerine sıkı bağlar ile tutunmuşlardır. İlaçlar, bu bariyeri transselüler (hücre içi) ve paraselüler (hücreler arası) yollarla geçebilirler (158).

2.4.5.1. Nazal Emilime Etki Eden Faktörler

Nazal emilime etki eden faktörler dört gruba ayrılır (159- 161):

- a. Anatomik faktörler: Burun hacmi ve boyu, epitel yüzey alanı, burun deliği ile burun boşluğu arasındaki açı, septum açıklığının duruşu, hücre yapısı,
- b. Fizyolojik faktörler: Mukus akım hızı, enfeksiyonun varlığı, atmosferik koşullar, mukozal enzimler,

c. Dozaj formları: Etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri, kullanılan yardımcı maddeler, dozaj formunun pH'sı, tonisitesi, viskozitesi, yoğunluğu, etkin maddenin konsantrasyonu, etkin maddenin nazal boşlukta, mukusta ve nazal epiteldeki stabilitesi,

d. Uygulama şekli ve tekniği: Hacim, damlacık büyüklüğü ve katı partiküllerin büyüklüğü, spreyden püskürtme özellikleri, uygulanan ilacın burundan dışarıya kaybı.

2.4.5.2. Nazal Emilimin Arttırılması

Etkin maddelerden özellikle polar olanların, çözelti şeklinde uygulanmaları sonucu nazal boşluktan emilimleri zorlaşır. Bunlar %1 veya daha az biyoyararlanım göstermektedirler. Büyük molekül ağırlığına sahip peptit ve proteinlerin ise, nazal mukozadan geçişleri zayıftır. Nazal boşluktaki mukosilier arınma ve enzimatik aktivite bu makromoleküllerin nazal yoldan uygulandıklarında biyoyararlanımlarını sınırlamaktadır. Dolayısıyla, ilaçların nazal yoldan emilimlerini arttırmak için, kimyasal yapının değiştirilmesi, ön ilaçların kullanılması, formülasyona enzim inhibitörleri/emilim arttırıcı maddelerin ilave edilmesi ve mukoadezif dozaj şekillerinin kullanılması gibi çeşitli yaklaşımlar bulunmaktadır.

Burada hedeflenen, nazal mukozadaki enzimatik yıkımı en aza indirmek, ilaçların nazal mukozadan emilimini arttırmak ve nazal boşlukta etkin maddenin kalış süresini uzatmaktır.

2.4.6. Mukoadezif Dozaj Şekilleri

İlaçların nazal mukozada kalış süresini arttırmak amacıyla, sıvıyla temas ettiği yerde şişebilen ve mukus tabakasına yapışan mukoadezif (biyoadezif) sistemler geliştirilmiştir. Biyoadezyon, ilacın etki bölgesindeki kalış süresini uzatmak için sentetik ve doğal materyallerin biyolojik dokulara yapışması olarak tanımlanır (179). Eğer, bu sistemler mukozaya uygulanıyorsa, mukoadezif sistemler olarak adlandırılırlar. Mukoadezif dozaj şekilleri, poli(akrilik asit) (Carbopol 934), hidrokispropil selüloz (HPC), karboksimetil selüloz (CMC) ve kitozan gibi biyoadezif polimerler kullanılarak hazırlanmaktadır (179). Mukoadezif sistemler, sıvı ile temas ettiklerinde jelleşir ve etkin maddeyi jelden kontrollü hızla serbestlerler. Nazal boşluğa uygulamak amacıyla mukoadezif toz, jel ve mikroküre gibi dozaj şekilleri hazırlanmaktadır.

2.4.7. Mukoadezif Tozlar

Mukoadhezif tozlarla ilgili ilk çalışma, Nagai ve arkadaşları tarafından 1984 yılında yapılmıştır. Bu çalışmada insülinin (5 IU/kg) farklı polimer maddelerle, HPC, mikrokristalin selüloz (MCC), Carbopol 934 (CP 934) ve dondurarak kurutulmuş laktoz ile toz dozaj formu hazırlanmıştır. Hazırlanan mukoadezif sistem, köpeklere intranazal olarak uygulandıktan 1-1.5 saat sonra kan glukoz seviyesinin yaklaşık olarak %60'a düştüğü saptanmıştır. Son yıllarda, insülinle yapılan bir çalışmada ise, nişasta, maltodekstran ve Carbopol 974 P (CP 974 P) ile dondurarak kurutma yöntemine göre mukoadezif toz karışımı hazırlanmıştır. Nişasta-CP 974 P içeren formülasyonunun nazal biyoyararlanımının, maltodekstran-CP 974 P karışımından anlamlı olarak daha fazla olduğu tespit edilmiştir (162).

Ugwoke ve ark.,(163) tarafından yapılan bir çalışmada ise, apomorfinin, CMC ile dondurarak kurutma yöntemi ile toz karışımı hazırlanmış, in vitro ve in vivo olarak değerlendirilmiştir. İn vitro sonuçlara göre, CMC ile hazırlanan karışımdan apomorfinin sürekli salım sağladığı saptanmıştır. Aynı araştırıcı grubu (164) apomorfinin Carbopol 971 P (CP 971 P) ile hazırlanan mukoadezif toz formülasyonunun nazal boşluktaki kalış süresini gama sintigrafi tekniği ile değerlendirmişlerdir. Sonuçlar, biyoadezif polimerlerden CP 971 P ve CMC'un nazal boşlukta etkin maddenin kalış süresini arttırdığını ve etkin maddenin kontrollü salımının elde edildiğini göstermiştir.

2.4.8. Mikroküreler

Mikroküreler, içerdikleri etkin maddeyi vücudun istenilen bölgesine taşıyan çapları 0.02 ile 300 µm büyüklük sınırları içinde olan, katı, gözenekli veya gözeneksiz, etki bölgesinde kontrollü salım ile ilaç serbestleyen mikropartiküler sistemlerdir.

ilk defa 1987'de Illum ve arkadaşları tarafından etkin maddelerin biyoyararlanımını arttırmak amacıyla intranazal verilen mikroküreler geliştirilmiştir (165). Bu amaçla nişasta-dekstran mikroküreleri ve mukoadezif mikroküreler hazırlanmıştır. Nişasta ve mukoadezif mikrokürelerin, nazal emilimi şu mekanizmayla artardıkları düşünülmektedir: öncelikle, mikroküreler birkaç silianın yer aldığı nazal boşluğun ön kısmında tutunur ve daha sonra, etkin madde mikroküre sisteminden serbestlenerek absorpsiyon bölgelerine yavaşça geçer. Daha sonra, biyoadezif

özelliğinden dolayı dozaj şekli nazal boşlukta daha uzun sürede kalır. En son, jelleşmiş sistem lokalize olmuş yüksek etkin madde konsantrasyonu meydana getirir ve epitelin yüzeyi ile temas eder. Bunun neticesinde de, mukus tabakasından suyu emer, hidrate hale geçer ve oluşan mukoadezif jel, membranın sıkı bağlama yerlerinden geçer (166). Parçalanabilen nişasta ve DEAE-dekstran mikrokürelerin intranazal verildikten sonra mukosilier arınma yarılanma ömürleri, sıvı ve toz formülasyonlarla gama sintigrafisi kullanılarak karşılaştırılmıştır (166) Arınma yarılanma ömrü değerleri nişasta mikrokürelerle 240 dakika, DEAE-dekstran mikrokürelerle 180 dakika olarak tespit edilirken, sıvı ve tozformülasyonları için 15 dakika bulunmuştur. İntranazal mikroküre formülasyonları ile ilgili çalışmaların çoğu diyabet hastalığının vazgeçilmez ilacı olan insulin ile ilgilidir. İnsülinin parçalanabilir nişasta mikroküreleri 0.75 IU/kg ve 1.7 IU/kg insulin dozlarında hazırlanarak intranazal uygulanmıştır. Uygulamadan sonra doza bağlı olarak kan glukoz seviyelerinde azalma gözlenmiştir. Yaklaşık olarak biyoyararlanımı % 30 bulunmuştur (167).

Nişasta içeren mikrokürelerde molekül ağırlığı yüksek olan nişastanın, insülinin kan glukoz seviyesini düşük molekül ağırlığı olan nişastaya göre daha hızlı bir şekilde düşürdüğü görülmüştür (168).

Diğer bir çalışmada ise, insülinin epiklorhidrin (Sephadex) - çapraz bağlı dekstran mikroküreleri sıçanlara intranazal uygulanmıştır (169). İnsülinin nazal uygulanması sonucunda plazma glukoz seviyesinde hızlı bir düşüş gözlenmiştir. Maksimum etkiye plazma glukoz seviyesinin uygulamadan 40-60 dakika sonra %25'lik düşüş göstermesi ulaşılmıştır. Nazal mukozadan etkin maddenin geçişinde mikrokürelerin şişme kapasiteleri de etkin rol oynar. Çapraz bağlı nişasta mikrokürelerinin farklı şişme özelliklerine bağlı olarak insülinin salımını değiştirdiği tespit edilmiştir. Yukarıda da anlatıldığı gibi mikrokürelerin nazal emilimi arttırma mekanizmalarından biri, mukusun dehidrate olmasına bağlı olarak epitel hücrelerdeki sıkı bağlantı yerlerinin genişlemesidir. Bunu açıklamak için Caco-2 epitel hücreleri ile yapılan in vitro çalışmalarda, kuru toz nişasta mikrokürelerin üç dakika sonra anlamlı bir şekilde sıkı bağlantı yerlerini açtıkları gözlenmiştir. Sonuç olarak, ilacın permeabilitesi artmıştır (168). Yarı sentetik insülin içeren biyoadezif mikroküreleri, glikodeoksikolat çözeltisi içinde koyunlara nazal uygulandıktan sonra başlangıçtaki plazma glukoz seviyesini %55'e indirir. İnsülin içeren parçalanabilir nişasta

mikrokürelerin (Degredable Starch Microspheres-DSM) glikodeoksikolat çözeltisi ile kullanılarak, nazal uygulamadan sonra elde edilen plazma insülin seviyeleri kıyaslanmıştır. Glikodeoksikolat çözeltisi ile biyoadezif nişasta insülin mikroküreleri yüksek plazma insülin seviyesi elde edilmesini sağlayarak %31.9 biyoyararlanım göstermiştir. Glikodeoksikolat içermeyen insülin nişasta mikrokürelerin biyoyararlanımı ise, %3.6 olarak tespit edilmiştir.

pH'ya duyarlı biyoadezif poli(metakrilik asit) ve polietilen graft kopolimerleri P(MAA-9EG) nazal absorpsiyonu arttırmak amacıyla kullanılmaktadır. Allerjik rinit ve astım tedavisinde kullanılan budesonidin bu polimerlerle mikropartiküler sistemi hazırlanarak in vitro ve in vivo olarak değerlendirilmiştir. Budesonid içeren P(MAA-9EG) mikropartiküler sistem intranasal olarak tavşanlara uygulandıktan sonra bağıl biyoyararlanım %83.9 bulunmuştur (170). sCT(15.0 µ/kg)'in iki farklı tipte jelatin (negatif ve pozitif yüklü) ile mikroküre formülasyonları hazırlanmıştır. Çözelti formu ve jelatin mikroküreler intranasal olarak sıçanlara verilmiştir. Pozitif ve negatif yüklü mikrokürelerin gösterdiği hipokalsimik etki, çözelti formundan anlamlı olarak daha fazladır (171).

Diğer bir çalışmada, Gentamisin'in HPMC ile biyoadezif mikroküre formülasyonuna absorpsiyon artırıcı olarak sodyum kolat ilave edilmiştir. HPMC'nin gentamisin'in nazal boşlukta kalış süresini uzattığı ve sodyum kolatın da gentamisin'in nazal emilimini 3.2 kat arttırdığı bulunmuştur (172).

Nazal yoldan ilaçların emilimini arttırmak için, daha önce de belirtildiği gibi biyoadezif ve doğal kaynaklı bir polimer olan kitozan kullanılmaktadır. Nazal yoldan uygulanmak üzere kitozanın çözelti, jel ve mikroküre formülasyonları geliştirilmiştir. Kitozan ile hazırlanan mikroküre ve çözeltinin gönüllü deneklerde nazal arınma özelliklerinin incelendiği çalışmada, kitozan mikrokürelerin nazal boşluktan oldukça yavaş arındığı ve %50'sinin nazal mukozadan uzaklaşımının 84.dakikada gerçekleştiği saptanmıştır (173).

2.4.9. Mukoadezif Jeller

Nazal boşlukta etkin maddelerin absorpsiyon bölgesinden hızlı uzaklaştırılmalarını önlemek için biyoadezif polimerlerle jeller hazırlanmaktadır. Bu amaçla en çok kullanılan biyoadezif polimerler CP 934 P, HPMC, MC, NaCMC ve

yukarıda da belirtildiği gibi kitozandır. [D-Arg²]- kyotorfin enzimatik olarak dayanıklı opioid dipeptittir ve %0.5 a/h konsantrasyonda kitozan ile hazırlanan formülasyonundan nazal emilimin arttığı saptanmıştır (174). Morimoto ve ark.(171) poli(akrilik asit) jelinin insülinin ve kalsitoninin nazal emilimi üzerine etkisini incelemişlerdir. İnsülinin 0.1 ve %1 a/h konsantrasyondaki poli(akrilik asit) formülasyonlarının maksimum hipoglisemik etkisine sırasıyla 30 dakika ve 60 dakika sonra ulaşılmıştır. Kalsitonin içeren (10 IU/kg) %0.1 a/h poliakrilik jelin, nazal uygulamasından 30 dakika sonra hipokalsemik etkinin ortaya çıktığı gözlenmiştir.

Başka bir çalışmada ise, salmon kalsitonin (sCT) intranazal uygulaması için %1 a/h CP 934 ile jel formülasyonu geliştirilmiştir. Bunun yanısıra, farklı tipteki absorpsiyon arttırıcıların(sodium taurokolat ve DM-β-CD) sCT' in nazal emilimi üzerine etkisi, ticari preparat (Miacalcic 50^R) ile karşılaştırılarak tavşanlarda incelenmiştir. Mutlak hipokalsemik etki, ticari nazal sprey ile %5 bulunurken, jel formülasyonunda %12, sodium taurokolat içeren jel formülasyonunda %48 ve DM- β -CD içeren jel formülasyonunda ise %71 olarak tespit edilmiştir (175). Absorpsiyon arttırıcı içermeyen ve sCT içeren jel formülasyonunun mutlak biyoyararlanımı %12.9, ticari spreynin % 11 .2 olarak tespit edilirken, sodium taurokolat içeren jel formülasyonunun %42.4 ve DM- β -CD içeren jel formülasyonunun %33.9 bulunmuştur (176).

İntranazal jel formülasyonu ile ilgili diğer bir çalışmada ise, verapamil hidroklorürün MC (%5 a/h) ile jel formülasyonu ile gönüllü deneklerde oral ve i.v. uygulama karşılaştırılmıştır. Farmakodinamik bulgular, nazal olarak uygulanan jelin daha etkili olduğunu göstermektedir (177).

Mukoadezif jellerle yapılan başka bir çalışmada, siprofloksazin hidroklorürün (SPH) HPMC, hidroksietil selüloz (HEC) ve MC gibi polimerlerle jel formülasyonları hazırlanıp tavşanlara nazal yoldan verilmiş ve oral uygulanan süspansiyon formülasyonu ve i.v. ile karşılaştırılmıştır. Nazal yoldan uygulanan jellerden HPMC jel formülasyonunun en iyi sonuç verdiği ve oral yoldan verilen SPH'in biyoyararlanımına eşit biyoyararlanım gösterdiği saptanmıştır (178).

2.5. JELLER HAKKINDA GENEL BİLGİLER

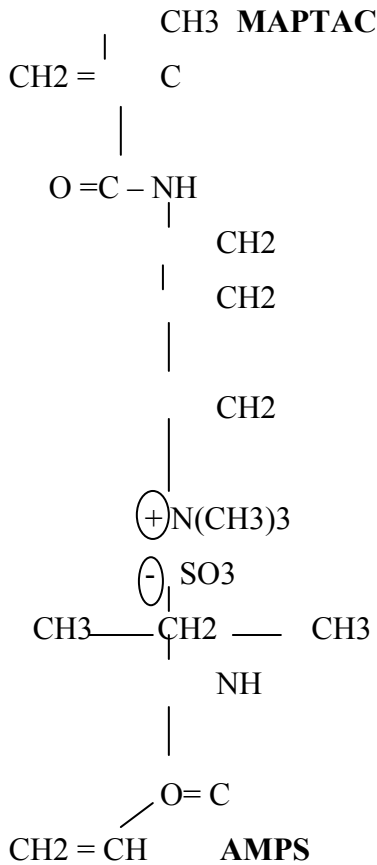
2.5.1 TANIM

Monomerler, kimyasal bir takım reaksiyonlarla birleşip monomer zincirleri meydana getirirler. Bu yapılara 'polimer' adı verilir. Monomerlerin bazıları, çoklu bağlar yaparak bazı kimyasal maddelerle yer değiştirip polimerlerin birbirleri ile etkileşmesine ve birbirlerine bağlanıp bir ağ yapısı oluşturmasına sebep olur. İşte bu ağ yapısına **jel** adı verilir (179, 180-182).

Diğer bir tanıma göre, kolloid bir dispersiyondaki partiküller veya moleküller, aralarına aldıkları ortamı tamamen sıkıştırırlarsa, sıvı sistem, yarı katı hale geçer. Bu oluşuma jel adı verilir.

2.5.2 JEL OLUŞUMUNA ETKİ EDEN FAKTÖRLER

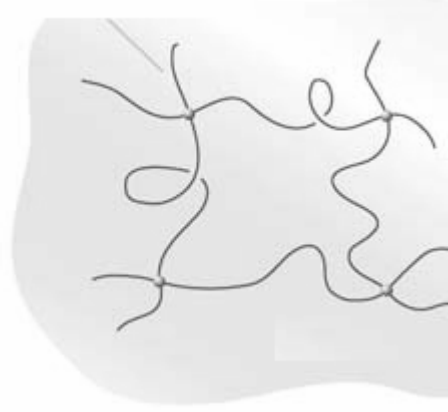
- Kolloidal partiküllerin konsantrasyonu
- Elektriksel değişimler ve
- Fiziksel etkenler etki ederler.



Elektrostatik etkileşim

Şekil 2.13 Heteropolimerlerin oluşumunu sağlayan monomerlere örnek (179).

Monomerler, elektrostatik etkileşimler, hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimler gibi moleküllerarası etkileşimlerle polimer oluştururlar. Örneğin; metakrilik asit monomeri, polimetil metakrilik asit oluşumunda rol oynar (179).



Şekil 2.14 Polimer ağının sıvı fazda dağılımı.

Polimer ağı, sıvı bir ortam içerisine konduğunda, jele benzer bir yapı oluşturur. Oluşan jel, polimerin yapısına bağlı olarak, sert, yumuşak veya elastik olabilir (179).

2.5.3 SINIFLANDIRMA

Jeller, genellikle, tek fazlı sistemler ya da iki fazlı yarı-katı bir sistem görünümündedirler. Jel yapıcı maddeler, hidrofilik yapıdadır. Örnek: carbopol, metil selüloz, sodyum karboksi metil selüloz, agar, bentonit, jelatin (179).

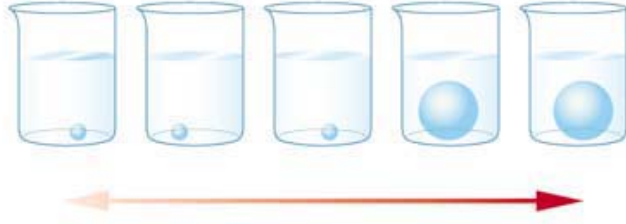
a. Tek Fazlı Sistemler

Sıvı fazda tamamen çözülmüş organik maddeler ile hazırlanan tek fazlı sistemlerdir (179). Karbomerler gibi sentetik veya arap zamkı gibi doğal polimerler içerirler. Doğal zamklar ile hazırlanan jellere “müsilaj” adı verilir (183). Bu sistemlerde organik makromoleküller, çözücü içerisinde düzensiz ve esnek polimer zincirleri halinde bulunurlar (184).

Bu sistemlerde en çok kullanılan çözücü sudur. Hazırlanan jellere “hidrojel” adı verilir. Bunun yanısıra, alkol ve mineral yağ da jel hazırlamada en çok tercih edilen çözücülerdir (183). Bunlarla hazırlanan jellere ise “organojeller” adı verilir (132).

b. İki fazlı sistemler

İnorganik küçük moleküllerin sıvı faz içerisinde oluşturduğu üç boyutlu, dayanıksız ağ yapılarıdır. Bu sistemlerde jel oluşumunu sağlayan inorganik moleküller, sıvı içerisinde dağılmış halde bulunurlar (184). Alüminyum hidroksit jeli buna örnek olarak verilebilir. Eğer, dağılan fazın kütlesi büyükse sistem, “magma” olarak adlandırılır (183).



Şekil 2.15. Ortamdaki değişiklikler etkisiyle jelde meydana gelen faz değişiminin şematik gösterimi (179).

Jeller, ortamın pH'sının değişmesiyle, ışık etkisiyle, ortama iyon ilavesiyle, elektrik veya manyetik alan uygulanmasıyla ya da bazı maddelerin ilavesiyle faz değiştirebilir (179).

2.5.4 JEL OLUŞUM MEKANİZMALARI

Jel yapıcı maddeler, uygun bir çözücü ile karıştırıldığında, üç boyutlu kolloidal bir ağ yapısında yarı katı bir polimer oluştururlar. Oluşan bu polimerin yapısı, jelin dayanıklılığı, deformasyonu ve reolojik özelliklerini etkiler.

İlaç endüstrisinde kullanılan jel yapıcı maddelerin büyük bir kısmı, düzensiz, spiral ağ yapısında polimer oluştururlar (180). Bu yapı, genellikle, polimer-polimer ve polimer-çözücü etkileşimi neticesinde meydana gelir.

2.5.4.1. Polimer-polimer etkileşimi

Polimer konsantrasyonu arttıkça, partiküller arası mesafeler azalarak polimer zinciri katlanır. Ağ yapısını oluşturan çapraz bağların sayısının artması ise, polimer zincirlerinin birleşmesine neden olur. Çözücü moleküllerinin kinetik enerjisi azalır; akmaya karşı direnç artar ve jel meydana gelir (180).

