



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BETAHİSTİN DİHİDROKLORÜRÜN TRANSDERMAL AMAÇLI
FARKLI TİPTEKİ FORMÜLASYONLARININ HAZIRLANMASI VE
IN VİTRO-IN VİVO DEĞERLENDİRİLMESİ**

SEVİNÇ ŞAHBAZ
DOKTORA TEZİ

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Betül DORTUNÇ

İSTANBUL-2013



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BETAHİSTİN DİHİDROKLORÜRÜN TRANSDERMAL AMAÇLI
FARKLI TİPTEKİ FORMÜLASYONLARININ HAZIRLANMASI VE
IN VİTRO-IN VİVO DEĞERLENDİRİLMESİ**

SEVİNÇ ŞAHBAZ
DOKTORA TEZİ

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI



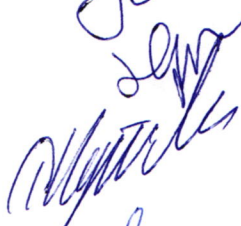
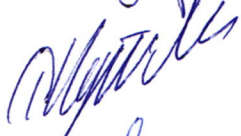

DANIŞMAN
Prof. Dr. Betül DORTUNÇ

İSTANBUL-2013

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi : Doktora
Anabilim Dalı : Farmasötik Teknoloji
Tez Sahibi : Sevinç Şahbaz
Tez Başlığı : BETAHİSTİN DİHİDROKLORÜRÜN TRANSDERMAL AMAÇLI
FARKLI TİPTEKİ FORMÜLASYONLARININ HAZIRLANMASI VE IN
VITRO-IN VIVO DEĞERLENDİRİLMESİ
Sınav Yeri : Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
Sınav Tarihi : 26 Temmuz 2013

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)	Kurumu	İmza
Prof.Dr.Betül Dortunç	Marmara Üniversitesi	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)		
Prof.Dr.Yıldız Özsoy Erginer	İstanbul Üniversitesi	
Doç.Dr.Sevgi Güngör	İstanbul Üniversitesi	
Doç.Dr.Timuçin Uğurlu	Marmara Üniversitesi	
Yrd.Doç.Dr.Oya Kerimoğlu	Marmara Üniversitesi	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 05./09./2013 tarih ve 11. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Y

Prof. Dr. İnci ALICAN



BEYAN

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

01.07.2013

Sevinç Şahbaz

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca yapıcı eleştirileri ile beni destekleyen ve yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Betül Dortunç'a,

Çalışmam sırasında desteklerinden dolayı Kozmetoloji Bilim Dalı Başkanı Yrd. Doç. Dr. Oya Kerimoğlu'na, Anabilim Dalımız öğretim üyeleri Doç Dr. Timuçin Uğurlu'ya, Öğr. Gör. Dr. Fatma Özaydın'a, Öğr. Gör. Dr. Yusuf Kemal Demir'e,

Her zaman her konuda yanımda olan arkadaşım Öğr. Gör. Dr. Emine Alarçin'e,

Hayvan deneylerini yapmamda yardımcı olan Tıp Fakültesi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Zafer Gören'e, öğretim üyesi Prof. Dr. Kemal Berkman'a ve aynı bölümde yüksek lisans öğrencisi Melisa Kaleli'ye

Eudragit polimerlerini temin eden Karadeniz Ecza Deposu'na,

DSC analizleri için cihazı kullanmama izin veren Fargem İlaç Sanayii'ne ve çekimler için titizlikle yardımcı olan Farmasötik Proje Şefi Berna Ökçelik Erdoğan'a,

DSC termogramlarını yorumlayan ve önerileri ile yardımcı olan Marmara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü'nden Sayın Prof. Dr. Ersan Kalafatoğlu'na,

Fakültemiz Merkezi Araştırma Laboratuvarı'ndaki HPLC cihazını kullanırken teknik desteğini esirgemeyen Öğr. Gör. Uzman F. Nuray Yüктаş'a,

IR spektrumu sonuçlarını yorumlayan Farmasötik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç Dr. Esra Tatar'a,

Ameliyat sonrası atık insan derilerinin temininde yardımcı olan Marmara Üniversitesi Plastik Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyelerine,

Her zaman beni maddi manevi destekleyen ve tüm sabırlarıyla yanımda olan eşime ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma TÜBİTAK (Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu) tarafından desteklenmiştir (Proje No: 110S008 SBAG-HD-532).

Bu alışma TÜBİTAK
(Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu)
tarafından desteklenmiştir.
Proje No: 110S008 (SBAG-HD-532)

İÇİNDEKİLER	Sayfa
	No
1.ÖZET.....	1
2.SUMMARY.....	2
3.GİRİŞ VE AMAÇ.....	4
4.GENEL BİLGİLER.....	6
4.1. Deri ve Yapısı Hakkında Genel Bilgiler.....	6
4.1.1. Derinin görevleri.....	6
4.1.2. Derinin yapısı.....	6
4.1.2.1.Epidermis.....	7
4.1.2.2. Dermis.....	9
4.1.2.3. Hipodermis.....	10
4.2. Deriden Geçişle İlgili Genel Bilgiler.....	10
4.2.1.Etkin maddelerin deriden geçiş yolları.....	10
4.2.1.1.Transselüler (hücre içi) geçiş yolu.....	12
4.2.1.2. İnterselüler (hücreler arası) geçiş yolu.....	12
4.2.1.3. Yan geçit yolu.....	12
4.2.2. Deriden geçişi etkileyen faktörler.....	12
4.2.2.1. Biyolojik faktörler.....	13
4.2.2.2. Derinin fizyolojik durumu.....	14
4.2.2.3. Etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri.....	15
4.2.2.4. Formülasyon ve kullanılan yardımcı maddelerin etkisi.....	16
4.2.3. Deriden geçişin kinetiği.....	16
4.3. Transdermal Terapötik Sistemler Hakkında Genel Bilgiler.....	18
4.3.1. Transdermal terapötik sistemlerin avantajları.....	18
4.3.2. Transdermal terapötik sistemlerin dezavantajları.....	19
4.3.3. Transdermal terapötik sistemlerin taşınması gereken özellikler.....	20
4.3.4. Transdermal terapötik sistem hazırlamak için kullanılacak olan etkin maddenin taşınması gereken özellikler.....	21
4.3.5. Transdermal terapötik sistemlerde ilaçların deriden geçişini artırma yaklaşımları.....	21
4.3.6. Transdermal terapötik sistemlerin kısımları.....	23

4.3.7. Transdermal terapötik sistemlerin sınıflandırılması.....	25
4.3.7.1. Membran difüzyon kontrollü sistemler.....	25
4.3.7.2. Matriks difüzyon kontrollü sistemler.....	25
4.3.7.3. Adeziv difüzyon kontrollü sistemler.....	26
4.3.7.4. Mikrorezervuar sistemler.....	27
4.3.8. Perkütan absorpsiyon ölçüm metodları.....	27
4.3.8.1. In vivo yöntemler.....	27
4.3.8.2. In vitro yöntemler.....	29
4.4. Eudragit Polimeri ile İlgili Genel Bilgiler.....	31
4.5. Vertigo ile İlgili Genel Bilgiler.....	32
4.5.1. Pozisyonel vertigo.....	33
4.5.2. Vestibüler nörit.....	33
4.5.3. Ménière hastalığı.....	34
4.6. Histamin ve Betahistin Tedavide Kullanılışı.....	34
4.7. Betahistin Dihidroklorür Müstahzarları.....	42
4.7.1. Betahistin dihidroklorürün Türkiye'deki müstahzarları.....	42
4.7.2. Betahistin dihidroklorürün dünyadaki müstahzarları.....	42
4.8. Betahistin Mesilat Müstahzarları.....	44
5. GEREÇ VE YÖNTEM.....	45
5.1. Gereç.....	45
5.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler.....	45
5.1.2. Kullanılan araç ve gereçler.....	46
5.1.3. Kullanılan bilgisayar programları.....	47
5.1.4. Destekleyen kuruluş.....	47
5.2. Yöntem.....	48
5.2.1. Betahistin dihidroklorür üzerinde yapılan çalışmalar.....	48
5.2.1.1. FTIR spektrumu.....	48
5.2.1.2. Erime derecesi tayini.....	48
5.2.1.3. Ultraviyole (UV) spektrumu.....	48
5.2.1.4. Miktar tayini.....	48
5.2.1.5. Spektrofotometrik yöntem validasyonu.....	48
5.2.1.5.A. Doğrusallık.....	49

5.2.1.5.B. Kesinlik.....	49
5.2.1.5.C. Doğruluk.....	50
5.2.1.5.D. Seçicilik.....	50
5.2.1.5.E. Stabilite.....	51
5.2.1.6. Çözünürlük tayini.....	52
5.2.2. Betahistin baz üzerinde yapılan çalışmalar.....	52
5.2.2.1. FTIR spektrumu.....	52
5.2.2.2. Ultraviyole (UV) spektrumu.....	52
5.2.2.3. Miktar tayini.....	52
5.2.2.4. Miktar tayini yöntemlerinin validasyonu.....	53
5.2.2.4.A. Betahistin baz için spektrofotometrik yöntem validasyonu.....	53
5.2.2.4.B. Betahistin baz için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ve validasyonu (ex vivo çalışmalar için).....	55
5.2.2.4.C. Betahistin baz için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ve validasyonu (in vivo çalışmalar için).....	60
5.2.2.5. Betahistin bazın çözünürlük tayini.....	64
5.2.3. Transdermal terapötik sistem formülasyonları.....	64
5.2.3.1. Ön deneme formülasyon çalışmaları.....	64
5.2.3.2. Formülasyonların hazırlanması.....	66
5.2.3.3. Betahistin dihidroklorür içeren transdermal terapötik sistem formülasyonları.....	66
5.2.3.3.A. Farklı plastifiyan ve polimer oranları ile formülasyon hazırlanması..	69
5.2.3.3.B. Betahistin dihidroklorür kullanılarak hazırlanan formülasyonların salım hızı tayini.....	70
5.2.3.4. Betahistin bazın betahistin dihidroklorür ile kıyaslanması.....	71
5.2.3.5. Betahistin baz içeren transdermal terapötik sistem formülasyonları.....	71
5.2.3.5.A. Etkin madde içermeyen ön deneme formülasyonları.....	71
5.2.3.5.B. Betahistin baz ve formülasyonda kullanılan yardımcı maddelerin DSC taramaları.....	73
5.2.3.5.C. Etkin madde içeren formülasyonlar.....	74
5.2.3.5.D. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlarda yapılan kontroller...	77

5.2.3.5.E. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlar üzerinde yapılan çözünme hızı tayini çalışmaları.....	77
5.2.3.5.F. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonların insan derisinden <i>ex vivo</i> geçiş çalışmaları.....	79
5.2.3.5.G. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlardan <i>in vivo</i> absorpsiyon çalışmaları (sıçan derisinden).....	84
6. BULGULAR.....	90
6.1. Betahistin Dihidroklörür Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular.....	90
6.1.1. FTIR spektrumu.....	90
6.1.2. Erime derecesi tayini.....	90
6.1.3. Ultraviyole (UV) spektrumu.....	92
6.1.4. Spektrofotometrik yöntem validasyonuna ait bulgular.....	93
6.1.4.1. Doğrusallık.....	93
6.1.4.2. Kesinlik.....	95
6.1.4.3. Doğruluk.....	95
6.1.4.4. Seçicilik.....	95
6.1.4.5. Stabilite.....	97
6.1.5. Çözünürlük tayini.....	98
6.2. Betahistin Baz Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular.....	98
6.2.1. FTIR spektrumu.....	98
6.2.2. Ultraviyole (UV) spektrumu.....	98
6.2.3. Miktar tayini yöntemlerinin validasyonuna ait bulgular.....	101
6.2.3.1. Spektrofotometrik yöntem validasyonuna ait bulgular.....	101
6.2.3.1.A. Doğrusallık.....	101
6.2.3.1.B. Kesinlik.....	102
6.2.3.1.C. Doğruluk.....	102
6.2.3.1.D. Seçicilik.....	105
6.2.3.1.E. Stabilite.....	105
6.2.3.2. Betahistin baz için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntem ve validasyonuna ait bulgular (<i>ex vivo</i> çalışmalar için).....	105
6.2.3.2.A. Yöntem geliştirme hakkında bulgular.....	105

6.2.3.2.B. Yöntem validasyonu hakkında bulgular.....	108
6.2.3.3. Betahistin baz için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntem ve validasyonuna ait bulgular (<i>in vivo</i> çalışmalar için).....	115
6.2.3.3.A. Yöntem geliştirme hakkında bulgular.....	115
6.2.3.3.B. Yöntem validasyonu hakkında bulgular.....	116
6.2.3.4. Betahistin bazın çözünürlük tayini hakkında bulgular.....	120
6.3. Transdermal Terapötik Sistem Formülasyonları Hakkında Bulgular.....	120
6.3.1. Ön deneme formülasyon çalışmaları hakkında bulgular.....	120
6.3.2. Betahistin dihidroklorür içeren transdermal terapötik sistem formülasyonları hakkında bulgular.....	121
6.3.3. Betahistin dihidroklorür kullanılarak hazırlanan formülasyonların salım hızı tayini hakkında bulgular.....	123
6.3.4. Formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin değerlendirilmesi.....	131
6.3.5. Betahistin baz kullanılarak hazırlanan formülasyonlar hakkında bulgular.....	131
6.3.5.1. Etkin madde içermeyen ön deneme formülasyonları hakkında bulgular.....	131
6.3.5.2. Formülasyon hazırlamada kullanılan yardımcı maddelerin ve betahistin bazın DSC taramaları bulguları.....	132
6.3.5.3. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlarda yapılan kontroller hakkında bulgular.....	146
6.3.5.4. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlarda çözünme hızı tayininine ait bulgular.....	149
6.3.5.5. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlarda insan derisinden <i>ex vivo</i> geçiş çalışmaları hakkında bulgular.....	180
6.3.5.6. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlarda sıçan derisinden <i>in vivo</i> geçiş çalışmaları hakkında bulgular.....	194
7.TARTIŞMA.....	219
8.KAYNAKLAR.....	233

9.EKLER.....	244
10.ÖZGEÇMİŞ.....	247

TABLolar LİSTESİ

Sayfa

No

Tablo 5.1. Etkin madde içermeyen formülasyonlar.....	51
Tablo 5.2. HPLC Metod geliştirmede kullanılan basamaklar.....	56
Tablo 5.3. Eudragit RL 100 ile hazırlanan ön denemeler	65
Tablo 5.4. Eudragit RS 100 ile hazırlanan ön denemeler.....	65
Tablo 5.5. Farklı plastifiyanlar ile denenen yeni formülasyonlar	66
Tablo 5.6. Etkin madde kullanılarak hazırlanan formülasyonlar.....	68
Tablo 5.7. Eudragit RS 100 ile hazırlanan formülasyonlar.....	68
Tablo 5.8. Farklı plastifiyan oranları ve polimer karışımları ile hazırlanan formülasyonlar.....	70
Tablo 5.9. Hazırlanan deneme formülasyonları.....	72
Tablo 5.10. Betahistin baz ile hazırlanan transdermal formülasyonlar.....	75
Tablo 6.1. Betahistin dihidroklorürün standart eğrisine ait veriler.....	93
Tablo 6.2. Betahistin dihidroklorürün gün içi kesinlik (tekrar edilebilirlik) verileri.....	94
Tablo 6.3. Betahistin dihidroklorürün günler arası kesinlik (tekrar elde edilebilirlik) verileri.....	95
Tablo 6.4. Betahistin dihidroklorürün (düşük konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular	96
Tablo 6.5. Betahistin dihidroklorürün (orta konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular	96
Tablo 6.6. Betahistin dihidroklorürün (yüksek konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular	97
Tablo 6.7. Betahistin dihidroklorür çözeltilisinin 2 hafta boyunca dissolüsyon şartlarında gözlenen absorbanları.....	97
Tablo 6.8. Betahistin bazın standart eğrisine ait veriler.....	101
Tablo 6.9. Betahistin bazın gün içi kesinlik (tekrar edilebilirlik) verileri	102
Tablo 6.10. Betahistin bazın günler arası kesinlik (tekrar elde edilebilirlik) verileri.....	103

Tablo 6.11. Betahistin bazın (düşük konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular	103
Tablo 6.12. Betahistin bazın (orta konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular.....	104
Tablo 6.13. Betahistin bazın (yüksek konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular	104
Tablo 6.14. Betahistin baz çözeltisinin 10 gün boyunca dissolüsyon şartlarında gözlenen absorbanları.....	105
Tablo 6.15. Betahistin bazın standart eğrisine ait veriler.....	109
Tablo 6.16. Betahistin bazın gün içi kesinlik (tekrar edilebilirlik) verileri.....	110
Tablo 6.17. Betahistin bazın günler arası kesinlik (tekrar elde edilebilirlik) verileri.....	110
Tablo 6.18. Betahistin bazın (düşük konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular	111
Tablo 6.19. Betahistin bazın (orta konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular	111
Tablo 6.20. Betahistin bazın (yüksek konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular	112
Tablo 6.21. Betahistin baz çözeltilerinin farklı zamanlarda enjeksiyonuyla elde edilen alanlar.....	113
Tablo 6.22. In vivo çalışma için HPLC yöntemi verim bulguları.....	116
Tablo 6.23. HPLC analizi doğrusallık verileri.....	117
Tablo 6.24. Betahistin bazın in vivo yöntem için gün içi kesinlik (tekrar edilebilirlik) verileri.....	117
Tablo 6.25. Betahistin bazın in vivo yöntem için günler arası kesinlik (tekrar elde edilebilirlik) verileri.....	117
Tablo 6.26. Betahistin bazın (düşük konsantrasyon) in vivo analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular	118
Tablo 6.27. Betahistin bazın (orta konsantrasyon) in vivo analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular	118
Tablo 6.28. Betahistin bazın (yüksek konsantrasyon) in vivo analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular	119

Tablo 6.29. Mobil fazda çözündürülen betahistin baz çözeltisinin stabilitesi...	119
Tablo 6.30. Dissolüsyon verileri (1, 2 ve 4 no'lu formülasyonlar için).....	121
Tablo 6.31. Eudragit RS 100 ile hazırlanan formülasyonların dissolüsyon verileri.....	122
Tablo 6.32. F1, F4, F8, F10 ve F11 in zamana karşı salınan yığılmalı miktarları.....	123
Tablo 6.33. F15, F16, F17 ve F20' nin zamana karşı salınan yığılmalı miktarları.....	124
Tablo 6.34. F1 ve F19'un zamana karşı salınan yığılmalı miktarları.....	125
Tablo 6.35. F10 ve F14'ün zamana karşı salınan yığılmalı miktarları.....	126
Tablo 6.36. F7, F12, F13, F20 ve F21'in zamana karşı salınan yığılmalı miktarları.....	127
Tablo 6.37. F13 ve F18'in zamana karşı salınan yığılmalı miktarları.....	128
Tablo 6.38. F6 ve F9'un zamana karşı salınan yığılmalı miktarları.....	129
Tablo 6.39. F1, F2 ve F3'ün zamana karşı salınan yığılmalı miktarları.....	130
Tablo 6.40. Ön deneme formülasyonları kalınlıkları.....	131
Tablo 6.41. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlarda miktar tayini verileri.....	146
Tablo 6.42. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlarda kalınlık testi verileri	147
Tablo 6.43. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlarda ağırlık sapması tayini verileri.....	149
Tablo 6.44. F1 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	150
Tablo 6.45. F2 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	152
Tablo 6.46. F3 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	153
Tablo 6.47. F4 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	155
Tablo 6.48. F5 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	156

Tablo 6.49. F6 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	158
Tablo 6.50. F7 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	159
Tablo 6.51. F8 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	161
Tablo 6.52. F9 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	162
Tablo 6.53. F11 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	164
Tablo 6.54. F12 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	165
Tablo 6.55. F15 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	167
Tablo 6.56. F18 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	168
Tablo 6.57. F18 (+0,1g PIB) formülasyonuna ait yığılmalı salınan ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	170
Tablo 6.58. T5 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	171
Tablo 6.59. T12 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	173
Tablo 6.60. T15 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	174
Tablo 6.61. T18 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	176
Tablo 6.62. T18 (+0,1g PIB) formülasyonuna ait yığılmalı salınan ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	177
Tablo 6.63. Fosfat tamponunda (1ml) çözüldürülmüş 20 mg betahistin bazın deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	180

Tablo 6.64. Fosfat tamponunda (0.5 ml) çözüldürülmüş 100 mg betahistin bazın deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	182
Tablo 6.65. F5 formülasyonunun deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	183
Tablo 6.66. F11 formülasyonunun deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	185
Tablo 6.67. F15 formülasyonunun deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	186
Tablo 6.68. F18 formülasyonunun deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	188
Tablo 6.69. T5 formülasyonunun deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.....	189
Tablo 6.70. T15 formülasyonunun deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri	191
Tablo 6.71. T18 formülasyonunun deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri	192
Tablo 6.72. Formülasyonların kararlı hal deriden geçiş hızları, standart sapmaları ve determinasyon katsayıları.....	194
Tablo 6.73. IV veriliş sonrası elde edilen veriler.....	197
Tablo 6.74. T 15 nolu formülasyonun uygulanmasından sonra elde edilen veriler.....	198
Tablo 6.75. T 18 nolu formülasyonun uygulanmasından sonra elde edilen veriler.....	199
Tablo 6.76. IV 1 uygulamasının verileri.....	201
Tablo 6.77. IV 1 uygulamasının kinetik parametreleri.....	201
Tablo 6.78. IV 2 uygulamasının verileri.....	202
Tablo 6.79. IV 2 uygulamasının kinetik parametreleri.....	203
Tablo 6.80. IV 3 uygulamasının verileri.....	204
Tablo 6.81. IV 3 uygulamasının kinetik parametreleri.....	204
Tablo 6.82. IV 4 uygulamasının verileri.....	205
Tablo 6.83. IV 4 uygulamasının kinetik parametreleri.....	206

Tablo 6.84. T15 1 uygulamasının verileri.....	207
Tablo 6.85. T15 1 uygulamasının kinetik parametreleri.....	207
Tablo 6.86. T15 2 uygulamasının verileri.....	208
Tablo 6.87. T15 2 uygulamasının kinetik parametreleri.....	209
Tablo 6.88. T15 3 uygulamasının verileri.....	210
Tablo 6.89. T15 3 uygulamasının kinetik parametreleri.....	210
Tablo 6.90. T15 4 uygulamasının verileri.....	211
Tablo 6.91. T15 4 uygulamasının kinetik parametreleri.....	212
Tablo 6.92. T18 1 uygulamasının verileri.....	213
Tablo 6.93. T18 1 uygulamasının kinetik parametreleri.....	213
Tablo 6.94. T18 2 uygulamasının verileri.....	214
Tablo 6.95. T18 2 uygulamasının kinetik parametreleri.....	215
Tablo 6.96. T18 3 uygulamasının verileri.....	216
Tablo 6.97. T18 3 uygulamasının kinetik parametreleri.....	216
Tablo 6.98. T18 4 uygulamasının verileri.....	217
Tablo 6.99. T18 4 uygulamasının kinetik parametreleri.....	218

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
	No
Şekil 4.1 Derinin yapısı.....	7
Şekil 4.2. Epidermisin tabakaları	8
Şekil 4.3. Perkütan absorpsiyon yolları.....	11
Şekil 4.4. Transdermal ilaç verilğinde etkin maddenin deriden geçişini arttırma yöntemleri.....	22
Şekil 4.5. Membran denetimli sistemin yapısı.....	25
Şekil 4.6. Matriks difüzyon kontrollü sistemin yapısı.....	26
Şekil 4.7. Adezif difüzyon kontrollü sistemin yapısı.....	26
Şekil 4.8. Mikrorezervuar sistemin yapısı.....	27
Şekil 4.9 Franz hücresi şeması.....	31
Şekil 4.10. Eudragitlerin kimyasal yapısı.....	32
Şekil 4.11. Betahistin dihidroklorürün yapısal formülü.....	39
Şekil 6.1. Betahistin dihidroklorürün FTIR spektrumu.....	91
Şekil 6.2. Betahistin dihidroklorürün standart eğri grafiği.....	93
Şekil 6.3. Betahistin bazın FTIR spektrumu.....	99
Şekil 6.4. Betahistin baz çözeltisinin (30 µg/ml) 5'er nm aralıklara taranarak elde edilen spektrumu.....	100
Şekil 6.5. Betahistin bazın standart eğri grafiği.....	101
Şekil 6.6. Betahistin bazın standart eğri grafiği (HPLC yöntemi).....	108
Şekil 6.7. Boş plazmaya 2.5 µg/ml betahistin baz çözeltisi eklenerek elde edilen kromatogram.....	115
Şekil 6.8. Betahistin bazın in vivo yöntem için HPLC analizi standart eğrisi....	116
Şekil 6.9. Betahistin bazın metanol- 0.025M KH ₂ PO ₄ (pH 3) (25/75 h/h) mobil fazında çözündürülmesiyle elde edilen kromatogram.....	120
Şekil 6.10. Dissolüsyon grafiği (BH 1, BH 2 ve BH 4 nolu formülasyonlar)....	121
Şekil 6.11. Eudragit RS 100 ile hazırlanan formülasyonların dissolüsyon grafiği (BH 11, BH 12, BH 13).....	122

Şekil 6.12. 0.5 g ERL + 1.5 g ERS oranları için, kullanılan oranlara bağımlı olarak plastifiyanın ilaç salımına etkisi.....	123
Şekil 6.13. 0.5 g ERL + 1.5 g ERS ve 0.5 g plastifiyan (TES) oranları için penetrasyon artırıcının ilaç salımına etkisi.....	124
Şekil 6.14. 0.5 g ERL + 1.5 g ERS oranları için plastifiyan (PEG 400) miktarının ilaç salımına etkisi.....	125
Şekil 6.15. 0.5 g ERL + 1.5 g ERS oranları için farklı plastifiyan (gliserin) oranlarının ilaç salımına etkisi.....	126
Şekil 6.16. Aynı miktar plastifiyan (TES) için polimer oranının ilaç salımına etkisi.....	127
Şekil 6.17. 0.3 g ERL + 1.7 g ERS polimer oranları için aynı miktarda kullanılan TES ve gliserinin ilaç salımına etkisi.....	128
Şekil 6.18. 0.8 g ERL+ 1.2 g ERS için TES ve DF'nin ilaç salımına etkisi.....	129
Şekil 6.19. Aynı miktar PEG için (0.3 g) polimer oranının ilaç salımına etkisi..	130
Şekil 6.20. Betahistin baza ait DSC profili.....	133
Şekil 6.21. Gliserine ait DSC profili.....	134
Şekil 6.22. Betahistin baz: Gliserin (1:1) (a/a) fiziksel karışımına ait DSC profili.....	135
Şekil 6.23. PEG 400'e ait DSC profili.....	136
Şekil 6.24. Betahistin baz: PEG 400 (1:1) (a/a) fiziksel karışımına ait DSC profili.....	137
Şekil 6.25. Propilen glikole ait DSC profili.....	138
Şekil 6.26. Betahistin baz: Propilen glikol (1:1) (a/a) fiziksel karışımına ait DSC profili.....	139
Şekil 6.27. Trietilsitrata ait DSC profili.....	140
Şekil 6.28. Betahistin baz: Trietilsitrat (1:1) (a/a) fiziksel karışımına ait DSC profili.....	141
Şekil 6.29. Eudragit RS 100'e ait DSC profili.....	142
Şekil 6.30. Betahistin baz: Eudragit RS 100 (1:1) (a/a) fiziksel karışımına ait DSC profili.....	143
Şekil 6.31. Eudragit RL 100'e ait DSC profili.....	144

Şekil 6.32. Betahisitin baz: Eudragit RL 100 (1:1) (a/a) fiziksel karışımına ait DSC profili.....	145
Şekil 6.33. F1 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	151
Şekil 6.34. F1 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	151
Şekil 6.35. F2 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	152
Şekil 6.36. F2 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	153
Şekil 6.37. F3 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	154
Şekil 6.38. F3 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	154
Şekil 6.39. F4 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	155
Şekil 6.40. F4 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	156
Şekil 6.41. F5 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	157
Şekil 6.42. F5 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	157
Şekil 6.43. F6 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	158
Şekil 6.44. F6 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	159
Şekil 6.45. F7 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	160
Şekil 6.46. F7 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	160
Şekil 6.47. F8 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	161
Şekil 6.48. F8 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	162
Şekil 6.49. F9 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	163
Şekil 6.50. F9 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	163
Şekil 6.51. F11 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	164
Şekil 6.52. F11 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	165
Şekil 6.53. F12 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	166
Şekil 6.54. F12 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	166
Şekil 6.55. F15 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	167
Şekil 6.56. F15 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	168
Şekil 6.57. F18 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	169
Şekil 6.58. F18 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	169
Şekil 6.59. F18 (+ 0.1 g PIB) formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	170
Şekil 6.60. F18 (+ 0.1 g PIB) formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	171
Şekil 6.61. T5 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	172
Şekil 6.62. T5 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	172

Şekil 6.63. T12 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	173
Şekil 6.64. T12 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	174
Şekil 6.65. T15 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	175
Şekil 6.66. T15 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	175
Şekil 6.67. T18 formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	176
Şekil 6.68. T18 formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	177
Şekil 6.69. T18 (+ 0.1 g PIB) formülasyonuna ait ilaç salım profili.....	178
Şekil 6.70. T18 (+0.1 g PIB) formülasyonuna ait salım hızı grafiği.....	178
Şekil 6.71. Fosfat tamponunda (1 ml) çözündürülmüş 20 mg betahistin bazın deriden zamana karşı geçen yığılmalı miktarı.....	181
Şekil 6.72. Fosfat tamponunda (1 ml) çözündürülmüş 20 mg betahistin bazın deriden geçiş hızı.....	181
Şekil 6.73. Fosfat tamponunda (0.5 ml) çözündürülmüş 100 mg betahistin bazın deriden zamana karşı geçen yığılmalı miktarı.....	182
Şekil 6.74. Fosfat tamponunda (0.5 ml) çözündürülmüş 100 mg betahistin bazın deriden geçiş hızı.....	183
Şekil 6.75. F5 formülasyonunun deriden zamana karşı geçen yığılmalı miktarı	184
Şekil 6.76. F5 formülasyonunun deriden geçiş hızı.....	184
Şekil 6.77. F11 formülasyonunun deriden zamana karşı geçen yığılmalı miktarı.....	185
Şekil 6.78. F11 formülasyonunun deriden geçiş hızı.....	186
Şekil 6.79. F15 formülasyonunun deriden zamana karşı geçen yığılmalı miktarı.....	187
Şekil 6.80. F15 formülasyonunun deriden geçiş hızı.....	187
Şekil 6.81. F18 formülasyonunun deriden zamana karşı geçen yığılmalı miktarı.....	188
Şekil 6.82. F18 formülasyonunun deriden geçiş hızı.....	189
Şekil 6.83. T5 formülasyonunun deriden zamana karşı geçen yığılmalı miktarı	190
Şekil 6.84. T5 formülasyonunun deriden geçiş hızı.....	190
Şekil 6.85. T15 formülasyonunun deriden zamana karşı geçen yığılmalı miktarı.....	191

Şekil 6.86. T15 formülasyonunun deriden geçiş hızı.....	192
Şekil 6.87. T18 formülasyonunun deriden zamana karşı geçen yığılmalı miktarı.....	193
Şekil 6.88. T18 formülasyonunun deriden geçiş hızı.....	193
Şekil 6.89. T 15 nolu formülasyon 24. saat numunesi kromatogramı (Retansiyon zamanı: 3.4 dakika).....	196
Şekil 6.90. T 18 nolu formülasyon 24. saat numunesi kromatogramı (Retansiyon zamanı: 3.5 dakika).....	197
Şekil 6.91 IV uygulama sonrası elde edilen kan profili	200
Şekil 6.92. Transdermal uygulamalar sonrası elde edilen kan profilleri.....	200
Şekil 6.93. IV 1 uygulamasının yarı logaritmik grafiği.....	202
Şekil 6.94. IV 2 uygulamasının yarı logaritmik grafiği.....	203
Şekil 6.95. IV 3 uygulamasının yarı logaritmik grafiği	205
Şekil 6.96. IV 4 uygulamasının yarı logaritmik grafiği.....	206
Şekil 6.97. T15 1 uygulamasının grafiği.....	208
Şekil 6.98. T15 2 uygulamasının grafiği.....	209
Şekil 6.99. T15 3 uygulamasının grafiği.....	211
Şekil 6.100. T15 4 uygulamasının grafiği.....	212
Şekil 6.101. T18 1 uygulamasının grafiği.....	214
Şekil 6.102. T18 2 uygulamasının grafiği.....	215
Şekil 6.103. T18 3 uygulamasının grafiği.....	217
Şekil 6.104. T 18 4 uygulamasının grafiği.....	218

RESİMLER LİSTESİ

	Sayfa
	No
Resim 4.1. Transdermal terapötik sistemin kısımları.....	24
Resim 5.1. Dissolüsyon çalışmasında kullanılan cihaz.....	78
Resim 5.2. Subkutan yağ tabakasının ayrılması.....	80
Resim 5.3. Subkutan yağ tabakası ayrılmış insan derisi.....	80
Resim 5.4. Deri zımbası yardımıyla derinin Franz difüzyon hücresi dış çapı ölçülerinde kesilmesi.....	81
Resim 5.5. Kesilen derilerin görüntüsü.....	81
Resim 5.6. Derinin ayrılabilmesi için su banyosunda bekletilmesi.....	82
Resim 5.7. Epidermisin ayrılması.....	82
Resim 5.8. Çalışmada kullanılan Franz Difüzyon Hücreleri.....	84
Resim 5.9. İliyak arter kanülasyonu yapılmış sıçan.....	86
Resim 5.10. İntravenöz betahistin baz uygulanan sıçandaki arter ve ven kanülasyonu.....	86
Resim 5.11. Kan alma için kullanılan pediatrik kan tüpleri.....	87
Resim 5.12. Çalışmada kullanılan HPLC cihazı.....	89
Resim 6.1. Betahistin dihidroklorür çözeltisi spektrumu (25 µg/ml).....	92
Resim 6.2. Betahistin dihidroklorür çözeltisi maksimum absorbens verdiği dalga boyu (25 µg/ml).....	92
Resim 6.3. Betahistin baz çözeltisi spektrumu (30 µg/ml).....	100
Resim 6.4. Betahistin baz çözeltisi maksimum absorbens verdiği dalga boyu (30 µg/ml).....	100
Resim 6.5. Betahistin bazın HPLC analizi ile elde edilen kromatogramı.....	107
Resim 6.6. Betahistin bazın HPLC analizi ile elde edilen UV spektrumu.....	107
Resim 6.7. Betahistin bazın pik simetrisi ve kuyruklanma faktörü verileri.....	108
Resim 6.8. HPLC cihazı'nda Agilent Chemstation programı ile çizilen standart eğri grafiği.....	109
Resim 6.9. T15 nolu formülasyonunun 24. saat kromatogramı ve 5µg/ml betahistin baz enjeksiyonu ile spektrumları.....	112
Resim 6.10. T18 nolu formülasyonunun 24. saat kromatogramı ve 5µg/ml betahistin baz enjeksiyonu ile spektrumları.....	113

Resim 6.11. Deney ortamında 12 saat bulunan betahistin baz kromatogramı ve spektrumu.....	114
Resim 6.12. F9 formülasyonunun 32 saatlik dissolüsyonu sonrası dissolüsyon ortamının spektrumu.....	179
Resim 6.13. a: F1 formülasyonu, b:dissolüsyon sonrası hali, c:dissolüsyondan 1 hafta sonraki hali.....	179
Resim 6.14. Yama yapışmadan önce sıçanın karın derisinin görüntüsü.....	195
Resim 6.15. Transdermal yama sıçan derisine yapıştırıldığındaki görüntü.....	196
Resim 6.16. Transdermal yama çıkarıldıktan sonra derinin görüntüsü.....	196

KISALTMALAR VE SİMGELER

TTS	Transdermal Terapötik Sistem
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
DSC	Differential scanning calorimetry (diferansiyel taramalı kalorimetri)
FTIR	Fourier transform infrared spektroskopisi
PEG	Polietilen glikol
BH	Betahistin
TES	Trietil Sitrat
PG	Propilen Glikol
IV	Intravenöz
SD	Standard Deviation (Standart Sapma)
RSD	Relative Standard Deviation (Bağıl Standart Sapma)
DF	Dietil Ftalat
KH ₂ PO ₄	Potasyum dihidrojen fosfat

1. ÖZET

Betahistin, vestibüler hastalıkların semptomatik tedavisinde çok yaygın olarak kullanılan bir etkin maddedir. Vertebrobaziler arteriyel sistemde kan akışını artırır, iç kulakta, koklear ve vestibüler sistemlerde mikrodolaşımı düzenler ve yaşlı hastalarda zihinsel fonksiyonları önemli ölçüde geliştirir.

Ménière hastalığı gibi periferel dolaşım bozukluklarının eşlik ettiği hastalıklarda, baş dönmesi ve kulak çınlaması gibi durumların sıklığını azaltmada betahistin kullanılmaktadır.

İlacın yarı ömrü kısadır ve hızlı eliminasyona bağlı olarak günde üç defa alınması gerekir. Peptik ülser öyküsü olan hastalarda ilacın kontrendike olması, sık alma zorluğu gibi nedenler oral yol dışında başka bir yol arayışını gerektirmektedir.

Bu çalışmada betahistin matriks tipi transdermal sistem formülasyonları hazırlanmıştır. İlacın kontrollü salım sistemi şeklinde verilmesi ile doz aralığı genişleyeceğinden hasta uyuncu artacaktır. Verilecek olan etkin madde miktarının azalmasıyla birlikte yan etkiler de azalacak, fazla ilaç yüklenmesi önlenecektir. Ayrıca, hasta istediği zaman ya da beklenmeyen bir etki görüldüğünde sistemi kolaylıkla deriden uzaklaştırabilecektir.

Formülasyonların hazırlanmasında kontrollü ilaç salım sistemlerinin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan *Eudragit* RL 100 ve *Eudragit* RS 100 polimerleri kullanılmıştır. Bu iki polimerin farklı oranda karışımları kullanılarak formülasyonlar hazırlanmış ve uygun esneklik kazandıracak plastifiyan seçilerek oranı optimize edilmiştir.

Hazırlanan formülasyonlardan betahistin salım hızı tayini ve insan derisinden *ex vivo* penetrasyon değerlendirmeleri yapılmıştır. Çalışmanın bir sonraki aşaması ise Wistar sıçanlar ile yapılan *in vivo* çalışmalardır. İlacın kan konsantrasyonları değerlendirilmiş ve transdermal formülasyonlar ile ilacın en az 12 saat boyunca kanda izlenebildiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Betahistin, Eudragit, transdermal terapötik sistem, HPLC analiz yöntemi, insan derisi, Franz hücresi, sıçan, *in vivo* perkütan absorpsiyon.

2. SUMMARY

Preparation and In vitro- In vivo Evaluation of Different Transdermal

Formulations of Betahistin Dihydrochloride

Betahistine is very extensively used in the symptomatic treatment of vestibular disorders. It increases blood flow in the vertebrobasilar arterial system, improves microcirculation of the internal auditory, cochlear and vestibular systems and significantly improves mental function in elderly patients.