2.5.4.2. Polimer-çözücü etkileşimi

Çözücü moleküllerinin polimere ilgisi arttığında, polimer zincirleri çözücü molekülleri tarafından sarılarak düzensiz ağ yapısının genişlemesine neden olur. Eğer çözücü zayıfsa, polimer zincirleri ile temas daha az olacağından çapraz bağların sayısı azalır ve daha zayıf yapılı bir jel oluşur (180).

2.5.5 JEL HAZIRLAMADA KULLANILAN POLİMERLER

Jel hazırlanmasında kullanılan polimerler, doğal ya da sentetik özelliktedir. İlaç endüstrisinde kullanılacak bir jel yapıcı maddenin aşağıdaki özelliklere sahip olması gerekir(184):

- a. İnert ve saf olmalı
- b. Etkin madde ve diğer yardımcı maddelerle geçimli olmalı
- c. Düşük konsantrasyonda etkin olmalı
- d. Ekonomik ve kolay temin edilebilir olmalı
- e. Kullanım ve depolama süresince reolojik özellikleri, sıcaklık gibi etmenlerden fazla etkilenmemeli
- f. Kolay uygulanabilir olmalı
- g. Kozmetik ve estetik açıdan kabul edilebilir olmalı
- h. Uygulandıktan sonra kolayca temizlenebilmeli

Jel hazırlanmasında kullanılan başlıca polimerler; doğal zamklar, selüloz türevleri, kolloidal maddeler, yüzey etkin maddeler ve karbomerlerdir (150, 184).

2.5.5.1. Doğal Polimerler:

Jel yapıcı doğal maddelerin başlıcaları; jelatin, arap zımkı, kitre zımkı, gellan zımkı, pektin, karagen, aljinat, ksantan zımkı ve kitozandır (150).

2.5.5.1.1. Jelatin

Jelatin, hayvan deri ve kemiklerinden elde edilen doğal bir proteindir. İki yöntemle elde edilir (179):

- a. A tipi jelatin: Domuz ve sığır postlarından asidik işlem uygulanarak
- b. B tipi jelatin: Boynuz ve kemiklerden alkali işlem uygulanarak.

Jelatin stabilizör olarak gıda teknolojisinde, kozmetik, eczacılık, fotoğrafçılık ve temizlik sektöründe kullanılmaktadır. Katıldığı ürüne göre kıvam arttırıcı, köpürmeyi sağlayıcı, emülgatör, stabilizatör, bağlayıcı yapıştırma ve kremleştirici ajan olarak görev yapmaktadır.

2.5.5.1.2 Pektin

Bazı meyvaların kabuk, kök ve rizomlarından elde edilir. Asidik polisakkarit yapısında bir maddedir (184). Jel formülasyonlarında %0.5-5 oranında kullanılır.

2.5.5.1.3 Kitozan

Bakteri fermantasyonu ile üretilir (184). %0.5-5 oranında jel yapıcı madde olarak kullanılır.

2.5.5.1.4 Aljinatlar

Aljinatlar, aljinik asit adı verilen biyopolimerin uzun zincirli tuzlarıdır. Kahverengi alglerden elde edilen polisakkarit yapısındaki bileşiklerdir (185). Beyaz toz haldedirler. Çoğunlukla sodyum tuzları kullanılır. %1-5 konsantrasyonda jel oluşturur (150, 184). Elde edildiği alg türü ve çözeltideki iyonlara bağlı olarak farklı viskozite ve etkinlikte tipleri mevcuttur.

Aljinik asit, suda çözünmez. Fakat, tuzları hidrokolloid yapısındadırlar. Suyu ya bağlar ya da absorbe ederler. Viskozluk verici, stabilizatör, emülsifyan, kaplama ajanı ve jel yapıcı olarak kullanılırlar. İlaç endüstrisinde bağlayıcı, zaman kontrollü ilaç taşıyıcı sistemlerde ve antiasit formülasyonlarında film kaplama ajanı olarak formülasyona ilave edilirler.

Aljinatlar, genellikle, aside ve sıcaklığa dayanıklıdırlar. Kalsiyum iyonlarının varlığında çapraz bağlanma ve bunun neticesinde, jelasyon gerçekleşir. Pektin gibi diğer viskozite arttırıcıların da formüle ilavesi ile viskozite büyük ölçüde artış gösterir.

2.5.5.1.5 Karagen

Kırmızı alglerden elde edilir. Galaktoz ve 3,6 anhidrogalaktozun sodyum, potasyum, amonyum, kalsiyum ve magnezyum sülfat esterlerinin karışımından ibaret bir yapıya sahiptir. Kappa, iyota ve lambda olmak üzere 3 ana kopolimeri mevcuttur. Jel hazırlamada %1-5 konsantrasyonda kullanılır (150, 184).

2.5.5.1.6 Gellan zamkı

Fermentasyonla üretilen polisakkarit yapısında bir zamktır. %0.05 gibi çok düşük konsantrasyonlarda bile jelleşme özelliğine sahiptir (184).

2.5.5.1.7 Arap zamkı

Nötral ve hafif asit karakterdedir. Kalsiyumi magnezyumve potasyum iyonlarını içerir. Molekül ağırlığı 250,000 – 580,000 arasındadır. Toksik olmayan, kokusuz ve renksiz bir tuzdur. Yağlarda ve organik çözücülerde çözünmez. Gliserinde sıcakta çözünür. Viskozitesi, sıcaklığa bağlı olarak değişir. pH 6-7 arasında viskozitesi maksimum değere ulaşır. pH'dan daha yüksek pH'larda viskozitesi azalır. Sodyum sitrat ilavesi ile viskozitesi artar (185).

2.5.5.1.8 Kitre zamkı

Astragalus türlerinden elde edilir (184). Yapısında bassorin ve tragakantin mevcuttur (185). Jel formülasyonlarında, %0.5-3 konsantrasyonda kullanılır (150).

2.5.5.2. Sentetik Polimerler

Jel hazırlamada kullanılan sentetik polimerlerin büyük bir kısmı, selülozdan elde edilmektedir. Sodyum karboksi metil selüloz, hidroksi etil selüloz, hidroksi propil metil selüloz, hidroksi propil selüloz ve metil selüloz başlıcalarıdır (184).

2.5.5.2.1 Metil selüloz

Yerel etkili jel formülasyonlarında yaygın olarak kullanılan bir polimerdir. Sulu çözeltisinin ısıtılmasıyla jelleşir. Genellikle, %1-5 oranında kullanılır (186).

2.5.5.2.2 Sodyum karboksi metil selüloz

Selülozun polikarboksimetil eterinin sodyum tuzudur (186). Jel hazırlamada genellikle, %4-6 oranında kullanılır (150).

2.5.5.2.3 Hidroksi etil selüloz

Suda çözünen noniyonik karakterde bir polimerdir (sevgi 108). Jel formülasyonlarında genellikle, %1-5 oranında kullanılır (92).

2.5.5.2.4 Hidroksi propil selüloz

Selülozun polihidroksipropil eteridir. Yerel etkili jel formülasyonlarında kullanılır. Genellikle, %1-5 oranında formülasyonlara ilave edilir (150, 186).

2.5.5.2.5 Hidroksipropil metil selüloz

Farmasötik formülasyonlarda %0.5-5 oranında kullanılır (150).

2.5.5. 3 Kolloidal maddeler

Alüminyum silikat yapısındaki Bentonit ve Veegum gibi inorganik polimerler yüksek konsantrasyonda sulu ortamda jel oluşturma özelliğine sahiptir (184-185). Ayrıca, mikrokristal selüloz %0.5-3, mikrokristal silika ise %2-10 oranında jel meydana getirir (150, 184). Tikotropik reoloji gösterirler.

2.5.5.4 Yüzey etkin maddeler

Polaxamerler, polioksietilen/polioksipropilen blok kopolimerleri gibi bazı noniyonik yüzey etkin maddeler %20-40 gibi yüksek konsantrasyonlarda; mineral yağ ve su ile karıştırıldığında saydam görünümlü jel oluşturma özelliğine sahiptirler (184).

2.5.5.5. Karbomerler

%56-68 oranında karboksilik asit içeren akrilik asit polimerleridir. Farmasötik ve kozmetik endüstrisinde yaygın olarak kullanılan sentetik, büyük molekül ağırlıklı jel yapıcı maddelerdir (183). %0.5-2 oranında jel formülasyonlarına ilave edilirler (186). Karbomerlerle, su veya alkol yardımıyla jel formülasyonları hazırlanır.

Formülasyonlara alkol ilavesi jelin yapısını bozamaz. Ancak, alkol konsantrasyonunun aşırı artması viskozite ve şeffaflığı azaltır (180). Jelin viskozitesine, çeşitli iyonların varlığı ve ortamın pH'sı büyük ölçüde etki eder (184). Reolojik ve estetik yönden ideal bir jel formülasyonunun hazırlanması için optimum pH, genellikle 7'dir. Alkali pH'da viskozite azalır; geri dönüşümü olmayan yapısal bozukluklar meydana gelebilir (180, 187).

Karbomerlerden Carbopol 934P, 940P ve 974P en çok kullanılanlardır (188-193). %0.5-1 oranında Carbopol 934P kullanılarak hazırlanan hidroalkolik ve sulu sistemlerin reogramları, psödoplastik akış göstermektedir (180). Molekül ağırlığı 3 x 10⁶ olan Carbopol 934P'nin jel oluşturma mekanizması, akrilik asidin yapısındaki karboksilik asit içeriğinin nötralizasyonuna dayanır (180). Nötralize edildiğinde, şeffaf

bir görünüm alır. Nötralizasyon için genellikle, sodyum hidroksit veya trietanol amin kullanılır (186). Carbopol 940 P, hakiki çözeltiler ve hidroalkolik jellerin hazırlanmasında kullanılan bir polimerdir. Akışkanlığı yavaştır ve mayoneze benzer bir reoloji gösterir (186).

2.6 ÇALIŞMANIN AMACI

Bu çalışmada amaçlanan:

- a. Tip 2 Diyabet hastalarının tedavisinde postprandiyal glisemiye düşürecek özellikte, dozaj sıklığı az, hasta uyuncu yüksek, iritan etkisi minimum düzeyde, subkütan enjeksiyona alternatif teşkül edebilecek özellikte intranazal jel sprej formülasyonu geliştirilmesi ve karakterizasyonu,
- b. Nazal mukozada iritasyon yapıp yapmadığının in vivo deneylerle incelenmesi,
- d. Biyoyararlanımının belirlenmesi,
- e. Geliştirilen formülasyonun Farmasötik Bakım açısından değerlendirilmesidir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Aletler

Buzdolabı	: Regal, Nofrost, TR
Derin dondurucu (-20°C)	: Regal, TR
Dikey Elektroforez	: Thermo Hybaid, ABD
Distile Su Cihazı	: Destilation AC-L8, Almanya
Erime Derecesi Tayin Cihazı	: Thomas Hoover Capillary Melting Point Apparatus
Etüv	: Memmert, Almanya
Franz Diffüzyon Hücresi	: İLDAM (Özel imalat), Türkiye
FTIR Spektrofotometre	: Vavian 1000 FT-IR, Scimitar Series, Amerika
Güç Kaynağı	: CLP Continental Lab Products, Power Station 300, ABD
Hassas Terazı	: Scaltec SBC
Manyetik Karıştırıcı	: Velp Santifica
pH metre	: Metler Toledo, ABD
Polarize Işık Mikroskobu	: Nikon, Japonya
Termostatlı Su Banyosu	: Memmert, Almanya
Termostatlı yatay çalkalayıcı	: Memmert, Almanya
UV Spektrofotometre	: TU 1880 Double Beam
Üstten Kefeli terazı	: OHAUS Advanturer, Almanya
Viskozımetre	: Viscostar Plus
3.1.2. Kimyasal Maddeler	
Carbopol 940P	: BF Goodrich, Cleveland, Ohio, Amerika

İnsülin (Bovin Pankreasından)	: Sigma, St. Louis, Amerika
Lesitin	: Sigma, ABD
Oleik Asit	: Merck, Almanya

3.2. Yöntemler

3.2.1 Etkin Madde Üzerinde Yapılan Çalışmalar

3.2.1.1 İnsülinin Miktar Tayini

İnsülinin çözünürlük ve selofan zardan in vitro ve ex vivo salım hızı tayinleri, stabilite deneyleri ile jellerde insülin miktar tayini için UV spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Yöntemin güvenilirliğini saptamak üzere analitik yöntem validasyon çalışması yapıldı.

3.2.1.1.1 UV Spektrumunun Belirlenmesi

İnsülinin pH 7.4 fosfat tamponunda 0.925 IU/ml konsantrasyondaki stok çözeltisi hazırlandı. UV-Vis Spektrofotometrede 220-350 nm arasında spektrumu alındı. Maksimum absorbans verdiği dalga boyu saptandı.

3.2.1.1.2 Standart Eğrisinin Hazırlanması

İnsülinin pH 7.4 fosfat tamponunda 0.0462 IU/ml-0.925 IU/ml konsantrasyon aralığında, çözeltileri hazırlandı. Daha sonra, bu çözeltilerin UV-Vis Spektrofotometrede 276 nm dalga boyunda absorbans değerleri köre karşı okunarak standart eğrisi çizilip bilgisayar programı yardımıyla doğru denklemi hesaplandı. Her biri en az üç kez tekrarlandı.

3.2.1.1.3 Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

Analitik yöntem validasyonu, bir test yönteminin doğru ve kesin bir şekilde sürekli olarak bekleneni gerçekleştirdiğinin kanıtlanmasıdır (181, 194). İnsülin miktar tayini yönteminin validasyonu için, doğruluk ve kesinlik çalışması yapıldı (193- 195).

3.2.1.1.4 UV Spektrofotometrik Yöntem Validasyonu

3.2.1.1.4.1 Doğrusallık

Bir analitik yöntemin doğrusallığı, deney bulgularının örnek çözeltisi içindeki madde konsantrasyonu ile belirli bir aralıkta olmasıdır (194). Yöntemin doğrusallığı için, 25 mg insülin hassas tartıldı, pH 7.4 fosfat tamponu ilave edilerek hacmi 100 ml'ye tamamlandı. Bu stok çözeltisinden alınan örneklerle uygun seyreltmeler yapıp 0.0462- 0.925 IU/ml aralığındaki örnekler ile 6 farklı konsantrasyonda UV absorpsiyon değerleri 276 nm'de UV-Vis spektrofotometre kullanılarak ölçüldü. Konsantrasyonlara karşılık gelen absorpsiyon değerlerinin en küçük kareler yöntemiyle hesaplanmasıyla standart eğri çizildi. Regresyon denklemi bulundu ve determinasyon katsayısı (r^2) değeri hesaplandı. Her konsantrasyon için, deney 6 kez tekrarlandı.

3.2.1.1.4.2 Kesinlik

Analitik bir yöntemin kesinliği belirlenen çalışma koşullarında hazırlanan aynı örnek çözeltisinden birden fazla seyreltme ile elde edilen bir serinin ölçümleri arasındaki uyumun yakınlığını ifade eder (194). Standart sapma veya rölatif standart sapma (%RSD) değeri ile ifade edilir. Kesinlik, yöntemin tekrar edilebilirlik derecesinin bir ölçüsüdür (181). Bu amaçla, yöntem 3.2.1.1.4.1'de belirtildiği gibi stok çözelti hazırlandı ve aşağıda belirtildiği gibi çalışıldı.

3.2.1.1.4.2.1 Tekrarlanabilirlik

Stok çözeltiden 0.25 IU/ml insülin içerecek şekilde pH 7.4 fosfat tamponu ile seyreltme yapıldı ve çözeltilerin absorpsiyonu pH 7.4 fosfat tamponuna karşı 276 nm 'de UV spektrofotometre ile ölçüldü. Ölçüm 6 kez tekrarlandı. Regresyon denklemi yardımı ile çözeltilerin konsantrasyonları ve elde edilen sonuçlardan rölatif standart sapma (%RSD) hesaplandı.

3.2.1.2 İnsülinin FTIR Spektrumunun Belirlenmesi

İnsülinin FTIR spektrumu, 4000-400 cm^{-1} dalga sayısı aralığında otomatik sampler ile ölçüm yapılarak elde edildi.

3.2.1.3 İnsülinin Erime Derecesinin Tayini

İnsülinin erime derecesi, kılcal tüp içinde erime derecesi tayin cihazı ile saptandı. Deney 3 kez tekrarlandı.

3.2.1.4 İnsülinin Çözünürlük Tayini

3.2.1.4.1 pH 7.4 Fosfat Tamponunun Hazırlanması

Deneyde pH 7.4 fosfat tamponu kullanıldı. 2.38 g disodyum hidrojen ortofosfat, 0.19 g potasyum dihidrojen ortofosfat, 8 g sodyum klorür distile su içinde çözündürülüp hacmi 1 litreye distile su ile tamamlandı. Çözeltinin pH'sı pH metre ile ölçülerek 7.4'e tamamlandı.

3.2.1.4.2 İnsülinin pH 7.4 Fosfat Tamponunda Çözünürlüğünün Tayini

İnsülinin pH 7.4 fosfat tampon çözeltisinde çözünürlüğü tespit edildi. Bunun için, 50 ml'lik kapaklı erlene 10 ml pH 7.4 tampon kondu. Bu ortamda tamamen çözünemeyecek kadar insülin ilave edildi ve erlen $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ su banyosuna yerleştirildi. Çalkalayıcı su banyosunda 24 saat sürekli çalkalanarak tutuldu. Belirli zaman aralıklarında $0.45 \mu\text{m}$ por büyüklüğüne sahip membran filtreden süzülerek örnekler alınıp spektrofotometrik miktar tayini yapıldı. Her ölçüm sırasında numunede herhangi bir bozunma olup olmadığını tespit etmek için etkin maddenin UV spektrumu alınarak önceden elde edilen spektrumla karşılaştırıldı. Çözülen miktar dengeye gelinceye kadar deneye devam edildi ve çözünürlük g/ml olarak hesaplandı. Deneyler, en az üç kez tekrarlandı.

3.2.2 İnsülin Jel Formülasyonlarının Hazırlanması

İnsülin jel formülasyonları Çizelge 3.1'de verilen içerikte hazırlanmıştır. Penetrasyon arttırıcı madde içermeyen formülasyonlar (F106 ve F108) için, Carbopol 940 distile suyun tamamı ile 2 gece bekletilerek şişirildi. pH metre ile kontrol edilerek jelin pH'sı 4.0 ± 0.1 olarak ayarlandı.

Formülasyon F106025 ve F10605'e sırasıyla %0.25 ve 0.5 oranında oleik asit penetrasyon arttırıcı olarak ilave edildi. F106L1 ise, %1 lesitin ilavesi ile hazırlandı.

Formülasyonlar homojen olacak şekilde karıştırıldıktan sonra, cam pomat kutularına yerleştirildi.

3.2.3 Jel Formülasyonları Üzerinde Yapılan Kontroller

3.2.3.1 İnsülin Miktar Tayini

0.5 g jel tartıldı. 25 ml fosfat tamponu ilave edildi. 50 ml'lik balon jøjeye aktarıldı. Ultrasonik banyoda 10 dakika bekletildikten sonra, pH 7.4 fosfat tamponu ile hacmine tamamlandı. Bu stok çözeltiden 1 ml alındı ve pH 7.4 fosfat tamponu ile balon jøjede 10 ml'ye seyreltildi. 0.45 µm por çapındaki membran filtreden süzöldükten sonra, çözeltilerin absorbans değeri UV spektrofotometre ile 276 nm'de pH 7.4 fosfat tamponuna karşı ölçöldü. Her formölyasyon için deney 3 kez tekrarlandı.

Çizelge 3.1. İnsölinin jel formölyasyonlarının içeriği.

Formölyasyon İçeriği	F106	F108	F106L1	F106O25	F106O5
İnsölin	250 µL	250 µL	250 µL	250 µL	250 µL
Carbopol 940	0.15 g	0.2 g	0.15 g	0.15 g	0.15 g
Oleik asit	-	-	-	0.125 g	0.062 g
Lesitin	-	-	0.25 g	-	-
Distile su	24.85 g	24.80 g	24.60 g	24.725 g	24.788 g

3.2.3.2 Jel Formölyasyonlarında Viskozite Tayini

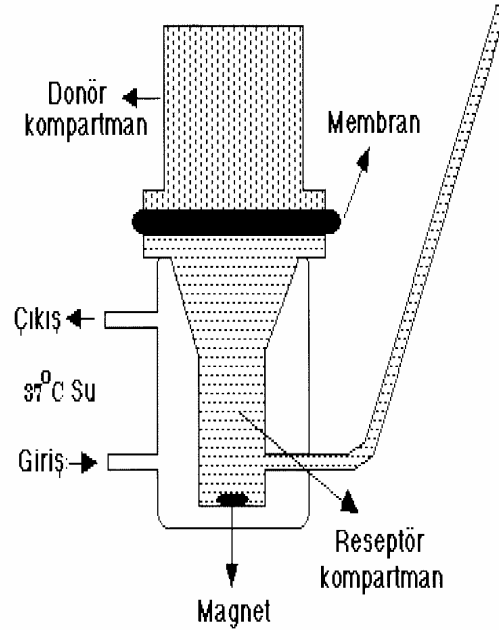
Viskozite ölçümü için taze hazırlanmış formölyasyonlar kullanıldı. Her bir formölyasyon, hava kabarcığı kalmayacak şekilde mezüre yerleştirildi ve 25°C'deki viskoziteleri ölçöldü. Her ölçüm en az 3 kez tekrarlandı.

3.2.3.3 Formölyasyonlardaki İnsölinin Selofan Zardan In vitro Koşullarda Salımı

In vitro salım deneylerinde reseptör faz hacmi 28 ml, diffüzyonun gerçekleştiği yüzey alanı 2.54 cm² olan çift ceketli modifiye Franz diffüzyon hücresi kullanıldı (Şekil 3.1).

Hücredeki reseptör fazın (pH 7.4 fosfat tamponu) ısınması termostatlı su banyosundan gelen ve devamlı su ceketinde dolaşan su ile sağlandı. Reseptör faz yerleştirilmeden önce 10 dakika ultrasonik banyoda bekletildi. Böylece, ortamda hava kabarcığı oluşması engellendi. Selofan zar (Visking tubing, UK) deneyden 24 saat önce pH 7.4 fosfat tamponunda bekletildi. Reseptör fazın sıcaklığı 37 ± 0.5 °C'ye

ayarlandıktan sonra hava kabarcığı meydana gelmeyecek şekilde selofan zar reseptör faz üzerine yerleştirildi. Zar üzerine 1 g jel yayıldı. Daha sonra, iki adet klips yardımıyla reseptör faz ile jelin yerleştirildiği kısmın birlikte kenetlenmesi sağlandı. Reseptör faz, manyetik karıştırıcı ile 600 devir/dakika hızla karıştırıldı. 5, 15, 30, 45, 60, 75 ve 90. dakikalarda kanül yardımıyla 0.5 ml numune alındı. Aynı miktarda ve aynı sıcaklıkta



Şekil 3.1 Modifiye Franz Diffüzyon Hücresinin şematik gösterimi

fosfat tamponu hücreye ilave edildi. Alınan örnekler uygun biçimde seyreltildikten sonra, spektrofotometrede 276 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Elde edilen absorbans değerlerinden standart eğri yardımıyla konsantrasyon hesabı yapıldı. Her formülasyon için 4 deney yapılarak elde edilen değerlerin ortalaması alındı. Standart sapma değerleri hesaplandı.

3.2.3.4 Formülasyonlardaki İnsülinin Sıçan Derisinden Ex Vivo Koşullarda Salımı

Formülasyonlardaki insülinin selofan zardan salımına ait deney sonuçları kinetik modelleri ile değerlendirildi. Jel formülasyonlarındaki insülinin salınım hız sabitleri karşılaştırıldı. %0.06 Carbopol 940 içeren formülasyonlardaki insülinin sıçan derisinden ex vivo diffüzyonu incelendi. Çalışmada 200-250 g ağırlığında Wistar erkek sıçan karın derisi kullanıldı. Deri üzerindeki tüyler, dikkatle deriye zarar vermeden

temizlendi. Uygun boyutlarda kesildikten sonra, kullanılabildiği kadar (-20°C)'deki derin dondurucuda bekletildi. Deriler 12 saat içerisinde kullanıldı. Ex vivo sıçan derisinden diffüzyon deneylerinde de yöntem 3.2.3.3'deki gibi çalışıldı. Selofan zar yerine uygun boyutta kesilmiş sıçan derileri reseptör fazın üzerine yerleştirildi. 5, 15, 30, 45, 60, ve 90. dakikalarda kanül yardımıyla reseptör fazdan 0.5 ml numune alındı. Aynı miktarda ve aynı sıcaklıkta fosfat tamponu hücreye ilave edildi. Alınan örnekler uygun biçimde seyreltildikten sonra, spektrofotometrede 276 nm'de absorbans değerleri ölçüldü. Elde edilen absorbans değerlerinden standart eğri yardımıyla konsantrasyon hesabı yapıldı. Her formülasyon için 4 deney yapılarak elde edilen değerlerin ortalaması alındı. Standart sapma değerleri hesaplandı.

3.2.3.5 Formülasyonlardaki İnsülinin Stabilitesinin Tayini

Hazırlanan tüm formülasyonlar üzerinde stabilite çalışması yapıldı. Bu çalışma için, formülasyonlar hazırlanarak cam pomat kutularına dolduruldu ve ağızları sıkıca kapatıldı. İnsülinin bu formülasyonlardaki stabilitesi $40 \pm 2^\circ\text{C}$ ve $4 \pm 0.2^\circ\text{C}$ sıcaklıkta 2 ay süre ile hızlandırılmış stabilite testine tabi tutuldu (150). 2 aylık sürenin sonunda, alınan örneklerde insülin miktar tayini yöntem 3.2.1.1'de belirtildiği gibi yapıldı. Her formülasyon için deney 3 kez tekrarlandı.

İnsülinin yapısında 2 ay süresince bozunma olup olmadığını anlamak için, SDS-PAGE yöntemi uygulandı (179). Bunun için 150 mg jel tartıldı. Fosfat tamponu ile insülin ekstre edildi. Poliakrilamid jeline; saf insülin ve stabilite çalışmasından elde edilen numuneler tatbik edildi. Gümüş boyama ile jellerdeki insülinin yapısında herhangi bir değişim olup olmadığı tespit edildi. SDS PAGE için aşağıda açıklanan yöntem kullanıldı.

3.2.3.5.1 Doğal Olmayan (Denatüre) Jel Elektrofrezisi: SDS-PAGE

Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektrofrezinde (SDS-PAGE), polipeptidlerin ilerleme hızları, sadece iç elektriksel yükleri tarafından değil aynı zamanda molekül ağırlıkları tarafından da belirlenmektedir. SDS, polipeptidlerin ana iskeletini çevreleyerek proteinleri denatüre eden anyonik bir deterjandır. Ayrıca moleküler negatif bir yük de kazandırmaktadır.

3.2.3.5.1 Çözeltiler

Tüm çözeltiler deiyonize saf su ile hazırlanıp ve filtre ederek kullanıldı.

A) Monomer (akrilamid/bis) çözeltisi (% 30 T, % 2.7 C_{bis})

Akrilamid.....29.2 g

Bis.....0.8 g

H₂O.....100 ml'ye tamamlandı.Karanlıkta, 4°C'da saklandı.

B) 4 x Ayırma jeli tamponu (1.5 M Tris, pH 8.8)

Tris.....18.15g

3 N HCL ile pH 6.8'e ayarlandı.

H₂O.....100 ml'ye tamamlandı. 4°C'da saklandı.

C) 4 x Ayırma jeli tamponu (1.5 M Tris, pH 8.8)

Tris.....3 g

5 N HCL ile pH 6.8'e ayarlandı.

H₂O.....50 ml'ye tamamlandı. 4°C'da saklandı.

D) % 10 SDS

SDS.....10g

H₂O.....100 ml'ye tamamlandı.
Oda sıcaklığında saklandı.

E) % 10 amonyum persülfat (polimerizasyon başlatıcı)

Amonyum persülfat.....0.5 g

H₂O.....5ml'ye tamamlandı.

Bu çözelti kullanımdan hemen önce hazırlandı. Amonyum persülfat vakumlu desikatörde saklandı.

F) Ayırma jeli yüzey çözeltisi (0.375 M Tris, % 0.1 SDS, pH 8.8)

Tris (B).....25 ml

SDS (D)..... 1 ml

H₂O..... 100 ml'ye tamamlandı. Oda sıcaklığında saklandı.

G) 2x Örnek uygulama tamponu (0.125 M Tris, % 4 SDS, % 20 gliserol, % 10 2-merkaptotanol, % 0.2 bromofenol mavisi pH 6.8)

pH yarı boya katılmadan önce yapıldı. % 10 2-merkaptotanol kullanıldı. DTT içermeyen tampon oda sıcaklığında saklandı.

Tris (C).....2.5 ml

SDS (D).....4 ml

Gliserol.....2 ml

2-Merkaptotanol.....1 ml

H₂O.....100 ml'ye tamamlandı.

Kullanılacak hacimlere bölündü ve derin dondurucuda (-20°C) saklandı.

H) 5x Tank tamponu (0.025 M Tris, 0.192 M glisin, % 0.1 SDS, pH 8.3)

Tris.....15 g

Glisin.....72 g

SDS.....5 g

H₂O.....1 litreye tamamlandı.

Bu çözeltinin pH'sını ayarlamaya gerek olmadığından hazırlanır hazırlanmaz 4°C'da saklandı, kullanılacağı zaman oda sıcaklığına getirildikten sonra 5 kez sulandırıldı ve tanka dolduruldu.

3.2.3.5.2 Yöntem

3.2.3.5.3 Jel Kasetinin Hazırlanması

Jel kaseti hazırlanırken karşılaşılan en önemli sorun sızdırmadır. Bunu önlemek için bazı aletlerde silikondan yapılmış contalar kullanıldı.

3.2.3.5.4 Ayırma Jelinin Hazırlanması

Ayırma jeli bir gece önceden döküldü. Jel dökme aparatı hazırlandıktan sonra, 125 ml'lik bir erlende ayırma jelini oluşturan çözeltiler, amonyum persülfat (APS) (E) hariç olmak üzere karıştırıldı. En az 5 dakika süreyle karışımın havası alındı. Bu amaçla, karışım bir vakum erleninde hazırlandı. Amonyum persülfat (E) eklendikten sonra, hava kabarcığı oluşturmada yavaşça çalkalandı. Karışım jel kasetine Pasteur pipeti veya enjektör yardımıyla, üstten 2-3 cm kalana dek dolduruldu.

Çizelge 3.2 Modifiye Edilmiş Laemmlı Yöntemine Göre SDS Jel Elektrofrezinde Kullanılan Jel Karışımlarının Hazırlanması

	Ayırma jeli		Yükleme Jeli	
	% 10 T	% 12 T	% 16 T	% 5 T
Monemer (A)	9.975 ml	12 ml	15.975 ml	1.6 ml
Tampon (B) veya (C)	7.5 ml (B)	7.5 ml (B)	7.5 ml (B)	2.5 ml (C)
% 10 SDS (D)	0.3 ml	0.3 ml	0.3 ml	0.1 ml
H ₂ O	11.925 ml	10.2 ml	5.925 ml	5.63 ml
TEMED	15 µl	15 µl	15 µl	5 µl
Karışımın havası alındı.				
APS (E)	300 µl	300 µl	300 µl	100 µl
Jel kasetine döküldü.				

%10T oranına göre, ilgili sütündeki maddeler karıştırılarak ayırma jeli döküldü. Jelin yüzeyini düzgünleştirmek için, yaklaşık 0.3 ml su ile doyrulmuş n-butanol çözeltisi , bir enjektör yardımıyla, jel kasetinin her iki kenarından döküldü. Enjektörün ucu jelin kalınlığını oluşturmak için kullanılan ayırıcı teflona (spacer) değdirildi. Birkaç dakika içinde, n- butanol, jel iç yüzeyine geçerek polimerizasyon tamamlandığında, çok keskin bir sıvı jel iç fazı oluşturdu. Polimerizasyon tamamlandıktan sonra (1 saat içinde) üst yüzeydeki butanol döküldü. Jel yüzeyi saf su ile birkaç kez yıkandı. Yaklaşık 1 ml ayırma jeli yüzey çözeltisi (F) eklendi. Yükleme jeli ayırma jeli polimerize olduktan sonra döküleceği için ayırma jelinin yüzeyi bu çözelti ile kaplandı ve kasetin ağzı streç film ile sarılarak soğukta (4°C) saklandı. Jelin terleşmesi için birkaç saat bekletildi.

3.2.3.5.5 Yükleme Jelinin Hazırlanması

Jelin üzerindeki sıvı uzaklaştırıldı. 20 ml'lik bir erlende, yükleme jelini oluşturan çözeltiler, APS (E) hariç olmak üzere karıştırıldı. Daha önce (2. adımda) yapıldığı gibi, karışımın havası alındı. Amonyum persülfat (E) eklendikten sonra hafifçe çalkalandı. Jel yüzeyi 1-2 ml yükleme jeli tamponu ile yıkandıktan sonra jel karışımı ile

tamamen dolduruldu. Tarak yerleştirildi. Bu sırada tarağın dişlerinin altında hava kabarcığı sıkışmamasına dikkat edildi. Böylece, oksijenin polimerizasyonu inhibe etmesi ve ceplerin bozuk olması önlenmiş oldu. Bu için, önce, tarağın bir ucu daldırdı, daha sonra diğer ucu yavaşça yere paralel konuma getirilerek sıvıya tamamen batırıldı. En az yarım saat polimerize olması beklendi.

3.2.3.5.6 Örneğin ve Standartların Hazırlanması

Eşit hacimde protein örnek ile 2x örnek uygulama tamponu (G) bir mikrosantrifüj tüpünde karıştırıldı. Referans olarak kullanılan standart protein karışımı üretici firmanın önerdiği şekilde örnek uygulama tamponunda hazırlandı. Hazırlanan tüm tüpler 10 dakika kaynar su banyosunda bekletildi. Isıtma sırasında Eppendorf tüplerinin kapaklarının iç basıncın artması nedeniyle açılmaması için, kapakların üstünde bir toplu iğne ile delik açıldı. Örnekler elektroforeze uygulanıncaya kadar buz dolu bir kabın içinde bekletildi.

3.2.3.5.7 Örneklerin Uygulanması ve Elektroforez

Tarak, bir taraftan başlayarak ve kuyucukların bozulmamasına dikkat edilerek yavaşça kaldırıldı. Cepler saf su ile yıkandı. 5xTank tamponu (H), 5 kez sulandırıldıktan sonra aletin alt bölmesindeki işaretli yere (elektrodun temas edebileceği bir yüksekliğe) kadar dolduruldu. Polimerize jellerin bulunduğu kaset, jelin alt kısmında hava kabarcığı olmayacak şekilde elektroforez aygıtına yerleştirildi. Aletin üst bölmesi de 5 kez sulandırılmış H tamponu ile dolduruldu. Cepler bir kez de bu tampon ile yıkandıktan sonra, örnekler ve standart protein karışımı jeldeki ceplere yüklendi. Sistem güç kaynağına bağlanarak, alet 16 mA akım geçecek şekilde ayarlandı. Proteinlerin jeldeki hareketini izlemeyi sağlayan boyaya ait bant (burada hızlı gümüş boyama kullanıldı), yükleme jelinden çıkıp ayırma jeline girdiğinde, akım 30 mA'e artırıldı ve işlem sonuna kadar bu akımda devam edildi. Jelin çıkartılması için, camların arası, plastik bir cetvel yardımıyla açıldı.

3.2.3.5.7 Hızlı Gümüş Boyama ile Saptama

Elektroforetik ayırım sonunda jelde ayrılmış proteinlerin analizi için, öncelikle gözle görünür hale getirilmeleri gerekir. Bu amaçla başvuru en temel yöntem boyamadır. Farklı duyarlılıktaki boyama maddeleriyle reaksiyona giren proteinler, jel

üzerinde renkli bantlar şeklinde belirirler. Böylece çalışılan protein örneğindeki bant(lar), referans olarak kullanılan standart proteinlerin ortaya koyduğu bantlarla karşılaştırmalı olarak incelenir.

Bu boyama tekniği az miktardaki örneklerle ve kısa sürede çalışmaya olanak verir; ancak küçük proteinlere duyarlılığı azdır.

3.2.3.5.7 .1 Çözeltiler

Tüm çözeltiler deiyonize saf su ile hazırlandı. Aşağıda verilen stok çözelti hacimleri ile orta büyüklükte bir jel hazırlandı.

A. Formaldehitli fiksatif çözeltisi

Metanol.....400 ml
% 37 Formaldehit.....0.5 ml
H₂O.....1 litreye tamamlandı.

B. Sodyum tiosülfat çözeltisi (0.2 g/l)

Na₂S₂O₃.....0.2 g
H₂O.....1 litreye tamamlandı.

C. Gümüş nitrat (% 0.1) çözeltisi

Işığa duyarlı olduğu için koyu renk şişede, oda sıcaklığında saklandı.

AgNO₃.....1 g
H₂O.....1 litreye tamamlandı.

D. Tiyosülfatlı görüntü oluşturma (“developing”) çözeltisi

Na₂CO₃.....30 g
H₂O.....1 litreye tamamlandı.

Kullanılacağı zaman her 100 ml'sine 50 µl % 37'lik formaldehit eklendi.

E. Sitrik asit (2.3 M) çözeltisi

Sitrik asit.....22.1 g

H₂O.....50 ml'ye tamamlandı.

3.2.3.5.7.2 Yöntem

Jel, alkole ve aside dayanıklı plastik veya cam bir kapta, 200 ml formaldehit fiksatif çözeltisi (A) içinde 20 dakika çalkalandı. Fiksatif dökülerek iki kez 10'ar dakika saf su ile hafif çalkalanarak yıkandı. Son yıkama suyu uzaklaştırıldıktan sonra 200 ml B çözeltisinde 1-2 dakika çalkalandı. B çözeltisi dökülerek iki kez 40'ar saniye saf su ile yıkandı. Son yıkamadan sonra 200 ml C çözeltisinde, 20 dakika düşük hızda çalkalanarak bekletildi. C çözeltisi uzaklaştırıldı, jel saf su ile yıkandı. 200 ml taze hazırlanmış D çözeltisinde kahverengi bantlar oluşana dek (yaklaşık 3-5 dakika) hafif çalkalandı. Bantların görünür hale gelmesi bir sonraki basamakta da devam edeceğinden bu çözeltide fazla bekletilmedi. Jelin boyadığı kaba 10 ml E eklenerek pH nötrleştirildi ve reaksiyon durduruldu. Bu sırada, pH'nın nötr olup olmadığı pH kağıdı ile kontrol edildi. Yüksek pH reaksiyonun devam etmesine, düşük pH ise jelin parçalanmasına yol açtı. Bant oluşumu tamamlandıktan sonra (genellikle 8 saat sonunda) kaptaki çözelti döküldü ve jel saf su ile iyice yıkandı. Bant oluşumu görülünce jelin fotoğrafı çekildi. % 0.03 sodyum karbonatta 10 dakika bekletilen jel ağzı kilitli naylon torbaya koyarak saklandı.

3.2.3.6 İnsülin İçeren Jel Formülasyonlarının Stabilitésinin Tayini

İnsülin içeren tüm jel formülasyonları üzerinde stabilite çalışması yapıldı. Bu çalışma için, yöntem 3.2.3.6'daki gibi hızlandırılmış stabilite çalışması gerçekleştirildi. 2 aylık sürenin sonunda, alınan örneklerde pH ve viskozite tayini yapıldı. Her formülasyon için deney 3 kez tekrarlandı.

3.2.3.7 Püskürtülebilir Jel Formülasyonlarının Damlacık Boyutunun Tespiti

Formülasyonların damlacık büyüklüğü dağılımı, mikroskopik olarak tespit edildi. Bunun için, formülasyonlardan 0.5 ml temiz bir lam üzerine 5 cm mesafeden püskürtüldü. Damlacıkların Nikon optik mikroskopunda (40 x büyütme), fotoğrafları çekilip boyutları ölçüldü. Her bir formülasyon için en az 50 damlacığın boyutları ölçülüp ortalaması alındı.

3.2.3.8 In vivo İncelemeler

3.2.3.8.1. Biyoyararlanım Çalışması

3 ± 0.5 kg ağırlığında inbreed erkek albino tavşanlar, 2 hafta oryantasyon süresinden sonra, in vivo deneyler için Üniversitenin Etik Kurul'unun onayı ile kullanıldı. Jeller uygulanmadan 1 gün önce, hayvanlar aç bırakıldı. Ancak, su içmelerine izin verildi. Tavşanlar aşağıda belirtildiği şekilde gruplandırıldı:

I. Grup: (Kontrol grubu): İnsülin içermeyen jel sprej uygulandı.

II. Grup: 2 IU/kg dozda insülin jel sprej uygulandı.

III. Grup: İntranazal insülin çözeltisi (2 IU/kg) uygulandı.

IV. Grup: İnsülin çözeltisi (0.5 IU/kg) intravenöz uygulandı.

Her bir grup için 3 tavşan kullanıldı. Eter veya ketamin uygulaması gibi genel anestezi tekniklerinin kullanımı halinde insülin absorpsiyonunun ve mukosilyer ilaç naklinin olumsuz etkilenmesi ihtimalinden ötürü (196, 197) in vivo deneyler esnasında anestezi uygulanmamıştır. İntranazal jel sprejler, tavşanların başı yukarı doğru tutulup, her bir burun boşluğuna, aplikatör ucu 5 mm içeri sokularak 200 µl hacimde uygulandı. Uygulama bittikten sonra da tavşanın başı bu şekilde 1 dakika süreyle tutulup ilacın burun boşluğundan dışarı akması engellendi. Aplikatöre konan ilaç hacmi, uygulama öncesi ve sonrasında ölçülerek uygulanan hacmin doğruluğu denetlendi. Mutlak biyoyararlanım değerlerinin hesaplanabilmesi için her tavşana 0.5 IU/kg dozda intravenöz insülin enjeksiyonu yapıldı. İlaç uygulamasından 5 dakika önce ve uygulamayı takiben belli zaman aralıklarında (15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 ve 240. dakika), kulak veninden kan numuneleri toplandı. Plazma glikoz düzeyleri, glikometre kullanılarak tespit edildi. Zamana karşı grafiği çizildi. Trapezoid yöntemi ile her bir grup için, eğri altında kalan alan (AUC) hesaplandı. Plazma glikoz düzeylerinde 4 saat içerisinde meydana gelen azalma, aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı (198):

$$D(\%) = [(AUCc-AUCin)/AUCc] \times 100$$

D: plazma glikoz miktarında meydana gelen toplam azalma

AUCin: insülin içeren jel sprejin uygulanmasından sonra elde edilen verilerle çizilen plazma glikoz düzeyleri vs. zaman grafiğinin altında kalan alan

AUCc: insülin içermeyen jel sprejin uygulanmasından sonra elde edilen verilerle çizilen plazma glikoz düzeyleri vs. zaman grafiğinin altında kalan alan.

Mutlak biyoyararlanım değerleri, aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı (198):

$$F = [(AUC_c - AUC_{in}) / (AUC_c - AUC_{iv})] \times (Doz_{iv} / Doz_{in}) \times 100$$

AUC_c: insülin içermeyen jel spreyn uygulanmasından sonra elde edilen verilerle çizilen plazma glikoz düzeyleri vs. zaman grafiğinin altında kalan alan.

AUC_{iv}: intravenöz insülin uygulanmasından sonra elde edilen verilerle çizilen plazma glikoz düzeyleri vs. zaman grafiğinin altında kalan alan.

AUC_{in}: insülin içeren jel spreyn uygulanmasından sonra elde edilen verilerle çizilen plazma glikoz düzeyleri vs. zaman grafiğinin altında kalan alan

Her bir gruptan elde edilen plazma glikoz değerleri, Student t-testi kullanılarak karşılaştırıldı.