Betahistin has been used in the treatment of diseases accompanied by impaired peripheral circulation, e.g. Ménière's syndrome, to reduce the frequency of episodes of vertigo and tinnitus.

The drug has a short half-life and should be taken three times daily due to the rapid elimination. Because of the contraindication in patients with peptic ulcer history and the difficulty of frequently dosing requires administration ways other than the oral route.

In the study, matrix transdermal system formulations of betahistine were prepared. When the drug is given as controlled release system, dosing time interval will be extended, so the patient compliance will be improved. As the dose amount given to the patient is reduced, adverse effects will be seen less and high amount dose loading will be prevented. Besides, the patient can remove the patch easily in case of an adverse effect or whenever he wants.

To prepare the formulations, *Eudragit RL 100* and *Eudragit RS 100* polymers were preferred which are widely used in controlled release dosage forms. Formulations were prepared using different ratios of these two polymers and a suitable plasticizer and its ratios were optimized.

Drug release tests and then, ex-vivo penetration studies from excised human skin were evaluated. The next step of the study is the in-vivo studies which was carried out with Wistar rats. The blood concentrations of the drug were evaluated and as a conclusion, betahistine could be seen at least 12 hours in the blood with transdermal formulations.

Key Words: Betahistine, Eudragit, transdermal therapeutic system, HPLC assay method, human skin, Franz diffusion cell, rat, in vivo percutaneous absorption.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Çalışmada betahistin matriks tipi transdermal sistem formülasyonları hazırlanması hedeflenmiştir. Betahistin Ménière hastalığının tedavisinde ve sebebi bilinmeyen vertigo semptomlarında ilk tercih edilen ilaçtır ve tedavi için oral yolla günde 3 kez kullanılmaktadır.

Peptik ülser öyküsü olan hastalarda kontrendike olması, genellikle ileri yaşlarda kullanılması ve günde üç kez kullanım gerekliliği oral yoldan kullanım dışında bir uygulama yolu arayışını getirmiştir. Çalışmada betahistin transdermal yol ile kullanımının sağlanması amaçlanmaktadır. Bu şekilde dozlama aralığı uzayacak, yan etkiler azalacak ve ilacın kan konsantrasyonu iniş çıkışları engellenerek daha etkin bir tedavi sağlanabilecektir.

Ayrıca hastanın istediği zaman bu dozaj formunu vücudundan uzaklaştırabilir olması bu yolun başka bir avantajıdır. Betahistin sıvı bir etkin madde olması, düşük molekül ağırlığı (136), yarılanma ömrünün kısa olması (3-5 saat) ve günlük terapötik dozunun da düşük olması (24- 48 mg) ile transdermal uygulama için iyi bir adaydır.

Çalışma; formülasyon optimizasyonu, *in vitro* çözünme hızı tayini, *ex vivo* insan derisinden penetrasyon ve *in vivo* sıçan derisinden perkutan penetrasyon olmak üzere dört aşamadır. Öncelikle uygun esneklik ve görünümde betahistin içeren transdermal yamaların hazırlanması ve seçilen yardımcı maddeler ile fiziksel geçimsizlik olup olmadığının DSC çalışmaları ile saptanması amaçlanmıştır.

Uygun bulunan formülasyonların *in vitro* salım hızı testlerinin yapılması, *in vitro* ilaç salımı uygun bulunan formülasyonlar ile *ex vivo* çalışma yapılması hedeflenmiştir. Bu amaçla plastik cerrahi ameliyatları sonrasında artan atık insan derisinden etkin maddenin geçiş özellikleri Franz difüzyon hücresi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Sonraki aşama ise sıçanlarda *in vivo* penetrasyon çalışmasıdır. Bu kapsamda ise 250-300 g ağırlığında Wistar sıçanların karın kısımları traş edilerek betahistin içeren bu transdermal yamalar deri ile tam temas edilecek şekilde yapıştırılmıştır. Transdermal yama formülasyonların hayvanların derisinde en az 24 saat süre boyunca kalması ve belirli zaman aralıklarında kan alınması hedeflenmiştir.

Kan alma sıklığı ilacın kanda görülme durumuna göre optimize edilmiş, absorpsiyon, maksimum plazma konsantrasyonu ve eliminasyon aşamalarının izlenmesi hedeflenmiştir. Kan almak için anestezi altındaki sıçanların iliyak arterine kanül takılmış ve sıçanın alışması sağlandıktan sonra çalışmaya başlanmıştır.

Çalışmanın sonunda intravenöz ve transdermal olarak uygulanan betahistinin kan konsantrasyonları kıyaslanmış ve değerlendirilmiştir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Deri ve Yapısı Hakkında Genel Bilgiler

İnsan derisi, yaklaşık 1,8 m²'lik yüzey alanı ile en büyük organdır. Vücut ağırlığının %10'dan fazlasını oluşturan deri, çevre ile sürekli etkileşim halindedir. Derinin kalınlığı vücudun değişik bölgelerine göre farklılık göstermekle birlikte genel olarak 0,5-3 mm arasındadır. Deri yüzeyi ise derinin pH'sının 5,2-5,6 arasında olmasını sağlayan asit manto bir tabakayla kaplıdır (1-5).

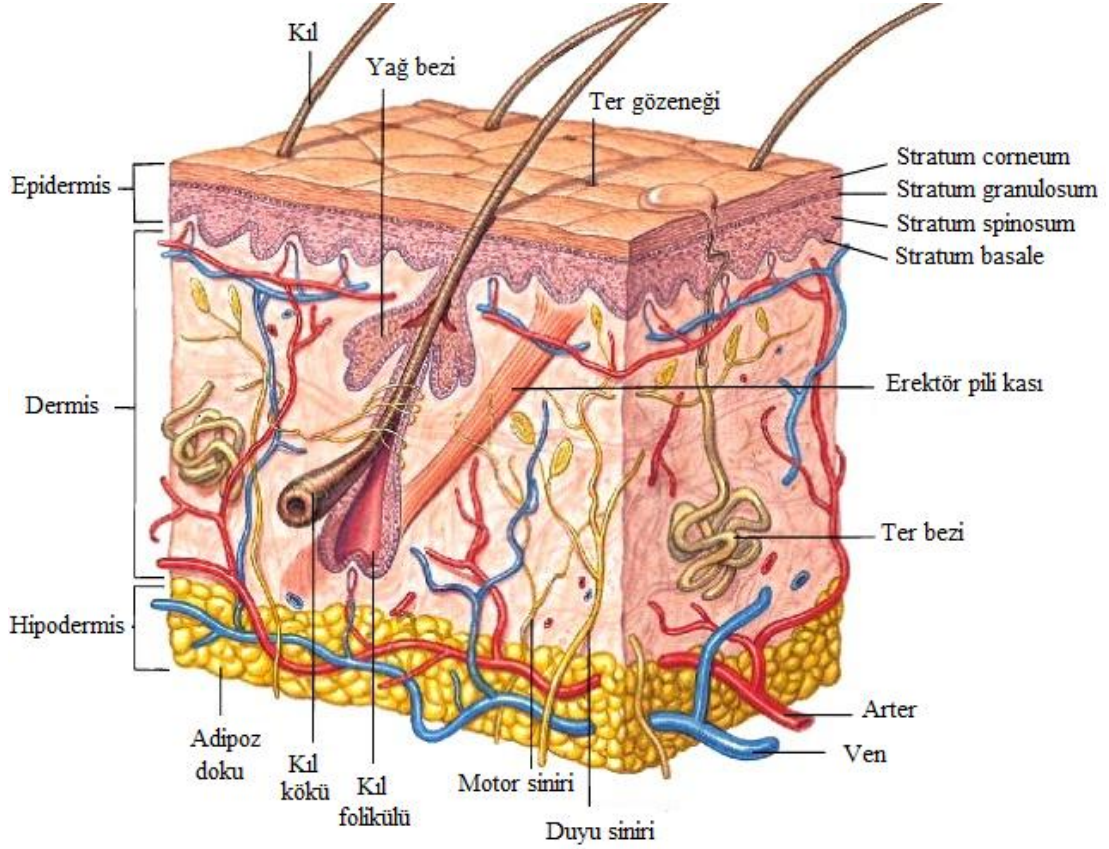
4.1.1. Derinin görevleri

1. Dayanıklı, esnek ve kendini yenileyen bir bariyer oluşturarak, vücudu biyolojik, fiziksel ve kimyasal dış etkenlere karşı korur.
2. Vücut sıcaklığının kontrolünde (terleme ve arteriyovenöz regülasyon ile) görev alır.
3. Metabolizma sonucu ortaya çıkan toksinleri terleme aracılığıyla uzaklaştırdığı gibi, vücudun dışında oluşturduğu bariyerle temel maddelerin ve vücut sıvılarının da kaybını engeller.
4. Dokunma, basınç, ağrı gibi duyuların algılanmasında rol alır.
5. İmmün sisteme yardımcı olur ve vücudu antijenik uyarılardan korur.
6. Kutanöz metabolizma ile yabancı maddelerin uzaklaştırılmasında görev alır.
7. Karbonhidrat, yağ, su vb. maddeler için depolama görevi yapar.
8. Yara iyileşmesinde (sitokin salımı ile), D vitamini sentezinde ve statik elektriğin boşaltılmasında rol alır (5-8).

4.1.2. Derinin yapısı

Şekil 4.1'de görüldüğü gibi deri dıştan içe doğru başlıca 3 tabakadan oluşur (9)

1. Epidermis
2. Dermis
3. Hipodermis



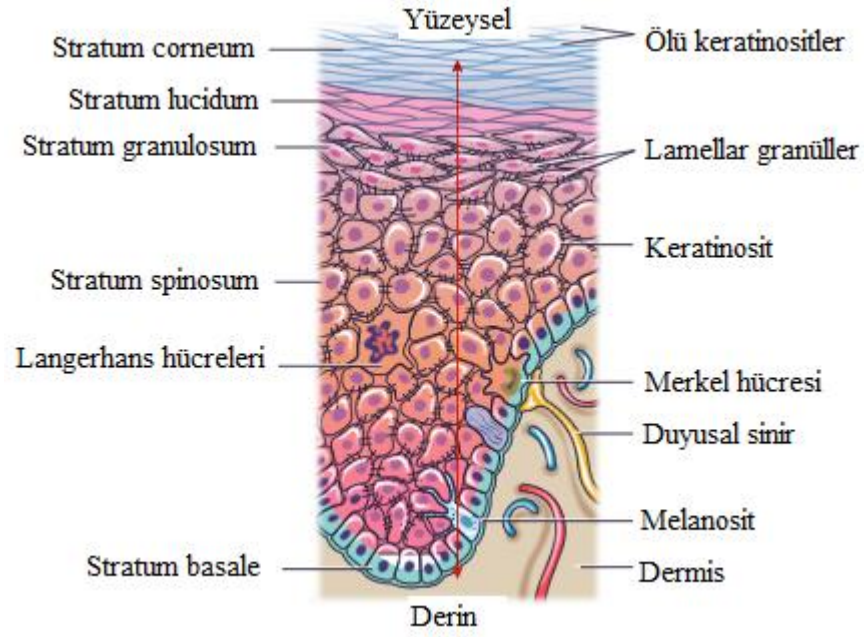
Şekil 4.1 Derinin yapısı (<http://encyclopedia.lubopitko-bg.com/structureofskin.html>)
Erişim tarihi: 23.06.2013

4.1.2.1.Epidermis

Derinin en dış katmanını oluşturan epidermis yaklaşık 100-150 µm kalınlığında, sürekli olarak yenilenen, çok katmanlı ve keratinize epitel yapıda bir tabakadır. Ağrının algılanabilmesi için bazı sinir sonlanmaları içerir. Kan damarı içermeyen epiderminin beslenmesi, dermis tabakasında bulunan damarlardan difüzyon yoluyla olur (6, 7, 10,11).

Epidermis dıştan içe doğru 5 alt tabakadan oluşur (Şekil 4.2)(2):

1. Stratum corneum (Boynuzsu tabaka)
2. Stratum lucidum (Lusidum tabakası)
3. Stratum granulosum (Granüler tabaka)
4. Stratum spinosum (Malpigi tabakası, Prinkle tabakası)
5. Stratum basale (Stratum germinativum, Bazal tabaka)



Şekil 4.2. Epiderminin tabakaları

<http://kreativestudios.com/Tooltip/05Integument/02epidermis.html>

Erişim tarihi:23.06.2013)

Stratum corneum, epiderminin en dış tabakasıdır. Ölü epidermis olarak da adlandırılan bu tabaka, su ve diğer maddelerin deriden geçişinde en önemli bariyeri oluşturur. **Stratum corneum** yaklaşık 10-20 µm kalınlığında, ölü, yassı, çekirdeksiz ve protein (keratin) bakımından zengin korneosit hücrelerinden oluşur. Keratin içeren keratinositler, yukarı doğru çıktıkça, değişip yassılaşıyor, korneositlere dönüşür. Derinin yıkanması ve keselenmesiyle uzaklaştırılan ölü tabakadaki bu hücreler (korneositler) bazal tabaka tarafından tekrar oluşturulur. Sonuç olarak, epiderminin tamamı yaklaşık olarak 21 günde yenilenir. Keratinositlerin aralarında yağ asitleri, kolesterol ve seramidlerden oluşan hücrelerarası lipitler bulunmaktadır (2,10,12,13).

Stratum lucidum, hücreleri sadece avuç içi ve ayak tabanı gibi derinin çok kalın olduğu bölgelerde görülebilen ve penetrasyona en az **stratum corneum** kadar engel teşkil eden bir tabakadır. (6, 14).

Stratum granulosum, canlı epidermisin en dış sınırlandır ve keratinizasyonun ilk bulgularını gösterir. Hidrofilik maddelerin difüzyonu için önemli bir bariyer değildir. Ancak *stratum corneum* zedelenirse difüzyonu sınırlayan bariyer haline gelebilir (6,10).

Stratum spinosum, bazal tabakanın üzerinde yer alan ve oldukça yuvarlak hücrelerden oluşan bir tabakadır. Hücreler çekirdek ve organelleri içerir, fakat keratin oranı bazal hücrelere göre daha fazladır. Ayrıca çok sayıda desmozom (komşu hücrelerle bağlantıyı sağlayan interselüler köprü) içerir. Vücudun immün cevabında rol oynayan ve antijen oluşturma yeteneğine sahip Langerhans hücreleri de bu tabakada yer alır (6,10,13,14).

Stratum basale, epidermisin en altında yer alan tabakadır. Diğer tabakalara göre daha hızlı bölünen çoğalabilen hücreleri içerir ve bu bitişik hücreler deri yüzeyine doğru ilerleyerek farklılaşır ve diğer tabakaları oluşturacak şekilde yer değiştirir. Bu tabaka keratinositler, melanositler ve sinir sistemi ile bağlantılı Merkel hücreleri içerir. Hücreler birbirlerine desmozomlarla, dermise ise hemidesmozom denilen bağlantı birimleri ile bağlanırlar. (6,13).

4.1.2.2. Dermis

Epidermis ve deri altı yağ dokusu arasında bulunur ve 3-5 mm kalınlığında bir tabakadır. Dermis, üç boyutlu matriks yapıda fibröz proteinlerin (kolajen, elastin, retikülin) amorf ve jel yapıda bir ara madde (glikozaminoglikan) içine yerleştiği esnek, viskoelastik bir oluşumdur. Sinirler, kan damarları ve lenf kanalları bu tabakada yer alır. Dermis geniş kan damarı ağı ile, oksijen ve besinlerin epidermis tabakasına difüzyonunda, toksinlerin uzaklaştırılmasında, kan basıncı ve vücut sıcaklığının düzenlenmesinde ve savunma sisteminin harekete geçmesinde görev alır (1,2,15).

Dermiste; *pilosebace bezler* (saç folikülleri ve yağ bezleri), *ekrin bezler* (terlemeden sorumlu) ve *apokrin bezler* olmak üzere 3 çeşit bez vardır. Bu yapıların her biri deride potansiyel bir açıklık, yan geçit oluşturur ve bu da etkin maddelerin

geçişleri için bir paralel yol oluşturur. Ayrıca dermiste, sırasıyla dokunma ve basınç duyularını ileten Meissner ve Pacini cisimcikleri gibi özelleşmiş hücreler de yer almaktadır (6,14).

4.1.2.3. Hipodermis

Dermisin hemen altında yer alan bu doku, büyük miktarlarda yağ üreten ve depolayan hücrelerden oluşur. Deriye fiziksel destek sağlar, kolajenler yoluyla esneklik verir ve ısı yalıtımını sağlar. Bu tabakada büyük sinir ağları, ter bezleri, arterler, venler ve lenfler yer alır. Yüksek enerjili kimyasalların sentezi ve depolanmasında da görev alır (1,2,6).

4.2. Deriden Geçişle İlgili Genel Bilgiler

Perkütan ilaç verilmesi, bir dış kaynaktaki ilacın, *stratum corneum*dan geçerek canlı epidermis içine penetre olması ve bunu takiben kılcal kan damarları ve lenf sistemi ile vücuda dağılmasıdır (16).

Perkütan/ dermal absorpsiyon süreci, bileşiklerin deriden geçişini anlatan evrensel bir terimdir ve üç adımda açıklanır;

Penetrasyon (Giriş): Maddenin belirli tabaka veya yapıya girişidir (bir bileşiğin *stratum corneum*a girişi gibi).

Permeasyon (Nüfuz etme): İlk tabakaya göre fonksiyonel ve yapısal olarak farklı olan diğer tabakaya geçiştir.

Absorpsiyon (Emilme): Merkezi kompartman olarak davranan vasküler sistem (lenf ve /veya kan damarları) tarafından maddenin alınmasıdır (17) .

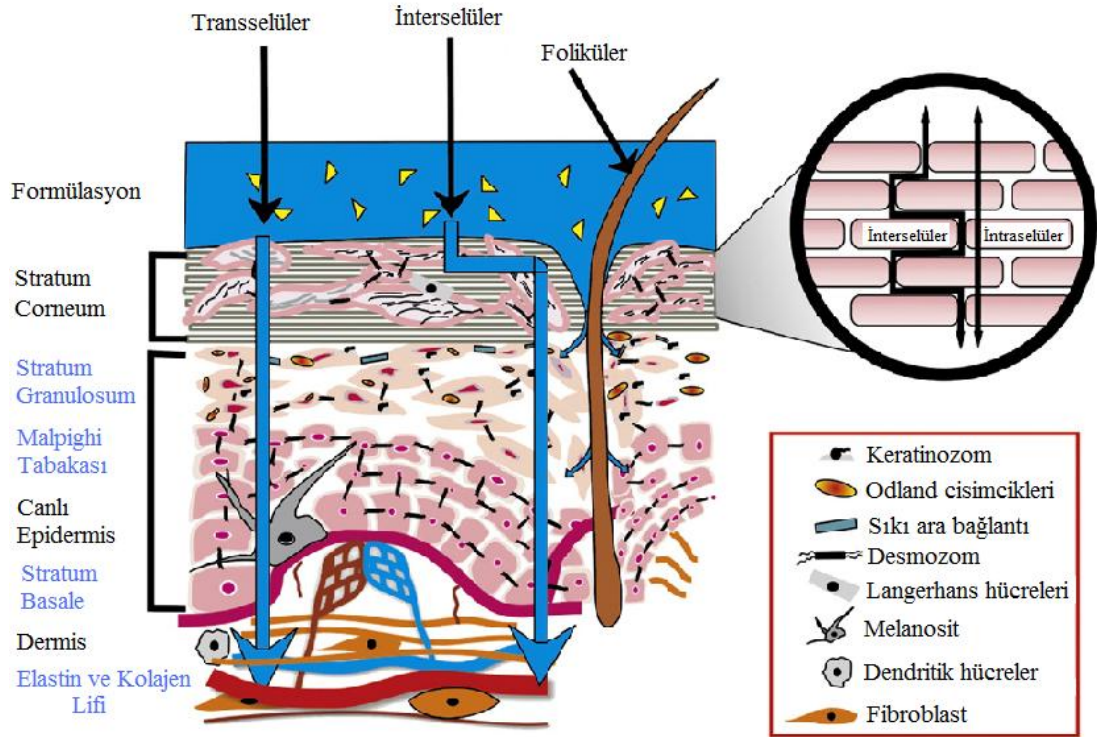
4.2.1.Etkin maddelerin deriden geçiş yolları

Derinin en dış tabakası olan *stratum corneum*, deriden ilaç geçişi için en büyük hız sınırlayıcı basamaktır. *Stratum corneum* “duvar” yapısına benzetildiğinde hidrate proteinler yani keratin içeren yassılaştırılmış hücreler “tuğla”, serbest steroller, serbest

yağ asitleri ve trigliseritler gibi nötral yağlar ve seramitler ayrıca fosfolipitler, glikosfingolipitler ve kolesterol sülfat da “harç” yapısını oluşturmaktadırlar (18).

Etkin maddelerin deriden geçişi temel olarak 3 yolla olmaktadır. Bunlar; *stratum corneum*dan geçiş, kıl foliküllerinden geçiş, ter ve yağ bezlerinden geçiş şeklindedir (19). *Stratum corneum*dan ilaç geçişi pasif difüzyonla gerçekleşir ve genel olarak deriden geçiş şu başlıklarda değerlendirilir. (Şekil 4.3) (2,6)

- Transselüler (İntraselüler) yol (Transepidermal yol)
- İnterselüler yol (Hücrelerarası geçiş)
- Yan geçit yolu (Transappendageal pathway, shunt route)



Şekil 4.3. Perkütan absorpsiyon yolları (20)

4.2.1.1. Transselüler (hücre içi) geçiş yolu

Etkin maddenin *stratum corneum*u delerek geçiştir. Polar ve hidrofilik maddeler için en önemli geçiş yoludur. Hem keratinositlerin, hem de lipit çift tabakaların geçilmesi söz konusudur. Yüzden fazla tabakayı delerek geçmek zorunluluğu, bu yolu yavaş bir yol yapar. Keratinosit hücrelerinin içyapısı baskın olarak hidrate halde keratin içerir ve bu hidrofilik maddelerin geçişini hızlandıran bir ortamdır fakat keratinositlerin dışında lipit tabakalar vardır. Lipit çift tabakalarda da hidrofobik zincir ve hidrofilik baş gruplar bulunur. Gececek olan madde hem lipit tabakayı hem de hidrate keratin tabakasını geçmelidir (11,21,22).

4.2.1.2. İnterselüler (hücreler arası) geçiş yolu

Etkin maddenin hücrelerin arasındaki lipit fazdan geçiştir. Bu yol eğri büğrüdür (tortuous) ve yaklaşık 500 µm uzunluğundadır. Maddenin öncelikle lipit faza geçmesi ve sonra da difüze olması gerekir. Daha çok, küçük molekül ağırlıklı, iyonize olmayan yüksüz maddeler bu yolla geçerler (11,23,24).

4.2.1.3. Yan geçit yolu

Kıl folikülleri, ter bezleri veya yağ bezlerinden geçiştir. Burada, etkin madde *stratum corneum*u atlayarak, alt epidermis tabakalarına ve buradan da dermise ulaşır. Bu yol, su dolu ter kanallarına girebilen, yüksek derecede suda çözünen ve elektrolitler gibi polar olan maddeler için önemli bir geçiş yoludur (2,6,11,25).

4.2.2. Deriden geçişi etkileyen faktörler

Genel olarak 4 gruba ayrılır:

- Biyolojik Faktörler
- Derinin fizyolojik durumu
- Etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri
- Formülasyon ve kullanılan yardımcı maddelerin etkisi (6)

4.2.2.1. Biyolojik faktörler

Derinin yaşı: Fetüs ve çocuk derileri, yetişkin derisine göre daha geçirgendir. Bu içerdikleri su miktarının fazlalığından dolayıdır. Yetişkinlerde biyolojik etki genellikle azdır (26).

Derinin bölgeleri: *Stratum corneum*un kalınlığı vücudun bölgelerine göre değişiklik gösterir bu nedenle etkin maddelerin penetrasyonu uygulama yerine göre değişiklik gösterir. Bileşiklerin deriden geçişte izledikleri yollar farklı olsa da genital organlar ve baş gibi bazı vücut bölgeleri ekstremitelere göre daha geçirgendir (5,27).

Kan dolaşımı: Derideki kan akışı maddelerin konsantrasyon seviyelerini değiştirebilir ve dermiste veya derinin daha alt katmanlarında madde birikimlerine sebep olabilir. Dermiste kan akışı arttığında madde klerensi de artar (5,26)

Deri metabolizması: *Stratum corneum*un altında canlı epidermiste birçok metabolizma enzimi bulunmaktadır. Deride enzim aktivitesi $2m^2$ 'lik bir alana yayılmıştır. İlaç transdermal olarak çok küçük bir alandan verildiği için birim alandaki metabolizmanın karaciğer metabolizması ile kıyaslandığında ihmal edilebilir olması beklenir. Bununla birlikte nitrogliserin, östrojen gibi ilaçların transdermal verilmiş sonrası deride metabolize edildiği bilinmektedir. Deriden yavaş geçen ilaçlar hızlı geçenlere göre daha çok metabolize olurlar. Formülasyonda penetrasyon artırıcı kullanılarak veya enzim aktivitesi durdurularak metabolizasyon engellenebilir (28,29)

Tür farklılıkları: Memeli derileri; *stratum corneum* kalınlığı, ter bezleri, kıl folikülü yoğunluğu ile büyük farklılıklar gösterirler. Kapiler kan akışı ve terleme yeteneği, insanlar ve laboratuvar hayvanları arasında farklılıklar gösterir. Bu tür faktörler, penetrasyon yolunu ve geçişe olan direnci de etkiler.

Perkütan absorpsiyon değerlendirmelerinde sıklıkla fare, sıçan ve tavşan kullanılır fakat insan derisine göre daha fazla kıl folikülü içerirler ve ter bezleri yoktur. Karşılaştırmalı deri geçiş çalışmaları sonucunda maymun ve domuz derilerinin insan derisine en yakın olduğu sonucuna varılmıştır. Tüysüz fare derisi de bazı benzer özellikleri göstermektedir fakat *stratum corneum*ları kırılmalıdır. Tüysüz sıçan ve ince tüylü kobayların bu çalışmalar için kullanılması daha uygundur.

Öldürme gerektirmemesi de (deri değiştirmesi nedeniyle) yılan derisi ile çalışmayı kolay hale getirir.

Deri geçiş çalışmalarında hayvan derisi kullanımı çok yaygın olsa da mümkünse insan derisi ile çalışmak en iyi seçenektir (1).

Irksal farklılıklar: Kafkas ırkına mensup kişilerin *stratum corneum* kalınlıklarının zenci ırkla benzer olduğu, fakat Kafkas ırkındakilerin *stratum corneum*larının zenci ırkla kıyaslandığında daha az hücre tabakasına sahip olduğu görülmüştür. *Stratum corneum* kalınlığının kutan pigmentasyon ile doğru orantılı olduğu doğrulanmıştır. Ayrıca zenci ırkta *stratum corneum* lipit oranının beyaz ırka kıyasla % 8.5-18.4 arasında değişen oranla yüksek olduğu görülmüştür. (30,31).

4.2.2.2. Derinin fizyolojik durumu

Derinin durumu: Sağlıklı, bütünlüğü bozulmamış deri güçlü bir bariyer özelliği gösterir fakat deriye zarar veren birçok faktör vardır. Kesikler, sıyrıklar, cilt hastalıkları, asit ve alkaliler bariyer hücrelerine hasar verir ve deriden geçişi arttırırlar. Zarar verici kimyasallarla sürekli temas medeniyle ağır sanayi çalışanlarının derileri reaktivitesini kaybetmiş veya sertleşmiş olabilir. Kloroform ve metanol gibi çözücüler derideki lipit fraksiyonları uzaklaştırarak, moleküllerin geçişi için yapay bir yol oluşturur. Nasır ve siğil gibi derinin kalınlaştığı durumlarda ise deriden geçiş yavaşlar (1).

Derinin hidrasyonu: Deri suyla doygunluğa ulaşınca, dokular şişer ve yumuşar, permeabilitesi de büyük oranda artar. Penetrasyonu arttırmada, *stratum corneum*un hidrasyonu en önemli faktörlerden biridir. Hidrasyonun nedeni oklüzyon (derinin st tabakasının hava geçirmeyecek şekilde örtülmesi) sonrası alt epidermal tabakadan difüze olan su veya oklüzif uygulama sonrası ortamda biriken terlemenin sonucu olabilir. Oklüzyon ile birlikte derinin sıcaklığı 32 C'den 37 C'ye yükselir bununla birlikte kan akışı da artar. Steroid içeren oklüzif plastik filmler topikal uygulandığında, steroid penetrasyonununun 10 kat arttığı görülmüştür (1,32,33)

Sıcaklık: Deri üzerinde veya i bölgelerinde sıcaklık değişimi, kan akışının artması veya boynuzsu tabakanın nem içeriğinin artması gibi diğer fizyolojik

reaksiyonları da beraberinde getirir. Bu faktörler perkütan absorpsiyonda artışa sebep olur. Ayrıca sıcaklıktaki artış hem ilaç taşıyıcıda hem de *stratum corneum*daki ilaç çözünürlüğünü de arttırır (26).

4.2.2.3. Etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri

İlaç konsantrasyonu: Taşıyıcıdaki ilaç konsantrasyonunun artışı, birim zamanda birim yüzey alanından absorplanan ilaç miktarını da arttırır. Etkin madde eğer daha geniş bir yüzeye uygulanırsa bu da absorplanan ilaç miktarını arttıracaktır (34).

Partisyon katsayısı: Bir molekülün yağ/su dağılım katsayısı biyolojik membranlardan penetre olabilmesini yüksek oranda etkiler bu da membranların lipoidal yapısından dolayıdır. Deriden geçiş için bu değer optimal olması beklenir (log K 1-3 arası). Yüksek partisyon katsayısına sahip ilaçlar derinin lipit kısmını terk etmez, düşük partisyon katsayısına sahip ilaçlar da deriden geçiş yapmaz (23, 35,36).

Molekül büyüklüğü: Transdermal geçiş ve maddenin moleküler büyüklüğü arasında ters orantı vardır. Transdermal yolla ilaç verilmesi için aday ilaçlar genellikle 100- 500 Dalton arasındadır (23).

İyonizasyon derecesi ve pH: İyonize halde bulunan maddeler deriden çok iyi penetre olmazlar. Non-iyonize halde bulunan bileşikler için *stratum corneum* permeabilite katsayıları aynı bileşiğin iyonize formları ile kıyaslandığında 1- 2 kat daha büyüktür. Bununla birlikte, maksimum akı tahminlerinde iyonizasyon etkisi belirgin değildir. Non- iyonize ve iyonize formlar arasında gerçek ilişki maddeye ve maddenin non- iyonize halinin lipofilitesine bağlıdır (5).

Derinin pH 5,2- 5,6 arasındaki pH değerlerinde non-iyonize olan maddelerin deriden penetrasyonları yüksek orandadır (3).

Çözünürlük / Erime derecesi: Yüksek erime derecesine sahip çoğu organik maddenin normal sıcaklık ve basınçta düşük suda çözünürlüğe sahip oldukları bilinmektedir. Lipofilik yapıdaki moleküller hidrofilik olanlara kıyasla deriden daha hızlı geçiş eğilimindedirler. Transdermal verilmesi için aday molekülün lipofilitesi kadar suda çözünürlük özelliğine de sahip olması beklenir (23).

4.2.2.4. Formülasyon ve kullanılan yardımcı maddelerin etkisi

Deriden etkin maddenin geçişi formülasyon ile yakından ilgilidir. Etkin maddenin, verildiği formülasyondan önce salınması gerekmektedir. Bu da kullanılan taşıyıcıyı (sıvağı) önemli hale getirir. Etkin maddenin sıvağa ilgisi fazlaysa geçişin daha az olmasına sebep olabilir. Formülasyonda kullanılan maddeler penetrasyon artırıcı maddeler de olabilir. Kullanılan yardımcı maddeler etkin maddenin sıvağ veya deri tabakalarındaki partisionunu etkileyebilir. Formülasyonun pH'sı, etkin maddenin pKa değeri, molekülün iyonizasyonu, partisionunu ve deriden geçişini etkiler (6).

4.2.3. Deriden geçişin kinetiği

Deriden geçişte *stratum corneum*un kalınlığı çok önemlidir. Etkin maddenin deri tabakalarından geçip sistemik dolaşıma katılması difüzyona toplam direnç olarak tanımlanır. Eşitlik şu şekildedir (27,37,38):

$$R_T = R_1 + R_2 + R_3$$

R_T: Difüzyona toplam direnç

R₁: *Stratum corneum* direnci

R₂: Canlı epidermis direnci

R₃: Dermis direnci

Bir etkin maddenin sistemik etki amacıyla deriden geçişi pasif difüzyonla olur ve Birinci Fick Kanunu ile ifade edilir. Birinci Fick Kanunu kararlı durumda geçerlidir (39).

$$J = \frac{dQ}{dt} = \frac{D \cdot A \cdot K}{h} (C_{app} - C_{rec}) \quad (\text{Birinci Fick Kanunu})$$

dQ/ dt (J): Difüzyon hızı

D: Difüzyon katsayısı

A: Membran yüzey alanı

K: Partisyon katsayısı

h: Membran kalınlığı

C_{app} : Maddenin taşıyıcıdaki uygulanan konsantrasyonu

C_{rec} : Maddenin reseptör fazdaki konsantrasyonu

Derinin alt katmanlarındaki ilaç konsantrasyonu, uygulanan konsantrasyona göre çok düşüktür. Eşitlik şu şekilde de yazılabilir:

$$J = A k_p C$$

$$K_p = \frac{K D}{h}$$

K_p : Permeablite Katsayısı

Bu parametre Potts ve Guy'a ait deneysel bir bağıntı ile hesaplanabilir (4):

$$\text{Log}[k_p/ (\text{cm}^{-1} \text{ h})] = -2,7 + 0,71 \log K_{oct} - 0,0061 MW$$

K_{oct} : Oktanol- su partisyon katsayısı

MW: Molekül ağırlığı

Çözünürlük, partisyon katsayısı, dağılım katsayısı gibi parametrelerin transdermal verilişte önemli olduğu, bu formüllerde de gözükmektedir.

Etkin maddelerin bir taşıyıcı ile deriye taşınması İkinci Fick Kanunu ile yönetilir. (40).

$$\frac{dC}{dt} = D \frac{d^2C}{dx^2} \quad (\text{İkinci Fick Kanunu})$$

C: Deriden geçen maddenin konsantrasyonu

t: Süre

D: Difüzyon Katsayısı

x: Membranın kalınlığı

4.3. Transdermal Terapötik Sistemler Hakkında Genel Bilgiler

Transdermal terapötik sistemler, etkin maddeyi kontrollü bir şekilde deri yoluyla sistemik dolaşıma ve hedef organlara (portal dolaşıma katılmadan) veren, ilaç yüklü yapışkan yamalardır (41,42).

Bu sistemler göğüs, kol içi, kulak arkası gibi bölgelere yapıştırılarak kullanılırlar; böylece hasta rahat bir şekilde yaşamını sürdürebilir, banyo yapabilir ve sistemi amacına uygun olarak bir hafta süreyle bile taşıyabilir, dolayısıyla tedavide büyük kolaylık söz konusudur. Herhangi bir yan veya istenmeyen etki görüldüğünde de hemen çıkarılabilmektedir (2).

İlaçların deri yoluyla uygulanması çok eski zamanlara dayanmaktadır. Enfeksiyonlara karşı topikal ilaçların veya hormonların sistemik etki amaçlı kullanımlarına dair 1940'lı yıllara ait belgeler vardır. Modern transdermal yama teknolojisi ise 1970'lerin sonlarına doğru geliştirilmiştir ve 1980 yılında Alza Şirketi tarafından hareket hastalığı tedavisi için geliştirilerek kullanıma sunulan Transderm-Scop®, skopolamin içeren transdermal terapötik sistemdir (9,41).

4.3.1. Transdermal terapötik sistemlerin avantajları

- Konvansiyonel oral sistemlerde görülen ilaç plazma seviyelerindeki iniş çıkışların aksine, transdermal yama kullanıldığı süre boyunca seviye genellikle sabittir.

- Etkin maddelerin kan düzeyleri toksik seviyelere çıkmadığı için yan etkiler azalacaktır ve herhangi bir acil vakada, hangi ilacın kullanıldığı ortadadır istenildiği anda vücuttan uzaklaştırılabilir.
- İlaç bu yolla verildiğinde ilk geçiş etkisine uğramaz ve gastrointestinal ortamın zararlı etkilerinden korunmuş olur, ancak bazı maddeler deriden geçişte de metabolize olabilirler.
- Biyolojik olarak yarı ömrü kısa etkin maddeler bu yolla başarıyla verilebilir. Günde tek doz ilaç verilerek tedavi sağlanabilir.
- Deriye yapıştırılarak 1, 3, 5 veya 7 gün gibi süre boyunca tedavi sağlayabildiği için dozlama sıklığı azalır.
- Subkutan, intramusküler veya intravenöz enjeksiyonlar ile oluşan lokal enfeksiyon veya travmatik durum bu yolla elimine edilir.
- Mide-barsak kanalında iritan davranış gösteren etkin maddeler bu yolla verilebilir.
- Oral yolla emilimi az olan etkin maddelerin bu yolla verilebilmesi, önemli bir avantaj sağlar.
- Uygun teknolojiler geliştirilerek, protein, peptit ve makromoleküller bu yolla verilebilir.
- Etkin maddeler hedeflendirilebilir, gen tedavisi amacıyla DNA ve oligonükleotitler verilebilir, DNA aşılı uygulanabilir.
- Uygulanması ve çıkarılması çok kolay olduğu ve istenildiği anda çıkarılabildiği için diğer yollara göre hasta uyuncu daha iyi sağlanır (2,43-45).

4.3.2. Transdermal terapötik sistemlerin dezavantajları

- Maliyeti diğer veriliş yollarına göre daha yüksektir.
- Her etkin maddeye uygun bir yol değildir, yüksek molekül ağırlıklı maddeler için deri geçirgen değildir.
- Deri üzerinde iritasyon ve alerjik reaksiyonlar meydana gelebilir.
- Yaşa ve fiziksel koşullara göre deriden geçiş değişebilir, bu nedenle etkin maddelerin sistemik dolaşıma geçişinde bireyler arası farklar görülebilir.
- Bazı etkin maddeler deride metabolize edilebilirler.

- Yüksek plazma seviyeleri elde edilemez.
- Deriden geçişte görülen gecikme nedeniyle akut uygulama için uygun bir yol değildir.
- Yüksek dozlu etkin maddeler bu yolla verilemez (44,46).

4.3.3. Transdermal terapötik sistemlerin taşınması gereken özellikler

- ✓ İki yıla kadar raf ömrüne sahip olmalıdır.
- ✓ Yama boyutu 40 cm²'den küçük olmalıdır.
- ✓ Günde bir ya da haftada bir gibi doz sıklığına sahip olmalıdır.
- ✓ Kozmetik olarak kabul edilebilir olmalıdır (şeffaf, ten rengi ya da beyaz renkli).
- ✓ Hasta tarafından kolay kullanılabilir bir ambalajı olmalıdır (uygulama adımları kolay olmalıdır).
- ✓ Çocuklar ve yaşlı hastalar düşünülerek koruyucu tabaka kolaylıkla ayrılabilmelidir.
- ✓ Uygulama süresince düşmeyecek kadar iyi yapışma özelliği olmalı, çıkarılmak istendiğinde de deride herhangi bir hasara neden olmadan rahatça uzaklaştırılabilmelidir.
- ✓ Uygulama sonrasında deriden uzaklaştırıldığında herhangi bir kalıntı bırakmamalıdır.
- ✓ Cilt hassasiyeti, kontakt dermatit, fototoksikite, fotohassasiyet, eritem, maserasyon, kaşıntı, yanma, batma gibi dermal reaksiyonlar oluşturmamalıdır.
- ✓ Sürekli aynı biyofarmasötik performansı göstermelidir (45,47).

4.3.4. Transdermal terapötik sistem hazırlamak için kullanılacak olan etkin maddenin taşınması gereken özellikler

Transdermal terapötik sistemler birçok avantaja sahip olmasına rağmen piyasada az sayıda transdermal ürün mevcuttur. Bir etkin maddenin bu transdermal terapötik sistem formülasyonu hazırlanabilmesi için taşınması gereken özellikler şunlardır.:

- Molekül ağırlığı 500 Da'dan küçük olmalıdır.
- Erime derecesi 200°C'den küçük olmalıdır.
- Verilebilmesi gereken doz 20 mg/ gün'den küçük olmalıdır.
- Log P değeri -1 ve 4 arasında olmalıdır.
- Suda çözünürlük 1 mg/ml'den büyük olmalıdır.
- Yarılanma ömrü 10 saatin altında olmalıdır.
- Deride iritasyon yapmamalıdır.
- Oral biyoyararlanımının düşük olması gerekir.
- Terapötik indeksi dar olan, plazma seviyesi kontrol edilmesi gereken ilaçlar için iyi bir seçenektir.
- Sulu çözeltinin pH'sı 5–9 arası olmalıdır (45,48).

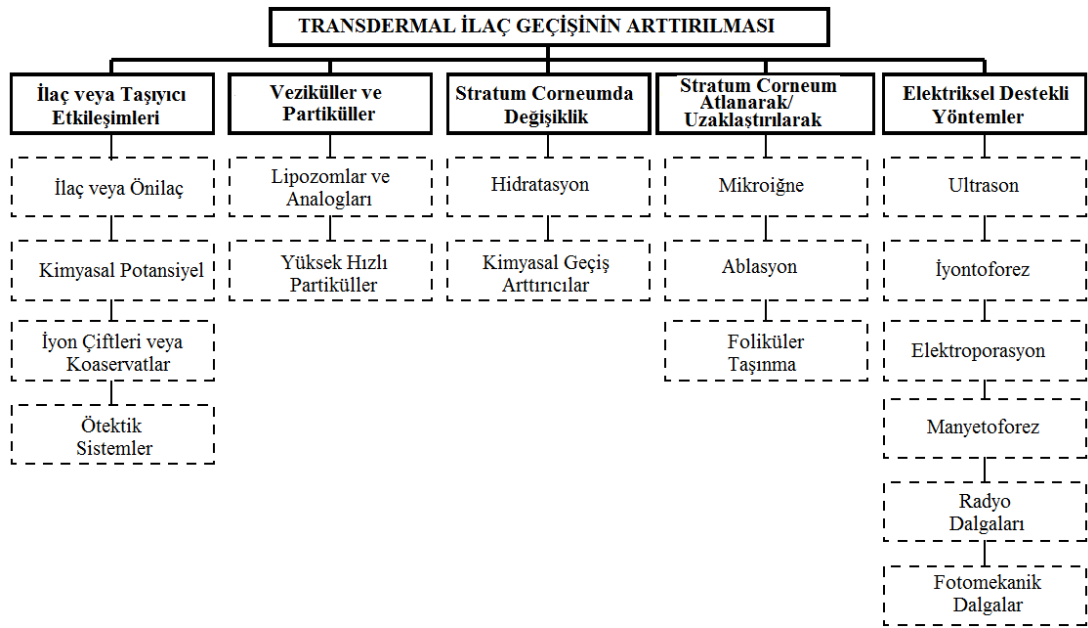
4.3.5. Transdermal terapötik sistemlerde ilaçların deriden geçişini artırma yaklaşımları

Deri, seçici penetrasyon bariyeri olarak çok etkilidir. Perkütan absorpsiyon, ilaç molekülünün deri yüzeyinden *stratum corneum* ve sonrasında alta epidermise, dermise ve kan dolaşımına difüzyonunun konsantrasyon gradiyentinin etkisi altında gerçekleşmesidir. Perkütan absorpsiyonun hız kısıtlayıcı basamağı *stratum corneum*dur (49).

Penetrasyon arttırıcılar, derinin geçirmezliğini geçici olarak azaltarak, deriden penetre olacak maddenin geçişini kolaylaştırır.

İdeal olarak bu maddelerin toksik olmaması, iritasyon yapmaması, alerjenik olmaması, ilaç ve yardımcı maddelerle geçimli olması, kokusuz, tatsız, renksiz, ucuz olması ve iyi çözücü özelliklerine sahip olmaları beklenir. Vücut sıvılarının, elektrolitlerin, ve diğer endojen maddelerin kaybına sebep olmamalı ve bu maddeler uzaklaştırıldığında derinin bariyer özelliği eski haline gelebilmelidir (22,50,51).

Şekil 4.4’de transdermal ilaç verilisinde deriden geçişi artırma yöntemleri gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Transdermal ilaç verilisinde etkin maddenin deriden geçişini arttırma yöntemleri (22)

Kimyasal penetrasyon arttırıcılar (52,53):

- Su
- Sülfoksitler (dimetilsülfoksit)
- Azon
- Prolidonlar (N-metil-2- pirolidon)

- Alkoller, glikoller ve yağ alkolleri (etanol, propilen glikol, dekanol, oktanol)
- Yağ asitleri (oleik asit)
- Yüzey etkin maddeler (sodyum lauril sülfat, laurik asit)
- Esansiyel Yağlar, terpenler ve terpenoidler (mentol, limonen, sineol)
- Üre
- Fosfolipitler (lipozomlar vasıtasıyla)
- Biyoparçalanabilir penetrasyon arttırıcılar (Dodesil N, N- dimetilamino asetat)
- Siklodekstrinler (β - siklodekstrin)

Fiziksel Penetrasyon Arttırıcılar (22,52):

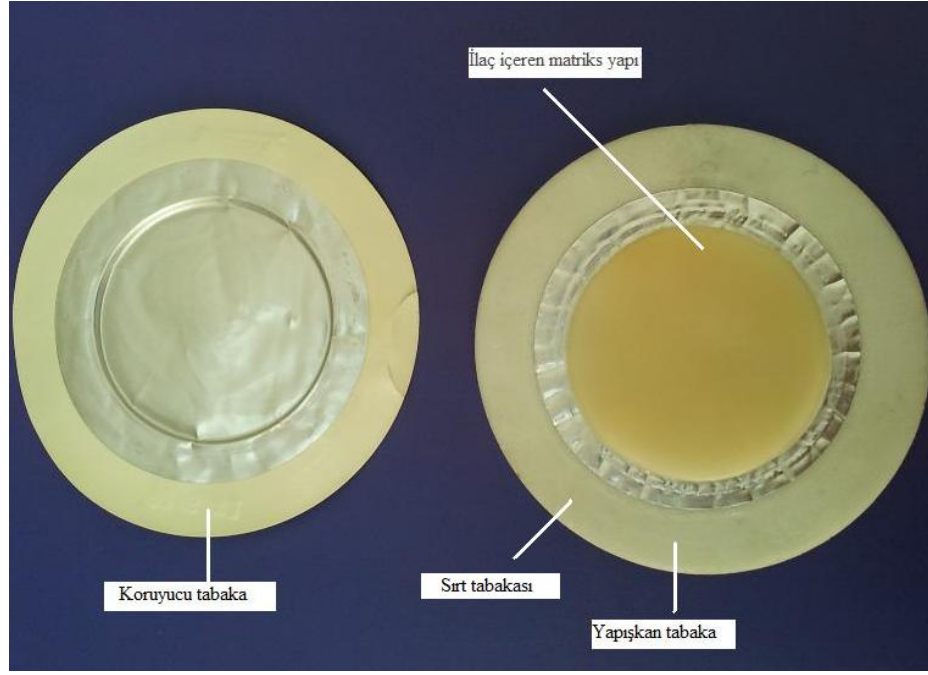
- Fonoforez (Sonoforez)
- İyontoforez
- Elektrodleme
- Lipozomlar
- Powder- Ject Sistemi
- Mikroığneler

4.3.6. Transdermal terapötik sistemlerin kısımları

Dört temel kısımdan oluşur. Bunlar (2):

- Sırt Tabakası
- Kontrollü Salım Sağlayan Kısım
- Yapışkan Tabaka
- Koruyucu Tabaka

Resim 4.1’de periferel yapışkan tabaka içeren matriks sistem gösterilmiştir.



Resim 4.1. Transdermal terapötik sistemin kısımları

Sırt tabakası: Geçirgen olmayan bu tabaka transdermal terapötik sistemi dış etkilerden korur. Hazırlanmasında sentetik polimerler (polyester, polietilen, polivinilidin klorür, poliüretan), doğal polimerler (pamuk), mikroporlu ya da porsuz polimerler (polipropilen, polietilen) kullanılır.

Kontrollü Salım Sağlayan Kısım: Sistemin tasarımına göre kullanılan polimerler değişir. Etkin madde ve salım hızını kontrol eden polimer bu kısımdadır. Ayrıca penetrasyon artırıcı, plastifiyan gibi yardımcı maddeler bu kısımda bulunur.

Yapışkan Tabaka: Sistemin deriye yapışmasını sağlayan kısımdır. Sistemin bütün yüzünü kaplar veya çevresinde bulunabilir. Poliizobütilen, akrilatlar, silikon bu amaçla kullanılır.

Koruyucu Tabaka: Sistemin raf ömrünü korumak amacıyla, yapışkan tabakanın üzerinde bulunur ve sistem kullanılacağı zaman soyularak uzaklaştırılır. Opak polyester filmler, alüminyum, floroslikon, perflorokarbon gibi maddeler bu amaçla kullanılabilir (45,54,55).

4.3.7. Transdermal Terapötik Sistemlerin Sınıflandırılması

4.3.7.1. Membran difüzyon kontrollü sistemler

Bu sistemler depo (rezervuar) tipteki ilaç serbestleştirici sistemlerdir. Geçirgen olmayan sırt tabakasının altında ilaç deposu bulunur (Şekil 4.5). Sistemde ilacın serbestleşmesini kontrol eden yarı geçirgen gözenekli veya gözeneksiz membran vardır ve membranın alt kısmında bulunan yapışkan tabaka ile deriye yapışması sağlanır. İlaç molekülleri depo kısmında çözelti, viskoz bir çözücüde süspansiyon halinde, jel şeklinde veya katı polimer matrikste dispers halde bulunabilir. Bu sistemlerin en büyük avantajı sıfırıncı derece kinetikle salım yapabilmesidir. İlaç çıkış hızı membranın kalınlığı veya adeziv tabaka ile kontrol edilebilir. Membran olarak; etilen vinil asetat kopolimeri, silikonlar, yüksek yoğunluklu polietilen, poliester elastomerler kullanılabilir.

Transderm-Nitro (Nitrogliserin), Transderm-Scop (skopolamin), Catapres-TTS (Klonidin), Estraderm (estradiol) müstahzarları bu sisteme örnektir (56-58).



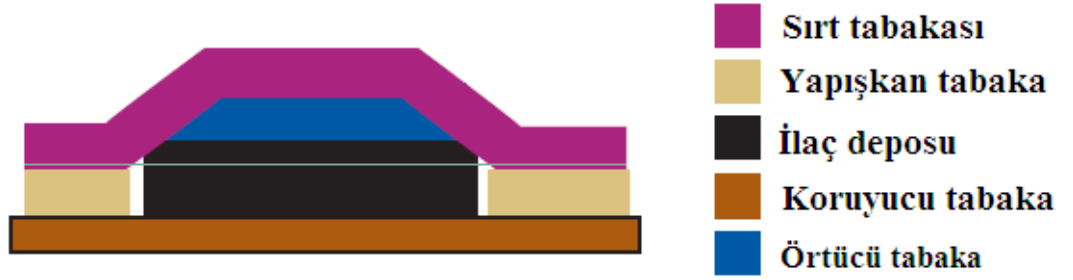
Şekil 4.5. Membran denetimli sistemin yapısı (59)

4.3.7.2. Matriks difüzyon kontrollü sistemler

Bu tipteki transdermal sistemlerde katı ilaç molekülleri, yüzey alanı ve kalınlığı belli hidrofilik veya lipofilik karakterde bir polimer matriks içine dağıtılmıştır. Bu sistemlerde adeziv, polimer sistemin çevresinde bir şerit halinde uygulanmıştır.

İlacın matriksten salımını kontrol eden bir membran bulunmadığından ilaç salımı preparatın uygulandığı yüzey alana bağlıdır. Matriks tipi formülasyonlar, ilacın direkt basınca duyarlı adeziv bir polimerin içerisinde dağıtılması ve bu sistemin geçirgen olmayan bir sırt tabakası ile kaplanmasıyla da hazırlanabilirler (Şekil 4.6).

Minitran (nitrogliserin), Emsam (selejinin), Exelon (rivastigmin), Sancuso (granisetron) ve Oxytrol (Oksibüten) müstahzarları bu sisteme örnektir (56-58).



Şekil 4.6. Matriks difüzyon kontrollü sistemin yapısı (59)

4.3.7.3. Adeziv difüzyon kontrollü sistemler

Bu sistemlerde ilaç deposu, ilacın adeziv polimer içinde dağıtılması ile hazırlanır. En dışta geçirgen olmayan bir sırt tabakası, ortada ilaç deposu ve en altta da ilaç salım hızını kontrol eden adeziv bir tabaka bulunur. Bu tipteki transdermal sistemlerde ilaç salım hızı hem ilacın içinde dağıtıldığı matriks hem de membran tarafından denetlenir. Bu tip sistemler tek tabakalı hazırlanabildiği gibi, çok tabakalı olarak da hazırlanabilir (Şekil 4.7).

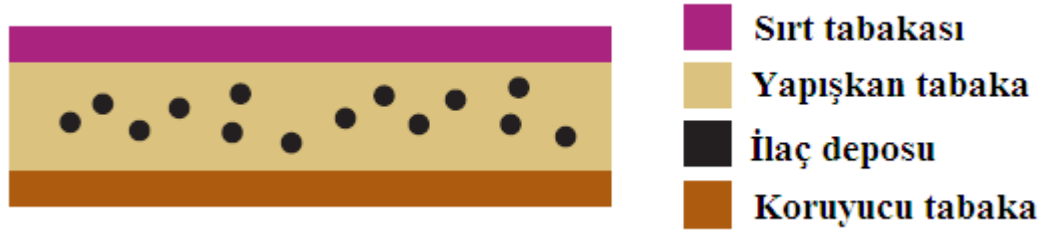
Nitrodur (nitrogliserin), Daytarana (Metil fenidat) ve Duragesic (fentanil) müstahzarları bu sisteme örnektir (56-58).



Şekil 4.7. Adeziv difüzyon kontrollü sistemin yapısı (59)

4.3.7.4. Mikrorezervuar sistemler

Bu sistem rezervuar ve matriks dispersiyon tipinin karışımıdır. Mikroskobik ilaç depocuklarının matriks polimer içinde dağıtılmasıyla hazırlanırlar. Bu depocukları oluşturmak için önce polimerin sulu çözeltisi içinde ilacın süspansiyonu hazırlanır. Bu süspansiyon lipofilik özellikteki bir polimer içine yüksek enerji dispersiyon tekniğiyle dağıtılır. Böylece sistemde binlerce mikroskobik ilaç depocukları meydana gelir. Nitrodisc bu şekilde hazırlanmıştır. Mikrorezervuar tipte hazırlanan sistemden ilacın serbestleşmesi, polimer matrikste ve sıvı kompartmanda ilacın çözünürlüğüne bağlı olarak partiyon kontrollü veya matriks difüzyon kontrollü olarak gerçekleşir (20,57,58).



Şekil 4.8. Mikrorezervuar sistemin yapısı (59)

4.3.8. Perkütan absorpsiyon ölçüm metodları

Perkütan absorpsiyon, in vivo ve in vitro yöntemlerle ölçülebilmektedir. In vivo yöntemlerde in situ olarak insan veya hayvan derileri kullanılırken, in vitro yöntemlerde ise belirli standartlara göre hazırlanan deriler veya sentetik membranlar ile çalışılmaktadır (39,60).

4.3.8.1. In vivo yöntemler

In vivo penetrasyon çalışmalarında hayvan modellerinin kullanılması

In vivo perkütan penetrasyon çalışmalarında en uygun sonuçlar insan gönüllülerle yapılan deneyler ile elde edilmektedir. Ancak, gerek etik problemler,

gerekse de yeterli sayıda gönüllü bulunamaması gibi pratikte karşılaşılan zorluklar, in vivo çalışmalarda insan yerine hayvan kullanımını zorunlu hale getirmektedir (5,28,27,39).

Penetrasyon çalışmalarında kullanılacak hayvanların cilt özelliklerinde, tür farklılıklarından kaynaklanan varyasyonlar oluşabilmektedir. Kullanılacak derinin permeabilitesi de türler arasında farklılık gösterebilmektedir. Permeabilite yüksekten düşüğe doğru tavşan, sıçan, domuz, maymun, insan şeklinde sıralanabilmektedir. Sonuç olarak, hayvanlardan elde edilen penetrasyon sonuçlarının insanlardakinden daha yüksek seviyelerde olması tartışmalara neden olsa da, elde edilen veriler hayvan derilerinin (rhesus maymunları, domuz yavrusu v.b.) in vivo çalışmalarda insan derisi yerine kullanılabileceğini göstermiştir (2,27,60,61).

İnsanlarla yapılan in vivo penetrasyon çalışmaları

İnsanlarda in vivo penetrasyon çalışmalarında deriden geçen ilaç miktarının belirlenmesinde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlardan, plazma ve ifrazat tayini, nefes analizi, *stratum corneum* uygulanan bantla soyma (tape stripping) metodu, mikrodializ ve radyografi en çok kullanılan tekniklerdir (5,26).

Farmakolojik cevabın gözlenmesi: Etkin maddenin canlı dokuya ulaştığında oluşturduğu vazokonstrüksiyon, vazodilatasyon, ve ödem giderme gibi farmakolojik reaksiyonların ölçülmesine dayanır (5,62).

Fizyolojik cevabın gözlenmesi: Etkin madde canlı dokuya ulaştığında oluşan ter bezi sekresyonu, alerji, pigmentasyon ve toksik reaksiyonlar gibi fizyolojik reaksiyonların tayin edilmesine dayanır (5,62).

Vücut dokularının ve sıvılarının analizi: Bu yöntem kan, idrar, feçes ve doku biyopsi örneklerinin analizleriyle, etkin madde ve metabolitlerinin ölçümüne dayanmaktadır (5,62).

Derinin fiziksel özelliklerinin tayini: Derideki su kaybının ölçümü, sıcaklık değişimlerinin ve derinin mekanik özelliklerinin tayinine dayanan bir yöntemdir (5,62).

Eksilen etkin maddenin tayini: Sıvağdan eksilen madde miktarının ölçülmesine dayanan bir yöntemdir, fakat sıvağ miktarının sıcaklık, buharlaşma v.b. dış etkenler yoluyla da azalabilmesi nedeniyle çok sağlıklı bir ölçüm yöntemi değildir. Ayrıca, ilaç miktarındaki azalma ilacın sistemik dolaşımında değil, deri yüzeyinde veya *stratum corneum*da olduğunu göstermektedir (5,62).

Deneysel prosedürler

In vivo çalışmalardaki deneysel prosedürler, uygulama bölgesi ve çalışma tasarımına göre küçük değişiklikler göstermekle birlikte genel olarak aynıdır. Penetrasyon çalışması yapılacak örnek, saf halde, yarı katı bir sıvağ içinde, çözelti şeklinde, gaz halde veya bir parça materyalin üzerine uygulanarak belirlenen bölgedeki cilt yüzeyine uygulanır. Uygulama sonrası perkütan absorpsiyonu belirlemek için çeşitli teknikler kullanılır. Penetre olan ilaç; yüzeyde kalan artıktan, deriden, uygulama bölgesindeki venöz kan drenajından, sistemik dolaşımdan, idrar ve dışkıdan alınan örneklerle tayin edilir (27).

Deriden geçen ilaç miktarı; kalıntı analizi, in vivo deri soyma yöntemi ve mikrodializ yöntemi kullanılarak belirlenmektedir. Alınan numunelerin değerlendirilmesinde ise IR spektroskopisi, ATR- FTIR spektroskopisi gibi çeşitli cihazlar kullanılabilir (5).

4.3.8.2. In vitro yöntemler

Farmakope denetimleri

Transdermal sistemlerden salım deneyleri için Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'nin (FDA) önermiş olduğu sistem kullanılmaktadır. Bu amaçla, tabletlerin denetiminde kullanılan farmakope palet yönteminden (Aparey 2) yararlanılır. Transdermal sistem, çapı 9 cm olan bir saat camının içbükey yüzüne, salım yüzeyi yukarı gelmek üzere yapıştırılır. Üzerine 18 mesh alüminyum tel elek konarak saat camına tutturulur. Bu sistem 900 ml'lik salım kabının dibine yerleştirilir ve sıcaklığı 32 ± 0.5 °C olan distile su eklenir. Palet 2.5 cm yukarıdadır. 50 devir/dakika hızla döndürülür ve değişik zamanlarda örnekler alınarak salınan etkin madde ve salım profili saptanır. Transdermal salım deneylerinde bu yönteme ilaveten, Amerikan

farmakopesi yöntemlerinden; Disk yöntemi (Aparey 5), Silindir yöntemi (Aparey 6) ve İner-çıkarm yöntem de (Aparey 7) kullanılabilir.

Disk yönteminde, yukarda bahsedilen yöntemdeki saat camı yerine paslanmaz çelikten düz bir disk vardır.

Silindir yönteminde, Amerikan Farmakopesi'ndeki döner sepet apareyi (Aparey 1) kullanılır. Ancak sepet yerine paslanmaz çelikten yapılmış, özel şekilli bir silindir vardır. Deney preparat bu silindire tutturularak yürütülür.

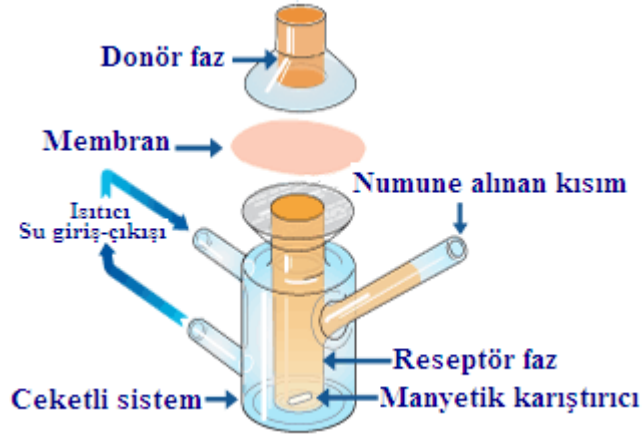
İner-çıkarm yöntem, farmakopedeki dağılma apareyini andıran bir cihazdır. Her transdermal ayrı bir kaptaki çözünme ortamına (32 ± 0.5 °C) özel bir tutturucu ve iner-çıkarm bir düzenekli motor vasıtasıyla dakikada 30 kere daldırılıp çıkarılır. İnme-çıkma genliği 2 cm'dir, belirli zamanlarda alet durdurulup, kaplar alınarak, salınan miktar izlenir (2).

Difüzyon hücreleri ile yapılan denetimler

Perkütan absorpsiyonun in vitro ölçümünde difüzyon hücreleri kullanılır. Bunlar temel olarak donör ve reseptör faz olmak üzere iki bölümden oluşur. Bu bölümler arasında bir deri parçası ya da sentetik bir membran bulunur. Difüzyon çalışmalarında, insan derisi, tüysüz fare derisi, domuz derisi, tavşan derisi v.b. deriler; selüloz asetat, selüloz nitrat, silikon v.b. suni membranlar kullanılabilir (27,28,39).

Franz Hücresi

In vitro difüzyon çalışmalarında en çok kullanılan sistem Franz tipi difüzyon hücresidir (Şekil 4.9). 1975 yılında geliştirilen Franz Hücresi dikey, yatay veya birden fazla hücre bir arada çalışacak şekilde tasarlanmış olabilir (63). Reseptör fazın etrafında sıcaklığın sabit kalmasını sağlayan bir ceket vardır. Bir membran ile iki faz birbirinden ayrılır. Donör fazdan reseptör faza geçen madde miktarı ölçülerek zamana karşı grafiğe geçirilir.



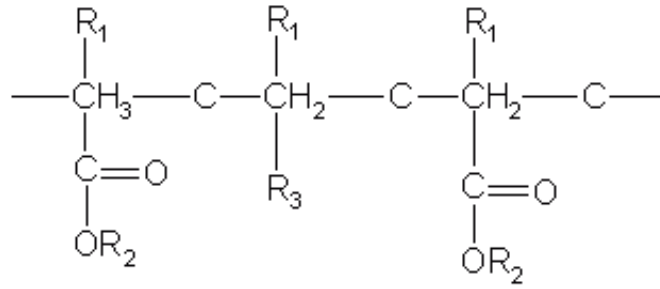
Şekil 4.9. Franz hücresi şeması <http://www.permeagear.com/franz.htm> Erişim tarihi: 13.06.2013

4.4. Eudragit Polimeri ile İlgili Genel Bilgiler

Polimetilmetakrilatlar (Eudragit), yapısında değişen oranlarda dimetil amino etil metakrilat, metakrilik asit ve metakrilik asit esterleri içeren, sentetik, katyonik ve anyonik polimerlerdir. Temel yapısı Şekil 4.10' da gösterilen Eudragit'in, R ile belirtilen bölümlerine çeşitli fonksiyonel gruplar bağlanarak değişik tipleri meydana gelmektedir. Eudragitler fonksiyonel kategori olarak; film oluşturucu, tablet bağlayıcı ve tablet dilüenti olarak kullanılmaktadır (64-66).

Tip E, L, S, RL, RS, E30D, L30D, NE gibi birçok *Eudragit* tipi mevcuttur (64-66). E tipi genellikle bağlayıcı ve film yapıcı, L ve S tipleri film kaplama ajanı, RL ve RS ise suda çözünmeyen tablet filmleri ile geciktirilmiş salım amacıyla kullanılmaktadır (67).

Literatürde Eudragit'in matriks tipi transdermal terapötik sistemlerde taşıyıcı polimer olarak kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Ayrıca yine transdermal terapötik sistemlerde, yüksek miktarlarda kullanılan etkin maddenin kristalizasyonunu önlemek amacıyla kullanıldığı çalışmalar da mevcuttur (64-66,68,69).



R1 = CH3; H
 R2 = CH3, CH3CH2
 R3 = COOH (Eudragit® L and S)
 R3 = COOCH2CH2N (CH3)3Cl- (Eudragit® RL and RS)

Şekil 4.10. Eudragitlerin kimyasal yapısı (68)

Eudragit RL ve Eudragit RS: Etil akrilat, metil metakrilat ve katerner amonyum gruplarıyla birlikte metakrilik asit esterlerini düşük oranda içeren kopolimerlerdir. Amonyum grupları yapıda tuz olarak bulunur ve yapıdaki geçirgenliği sağlayan da budur. Eudragit RL %10 fonksiyonel katerner amonyum grubu içerirken, Eudragit RS'de bu oran % 5 civarındadır (70). Amonyum tuzları polimerlerin pH'dan bağımsız permeabilite göstermelerini sağlamaktadır. Her iki polimer de suda çözünmez, ancak yapılarındaki katerner amonyum grupları nedeniyle suya karşı belli oranda afiniteye sahiptirler. Yapılarındaki katerner amonyum oranı nedeniyle Eudragit RL tiplerinin geçirgenliği Eudragit RS'ye göre daha yüksektir (64-66,71).

Eudragit RL ve Eudragit RS, uzatılmış etkili suda çözünmeyen film kaplamaların ve uzatılmış etkili matriks yapıların hazırlanması için uygundur. Karışımları kullanılarak ilaç salım hızları denetlenebilir (64,65).

4.5. Vertigo ile İlgili Genel Bilgiler

Vertigo hastanın yaşam kalitesini önemli ölçüde düşüren ve sıklıkla rastlanan bir semptomdur. Merkezi sinir sisteminde özellikle de vestibüler sinirin çekirdeğinde, serebellum, serebellar ve vestibüler çekirdek arasındaki bağlantılarda meydana gelen hasarlardan kaynaklanabilir (72). Daha sıklıkla vestibüler sinir ve vestibüler koklear sistemdeki rahatsızlıklardan ileri gelir ve nadiren vasküler kaynaklıdır.

Vertigosu olan hastalarda mide bulantısı, kusma, terleme, bayılma, kulak çınlaması şikayetleri olur. Rotasyonel ve pozisyonel vertigo, sistematik dengesizlik veya instabiliteyi içeren denge bozuklukları hastaların sosyal hayatlarında negatif sonuçlara sebep olabilir ve önemli ölçüde engelleyici olabilir.

Vertigonun başlıca çeşitleri; *benin paroksizmal pozisyonel vertigo*, *vestibüler nörinit* ve *Ménière* hastalığıdır, fakat vertigonun gerçek sebebi hala tam bilinmemektedir. Çoğu hastada vertigo semptomlarının karakter ve şiddetinin sürekli olarak değişmesi hastalığı daha karmaşık hale getiren bir faktördür (72-74).

4.5.1 Pozisyonel Vertigo

Pozisyonel vertigo genellikle benin vestibüler bozukluğun göstergesidir. En sık rastlanan tipi; oturur pozisyondayken olduğu kadar yatar pozisyonda da hissedilen baş dönmesi ile karakterize *benin paroksizmal pozisyonel vertigo*dur. Baş dönmesi, başı bir yönden diğer tarafa çevirirken veya boyunu esnetmek ya da uzatmaktan meydana gelebilir.

Hastanın başı sağ ya da sola doğru aşağı yatırıldığında ortaya çıkan döner nistagmus (göz titremesi) ile hastalığın tanısı konulabilir. Gerçek sebebine bakmadan, etkili bir tedavi ile vertigo ataklarının sıklık, şiddet ve süresinin azaltılması gerekmektedir. Bu durum oldukça rahatsızlık vericidir ve aylarca sürebilir. İlaç tedavisi ilk birkaç gün diazepam gibi sedatif ilaçlarla yapılabilir (72-74).

4.5.2. Vestibüler nörinit

Ani tek taraflı vestibüler fonksiyon kaybı da denebilen bu rahatsızlık, ani şiddetli baş dönmesi, etkilenen kulaktaki kalorik cevabın alçılması veya kaybı ve spontan yatay-döner nistagmusun sağlıklı kulak tarafına doğru çarpması ile karakterizedir. Hastalar için sıkıcı olan bu durum ilk 3-4 gün sedasyon gerektirir. En kısa zamanda vestibüler egzersize başlanmalıdır (72-74).

4.5.3 Ménière hastalığı

İç kulağın hem vestibüler hem de koklear kısımlarının çoğunlukla tek taraflı fonksiyonel lezyonu ve hastalığın erken ve geç aşamalarındaki tipik odyometrik işaretler gibi hastanın tipik hikayesiyle karakterizedir (72,75).

Kulak çınlaması, baş dönmesi ve işitme kaybı ile ortaya çıkan bir iç kulak hastalığıdır. Endolenfin (iç kulaktaki membranöz labirentin içindeki sıvı) fazlalığı ve labirentin (vestibül, koklea ve kanallardan oluşan iç kulak) dilatasyonu nedeniyle oluştuğu düşünülür. Baziler zar (iç kulaktaki kokleada tüysü hücrelerin yer aldığı zar) şekli değişir, yarım daire kanalları basınçtan etkilenir ve bazı koklear tüysü hücreler dejenere olur. Yıllarca tekrarlayan ataklardan sonra hastada kalıcı kulak çınlaması veya işitme kaybı oluşabilir (76)

Betahistin intravenöz ve iyontoforetik uygulama ile doza bağımlı olarak lateral vestibüler çekirdekdeki monosinaptik sinirlerde olmasa da polisaptik I sinirlerinin vestibüler sinir uyarımında elektrostimülüs oluşumunu inhibe eder. Bu inhibisyon hedef hücrelerde ve beyin sapında kan akışındaki artış gibi indirekt etkinin sonucu değildir (77).

Betahistinin antivertigo etkisi bu nedenle lateral vestibüler çekirdeğin polisaptik sinirlerine olan kitlesel uyarıların durdurulmasının bir sonucu olarak açıklanır (77).

4.6. Histamin ve Betahistin Tedavide Kullanılışı

Histamin, vazodilatasyon özelliğinden dolayı vertigonun tedavisinde ve vasküler kaynaklı olduğu düşünülen diğer iç kulak problemlerinde geçmişte yaygın olarak kullanılmıştır (78). Tedavide doz aralığının dar olması, doz ayarlanırken çok hassasiyet gerektirmesi ve dozun sık tekrarlanması gerekliliği, ayrıca parenteral yolla kullanım zorunluluğu gibi zorluklar histamin kullanımını kısıtlamıştır.

Histaminin farmakolojik ve yapısal analogu olan betahistin dihidroklorür oral yoldan alınabilme kolaylığı ve terapötik aralığının geniş olmasıyla histamine göre daha üstündür (78,79).

Betahistin dihidroklorür [N-Metil-2-(2-piridil) etilamin dihidroklorür] yapısında histamin analogu bir maddedir. Histamindeki imidazol halkası yerine piridin halkası içerir. Histamine göre daha uzun vazodilatör etki gösterir. Diamin oksidaz inhibitörü olarak kullanılır (80-83).

Betahistin kan damarı duvarlarındaki siklik adenosin monofosfat (cAMP) seviyelerini artıran, beyindeki histaminerjik histamin 1 ve histamin 2 reseptörlerini uyarır. Sonuç olarak özellikle beyindeki kan akışı vazodilatasyon ile artar (72,75).

Betahistin kısmen zayıf H₁ agonist etkiye sahiptir ve H₂ aktivitesi neredeyse hiç yoktur. Bazı santral sinir sistemi davranışlarında aktif olduğu rapor edilmiştir ayrıca serebral ve periferik vazodilatör olduğu gösterilmiştir. Zayıf H₁ agonist etkileri onun farmakolojik profilini açıklamaz.

Betahistin sadece H₁ reseptörlerini direkt olarak etkilemekle kalmaz ayrıca sinir uçlarından histamin ve diğer transmitterlerin salımını da artırır (84).

Farmakolojik etkisini presinaptik H₃ reseptör ile olan etkileşimden aldığı muhtemeldir.

H₃ reseptörün inhibitör otoreseptör olması ve betahistin H₃ reseptör antagonisti olması nedeniyle betahistin, oto-geri bildirim mekanizmasını inhibe eder böylece serbestleşmiş olan histaminin etkisini uzatır. Histaminin en önemli anti-vertigo etkisinin serebral ve iç kulaktaki kan akışındaki etkiyle olduğu düşünülmektedir (78,79).

Betahistin reseptör bağlanma afinitesi profili H₁ ve H₃ reseptörleri için kalitatif olarak histamin ile yakınlık gösterir. Bu da histaminerjik sistemin nörotransmitter düzenleyicisi olarak görev aldığı gösterir (85). Araştırmalarda *stria vascularis* ve *spiral ligamentin* arteryovenöz geçitleri, arteriyoller ve kapillerleri içeren iç kulaktaki koklear ve vestibüler sistemlerde mikrodolaşımı artırdığı bulunmuştur (79,80).

Betahistin mikroyontoferik uygulanması ile rotasyon indüklü tip I medial vestibüler çekirdek nöronlarının ateşlenmesini inhibe edilmiştir (86).

Deneysel olarak betahistin, intravenöz verilmiş sonrasında serebral ve periferik vazodilatasyon ile vertebobaziler arteriyel sistemde kan akışında % 54'e yakın artış sağlamıştır (87).

Betahistin, lateral vestibüler çekirdeğin polisinaptik sinirlerine olan kitlesel impulsları, sedatif bir etki göstermeksizin inhibe eder (75).

Periferik vertigo ve *Ménière* hastalığında yaygın olarak kullanılmaktadır. Farklı nedenlerle oluşan vertigoda atakların sıklık, şiddet ve süresini azaltır ve bu şikayetlerin standart tedavisi olarak kabul edilmiştir (72,88,89).

36 hafta çift kör-çapraz çalışmada *Ménière* hastalığının tedavisinde özellikle de vertigonun kontrolünde uygun bir terapötik ajan olarak kabul edilmiştir. Vertigo başta olmak üzere, kulak çınlaması ve sağırılık gibi semptomlarının tamamında çok önemli ölçüde iyileşme sağlamıştır (78,89).

Kobaylarda betahistin konsantrasyona bağlı olarak (muhtemelen kan basıncında ve lokal mikrodolaşıma ait vazodilatasyonda artıştan kaynaklanan) lokal vestibüler kan akışını arttırdığı gösterilmiştir (90).

Vertebral baziler arter yetersizliklerinden kaynaklanan geçici iskemik atak sıklığını azaltmada Betahistin HCl' in etkinliğinin test edildiği başka bir çalışmada, 26 hastada çift kör plasebo kontrollü olarak oral yolla 4 mg ilaç günde 4x2 şeklinde verilmiştir ve sonuçta palyatif olarak kullanılması önerilmektedir (83).

Bunun dışında farklı sebeplerden kaynaklanan baş ağrılarında, yatak yaralarında arteriyosklerozda ve demansta tedavi ajanı olarak kullanıldığında faydalı etkileri görülmüştür. Vazodilatör olarak *Ménière* hastalığında ve beyne ait arteriyosklerozda büyük olasılıkla artan kan akışı nedeniyle olumlu sonuçları olduğu bulunmuştur (83, 91). Serebrovasküler hastalıklarda bölgesel serebral kan akışını artırmış ve yaşlı hastalarda zihinsel fonksiyonları önemli ölçüde geliştirmiştir (92,93). Bu da betahistin arka beyni besleyen vertebrobaziler arteriyel sistemdeki kan akışını artırmada ve iç kulak ve vestibüler sistemdeki mikrodolaşımı düzenlemede etkili olduğunu göstermektedir (78,87).

Betahistin labirentteki mikrodolaşımı artırarak endolenfatik basıncı azaltır; vertigo, kulak çınlaması ve *Ménière* hastalığının eşlik ettiği duyma kayıplarında kullanılmaktadır (94).

Hayvan modellerinde intravenöz betahistin belirgin bir şekilde koklear kan akışını artırdığı ve sistemik kan basıncını azalttığı görülmüştür, sistemik etkiler

ayrıca koklear damar iletkenliğinde artış ile sonuçlanmıştır. Koklear kan akışındaki etki doza bağımlı olarak gerçekleşmiş ve koklear damar sisteminde sistemik damar yatağına göre daha fazladır (95).