3.2.3.8.2. Mukozal İritasyon Çalışması

Nazal dozaj şekillerinin geliştirilmesinde en önemli hususlardan biri, formülasyona giren etkin ve yardımcı maddelerin nazal mukoza üzerine iritan etkilerinin olup olmadığının araştırılmasıdır. Peptid yapısında etkin maddeler içeren formülasyonlar, çoğunlukla kronik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu nedenle de güvenlikleri önemlidir. Nazal yolla ilaç uygulamada 4 önemli toksisiteden söz edilebilir(199):

- a. mukozada yerel iritasyonun oluşması
- b. mukosilyer klerans üzerine etki
- c. epitelin hasara uğraması
- d. hasar gören epitelin yeniden düzelmesi

Nazal dozaj şekillerinin toksisitelerinin incelenmesi için çeşitli in vitro ve in vivo yöntemler geliştirilmiştir. Bunlardan eritrosit modeli, safra tuzları, yüzey aktif maddeler ve yağ asitleri gibi çeşitli penetrasyon arttırıcıların membran arttırıcı aktivitesini göstermek için geliştirilmiştir (200, 201). Nazal mukozanın histopatolojik incelemesi ise, burun boşluğuna uygulanan formülasyonun yarattığı muhtemel morfolojik hasarın kalitatif olarak saptanmasına imkan verir (202). Mukosilyer klerans, solunum yolunu mikroorganizmalardan korumayı amaçlayan yerel bir savunma mekanizmasıdır. Dolayısıyla, nazal yolla uygulanacak bir ilaç, normal mukosilyer klerans

mekanizmasını olumsuz yönde etkilememelidir. Agu ve ark. (203), geliştirdikleri farmasötik bileşiklerin insanda yol açabileceği nazal siliyo-toksisiteyi ölçmek için insan nazal epitel hücre kültüründen yararlanmışlardır. Mukosilyer klerans, bunun yanısıra, gama sintigrafi ya da sakkarin testi kullanılarak da izlenebilir (204).

Literatürde, nazal uygulanan ilaçlarda biyoyararlanım artışının çoğunlukla mukozal epitelin yapısının bozulmasından kaynaklandığı belirtilmektedir. Bu nedenle, bu çalışmada, insülin jel formülasyonu burun boşluğuna uygulandıktan sonra meydana gelebilecek herhangi bir mukozal hasardan ötürü insülinin biyoyararlanımının artıp artmadığı incelenmiştir.

Jel spreynin günde birkaç kez uygulanmasının ardından ortaya çıkabilecek muhtemel toksikolojik etkiler, tavşanlarda araştırılmıştır. Bunun için, ilaç uygulamasından sonra, burun boşluğu, izotonik fosfat tamponu ile yıkanmış, laktat dehidrojenaz (LDH) ve alkalın fosfataz (ALP) sersbestlenmesi ölçülmüştür. LDH ve ALP, mukozal hasarın göstergesi olarak kabul edilen biyomarkerlerdir.

Bu çalışmada, yine 3 ± 0.5 kg ağırlığında albino tavşanlar kullanılmıştır. 6 gün süresince, her bir tavşanın her bir burun boşluğuna 2 IU/kg dozda jel spray uygulanmıştır. Uygulamadan 1 ve 24 saat sonra, tavşan sırtüstü yatırılıp her bir burun boşluğu 500 µl izotonik fosfat tamponu ile mikropipet kullanılarak yıkanmıştır. Yıkama tamponunda nazal epitelyal sitosolik enzim olan LDH ile ALP serbestlenmesi ve protein miktarı tespit edilmiştir.

3.2.3.8.2.1 Lowry Yöntemi İle Protein Miktar Tayini

Tavşanların burun boşluklarının yıkanmasıyla toplanan izotonik fosfat tamponunda protein miktarı, Lowry yöntemi kullanılarak ölçülmüştür (179).

3.2.3.8.2.2 LDH Aktivite Tayini

LDH, anaerobik glikolizin son enzimi olup pirüvatın laktaza dönüşümünü kataliz eder. Pirüvatın laktata çevrilmesi sırasında oksitlenen NADH'nın 25°C'de 340 nm'de artan absorbansı kaydedildi ve dakikadaki absorbans değişiminden hesaplandı (205).

3.2.3.8.2.3 ALP Aktivite Tayini

Biobak firmasından temin edilen bio-clinica marka ticari kitler kullanılarak Ciba-Cornig Express Plus marka otoanalizörde yapılmıştır. Enzim aktiviteleri IU/l olarak ifade edilmiştir.

3.2.3.9 Formülasyonların Farmasötik Bakım-Klinik Eczacılık Açısından Değerlendirilmesi

Farmasötik Bakım-Klinik Eczacılık açısından değerlendirme üç yönden gerçekleştirildi: a) biyoyararlanım b) toksisite (mukozal iritasyon) c) tedavi maliyeti. Değerlendirmenin ilk kısmında, in vivo çalışmalar esas alınarak insülin jel sprej formülasyonunun mutlak biyoyararlanım değeri hesaplandı. İkinci kısmında ise, mukozal iritasyon incelenerek toksisite ve hasta uyuncu açısından jel formülasyonu değerlendirildi. Üçüncü kısımda ise, şu anda Türkiye ilaç piyasasında mevcut olan ve Tip I diyabet tedavisinde kullanılan insülin preparatlarının günlük uygulama dozu ve bir aylık maliyeti hesaplandı. Aynı şekilde, bu tez çalışmasında hazırlanan formülasyonların da bir aylık maliyeti belirlenip “tedavinin maliyet etkinliği” açısından karşılaştırıldı.

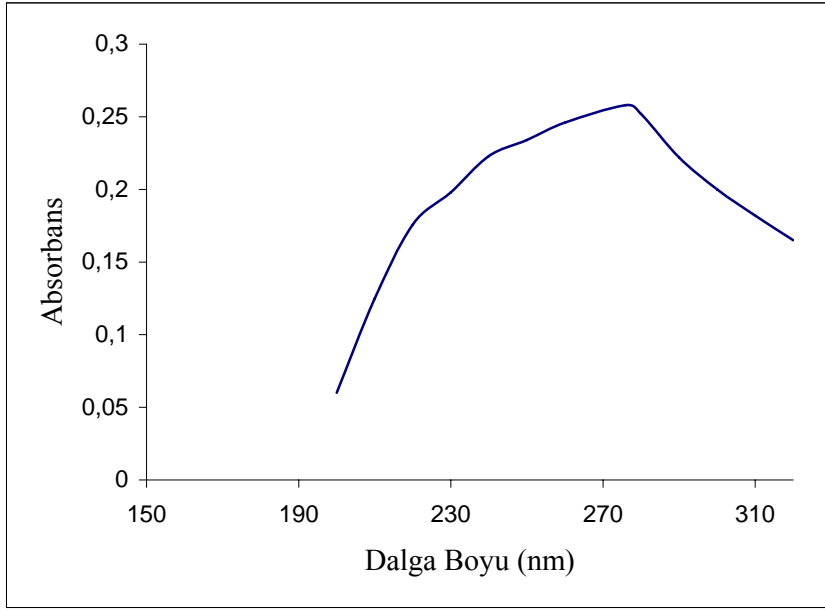
4. BULGULAR

4.1 Etkin Madde Üzerinde Yapılan Çalışmalar

4.1.1 İnsülinin Miktar Tayini

4.1.1.1 UV Spektrumunun Belirlenmesi

İnsülinin UV spektrumu, yöntem 3.2.1.1.1’de anlatıldığı şekilde çalışılarak pH 7.4 fosfat tamponunda incelenmiştir. 276 nm dalga boyunda maksimum absorbans verdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 İnsülinin pH 7.4 fosfat tamponunda UV spektrumu.

4.1.1.3 Miktar Tayini Yönteminin Validasyonuna Ait Bulgular

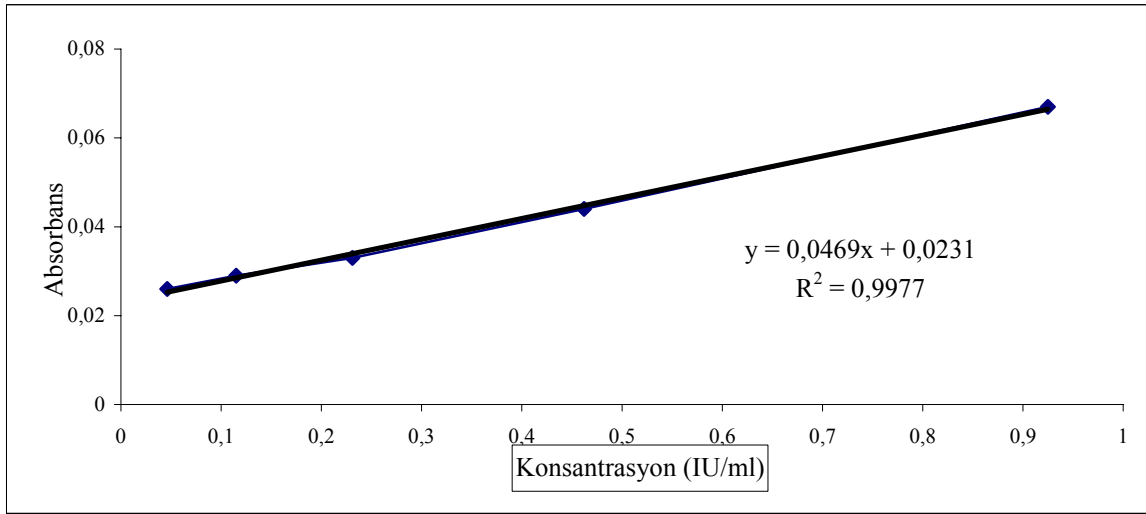
4.1.1.4 UV Spektrofotometrik Yönteminin Validasyonuna Ait Bulgular

4.1.1.4.1 Doğrusallık

Yöntem 3.2.1.1.4.1’de anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilen insülinin standart eğrisi Şekil 4.2’de görülmektedir. Bu eğrinin hazırlanmasında kullanılan ortalama absorbans değerleri, standart sapma (SD) ve rölatif standart sapma (%RD) değerleri Çizelge 4.1’de verilmiştir.

4.1.1.4.2 Kesinlik

Yöntem 3.2.1.1.4.2’de belirtildiği gibi çalışılarak hazırlanan çözeltinin konsantrasyonları hesaplandı ve tekrar edilebilirliğe ait RSD değeri % 0.95 olarak bulundu.



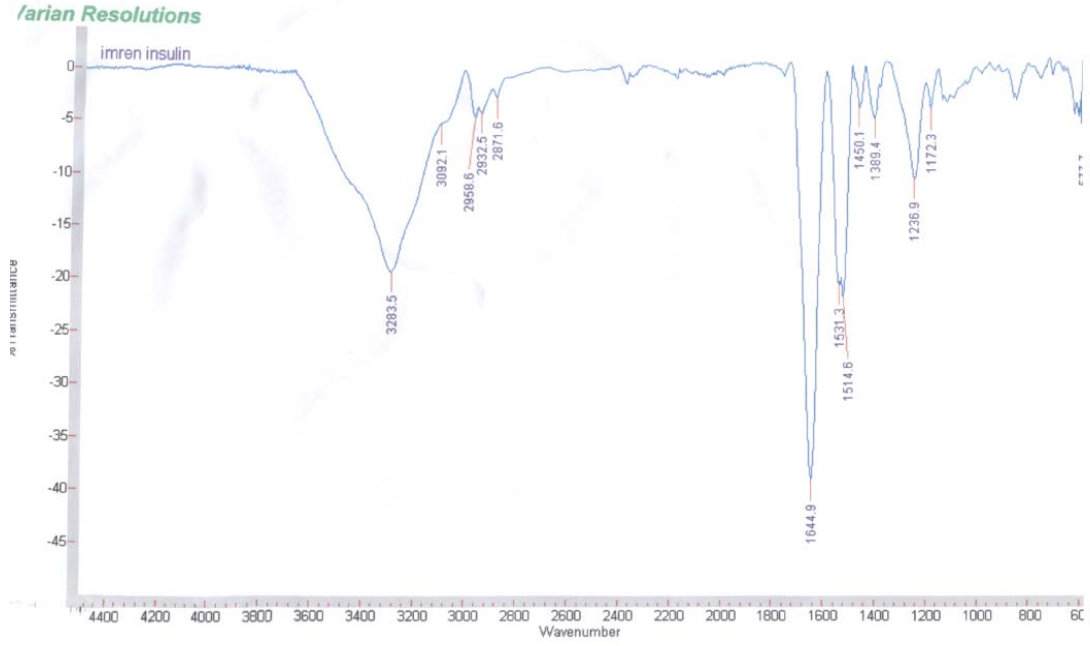
Şekil 4.2. İnsülinin UV spektrofotometrik miktar tayini yöntemine ait standart eğrisi.

Çizelge 4.1. İnsülinin UV spektrofotometrik miktar tayini yöntemi ile elde edilen standart eğrisine ait absorbans değerleri (n =6).

Konsantrasyon (IU/ml)	Absorbans	SD (±)	RSD(%)
0.0462	0.004	0.008	200
0.231	0.012	0.007	58,33
0.462	0.024	0.004	33,33
0.925	0.046	0.002	4,34

4.1.2 İnsülinin FTIR Spektrumunun Belirlenmesi

İnsülinin direk ölçüm ile elde edilen FTIR spektrumu Şekil 4.3'de görülmektedir. Peptid ve protein yapısındaki ilaçların IR spektrumunda, amid gruplarına ait karakteristik bantlar, sekonder amidlerin absorpsiyon bantlarına benzer (206-208). Bu bantlar, protein moleküllerinde meydana gelebilecek konformasyonel değişiklikleri gösterir. Amid bandı: 1644 - 1531 cm^{-1} 'de elde edilmiştir.



Şekil 4.3. İnsülinin FTIR spektrumu.

4.1.3 İnsülinin Erime Derecesi Tayinine Ait Bulgular

İnsülinin erime derecesi, Yöntem 3.2.1.3’de belirtildiği gibi çalışıldı ve 0°C olarak bulundu.

4.1.4 İnsülinin pH 7.4 Fosfat Tamponunda Çözünürlük Tayinine Ait Bulgular

İnsülinin pH 7.4 fosfat tampon çözeltisinde çözünürlük tayini için Yöntem 3.2.1.4.2’de anlatıldığı şekilde çalışıldı. Çözünürlük değeri, 5.3 mg/ml ve standart sapma değeri ise, 0.68 olarak bulundu.

4.2 İnsülin Jel Formülasyonlarının Hazırlanması

İn vitro ve ex vivo deneylerde kullanmak üzere Çizelge 4.2’de yer alan formülasyonlar yöntem 3.2’de belirtildiği şekilde hazırlanmıştır.

4.3 Jel Formülasyonları Üzerinde Yapılan Kontrollerine Ait Bulgular

4.3.1 İnsülin Miktar Tayini

İn vitro selofan zardan insülinin serbestleşme hızı deneylerinde kullanılmak üzere hazırlanan jellerde deneye başlamadan önce yöntem 3.2.3.1’de anlatıldığı gibi

çalışılarak jelde insülin miktar tayini yapıldı. İnsülin miktar tayinine ait ortalama sonuçlar Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge.4.2. Jel formülasyonlarında UV spektrofotometrik yöntem ile saptanan % insülin miktarları (n = 3).

Formülasyon	İnsülin miktarı (%)	SD (±)
F106	100	0.49
F106O25	102,1	0,63
F106O5	104,3	1,87
F106L1	100.3	0,37
F108	98,2	0,56

4.3.2 Jel Formülasyonlarında Viskozite Tayini

Yöntem 3.2.3.2’de anlatıldığı gibi çalışılarak jel formülasyonlarının viskozite değerleri ölçüldü. Elde edilen bulgular Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Jel formülasyonlarında viskozite tayinine ait bulgular

Formülasyon	Viskozite (cps)
F106	2254
F106O25	1658
F106O5	1976
F106L1	5455
F108	---*

*F108 kodlu formülasyonun viskozitesi laboratuvarımızda mevcut spindle ile ölçülemeyecek kadar fazla bulunmuştur.

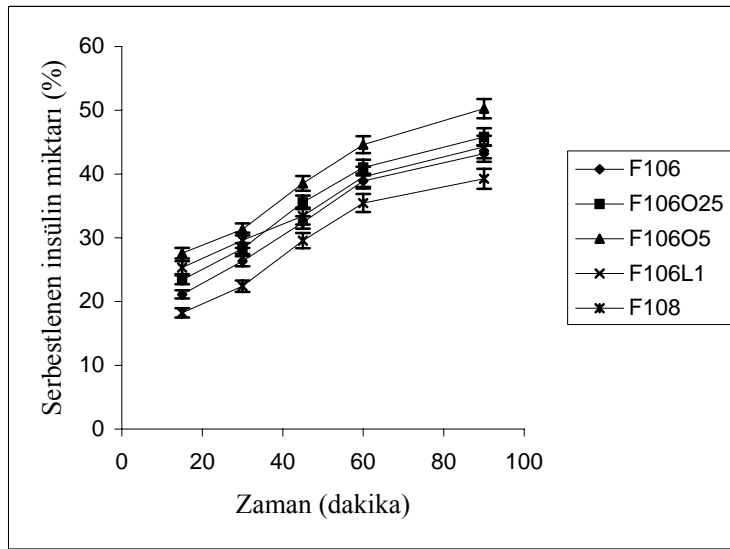
4.3.3 Formülasyonlardaki İnsülinin Selofan Zardan In vitro Koşullarda Salımı

Yöntem 3.2.3.3’de anlatıldığı şekilde jel formülasyonlarındaki insülinin selofan zardan 2 saat süresince in vitro salımı izlendi. 1 cm²’lik alandan geçen insülin miktarı hesaplandı. Elde edilen ortalama insülin miktarlarına ait bulgular Çizelge 4.4’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar kinetik modellerine uygulandı ve formülasyonlardan insülinin saptanmasının sıfıncı derece kinetik modeline uyduğu saptandı.

Formülasyonlardaki insülinin sıfırcı derece kinetik modeline göre salım hız sabiteleri ve determinasyon katsayıları Çizelge 4.5’de ve bu kinetik modele ait profiller de Şekil 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4 Jel formülasyonlarındaki insülinin in vitro koşullarda selofan zardan salımına ait ortalama sonuçlar ve standart sapma değerleri (n=6)

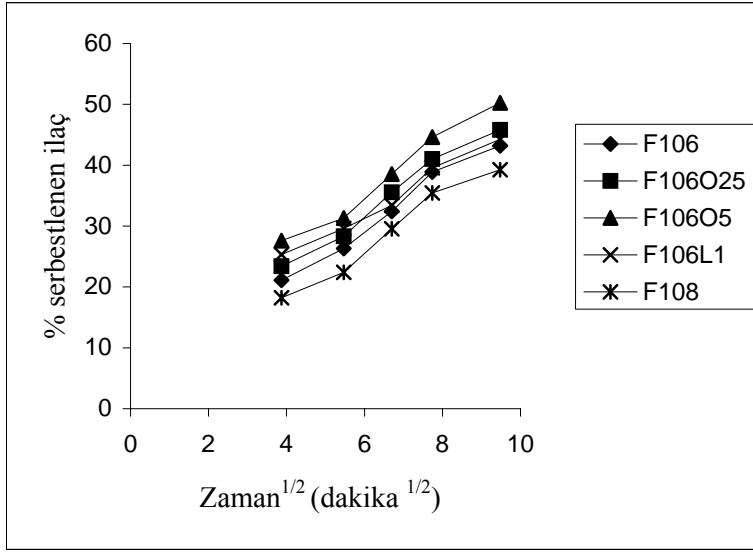
t (dakika)	Serbestlenen insülin miktarı (%)				
	F106	F106O25	F106O5	F106L1	F108
15	21.12	23.41	27.60	25.32	18.23
30	26.33	28.32	31.32	29.61	22.41
45	32.41	35.56	38.54	33.41	29.56
60	38.9	41.02	44.61	39.56	35.45
90	43.21	45.81	50.25	44.25	39.26



Şekil 4.4. Jel formülasyonlarındaki insülinin selofan zardan in vitro koşullarda salımı.

Çizelge 4.5 Jel formülasyonlarındaki insülinin selofan zardan in vitro salımına ait kinetik değerler

Formülasyon	0. derece		Higuchi		1. derece	
	ko	r ²	k _h	r ²	k ₁	r ²
F106	0.3044	0.9544	4.1593	0.9806	0,0042	0,9203
F106O25	0.3085	0.954	4.2186	0.9814	0,0039	0,9203
F106O5	0.317	0.9679	4.2952	0.9775	0,0036	0,9451
F106L1	0.2596	0.9756	3.5122	0.9825	0,0033	0,9575
F108	0.2945	0.9419	4.0289	0.9699	0,0046	0,9067



Şekil 4.5. Jel formülasyonlarındaki insülinin selofan zardan Higuchi kinetik modeline göre in vitro salım profili.

4.3.4 Formülasyonlardaki İnsülinin Sıçan Derisinden Ex Vivo Koşullarda Salımı

Yöntem 3.2.3.4'de anlatıldığı şekilde jel formülasyonlarındaki insülinin sıçan derisinden 2 saat sür ile ex vivo difüzyonu izlendi. 1 cm²'lik alandan geçen insülin miktarları hesaplandı. Elde edilen ortalama insülin miktarlarına ait bulgular Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Elde edilen bulgulara göre, formülasyonlardan insülinin sıçan derisinden geçiş hızı hesaplandı. Bu hesaplamalara ait bulgular Çizelge 4.7'de verilmiştir. Formülasyonlardaki insülinin sıçan derisinden difüzyonuna ait profiller Şekil 4.6'da verilmiştir.

4.3.5 Formülasyonlardaki İnsülinin Stabilitesinin Tayini

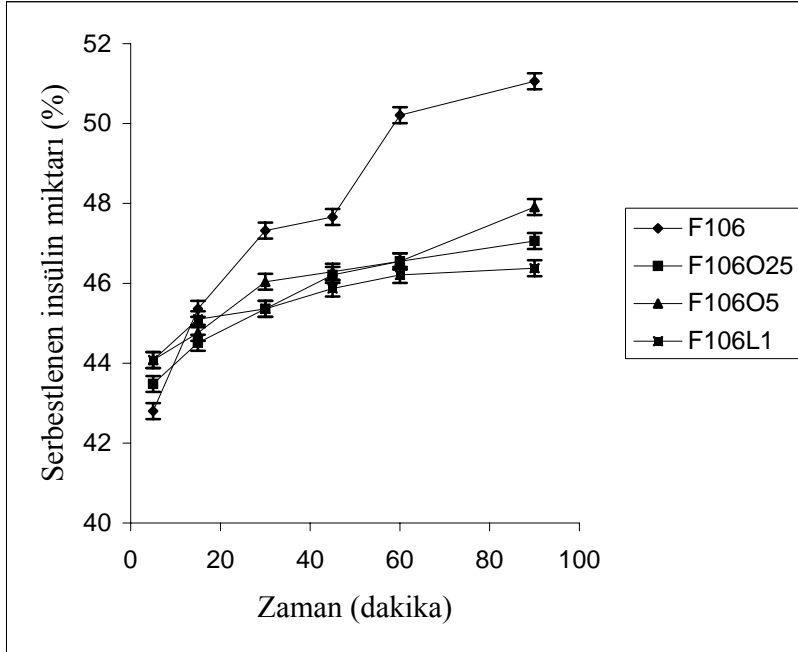
Stabilite testlerine tabi tutulan formülasyonlarda (F106, F106O25, F106O5, F106L1) Yöntem 3.2.3.5'de belirtildiği gibi 40 ± 2°C ve +4 ± 0.2°C sıcaklıkta 2 ay süre ile çalışılarak, insülin miktar tayini yapıldı. Stabilite çalışmaları sonucunda, +4 ± 0.2° C sıcaklıkta muhafaza edilen formülasyonlardaki insülin miktarlarının %90-110 sınırları arasında olduğu saptandı (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.7). Bulgular Şekil 4.7'de verilmiştir. Ancak, 40 ± 2°C'de saklanan formülasyonlardaki insülinin miktarının %90'ndan az olduğu tespit edildi (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.8).