Betahistin histaminerjik sistemdeki etkileri histidin dekarboksilaz (histamin sentezleyen enzim) için mRNA ölçümü ile test edilen bir çalışmada kedilere oral yolla 1-3 hafta 50 mg/kg betahistin verilmiştir. Sonuçta histidin dekarboksilaz ekspresyonu belirgin derecede artmış ve [³H] N- α -metilhistaminin (Histamin H₃ reseptör agonisti) histamin H₃ reseptörlerine bağlanma yoğunluğu azalmıştır. Bu bilgi betahistin histamin H₃ reseptörlerini bloke etme vasıtası ile histamin sentezini artırdığını göstermektedir. Histaminerjik sistemdeki bu etki vertigo ve vestibüler hastalıkların tedavisinde betahistin etkinliğini açıklar (82).

Klinik açıdan betahistin hızlı etki başlangıcı ve uzun etki için günde 48 mg olarak verilmektedir. Kedilerde yapılan çalışmada betahistin farklı dozları farklı sürelerle uygulanmıştır.

Betahistin düşük dozları ancak uzun süreli kullanım söz konusu olduğunda, histidin dekarboksilazın (histamin sentezleyen enzim) mRNA ekspresyonunda önemli artış göstermiştir (1 hafta 50 mg kullanım ile 3 ay boyunca 2 mg kullanımda aynı etki görülmüştür). Klinikte betahistin ile uzun süreli tedavi önerilmektedir. Bu yaklaşım özellikle de tek taraflı vestibüler hasarı olan kişilerde faydalı olabilir (96).

Ménière hastalığındaki vertigo ataklarının tedavisinde betahistin düşük doz ve kısa süreli tedaviye kıyasla yüksek doz ve uzun süreli kullanımı daha etkili bulunmuştur (97). Benin paroksizmal vertigoda betahistin kullanımı ile semptomların devamlılığının azaldığı görülmüştür (98).

Ménière hastalığı veya paroksizmal pozisyonel vertigosu olan hastalarda betahistin günde 16 mg x 2 şeklinde verilmiştir. Üç ay boyunca yapılan çalışmada vertigo ataklarının sıklık, şiddet ve süreleri değerlendirilmiş ve plaseboya karşı önemli etkisi olduğu görülmüş, vertigoda güvenli ve etkin bir tedavi olarak değerlendirilmiştir (99).

Klinik uygulamalarda H₁ antihistaminik ilaçlar (birinci kuşak) sürekli alındığında vücut ağırlığında artışa neden olmuştur. Sıçanlarda yapılan çalışmada

sistemik (i.p.) verilen betahistin besin alımını azalttığı gözlenmiştir. Betahistin H₃ reseptör aktivitesini inhibe etmesi ile histamin sentez ve serbestleşmesi arttığı, sonrasında histaminin H₁ reseptörler vasıtası ile histaminerjik nöron aktivitesini artırması sonucu besin alımının azaldığı düşünülmektedir (100,101).

Keçilerde yapılan başka bir çalışmada histamin H₁ reseptör agonisti olan betahistin intraperitoneal olarak verildiğinde doza bağımlı olarak su alımını artırdığı ve besin alımını azalttığı belirtilmiştir (102). Dolayısıyla insanlarda obeziteye karşı kullanımına yönelik çalışmalar da umut vaat etmektedir (103).

Reçete Ücret Belirleme Otoritesinden alınan bilgiye göre 2007 yılında İngiltere’de her ay 113000 reçetede Betahistin yazılmıştır. Bu da nüfusun yaklaşık % 0,2’sidir (104).

Betahistin dihidroklorürün 8 mg ve 16 mg ve yeni piyasaya çıkmış 24 mg etkin madde içeren tablet formları mevcuttur. Tedavinin gün içinde üçe bölünmüş dozlar şeklinde alınması ve günlük dozun 48 mg’den fazla olmaması tavsiye edilir.

Peptik ülser şikayeti ve öyküsü olan kişilerde kullanılmamalıdır. *Ménière* hastalığının başlıca semptomları olan baş dönmesi (mide bulantısı ve kusma ile birlikte), kulak çınlaması, baş ağrısı ve duyma kaybı gibi durumlarda ayrıca vestibüler vertigoda endikedir. Dozaj cevaba göre adapte edilmelidir.

Bazen iyileşmenin başlaması çok yavaş olur ve ancak birkaç haftalık tedaviden sonra belirginleşir, optimal sonuçlar ancak birkaç aylık tedaviden sonra elde edilir. Hastalığın başında tedaviye başlamanın hastalığın ilerleyişini durdurduğuna ve/ veya sonraki aşamalarda oluşacak işitme kayıplarının önlenmesine dair bilgiler mevcuttur (105).

Betahistin farmakokinetik özellikleri sık alınmasını gerektirmektedir, plazma seviyesini %20 değişim aralığında tutmak için gerekli uygulama aralığı (Δt) aşağıdaki formülle ifade edilmiştir (106):

$$\Delta t = t_{maks} + 1/3 \times t_{1/2}$$

Δt = İlacın verilişindeki zaman aralığı

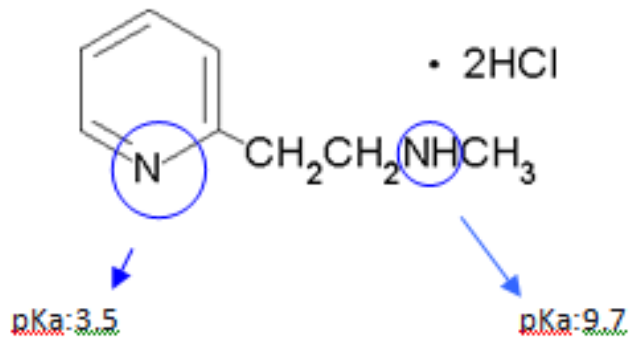
t_{maks} = Maksimum konsantrasyona ulaşmak için gerekli zaman

$t_{1/2}$ = Biyolojik yarı- ömür

İlacın 3,5 saat yarı ömür ve 1 saat t-maks süresi deneylerle bulunmuş ve sonuçta;

$\Delta t = 2$ saat 10 dakika olarak hesaplanmıştır.

Bu hesaba dayanarak literatürde bu ilacın uzun etkili “*Sustained Release*” formülü hazırlanması gerekli görülmüş ve konvansiyonel tablet ile karşılaştırılmıştır (106).



Şekil 4.11. Betahistin dihidroklorürün yapısal formülü

Betahistin dihidroklorür (Şekil 4.1), erime derecesinin 200°C’ den düşük olması (150-154°C), yarı ömrünün 3- 5 saat olması, günde 3 kez alınmayı yani sık dozlamayı gerektirmesi, molekül ağırlığının 400 Dalton’dan küçük olması (209,1), günlük terapötik dozunun düşük olması (24- 48 mg) ve peptik ülserli hastalarda oral yoldan kullanılamaması nedeniyle transdermal terapötik sistem hazırlamak için uygun bir etkin maddedir. Bu şekilde optimal bir tedavi sağlanabilir ve hasta rahatı ve uyuncu artar (80,107-109).

Piyasadaki oral formlar betahistin dihidroklorür tuzu kullanılarak hazırlanmıştır. Betahistin baz formu ise sıvıdır. Molekül ağırlığı 136,2 Dalton'dur ve tuz formu gibi suda çözünür. Molekül ağırlığının daha düşük olması ve erime derecesinin tuz formuna göre daha düşük olması deriden geçiş için daha uygun görünmektedir (43, 110).

Betahistin log P değeri 0,68 ve pKa değerleri 3,5 ve 9,7'dir (110,111). Betahistin tuz formunun sulu çözeltisinin pH'sı 2- 3 civarında iken baz formunun sulu çözeltisinin pH'sı 8-9'dur. Deriden geçişte bazik özellik taşıyan maddeler ile olumlu sonuçlar elde edilmiştir.

Terodilinin tuz formu ve tuzdan elde edilen baz formu ile yarı-katı transdermal formülasyonlar hazırlanmış ve tam kalınlıkta sıçan derisi ve *stratum corneum*dan geçişleri farklı sıcaklıklarda kıyaslanmıştır. *Stratum corneum*dan geçişte her bir sıcaklık için baz formu tuz formuna göre daha yüksek akı göstermiştir (112).

Betahistin oral veriliş sonrasında insan plazmasında hassas olarak tayin edildiği bir çalışmada ise; 24 mg betahistin mesilat tek dozda oral yolla verildikten sonra bütün gönüllülerde betahistin plazma konsantrasyonu 0,5 ng/ml'den az bulunmuştur. Bu da neredeyse tamamen gastrointestinal sistem ve karaciğer mikrozomal enzimleri ile ilk-geçiş metabolizmasına uğradığını göstermektedir (113).

Bu veriler betahistin deri yoluyla sistemik etkili transdermal terapötik sistemlerinin hazırlanmasının anlamlı olacağını göstermektedir.

Betahistin deriden geçişle ilgili 1990'lı yıllarda bazı çalışmalar yapılmış, ancak bu çalışmalarda yarı katı formülasyonlar denenmiştir.

Betahistin yarı katı formülasyonları hazırlanarak, sıçan derisinden *ex vivo* perkutan penetrasyon ve *in vivo* perkutan absorpsiyonu kıyaslanmış ve değerlendirilmiştir. Betahistin deriden geçmiş ve penetrasyon artırıcı kullanılan formülasyon ile sabit kan seviyesi elde edilebilmiştir.

En uygun görülen formülasyon ile 48 saat sürecinde 300- 475 ng/ ml aralığında betahistin kan konsantrasyonu izlenmiştir. Jel formülasyonlarda betahistin %3- 6 aralığındaki konsantrasyonlarda kullanılmış (12-24 mg betahistin içerecek şekilde 3,14 cm² alanda uygulanmış), *in vitro* sonuçları en düşük değerleri verse de *in vivo*

sonuçlarda lipit dispers sistem içeren yarı katı formülasyon en yüksek ve uzun etkili kan konsantrasyonlarını sağlamıştır (109).

Ogiso ve arkadaşları başka bir çalışmada Wistar ve tüysüz sıçanların d-limonen ve laurokapramın penetrasyon artırıcı olarak kullanıldığı benzer yarı katı formülasyonlar hazırlayarak değerlendirmişlerdir. Jellerdeki lipozom varlığında ve yokluğunda betahistin'in geçişi değerlendirilmiş, lipozomların geçişi artırma mekanizması açıklanmıştır (114).

Aynı yıl yaptıkları başka bir çalışmada ise sıçan *stratum corneum* lipitlerinin faz geçişleri ve ilaç penetrasyonu ile faz hallerinin ilişkisi değerlendirilmiştir. Sıcaklık artışı, lipofilik ilaçların (betahistin, estradiol, indometazin) derideki difüzyon katsayısındaki artış ile ve gecikme zamanındaki azalma ile deriden akısını (J_s) artırmıştır.

Bu ilaçların deriden geçişi için hesaplanan aktivasyon enerjisi (ΔE) 17-40 kcal/mol aralığındadır ve sıcaklık arttıkça bu üç ilacın da geçiş için gerekli olan bu enerjileri azalmıştır. Verilerden hareketle sıçan *stratum corneum* lipitleri 39°C'nin altında jel-kristal, 39°C-64°C arasında mezomorfik fazda ve 64°C üzerinde sıvı-kristal fazda bulunmaktadır. Sonuç olarak bu lipofilik ilaçların permeabilitesi hücrelerarası lipitler düzensizleştikçe artmaktadır. Bu ilaçlar *stratum corneum*daki lipoidal yolu kullanmaktadırlar (115).

Aynı grubun çalışmalarının devamında d-limonen ve *n*-oktil- β -D-tiyoglikozit (OTG) penetrasyon artırıcı olarak kullanılarak yine yarı-katı (lipozom içeren jeller) formülasyonlar hazırlanmıştır. Lipit karışımlar ve yalın lipozomlar değerlendirilmiştir. Yumurta fosfatidil kolin (EPC), kolesterol ve disetil fosfat ile hazırlanan lipit dispers sistemlerin partikül boyutlarının, betahistin'in perkutan absorpsiyonuna etkisi incelenmiştir. Partikül boyut değişiminin geçişte bir rolü olmadığı ve yalın lipozomlar ve lipit karışımlara kıyasla en iyi geçişin yumurta fosfatidil kolin lipozomları (EPC-LDS) ile olduğu görülmüştür. Lipozomların perkutan absorpsiyonu artırma mekanizması; bunların lipit yapı ile elektrostatik etkileşime girmeden korneositler ve foliküller boyunca kolaylıkla geçebilmesi ve derin lipit tabakaya ulaşarak bu bölgedeki lipitler tarafından kısmi füzyona uğraması şeklinde olduğu sonucuna varılmıştır (116).

Literatürde bunların dışında bir çalışmaya rastlanmamıştır, ayrıca betahistin insan derisinden geçişi hakkında bir yayın da olmadığından, planlanan çalışma aynı zamanda literatürdeki bu eksiği de kapatacak nitelikte olacaktır.

4.7. Betahistin Dihidroklorür Müstahzarları

4.7.1. Betahistin dihidroklorürün Türkiye'deki müstahzarları

<u>Kullanıldığı Müstahzar</u>	<u>Firma</u>
Betaserc Tablet 16 mg	ABBOTT
Betaserc Tablet 24 mg	ABBOTT
Betaserc Tablet 8 mg	ABBOTT
Betateva Tablet 8 mg	MED-İLAÇ
Moreserc Tablet 16 mg	HELBA
Moreserc Tablet 24 mg	HELBA
Rotastin BID Tablet 24 mg	TRIPHARMA
Vasoserc BID Tablet 24 mg	ABDİ İBRAHİM
Vasoserc Fort Tablet 16 mg	ABDİ İBRAHİM
Vasoserc Tablet 8 mg	ABDİ İBRAHİM
Vertiserc Tablet 16 mg	RECORDATI İLAÇ
Vertiserc Tablet 8 mg	RECORDATI İLAÇ
Vestibo Tablet 16 mg	ACTAVIS
Vestibo Tablet 24 mg	ACTAVIS
Vestibo Tablet 8 mg	ACTAVIS

4.7.2. Betahistin dihidroklorürün dünyadaki müstahzarları

<u>Kullanıldığı Müstahzar</u>	<u>Firma</u>
Antivom Tablet 8 mg,16 mg, Oral Sol. Damla 8mg/ml	UNIPHARMA (Yunanistan)
Avertin Tablet 8 mg, 16 mg, 24 mg	AVEFARM (Çek Cumhuriyeti)
Betagen Tablet 8 mg, 16 mg	GENERICS (Macaristan)
Betahistop Tablet 8 mg, 16 mg	TOPGEN (Belçika)

Betaserc Tablet 8 mg, 16 mg, 24 mg	SOLVAY (Avusturya, Belçika, Çek Cumhuriyeti, Danimarka, Finlandiya, Fransa, Hollanda, İsviçre, Macaristan, Polonya, Portekiz, Rusya, Yunanistan)
Betistine Tablet 16 mg	RAFA (İsrail)
By-Vertin Tablet 8,16 mg	ERGHA (İrlanda)
Docbetahi Tablet 8,16 mg	DOCPHARMA (Belçika)
Elven Tablet 8 mg, 16 mg	AVTAVIS (Macaristan)
Fidium Tablet 8 mg, Damla 8 mg/ml	ROTTAPHARM (İSPANYA)
Histimerck Tablet 8,16 mg	GENERICS (Polonya)
Lectil Tablet 8 mg, 16 mg, 24 mg	BOUCHARA-RECORDATI (Fransa)
Microser Tablet 8 mg, 16 mg, 24 mg, damla 12,5 mg/ml	FORMENTI (Çek Cumhuriyeti, İtalya, Macaristan, Polonya)
Polvertic Tablet 8 mg, 16 mg, 24 mg	MEDANA (Çek Cumhuriyeti)
Riva Tablet 8 mg, 16 mg, damla 8 mg/ml	INTERMED (Yunanistan)
Serc Tablet 8 mg, 16 mg, damla 8 mg/ml	SOLVAY (Fransa, İngiltere, İrlanda, İspanya, Kanada)
Sincrover Tablet 8 mg, 16 mg	CT (İtalya)
Vasomotal Tablet 8 mg, 16 mg, 24 mg, damla 8mg/ ml	SOLVAY (Almanya)
Vertigon Tablet 8 mg, 16 mg	GERARD (İrlanda)
Vertin Tablet 8 mg, 16 mg	SOLVAY (Hindistan)
Vertiserc Tablet 8 mg, 16 mg, 24 mg, damla 8mg/ ml	SOLVAY (İtalya)
Vestibo Tablet 8 mg, 16 mg, 24 mg	ACTAVIS (Rusya)
Zenostig Tablet 8 mg, 16 mg, 24 mg	OZONE (Çek Cumhuriyeti)
Agiserc 16 mg	AGİS (İsrail)

4.8. Betahistin Mesilat Müstahzarları

Kullanıldığı Müstahzar

Aequamen Tablet 6 mg, 12 mg, 20 mg retard

Betavert Tablet 6 mg

Extovyl Kapsül 12 mg

Merislon Tablet 6mg, 12 mg

Ribrain Tablet 6mg, 12 mg

Firma

ALTANA (Almanya)

HENNIG (Almanya)

DEXO (Fransa)

EİSAİ (Japonya)

GALENİCA (Yunanistan)

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Gereç

5.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Betahistin Dihidroklorür	(Abdi İbrahim İlaç Sanayii A.Ş.)
2-(2-Metilaminoetil) piridin (Betahistin Baz)	(Sigma Aldrich)
<i>Eudragit RL 100</i>	(Röhm Pharma)
<i>Eudragit RS 100</i>	(Röhm Pharma)
Trietil Sitrat	(Sigma Aldrich)
Propilen Glikol	(Sigma Aldrich)
PEG 400	(Merck)
Gliserin	(Riedel de Hæn)
Aseton	(Sigma Aldrich)
Etil Alkol	(Riedel de Hæn)
Metanol (gradient grade)	(Merck)
Fosforik Asit	(Merck)
Asetik Asit	(Sigma Aldrich)
Sodyum-1 heptan sülfonat	(Sigma Aldrich)
4- Aminoantipirin	(Sigma Aldrich)
KH ₂ PO ₄	(Merck)
NaOH	(Merck)
NaCl	(Merck)
Sodyum karbonat	(Merck)
Poliizobütilen	(Dandy Sakız ve Şekerleme A.Ş.)
n-hekzan	(Merck)
Dietil eter	(Sigma Aldrich)
Diklorometan	(Sigma Aldrich)
Üretan	(Sigma Aldrich)
Kloroform	(Merck)
Oktanol	(Merck)
Hekzanol	(Merck)

Dekanol	(Merck)
İzotonik Sodyum Klorür Çözeltisi	(Eczacıbaşı- Baxter)
Ringer Çözeltisi	(Eczacıbaşı- Baxter)
Dekstroz %5	(Eczacıbaşı- Baxter)
Heparin Çözeltisi	(Nevparin, Mustafa Nevzat)
Ultra Saf Su	(Millipore, Milli-Q)

5.1.2. Kullanılan araç ve gereçler

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi	(Agilent 1100- Diode Array Detektör)
UV Spektrofotometre	(Schimadzu UV Mini- 1240)
Çözünme Hızı Tayin Aleti	(Sotax AT 7 Smart)
Fourier Transform Infrared (FTIR)	(Schimadzu FTIR- 8400S)
Fourier Transform Infrared (FTIR)	(Perkin Elmer Spectrum One)
DSC	(DSC Q 100 TA Instrument)
Ultrasantrifüj	(Hettich)
Erime Derecesi Tayin Cihazı	(Schmelzpunktbestimmer SMP II)
Terazi	(Schimadzu AX 120)
Çalkalayıcı Su Banyosu	(GFL)
Mekanik Çalkalayıcı	(Gerhardt)
Manyetik Karıştırıcı	(RO 5 power IKA Labortechnik)
Vorteks Karıştırıcı	(LMS Lab. Med. Supl. VTX-3000L)
Ultrasonik Banyo	(Ultrasonic LC 30)
Etüv	(Mettler)
pH Metre	(Mettler Toledo)
Termostatlı Isıtıcı	(VWR)
Rotaevaporatör	(Buchi RE 111 Rotavapor)
Milli Q-Ultra Saf Su Cihazı	(Millipore)
Distile Su Cihazı	(GFL)
Dijital Kumpas(0- 150mm)	(Bochem)
Franz Difüzyon Hücresi	(Borucam)
Süzme Sistemi	(Millipore)

Azot Gazı	(Linde)
Kromasil C18 Kolon	(150 x 4.6 mm i.d. HiChrom)
Mikropipetler	(Eppendorf)
Hidrofilik (HVLP) Filtre	(Millipore)
Selüloz Membran	(Sigma)
Release Liner 1022	(3M Scotchpak)
Foam Tape 9772 L	(3M)
Deri Zımbası 25 mm	(İzeltaş)
PE 50 ve PE 10 Polietilen Kanül	(Clay Adams)

5.1.3. Kullanılan bilgisayar programları

Microsoft Excel 2003-2007

Microsoft Word 2003-2007

Agilent Chemstation (HPLC analizinde)

PK Solver: An add-in program (in vivo hesaplamalarda kinetik programı)

5.1.4. Destekleyen kuruluş

Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)

Proje No: 110S008 (Hızlı Destek Projesi 1002)

5.2. Yöntem

5.2.1. Betahistin dihidroklorür üzerinde yapılan çalışmalar

5.2.1.1. FTIR spektrumu

Betahistin dihidroklorürün FTIR spektrumu için Shimadzu FTIR- 8400S cihazı kullanıldı.

5.2.1.2. Erime derecesi tayini

Kuru haldeki betahistin dihidroklorür, kılcal tüp içine bir sütun oluşturacak şekilde yerleştirilerek erime derecesi tayin cihazında erime derecesi belirlendi.

5.2.1.3. Ultraviyole (UV) spektrumu

Miktar tayini ve *in vitro* çözünme hızı çalışmalarında kullanılacak olan spektrofotometrik yöntem için betahistin dihidroklorürün UV spektrumu alındı.

Betahistin dihidroklorür tayini için UV ölçümleri, havası alınmış (degaze edilmiş) distile su kullanılarak yapıldı. Bu amaçla, betahistin dihidroklorür 10 mg tartıldı ve distile suda çözündürülerek 100 ml'ye tamamlandı. 100 µg/ml'lik stok çözeltilerden 5 ml alınarak 20 ml'ye seyreltildi. Elde edilen 25 µg/ml konsantrasyondaki çözeltilerin 190-300 nm dalga boyu aralığında UV spektrumu alınarak en yüksek absorpsiyon verdiği dalga boyu saptandı.

5.2.1.4. Miktar tayini

Betahistin dihidroklorür içeren transdermal formülasyonların *in vitro* çözünme hızı tayininde UV spektrofotometrik yöntem kullanıldı ve betahistin dihidroklorürün miktar tayininde bu yöntemden yararlanmak için valide edildi.

5.2.1.5. Spektrofotometrik yöntem validasyonu

Analitik yöntemin validasyonu, bir test yönteminin belirli koşullar altında kesin ve doğru bir şekilde sürekli olarak bekleneni gerçekleştirdiğinin kanıtlanmasıdır (70).

Çalışmada kullanılan spektrofotometrik yöntem validasyonu için doğrusallık (linearity), kesinlik (precision), doğruluk (accuracy), seçicilik (specificity) ve stabilite (stability) çalışmaları yapıldı.

5.2.1.5.A. Doğrusallık

Bir analitik yöntemin doğrusallığı, elde edilen bulguların örnek çözeltilisindeki madde konsantrasyonu ile orantılı sonuçlar verebilmesidir (117-119).

Betahistin dihidroklorür 10 mg tartıldı, ultrasonik banyoda 15 dakika bekletilerek havası alınmış distile suda çözüldürüldü ve 100 ml'ye tamamlandı. 100 µg/ml'lik bu stok çözeltiliden distile su ile gerekli seyreltmeler yapılarak; 10 µg/ml, 15 µg/ml, 20 µg/ml, 25 µg/ml, 30 µg/ml, 35 µg/ml, 40 µg/ml, 50 µg/ml olacak şekilde 8 farklı konsantrasyonda çözelti hazırlandı.

Çözeltilerin absorbansları UV spektrofotometresi ile 259 nm'de distile suya karşı ölçüldü. Her bir konsantrasyon için 9 paralel deney yapıldı. Konsantrasyonlara karşılık gelen ortalama absorbans değerleri ile standart eğri çizildi, en küçük kareler yöntemi ile doğru denklemi ve korelasyon katsayısı saptandı.

5.2.1.5.B. Kesinlik

Bir analitik yöntemin kesinliği, belirli çalışma koşullarında hazırlanan aynı örnek çözeltilisinden birden fazla seyreltme ile elde edilen bir serinin ölçümleri arasındaki uyumun yakınlığını ifade eder (117-119). SD (\pm) veya RSD % değerleri ile ifade edilir. Yöntemin kesinliği için RSD değeri % 2'den küçük olmalıdır. Tekrar edilebilirlik ve tekrar elde edilebilirlik parametreleri kullanılarak incelenir.

Tekrar edilebilirlik

Kısa bir süre zarfında aynı çalışma koşulları altındaki kesinliği ifade eder. Yöntemin tekrar edilebilirliğini göstermek amacıyla aynı gün içinde yöntem 5.2.1.5.A.'da anlatıldığı şekilde seyreltmeler yapılarak 8 farklı konsantrasyonda 3 paralel örnek hazırlandı. Çözeltilerin absorbansları 259 nm'de, UV spektrofotometre

ile ultrasonik banyoda bekletilerek havası alınmış distile suya karşı okundu. Elde edilen değerler doğru denkleminde yerine konarak betahistin dihidroklorür miktarı saptandı, SD (\pm) ve RSD % değerleri hesaplandı.

Tekrar elde edilebilirlik

Farklı laboratuvarlarda hazırlanan örnekler arasındaki kesinliği ifade eder. Bu amaçla yöntem 5.2.1.5.A.'da anlatıldığı şekilde 3 farklı günde 3 paralel örnek hazırlandı, belirtilen seyreltmeler yapıldı ve çözeltilerin absorbanları 259 nm'de, UV spektrofotometre ile ultrasonik banyoda bekletilerek havası alınmış distile suya karşı okundu. Elde edilen değerler doğru denkleminde yerine konarak madde miktarı saptandı, SD (\pm) ve RSD % değerleri hesaplandı.

5.2.1.5.C. Doğruluk

Analitik yöntemin doğruluğu, bu yöntemle elde edilen sonuçların gerçek değere yakınlığıdır (117-119).

Bu amaçla betahistin dihidroklorürün düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlardaki çözeltileri, havası alınmış distile su ile hazırlandı. Gerekli seyreltmeler yöntem 5.2.1.5.A.'da anlatıldığı şekilde yapıldı ve her bir konsantrasyon için 6 paralel deney yapıldı.

5.2.1.5.D. Seçicilik

Bir analitik yöntemin seçiciliği, aynı formülasyon içinde miktar tayini yapılacak olan maddenin dışında başka maddelerin de bulunması durumunda bile, o maddenin konsantrasyonunun tam olarak tespit edilebilmesidir (117-119). Bu amaçla etkin madde içermeyen, sadece yardımcı maddelerden oluşan formülasyonlar 2 paralel olacak şekilde hazırlandı (Tablo 5.1).

Plastifiyan olarak; polietilen glikol (PEG) 400, gliserin, propilen glikol (PG), trietil sitrat (TES) ve dietilftalat (DF) kullanıldı. Etkin maddesiz bu formülasyonlar, etkin madde içeren formülasyonlarla yapılan çözünme hızı test ortamı olan distile

suda, 32°C± 0.5°C’de çalkalayıcı su banyosunda 24 saat bekletildi. Alınan örneklerin spektrofotometrede 259 nm’de absorbans verip vermediği kontrol edildi.

Ayrıca, yine formülasyon hazırlamada kullanılan plastifiyan maddelerin yüksek konsantrasyonlarda sulu çözeltileri hazırlanarak spektrofotometrede absorbanlarına bakıldı, 259 nm’de absorbans verip vermediği saptandı.

5.2.1.5.E. Stabilité

Konsantrasyonu 16.4 µg/ml olan 100 ml’lik 3 paralel betahistin dihidroklorür çözeltisi hazırlandı ve spektrumuna bakıldı. Maksimum absorbanısı 259 nm’de verdiği görüldü. Çalkalayıcı su banyosunda 32°C ±0.5°C’de 2 hafta boyunca; öncelikle ilk iki gün belli saat aralıklarında, daha sonra ise belli günlerde 3’er ml’lik numuneler alınarak maddenin absorbanısında değişiklik olup olmadığı incelendi ve yine maddenin spektrumunda bir değişiklik olup olmadığı da kontrol edildi.

Tablo 5.1. Etkin madde içermeyen formülasyonlar (n=2)

Boş Formülasyon	ERL (g)	ERS (g)	PEG (g)	Gliserin (g)	PG (g)	TES (g)	DF (g)	Aseton (ml)
BF ₁	0.4	1.6	0.3	-	-	-	-	7
BF ₂	1	1	0.3	-	-	-	-	7
BF ₃	0.3	1.7	-	0.5	-	-	-	7
BF ₄	1	1	-	0.5	-	-	-	7
BF ₅	0.5	1.5	-	-	0.4	-	-	7
BF ₆	1	1	-	-	0.5	-	-	7
BF ₇	-	2	-	-	-	0.6	-	7
BF ₈	1	1	-	-	-	0.6	-	7
BF ₉	0.5	1.5	-	-	-	-	0.4	7
BF ₁₀	1	1	-	-	-	-	0.4	7

5.2.1.6. Çözünürlük tayini

Betahistin dihidroklorür, 10 ml havası alınmış distile suya kısım kısım tartılarak eklendi ve çözündürüldü, maddenin çözünürlüğü belirlendi.

5.2.2. Betahistin baz üzerinde yapılan çalışmalar

5.2.2.1. FTIR spektrumu

Sıvı bir madde olan betahistin bazın IR spektrumu için TUBITAK Marmara Araştırma Merkezi'nde, Perkin Elmer Spectrum One marka cihaz kullanıldı.

5.2.2.2. Ultraviyole (UV) spektrumu

Miktar tayini ve *in vitro* çözünme hızı çalışmalarında kullanılacak olan spektrofotometrik yöntem için betahistin bazın UV spektrumu alındı.

Betahistin baz tayini için UV ölçümleri, havası alınmış (degaze edilmiş) distile su kullanılarak yapıldı. Bu amaçla betahistin baz 10 mg tartıldı ve distile suda çözündürülerek 50 ml'ye tamamlandı. 200 µg/ml konsantrasyondaki bu stok çözeltiden 3.75 ml alıp 25 ml'ye seyreltildi. Elde edilen 30 µg/ml konsantrasyondaki çözeltinin spektrofotometrede 190- 400 nm dalga boyu aralığında UV spektrumu alınarak en yüksek absorbans verdiği dalga boyu saptandı.

5.2.2.3. Miktar tayini

Betahistin baz içeren transdermal formülasyonların *in vitro* çözünme hızı tayininde UV spektrofotometrik yöntem kullanıldı ve betahistin bazın miktar tayininde bu yöntemden yararlanmak için valide edildi. Betahistin baz içeren formülasyonların *ex vivo* deriden geçiş çalışmaları için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanıldı ve miktar tayininde bu yöntemden yararlanmak için valide edildi.

Ayrıca yine betahistin baz kullanarak hazırlanan transdermal formülasyonlar ile yapılan *in vivo* hayvan deneyleri sonucu elde edilen kan örneklerinde betahistin baz

miktarı farklı bir yöntemle yine yüksek performanl ı sıv ı kromatografisi (HPLC) ile analiz edildi ve yöntem valide edildi.

5.2.2.4. Miktar tayini yöntemlerinin validasyonu

Analitik yöntemin validasyonu, bir test yönteminin belirli koşullar altında kesin ve doğru bir şekilde sürekli olarak bekleneni gerçekleştirdiğinin kanıtlanmasıdır (70).

Çalışmada kullanılan spektrofotometrik yöntem ve HPLC yöntemlerinin validasyonu için doğrusallık (linearity), kesinlik (precision), doğruluk (accuracy), seçicilik (specificity), teşhis limiti (limit of detection), miktar tayini limiti (limit of quantitation) ve stabilite (stability) çalışmaları yapıldı.

5.2.2.4.A. Betahistin baz için spektrofotometrik yöntem validasyonu

Doğrusallık

Betahistin baz 10 mg tartıldı, ultrasonik banyoda 15 dakika bekletilerek havası alınmış distile suda çözüldürüldü ve 100 ml'ye tamamlandı. 100 µg/ml'lik bu stok çözültiden distile su ile gerekli seyreltmeler yapılarak 5 µg/ml, 7 µg/ml, 10 µg/ml, 15 µg/ml, 20 µg/ml, 25 µg/ml, 30 µg/ml, 35 µg/ml, 40 µg/ml, 45 µg/ml olacak şekilde 10 farklı konsantrasyonda çözülti hazırlandı. Çözültülerin absorbanları UV spektrofotometresi ile 259.5 nm'de distile suya karşı ölçüldü. Her bir konsantrasyon için 9 paralel deney yapıldı. Konsantrasyonlara karşılık gelen ortalama absorban değerleri ile standart eğri çizildi, en küçük kareler yöntemi ile doğru denklemi ve korelasyon katsayısı saptandı.

Kesinlik

a) Tekrar edilebilirlik

Bu amaçla aynı gün içinde yöntem 5.2.2.4.A.'da anlatıldığı şekilde seyreltmeler yapılarak betahistin bazın 10 farklı konsantrasyonda, 3 paralel örneğ i hazırlandı. Çözültülerin absorbanları 259.5 nm'de UV spektrofotometre ile distile suya (ultrasonik banyoda bekletilerek havası alınmış) karşı okundu. Elde edilen değerler

doğru denkleminde yerine konarak betahistin miktarı saptandı, SD (\pm) ve RSD % değerleri hesaplandı.

b) Tekrar elde edilebilirlik

Bu amaçla yöntem 5.2.2.4.A.'da anlatıldığı şekilde betahistin bazın 3 farklı günde 3 paralel örneği hazırlandı, belirtilen seyreltmeler yapıldı ve 259.5 nm'de UV spektrofotometre ile distile suya (ultrasonik banyoda bekletilerek havası alınmış) karşı okundu. Elde edilen değerler doğru denkleminde yerine konarak betahistin baz miktarı saptandı, SD (\pm) ve RSD % değerleri hesaplandı.

Doğruluk

Analitik yöntemin doğruluğunu saptamak için betahistin bazın düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlardaki çözeltileri havası alınmış distile su ile hazırlandı. Gerekli seyreltmeler yapıldı ve UV spektrofotometrede 259.5 nm'de distile suya karşı okundu, her bir konsantrasyon için 6 paralel deney yapıldı.

Seçicilik

Yöntem 5.2.1.5.D' de yapılan çalışmada alınan örneklerin spektrofotometrede 259.5 nm'de absorbens verip vermediği kontrol edildi. Ayrıca yine formülasyon hazırlamada kullanılan plastifiyan maddelerin yüksek konsantrasyonlarda sulu çözeltileri hazırlanarak, spektrofotometrede absorbenslerine bakıldı ve 259.5 nm'de absorbens verip vermediği saptandı.

Stabilite

Konsantrasyonu 40 $\mu\text{g/ml}$ olan betahistin baz çözeltisi hazırlandı ve çalkalayıcılı su banyosunda $32^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 'de 10 gün boyunca bekletildi ve belli günlerde 3'er ml'lik numuneler alınarak maddenin absorbensinde değişiklik olup olmadığı incelendi ve yine maddenin spektrumunda bir değişiklik olup olmadığı da kontrol edildi.

5.2.2.4.B. Betahistin baz için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ve validasyonu (*ex vivo* çalışmalar için)

Yöntem geliştirme

Transdermal formülasyonların *ex vivo* deriden geçiş çalışmalarında elde edilen numunelerdeki betahistin miktar tayini için literatürde kayıtlı (120,114,115) yöntemlerden faydalanılarak yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi geliştirildi ve veriler Agilent Chemstation programı ile değerlendirildi. Metot geliştirmede kullanılan aşamalar Tablo 5.2’de gösterildi.

Çalışmada otomatik örnekleyici kullanıldı.

Çalışma şartları:

Mobil faz: 5mM sodyum 1- heptansülfonat içeren (1g/l) Metanol- 0.025 M KH_2PO_4 (25:75 h/h) pH 3

Kolon: Kromasil 100- 5C18 (150 x 4.6 mm)

Akış hızı: 1ml / dak

Dedektör: DAD $\lambda= 260$ nm (bant genişliği= 4 nm)

Enjeksiyon hacmi: 100 μl

Basınç: 128 bar

Sıcaklık: 25°C

Mobil Faz Hazırlama

Bir litre sulu faz hazırlamak için; 3.4023 g KH_2PO_4 tartıldı ve ultra saf su ile 900 ml’ye tamamlandı. Çözelti, fosforik asit ile pH 3’e getirildi. 1g sodyum 1- heptansülfonat eklendi ve 1000 ml’ye ultra saf su ile tamamlandı ve pH’nın sabit olduğu görüldü. Sulu faz vakum altında filtreden süzüldü ve ultrasonik banyoda 15 dakika bekletildi.

Sulu faz %75 oranında bir kanaldan, metanol %25 oranında diğer kanaldan olacak şekilde çalışıldı. Sodyum 1- heptan sülfonat iyon çifti ajanı olarak mobil fazda kullanıldı. Bu nedenle kolonun dengeye gelmesi için her çalışma öncesi, kolondan, kolon hacminin 100- 200 katı kadar hacimde mobil faz geçirildi.

Tablo 5.2. HPLC Metot geliştirmede kullanılan basamaklar

Örnek ortamı	Mobil Faz	Kolon	Akış
BH- su	0.02 M (pH 4.5) Sodyum Asetat- Asetonitril (70: 30)	Kromasil 100-5C18 (250 x 4.6 mm)	1 ml/ dak
BH- su	Zaman Sodyum Asetat Asetonitril (0.02 M pH 4.5)	Kromasil 100-5C18 (250 x 4.6 mm)	1 ml/ dak
	0 70 30		
	1 70 30		
	21 30 70		
BH- 0.2 M pH 7.4 fosfat tamponu	0.02 M (pH 4.5) Sodyum Asetat – Asetonitril (70: 30)	Kromasil 100-5C18 (250 x 4.6 mm)	1 ml/dak
BH- 0.2 M pH 7.4 fosfat tamponu	0.02 M (pH 4.5) Sodyum Asetat - Asetonitril (75: 25)	Kromasil 100-5C18 (250 x 4.6 mm)	1 ml/ dak
BH- 0.2 M pH 7.4 fosfat tamponu – mobil faz (70: 30)	0.02 M (pH 4.5) Sodyum Asetat – Asetonitril (75: 25)	Kromasil 100-5C18 (250 x 4.6 mm)	1 ml/ dak
BH- su	0.02 M (pH 4.5) Sodyum Asetat - Asetonitril (70: 30)	Kromasil 100-5C18 (250 x 4.6 mm)	0.7 ml/ dak
BH- su	Su- Asetonitril (70: 30)	Kromasil 100-5C18 (250 x 4.6 mm)	1 ml/ dak
BH- su	Su- Asetonitril (40: 60)	Kromasil 100-5C18 (250 x 4.6 mm)	1 ml/ dak
BH- su	Zaman Su Asetonitril	Kromasil 100-5C18 (250 x 4.6 mm)	1 ml/ dak
	0 70 30		
	20 5 95		
BH- su- Asetonitril	Zaman Su Asetonitril	Kromasil 100-5C18 (250 x 4.6 mm)	1 ml/ dak
	0 70 30		
	20 5 95		
BH- 0.85%NaCl- 10mM fosfat tamponu pH 7.4	0.5 g sodyum 1- heptansülfonat içeren (0.5 g/l) Metanol - 0.025 M KH ₂ PO ₄ pH 3 (25:75)	Kromasil 100-5C18 (250 x 4.6 mm)	1 ml/ dak
BH- 0.85%NaCl- 10mM fosfat tamponu pH 7.4	0.5 g sodyum 1- heptansülfonat içeren (0.5 g/l) Metanol - 0.025 M KH ₂ PO ₄ pH 3 (25:75)	Kromasil 100-5C18 (150 x 4.6 mm)	1 ml/ dak
BH- 0.85%NaCl- 10mM fosfat tamponu pH 7.4	0.5 g sodyum 1- heptansülfonat içeren (0.5 g/l) Metanol - 0.025 M KH ₂ PO ₄ pH 3 (25:75)	Kromasil 100-5C18 (150 x 4.6 mm)	1.2 ml/ dak
BH- 0.85%NaCl- 10mM fosfat tamponu pH 7.4	0.5 g sodyum 1- heptansülfonat içeren (0.5 g/l) Metanol - 0.025 M KH ₂ PO ₄ pH 3 (20:80)	Kromasil 100-5C18 (150 x 4.6 mm)	1 ml/ dak
BH- 0.85%NaCl- 10mM fosfat tamponu pH 7.4	0.5 g sodyum 1- heptansülfonat içeren (0.5 g/l) Metanol - 0.025 M KH ₂ PO ₄ pH 3 (15:85)	Kromasil 100-5C18 (150 x 4.6 mm)	1 ml/ dak
BH- 0.85%NaCl- 10mM fosfat tamponu pH 7.4	5 mM sodyum 1- heptansülfonat içeren (1 g/l) Metanol- 0.025 M KH ₂ PO ₄ pH 3 (25:75)	Kromasil 100-5C18 (150 x 4.6 mm)	1ml/ dak

Standart Hazırlama

Betahistin baz 10 mg tartıldı ve 0.85 % NaCl -10 mM fosfat tamponunda (pH7.4) çözündürülerek, 100 ml'ye tamamlandı. Konsantrasyonu 100 µg/ml olan bu çözümden gerekli seyreltme yapılarak, 10 µg/ml konsantrasyonda 2. bir stok çözelti hazırlandı. Analitik validasyon çalışması için bu iki stok çözelti kullanılarak, 0.08 µg/ml, 0.1 µg/ml, 0.5 µg/ml, 1 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 15 µg/ml konsantrasyonlarında hazırlanan çözeltiler ile çalışıldı. Standart hazırlarken 0.85 % NaCl -10 mM fosfat tamponu (pH 7.4) kullanılmasının nedeni bu çözeltinin Franz difüzyon hücresi reseptör fazı olarak kullanılmasıdır. (109,114,115).

Franz Difüzyon Hücresi Reseptör Fazı için Çözelti Hazırlama

0.2 M pH 7.4 fosfat tamponu için (70):

KH_2PO_4 27.22 g → 1000 ml NaOH 8 g → 1000 ml

250 ml KH_2PO_4 + 195.5 ml NaOH çözeltileri karıştırılarak 1000 ml'ye tamamlanır.

10 mM fosfat tamponunda (pH 7.4) için:

0.6805 g KH_2PO_4 → 500 ml 0.2 g NaOH → 500 ml

125 ml KH_2PO_4 + 97.5 ml NaOH çözeltileri karıştırılarak 500 ml'ye tamamlandı.

% 0.85 NaCl olması için de 500 ml için 4.25 g NaCl eklendi.

Yöntem validasyonu

Doğrusallık

Miktar tayini yönteminin doğrusallığı için yöntem 5.2.2.4.B.'de anlatıldığı şekilde hazırlanan stok çözelti kullanılarak 0.08 µg/ml, 0.1 µg/ml, 0.5 µg/ml, 1 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 15 µg/ml konsantrasyonlarında betahistin baz içeren çözeltiler 0.85 % NaCl -10 mM fosfat tamponunda (pH 7.4) çözündürülerek hazırlandı. Hazırlanan çözeltiler HPLC'de analiz edildi. Her konsantrasyon için deney 9 defa tekrarlandı. Konsantrasyonlara karşılık gelen ortalama pik alan değerleri kullanılarak standart eğri çizildi. En küçük kareler yöntemiyle hesaplanarak doğru denklemi bulundu ve korelasyon katsayısı (r^2), standart sapma (SD) (\pm) ve bağıl standart sapma RSD % hesaplandı.

Kesinlik

Yöntemin kesinliğini bulmak amacıyla yöntem 5.2.2.4.B.'de belirtilen konsantrasyonlarla tekrar edilebilirlik ve tekrar elde edilebilirlik çalışmaları yapıldı. Elde edilen sonuçların ortalamaları alındı, SD (\pm) ve RSD % değerleri hesaplandı.

a) Tekrar edilebilirlik

Kısa bir süre zarfında aynı çalışma koşulları altındaki kesinliği ifade eden tekrar edilebilirliği belirlemek için betahistin bazın aynı gün içinde yöntem 5.2.2.4.B.'de anlatıldığı şekilde seyreltmeleri yapılarak 7 farklı konsantrasyonda 3 paralel örneği hazırlandı. Çözeltiler 100 μ l hacimle HPLC sistemine enjekte edildi. Elde edilen alanlar doğru denkleminde yerine konarak betahistin baz miktarı saptandı, SD (\pm) ve RSD % değerleri hesaplandı.

b) Tekrar elde edilebilirlik

Farklı laboratuvarlarda hazırlanan örnekler arasındaki kesinliği ifade eden tekrar elde edilebilirliği belirlemek için betahistin bazın yöntem 5.2.2.4.B.'de anlatıldığı şekilde 3 farklı günde 3 paralel örneği hazırlandı. Belirtilen seyreltmeler yapıldı ve çözeltiler HPLC sistemine 100 μ l hacimle enjekte edildi. Elde edilen alanlar doğru denkleminde yerine konarak betahistin baz miktarı saptandı, SD (\pm) ve RSD % değerleri hesaplandı.

Doğruluk

Analitik yöntemin doğruluğunu saptamak için betahistin bazın düşük orta ve yüksek konsantrasyonlardaki çözeltileri yöntem 5.2.2.4.B.'de anlatıldığı şekilde hazırlandı. Her bir konsantrasyondan 3 paralel olacak şekilde 100 μ l hacimle HPLC sistemine enjekte edildi. Elde edilen pik alanlarından doğru denklemi yardımıyla betahistin baz konsantrasyonu hesaplandı. Betahistin baz için geri kazanım değeri hesaplanarak yöntemin doğruluğu belirlendi.

Seçicilik

Yöntemin seçiciliğini belirlemek amacıyla, Franz difüzyon hücrelerinde çalışılan formülasyonlardan iki tanesinin 24. saat numuneleri ile elde edilen kromatogramları ve 5 µg/ ml betahistin baz çözeltisi enjeksiyonu ile elde edilen kromatogram spektrumları üst üste karşılaştırılarak incelendi. Betahistin baz dışında herhangi bir madde spektrumu olup olmadığı değerlendirildi.

Stabilite

Kullanılan analitik yöntemin stabilitesini saptamak için iki farklı değerlendirme yapıldı. Öncelikle 100 mg betahistin baz, 0.5 ml 0.85 % NaCl- 10 mM fosfat tamponunda (pH 7.4) çözündürüldü ve bu çözelti Franz difüzyon hücresinin donör fazına konuldu. 12 saat sonra reseptör fazdan alınan numunede betahistin baz pikine bakıldı. Elde edilen bu kromatogram ile yine aynı tamponda çözünmüş olan 5 µg/ml konsantrasyonundaki betahistin baz çözeltisi kromatogramının spektrumları üst üste karşılaştırılarak değerlendirildi, bu şekilde 12 saat boyunca deney ortamında bulunan betahistin baz çözeltisinin spektrumunda bir değişiklik olup olmadığı belirlendi.

Ayrıca farklı konsantrasyonlarda hazırlanan betahistin baz çözeltilerinin iki gün boyunca belirli zamanlarda yapılan enjeksiyonu ile alanlardaki değişimleri incelendi, SD (±) ve RSD % değerleri hesaplandı.

Teşhis limiti (LOD) ve miktar tayini limiti (LOQ)

Betahistin bazın deteksiyon ve kantitasyon limitlerini belirlemek amacıyla farklı günlerde farklı konsantrasyonlar denendi, uygun görülen konsantrasyonlar farklı seyreltmeler ile tekrar hazırlanarak Sinyal/Gürültü (S/G) oranları karşılaştırıldı. Teşhis limiti için S/G oranının en az 3 olması gerekmektedir. Miktar tayini limiti için S/G oranının en az 10 olması gerekmektedir.

5.2.2.4.C. Betahistin baz için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ve validasyonu (*in vivo* çalışmalar için)

Yöntem geliştirme

Transdermal formülasyonların *in vivo* sıçan derisinden geçiş çalışmalarında elde edilen numunelerdeki betahistin miktar tayini için literatürde kayıtlı (113) yöntemden faydalanılarak yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi geliştirildi ve veriler Agilent Chemstation programı ile değerlendirildi.

Çalışma şartları

Mobil faz:	metanol: su: asetik asit (20: 80: 1.5, h/ h)
Kolon:	Kromasil 100- 5C18 (150 x 4.6 mm)
Akış hızı:	0.4 ml /dak
Dedektör:	DAD λ = 260 nm (bant genişliği= 4 nm)
Enjeksiyon hacmi:	50 μ l
Basınç:	52 bar
Enjeksiyon şekli:	Manuel

Mobil faz hazırlama

Bir litre mobil faz kullanılarak izokritik çalışıldı. Çözelti hazırlamak için; 800 ml ultra saf su, 200 ml metanol ve 15 ml asetik asit ile manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Oluşan hava kabarcıklarını gidermek için çözelti vakum altında filtreden süzüldü ve ultrasonik banyoda 15 dakika bekletildi.

Plazma örneği için standart hazırlama (spike numunesi)

Betahistin baz çözeltisi hazırlamak için betahistin baz 10 mg tartıldı ve metanolde çözündürülerek 100 ml'ye tamamlandı. Konsantrasyonu 100 μ g/ ml olan bu çözeltiden gerekli seyreltmeler yapılarak analitik validasyon çalışması için 0.15 μ g/ml, 0.25 μ g/ml, 0.5 μ g/ml, 1.5 μ g/ml, 2.5 μ g/ml ve 5 μ g/ml konsantrasyonlarında

hazırlanan çözeltiler ile çalışıldı. Hazırlanan bu çözeltiler ilaç içermeyen sıçan plazmasına eklenerek çalışıldı. Boş plazma ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

Örnek hazırlama

Herhangi bir ilaç uygulaması yapılmamış, sağlıklı dişi Wistar sıçanlardan heparinli tüplere kan alındı. Oda sıcaklığında 4000 devir/dak.'da 15 dakika santrifüj ile boş plazma elde edildi.

Boş plazma (100 µl) örneğine, 20 µl betahistin baz çözeltisi (metanolde çözüldürülerek farklı konsantrasyonlarda hazırlandı) eklendi, 20 µl 1 M NaOH da eklenerek alkali hale getirildi. Bu karışıma 1 ml Dietil Eter: Diklorometan (3:2 h/h) organik çözücü karışımı eklendi, 10 saniye vorteks karıştırıcı ile karıştırıldı. Sonrasında, 2000 g'de 2 dakika santrifüj yapılarak organik çözücünün ayrılması sağlandı. Santrifüj sonrası kolayca ayrılmış olan üst kısımdaki organik faz ayrı bir tüpe alındı. Kalan kısma yine 1 ml organik çözücü eklendi, karıştırma ve santrifüj işlemleri uygulandı bu işlem toplam 4 kez yapıldı (toplam 4 ml organik çözücü karışımı kullanıldı).

Ekstraksiyonlar sonrası elde edilen organik faz, Azot altında 25°C- 30°C arasında su banyosunda uçuruldu. Uçurma işlemi tamamlandıktan sonra ortama 100 µl mobil faz eklendi. Vorteks karıştırıcı ile 2 dakika karıştırma sonrasında, HPLC sistemine 50 µl enjeksiyon yapıldı.

Ekstraksiyon verimi

Ekstraksiyon sonunda betahistin bazın, ne kadarının ortamdan alınabildiğini göstermek için yapıldı. Betahistin bazın mobil fazdaki çözeltileri, plazmaya eklenen standartlardaki betahistin bazın tamamı alındığında elde edilmesi gereken alanlarla aynı alanı verecek şekilde hazırlandı. Her bir konsantrasyon için verim hesabı yapıldı.

Bu yöntemle plazmada betahistin baz miktar tayini yaparken, metanolde çözülmüş betahistin baz çözeltisi eklemek yerine, sadece metanol eklenerek analiz yapıldı.

Yöntem validasyonu

Doğrusallık

Miktar tayini yönteminin doğrusallığı için yöntem 5.2.2.4.C.'de anlatıldığı şekilde hazırlanan stok çözelti kullanılarak; 0.15 µg/ml, 0.25 µg/ml, 0.5 µg/ml, 1.5 µg/ml, 2.5 µg/ml ve 5 µg/ml konsantrasyonlarında betahistin baz içeren çözeltiler metanolde çözündürülerek hazırlandı. Yine standart hazırlama kısmında anlatıldığı şekilde boş plazmaya bilinen konsantrasyonu ekleme şeklinde çalışıldı ve ekstraksiyonlar sonucu hazırlanan numuneler HPLC'de analiz edildi. Her konsantrasyon için deney 3 defa tekrarlandı. Konsantrasyonlara karşılık gelen ortalama pik alan değerleri kullanılarak standart eğri çizildi. Doğru denklemi, en küçük kareler yöntemiyle hesaplanarak bulundu ve korelasyon katsayısı (r^2), SD (\pm) ve RSD % hesaplandı.

Kesinlik

Yöntemin kesinliğini bulmak amacıyla yöntem 5.2.2.4.C.'de belirtilen konsantrasyonlarla tekrar edilebilirlik ve tekrar elde edilebilirlik çalışmaları yapıldı. Elde edilen sonuçların ortalamaları alındı, SD (\pm) değerleri hesaplandı.

c) Tekrar edilebilirlik

Kısa bir süre zarfında aynı çalışma koşulları altındaki kesinliği ifade eden tekrar edilebilirliği belirlemek için betahistin bazın aynı gün içinde yöntem 5.2.2.4.C.'de anlatıldığı şekilde seyreltmeleri yapılarak 3 farklı konsantrasyonda 3 paralel örneği hazırlandı. Çözeltiler 50 µl hacimle HPLC sistemine enjekte edildi. Elde edilen alanlar doğru denkleminde yerine konarak betahistin baz miktarı saptandı, SD (\pm) değerleri hesaplandı.

d) Tekrar elde edilebilirlik

Farklı laboratuvarlarda hazırlanan örnekler arasındaki kesinliği ifade eden tekrar elde edilebilirliği belirlemek için, betahistin bazın yöntem 5.2.2.4.C.'de anlatıldığı

şekilde, 3 farklı günde 3 paralel örneği hazırlandı. Belirtilen seyreltmeler yapıldı ve çözeltiler HPLC sistemine 50 µl hacimle enjekte edildi. Elde edilen alanlar doğru denklemde yerine konarak betahistin baz miktarı saptandı, SD (±) değerleri hesaplandı.

Doğruluk

Analitik yöntemin doğruluğunu saptamak için betahistin bazın düşük orta ve yüksek konsantrasyonlardaki çözeltileri yöntem 5.2.2.4.C.'de anlatıldığı şekilde hazırlandı. Her bir konsantrasyondan 3 paralel olacak şekilde, 50 µl hacimle HPLC sistemine enjekte edildi. Elde edilen pik alanlarından doğru denklemi yardımıyla betahistin baz konsantrasyonu hesaplandı. Betahistin baz için geri kazanım değeri hesaplanarak yöntemin doğruluğu belirlendi.

Seçicilik

Mobil fazdaki betahistin baz çözeltisi, boş sıçan plazmasına bilinen konsantrasyonda betahistin baz çözeltisi eklenerek yapılan çalışma ile elde edilen kromatogram ve formülasyon uygulandıktan sonra elde edilen kromatogramlar kıyaslandı ve betahistin baz spektrumu değerlendirildi.

Stabilite

Yöntemin stabilitesini test etmek için iki ayrı boş plazmaya bilinen konsantrasyonda betahistin baz eklenerek ekstraksiyon yapıldı. Ekstraksiyon sonrası bazı numunelere mobil faz eklenip hemen analiz edildi, bir kısmı ise -20° C'ye kaldırıldı ve birkaç gün sonra analiz edildi. Aynı konsantrasyondaki bu iki numune kıyaslanarak fark olup olmadığı değerlendirildi.

Ayrıca mobil fazda çözündürülmüş 0.5 µg/ ml betahistin baz çözeltisinin farklı günlerde yapılan enjeksiyonları sonucunda elde edilen alanlar değerlendirildi.

5.2.2.5. Betahistin bazın çözünürlük tayini

Betahistin bazın öncelikle distile suda çözünürlüğüne bakıldı. Bu amaçla 0.5 ml distile su içine kısım kısım madde eklendi ve çözünürlüğü değerlendirildi.

Betahistin bazın *ex vivo* yöntem için kullanılan mobil fazdaki çözünürlüğü değerlendirildi. Bu amaçla 130 mg tartılan madde üzerine 1 ml mobil faz eklendi. Betahistin baz sıvı olduğu için çözünmeyen kısım olup olmadığını kontrol etmek amacıyla da oda sıcaklığında 10 dakika 2500 devir/dak'da santrifüj işlemi uygulandı. Bu çözülden alınan 10 µl kısım, 100 ml'ye mobil faz ile seyreltildi ve 6 paralel enjeksiyon yapıldı.

Son olarak *in vivo* yöntem için kullanılan mobil fazda betahistin bazın çözünürlüğü değerlendirildi. Tartılan 10 mg madde üzerine, 10 ml mobil faz eklendi ve çözünürlüğü değerlendirildi. Gerekli seyreltmeler yapılarak enjeksiyon yapıldı.

5.2.3. Transdermal terapötik sistem formülasyonları

5.2.3.1. Ön deneme formülasyon çalışmaları

Formülasyon hazırlamada kullanılması düşünülen FDA onaylı polimerler olan *Eudragit RL 100* ve *Eudragit RS 100* ile tek tek ve karışımları halinde, etkin maddesiz ve plastifiyansız formülasyonlar hazırlandı. Bu formülasyonlar fiziksel görünümleri açısından değerlendirildi.

Etkin madde kullanılmadan polietilen glikol 400 (PEG 400), propilen glikol (PG), trietil sitrat (TES), gliserin, dietilftalat (DF) gibi plastifiyanlar farklı polimer oranları ile denenerek formülasyonlar hazırlandı, fiziksel görünüm ve esneklik açısından değerlendirildi.

Formülasyon hazırlanırken polimer çözücüsü olarak etanol ve aseton tek tek ve karışımlar halinde denenerek, aralarında esneklik ve homojenlik açısından bir fark oluşturup oluşturmadıkları gözlemlendi (Tablo 5.3- 5.5).

Tablo 5.3. *Eudragit RL* 100 ile hazırlanan ön denemeler (kalıp çapı 5cm)

Formülasyon No	<i>Eudragit RL</i> 100 (g)	PEG 400 (g)	Aseton (ml)	Etanol (ml)	PEG 400:<i>Eudragit</i>
RL1	1	0.2	5	5	2k: 10k
RL2	1.5	0.3	11	-	2k: 10k
RL3	1.5	0.5	-	10	3.33k: 10k
RL4	1	0.25	5	10	2.5k: 10k
RL5	1	0.3	7	3	3k: 10k
RL6	1.5	0.3	-	11	2k: 10k

Tablo 5.4. *Eudragit RS* 100 ile hazırlanan ön denemeler (kalıp çapı 5cm)

Formülasyon No	<i>Eudragit RS</i> 100 (g)	PEG 400 (g)	Aseton (ml)	Etanol (ml)	PEG 400:<i>Eudragit</i>
RS1	1	0.2	5	5	2k: 10k
RS2	1.5	0.3	11	-	2k: 10k
RS3	1.5	0.5	-	10	3.33k: 10k
RS4	1	0.25	5	10	2.5k: 10k
RS5	1	0.3	7	3	3k: 10k
RS6	1.5	0.3	-	11	2k: 10k

Tablo 5.5. Farklı plastifiyanlar ile denenen yeni formülasyonlar (kalıp çapı 5 cm)

Formülasyon No	ERS (g)	ERL (g)	PEG 400 (g)	Gliserin (g)	DF (g)	PG (g)	Aseton (ml)	Etanol (ml)
RLS 1	1	1	0.2	-	-	-	10	-
RLS 2	0.5	1.5	0.1	-	-	-	-	10
RLS 3	0.7	1.3	0.6	-	-	-	10	-
RLS 4	1	-	-	0.03	-	-	6	4
RLS 5	-	1	-	0.05	-	-	6	4
RLS 6	1	1	-	0.1	-	-	10	-
RLS 7	1	-	-	-	0.02	-	-	10
RLS 8	-	1	-	-	0.05	-	5	5
RLS 9	1	1	-	-	0.3	-	5	5
RLS 10	1	-	-	-	-	0.1	-	10
RLS 11	-	1	-	-	-	0.05	5	5
RLS 12	1	1	-	-	-	0.06	5	5

5.2.3.2. Formülasyonların hazırlanması

Tablo 5.3-5.5’de gösterilen formülasyonlar hazırlanırken; erlende tartılan plastifiyan üzerine belirtilen miktar polimer ve çözücü eklenerek mekanik çalkalayıcıda tamamen çözündürüldü. Bu çözelti, petri kabı kullanılarak şekil verilen aluminyum folyo ile hazırlanan 5 cm çapında kalıplara döküldü ve çözücünün uçması için oda sıcaklığında bekletildi.

5.2.3.3. Betahistin dihidroklorür içeren transdermal terapötik sistem formülasyonları

Yöntem 5.2.3.2.’de belirtildiği gibi çalışıldı; etkin madde eklenmiş olan bu formülasyonlarda, etkin madde ayrı bir erlende, etanolde çözündürüldü. Bu çözelti, çözülmüş polimer karışımının üzerine eklenerek iyice karıştırıldı ve petri kabı kullanılarak şekil verilen aluminyum folyo ile hazırlanan 5 cm çapındaki kalıba

dökülerek, yama elde edildi. Alüminyum folyo aynı zamanda transdermal yamanın sırt tabakası olarak kullanıldı.

Bunun için; formülasyonlar 0.2 g Betahistin dihidroklorür (BH) kullanılarak, polimer toplamı 2 g olacak şekilde sadece *Eudragit RL 100* ile veya *Eudragit RS 100* ile veya karışımları şeklinde ve sabit plastifiyan (PEG 400) oranı ile hazırlandı. Seçilen bazı formülasyonlarda ön deneme dissolüsyon testleri yapıldı (Tablo 5.6). Bunun için BH1, BH2 ve BH4 nolu formülasyonlar seçildi ve aşağıdaki hacimler kullanıldı.

Etkin maddenin çok çözünür sınıfında olması nedeniyle sonsuz seyrelme koşulu ile ilgili bir sorun yoktur fakat ilk deneme olması nedeniyle alınan numunelerin spektrofotometrede okunabilirliği açısından kullanılan polimere ve penetrasyon artırıcıya bağlı olarak farklı hacimler denendi.

BH 1 için 400 ml hacim

BH 2 (*Eudragit RS 100* içeren) için 300 ml hacim

BH 4 (oktanol içeren) için 500 ml hacim denendi.

Çözünme hızı testi ortam ve koşulları

Ortam: Distile su

Sıcaklık: 32° C± 0.5° C

Dönme hızı: 50 devir/dak

Tablo 5.6. Etkin madde kullanılarak hazırlanan formülasyonlar

F No	ERL (g)	ERS (g)	BH.2HCl (g)	PEG 400 (g)	Okt. (ml)	Hek. (ml)	Dek. (ml)	Etanol (ml)	PIB (g)	n-hek (ml)
BH 1*	2	-	0.2	0.4	-	-	-	7+3**	-	-
BH 2*	1.5	0.5	0.2	0.4	-	-	-	7+4	-	-
BH 3	2	-	0.2	0.5	-	-	-	7+4	-	-
BH 4*	2	-	0.2	0.4	0.1	-	-	7+3	-	-
BH 5	2	-	0.2	0.4	-	0.1	-	7+3	-	-
BH 6	2	-	0.2	0.4	-	-	0.1	7+3	-	-
BH 7	2	-	0.3	0.4	-	-	-	7+4	0.4	10
BH 8	2	-	0.3	0.4	-	-	-	7+3	0.4	10
BH 9	1***	-	0.15	0.2	-	-	-	4+3.5	-	-
	1	-	0.15	0.2	-	-	-	4+3.5	-	-
BH 10	1	1	0.3	0.4	-	-	0.2	7+4	-	-

*: Dissolüsyon için seçilen formülasyonlar,, **: Etkin madde için kullanılan etanol

***:İki katlı formülasyon, alt tabakası

Çalışmalar sonucunda etkin maddenin hızlı çıkışını yavaşlatmak amacıyla ilaç miktarı düşürüldü, polimer olarak sadece *Eudragit RS 100* kullanıldı. Plastifiyan olarak PEG 400, trietil sitrat ve dietil ftalat kullanılarak formülasyonlar hazırlandı ve yine dissolüsyon testleri yapıldı (Tablo 5.7).

Tablo 5.7. *Eudragit RS 100* ile hazırlanan formülasyonlar

F No	ERS (g)	PEG 400 (g)	BH.2HCl (g)	Etanol (ml)	DF (g)	TES (g)	Aseton (ml)
BH 11	2	0.2	0.075	3	-	-	7
BH 12	2	-	0.075	3	0.4	-	7
BH 13	2	-	0.075	3	-	0.5	7

5.2.3.3.A. Farklı plastifiyan ve polimer oranları ile formülasyon hazırlanması

Plastifiyan olarak PEG 400, propilen glikol, trietil sitrat, gliserin, dietilftalat, penetrasyon artırıcı olarak oktanol (OKT), hekzanol (HEK) ve dekanol (DEK), çözücü olarak ise etanol ve aseton kullanılarak Tablo 5.8' deki formülasyonlar hazırlandı.

BH oranı sabit tutularak, polimer ve plastifiyan oranları farklı kombinasyonlarda denendi. Bunun dışında 0.4 g ve 0.5 g polizobütilen 10 ml hekzanda çözündürülerek hazırlanmış olan birkaç formülasyonun üzerine döküldü ve çözücünün uçması için oda sıcaklığında bekletildi. Fakat bu formülasyonlardan ihmal edilecek kadar az ilaç serbestleşmesi olduğu için sonuçlar tabloya dahil edilmedi.

Tablo 5.8. Farklı plastifiyan oranları ve polimer karışımları ile hazırlanan formülasyonlar

F. NO	ERL (g)	ERS (g)	PEG 400 (g)	GLİ (g)	PG (g)	DF (g)	TES (g)	OKT (ml)	DEK (ml)	HEK (ml)	BH.2HCl (g)	Aseton (ml)	Etanol (ml)
F 1	0.5	1.5	0.3	-	-	-	-	-	-	-	0.2	7	3
F 2	1	1	0.3	-	-	-	-	-	-	-	0.2	7	3
F 3	0.4	1.6	0.3	-	-	-	-	-	-	-	0.2	7	3
F 4	0.5	1.5	-	-	-	0.4	-	-	-	-	0.2	7	3
F 5	0.6	1.4	-	-	-	0.3	-	-	-	-	0.2	7	3
F 6	0.8	1.2	-	-	-	0.35	-	-	-	-	0.2	7	3
F 7	0.7	1.3	-	-	-	-	0.5	-	-	-	0.2	7	3
F 8	0.5	1.5	-	-	-	-	0.6	-	-	-	0.2	7	3
F 9	0.8	1.2	-	-	-	-	0.4	-	-	-	0.2	7	3
F 10	0.5	1.5	-	0.4	-	-	-	-	-	-	0.2	7	3
F 11	0.5	1.5	-	-	0.4	-	-	-	-	-	0.2	7	3
F 12	-	2	-	-	-	-	0.5	-	-	-	0.2	7	3
F 13	0.3	1.7	-	-	-	-	0.5	-	-	-	0.2	7	3
F 14	0.5	1.5	-	0.5	-	-	-	-	-	-	0.2	7	3
F 15	0.5	1.5	-	-	-	-	0.5	-	0.1	-	0.2	7	3
F 16	0.5	1.5	-	-	-	-	0.5	-	-	0.1	0.2	7	3
F 17	0.5	1.5	-	-	-	-	0.5	0.1	-	-	0.2	7	3
F 18	0.3	1.7	-	0.5	-	-	-	-	-	-	0.2	7	3
F 19	0.5	1.5	0.1	-	-	-	-	-	-	-	0.2	7	3
F 20	0.5	1.5	-	-	-	-	0.5	-	-	-	0.2	7	3
F 21	0.2	1.8	-	-	-	-	0.5	-	-	-	0.2	7	3

5.2.3.3.B Betahistin dihidroklorür kullanılarak hazırlanan formülasyonların

salım hızı tayini

Çözünme hızı testi ortam ve koşulları

Ortam: Distile su

Sıcaklık: 32° C± 0.5° C

Dönme hızı: 50 devir/dak

Hacim: 500 ml

Analiz şekli

Yöntem 5.2.1.5’de anlatılan spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Analiz etmek için alınan numune hacminin yerine, aynı hacimde distile su eklendi.

Hazırlanan bu formülasyonların (Tablo 5.8) dissolüsyon çalışmasına öncelikle 7 saat boyunca devam edildi, daha sonra laboratuvar çalışma koşulları nedeniyle cihaz kapatıldı. Ertesi gün 20. saatten itibaren yine çalıştırılarak 24. saat dissolüsyon numunesi de alındı.

5.2.3.4. Betahistin bazın betahistin dihidroklorür ile kıyaslanması

Betahistin dihidroklorürün sulu çözeltisinin pH’sı yaklaşık 2 dir. *Eudragit* ile hazırlanan formülasyonların organik çözücü uzaklaşmadan önceki ölçümlerinin pH’sı ise 1.5 çıkmaktadır. Bu değer çok asidik olması, bazik pH’da deriden geçiş kolaylığı, etkin maddenin sıvı olması ve molekül ağırlığının daha düşük olması (136.19 g/ mol) gibi avantajları nedeniyle, çalışmaların devamında betahistin baz şeklinin kullanılmasına karar verildi.

5.2.3.5. Betahistin baz içeren transdermal terapötik sistem formülasyonları

5.2.3.5.A. Etkin madde içermeyen ön deneme formülasyonları

Polimer ağırlığı toplam 1 g olarak kullanıldı. Etkin madde içermeyen deneme formülasyonları yine yöntem 5.2.3.2.’deki gibi hazırlandı. Bu formülasyonların kalınlıkları 6 farklı yerden ölçülerek ortalaması belirlendi ve SD (\pm) hesaplandı. Fiziksel özellikleri değerlendirildi.

Tablo 5.9 Hazırlanan deneme formülasyonları

DF*	<i>Eudragit RL</i> 100 (g)	<i>Eudragit RS</i> 100 (g)	PEG 400 (%)	TES (%)	Gliserin (%)	PG (%)	Aseton (ml)
DF 1	1	-	-	-	-	-	4
DF 2	-	1	-	-	-	-	4
DF 3	0.5	0.5	-	-	-	-	4
DF 4	1	-	15	-	-	-	4
DF 5	1	-	20	-	-	-	4
DF 6	1	-	25	-	-	-	4
DF 7	1	-	30	-	-	-	4
DF 8	-	1	15	-	-	-	4
DF 9	-	1	20	-	-	-	4
DF 10	-	1	25	-	-	-	4
DF 11	-	1	30	-	-	-	4
DF 12	0.5	0.5	15	-	-	-	4
DF 13	0.5	0.5	20	-	-	-	4
DF 14	0.5	0.5	25	-	-	-	4
DF 15	0.5	0.5	30	-	-	-	4
DF 16	1	-	-	15	-	-	4
DF 17	1	-	-	20	-	-	4
DF 18	1	-	-	25	-	-	4
DF 19	1	-	-	30	-	-	4
DF 20	-	1	-	15	-	-	4
DF 21	-	1	-	20	-	-	4
DF 22	-	1	-	25	-	-	4
DF 23	-	1	-	30	-	-	4
DF 24	0.5	0.5	-	15	-	-	4
DF 25	0.5	0.5	-	20	-	-	4
DF 26	0.5	0.5	-	25	-	-	4
DF 27	0.5	0.5	-	30	-	-	4
DF 28	1	-	-	-	30	-	4
DF 29	1	-	-	-	40	-	4

DF 30	-	1	-	-	30	-	4
DF 31	-	1	-	-	40	-	4
DF 32	0.5	0.5	-	-	30	-	4
DF 33	0.5	0.5	-	-	40	-	4
DF 34	1	-	-	-	-	30	4
DF 35	1	-	-	-	-	40	4
DF 36	-	1	-	-	-	30	4
DF 37	-	1	-	-	-	40	4
DF 38	0.5	0.5	-	-	-	30	4
DF 39	0.5	0.5	-	-	-	40	4

*Deneme Formülasyonları

5.2.3.5.B. Betahistin baz ve formülasyonda kullanılan yardımcı maddelerin

DSC taramaları

Etkin maddenin yardımcı maddeler ile arasındaki geçimsizliği tespit etmek amacıyla sıklıkla kullanılan bir yöntem olan DSC (Diferansiyel taramalı kalorimetri), hızlı ve güvenilir sonuç vermesi nedeniyle tercih edildi. DSC analizi maddelerin termal özelliklerine dayandırılır ve sıcaklık artışı ile maddelerin tek başlarına ve başka maddeler ile bir araya geldiklerinde nasıl davrandıklarına bakılır.

DSC analizi ile önce saf maddeler (etkin madde, polimerler ve plastifiyanlar) ile çalışıldı. Örnekler, azot gazı altında 10°C/dak ısıtma hızı ile -90°C'den 280°C'ye kadar ısıtıldı. Daha sonra her bir maddenin etkin madde ile (1:1) (a/a) fiziksel karışımları hazırlandı ve aynı koşullar altında analize tabi tutuldu, her bir analiz 3 paralel olarak çalışıldı.*

* Analizler "Fargem İlaç Sanayi Ar- Ge Laboratuvarı"nda yapıldı.

Elde edilen termogramlar Marmara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Ersan Kalafatoğlu tarafından değerlendirildi.

5.2.3.5.C. Etkin madde içeren formülasyonlar

Betahistin baz kullanılarak *Eudragit RL 100* ve *Eudragit RS 100* ile ön deneme formülasyonları hazırlandı ve organik çözücü uzaklaştırılmadan önce pH ölçümleri yapıldı ve pH' nın 7 olduğu görüldü.

Çözücü tamamen uzaklaştıktan sonra da homojen yamalar elde edildiği görüldü. Formülasyonların çok büyük olmasının gerekli görülmemesi üzerine daha küçük yamalar hazırlanmasına karar verildi. Bunun için Franz hücrelerinin donör kısımlarının çapı ile aynı olması amacıyla donör kısım, kalıp olarak kullanıldı.

0.5 g *Eudragit RL 100* + %30 TES (polimer ağırlığının) ve 50 mg etkin madde içeren 3 cm çaplı yamalar homojen görünümlü olarak elde edildi.

Üzerine n-hekzanda çözüldürülmüş poliizobutilen tabakası eklenerek yapışkanlık sağlandı.

Ayrıca baz betahistin poliizobutilen çözeltisine direkt eklenerek “drug in adhesive” yapı denendi, fakat homojen bir yapı elde edilemedi.

Formülasyonlar, hazırlanan etkin maddesiz ön deneme formülasyonlarına dayanarak, etkin madde içeren farklı plastifiyan veya plastifiyan kombinasyonları ile her birinden 3 paralel olacak şekilde formülasyonlar hazırlandı (Tablo 5.10).

Hazırlanan bu formülasyonların fiziksel kontrolleri yapıldı, uygun görülen formülasyonlarla çözünme hızı tayini yapıldı. Yine içlerinden seçilen formülasyonlarla *ex vivo* insan derisinden geçiş çalışmaları yapıldı ve son olarak da belirlenen formülasyonlar ile *in vivo* sıçan derisinden geçiş çalışmaları yapıldı, intravenöz uygulama ile kıyaslandı.

Tablo 5.10. Betahistin baz ile hazırlanan transdermal formülasyonlar

Formül Kodu	ERL (g)	ERS (g)	PEG 400 (g)	TES (g)	BH (g)	Gliserin (g)	PG (g)	Etanol (ml)	Aseton (ml)
F 1	1	-	0.25	-	0.05	-	-	1+2	3
F 2	0.8	0.2	0.25	-	0.05	-	-	1+2	3
F 3	0.7	0.3	0.25	-	0.05	-	-	1+2	3
F 4	0.8	0.2	0.25	-	0.06	-	-	1+2	3
F 5	0.5	0.5	0.25	-	0.05	-	-	1+2	3
F 6	0.35	0.15	0.125	-	0.03	-	-	1+2	3
	0.35	0.15	0.125	-	0.02	-	-	1+2	3
F 7	0.7	0.3	0.2	-	0.05	0.1	-	1+2	3
F 8	0.4	0.1	0.125	-	0.035*	-	-	1+2	3
	0.4	0.1	0.125	-	0.025	-	-	1+2	3
F 9	1	-	0.15	-	0.05	0.3	-	1+2	2
F 10	0.7	0.3	0.25	-	0.05	0.2	-	1+2	2
F 11	0.7	0.3	0.25	-	0.05	-	0.2	1+2	2
F 12	-	1	0.25	-	0.06	-	-	1+2	2
F 13	0.4	0.6	0.25	-	0.05	-	-	1+2	2
F 14	0.3	0.7	0.25	-	0.05	-	-	1+2	2
F 15	-	1	0.25	-	0.1	-	-	1+2	2
F16	-	0.5	0.125	-	0.07*	-	-	1+2	2
	-	0.5	0.125	-	0.03	-	-	1+2	2
F 17	0.35	0.15	0.125	-	0.07*	-	0.1	1+2	2
	0.35	0.15	0.125	-	0.03	-	0.1	1+2	2
F 18	-	1	0.25	-	0.2	-	-	1+2	2
F 19	-	0.5	0.125	-	0.2*	-	-	1+2	2
	-	0.5	0.125	-	0.1	-	-	1+2	2
F 20	0.1	0.4	0.125	-	0.2*	-	-	1+2	2
	0.1	0.4	0.125	-	0.1	-	-	1+2	2
F 21	F 18 üzerine 3 ml n-hekzanda çözündürülen 0.1g poliizobütülen eklendi								

T 1	1	-	-	0.25	0.05	-	-	1+2	3
T 2	0.8	0.2	-	0.25	0.05	-	-	1+2	3
T 3	0.7	0.3	-	0.25	0.05	-	-	1+2	3
T 4	0.8	0.2	-	0.25	0.06	-	-	1+2	3
T 5	0.5	0.5	-	0.25	0.05	-	-	1+2	3
T 6	0.35	0.15	-	0.125	0.03 *	-	-	1+2	3
	0.35	0.15	-	0.125	0.02	-	-	1+2	3
T 7	0.7	0.3	-	0.2	0.05	0.1	-	1+2	3
T 8	0.4	0.1	-	0.125	0.035*	-	-	1+2	2
	0.4	0.1	-	0.125	0.025	-	-	1+2	2
T 9	1	-	-	0.15	0.05	0.3	-	1+2	2
T 10	0.7	0.3	-	0.25	0.05	0.2	-	1+2	2
T 11	0.7	0.3	-	0.25	0.05	-	0.2	1+2	2
T 12	-	1	-	0.25	0.06	-	-	1+2	2
T 13	0.4	0.6	-	0.25	0.05	-	-	1+2	2
T 14	0.3	0.7	-	0.25	0.05	-	-	1+2	2
T 15	-	1	-	0.25	0.1	-	-	1+2	2
T 16	-	0.5	-	0.125	0.07	-	-	1+2	2
	-	0.5	-	0.125	0.03	-	-	1+2	2
T 17 (F17'den farklı)	0.2	0.3	-	0.125	0.15	-	-	1+2	2
	0.2	0.3		0.125	0.05	-	-	1+2	2
T 18	-	1	-	0.25	0.2	-	-	1+2	2
T 19	-	0.5	-	0.125	0.2	-	-	1+2	2
	-	0.5	-	0.125	0.1	-	-	1+2	2
T 20	0.1	0.4	-	0.125	0.2	-	-	1+2	2
	0.1	0.4	-	0.125	0.1	-	-	1+2	2
T 21	T18 üzerine 3 ml n-hekzanda çözündürülmüş 0.1 g poliizobütülen eklendi								

* Alt tabaka: İlk hazırlanan tabakadır, bu kısım kuruduktan sonra aynı yöntemle, üzerine diğer kısım dökülerek hazırlanmıştır.