Çizelge 4.6 Jel formülasyonlarındaki insülinin ex vivo koşullarda sıçan derisinden salımına ait ortalama sonuçlar ve standart sapma değerleri (n=6)

t (dakika)	Serbestlenen İlaç Miktarı (%)							
	F106		F106O25		F106O5		F106L1	
	X	SD±	X	SD±	X	SD±	X	SD±
5	42,80	4,95	43,48	3,90	44,08	2,13	44,08	2,31
15	44,42	3,90	44,51	4,36	44,76	4,02	45,10	1,83
30	44,85	2,73	45,36	3,56	46,04	3,12	45,36	4,32
45	45,02	5,25	46,21	4,12	46,29	2,89	45,87	3,45
60	45,78	3,89	46,55	4,08	46,55	4,25	46,21	1,98
90	45,87	4,41	47,06	5,32	47,91	3,96	46,38	5,02

Çizelge 4.7. Formülasyonlardaki insülinin sıçan derisinden geçiş hızı ait bulgular (n=3).

Formülasyon	Geçiş hızı (IU/cm ² /saat)
F106	1,667
F106O25	1,695
F106O5	1,744
F106L1	1,689

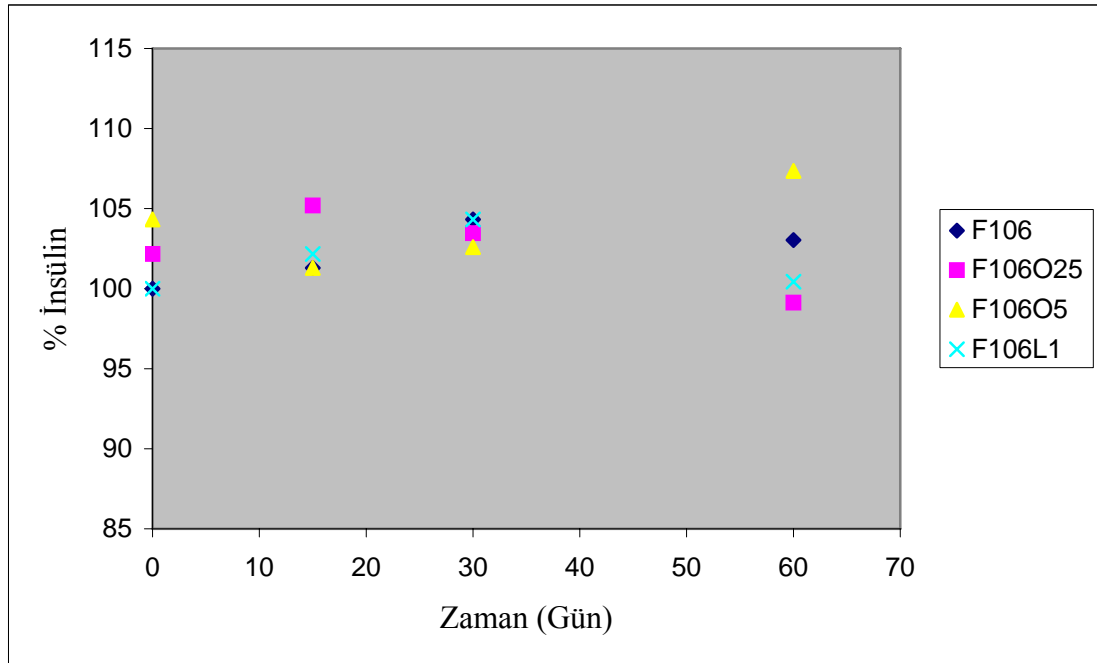


Şekil 4.6. Formülasyonlardaki insülinin sıçan derisinden diffüzyonuna ait profiller.

İnsülinin yapısında bozunma olup olmadığını anlamak için, SDS-PAGE ve gümüş boyama yöntemi uygulandı. 4°C’de tutulan jel formülasyonlarının uygulandığı kuyucuktaki numunenin, referans olarak kullanılan insülin ile aynı yerde bant verdiği tespit edilmiştir. Ancak, 40°C’de tutulan formülasyonlarda referansla aynı yükseklikte ve benzer bantlar elde edilememiştir.

Çizelge 4.8 ($4 \pm 0.2^\circ\text{C}$)’de bekletilen formülasyonlardaki insülin miktarları (IU/ml).

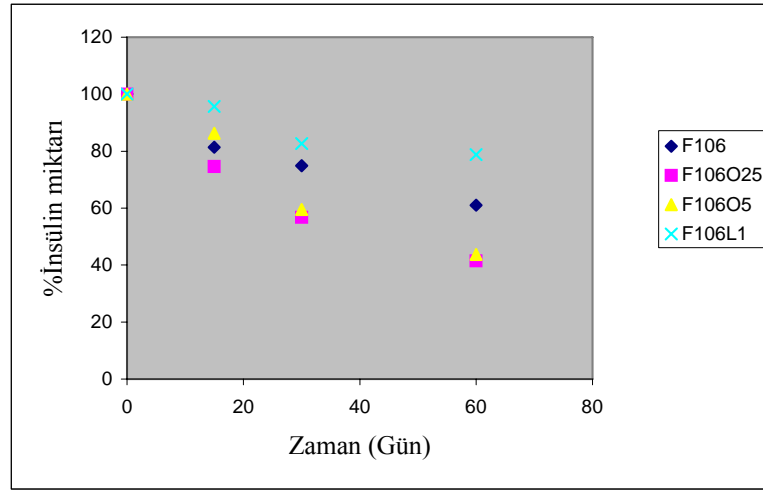
Zaman (gün)	Formülasyon			
	F1 06	F106O25	F106O5	F106L1
0	0.231 ± 0.49	0.236 ± 0.63	0.241 ± 1.87	0.231 ± 0.37
15	0.234 ± 0.71	0.243 ± 1.15	0.234 ± 0.54	0.236 ± 0.78
30	0.241 ± 1.12	0.239 ± 0.96	0.237 ± 0.78	0.241 ± 1.01
60	0.238 ± 0.86	0.229 ± 0.62	0.248 ± 2.68	0.232 ± 0.19



Şekil 4.7. $4 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 'de bekletilen formülasyonlardaki % insülin miktarlarına ait profiller

Çizelge 4.9. ($40 \pm 2^\circ\text{C}$)’de bekletilen formülasyonlardaki (IU/ml) insülin miktarları.

Zaman (gün)	Formülasyon			
	F1 06	F106O25	F106O5	F106L1
0	0.231 ± 0.49	0.236 ± 0.63	0.241 ± 1.87	0.231 ± 0.37
15	0.188 ± 0.71	0.176 ± 1.25	0.213 ± 0.36	0.221 ± 0.78
30	0.173 ± 1.12	0.134 ± 0.96	0.147 ± 0.23	0.191 ± 0.96
60	0.141 ± 0.86	0.098 ± 0.73	0.108 ± 0.56	0.182 ± 1.08



Şekil 4.8. $40 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de bekletilen formülasyonlardaki % insülin miktarlarına ait profiller

4.3.6 İnsülin İçeren Jel Formülasyonlarının Stabilitésinin Tayini

Yöntem 3.2.3.6'daki gibi çalışılarak 2 aylık sürenin sonunda, stabilite çalışmasına bırakılan jel formülasyonlarından alınan örneklerde pH ve viskozite tayini yapıldı. Bulgular Çizelge 4.10 ve 4.11'de verilmiştir.

İki ay süresince, 4°C ve 40°C 'de bekletilen jel formülasyonlarının pH değerleri başlangıç pH değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemektedir. Ancak, 40°C 'de bekletilen jel formülasyonlarında viskozite değerlerinin zamanla arttığı görülmektedir.

Çizelge 4.10. 2 ay süresince $4 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 'de bekletilen jel formülasyonlarının pH ve viskozitelerine ait bulgular (60 rpm ve L4 spindle).

Zaman (gün)	F1 06		F106O25		F106O5		F106L1	
	pH	η	pH	η	pH	η	pH	η
0	4.2	2254	4.2	1658	4.4	1976	4.2	5455
60	4.3	2345	4.2	1710	4.3	2019	4.3	5510

Çizelge 4.11. 2 ay $40 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de bekletilen jel formülasyonlarının pH ve viskozitelerine ait bulgular (60 rpm ve L4 spindle).

Zaman (gün)	F1 06		F106O25		F106O5		F106L1	
	pH	η	pH	η	pH	η	pH	η
0	4.2	2254	4.2	1658	4.4	1976	4.2	5455
60	4.3	2567	4.2	3200	4.3	3445	4.3	5740

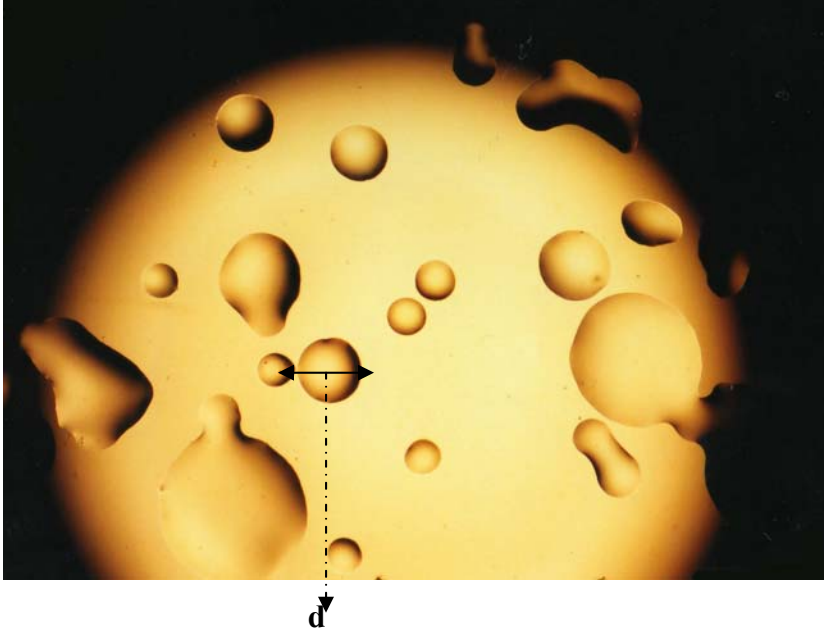
4.3.7 Jel Formülasyonlarının Püskürtülebilirliğinin ve Damlacık Boyutunun Tespiti

Formülasyonların damlacık büyüklüğü dağılımı, mikroskopik olarak Yöntem 3.2.3.7'de belirtildiği gibi çalışıldı. Damlacıkların fotoğrafları Şekil 4.9'da görülmektedir. Elde edilen bulgular ise, Çizelge 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Jel sprey formüllerinin damlacık boyutları.

Formülasyonlar	Damlacık Boyutu (mm)
F106	0,065
F106O25	0,052
F106O5	0,053
F106L1	0.148
F108	---*

* F108 kodlu formülasyonun viskozitesi, püskürtülmeye uygun olmadığından ölçüm yapılamamıştır.



Şekil 4.9 Jel spreyn damlacık boyutunun projeksiyon çapı (d) yöntemi ile ölçümünde kullanılan referans.

4.3.8 Formülasyonların Farmasötik Bakım-Klinik Eczacılık Açısından Değerlendirilmesi

Hazırlanan formülasyonlardan deriden en fazla miktarda insülin geçişine imkan veren F106O5 seçilip, biyoyararlanım değeri hesaplandı ve iritasyon testleri yapıldı. Ayrıca, bu çalışmada hazırlanan F106O5 jel sprej formülasyonu, piyasada mevcut olan ve diyabet hastalarının sık kullandığı farmasötik bir ürünle bir aylık tedavi maliyeti açısından karşılaştırıldı.

4.3.8.1 In vivo İncelemeler

4.3.8.1.1 Biyoyararlanım Çalışmalarına Ait Bulgular

In vivo deneylerde, %0.5 oleik asit içeren jel formülasyonları kullanıldı. Farklı insülin formülasyonlarının plazma glikoz düzeylerine etkileri Çizelge 4.13'de görülmektedir. Bu çalışmada geliştirilen ve in vivo deneyler için seçilen insülin jel sprej formülasyonu, plazma glikoz düzeylerini önemli ölçüde düşürmüştür. Uygulamadan 1 saat sonra yapılan incelemede, plazma glikoz düzeyinde %42.3 azalma tespit edilmiştir. İnsülin çözeltisi ile yapılan uygulamada ise, bu süre içerisinde, sadece %2.3 azalma görülmüştür. Kontrol grubuna uygulanan insülin içermeyen jel

formülasyonu ise, plazma glikoz düzeylerinde değişime neden olmamıştır. Bu da deney koşullarının “stres” yaratmadığının göstergesidir.

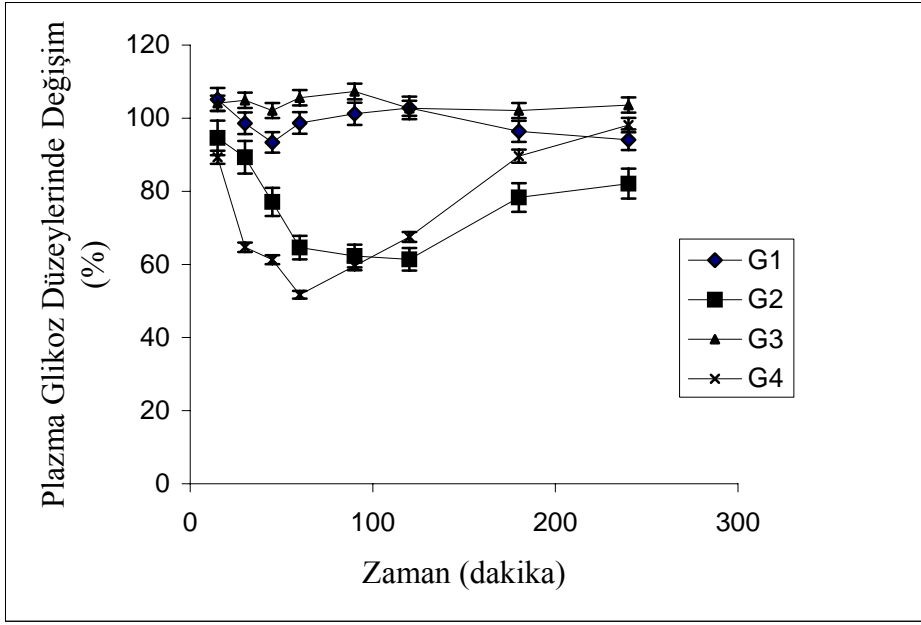
Plazma glikoz değerlerindeki azalmanın zamana karşı grafikleri çizilip, AUC değerleri hesaplanmıştır (Şekil 4.10). Bu değerler, Yöntem 3.2.3.8’de verilen eşitlikte yerine konarak, geliştirilen jel sprej formülasyonu için, “mutlak biyoyararlanım” değeri hesaplanmıştır. İnsülin çözeltisinin biyoyararlanımı ile karşılaştırıldığında (6.23 ± 1.4) jel sprejin biyoyararlanımının daha yüksek olduğu görülmüştür (22.3 ± 3.6).

İn vivo verilerin in vitro verilerle korelasyonunun incelenmesi için, tavşanlarda, intranasal jel sprej formunda ilaç uygulamasından sonra plazma glikoz düzeylerinde meydana gelen değişimin, serbestlenen % ilaç etkin maddesine karşı grafiği çizildi (Şekil 4.11). İn vivo ve in vitro veriler arasında doğrusal korelasyon olduğu tespit edildi.

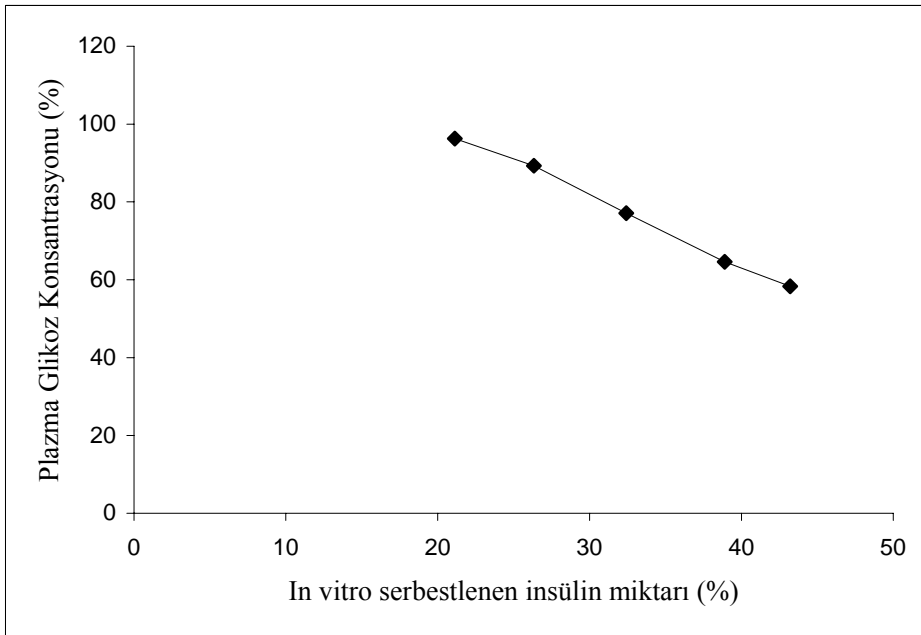
Çizelge 4.13. Farklı insülin formülasyonlarının uygulanmasını takiben plazma glikoz düzeylerinde meydana gelen değişimler (n= 3).

Zaman (dakika)	Ortalama plazma glikoz değerleri (%) \pm SD			
	Kontrol Grubu (G1)	G2	G3	G4
15	105.1 \pm 3.7	94.6 \pm 2.1	104.1 \pm 6.4	89.3 \pm 4.1
30	98.6 \pm 5.1	89.3 \pm 3.8	104.9 \pm 4.3	64.7 \pm 1.6
45	93.4 \pm 2.8	77.1 \pm 2.7	102.1 \pm 6.1	61.3 \pm 2.3
60	98.7 \pm 1.4	64.6 \pm 3.1	105.6 \pm 5.7	51.7 \pm 3.7
90	101.2 \pm 6.8	62.3 \pm 2.7	107.3 \pm 2.3	59.6 \pm 1.5
120	102.8 \pm 4.5	61.4 \pm 5.1	102.7 \pm 4.8	67.5 \pm 1.9
180	96.4 \pm 3.2	78.3 \pm 3.7	102.1 \pm 6.3	89.6 \pm 3.7
240	94.1 \pm 1.7	82.1 \pm 4.6	103.6 \pm 5.1	98.1 \pm 2.1

G1: Kontrol grubu; G2: İnsülin jel sprej uygulanan grup; G3: İntranasal insülin çözeltisi uygulanan grup; G4: İntravenöz insülin çözeltisi uygulanan grup.



Şekil 4.10 Farklı insülin formülasyonlarının uygulanmasını takiben plazma glukoz düzeylerinde meydana gelen değişimler (n= 3).



Şekil 4.11 Tavşanlara uygulanan intranasal jel sprey formülasyonlarının plazma glukoz düzeylerinde meydana getirdiği değişime ait verilerin in vitro – in vivo korelasyonu.

4.3.8.1.2 Mukozal İritasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

6 günlük insülin jel sprej uygulamasından sonra, tavşanların burun mukozalarında hasar oluşup oluşmadığı, protein ve biyomarker enzimlerin serbestlenmesine bakılarak tespit edildi. Jel sprej, her gün tavşanın her bir burun boşluğuna uygulandı. Uygulamadan 1 saat önce ve sonra, burun boşluğu izotonik fosfat tamponu ile yıkandı. Uygulama öncesi yapılan ölçümler, bazal değerler olarak kabul edildi. Son uygulamadan 3 gün sonra, tekrar yıkama yapılarak, protein ve enzim değerlerinin bazal düzeylerine yeniden dönüp dönmediğine bakıldı.

4.3.8.1.2.1 Protein Miktar Tayinine Ait Bulgular

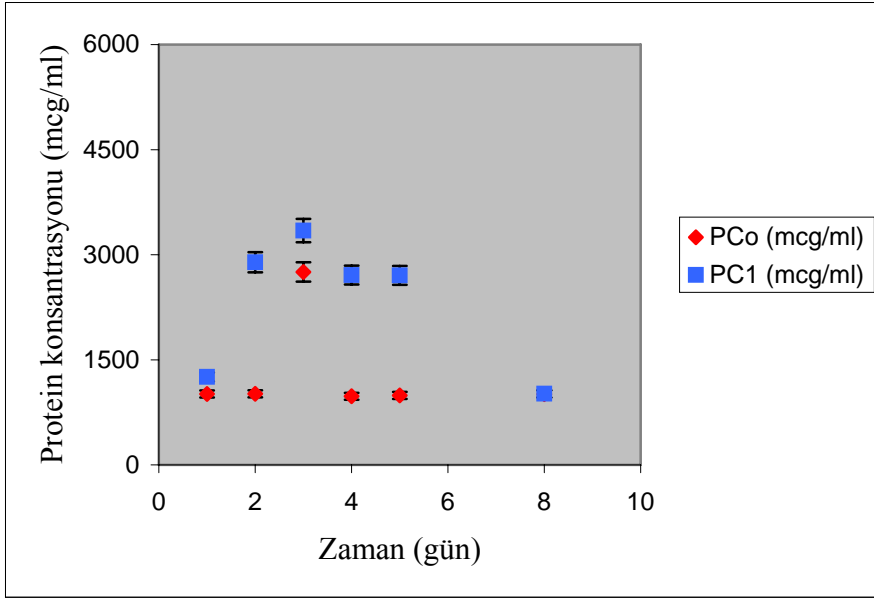
Jel sprej formülasyonunun uygulanmasından sonraki protein konsantrasyonu Şekil 4.12'de görülmektedir. Uygulamadan önceki ve sonraki protein konsantrasyonları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmemiştir ($P > 0.05$). Uygulamadan sonra, protein serbestlenmesinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Ancak, 8 gün sonra, bu değerler bazal düzeye geri dönmüştür.