5.2.3.5.D. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlarda yapılan kontroller

Çözünme hızı tayini yapılacak olan formülasyonlar belirlendi ve miktar tayini, kalınlık, ağırlık sapması testleri yapıldı.

Miktar tayini

Hazırlanan formülasyonlar 3 paralel olacak şekilde çalışıldı. Formülasyonlar 250 ml distile su içerisine konarak $32 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 'de 72 saat bekletildi. Alınan numuneler gerekli seyreltmeler yapılarak distile suya karşı okundu, ortalamaları alındı, SD (\pm) değerleri hesaplandı.

Kalınlık tayini

Hazırlanan formülasyonlar 3 paralel olacak şekilde çalışıldı. Her formülasyon 12 farklı noktadan kumpas yardımıyla ölçüldü, ortalamaları alındı, SD (\pm) değerleri hesaplandı.

Ağırlık sapması tayini

Hazırlanan formülasyonlar 3 paralel olacak şekilde çalışıldı. Her formülasyon kalıba dökülmeden önce, alüminyum folyo kalıpları tartıldı, formülasyon kalıba döküldü, 5 gün kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra tekrar tartılan formülasyonların ilk tartımla farkları alındı. Ortalamaları ve SD (\pm) değerleri hesaplandı.

5.2.3.5.E. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlar üzerinde yapılan çözünme hızı tayini çalışmaları

Hazırlanan formülasyonların bir kısmı ile dissolüsyon çalışmaları yapıldı. Yöntem olarak FDA tarafından kabul edilen transdermal sistemler için ilaç salım tayini uygulanmıştır (Resim 5.1).

İlaç salım çalışmaları için tabletlerin denetiminde kullanılan farmakope palet yönteminden (Aparey 2) yararlanıldı. Transdermal yamanın tamamı, çapı 9 cm olan bir saat camının içbükey yüzüne, salım yüzeyi yukarı gelecek şekilde yapıştırıldı, üzerine 18 mesh alüminyum tel elek konarak saat camına tutturuldu. Sistemler 900 ml'lik salım kabının dibine yerleştirildi ve sıcaklığı $32 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ olan havası alınmış distile su kullanıldı. Palet diskten 2.5 cm yukarıda olacak şekilde, 50 devir/dakika hızla döndürüldü ve değişik zamanlarda örnek alınarak etkin maddenin salım profilleri saptandı. Etkin maddenin çözünürlük sorunu olmadığı için ve sonsuz seyrelme koşullarını da sağladığı için ortam hacmi için 500 ml yeterli oldu.



Resim 5.1. Dissolüsyon çalışmasında kullanılan cihaz

Dissolüsyon çalışması en az 32 saat devam ettirildi. İlaç salımı devam ediyorsa bu süre 72 saate kadar uzatıldı.

5.2.3.5.F. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonların insan derisinden *ex vivo* geçiş çalışmaları

İnsan derilerinin hazırlanması

Çalışmada plastik cerrahi ameliyatları sonucu artan meme veya karın derisi kullanıldı. Deri kesildiği anda, hemen subkutan yağ tabakası ayrıldı (Resim 5.2) (Resim 5.3) ve derin dondurucuda (-20°C 'den -30°C 'ye), sıkıca kapalı plastik bir ambalajda saklandı. Bu şekilde, deri bariyer özelliği zayıflamadan aylarca saklanabildi. Tekrarlanan ısıtma ve dondurma işleminden kaçınıldı.

Yöntem

- Taze yeni kesilmiş insan derisi alınır veya uygun şekilde dondurulmuş deri çözünene kadar bekletilir.
- Derinin yüzeyi ıslak pamuk ile temizlenir ve donma hasarını önlemek için silerek kurulanır.
- Makas veya bistüri kullanılarak 10cm X 10cm boyutlarında parçalara bölünür.
- Bir parça deri; yüzey (*stratum corneum*) aşağıya gelecek şekilde hazırlama levhasına sabitlenir ve ameliyat kısıkaçları kullanılarak gerilir.
- Deri 25 mm çapında diskler şeklinde silindir ile çıkartılır (Resim 5.4) (Resim 5.5)
- Bu yuvarlak deri kesileri 60°C 'lik su banyosunda 90 saniye "Ringer çözeltisi" içinde inkübe edilir. (Resim 5.6)
- Nemlendirilmiş filtre kağıdının üzerine yerleştirilir ve epidermis dikkatli bir şekilde 2 pens yardımıyla soyulur. (Resim 5.7)
- Ayrılan epidermis 15 dakika fosfat tamponunda (PBS) bekletilir
- Epidermis hemen kullanılabilir veya teflon parçalar üzerinde desikatörde saklanabilir.
- Kullanımdan önce teflon tabakadan kolaylıkla ayrılmasını sağlamak için petri kutusunda 30 dakika bekletilir.
- Diyaliz membran 1 saat suda bekletilir.
- Epidermis diyaliz membran (naylon membran) ile alınır.

- Franz hücresinde kullanılacak olan bu deri; üstte epidermis, altta diyaliz membran olacak şekilde yerleştirilir. Bu işlem sırasında hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilmelidir (121,122).



Resim 5.2. Subkutan yağ tabakasının ayrılması



Resim 5.3. Subkutan yağ tabakası ayrılmış insan derisi



Resim 5.4. Deri zımbası yardımıyla derinin Franz difüzyon hücresi dış çapı ölçülerinde kesilmesi



Resim 5.5. Kesilen derilerin görüntüsü



Resim 5.6. Derinin ayrılabilmesi için su banyosunda bekletilmesi



Resim 5.7. Epidermisin ayrılması

İnsan derisinden betahistinin *ex vivo* geçiş alışması

İnsan derisinden betahistinin *ex vivo* geçiş çalışması için Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu'ndan "MAR-YÇ-2009-0177" protokol numarasıyla etik kurul onayı alındı.

Bu araştırmada *ex vivo* alışma için Franz difüzyon hücresi arasına yerleştirilmiş insan derisinden etkin madde geçişi değerlendirildi.

Dissolüsyon alışması sonrası uygun görülen betahistin baz içeren formülasyonlar ile çalışmaya devam edildi. Formülasyonlar yine yöntem 5.2.3.5.C'deki gibi hazırlandı.

Reseptör fazda havası alınmış 10 mM fosfat tamponu- %0.85 NaCl- pH 7.4 kullanıldı. Donör kısımla reseptör kısım arasına, diyaliz membran üzerine yerleştirilmiş olan epidermis, donör kısım da arada boşluk kalmayacak şekilde, transdermal formülasyon yerleştirildi. Hazırlanan bu sistem manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirildi. Reseptör ve donör kısımlar birbirinden ayrılmaması için, kısıkaç ile sıkı bir şekilde tutturuldu. Çalışmada reseptör faz hacmi 16 ml olan Franz hücreleri kullanıldı ve reseptör fazdan belli zaman aralıklarında, sitoloji enjektörleri yardımıyla numuneler alınarak deriden geçen ilaç miktarı tespit edildi. Numune alınırken enjektörün reseptör fazın orta kısmına getirilmesi sağlandı. Alınan numune hacmi yerine ise aynı miktar tampon ilave edildi. Çalışma 24 saat devam ettirildi (Resim 5.8).

Elde edilen numunelerin analizi

Yöntem 5.2.2.4.B'deki gibi çalışıldı ve elde edilen miktarlar tablolar ve grafikleri halinde gösterildi. Kararlı hal geçiş hızı için (Jss) birim alandan geçen kümülatif ilaç miktarının zamana karşı grafiği çizildi ve lineer kısmın eğimi alınarak hesaplandı.



Resim 5.8. Çalışmada kullanılan Franz Difüzyon Hücreleri

5.2.3.5.G. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlardan *in vivo* absorpsiyon çalışmaları (sıçan derisinden)

Çalışmanın bu kısmı için Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu'ndan "43.2009.mar-11.06.2009" onay sayılı ve tarihli etik kurul onayı alınmıştır.

Ex vivo çalışmalar sonrası uygun görülen iki formülasyon ile sıçan derisinden *in vivo* geçiş çalışmaları gerçekleştirildi. Kontrol grubuna, intravenöz uygulama yapıldı ve elde edilen sonuçlar kıyaslandı.

Yöntem

Dişi Wistar sıçanlar ile çalışıldı. Çalışmadan bir gün önce hidratasyonu sağlamak için sıçanlara subkutan enjeksiyonla 5ml serum fizyolojik (SF) uygulandı.

Transdermal uygulama için hazırlanan formülasyonların sırt tabakası olan alüminyum folyo üzerine, yapışkan tabaka olarak 3M firmasının köpük bantı (foam tape) yerleştirildi.

Damar kanüllerinin hazırlanması

PE 50 (iç çapı 0.58 mm) polietilen kanülün ucuna ısıtılarak PE 10 polietilen kanüllerin tutturulması ile yapıldı. Damar içine yerleştirilecek olan PE 10 polietilen kanülün uzunluğu 2 cm olacak şekilde kısaltıldı. Kan alma ve verme işlemleri ucuna enjektör takılan PE 50 kısmından sağlandı.

Anestezi

Anestezik madde olarak üretan kullanıldı ve 1.2 g/kg dozunda intraperitoneal uygulandı. Anestezi gerçekleştirildikten sonra transdermal yama yapıştırılacak bölge ve kanülasyon yapılacak bölgeler traş edildi.

Kanül takılması

Üretan anestezisi altında sıçanların tek taraflı iliak fossaları insize edildi, ven-arter- sinir paketi künt diseksiyon ile ayrıldı ve iliak artere, içinde heparin/fizyolojik tuzlu su solüsyonu (50IU/ml) bulunan damar kanülü yerleştirildi.

(50IU/ml heparin çözeltisi;5000 I.U/ ml heparin sodyum içeren Nevparin Flakondan, serum fizyolojik ile seyreltilerek hazırlandı)

Transdermal uygulama yapılacak olan sıçanlara kan almak için sadece arter kanülasyonu (Resim 5.9), intravenöz uygulama yapılacak olan sıçanlara ise ilaç verilebilmesi için ayrıca ven kanülasyonu da yapıldı (Resim 5.10). Kanülasyon sonrası herhangi bir uygulama yapılmadan önce her hayvandan kan alındı. Kan alma hacmi 0.3 ml olarak belirlendi.



Resim 5.9. İliyak arter kanülasyonu yapılmış sıçan



Resim 5.10. Intravenöz betahistin baz uygulanan sıçandaki arter ve ven kanülasyonu

İntravenöz (IV) uygulama için hazırlanan betahistin bazın (BH) 5 mg/ml izotonik NaCl (serum fizyolojik) olacak şekilde çözeltisi hazırlandı ve hayvan ağırlığının 100 gramı başına 0.1 ml olacak şekilde, 5mg/kg dozunda uygulandı.

Transdermal formülasyonlardan T15 ve T18 numaralı formülasyonlar uygulandı.

Kan alma işlemlerinde küçük hacimli olduğu için heparinli pediatrik kan tüpleri (0,2ml- 0,4 ml hacimli) kullanıldı (Resim 5.11). Her kan alma işleminden sonra pıhtılaşma nedenli tıkanmayı önlemek için kanül tamamen dolana kadar heparinli çözelti verildi.



Resim 5.11. Kan almak için kullanılan pediatrik kan tüpleri

Kan alma süreleri (i.v. için)

Boş kan, t0, t15', t30', t60', t90', t 2sa, t 4sa, t 6sa

Intravenöz uygulama için hayvan kodları, ağırlıkları, uygulanan üretan hacmi ve sıçanın ağırlığına göre verilen betahistin baz miktarı sırasıyla şu şekildedir:

IV 1: 250 g 0.45+ 0.3 ml üretan	0.25 ml (5mg/kg BH/SF)
IV 2: 250 g 0.7+ 0.35 ml üretan	0.25 ml (5mg/kg BH/SF)
IV 3: 270 g 0.8 ml üretan	0.27ml (5mg/kg BH/SF)
IV 4: 200 g 0.4 ml üretan + 0.2 ml üretan	0.2 ml (5mg/kg BH/SF)

Kan alma süreleri (transdermal formülasyonlar için)

Boş kan, t30', t60', t90', t2 sa, t3 sa, t4 sa, t5 sa, t6 sa, t7 sa, t8 sa, t9 sa, t12 sa, t24 sa

T15 nolu formülasyonun transdermal uygulaması için hayvan kodları, ağırlıkları, uygulanan üretan hacmi (ve eğer varsa beslenme amaçlı %5 dekstroz) şu şekildedir;

T15 1. Hayvan: 230 g 0.8 + 0.4 ml üretan

T15 2. Hayvan: 190 g 0.5 ml üretan (7.saat ve 12. saatte 1ml %5 dekstroz yapıldı)

T15 3. Hayvan: 270 g 0.7 + 0.3 + 0.3 ml üretan (24 saat yaşadı)

T15 4. Hayvan: 272 g 0.9 ml üretan + 0.3 ml idame

Hepsine 4. saatte, 8. saatte 1 ml %5 dekstroz,

T15 3. Hayvana 24. saat kanını almadan önce 1 ml %5 dekstroz.

T18 nolu formülasyonun transdermal uygulaması için hayvan kodları, ağırlıkları, uygulanan üretan hacmi şu şekildedir;

T18 1. Hayvan: 300 g 0.8 ml üretan

T18 2. Hayvan: 314 g 0.8 ml üretan + 1/3 idame

T18 3. Hayvan: 234 g 0.55 ml üretan + 1/3 idame,7. saatte 1/2 idame (24saat yaşadı)

T18 4. Hayvan: 260 g 0.9 ml üretan (10. saatte öldü)

Hepsine 4. saatte, 8. saatte 1ml %5 dekstroz,

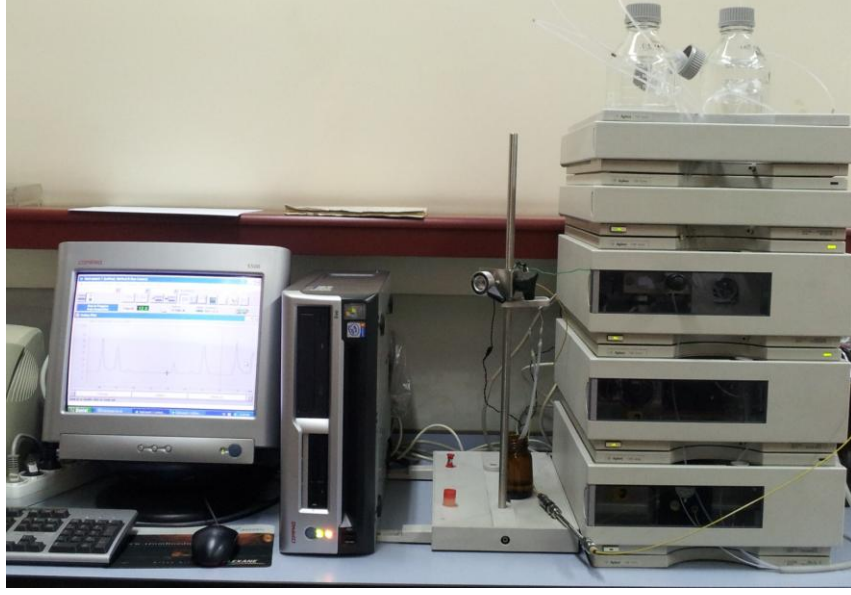
T18 3. Hayvana 24. saat kanını almadan önce %5 dekstroz 1ml

Analiz

Analiz için yöntem 5.2.2.4.C' deki gibi çalışıldı. Kan alma işleminden sonra oda sıcaklığında 2000 g'de 5 dakika santrifüj yapıldı. Plazma kolaylıkla ayrıldı (Resim 5.11).

Analiz sırasında yöntem geliştirme kısmında Yöntem 5.2.2.4.C' de plazmaya betahistin bazın bilinen konsantrasyonda, metanoldeki çözeltisi eklenerek çalışılmıştı. Bilinmeyen numuneye çalışırken aynı hacimde (20 µl) metanol eklenerek çalışıldı. Analizde kullanılan HPLC cihazı Resim 5.12'de gösterilmiştir.

Analiz sonuçları tablolar ve grafikler halinde gösterildi.



Resim 5.12. Çalışmada kullanılan HPLC cihazı

6. BULGULAR

6.1. Betahistin Dihidroklorür Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular

6.1.1. FTIR spektrumu

Betahistin dihidroklorürün FTIR spektrumu yöntem 5.2.1.1’de anlatıldığı şekilde alındı (Şekil 6.1).

Betahistin dihidroklorür için;

3039.91 cm^{-1} : =C-H gerilme titreşimi

3014.84 cm^{-1} : =C-H gerilme titreşimi

2931.90 cm^{-1} : Alifatik C-H gerilme titreşimi

2389.88 cm^{-1} : Piridin azotundan hareketle oluşan $\text{C}=\text{NH}$ tuzu

2085.12 cm^{-1} : Sekonder amin tuzu

1629.90 cm^{-1} : C=N gerilme titreşimi veya N-H eğilme titreşimi

1616.40 cm^{-1} : C=N gerilme titreşimi veya N-H eğilme titreşimi

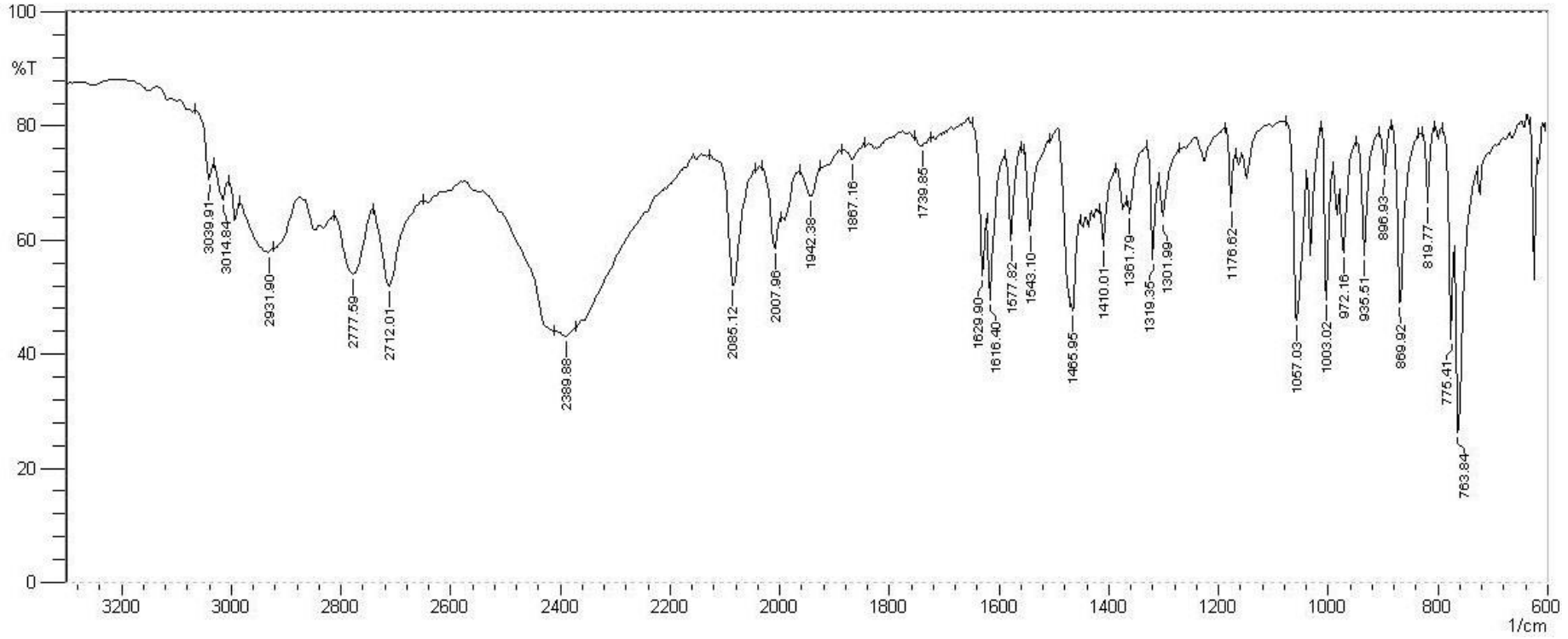
1577.82 cm^{-1} : C=C gerilme titreşimi

1543.10 cm^{-1} : C=C gerilme titreşimi

1465.95 cm^{-1} : C=C gerilme titreşimidir.

6.1.2. Erime derecesi tayini

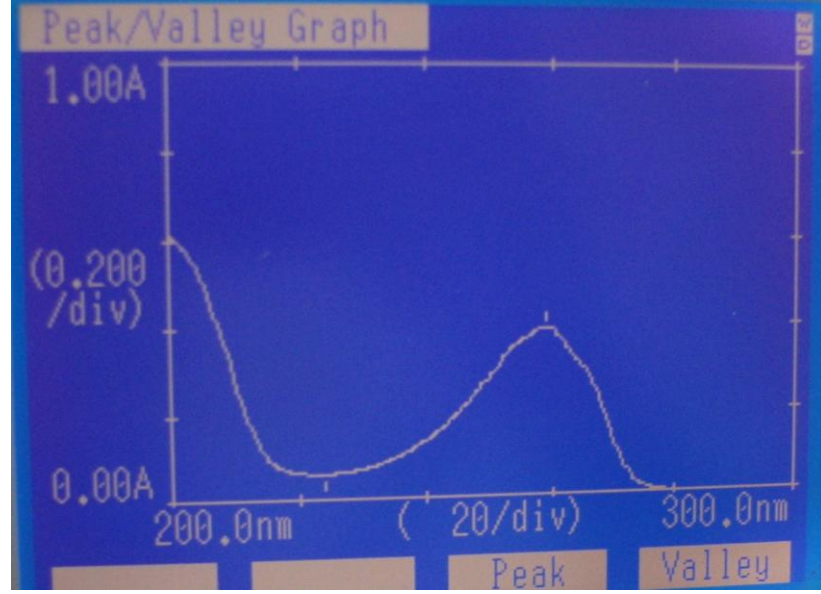
Erime derecesi tayini yöntem 5.2.1.2’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi ve betahistin dihidroklorürün erime derecesi 155.5 °C olarak bulundu.



Şekil 6.1. Betahistin dihidroklorürün FTIR spektrumu

6.1.3. Ultraviyole (UV) spektrumu

Yöntem 5.2.1.3'deki gibi çalışılarak betahistin dihidroklorür'ün UV spektrumuna bakılmış ve 259 nm'de maksimum absorbans verdiği bulundu (Resim 6.1 ve Resim 6.2) .



Resim 6.1. Betahistin dihidroklorür çözeltisi spektrumu (25 µg/ml)

Peak detection	
Abscis.	ABS
259.0	0.396

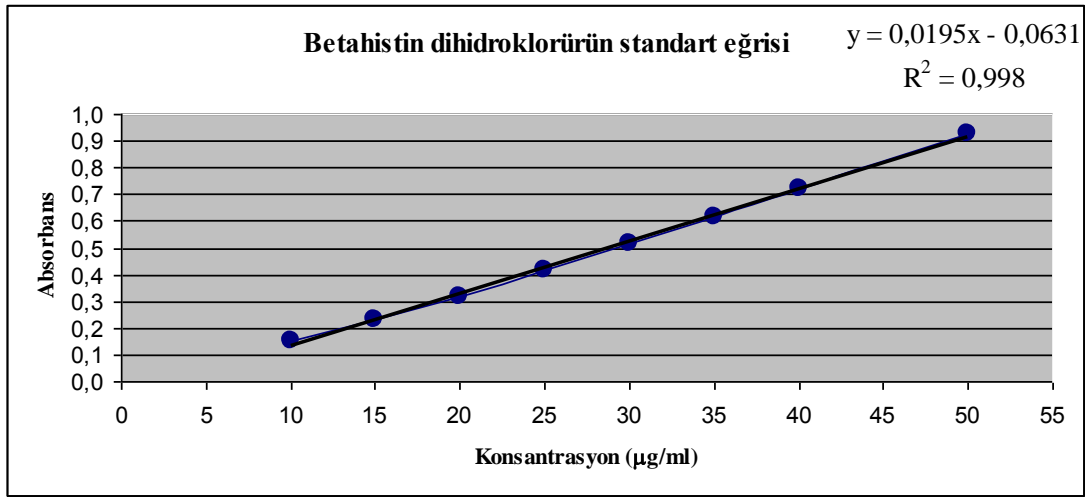
The figure is a table titled "Peak detection" showing the maximum absorbance (ABS) at a specific wavelength (Abscis.). The table has two columns: "Abscis." and "ABS". The values are 259.0 and 0.396, respectively. The table is displayed on a blue background with white text and lines.

Resim 6.2. Betahistin dihidroklorür çözeltisi maksimum absorbans verdiği dalga boyu (25 µg/ml)

6.1.4. Spektrofotometrik yöntem validasyonuna ait bulgular

6.1.4.1. Doğrusallık

Betahistin dihidroklorürün yöntem 5.2.1.5.A’da anlatıldığı gibi yapılan standart eğri grafiği Şekil 6.2’de ve bu eğriye ait ortalama absorbans değerleri, standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (RSD%) sonuçları Tablo 6.1’de verildi.



Şekil 6.2. Betahistin dihidroklorürün standart eğri grafiği

Tablo 6.1. Betahistin dihidroklorürün standart eğrisine ait veriler (n=9)

Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	SD (±)	RSD (%)
10	0.154	0.005	3.554
15	0.230	0.005	2.166
20	0.316	0.006	1.986
25	0.414	0.009	2.182
30	0.513	0.007	1.395
35	0.618	0.006	0.925
40	0.720	0.015	2.037
50	0.926	0.021	2.306

6.1.4.2. Kesinlik

a) Tekrar edilebilirlik

Yöntem 5.2.1.5.B’de anlatıldığı şekilde çalışılarak hazırlanan çözeltilerin absorbanları, SD ve RSD % değerleri Tablo 6.2’de verildi.

b) Tekrar elde edilebilirlik

Yöntem 5.2.1.5.B’de anlatıldığı şekilde çalışılarak hazırlanan çözeltilerin absorbanları, SD ve RSD % değerleri Tablo 6.3’de verildi.

Tablo 6.2. Betahistin dihidroklorürün gün içi kesinlik (tekrar edilebilirlik) verileri (n=3)

Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans				SD (±)	RSD (%)
	1. seri	2.seri	3.seri	Ortalama		
10	0.154	0.16	0.156	0.157	0.003	1.950
15	0.231	0.235	0.233	0.233	0.002	0.858
20	0.315	0.318	0.317	0.317	0.002	0.482
25	0.421	0.406	0.417	0.415	0.008	1.873
30	0.511	0.513	0.524	0.516	0.007	1.357
35	0.612	0.626	0.624	0.621	0.008	1.220
40	0.727	0.739	0.704	0.723	0.018	2.459
50	0.897	0.949	0.932	0.926	0.027	2.863

Tablo 6.3. Betahistin dihidroklorürün günler arası kesinlik (tekrar elde edilebilirlik) verileri (n=3)

Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbans				SD (\pm)	RSD (%)
	1. gün	2. gün	3. gün	Ortalama		
10	0.158	0.156	0.16	0.158	0.002	1.266
15	0.23	0.229	0.235	0.231	0.003	1.390
20	0.326	0.321	0.318	0.322	0.004	1.256
25	0.4	0.408	0.406	0.405	0.004	1.029
30	0.5	0.51	0.513	0.508	0.007	1.341
35	0.619	0.625	0.626	0.623	0.004	0.607
40	0.723	0.735	0.739	0.732	0.008	1.137
50	0.937	0.947	0.949	0.944	0.006	0.681

6.1.4.3. Doğruluk

Yöntemin doğruluğunu saptamak için, yöntem 5.2.1.5.C’de anlatıldığı şekilde farklı konsantrasyonlardaki betahistin dihidroklorür çözeltileri hazırlandı. Elde edilen absorbans, SD ve RSD % değerleri Tablo 6.4, Tablo 6.5 ve Tablo 6.6’da verildi.

6.1.4.4. Seçicilik

Yöntem 5.2.1.5.D’de anlatıldığı şekilde yapılan çalışmalar sonucunda, formülasyon hazırlamada kullanılan yardımcı maddelerin hiçbirinin betahistin dihidroklorürün (259 nm) gösterdiği dalga boyunda absorbans vermediği saptandı.

Tablo 6.4. Betahistin dihidroklorürün (düşük konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular (n=6)

Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	Bulunan Konsantrasyon (µg/ml)	Geri kazanılan (%)
10	0.141	10.467	104.667
10	0.131	9.954	99.538
10	0.145	10.672	106.718
10	0.142	10.518	105.179
10	0.144	10.621	106.205
10	0.139	10.364	103.641
Ortalama	0.141	10.432	104.325
SD (±)	0.005	0.259	2.588
RSD (%)	3.588	2.481	2.481

Tablo 6.5. Betahistin dihidroklorürün (orta konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular (n=6)

Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	Bulunan Konsantrasyon (µg/ml)	Geri kazanılan (%)
30	0.525	30.159	100.530
30	0.490	28.364	94.547
30	0.503	29.031	96.769
30	0.527	30.262	100.872
30	0.514	29.595	98.650
30	0.504	29.082	96.940
Ortalama	0.511	29.415	98.051
SD (±)	0.014	0.730	2.434
RSD (%)	2.789	2.482	2.482

Tablo 6.6. Betahistin dihidroklorürün (yüksek konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular (n=6)

Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	Bulunan Konsantrasyon (µg/ml)	Geri kazanılan (%)
50	0.906	49.697	99.395
50	0.943	51.595	103.190
50	0.922	50.518	101.036
50	0.922	50.518	101.036
50	0.945	51.697	103.395
50	0.922	50.518	101.036
Ortalama	0.927	50.757	101.515
SD (±)	0.015	0.759	1.518
RSD (%)	1.597	1.495	1.495

6.1.4.5. Stabilité

Yöntem 5.2.1.5.E' de anlatıldığı şekilde çalışılarak, betahistin dihidroklorürün belirlenen deney koşullarında sulu ortamda stabil olduğu belirlendi (Tablo 6.7)

Tablo 6.7. Betahistin dihidroklorür çözeltisinin 2 hafta boyunca dissolüsyon şartlarında gözlenen absorbansları (n=3)

ZAMAN	Absorbans 1.	Absorbans 2.	Absorbans 3.
Başlangıç	0.258	0.255	0.252
1.Saat	0.254	0.251	0.250
2.Saat	0.255	0.256	0.258
3.Saat	0.255	0.258	0.253
4.Saat	0.255	0.255	0.255
16.Saat	0.255	0.259	0.257
22.Saat	0.249	0.248	0.247
47.Saat	0.255	0.258	0.254
2 hafta sonra	0.260	0.262	0.249

6.1.5. Çözünürlük tayini

Yöntem 5.2.1.6'daki gibi çalışıldı. 10 ml distile suya eklenen madde miktarı 5.4079 g olduğunda, maddenin tamamı kolayca çözündüğü için, deney bırakıldı (540.79 mg/ml). Çalışma, 9.8205 g betahistin dihidroklorür üzerine 4.1 ml distile su eklenerek tekrarlandı ve yine kolayca çözündüğü belirlendi (2395.24 mg/ml). Madde, çok çözünür (very soluble) özelliğini sağladığı için, çözünürlük çalışmalarına devam edilmedi (70).

6.2. Betahistin Baz Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular

6.2.1. FTIR spektrumu

Betahistin bazın FTIR spektrumu, yöntem 5.2.2.1'de anlatıldığı şekilde alındı (Şekil 6.3).

Betahistin için;

3304.94 cm^{-1} : Sekonder amine ait N-H gerilme titreşimi

3010.88 cm^{-1} : Piridin halkası içindeki =C-H gerilme titreşimi

2937.79 cm^{-1} : Alifatik C-H asimetric gerilme titreşimi

2850.43 cm^{-1} : Alifatik C-H simetric gerilme titreşimi

1593.41 cm^{-1} : C=N gerilme titreşimi, N-H eğilme titreşimi

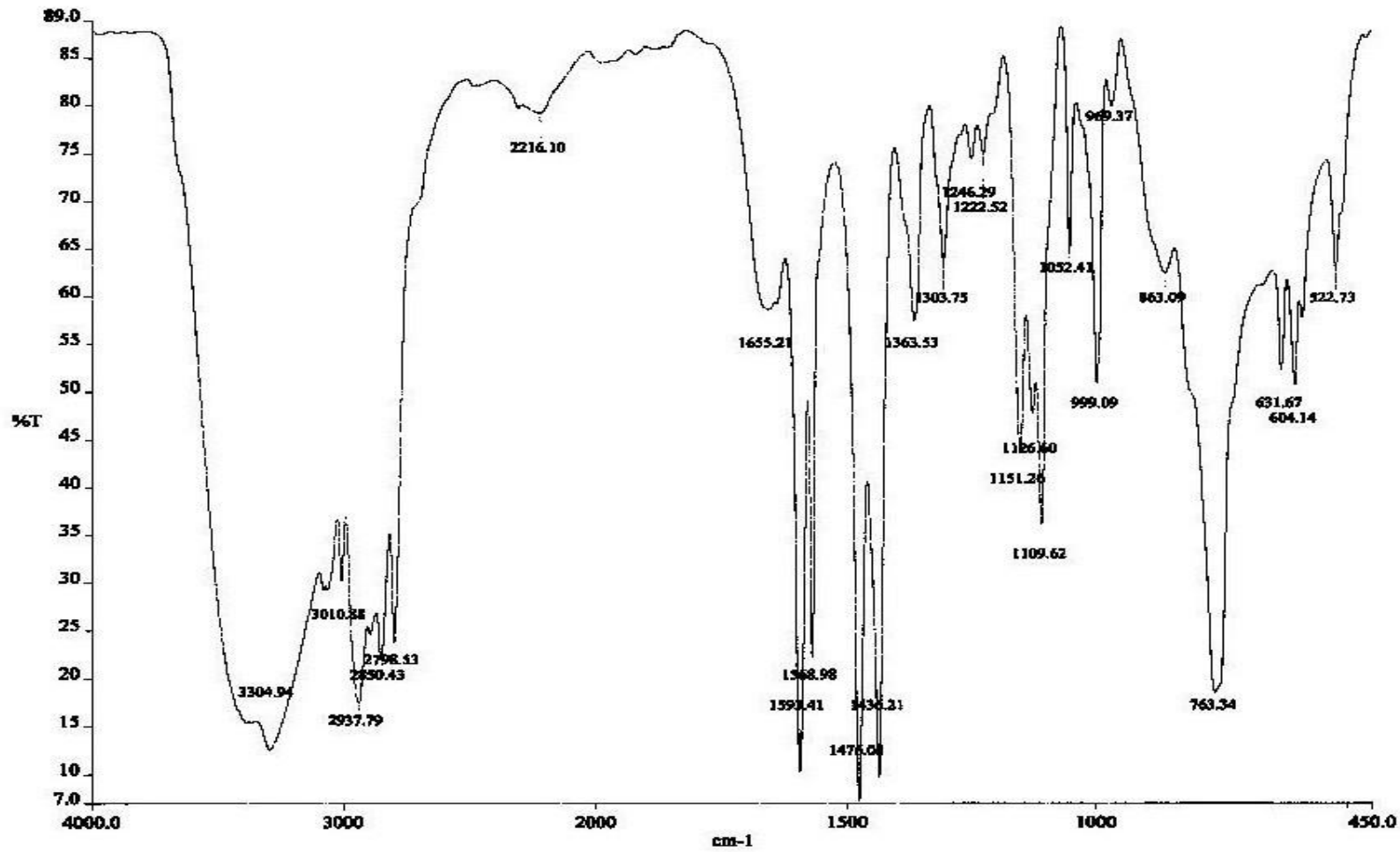
1568.98 cm^{-1} : C=N gerilme titreşimi, N-H eğilme titreşimi

1476.08 cm^{-1} : C=C gerilme titreşimi

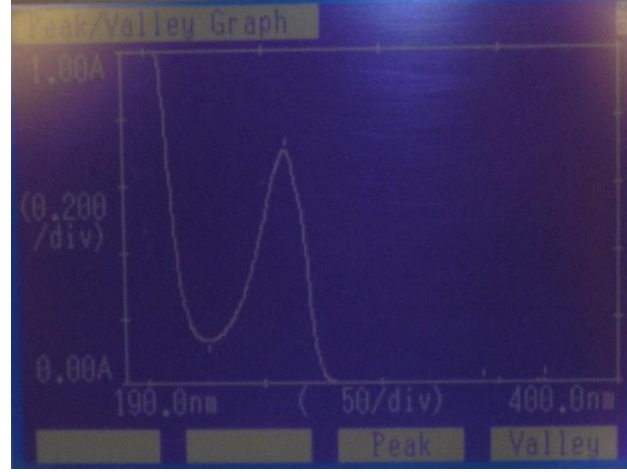
1436.21 cm^{-1} : C=C gerilme titreşimidir.

6.2.2. Ultraviyole (UV) spektrumu

Yöntem 5.2.2.2'deki gibi çalışılarak ve betahistin bazın 259.5 nm'de maksimum absorbans verdiği saptandı. (Resim 6.3, Resim 6.4, ve Şekil 6.4).



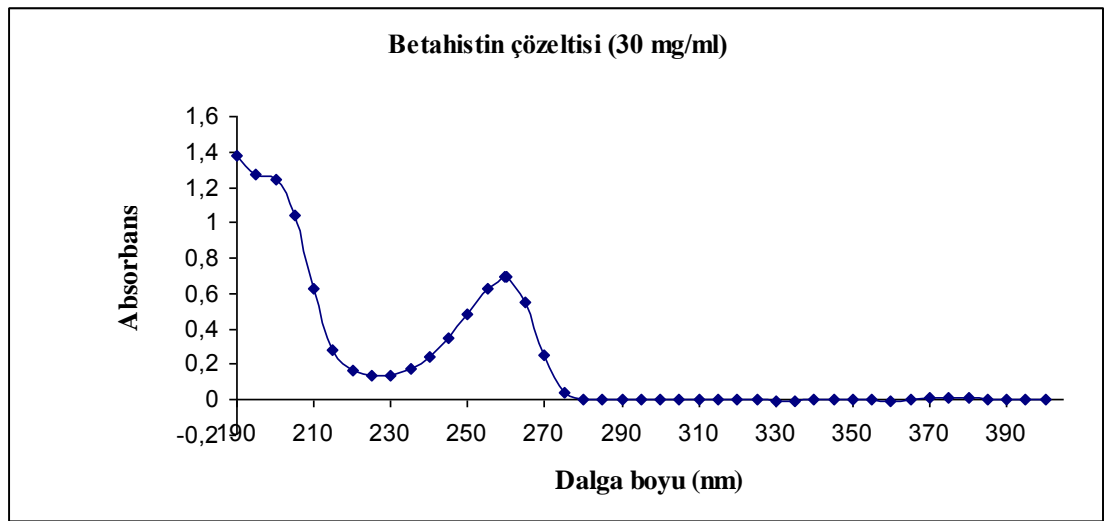
Şekil 6.3. Betahistin bazın FTIR spektrumu



Resim.6.3. Betahistin baz çözeltisi spektrumu (30 µg/ml)

Peak detection			
Abcis.	ABS	Abcis.	ABS
369.0	0.007		
343.5	0.003		
259.5	0.705		

Resim 6.4. Betahistin baz çözeltisi maksimum absorbans verdiği dalga boyu (30 µg/ml)



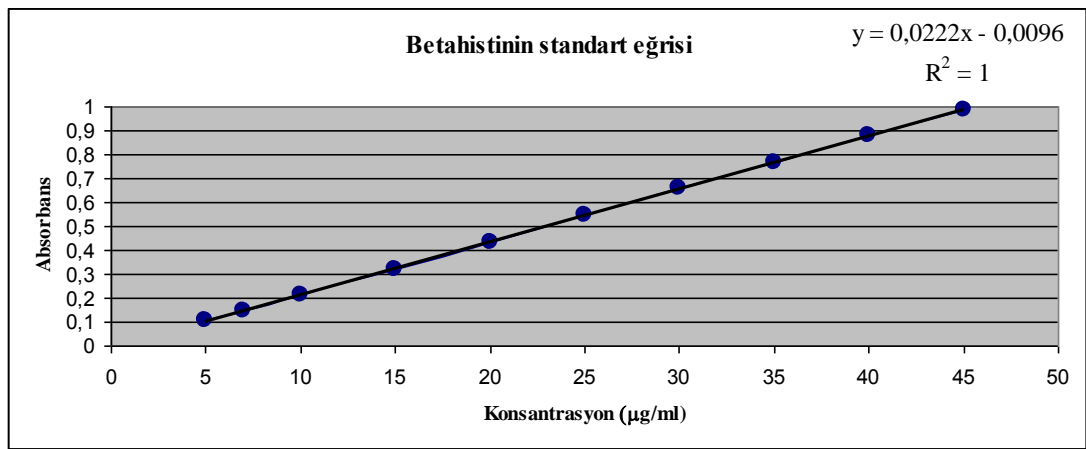
Şekil 6.4. Betahistin baz çözeltisinin (30 µg/ml) 5'er nm aralıklarla taranarak elde edilen spektrumu

6.2.3. Miktar tayini yöntemlerinin validasyonuna ait bulgular

6.2.3.1. Spektrofotometrik yöntem validasyonuna ait bulgular

6.2.3.1.A. Doğrusallık

Betahistin bazın yöntem 5.2.2.4.A.'da anlatıldığı gibi hazırlanan standart eğri grafiği Şekil 6.5'de; bu eğriye ait ortalama absorbans değerleri, standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (%RSD) sonuçları Tablo 6.8'de verildi.



Şekil 6.5. Betahistin bazın standart eğri grafiği

Tablo 6.8. Betahistin bazın standart eğrisine ait veriler (n=9)

Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	SD (±)	RSD (%)
5	0.104	0.004	3.893
7	0.145	0.008	5.326
10	0.212	0.011	5.342
15	0.322	0.017	5.202
20	0.434	0.022	5.002
25	0.546	0.026	4.824
30	0.657	0.031	4.790
35	0.769	0.036	4.687
40	0.878	0.042	4.827
45	0.990	0.047	4.787

6.2.3.1.B. Kesinlik

a) Tekrar edilebilirlik

Yöntem 5.2.2.4.A.'da anlatıldığı şekilde çalışılarak hazırlanan çözeltilerin absorbansları, SD ve RSD % değerleri Tablo 6.9'da verildi.

b) Tekrar elde edilebilirlik

Yöntem 5.2.2.4.A.'da anlatıldığı şekilde çalışılarak hazırlanan çözeltilerin absorbansları, SD ve RSD % değerleri Tablo 6.10'da verildi.

6.2.3.1.C. Doğruluk

Yöntemin doğruluğunu saptamak için farklı konsantrasyonlardaki betahistin baz çözeltileri yöntem 5.2.2.4.A.'da anlatıldığı şekilde hazırlandı. Elde edilen absorbans, SD ve RSD % değerleri Tablo 6.11, Tablo 6.12 ve Tablo 6.13'de verildi.

Tablo 6.9. Betahistin bazın gün içi kesinlik (tekrar edilebilirlik) verileri (n=3)

Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbans				SD (\pm)	RSD (%)
	1. seri	2. seri	3. seri	Ortalama		
5	0.106	0.102	0.104	0.104	0.002	1.923
7	0.153	0.142	0.141	0.145	0.007	4.581
10	0.217	0.205	0.205	0.209	0.007	3.315
15	0.327	0.314	0.324	0.322	0.007	2.116
20	0.438	0.424	0.429	0.430	0.007	1.649
25	0.552	0.536	0.542	0.543	0.008	1.488
30	0.662	0.648	0.654	0.655	0.007	1.073
35	0.767	0.759	0.764	0.763	0.004	0.529
40	0.884	0.857	0.872	0.871	0.014	1.553
45	1.002	0.973	0.989	0.988	0.015	1.470

Tablo 6.10. Betahistin bazın günler arası kesinlik (tekrar elde edilebilirlik) verileri (n=3)

Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbans				SD (\pm)	RSD (%)
	1. gün	2. gün	3. gün	Ortalama		
5	0.102	0.103	0.103	0.103	0.002	1.948
7	0.142	0.143	0.132	0.139	0.007	4.790
10	0.205	0.208	0.199	0.204	0.007	3.396
15	0.314	0.322	0.294	0.310	0.007	2.196
20	0.424	0.431	0.401	0.419	0.007	1.695
25	0.536	0.546	0.505	0.529	0.008	1.528
30	0.648	0.659	0.607	0.638	0.007	1.101
35	0.759	0.769	0.714	0.747	0.004	0.541
40	0.857	0.881	0.812	0.850	0.014	1.591
45	0.973	0.986	0.912	0.957	0.015	1.518

Tablo 6.11. Betahistin bazın (düşük konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular (n=6)

Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbans	Bulunan Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	Geri kazanılan (%)
5	0.104	5.117	102.342
5	0.099	4.892	97.838
5	0.099	4.892	97.838
5	0.110	5.387	107.748
5	0.109	5.342	106.847
5	0.103	5.072	101.441
Ortalama	0.104	5.117	102.342
SD (\pm)	0.005	0.213	4.264
RSD (%)	4.551	4.166	4.166

Tablo 6.12. Betahistin bazın (orta konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular (n=6)

Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	Bulunan Konsantrasyon (µg/ml)	Geri kazanılan (%)
25	0.544	24.937	99.748
25	0.525	24.081	96.324
25	0.57	26.108	104.432
25	0.523	23.991	95.964
25	0.588	26.919	107.676
25	0.581	26.604	106.414
Ortalama	0.555	25.440	101.760
SD (±)	0.028	1.280	5.118
RSD (%)	5.117	5.030	5.030

Tablo 6.13. Betahistin bazın (yüksek konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular (n=6)

Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	Bulunan Konsantrasyon (µg/ml)	Geri kazanılan (%)
45	1.08	49.081	109.069
45	0.927	42.189	93.754
45	1.025	46.604	103.564
45	0.982	44.667	99.259
45	0.958	43.586	96.857
45	0.95	43.225	96.056
Ortalama	0.987	44.892	99.760
SD (±)	0.056	2.542	5.650
RSD (%)	5.718	5.663	5.663

6.2.3.1.D. Seçicilik

Yöntem 5.2.2.4.A'da anlatıldığı şekilde yapılan çalışmalar sonucunda, formülasyon hazırlamada kullanılan yardımcı maddelerin hiçbirinin, betahistin bazın gösterdiği dalga boyunda (259.5 nm) absorbands vermediği saptandı.

6.2.3.1.E. Stabilité

Yöntem 5.2.2.4.A.'da anlatıldığı şekilde çalışılarak, betahistin bazın deney koşullarında sulu ortamda stabil olduğu belirlendi (Tablo 6.14).

Tablo 6.14. Betahistin baz çözeltisinin 10 gün boyunca dissolüsyon şartlarında gözlenen absorbandsları

Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	Zaman	Absorbans
40 $\mu\text{g/ml}$	1. gün	0.978
	2. gün	0.972
	3. gün	0.976
	6. gün	0.979
	10. gün	0.96

6.2.3.2. Betahistin baz için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntem ve validasyonuna ait bulgular (*ex vivo* çalışmalar için)

6.2.3.2.A. Yöntem geliştirme hakkında bulgular

Tablo 5.2' de belirtilen basamaklar ve uygulama nedenleri;

Literatürde belirtilen mobil faz oranları (120): %30 asetonitril ve %70 sodyum asetat (0.02 mol/L, pH4.5) 1 ml/dak, 1. dakikada bu şekilde başlayıp 21. dakikada %70 asetonitril, %30 sodyum asetat olacak şekilde gradient sistem tanımlandı. Betahistin bazın sulu çözeltisi ve % 0.85 NaCl- 10 mM pH 7.4 fosfat tamponunda çözeltileri hazırlanarak enjekte edildi.

Çalışmanın başında 250 mm x 4.6 mm iç çap ölçülerinde 5C18 kolon kullanıldı. Elde edilen madde pikleri çözücü ile üst üste çakıştı.

Bunu daha ileri kaydırabilmek için mobil faz oranları değiştirildi, gradient sistem yerine sabit oranlar denendi fakat madde piki retansiyon zamanı hem çok erken (2-3 dakika gibi), hem de çözücü ile üst üste çakışmaya devam etti.

Bunun üzerine başka bir literatürde geçen oranlardan faydalanıldı (114):

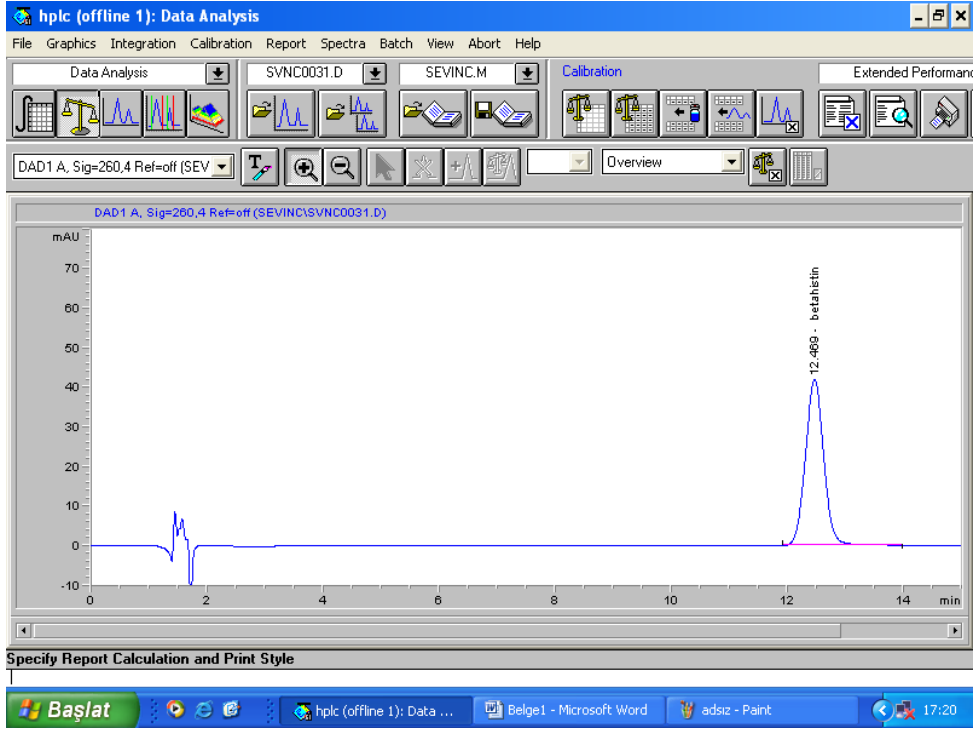
Burada, mobil faz Metanol- 0.025M KH_2PO_4 (pH 3) (25/75 h/h) (0.5g/ 1 oranında sodyum-1 heptan sülfonat içerecek şekilde) hazırlandı. Kolon olarak 150 mm x 4.6 mm iç çap ölçülerinde 5 C18 kolon kullanıldı

Betahistin baz Franz difüzyon hücresi reseptör fazında kullanılacak olan % 0.85 NaCl- 10 mM pH 7.4 fosfat tamponunda çözündürüldü.

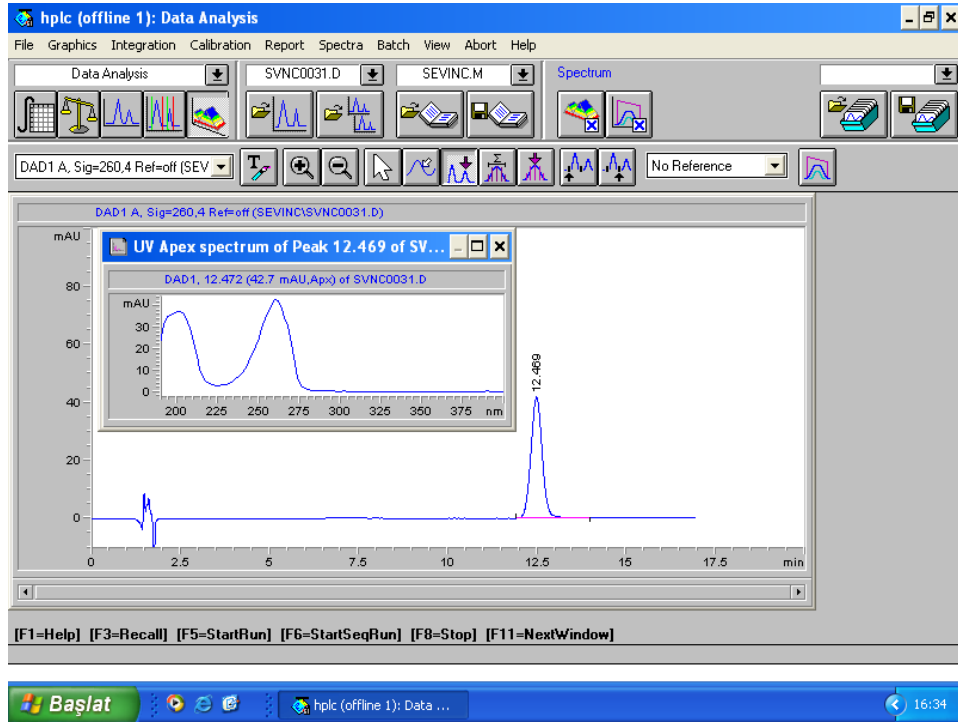
Bu yöntem önceki denemelere göre iyi sonuç verir gibi görünse de elde edilen piklerde görülen yüksek oranda kuyruklanma nedeniyle metotda değişikliğe karar verildi. Akış arttırılarak sırasıyla önce 1.1ml/ dak, sonra 1.2 ml/ dak olarak çalışıldı ve olumlu sonuç alınamadı. Akış 1ml/ dak'da metanol oranı % 25'den %20'ye ve daha sonra % 15'e düşürüldü yine olumlu sonuçlar alınamadı.

Konsantrasyonu 2.5 mM olarak kullanılan iyon çifti ajanı 5mM konsantrasyona çıkarıldı. Mobil faz iyon çifti içerdiği için çalışmaya her yeni başlarken dengeye gelmesi için kolon hacminin 100- 200 katı mobil faz sistemden geçirildi.

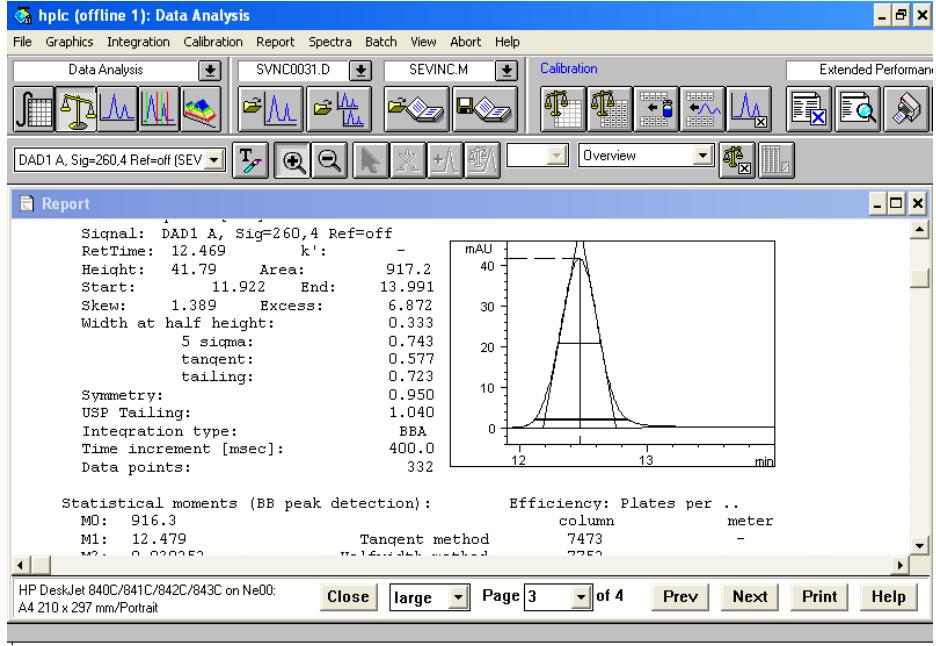
Literatürdeki yöntemle Franz difüzyon hücresinin reseptör fazından alınan numune ekstraksiyon işlemlerine tabi tutulduktan sonra analiz edilmesine rağmen modifiye edilen bu yöntem ile herhangi bir işleme tabi tutulmadan HPLC'de direkt analiz edilebildi. Betahistin bazın kromatogramı Resim 6.5'de, spektrumu Şekil 6.6'da, elde edilen pikin simetrisi ve kuyruklanma faktörü Resim 6.7'de gösterildi.



Resim 6.5. Betahistin bazın HPLC analizi ile elde edilen kromatogramı



Resim 6.6. Betahistin bazın HPLC analizi ile elde edilen UV spektrumu (260 nm)

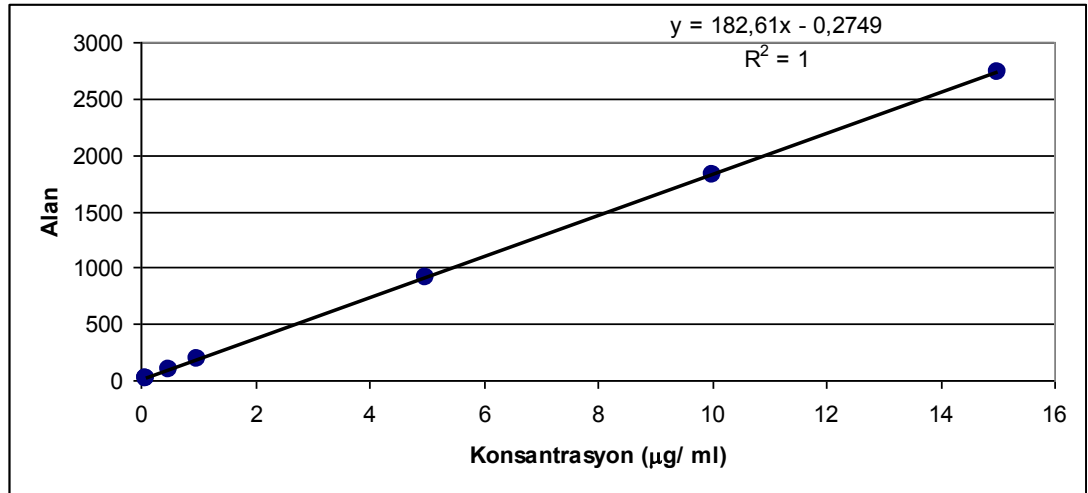


Resim 6.7. Betahistin bazın pik simetrisi ve kuyruklanma faktörü verileri

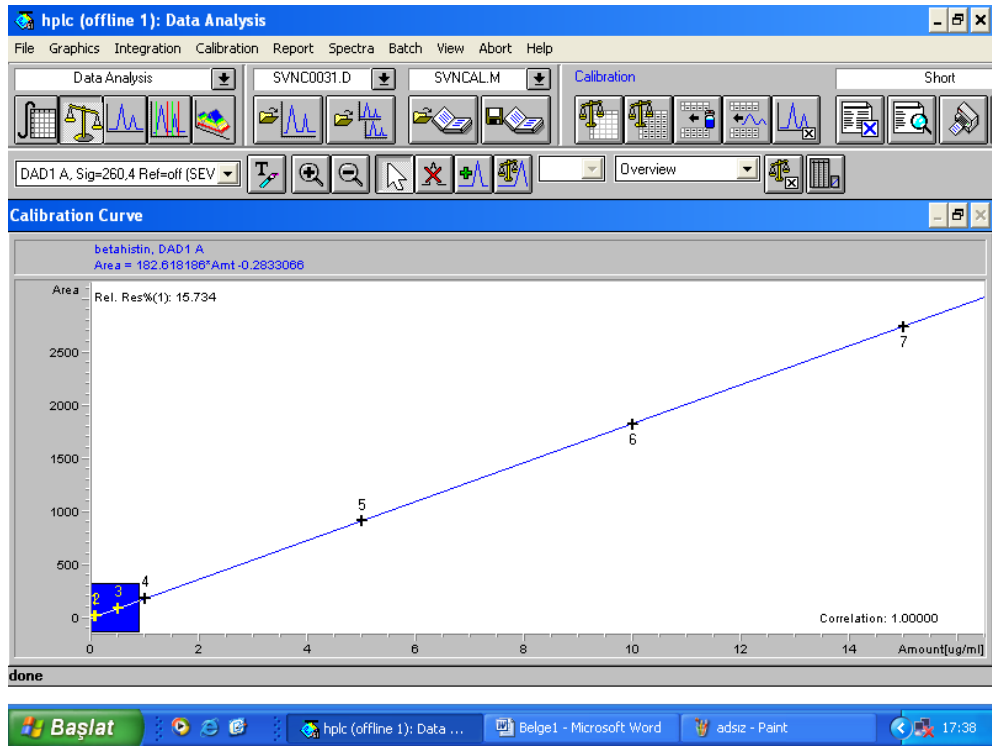
6.2.3.2.B. Yöntem validasyonu hakkında bulgular

Doğrusallık

Betahistin bazın yöntem 5.2.2.4.B’de anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilen standart eğri grafiği Şekil 6.6 ve Resim 6.8’de, bu eğriye ait ortalama alanlar, SD ve RSD % değerleri Tablo 6.15’de verildi.



Şekil 6.6. Betahistin bazın standart eğri grafiği (HPLC yöntemi)



Resim 6.8. HPLC cihazı'nda Agilent Chemstation programı ile çizilen standart eğri grafiği

Tablo 6.15. Betahistin bazın standart eğrisine ait veriler (n=9)

Konsantrasyon (µg/ ml)	Ortalama Alan	SD (±)	RSD %
0.08	16.567	1.230	7.424
0.1	20.211	0.929	4.598
0.5	89.222	2.086	2.337
1	181.089	2.782	1.536
5	910.800	10.712	1.176
10	1825.289	23.853	1.307
15	2740.078	41.848	1.527

Kesinlik

Betahistin bazın yöntem 5.2.2.4.B.'de belirtildiği gibi yapılan miktar tayini yöntemine ait gün içi kesinlik bulguları Tablo 6.16.' da, günler arası kesinlik bulguları da Tablo 6.17.'de verildi.

Tablo 6.16. Betahistin bazın gün içi kesinlik (tekrar edilebilirlik) verileri (n=3)

Konsantrasyon (µg/ ml)	Alan				SD (±)	RSD %
	1. seri	2. seri	3.seri	Ortalama		
0.08	15.3	15.9	16.2	15.8	0.458	2.900
0.1	19	19.8	19.8	19.533	0.462	2.365
0.5	87.4	87.9	86.3	87.2	0.819	0.939
1	185.1	184.5	183.5	184.367	0.808	0.438
5	921.6	920	921.1	920.9	0.819	0.089
10	1847.5	1851.9	1854.9	1851.433	3.722	0.201
15	2780.3	2783.3	2783.3	2782.3	1.732	0.062

Tablo 6.17. Betahistin bazın günler arası kesinlik (tekrar elde edilebilirlik) verileri (n=3)

Konsantrasyon (µg/ml)	Alan				SD (±)	RSD %
	1. gün	2. gün	3. gün	Ortalama		
0.08	15.9	16.2	16.5	16.200	0.300	1.852
0.1	22	19.8	19.9	20.567	1.242	6.040
0.5	91	86.3	89	88.767	2.359	2.657
1	179.7	183.5	178.1	180.433	2.774	1.537
5	914	921.1	896.9	910.667	12.440	1.366
10	1824.9	1854.9	1795.2	1825.000	29.850	1.636
15	2753.5	2783.3	2687.6	2741.467	48.972	1.786

Doğruluk

Yöntemin doğruluğunu saptamak için farklı konsantrasyonlardaki betahistin baz çözeltileri yöntem 5.2.2.4.B’de anlatıldığı şekilde hazırlandı. Elde edilen absorbans, SD ve RSD % değerleri, düşük konsantrasyon Tablo 6.18’de, orta konsantrasyon Tablo 6.19’da ve yüksek konsantrasyon Tablo 6.20’de verildi.

Tablo 6.18. Betahistin bazın (düşük konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular (n=3)

Konsantrasyon (µg/ml)	Alan	Bulunan Konsantrasyon (µg/ml)	Geri kazanılan (%)
0.1	19.6	0.109	108.838
0.1	18.2	0.101	101.423
0.1	17.4	0.097	96.911
Ortalama	18.423	0.102	102.391
SD (±)	1.100	0.006	6.022
RSD (%)	5.969	5.881	5.881

Tablo 6.19. Betahistin bazın (orta konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular (n=3)

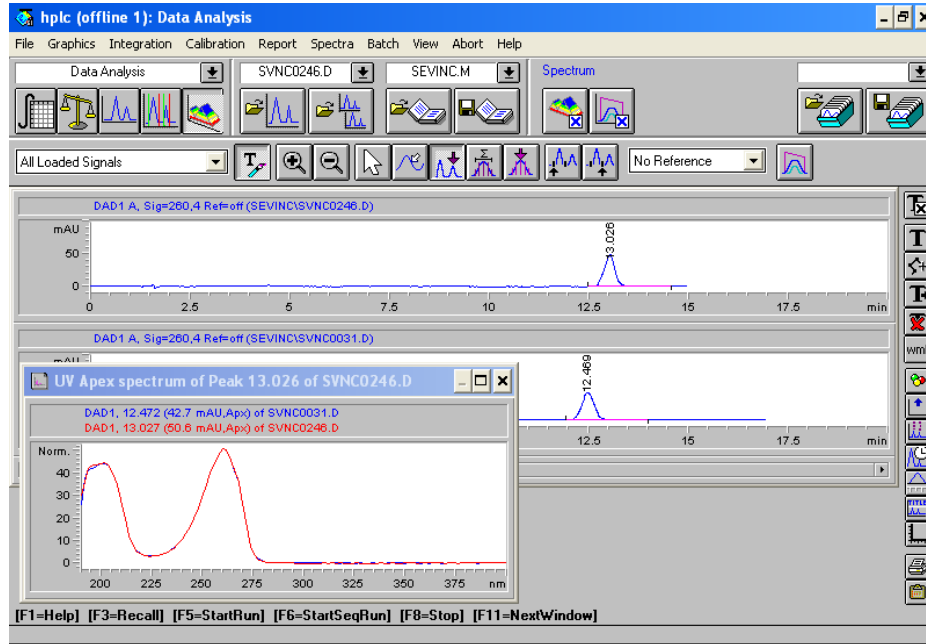
Konsantrasyon (µg/ ml)	Alan	Bulunan Konsantrasyon (µg/ ml)	Geri kazanılan (%)
1	177.9	0.976	97.571
1	181.1	0.993	99.324
1	185.1	1.015	101.514
Ortalama	181.367	0.995	99.470
SD (±)	3.607	0.020	1.975
RSD (%)	1.989	1.986	1.986

Tablo 6.20. Betahistin bazın (yüksek konsantrasyon) analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular (n=3)

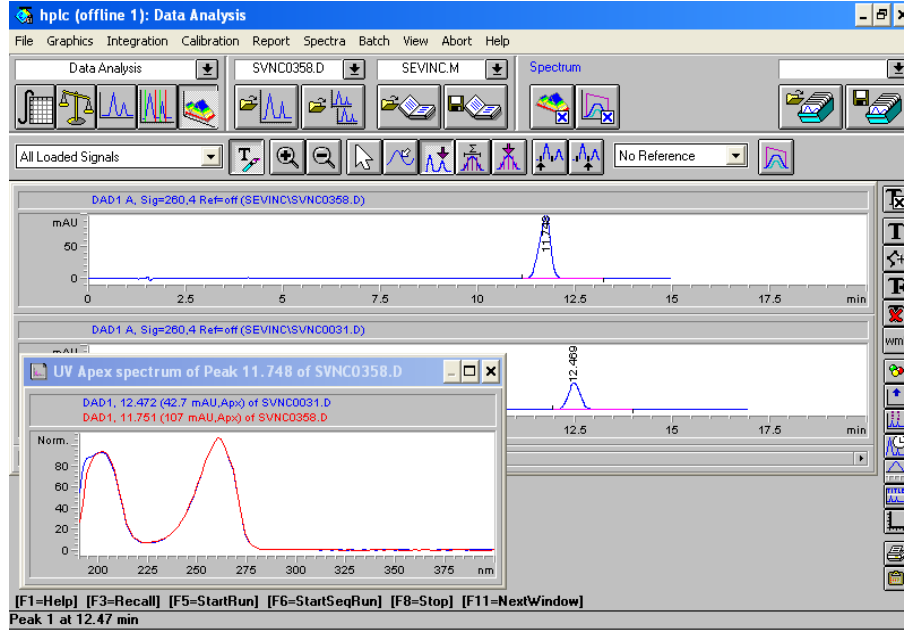
Konsantrasyon (µg/ ml)	Alan	Bulunan Konsantrasyon (µg/ ml)	Geri kazanılan (%)
5	887.2	4.860	97.200
5	920.0	5.040	100.791
5	896.9	4.913	98.261
Ortalama	901.370	4.938	98.751
SD (±)	16.846	0.092	1.845
RSD (%)	1.869	1.868	1.868

Seçicilik

Yöntem 5.2.2.4.B’de anlatıldığı şekilde çalışıldı ve formülasyonların 24. saat pikiyle standardın pik spektrumları üst üste çakıştırılarak Resim 6.9 ve Resim 6.10’da gösterildi.



Resim 6.9. T15 nolu formülasyonunun 24. saat kromatogramı ve 5µg/ml betahistin baz enjeksiyonu ile spektrumları



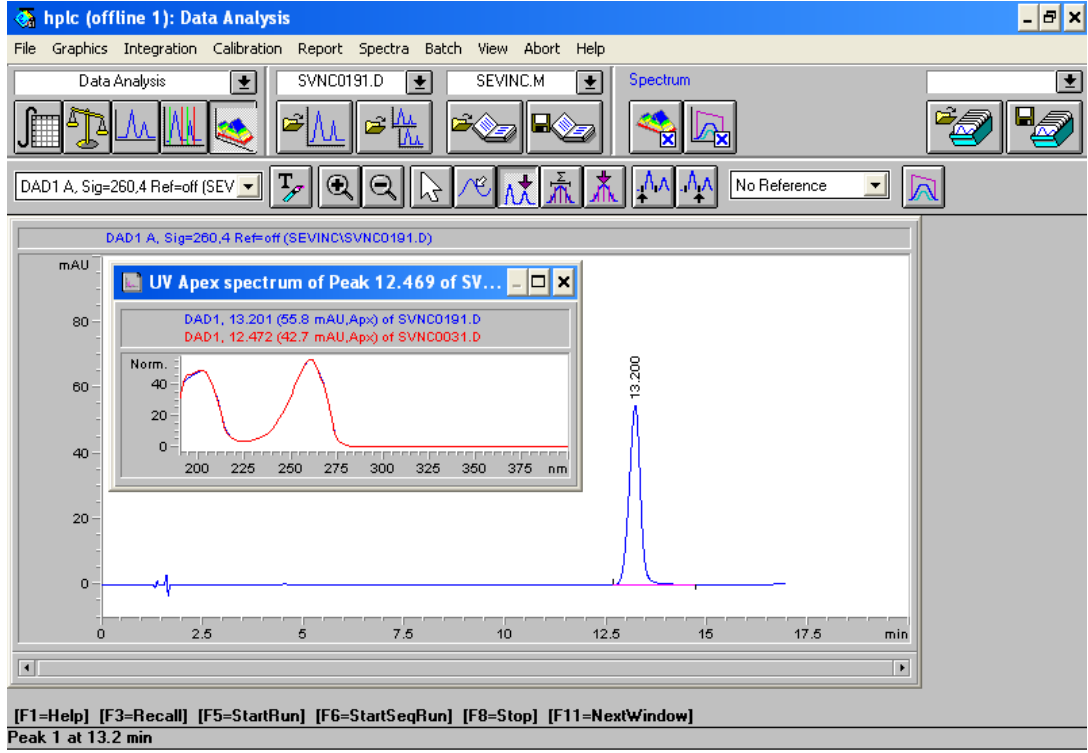
Resim 6.10. T18 nolu formülasyonunun 24. saat kromatogramı ve 5µg/ ml betahistin baz enjeksiyonu ile spektrumları

Stabilite

Yöntem 5.2.2.4.B’de anlatıldığı şekilde çalışıldı ve validasyon çalışmasının stabilitesine ait bulgular ve Tablo 6.21 ve Resim 6.11’de verildi.

Tablo 6.21. Betahistin baz çözeltilerinin farklı zamanlarda enjeksiyonuyla elde edilen alanlar

Konsantrasyon (µg/ml)	Zaman	Alan	Konsantrasyon (µg/ml)	Zaman	Alan
1.39	başlangıç	245.473	3.96	başlangıç	749.36
	1.saat	243.177		1.saat	754.557
	2.saat	243.978		2.saat	748.633
	3.saat	243.864		3.saat	751.797
	24.saat	252.634		24.saat	750.676
Ortalama		245.825	Ortalama		751.005
SD (±)		3.897	SD (±)		2.328
RSD (%)		1.585	RSD (%)		0.310



Resim 6.11. Deney ortamında 12 saat bulunan betahistin baz kromatogramı ve spektrumu

Teşhis limiti (limit of detection) ve miktar tayini limiti (limit of quantitation)

Teşhis limiti: Bunun için gürültü aralığı (Noise Ranges) olarak 0-1 ve 7-10. dakikalar seçildi, yapılan 6 enjeksiyonun sonucunda elde edilen S/G oranları değerlendirildi ve teşhis limiti **25 ng/ml** olarak belirlendi.

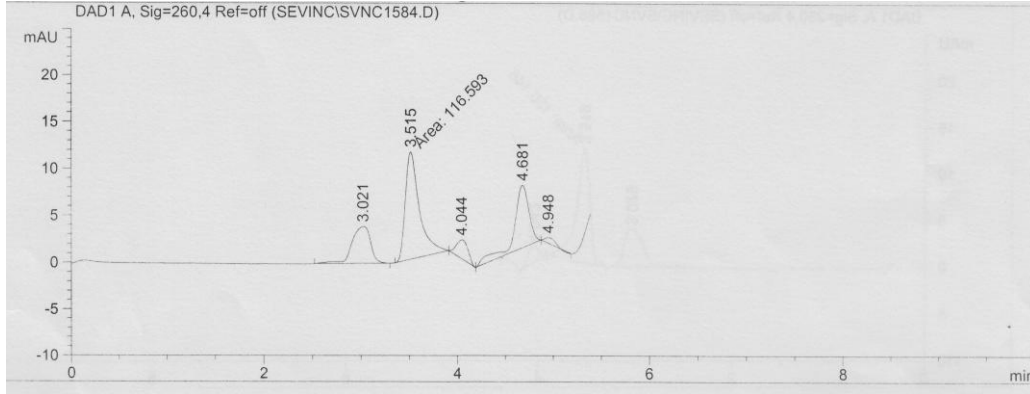
Miktar tayini limiti: Bunun için gürültü aralığı (Noise Ranges) yine 0-1 ve 7-10. dakika olarak seçildi, yapılan 6 enjeksiyonun sonucunda elde edilen S/G oranları değerlendirildi miktar tayini limiti **90 ng/ml** olarak belirlendi.

6.2.3.3. Betahistin baz için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntem ve validasyonuna ait bulgular (*in vivo* çalışmalar için)

6.2.3.3.A. Yöntem geliştirme hakkında bulgular

Yöntem 5.2.2.4.C’de anlatıldığı gibi çalışıldı ve 2.5 µg/ ml konsantrasyonda betahistin baz çözeltisi eklenmesiyle elde edilen kromatogram Şekil 6.7’de gösterildi.

Betahistin bazın mobil fazda çözündürülmesiyle elde edilen alanlar ve metanoldeki çözeltisinin plazmaya eklenmesi sonrası ekstraksiyonla elde edilen alanların kıyaslanması Tablo 6.22’de verildi. Betahistin baz retansiyon zamanı 3.5 dakika olarak belirlendi.



Şekil 6.7. Boş plazmaya 2.5 µg/ml betahistin baz çözeltisi eklenerek elde edilen kromatogram

Bu kromatogramda elde edilen betahistin baz miktarı hesabı:

20 µl 2.5µg/ml betahistin baz çözeltisinde 50 ng madde vardır. Maddenin tamamının organik faza ekstraksiyonla alındığını düşünürsek, 100 µl mobil fazda çözündürülen maddeden 50 µl enjeksiyon yapıldı yani enjekte edilen hacimde 25 ng madde vardır. Plazmaya eklenen standart numunesi için alt sınır olarak 0.15 µg/ml seçildi, buradan elde edilen miktar ise 1.5 ng’dır.