4.3.8.1.2.2 LDH Aktivite Tayinine Ait Bulgular

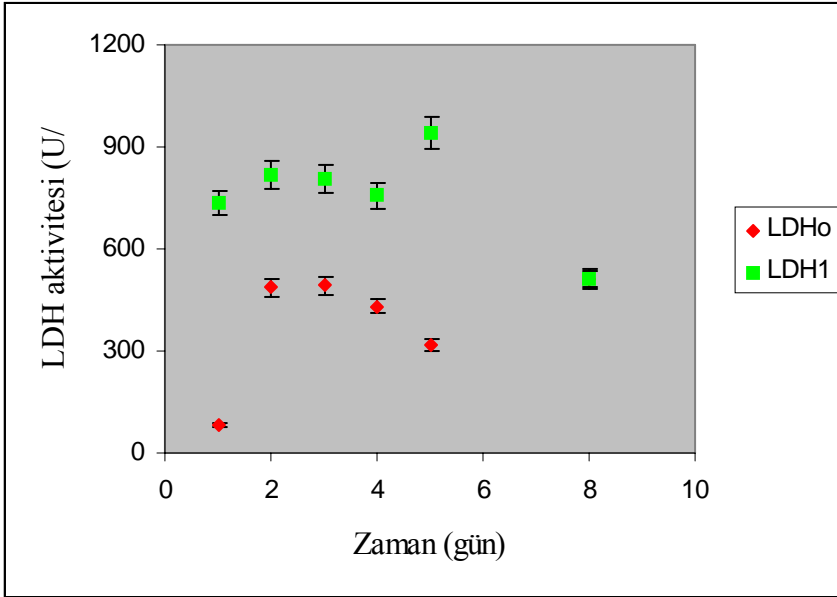
Jel sprej formülasyonunun uygulanmasından sonraki LDH aktivitesi Şekil 4.13'de görülmektedir. Uygulamadan sonraki LDH aktivite değerleri, bazal değerlerden belirgin bir biçimde fazladır ($P < 0.05$). arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmemiştir ($P > 0.05$). Protein konsantrasyonunda olduğu gibi burada da 8 gün sonra, bu değerler bazal düzeye geri dönmüştür.

4.3.8.1.2.3 ALP Aktivite Tayinine Ait Bulgular

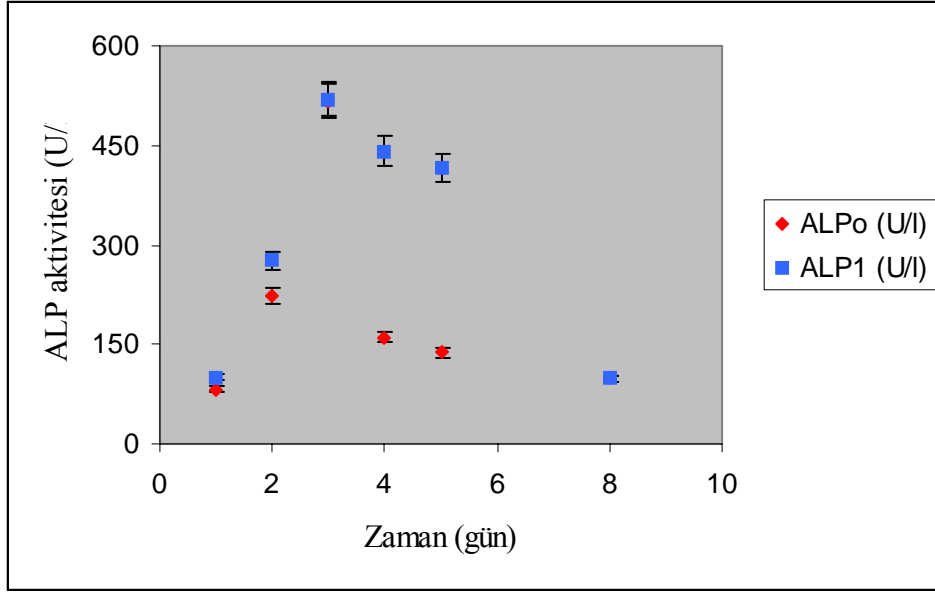
Şekil 4.14'de jel sprej formülasyonunun uygulanmasından sonraki ALP aktivitesi görülmektedir. 3. günde ALP değerlerinde artış görüldü. burada da 8 gün sonra, bu değerler bazal düzeye geri dönmüştür.



Şekil 4.12 8 günlük dozlam süresince, her gün nazal jel sprej uygulamasından 1 saat önce (PCo) ve 1 saat sonraki (PC1) protein konsantrasyonu ölçümleri. (n = 3).



Şekil 4.13. 8 günlük dozlam süresince, her gün nazal jel sprej uygulamasından 1 saat önce (LDHo) ve 1 saat sonraki (LDH1) LDH aktivitesi ölçümleri. (n = 3).



Şekil 4.14. 8 günlük dozlam süresince, her gün nazal jel sprej uygulamasından 1 saat önce (ALPo) ve 1 saat sonraki (ALP1) ALP aktivitesi ölçümleri. (n = 3).

4.3.8.2 Tedavi Maliyeti

Biyoyararlanım değeri hesaplanan ve iritasyon yapıp yapmadığı tespit edilen jel sprej formülasyonu, piyasada mevcut olan ve diyabet hastalarının sık kullandığı farmasötik bir ürünle bir aylık tedavi maliyeti açısından karşılaştırıldı. Bu amaçla, piyasada mevcut Novomix 30 flexipen preparatı incelendi. Flexipen, 100 IU/ml dozda insülin içermektedir. Bir kutuda 5 insülin kalemi mevcuttur ve maliyeti 73.32 YTL'dir. Günde 2 kez ve her uygulamada 30 IU dozda insülin kullanılması gerekmektedir. Buna göre, bir hasta, ayda 2 kutu Novomix 30 kullanmaktadır. Novomix 30'un kullanımı esnasında flexipene Novofine iğne ucunun takılması gerekmektedir ve bunun maliyeti ise, 27 YTL'dir. Bir kutuda 5 kalem olduğuna göre, 5 adet iğne ucu kullanıldığı düşünülecek olursa, iğnenin maliyeti, 135 YTL'dir. Bir ayda, 2 kutu kullanıldığından, bu maliyet 270 YTL olacaktır. Buna, 2 kutu Novomix 30'un fiyatını eklersek, bir aylık maliyet 416.64 YTL olacaktır.

Kullanılan jel yapıcı ajan, insülin ve penetrasyon arttırıcının fiyatları tek tek ele alınıp, bir ay kullanılacak bir kutu jelin maliyeti hesaplandığında bunun 3/2 katı olduğu tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA

İnsülin, başta Tip I diyabet olmak üzere, insülin yetersizliği olan diyabet hastalarında yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır (1). Son 25 yıldır insülin tedavisinde önemli gelişmeler olmasına rağmen, non-invaziv insülin uygulaması ve taşıyıcı sistemler üzerinde yoğun bir çalışma sürmektedir. Oral yol ile verildiğinde, gastro intestinal kanalda proteolitik enzimler tarafından parçalandığı için biyoyararlanımı düşüktür. En yaygın kullanım şekli olan subkütan enjeksiyon ise, lipoatrofi vb. yan etkilere neden olabildiğinden hasta uyuncu düşüktür. Tüm bu sorunların çözümlenmesi, biyoyararlanımının artırılması, hasta uyuncunun iyileştirilmesi için nazal ve pulmoner uygulama bu çalışmada birleştirilerek intranazal uygulanabilen jel sprey formülasyonları geliştirilmiştir.

Çalışmada öncelikle, insülinin FTIR ve UV spektrumları, erime derecesi tayini yapılarak etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri incelenmiş ve literatürdeki kayıtlarla uyumlu bulgular elde edilmiştir (206-208).

İnsülinin miktar tayini için kullanılan UV spektrofotometrik yöntemin validasyonu yapılarak, doğrusallığı ve kesinliği araştırılmıştır (181, 195). Yöntemin doğrusallığının yüksek olduğu 0.9977 değerindeki determinasyon katsayısı ile tespit edilmiştir. Kesinliği için yapılan çalışmalarda elde edilen rölatif standart sapma değerinin %0.95 bulunmasına dayanarak, yöntemin kesinliği de ispatlanmıştır.

Derinin stratum corneum tabakası, ilaç etkin maddesi molekülleri de dahil olmak üzere bir çok maddenin deriden geçişini engelleyen lipofilik özellikte bir bariyerdir (209-210). Topikal uygulanan etkin maddelerin bu engeli aşabilmesi için, düşük molekül ağırlıklı (<500 Da), düşük erime derecesi (<200°C), lipofilik özellik (log K1-3) ve düşük polarite gibi fizikokimyasal niteliklere sahip olması gerektiği literatürde kanıtlanmıştır (150, 211, 212). İnsülinin molekül ağırlığı yaklaşık 6000 ve erime derecesi ise, 0°C olarak bulunmuştur. Etkin maddelerin deriden geçişi açısından yağ/su dağılım katsayısı değeri önemli bir parametredir (213, 214). Dağılım katsayısı arttıkça, deriden geçiş de artar (152). Ancak, literatürde insülinin lipofilik özellik gösteren yağ/su dağılım katsayısı ile ilgili bir bilgiye rastlanmamıştır. İnsülin, protein molekülü olması sebebiyle, amfoterik özelliğe sahip olduğundan dağılım katsayısı bu çalışmada incelenmemiştir. Makromoleküler yapıda olması, deriden geçişi engelleyebileceğinden hazırlanan jel formülasyonlarına penetrasyon arttırıcı maddelerin ilavesine karar

verilmiştir. Bu maddeler, startum corneumun bariyer oluşturma yeteneğini değiştirme özelliğine sahiptir (210- 212).

Formülasyonlara ilave edilecek penetrasyon arttırıcı madde seçiminde, iki genel yaklaşımla hareket edilmiştir. Burada, ilaç etkin maddesinin taşıyıcı içerisindeki termodinamik etkinliğinin arttırılması ve stratum corneum tabakasının bariyer oluşturuca özelliğinin değiştirilmesi esastır (152, 215). Penetrasyon arttırıcı olarak, yaygın kullanılan oleik asit ve lesitin seçilmiştir. Oleik asit, hücreler arasındaki lipitler üzerine etki ederek deriden geçişi arttırır (155). Ayrıca, insülinin jel formülasyonlarının hazırlanmasında kullanılan penetrasyon arttırıcı maddelerin ilaç etkin maddesinin deriden geçişi üzerindeki etkisini tespit edebilmek amacıyla, penetrasyon arttırıcı madde içermeyen kontrol formülasyonu (F106) da hazırlanmıştır.

Bu çalışmada hazırlanan formülasyonların pH değeri, karbomerin jelleşebildiği ve burun mukozasının tolere edebileceği bir değere (pH 4) ayarlanmıştır. Jellerin pH'sı 0.1 N NaOH kullanılarak ayarlanmış ve formülasyonlara insülin deneye başlamadan 30 dakika önce ilave edilmiştir. Böylece, çalışma sırasında proteinin stabilitesini yitirmesi engellenmiştir.

Hazırlanan formülasyonlarda in vitro ve ex vivo deneyler yapılmadan önce, insülinin miktar tayini yapılmış ve formülasyonların viskozite değerleri ölçülmüştür. Formülasyonlara ilave edilen penetrasyon arttırıcılardan oleik asidin viskoziteyi düşürdüğü (F106O25 ve F106O5), lesitinin ise arttırdığı (F106L1) tespit edilmiştir. Bu yüzden lesitinli formülasyon in vivo çalışmalarda kullanılmamıştır.

Edman ve ark., nazal uygulamayı takiben, hipoosmotik termojel sistemden insülinin absorpsiyonunun izotonik ve hipertonic sistemlere kıyasla daha fazla olduğunu çalışmalarında bildirmişlerdir (216). Bu nedenle, bu çalışmada, izotoni ayarı yapılmamıştır.

Ticari olarak kolayca bulunabilen bir jel pompası kullanılarak, jelin püskürtülebilirliği incelenmiştir. Formülasyon F108 ve F106L1 formülasyonları hariç tüm formülasyonlar, kolayca püskürtülebilmekte ve nispeten homojen damlacıklar oluşturmaktadır. Damlacıkların boyutu, projeksiyon yöntemi kullanılarak 65-148 µm aralığında tespit edilmiştir. Bu da, intranazal uygulama için uygundur.

İnsülinin in vitro serbestleşme hızı deneylerinde modifiye Franz diffüzyon hücresi ve selofan zar kullanılmıştır. Yerel farmasötik formülasyonlara uygulanan in

vitro diffüzyon deneylerinde reseptör faz genellikle pH 7.4 fosfat tamponudur (217, 150). Çalışmamızda kullanılacak reseptör faz seçimi için, çözünürlük tayini yapılmış ve insülinin pH 7.4 fosfat tamponundaki çözünürlüğünün yeterli olduğu saptanmıştır.

Formülasyonlarda kullanılan penetrasyon arttırıcı maddelerin etkisini araştırmak amacıyla selofan zardan in vitro salım hızı deneyleri yapılmıştır. %0.5 konsantrasyonda oleik asit içeren F106O5 formülasyonlarından insülinin %50'si 90 dakikada salınırken bu süre hiçbir penetrasyon arttırıcı ajan içermeden kontrol formülasyonunda (F106) 180 dakikayı bulmaktadır. Lesitin içeren formülasyonda da kontrol formülasyonuna benzer sonuç elde edilmiştir. Elde edilen salım hızı verileri, kinetik modellerine göre değerlendirildiğinde, determinasyon katsayıları dikkate alınarak Higuchi kinetik modeline uyduğu saptanmıştır. Tüm formülasyonların ex vivo koşullarda da salımı incelenmiştir.

Formülasyonlardaki insülinin sıçan derisinden ex vivo diffüzyonu, kontrol jel formülasyonu (F106) ile karşılaştırmalı olarak yapılmıştır. Bu deneylerde kullanılan sıçan karın derisi deneye başlamadan 1 saat önce izotonik sodyum klorür çözeltisinde bekletilerek derinin hidrasyonu sağlanmıştır (193). Belirli zaman aralıkları ile 1 cm²'lik alandan geçen insülin miktarlarının zamana karşı işaretlenmesi sonucu, insülinin sıçan derisinden diffüzyon profilleri çizilmiştir. Bu profiller yardımı ile insülinin sıçan derisinden geçiş hızı hesaplanmıştır.

Elde edilen bu bulgular tek yönlü ANOVA ile istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, F106O5 formülünün insülinin deriden geçiş hızını anlamlı bir şekilde arttırdığı tespit edilmiştir (p<0.05). Bu durum, daha önce de belirtildiği gibi oleik asidin etki mekanizmasına bağlanabilir (214, 218). Oleik asit, stratum corneum hücreleri arasındaki lipidlerin çözünürlüğünü arttırarak ilaçların deriden geçişini kolaylaştırmaktadır (215). F106O5 formülasyonu için, ex vivo ve in vitro deneylere ait sonuçlar paralellik göstermiştir.

Yeni bir ilaç dozaj şeklinin piyasaya sürülebilmesi için ruhsat başvurusunda bulunulması halinde, ruhsat dosyasında yer almaması gereken en önemli verilerden biri de stabilite çalışmalarına ait olanlardır. Her ne kadar, raf ömrünün belirlenmesi ve ruhsatlandırma için "eş zamanlı stabilite" çalışmalarının yapılması şart koşulmaktaysa da nakliye ve depolama esnasında sıcaklığın etkisinin incelenmesi ve buna dayalı olarak uygun formülasyonla uygun koşulların tespit edilmesi için "hızlandırılmış stabilite"

çalışmalarının yapılması da gerekmektedir (219). Bu çalışmada hazırlanan jel formülasyonları, 4° ve 40°C’lerde 2 ay süre ile stabilite kabinlerinde bekletilerek, insülinin stabilitesindeki değişiklikler incelenmiştir. Stabilite çalışmaları sonucunda, 40°C’de tutulan formülasyonlardaki insülin miktarında zamanla azalma olduğu tespit edilmiştir. Ancak, 4°C’de tutulan formülasyonlardaki insülin miktarında önemli bir değişiklik görülmemiş ve 2 ay sonunda tüm formülasyonlardaki insülin miktarının %90-110 sınırları arasında olduğu saptanmıştır. Jel formülasyonlarında, uygulama viskozite önemli bir parametredir. Sıcaklığın jel viskozitesi ve insülinin yapısı üzerine etkisi ile ilgili yapılan çalışmalar da (viskozite ve SDS-PAGE) etkin maddenin bozulmadan muhafaza edilebileceği sıcaklığın 4°C olduğunu göstermiştir.

Ex vivo ve invitro çalışmalardan elde edilen sonuçlar doğrultusunda, formülasyonların farmasötik bakım açısından değerlendirilmesine karar verilmiştir. Bunun için öncelikle, tavşanlarda biyoyararlanım çalışması yapılmıştır. İnsülin jel sprej sisteminin plazma glikoz düzeylerini yaklaşık 1 saat sonra önemli ölçüde (%42) azalttığı tespit edilmiştir. Intranazal uygulanan insülin solüsyonu ise, aynı etkiyi göstermemiştir. Kontrol formülasyonu (insülin içermeyen jel sprej), plazma glikoz değerlerinde değişikliğe neden olmamıştır. Bu da, deney süresince tavşanların stres altında olmadığını kanıttır. Plazma glikoz düzeylerindeki azalmanın zamana karşı grafiğinin altında kalan alan hesaplanarak insülin jel sprejin biyoyararlanımı tespit edilmiştir ((%22.3 ± %3.6). Bunun intranazal insülin çözeltisinin biyoyararlanımından (%6.23) daha fazla olduğu saptanmıştır. Burada, oleik asidin yanısıra, Carbopol kendisi de penetrasyon artırıcı etki yapmaktadır. Morimoto ve ark., çalışmalarında Carbopol’ün iki yönde etki gösterdiğini bildirmiştir (220, 221). Öncelikle, Carbopol, nazal mukozaya yapışarak ilacın mukozayla temas süresini artırır. Sonra, epitel hücrelerinin bağlantı kanallarını açar. Öte yandan, hücre yüzeyine yapışan jelin hipozmotik özelliği, hücrelerin şişmesine yol açar. Bu da, insülin gibi hidrofilik özellikteki bir bileşiğin emilimini artırır (222). Sonuç olarak, büyük molekül ağırlığına sahip bir peptid molekülü olan insülinin membrandan geçişi artar. İnsülin, hızla ve kolayca sistemik dolaşıma katılır.

Her zaman, in vitro deneylerden elde edilen veriler, in vivo sonuçlara uygunluk göstermemektedir. Hazırlanan formülasyonların in vitro –in vivo korelasyonunun incelenmesi için salınan ilaç miktarının (%) plazma glikoz

düzeylerindeki değişime (%) karşı grafiği çizilmiştir. Jel sprej formülasyonlarından salınan insülin miktarı arttıkça, plazma glikoz değerlerinde düştüğü görülmüştür. Bu da, in vitro ve in vivo veriler arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermektedir. Bu da çalışmanın amacına ulaşıldığını göstermektedir. Jel formülasyonlarından insülinin hızla absorpsiyonu, plazma glikoz düzeylerini o oranda çabuk düşürmektedir. Nazal insülin jel sprej, düşük dozda uygulanmasına rağmen, farmakodinamik açıdan karşılaştırıldığında parenteral uygulamadan daha iyi sonuçlar vermiştir. Bu, intranasal uygulamada, nazal mukozanın parenteral uygulamaya benzer absorpsiyon kinetiği göstermesinden kaynaklanmaktadır (223).

Yeni geliştirilen bir formülasyonun Farmasötik Bakım açısından değerlendirilmesinde diğer bir önemli parametre ise, toksisitedir. Bu çalışmada geliştirilen jel sprej formülasyonu intranasal yolla uygulandığından mukozal iritasyonun incelenmesi gerekir.

Callens ve ark. (224), non-invasiv yıkama tekniğinin tavşanlarda, nazal formülasyonların toksisitesinin değerlendirilmesinde tekrarlanabilir bir yöntem olduğunu göstermiştir (224). Bu çalışmada da jel sprej formülasyonunun (F106O5) mukozal iritasyon yapıp yapmadığı Callens'in non-invasive yıkama yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bunun için nazal mukozadan protein, LDH ve ALP salımı incelenmiştir. Bu değerlerin arttığı tespit edilmiştir. Ağrı gibi önemli sorunlar oluşturmayacak kadar düşük düzeyde de olsa formülasyonun mukozal iritasyona yol açtığı saptanmıştır. Ancak, artan protein, LDH ve ALP değerlerinin 4 gün sonra bazal değerlere dönmesi bu iritasyonun geri dönüşümlü olduğunu göstermiştir. Bu, belki de nazal mukozanın zamanla uyum göstermesinden de kaynaklanıyor olabilir. Söz konusu iritasyonun, formülasyonda yer alan jel yapıcı ajan Carbopol'den kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü, literatürde buna dair bulgular mevcuttur (225).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Diyabet tedavisinde, insülinin nazal uygulamasını takiben plazma glikoz düzeylerinin normoglisemik seviyeye getirilebilmesi için, nazal mukozadan optimum düzeyde emilimi sağlayacak bir sistemin geliştirilmesine gereksinim vardır. Bu da, topikal ve pulmoner ilaç uygulamasının birleştirilmesi ile mümkün olabilir. Bu düşünceyle, bu çalışmada, püskürtülebilen jel preparatları hazırlanıp intranazal uygulama için etkinliği ve toksisitesi farmasötik bakım açısından değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler, Carbopol kullanılarak hazırlanacak püskürtülebilen jel sistemin penetrasyon arttırıcılar ilavesi ile nazal mukozadan insülin geçişini terapötik düzeye ulaştırabileceğini göstermektedir. Biyoyararlanım çalışmalarından elde edilen sonuçlar da parenteral insülin uygulamasına alternatif teşkil edebileceğini kanıtlamıştır. Mukoadhezif özellikte olması, etki süresinin uzun olmasını sağlamaktadır. Her ne kadar, başlangıçta mukozal iritasyona yol açsa da, 4 gün sonra, nazal mukoza uyum sürecine girdiğinden kullanımı engelleyebilecek düzeyde toksisitesi de yoktur. Kullanımı kolay, hasta uyuncu yüksek (dozlam sıklığının düşük), ekonomik bir sistem olması da diyabet tedavisinde etkin potansiyel dozaj şekli olmasını sağlamaktadır. Maliyetinin düşük olması nedeniyle, Faz çalışmalarını olumlu neticelendiği takdirde, pek çok sağlık sigortası tarafından da geri ödeme kapsamına alınma ihtimali olan bir ilaç olacağını ummaktayız.

Çalışmanın bundan sonraki kısmında, diğer penetrasyon arttırıcıların etkisi incelenebilir. Biyoyararlanım ve toksisite verilerine göre, seçilecek uygun formülasyonlarda, Faz I çalışmalarının gerçekleştirilmesi düşünülebilir.

7. KAYNAKLAR

1. **Fischer, A** The effect of molecular size on the nasal absorption of water soluble compounds in albino rat. *J Pharm Pharmacol* 1987, 39: 357-362
2. **Owens, D.R., Zinmann, B., Bolli, G.** Alternatif routes of insulin delivery. *Diabetic Medicine*, 2003, 20: 886-898
3. **Behl, C.R., Pimplaskar, H.K., Sileno, A.P., Jia, W.J., Gries, J.C., Romeo, V.D.** Optimization of systemic nasal drug delivery with pharmaceutical excipients. *Adv. Drug Del. Rev.*, 1998, 29: 117-13
4. **Illum, L.** Nasal drug delivery possibilities, problems and solutions. *J Controlled Rel.*, 2003, 87: 187-198
5. **Prasad, Y.V.** Intranasal drug delivery systems: an overview. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1996, 58: 1-8
6. **Hehar, S.S., Mason, J.D.T., Stephen, A.B., Washington, N., Jones, N.S., Jackson, S.J.** Twenty four hour ambulatory nasal pH monitoring. *Clin. Otolaryngol.* 1999, 24: 24-25.
7. **Pontiroli, A.E.** Intranasal drug delivery: potential advantages and limitations from a clinical pharmacokinetic perspective. *Clinical Pharmacokinetics*, 1989, 17: 299-307.
8. **Edman, P., Björk, E., Ryden, L.** Microspheres as a nasal delivery system for peptide drugs. *J. Controlled Rel.*, 1992, 21: 165-172.
9. **Talegaonkar, S., Mishra, P.R.** Intranasal delivery: an approach to bypass the blood brain barrier. *Indian J. Pharmacol.*, 2004, 36: 140-147
10. Diabetes mellitus, In: *Pharmacotherapy, A Pathophysiological Approach*, 5. baskı, J. Dipiro, RL., Talbert, GC. Yee, GR. Matzke, BG. Wells, LM. Posey (eds), McGraw Hill, New York, 2002, 1335-1358.
11. **Pontiroli, A.E.** Insulin given intranasally induces hypoglycemia in normal and diabetic subjects. *Br. Med. J.*, 1982, 284: 303-306
12. **Farraj, N.F.** Nasal administration of insulin using bioadhesive microspheres as a delivery system. *J. Controlled Rel.*, 1990, 13: 253-261.
13. **Woodyatt, R.T.** The clinical use of insulin. *J. Metab. Res.* 1922, 2: 793
14. **Illum, L., Davis, S.** Intranasal insulin. *Clinical Pharmacokinetics*, 1992, 23: 30-41

15. **Pontiroli, A.E.** Intranasal administration of calcitonin and of other peptides: Studies with different promoters. *J. Controlled Rel.*, 1990, 13: 247-251.
16. **Merkus, F.W.H.M., Schipper, N.G.M., Verhoef, J.C.** The influence of absorption enhancers on intranasal insulin absorption in normal and diabetic subjects. *J. Controlled Rel.* 1996, 41: 69-75.
17. **Lee, V.H.** Protease inhibitors and penetration enhancers as approaches to modify peptide absorption. *J. Controlled Rel.*, 1990, 13: 213-223.
18. **Ryden, L., Edman, P.** Effect of polymers and microspheres on the nasal absorption of insulin in rats. *Int. J. Pharm.* 1992, 83: 1-10.
19. **Jian, L., Li Wan Po, A.** Effects of insulin and nasal absorption enhancers on ciliary activity. *Int. J. Pharm.* 1993, 95: 101-104.
20. **Schipper, N.G.M., Verhoef, J., Romeijn, S.G., Merkus, F.W.H.M.** Absorption enhancers in nasal insulin delivery and their influence on nasal ciliary functioning. *J. Controlled Rel.*, 1992, 21: 173-186.
21. **N. Bağrıaçık:** “Diyabetes mellitus: Tanımı, tarihçesi, sınıflaması ve sıklığı”, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Diyabetes Mellitus Sempozyumu, 18-19 Aralık 1997, İstanbul, 9-18.
22. **N. Ö. Şahin:** “Diyabetes Mellitus”, *Farmasötik Bakım-Klinik Eczacılık Ders Notları*, Mersin Üniversitesi Yayınları (baskıda), 2006
23. WHO Experts Reports, 1985
24. **Bennett P, Rewers M, Knowler W.** Epidemiology of diabetes mellitus. In: Porte D Jr, Sherwin RS eds. *Ellenberg & Rifkin's Diabetes Mellitus*, 5th ed: Stamford, CT, Appleton & Lange, 1997: 373-400.
25. **Parmer JP, Lernmark A.** Pathophysiology of type I (insulin dependent) diabetes. Porte D, Jr., Sherwin RS eds. *Ellenberg & Rifkin's Diabetes Mellitus*, 5th ed: Stamford, CT, Appleton & Lange, 1997: 455-486.
26. American Diabetes Association. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2001, 24 (supp 11): S33-S43.
27. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long term complications in insulin independent diabetes mellitus. *N. Engl J Med.*, 1993, 329: 977-986

28. UK Prospective Diabetes Study Group. Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*, 1998, 352: 837-853
29. American Diabetes Association. Self monitoring of blood glucose. *Diabetes Care*, 1994, 17: 81-86
30. Kennedy, L. Self-monitoring of blood glucose in type 2 diabetes: Time for evidence of efficacy. *Diabetes Care*, 2001, 24: 977-978
31. American Diabetes Association. Nutrition recommendations and principles for people with diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2001, 24: S44-S47
32. American Diabetes Association. Diabetes mellitus and exercise. *Diabetes Care*, 2001, 24 (suppl1): S51-S55
33. Guyton, AC, Hall, JE, eds. *Textbook of Medical Physiology*, 10. baskı, Philadelphia, WB Saunders, 2000: 884-898
34. Strowig, S, Raskin, P. Intensive management of insulin dependent diabetes mellitus. Porte D. Jr., Sherwin RS, eds. *Ellenberg & Rifkin's Diabetes Mellitus*, 5. baskı, Stamford, CT, Appleton & Lange, 1997, 709-733
35. **Reynolds, LR.** Reemergence of insulin pump therapy in the 1990s. *South Med J* 2000, 93: 1157-1161
36. **Cryer, PE.** Hypoglycemia is the limiting factor in the management of diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*, 1999, 15: 42-46
37. **Rosenbloom, AL, Schatz, DA, Krischer, JP.** Therapeutic controversy: Prevention and treatment of diabetes in children. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85: 494-452
38. **Binder, C, Brange, J.** Insulin chemistry and pharmacokinetics. Porte D. Jr., Sherwin RS, eds. *Ellenberg & Rifkin's Diabetes Mellitus*, 5. baskı, Stamford, CT, Appleton & Lange, 1997, 689-708
39. American Diabetes Association. Medical management of type 1 diabetes mellitus, 3. baskı, Kelly DB (ed), Alexandria, VA: American Diabetes Association, 1998
40. **Brange, J.** Galenics of insulin. The physicochemical and pharmaceutical aspects of insulin and insulin preparations. Springer-Verlag, Berlin, 1987

41. **Rawn, JD.** Glycogen metabolism, gluconeogenesis, pentose phosphate pathway: Insulin lowers the concentration of glucose in the blood. Patterson, N (ed), Biochemistry, Burlington, North Carolina, 1989, 395-398
42. **Brange, J, Volund, A.** Insulin analogues with improved pharmacokinetic profiles. *Adv. Drug Del. Rev.*, 1999, 35: 307-335
43. **Hofmman, A, Ziv, E.** Pharmacokinetic considerations of new insulin formulations and routes of administration. *Clin. Pharmacokinet.* 1997, 33: 285-301
44. **Guyton, AC, Hall, JE** (eds). Textbook of Medical Physiology, 10. baskı, Philedelphia, WB Saunders, 2000, 884-898
45. **Tyagi, P.** Insulin delivery systems: present trends and the future direction. *Indian J Pharmacol*, 2002, 34: 379-389
46. **Owens, DR, Zinmann, B, Bolli, G.** Alternative routes of insulin delivery. *Diabetic Medicine*, 2003, 20: 886-898
47. **Hildebrandt, P, Birch, K.** Basal rate subcutaneous insulin infusion: Absorption kinetics and relation to local blood flow. *Diabet Med.*, 1988, 5: 434-440
48. **Heinemann, L, Weyer, C, Rauhaus, M, Heinrichs, S, Heise, T.** Variability of the metabolic effect of soluble insulin and the rapid-acting insulin analog insulin aspart. *Diabetes Care*, 1998, 21: 1910-1914
49. **Mudaliar, S, Edelmn, SV.** Insulin therapy in type 2 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2001, 30: 935-982
50. **DCCT Research Group.** Diabetes Control and Complications Trial (DCCT): the effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 1993, 329: 977-986
51. **UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group.** Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*, 1998, 352: 837-853
52. **Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) Research Group.** Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC): design, implementation and preliminary results of a long-term follow

- up of the Diabetes Control and Complications Trial cohort. *Diabetes Care*, 1999, 22: 99-111
53. **Rosenstock, J.** Insulin therapy: optimizing control in type 1 and type 2 diabetes. *Clin Cornerstone*, 2001, 4: 50-64
 54. **Duckworth, WC, Saudek, CD, Henry, RR.** Why intraperitoneal delivery of insulin with implantable pumps in NIDDM? *Diabetes*, 1992, 41: 657-661
 55. **Laville, M, Andreelli, F.** Mechanisms for weight gain during blood glucose normalization. *Diabetes Metab*, 2000, 26: 42-45
 56. **Steil, GM, Rebrin, K, Mittelman, SD, Bergman, RN.** Role of portal insulin delivery in the disappearance of intravenous glucose and assessment of insulinsensitivity. *Diabetes*, 1998, 47: 714-720
 57. **Jeandidier, N, Boullu, S, Delatte, E, Sapin, R, Steibel, J, Meyer, P, Uhl, C, Pinget, M.** High antigenicity of intraperitoneal insulin infusion via implantable devices: Preliminary rat studies. *Horm Metab Res*, 2001, 33: 34-38
 58. **Selam, JL, Medlej, R, M'Bemba, J.** Symptoms, hormones and glucose fluxes during a gradual hypoglycaemia induced by intraperitoneal vs venous insulin infusion in type 1 diabetes. *Diabet Med*, 1995, 12: 1102-1109
 59. **Aurora, J.** Nasal drug delivery. *Drug Delivery Technology*, 2001, 6:20.
 60. **Selam JL, Charles MA.** Devices for insulin administration. *Diabetes Care* 1990;13:955-79.
 61. **Duckworth WC, Saudek CD, Giobbie-Hurder A, Henderson WG, Henry RR, Kelley DE.** The Veterans Affairs Implantable Insulin Pump Study: effect on cardiovascular risk factors. *Diabetes Care* 1998;21:1596-602.
 62. **Ruotolo, G, Parlavecchia, M, Taskinen, MR, Galimberti, G, Zoppo, A, Le NA.** Normalization of lipoprotein composition by intraperitoneal insulin in IDDM. Role of increased hepatic lipase activity. *Diabetes Care*, 1994, 17: 6-12.
 63. **Raskin, P, Holcombe, JH, Tamborlane, WV, Malone, JI, Strowing, S, Ahern, JA, Lavent, F.** A comparison of insulin lispro and buffered regular human insulin administered via continuous subcutaneous insulin infusion pump. *J Diabetes Complications*, 2001, 15: 295-300
 64. **Selam, JL.** External and implantable insulin pumps: Current place in the treatment of diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2001, 109: 333-340

65. **Rizvi, AA, Petry, R, Arnold, MB, Chakroborty, M.** Beneficial effects of continuous subcutaneous insulin infusion in older patients with long-standing type 1 diabetes. *Endocr Pract*, 2001, 7: 364-369
66. **Thompson, JS, Duckworth, WC.** Insulin pumps and glucose regulation. *World J Surg*, 2001, 25: 523-526
67. **Kim, JJ, Park, K.** Modulated insulin delivery from glucose-sensitive hydrogel dosage forms. *J Control Release*, 2001, 77: 39-47.
68. **Traitel, T, Cohen, Y, Kost, J.** Characterization of glucose-sensitive insulin release systems in simulated in vivo conditions. *Biomaterials*, 2000, 21: 1679-1687.
69. **Bendayan, M., Ziv, E, Gingras, D.** Biochemical and morphocytochemical evidence for intestinal absorption of insulin in control and diabetic rats, comparison between the effectiveness of duodenal and colon mucosa. *Diabetologia*, 1994, 37: 119-126
70. **Ramadas, M, Paul, W, Dileep, KJ, Anitha, Y, Sharma, CP.** Lipoinsulin encapsulated alginate-chitosan capsules: intestinal delivery in diabetic rats. *J Microencapsul*, 2000, 17: 405-411
71. **Musabayane, CT, Munjeri, Bwitti, P, Osim, EE.** Orally administered, insulin loaded amidated pectin hydrogel beads sustain plasma concentrations of insulin in streptozotocin-diabetic rats. *J Endocrinol*, 2000, 164: 1-6
72. **Singh, M, Singh, A, Talwar, GP.** Controlled delivery of diptheria toxoid using biodegradable poly(O, L-Lactide) microcapsules. *Pharmacol Res*, 1991, 8: 958-961.
73. **Agu, RU, Ugwoke, MI, Armand, M, Kinget, R, Verbeke, N.** The lung as a route for systemic delivery of therapeutic proteins and peptides. *Respir Res.*, 2001, 2: 198-209
74. **Gerber, RA, Cappelleri, JC, Kourides, IA, Gelfand, RA.** Treatment satisfaction with inhaled insulin in patients with type 1 diabetes: A randomized controlled trial. *Diabetes Care*, 2001, 24: 1556-1559
75. **Gill, GV.** Viewpoint: Stability of insulin in tropical countries. *Trop Med Int Health*, 2000, 5: 666-667
76. **Prausnitz, MR.** Overcoming skin's barrier: The search for effective and user-

- friendly drug delivery. *Diabetes Technol Ther.*, 2001, 3: 233-236
77. **Zakzewski, CA, Wasilewski, J, Cawley, P, Ford, W.** Transdermal delivery of regular insulin to chronic diabetic rats: Effect of skin preparation and electrical enhancement. *J Control Release*, 1998, 50: 267-272.
 78. **Boucaud, A, Garrigue, MA, Machet, L, Vaillant, L, Patat, F.** Effect of sonication parameters on transdermal delivery of insulin to hairless rats. *J Control Release*, 2002, 81: 113-119.
 79. **Brand RM, Hannah TL, Hamel FG.** A combination of iontophoresis and the chelating agent 1,10 phenanthroline act synergistically as penetration enhancers. *AAPS Pharm Sci* 2000; 2:35.
 80. **Meyer BR, Katzeff HL, Eschbach JC, Trimmer J, Zacharias SB.** Transdermal delivery of human insulin to albino rabbits using electrical current. *Am J Med Sci* 1989;297:321-5.
 81. **Kanikkannan N, Singh J, Ramarao P.** Transdermal iontophoretic delivery of bovine insulin and monomeric human insulin analogue. *J Control Release* 1999;59:99- 105.
 82. **Morgan RV.** Delivery of systemic regular insulin via the ocular route in cats. *J Ocul Pharmacol Ther* 1995;11:565-73.
 83. **Yamasaki Y, Shichiri M, Kawamori R, Kikuchi M, Yagi T, Arai S.** The effectiveness of rectal administration of insulin suppository on normal and diabetic subjects. *Diabetes Care* 1981 ;4:454-8.
 84. **Ritschel WA, Ritschel GB, Ritschel BE, Lucker PW.** Rectal delivery system for insulin. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1988;10:645-56.
 85. **Alpmen, G.:** *Kozmetik Preparatlar*, Nurettin Uycan Matbaası A.Ş., İstanbul, s.12, 1978
 86. **Langer, R.S., Wise, D.L.** *Medical Applications of Controlled Release*, cilt.1, C.R.C. Press, Inc., Boca Raton, Florida, 1984, 1, 35 ve 139, 1984
 87. **Elias, PM.** Structure and the function of the stratum corneum permeability barrier. *Drug Dev Res*, 1988, 13: 97-105.
 88. **Gopferich, A, Lee, G.** Measurement of drug diffusivity in stratum corneum membranes and a polyacrylate matrix. *Int J Pharm*, 1991, 71: 245-253.
 89. **Knowlton, J., Pearce, S.** *Handbook of Cosmetic Science and Technology*, 1.

- askı, Elsevier Science Publishers Ltd., Oxford, UK, 1993, 167
90. **Flynn, GL, Stewart, B.** Percutaneous drug penetration: choosing candidates for transdermal development. *Drug Dev Res*, 1988, 13: 169-185
 91. **Karim, A.** Transdermal absorption: a unique opportunity for constant delivery of nitroglycerin. *Drug Dev Ind Pharm*, 1983, 9: 671-689
 92. **Yamada, M, Uda, Y, Tanigawara, Y.** Mechanism of enhancement of percutaneous absorption of molsidomin by oleic acid. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35: 3399-3406
 93. **Jakubovic, HR, Ackerman, AB.** Structure and function of the skin: development, morphology, and physiology. Moschella, SL, Hurley, HJ. (eds). *Dermatology*, Philadelphia, WB Saunders Company, 1992, 3-87.
 94. **Parker, F.** Structure and function of the skin. Orkin, M, Maibach, HI, Dahl, MV. (eds), *Dermatology*, Connecticut, Appleton & Lange, 1990, 1-14.
 95. **Shargel, L., Yu, A.B.C.** *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*, 3. askı, Appleton & Lange, East Norwalk, Connecticut, 1993, 112.
 96. **Martin, A.N., Swarbrick, J., Cammarata, A.** *Physical Pharmacy*, , 3. askı, Lea & Febriger, Philadelphia, 1983, 402.
 97. **Barry, B.W.** *Dermatological Formulations, Percutaneous Absorption*, Marcel Dekker, Inc., New York, 1983, 49, 95, 127 ve 234.
 98. **Siddiqui, O.** Physicochemical, physiological, and mathematical considerations in optimizing percutaneous absorption of drugs. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1989, 6-11
 99. **Barr, M.** Percutaneous absorption. *J. Pharm. Sci.*, 1962, 51: 395-409
 100. **Brandau, R., Lippold, B.H.** *Dermal and Transdermal Absorption*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 1982, 46
 101. **Grasso, P., Landsdown, A.B.G.** Methods of measuring and factors affecting, percutaneous absorption. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 1972, 23: 481-489
 102. **Marzulli, F.N., Maibach, H.I.** Permeability and reactivity of skin as related to age. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 1984, 35: 95-101
 103. **Evans, N., Hadgraft, J., Parr, G.D., Rutter, N.** In vitro release of theophylline with a view to systemic percutaneous treatment in the preterm neonate. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1984, 36: 10P

104. **Singer, E.J., Wegmann, P.C., Lehman, M.D., Christensen, M.S., Vinson, L.J.** Barrier Development, Ultrastructure, and Sulfhydryl Content of the Fetal Epidermis. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 1971, 22: 119-125
105. Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th Edition, vol. II, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1995, 1584-1587
106. **Idson, B.** Percutaneous Absorption. *J. Pharm. Sci.*, 1975, 64: 901-906
107. **Katz, M., Poulsen, B.J.** Corticoid, vehicle and skin interaction in percutaneous absorption. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 1972, 23: 565-570
108. **Behl, CR, Linn, EE, Flynn, GL, Ho, NF, Higuchi, WI, Pierson, CL.** Permeation of skin and eschar by antiseptics. II. Influence of controlled burns on the permeation of phenol. *J. Pharm. Sci.*, 1983, 72: 397-401
109. **Tojo, K, Chiang, CC, Doshi, U, Chien, W.** Stratum corneum reservoir capacity affecting dynamics of transdermal drug delivery. *Drug Dev Ind Pharm*, 1988, 14: 561-573.
110. **Behl, C.R.** Age and Anatomical Site Influences on Alkanol Permeation of the Skin of the Male Hairless Mouse. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 1984, 35: 237-240
111. **Bronaugh, R.L., Stewart, R.F., Congdon, E.R.** Differences in Permeability of Rat Skin Related to Sex and Body Site. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 1983, 34: 127-132
112. **Horhota, S.T., Fung, H.L.** Site Dependence for Topical Absorption of Nitroglycerin in Rats. *J. Pharm. Sci.*, 1978, 67: 1345-1349
113. **Walters, K.A.** Percutaneous absorption and transdermal therapy. *Pharmaceutical Technology*, 1986, 3:30-35
114. **Barret, C.W.** Skin Penetration. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 1969, 20: 487-492
115. **Szakall, A.** Physiological Principles underlying the Development of Effective Drugs for the Care of the Skin with Special Consideration of the Prevention of Professional Skin Diseases. *Arzneim. Forsch.*, 1957, 7: 408-411
116. **Laden, K., Spitzer, R.** Identification of a Natural Moisturizing Agent in Skin. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 1967, 18: 351-356
117. **Middleton, J.D., Roberts, M.E.** Effect of a skin cream containing the sodium salt of pyrrolidone carboxylic acid on dry and flaky skin. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 1978, 29: 573-577

118. **Idson, B.** Biophysical Factors in Skin Penetration. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 1971, 22: 615-618
119. **Washitake, M., Anmo, T., Tanaka, I., Arita, T., Nakano, M.** Percutaneous Absorption of Drugs IV: Percutaneous Absorption of Drugs from Oily Vehicles. *J. Pharm. Sci.*, 1975, 64:397-402
120. **Higuchi, T.** Physical chemical analysis of percutaneous absorption process from creams and ointments. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 1960, 11: 85-90
121. **Scheuolein, R., Ross, L.** Effects of Surfactants and Solvents on the Permeability of Epidermis. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 1970, 21: 853-857
122. **Williams, AC, Barry, BW.** Penetration enhancers. *Adv Drug Deliv Rev*, 2004, 56: 603-618.
123. **Nakano, M, Patel, N.** Release, uptake and permeating behavior of salicylic acid in ointment bases. *J Pharm Sci*, 1970, 59: 985-988
124. **He, N, Womer, KS, Higuchi, WI, Li, SK.** Model analysis of flux enhancement across hairless mouse skin induced by chemical permeation enhancers. *Int J Pharm*, 2005, 297: 9-21
125. **Büyüktimkin N, Büyüktimkin, S, Rytting, JH.** Chemical means of transdermal drug permeation enhancement. *Transdermal Drug Delivery*, Bölüm 11, 1999, 1-12
126. **Guy, RH, Hadgraft, J.** *Transdermal Drug Delivery, Developmental Issues and Research Initiatives*, Marcel Dekker, Inc., New York, 1989, 203
127. **Williams, AC, Barry, BW.** Skin absorption enhancers. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1992, 9: 305-308
128. **Aguiar, A,J, Weiner, MA.** Percutaneous Absorption Studies of Chloramphenicol Solutions. *J. Pharm. Sci.*, 1969, 58: 210-214
129. **Chowhan, ZT, Pritchard, R.** Effect of Surfactants on Percutaneous Absorption of Naproxen I: Comparison of Rabbit, Rat, and Human Excised Skin. *J. Pharm. Sci.*, 1978, 67: 1272-1275
130. **Hadgraft, J, Walters, KA, Wotton, PK.** Enhanced Absorption Through Cadaver Skin of Sodium Salicylate by Long Chain Etoxylated Amines. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1986, 38: 72P
131. **Gillan, JMN, Florance, AT.** The influence of non-ionic surfactant type on the

- transport of a drug across a biological membrane. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1973, 25: 136P
132. **Chien, YW, Cabana, BE, Mares, SE.** *Novel Drug Delivery Systems*, Marcel Dekker, Inc., New York, 1982, 192
 133. **Mezei, M, Sager, RW.** Dermatitic Effect of Nonionic Surfactants II. *J. Pharm. Sci.*, 1967, 6: 1604-1608
 134. **Bennet, SL, Barry, BW, Woodford, R.** Optimization of bioavailability of topical steroids: non-occluded penetration enhancers under thermodynamic control. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1984, 37: 298-302
 135. **Wong, O, Huntigton, J, Konishi, Rytting, JH, Higuchi, T.** Unsaturated Cyclic Ureas as New Nontoxic Biodegradable Transdermal Penetration Enhancers I: Synthesis. *J. Pharm. Sci.*, 1988, 77: 967-971
 136. **Preiss, A, Mehnert, W, Frömning, KH.** Penetration of hydrocortisone into excised human skin under the influence of cyclodextrins. *Pharmazie*, 1995, 50: 121-125
 137. **Maitani, Y, Shimada, K, Nagai, T.** I-Mentol, Oleic Acid and Lauricidin in Absorption Enhancement of Free and Sodium Salt of Diclofenac Using Ethanol Treated Silicone Membrane as Model for Skin. *Chem. Pharm. Bull.*, 1996, 44: 403-407
 138. **Hori, M, Satoh, S, Maibach, H I, Guy, RH.** Enhancement of Propranolol Hydrochloride and Diazepam Skin Absorption In Vitro: Effect of Enhancer Lipophilicity. *J. Pharm. Sci.*, 1991, 80: 32-36
 139. **Yamahara, J, Kashiwa, H, Kishi, K, Fujimara, H.** Dermal Penetration Enhancement by Crude Drugs: In Vitro Skin Permeation of Prednisolone Enhanced by Active Constituents in Cardamon Seed. *Chem. Pharm. Bull.*, 1989, 37: 855-862
 140. **Almirall, M, Montana, J, Escribano, E, Obach, R, Berrozpe, JD.** Effect of d-Limonene, α -Pinene and Cineole on in vitro Transdermal Human Skin Penetration of Chlorpromazine and Haloperidol. *Arzneim. Forsch./Drug Res.* 1996, 46: 676-671
 141. **Kikuchi, K, Takayama, K, Nagai, T.** Effect of d-Limonene on the Amounts of

- Ethanol and Indomethacin Penetrated from Aqueous Gel Ointments to Rat Skin. Chem. Pharm. Bull., 1992, 40: 3108-3111
142. **Levison, KK, Takayama, K, Isowa, K, Okabe, K, Nagal, T.** Formulation Optimization of Indomethacin Gels Containing a Combination of Three Kinds of Cyclic Monoterpenes as Percutaneous Penetration Enhancers. J. Pharm. Sci., 1994, 83: 1367-1371
 143. **Parasrampuriah, D, Parasrampuriah, J.** Percutaneous delivery of proteins and peptides using iontophoretic techniques. Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics, 1991, 16: 7-10
 144. **Kayaalp, O.** Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 5. baskı, Cilt 1, Feryal Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti., Ankara, 1989, 31
 145. **Chien, YW, Lelawongs, P, Siddiqui, O, Sun, Y, Shi, WM.** Facilitated transdermal delivery of therapeutic peptides and proteins by iontophoretic delivery devices. Journal of Controlled Release, 1990, 13: 263-267
 146. **Bommannan, D, Menon, GK, Okuyama, H, Elias, PM, Guy, RH.** Sonophoresis II. Examination of the mechanism(s) of ultrasound-enhanced transdermal drug delivery. Pharmaceutical Research, 1992, 9: 1043-1050
 147. **Prusnitz, MR, Bose, VG, Langer, R, Weaver, JC.** Transdermal drug delivery by electroporation. Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., Controlled Release Society, Inc., 1992, 19: 232-236
 148. **Friend, DR.** In vitro skin permeation techniques. Journal of Controlled Release, 1992, 18:235-238
 149. **Gummer, CL, Hinz, RS, Maibach, HI.** The skin penetration cell: a design update. Int J Pharm, 1987, 40: 101-104
 150. **Gosh TK, Pfister WR, Yum SII.** Transdermal and Topical Drug Delivery Systems. Interpharm Press Inc.. Buffalo Grove, 1997.
 151. **Hekimoğlu, S.** Perkütan absorpsiyonu in vivo inceleme yöntemleri. FABAD J Pharm Sci, 1987, 12: 26-38
 152. **Bach, M, Lippold, BC.** Percutaneous penetration enhancement and its quantification. Eur J Pharm Biopharm, 1998, 46: 1-13
 153. **Chiang, CH, Lai, JS, Yang, KH.** The effects of pH and chemical enhancers on

- the percutaneous absorption of indomethacin. *Drug Dev Ind Pharm*, 1991, 17: 91-111.
154. **De Vos A, Velvoort L, Kinget R.** Release of indomethacin from transparent oil-waters gels. *J Pharm Sci* 1994; 83: 641-643.
 155. **Francoeur, ML, Monteiro-Riviere, NA, Riviere, JE.** Piroxicam: Evidence for local delivery following topical application. *Eur J Pharm Biopharm*, 1995, 41: 175-183.
 156. **Mura, P, Nassini, C, Valoti, M, Santoni, G, Corti, P.** The single-pass perfused rabbit ear as a model for studying percutaneous absorption of clonazepam III. Influence of vehicle composition on drug permeation. *Eur J Pharm Biopharm*, 1994, 40: 90-95
 157. **O'Hagan DT, Illum L.** Absorption of peptides and proteins from the respiratory tract and the potential for development of locally administered vaccine. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*. 1990, 7:35-97
 158. **Corbo CD, Lui CJ, Chien WY.** Characterization of the barrier properties of mucosal membranes. *Journal of Pharmaceutical Science*, 1990, 79: 202-206.
 159. **Chien YW, Chang SF.** Intranasal drug delivery for systemic medication. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1987, 4 (2): 67-189.
 160. **Illum L.** Drug delivery systems for nasal application. *S.T.P. Pharma Sciences*, 1987, 3(7): 594-598.
 161. **Gizurason S.** Animal models for intranasal delivery studies. *Acta Pharmaceutica Nordica* 1990, 2 (2): 105-122.
 162. **Callens C, Remon JP.** Evaluation of starch-maltodextrin-carbopol 974 P mixtures for the nasal delivery of insulin in rabbits. *Journal of Controlled Release*, 2000, 66: 215-220.
 163. **Ugwoke MI, Kaufmann G, Verbeke N, Kinget R.** Intranasal bioavailability of apomorphine from carboxymethylcellulose-based drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000a, 202,125-131.
 164. **Ugwoke MI., Agu R.U., Vanbilloen H., Baetens j., Augustijns P., Verbeke N., Montelmans L., Verbruggen A., Kinget R., Bormans G.** Scintigraphic evaluation in rabbits of nasal drug delivery systems based on carbopol 971 P[®] and carboxymethyl cellulose. *Journal of Controlled Release*. 2000b, 68: 207-

214.

165. **Illum L., Jargensen H., Bisgard H., Krogsgenard and Rossing N.** Bioadhesive microspheres as a potential nasal drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutics*. 1987, 39: 189-199.
166. **Illum L., Fisher A.N., Gill I.J., Davis S.S.** Bioadhesive starch microspheres and absorption enhancing agents act synergistically to enhance the nasal absorption of polypeptides. *International Journal of Pharmaceutics*., 2001, 222: 109-119.
167. **Björk E., Edman P.** Degradable starch microspheres as a nasal delivery system for insulin. *International Journal of Pharmaceutics*, 1988, 47: 233-238.
168. **Edman P., Björk E.** Microspheres as nasal drug delivery system. *Pharmaceutical Particulate Carriers*. Ed.: A.Rolland . Marcel Dekker. Inc., New York.1993, 21-30.
169. **Ryden L., Edman P.** Effect of polymers and microspheres on the nasal absorption of insulin in rats. *International Journal of Pharmaceutics*. 1992, 83: 1-10 (1992).
170. **Nakamura K., Maitani Y., Lowman A., Takayama K., Peppas N.A., Nagai T.** Uptake and release of budesonide from mucoadhesive. pH-sensitive copolymers and their application to nasal delivery. *Journal of Controlled Release*. 1999, 61: 329-335.
171. **Morimoto K., Katsumata H., Yabuta T., Iwanaga K., Kakemi M., Tabata Y., Ikada Y.** Evaluation of gelatin microspheres for nasal and intramuscular administrations of salmon calcitonin. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2001, 13: 179-185.
172. **Ogan-Hasçiçek C., Gönül N.** Nasal absorption of gentamicin sulphate from bioadhesive microspheres in rabbit. *Proceedings of 3rd World Meeting APV/APGI*, 2000, 393-394.
173. **Soane R.J., Frier M., Perkins A.C., Jones N.S. Davis S.S., Ulum L.** Evaluation of the clearance characteristics of bioadhesive systems in humans. *International Journal of Pharmaceutics*, 1999, 178: 55-65.
174. **Tengamnuay P., Sahamethapat A., Sailasuta A., Mitra AK.** Chitosans as

nasal absorption enhancers of peptides. Comparison between freeamine chitosans and soluble salts. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000, 197: 53-67.

175. **Yetkin G., Çelebi N., Özoğul C., Demiryürek AT.** Enhancement of nasal absorption of salmon calcitonin in rabbits using absorption enhancer. *Scientific and Technical Pharmacy-Pharmaceutical Sciences*, 2001, 11: 187-191.
176. **Yetkin G., Çelebi N., Ağabeyoğlu İ., Gökçora N.** The effect of dimetil-β – cyclodextrin and sodium turocholate on nasal bioavailability of salmon calcitonin in rabbits. *Scientific and Technical Pharmacy- Pharmaceutical Sciences*, 1999, 9: 249-252.
177. **Yazan Y., Özer A.Y., Erol K.** Pharmacodynamic comparison of a nasal formulation of verapamil and intravenous and oral dosage forms. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1996, 22: 281-284.
178. **Özsoy Y., Tunçel T., Can A., Akev N., Birteksöz S., Gerçeker A.** In vivo studies on nasal preparations of ciprofloxacin hydrochloride. *Pharmazie*, 2000, 55: 607-609.
179. **Şahin, N.Ö., Yüksel, A.** *Farmasötik Teknoloji Ders Notu, Mersin Üniversitesi Yayınları (Baskıda).*
180. **Pena LE.** Gel Dosage Forms : Theory, Formulation, and Processing. In: Osborne Dw, Amman Ah. *Topical Drug Delivery.* Marcel Dekker Inc., New York, 1990, 381-388.
181. *The United States Pharmacopeia. 22. Edition. Mack Printing Company , Easton, Pennsylvania 1990.*
182. **Tojo, K, Chiang, CC, Chien, YW.** Drug permeation across the skin: effect of penetrant hydrophilicity. *J Pharm Sci*, 1987, 76: 123-126.
183. *Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th Edition, Vol II, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1995.*
184. **Zatz JL, Kushla GP.** Gels. Lieberman HA, Riger MM, Banker GS. *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems Volume 2.* Marcel Dekker, 1996, 399-421.
185. **Güven KCG.** *Eczacılık Teknolojisi. Modern Reprodüksiyon, İstanbul, 1987, 55-59*

186. Handbook of Pharmaceutical Excipients. American Pharmaceutical Association, Washington, The Pharmaceutical Press, London, 1994; 71-73.
187. **Planas, MD, Rodriguez, FG, Dominguez, H.** The influence of neutralizer concentration on the rheological behavior of a 0.1% Carbopol hydrogel. *Pharmazie*, 1992, 47: 351-355.
188. **Amsellem E, Derrien F, Lanquetin M, Paris J, Marty JP .** In vitro studies on the influence of carbomers on the availability and acceptability of estradiol gels. *Arzneim –Forsch / Drug Res* 1998; 48: 492-496
189. **Calpena AC, Escribano E, Martin HS, Lauroba J, Obach R, Domenech J.** Influence of the formulation on the in vitro transdermal penetration of sodium diclofenac. *Arzneim-Forsch / Drug Res* 1999; 49: 1012-1017
190. **De Vos A, Velvoort L, Kinget R.** Release of indomethacin from transparent oil-waters gels. *J Pharm Sci* 1994; 83: 641-643.
191. **Morimoto Y, Hatanaka T, Sugibayashi K, Omiya H.** Prediction of skin permeability of drugs: comparison of human and hairless rat skin. *J Pharm Pharmacol* 1992; 44: 634-639.
192. **Ostrenga J, Steinmetzc, Poulsen B, Yett S.** Significance of vehicle composition I: Relationship between topical vehicle composition, skin penetrability, and clinical efficacy. *J Pharm Sci* 1971; 60: 1175-1179.
193. **Santoyo S, Arellano A, Ygartua P, Martin C.** Penetration enhancer effects on the in vitro percutaneous absorption of piroxicam through rat skin. *Int J Pharm* 1995; 117: 219-224.
194. **ICH Harmonised Tripartite Guideline.** Validation of analytical procedures: Methodology (CPMP/ICH/281/95), 1995.
195. **Green JM.** A practical guide to analytical method validation. *Anal Chem* 1996; 68: 305A-309A
196. **Dondeti, P, Zia, H, Needham, TH.** In vivo evaluation of spray formulations of human insulin for nasal delivery. *Int J Pharm*, 1995, 122: 91-105
197. **Mayor, SH, Illum, L.** Investigation of the effect of anaesthesia on nasal absorption of insulin in rats. *Int J Pharm*, 1997, 149: 123-129
198. **Hirai, S, Yashiki, T, Mima, H.** Effect of surfactants on the nasal absorption of insulin in rats. *Int J Pharm*, 1981, 9: 165-172.

199. **Agu, R.U., Jorissen, M., Kinget, R., Verbeke, N., Augustijns, P.** Alternative to in vivo nasal toxicological screening for nasally administered drugs. *S.T.P. Pharm. Sci.*, 2002, 12: 13-22.
200. **Logenecker, J.P., Moses, A.C. Flier, J.S., Silver, R.D., Carey, M.C., Dubovi, E.J.** Effects of sodium taurodihydrofusidate on nasal absorption of insulin in sheep. *J. Pharm. Sci.*, 1987, 76: 351-355.
201. **Mishima, M., Wakita, Y., Nakano, M.** Studies on the promoting effect of medium chain fatty acid salts on the nasal absorption insulin in rats. *J. Pharmacobio-Dyn.*, 1987, 10: 624-631.
202. **Merkus, F.W.H.M., Verhoef, J.C., Martin, E., Romeijn, S.G., van der Kuy, P.H.M., Hermens, V.A.J.J., Schipper, N.G.M.** Cyclodextrins in nasal drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 1999, 36: 41-57.
203. **Agu, R.U., Jorissen, M., Wilhelms, T., Van der Mooter, G., Kinget, R., Augustijns, P.** Effects of pharmaceutical compounds on ciliary beating in human nasal epithelial cells: a comparative study of cell culture models. *Pharm. Res.*, 1999, 16: 1380-1385.
204. **Schipper, N.G.M., Verhoef, J.C., Merkus, F.W.H.M.** The nasal mucociliary clearance: relevance to nasal drug delivery. *Pharm. Res.*, 1991, 8: 807-814.
205. Boehringer and Manheim: *Biochemica information handbook, lactate dehydrogenase*, 1973, 121-122
206. **Susdi, H., Byler, D.M.** Resolution enhanced fourier transform infrared spectroscopy of enzymes. *Methods Enzymol.*, 1986, 130: 290-311
207. **Dong, A., Prestrelski, S.J., Allison, S.D., Carpenter, J.F.** Infrared spectroscopic studies of lyophilization and temperature induced protein aggregation. *J. Pharm. Sci.*, 1995, 84: 415-423
208. **Stuart, B.** *Infrared Spectroscopy: Fundamental and Applications*, John Wiley & Sons, Ltd., West Sussex, UK, 2004
209. **Hadgraft, J.** Passive enhancement strategies in topical and transdermal drug delivery. *Int J Pharm*, 1999, 184: 1-6.
210. **Williams, AC, Barry, BW.** Skin absorption enhancers. *Crit Rev Therap Drug Carr*, 1992, 9: 305-353.
211. **Finnin, BC, Morgan, TM.** Transdermal penetration enhancers: Applications,

- limitations, and potential. *J Pharm Sci*, 1999, 88: 955-958.
212. **Turunen, TM, Urtti, A.** Penetration enhancers in transdermal drug delivery. *Acta Pharm Fennica*, 1992, 101: 3-10
213. **Beetge, E, Du Plesis, J, Müller, DG, Goosen, C.** The influence of the physicochemical characteristics and pharmacokinetic properties of NSAID's on their transdermal absorption. *Proceed Int'l Symp Control Rel Bioact Mater*, 1998, 25: 312-313
214. **Hadgraft, J.** Structure activity relationships and percutaneous absorption. *J Control Rel*, 1991, 15: 221-226.
215. **Barry, BW.** Mode of action of penetration enhancers in human skin. *J Control Rel*, 1987, 6: 85-97
216. **Pereswetoff-Morath, L, Edman, P.** Influence of osmolarity on nasal absorption of insulin from the thermogelling polymer ethyl (hydroxyethyl) cellulose. *Int. J. Pharm.* 1995, 125: 205-213.
217. **Bronaugh, RL, Maibach, HI.** *In vitro* Percutaneous Absorption, Principles, Fundamentals, and Applications. CRS Press Inc., Florida, 1991.
218. **Goto, S, Uchida, T, Lee, CK, Yasutake, T, Zhang, JB.** Effect of various vehicles on ketoprofen permeation across excised hairless mouse skin. *J Pharm Sci*, 1993, 82: 959-963.
219. **Singh, S.** Drug stability testing and shelf life determination according to international guidelines. *Pharm Tech.*, 1999, 7: 69-79.
220. **Morimoto, K, Morisaka, K, Kamada, A.** Enhancement of nasal absorption of insulin and calcitonin using polyacrylic acid gel. *J Pharm Pharmacol*, 1985, 37: 134-136.
221. **Morimoto, K, Tabata, H, Morisaka, K.** Nasal absorption of nifedipine from gel preparations in rats. *Chem. Pharm Bull*, 1987, 35: 3041-3044.
222. **Noah, ABJ, Sakai, M, Blom-Roosemalen, MCM, de Jonge, HR, de Bore, AG, Breimer, DD.** Effect of anisotonic conditions on the transport of hydrophilic model compounds across monolayers of human colonic cell lines. *J Pharmacol Exp Ther*, 1994, 270: 1373-1380.
223. **Illum, L, Davis, S.S.** Microspheres for nasal administration. In: Duchene D., ed.,

Buccal and nasal administration as an alternatif for parenteral administration.
Paris, Fransa, Edition de Sante, 1992: 125-137.

224. **Callens, C., Adriaens, E., Dierckens, K. Remon, J.P.** Toxicological evaluation of a bioadhesive nasal powder containing a starch and Carbopol 974 P on rabbit nasal mucosa and slug mucosa. *J. Controlled Rel.*, 2001, 76: 81-91.
225. **Ugwoke, M.I., Agu, R.U., Jorissen, M., Augustijns, P., Sciot, R., Verbeke, N., Kinget, R.** Nasal toxicological investigations of Carbopol 971 P formulation of apomorphine: Effects on cilliary beat frequency of human nasal primary cell culture and in vivo on rabbit nasal mucosa. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2000, 9: 387-396

ÖZGEÇMİŞ

Ecz. İmren Uca, 02. Ocak 1981 tarihinde Tarsus'ta doğmuştur. İlkokul öğrenimini Şehit İshak İlkokulu'nda, orta ve lise öğrenimini ise Abdulkerim Bengi Anadolu Lisesi'nde tamamlamıştır. 1998 yılında girdiği Ankara Üniversitesi'nden 2002 yılında mezun olmuş; 2003 yılında Mersin Üniversitesi, Eczacılık Teknolojisi Bölümü'nde yüksek lisans eğitimine başlamıştır. 2004 yılından bu yana ise, kendisine ait olan eczanesinde serbest eczacı olarak görev yapmaktadır.