Hesaplamalar yapılırken plazmaya eklenen standart betahistin baz çözeltisinin hacminin 20 µl olduğu göz önünde bulunduruldu.

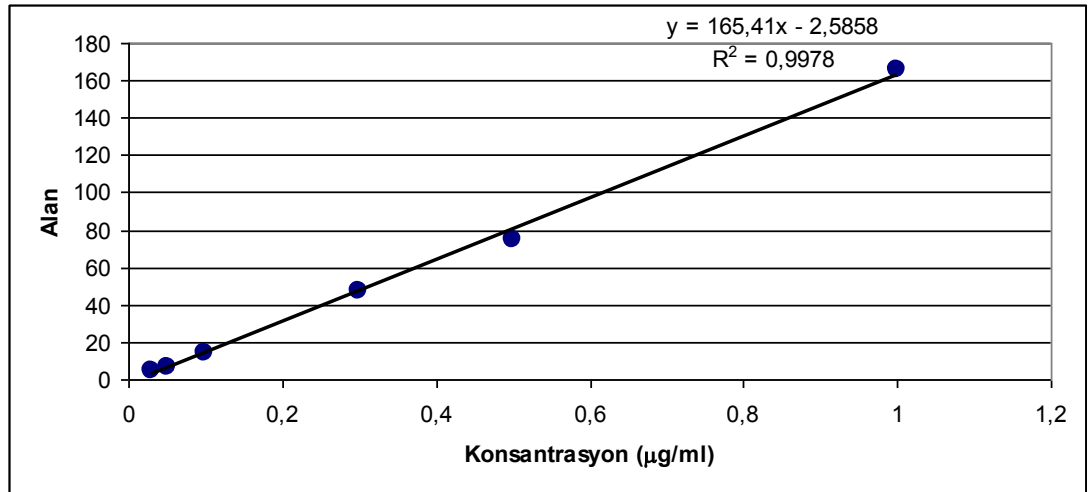
Tablo 6.22. In vivo çalışma için HPLC yöntemi verim bulguları (n=3)

Betahistin baz metanolde (BH/MeOH) µg/ml	Betahistin baz mobil fazda (BH/MF) µg/ml	Ortalama Alan	Mobil faz ortalama Alan	Verim %
0.15	0.03	4.52	5.27	86
1.50	0.3	46.92	70.60	66
2.50	0.5	74.68	108.17	69
5	1	165.48	243.23	68

6.2.3.3.B. Yöntem validasyonu hakkında bulgular

Doğrusallık

Betahistin bazın, yöntem 5.2.2.4.C’de anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilen standart eğri grafiği Şekil 6.8’de ve bu eğriye ait ortalama alanlar, SD ve RSD % değerleri Tablo 6.23’de verildi.



Şekil 6.8. Betahistin bazın in vivo yöntem için HPLC analizi standart eğrisi

Tablo 6.23. HPLC analizi doğrusallık verileri

Konsantrasyon (µg/ml)	Ortalama Alan	SD (±)
0.03	4.52	1.40
0.05	6.55	1.70
0.1	13.85	3.32
0.3	46.92	3.52
0.5	74.68	2.93
1	165.48	11.51

Kesinlik

Betahistin bazın yöntem 5.2.2.4.C’de belirtildiği gibi yapılan miktar tayini yöntemine ait gün içi kesinlik bulguları Tablo 6.24’de, günler arası kesinlik bulguları da Tablo 6.25’de verildi.

Tablo 6.24. Betahistin bazın *in vivo* yöntem için gün içi kesinlik (tekrar edilebilirlik) verileri (n=3)

Konsantrasyon (µg/ml)	Alan				SD (±)
	1. seri	2. seri	3.seri	Ortalama	
0.05	6.49	5.89	4.89	5.757	0.808
0.1	11.79	12.19	16.29	13.423	2.491
0.5	83.39	74.19	69.29	75.623	7.158

Tablo 6.25. Betahistin bazın *in vivo* yöntem için günler arası kesinlik (tekrar elde edilebilirlik) verileri (n=3)

Konsantrasyon (µg/ml)	Alan				SD (±)
	1. gün	2. gün	3. gün	Ortalama	
0.05	7.69	7.09	6.55	7.110	0.570
0.1	13.89	14.69	9.09	12.557	3.029
0.5	84.89	71.29	67.79	74.657	9.033

Doğruluk

Yöntemin doğruluğunu saptamak için farklı konsantrasyonlardaki betahistin baz çözeltileri yöntem 5.2.2.4.C’de anlatıldığı şekilde hazırlandı. Elde edilen alanlar ve SD (\pm) değerleri düşük konsantrasyon için Tablo 6.26’da, orta konsantrasyon için Tablo 6.27’de ve yüksek konsantrasyon için Tablo 6.28’de verildi.

Tablo 6.26. Betahistin bazın (düşük konsantrasyon) in vivo analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular (n=3)

Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	Alan	Bulunan Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	Geri kazanılan (%)
0.05	5.89	0.051	102
0.05	5.69	0.050	100
0.05	4.85	0.045	90
Ortalama	5.48	0.05	97.48
SD (\pm)	0.55	0.003	6.67
RSD (%)	10.08	6.84	6.84

Tablo 6.27. Betahistin bazın (orta konsantrasyon) in vivo analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular (n=3)

Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	Alan	Bulunan Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	Geri kazanılan (%)
0.1	16.29	0.114	114
0.1	12.35	0.090	90
0.1	14.69	0.104	104
Ortalama	14.44	0.10	102.95
SD (\pm)	1.98	0.012	11.98
RSD (%)	13.72	11.64	11.64

Tablo 6.28. Betahistin bazın (yüksek konsantrasyon) in vivo analitik yöntem doğruluğuna ait bulgular (n=3)

Konsantrasyon (µg/ml)	Alan	Bulunan Konsantrasyon (µg/ml)	Geri kazanılan (%)
0.5	82.39	0.514	103
0.5	82.39	0.514	103
0.5	72.49	0.454	91
Ortalama	79.09	0.49	98.76
SD (±)	5.72	0.035	6.91
RSD (%)	7.23	7.00	7.00

Seçicilik

Yöntem 5.2.2.4.C’de anlatıldığı şekilde çalışıldı ve üç farklı şekilde yapılan enjeksiyonda da plazmadan gelen kirliliklere rağmen betahistin bazın retansiyon zamanı değişmedi ve spektrumuna bakıldığında 260 nm’de absorbands verdiği belirlendi.

Stabilite

Yöntem 5.2.2.4.C’de anlatıldığı şekilde çalışıldı ve farklı zamanlarda analiz edilen ekstraksiyon numuneleri arasında bir fark görülmedi. Mobil fazda çözülmüş olan 0.5 µg/ ml betahistin baz çözeltisinin enjeksiyonu ile elde edilen alanlar Tablo 6.29’da verildi.

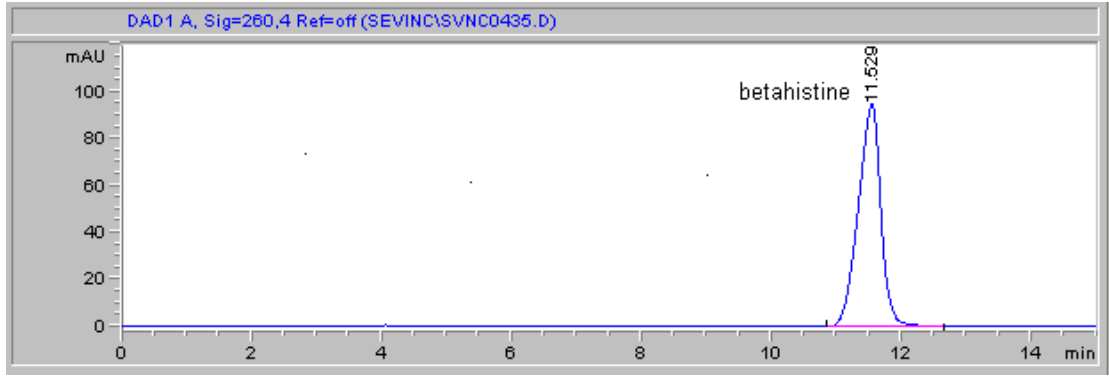
Tablo 6.29. Mobil fazda çözüldürülen betahistin baz çözeltisinin stabilitesi

Konsantrasyon	0.5 µg/ml					
	Başlangıç	1. saat	2. saat	6. saat	24. saat	48. saat
Alan	103.2	105.7	106.9	104	103.6	107.9
Ortalama	105.22					
SD (±)	1.920					
RSD %	1.825					

6.2.3.4. Betahistin bazın çözünürlük tayini hakkında bulgular

Betahistin bazın çözünürlüğü yöntem 5.2.2.5’de anlatıldığı şekilde çalışıldı.

Betahistin baz distile suda ve mobil fazlarda çok hızlı bir şekilde çözündü. Maddenin mobil fazlarda çözündürülmesi ile çok berrak bir görünüm elde edildi ve hiçbir faz ayrışması gözlenmedi. Madde miktarı arttırıldığında da çözünme devam etti. Şekil 6.9’da bu enjeksiyonlardan elde edilen kromatogramlardan biri gösterildi.



Şekil 6.9. Betahistin bazın metanol- 0.025M KH₂PO₄ (pH 3) (25/75 h/h) mobil fazında çözündürülmesiyle elde edilen kromatogram

6.3. Transdermal Terapötik Sistem Formülasyonları Hakkında Bulgular

6.3.1. Ön deneme formülasyon çalışmaları hakkında bulgular

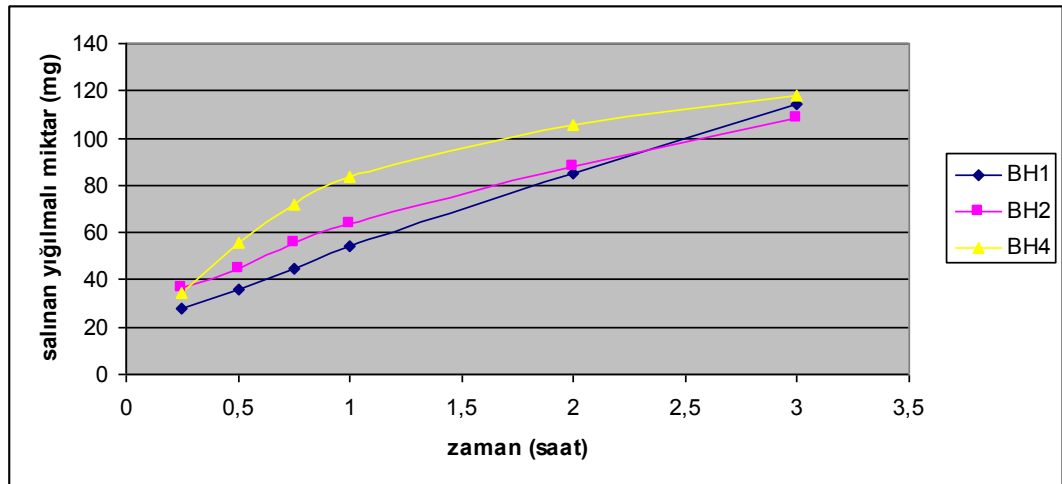
Ön deneme formülasyonları yöntem 5.2.3.1’de anlatıldığı gibi hazırlandı. Yapılan çalışmalarda plastifiyan kullanılmadığı zaman formülasyonların kırılgan olduğu belirlendi ve bu şekilde transdermal kullanıma uygun olmadığına karar verildi. Etanol ve aseton kullanımı arasında belirgin bir fark olmadığı, fakat asetonun etanole kıyasla polimerleri daha hızlı çözüldürdüğü için çalışma süresini kısalttığı saptandı.

6.3.2. Betahistin dihidroklorür içeren transdermal terapötik sistem formülasyonları hakkında bulgular

Formülasyonlar yöntem 5.2.3.3'de anlatıldığı şekilde hazırlandı. *Eudragit RL* 100 ile hazırlanan formülasyon hızlı salım, *Eudragit RS* 100 ile hazırlanan formülasyon ise yavaş salım özelliği göstermektedir. Sonuç olarak 1, 2 ve 4 nolu formülasyonlarda yapılan çözünme hızı testlerinde ilk 3 saat içinde etkin maddenin yarısından fazlasının serbestleştiği görüldü (Tablo 6.30, Şekil 6.10).

Tablo 6.30. Dissolüsyon verileri (1, 2 ve 4 no'lu formülasyonlar için)

Zaman (saat)	BH 1 için salınan yığılmalı miktar (mg)	BH 2 için salınan yığılmalı miktar (mg)	BH 4 için salınan yığılmalı miktar (mg)
0.25	27.976	36.391	34.743
0.5	35.925	44.637	55.827
0.75	44.439	55.694	71.5965
1	54.548	63.909	83.2295
2	85.353	88.254	105.2385
3	114.478	108.775	118.35

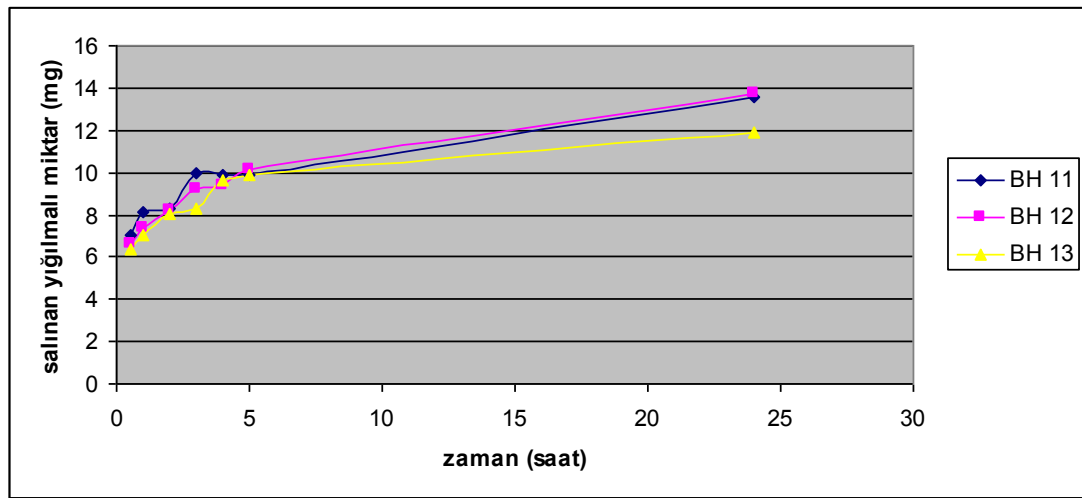


Şekil 6.10. Dissolüsyon grafiği (BH 1, BH 2 ve BH 4 nolu formülasyonlar)

İlk yapılan dissolüsyon çalışmasında etkin maddenin çok hızlı serbestleştiği görüldüğünden sadece *Eudragit* RS 100 polimeri kullanılarak formülasyonlar hazırlandı (11, 12 ve 13 nolu formülasyonlar) ve yirmi dört saatlik çözünme hızı tayini sonuçlara bakıldığında hemen hemen hepsinde yaklaşık 13 mg madde serbestleştiği gözlemlendi. Bu yavaş salım ise *Eudragit* RS 100'ün tek başına kullanılmasından dolayıdır (Tablo 6.31, Şekil 6.11).

Tablo 6.31. *Eudragit* RS 100 ile hazırlanan formülasyonların dissolüsyon verileri

Zaman (saat)	BH 11 için salınan yığılmalı miktar (mg)	BH 12 için salınan yığılmalı miktar (mg)	BH 13 için salınan yığılmalı miktar (mg)
0.5	7.015	6.636	6.333
1	8.09	7.332	7.029
2	8.333	8.179	8.027
3	9.941	9.181	8.271
4	9.886	9.35	9.651
5	9.907	10.126	9.898
24	13.593	13.706	11.888



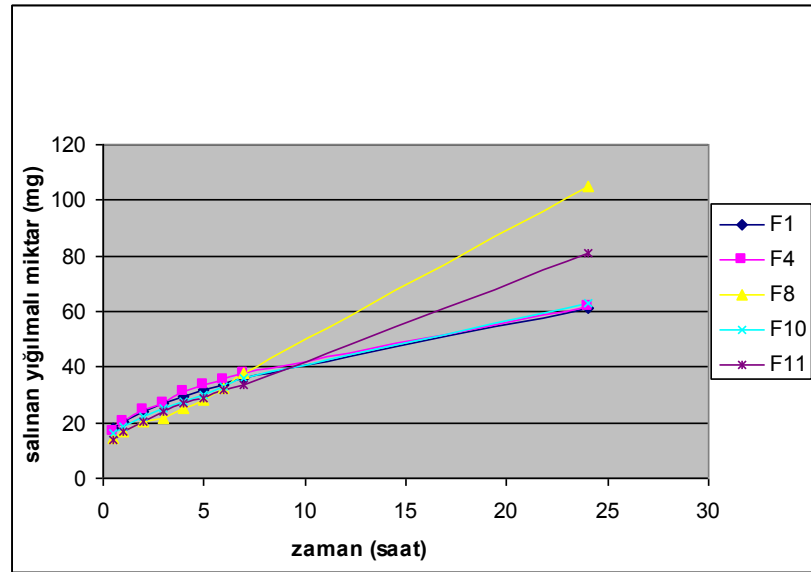
Şekil 6.11. *Eudragit* RS 100 ile hazırlanan formülasyonların dissolüsyon grafiği (BH 11, BH 12, BH13)

6.3.3. Betahistin dihidroklorür kullanılarak hazırlanan formülasyonların salım hızı tayini hakkında bulgular

Belirtilen formülasyonların salım hızları, yöntem 5.2.3.3.B’de anlatıldığı şekilde tayin edildi ve elde edilen sonuçlar Tablo 6.32-6.39 ve Şekil 6.12-6.19’da gösterildi.

Tablo 6.32. F1, F4, F8, F10 ve F11 in zamana karşı salınan yığılmalı miktarları

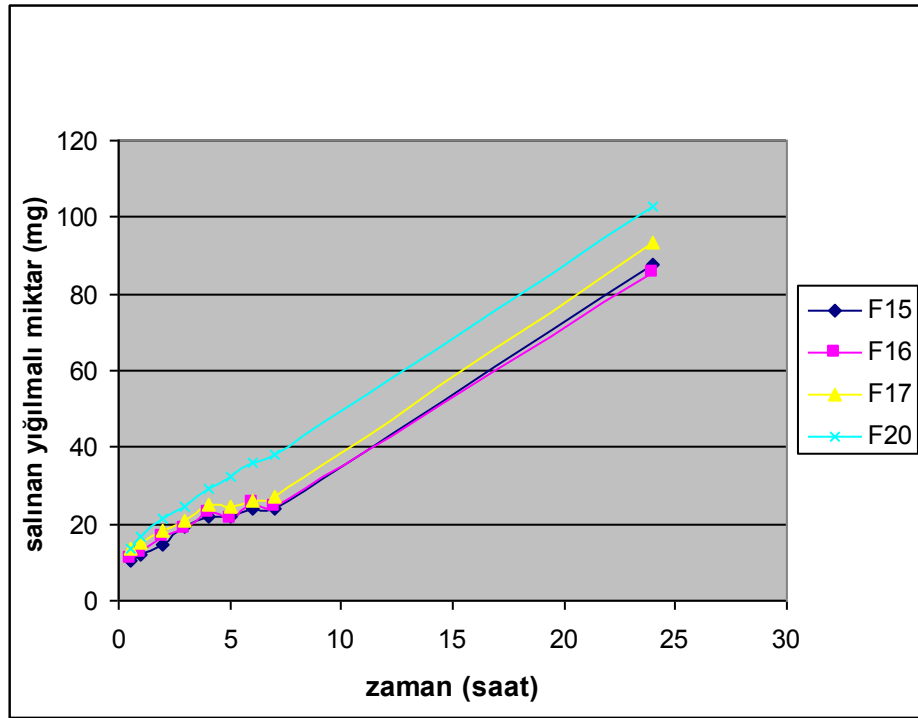
Zaman (saat)	F1 (mg)	F4 (mg)	F8 (mg)	F10 (mg)	F11 (mg)
0.5	17.849	17.091	14.667	16.182	13.985
1	20.385	20.534	16.59	18.487	16.967
2	24.213	24.439	20.562	22.084	20.183
3	27.064	27.291	21.588	25.386	23.784
4	29.542	31.436	25.113	27.71	26.71
5	31.95	33.468	28.11	30.189	28.657
6	33.301	35.203	32.191	32.976	31.668
7	35.716	37.619	38.089	35.92	33.777
24	61.134	61.754	105.179	63.232	80.783



Şekil 6.12. 0.5 g ERL+ 1.5 g ERS oranları için, kullanılan oranlara bağımlı olarak plastifiyanın ilaç salımına etkisi

Tablo 6.33. F15, F16, F17 ve F20'nin zamana karşı salınan yığılmalı miktarları

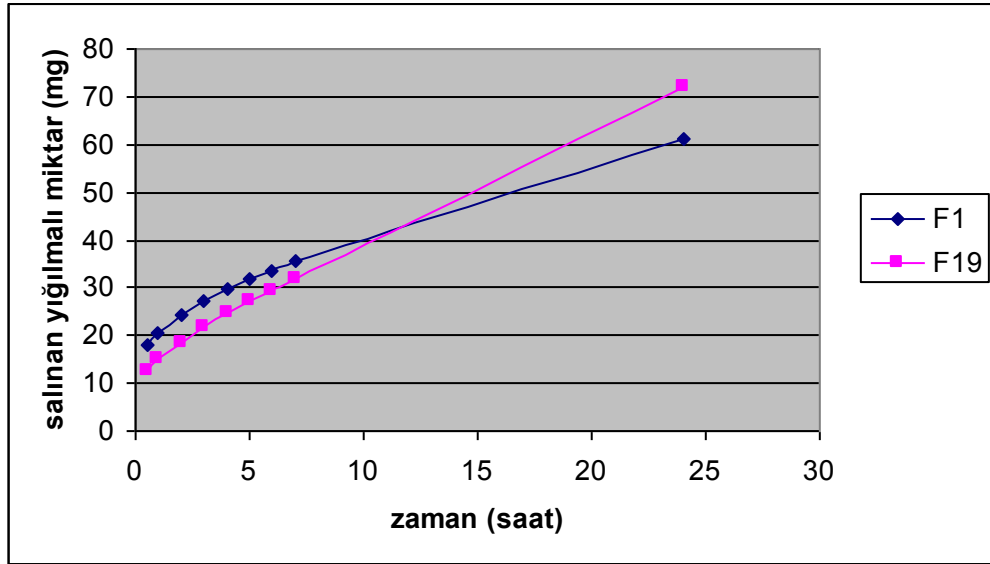
Zaman (saat)	F15 (mg)	F16 (mg)	F17 (mg)	F20 (mg)
0.5	10.273	10.879	13.379	13.758
1	11.96	12.492	15.073	16.74
2	14.454	16.532	18.436	21.394
3	19.135	18.762	21.049	24.771
4	21.748	23.041	25.106	29.214
5	21.867	21.572	24.398	32.605
6	24.259	25.403	26.19	35.776
7	24.079	24.62	27.225	38.12
24	87.764	85.726	93.645	102.767



Şekil 6.13. 0.5 g ERL + 1.5 g ERS ve 0.5 g plastifiyan (TES) oranları için penetrasyon artırıcının ilaç salımına etkisi

Tablo 6.34. F1 ve F19'un zamana karşı salınan yığılmalı miktarları

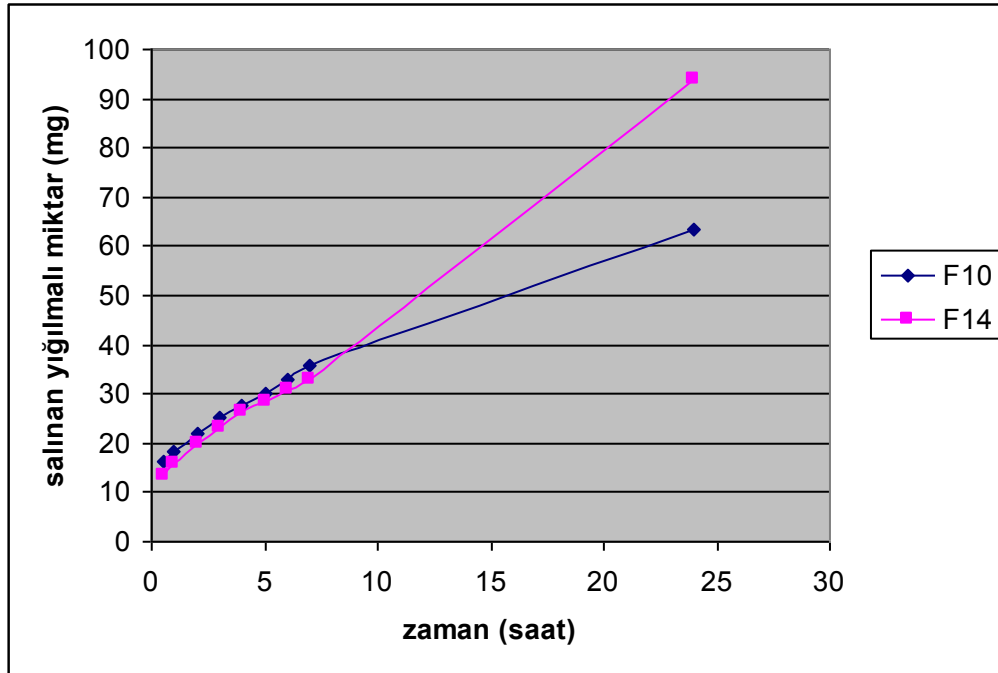
Zaman (saat)	F1 (mg)	F19 (mg)
0.5	17.849	12.546
1	20.385	15.146
2	24.213	18.358
3	27.064	21.577
4	29.542	24.726
5	31.95	27.351
6	33.301	29.147
7	35.716	31.781
24	61.134	72.199



Şekil 6.14. 0.5 g ERL +1.5 g ERS oranları için plastifiyan (PEG 400) miktarının ilaç salımına etkisi

Tablo 6.35. F10 ve F14'ün zamana karşı salınan yığılmalı miktarları

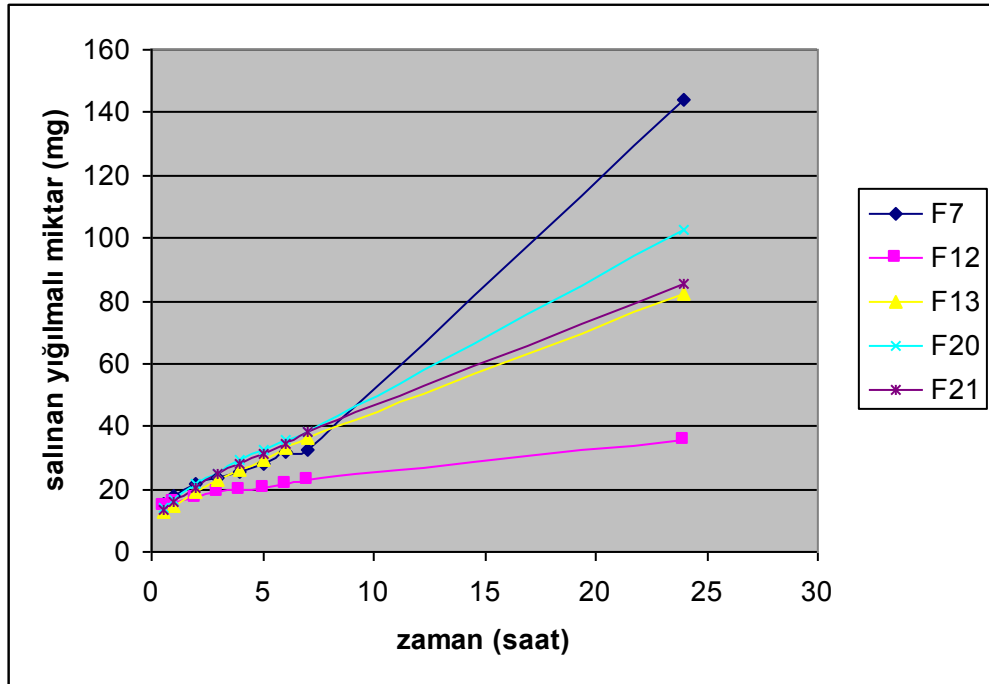
Zaman (saat)	F10 (mg)	F14 (mg)
0.5	16.182	13.379
1	18.487	15.679
2	22.084	20.104
3	25.386	23.022
4	27.71	26.25
5	30.189	28.651
6	32.976	30.753
7	35.92	33.011
24	63.232	94.035



Şekil 6.15. 0.5 g ERL+ 1.5 g ERS oranları için farklı plastifiyan (gliserin) oranlarının ilaç salımına etkisi

Tablo 6.36. F7, F12, F13, F20 ve F21'in zamana karşı salınan yığılmalı miktarları

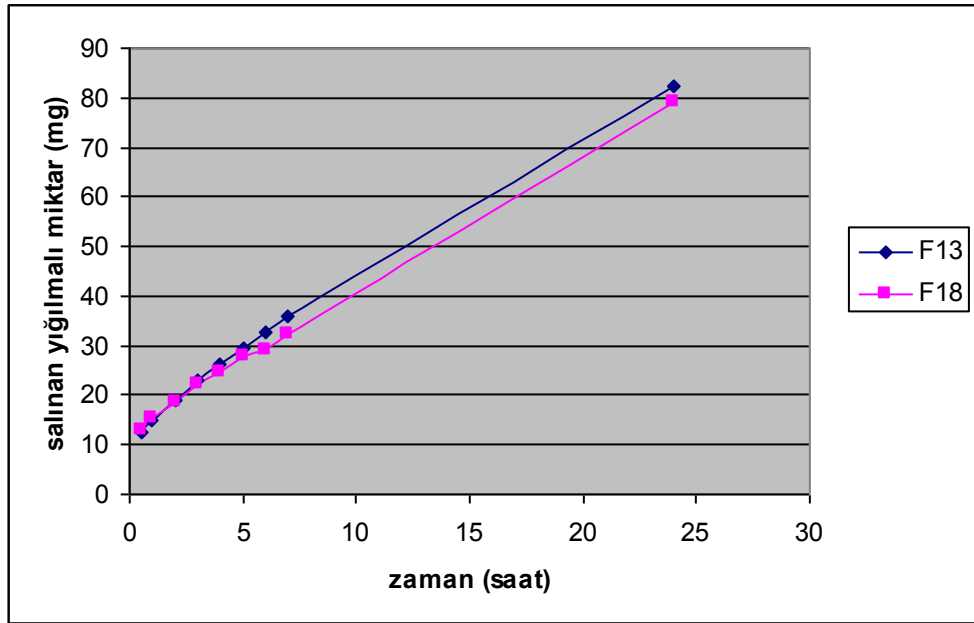
Zaman (saat)	F7 (mg)	F12 (mg)	F13 (mg)	F20 (mg)	F21 (mg)
0.5	15.273	14.364	12.546	13.758	13.379
1	18.107	15.984	14.919	16.74	16.133
2	21.628	17	18.888	21.394	20.711
3	23.792	19.08	23.017	24.771	24.767
4	25.43	19.724	26.321	29.214	28.149
5	28.284	20.218	29.403	32.605	31.463
6	31.597	21.47	32.87	35.776	34.48
7	32.266	22.876	36.041	38.12	38.412
24	144.118	35.997	82.326	102.767	85.38



Şekil 6.16. Aynı miktar plastifiyan (TES) için polimer oranının ilaç salımına etkisi

Tablo 6.37. F13 ve F18'in zamana karşı salınan yığılmalı miktarları

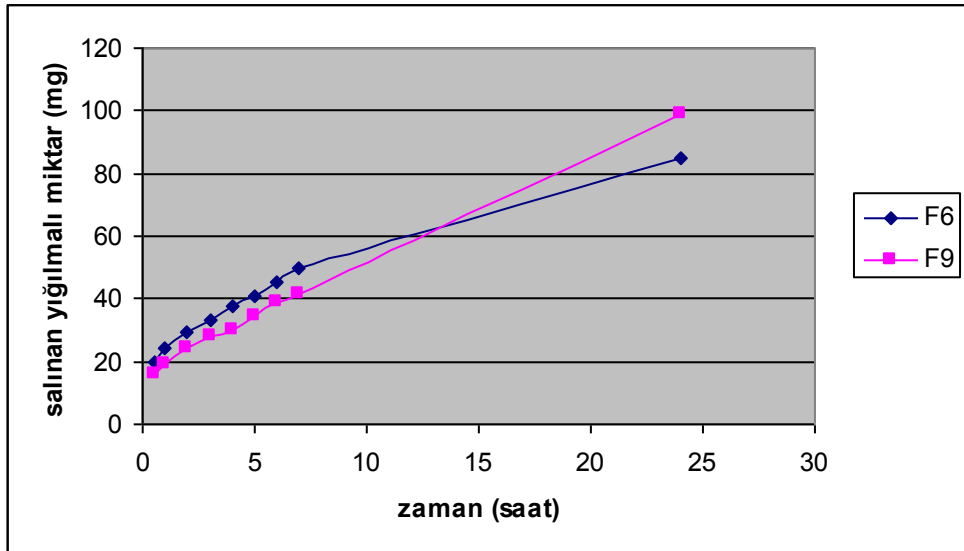
Zaman (saat)	F13 (mg)	F18 (mg)
0.5	12.546	13.076
1	14.919	15.526
2	18.888	18.663
3	23.017	22.261
4	26.321	24.502
5	29.403	27.808
6	32.87	28.924
7	36.041	32.087
24	82.326	79.271



Şekil 6.17. 0.3 g ERL + 1.7 g ERS polimer oranları için aynı miktarda kullanılan TES ve gliserinin ilaç salımına etkisi.

Tablo 6.38. F6 ve F9'un zamana karşı salınan yığılmalı miktarları

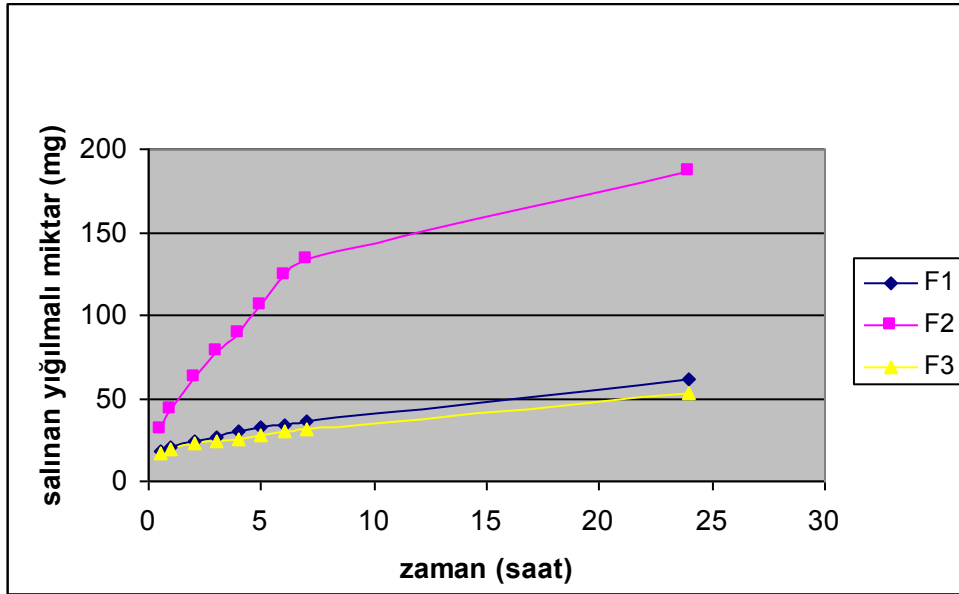
Zaman (saat)	F6 (mg)	F9 (mg)
0.5	19.818	16.182
1	24.252	19.396
2	29.3	24.435
3	32.995	28.196
4	37.606	30.072
5	40.863	34.448
6	45.414	39.062
7	49.67	41.64
24	84.739	99.192



Şekil 6.18. 0.8 g ERL + 1.2 g ERS için TES ve DF' nin ilaç salımına etkisi

Tablo 6.39. F1, F2 ve F3'ün zamana karşı salınan yığılmalı miktarları

Zaman (saat)	F1 (mg)	F2 (mg)	F3 (mg)
0.5	17.849	31.561	17.242
1	20.385	43.329	19.096
2	24.213	62.836	22.77
3	27.064	77.982	24.633
4	29.542	89.642	25.667
5	31.95	106.18	27.688
6	33.301	124.171	29.785
7	35.716	133.51	30.756
24	61.134	186.836	53.361



Şekil 6.19. Aynı miktar PEG için (0.3 g) polimer oranının ilaç salımına etkisi

6.3.4. Formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin değerlendirilmesi

Yardımcı maddeler Tablo 5.1’ de hazırlanan formülasyonlar için incelendi.

Kullanılan bütün plastifiyanların optimum hangi değerlerde kullanılabileceği ya da kullanılıp kullanılmayacağı değerlendirildi. Yapılan değerlendirmeler sonucunda PEG 400 veya trietil sitratın % 25 oranlarında kullanılmasına karar verildi. Propilen glikol ve gliserinin tek başına kullanılmayıp başka plastifiyanlarla bir arada kullanılmasının daha uygun olduğu görüşüne varıldı. Dietilftalatın ise toksik olması sebebiyle çalışmadan çıkarılmasına karar verildi.

6.3.5. Betahistin baz kullanılarak hazırlanan formülasyonlar hakkında bulgular

6.3.5.1. Etkin madde içermeyen ön deneme formülasyonları hakkında bulgular

Tablo 5.9’da gösterilen, yöntem 5.2.3.2’de anlatıldığı gibi hazırlanan ön deneme formülasyonlarının kalınlık ve standart sapma verileri Tablo 6.40’da gösterildi.

Tablo 6.40. Ön deneme formülasyonları kalınlıkları

DF*	Ortalama Kalınlık (mm)	Standart Sapma	DF*	Ortalama Kalınlık (mm)	Standart Sapma
DF 1	0,8	0,04	DF 21	1,01	0,09
DF 2	0,86	0,06	DF 22	0,97	0,14
DF 3	0,76	0,09	DF 23	0,91	0,13
DF 4	0,88	0,09	DF 24	0,93	0,11
DF 5	0,89	0,09	DF 25	1,02	0,17
DF 6	0,97	0,07	DF 26	1,11	0,06
DF 7	0,92	0,03	DF 27	0,96	0,11
DF 8	0,90	0,07	DF 28	0,74	0,07
DF 9	0,91	0,03	DF 29	0,82	0,08
DF 10	0,94	0,07	DF 30	0,99	0,06
DF 11	0,96	0,07	DF 31	1,13	0,12
DF 12	0,94	0,11	DF 32	0,86	0,03
DF 13	1,03	0,06	DF 33	0,93	0,07
DF 14	0,96	0,16	DF 34	1,05	0,15
DF 15	0,99	0,11	DF 35	1,16	0,14
DF 16	0,84	0,05	DF 36	1,22	0,03
DF 17	1,05	0,11	DF 37	1,33	0,05
DF 18	1,04	0,02	DF 38	1,17	0,12
DF 19	0,9	0,05	DF 39	1,18	0,2
DF 20	0,94	0,09			

Aynı oranda kullanılan plasifiyanlar için *Eudragit* RL 100'ün, *Eudragit* RS 100'e göre daha esnek olduğu görüldü.

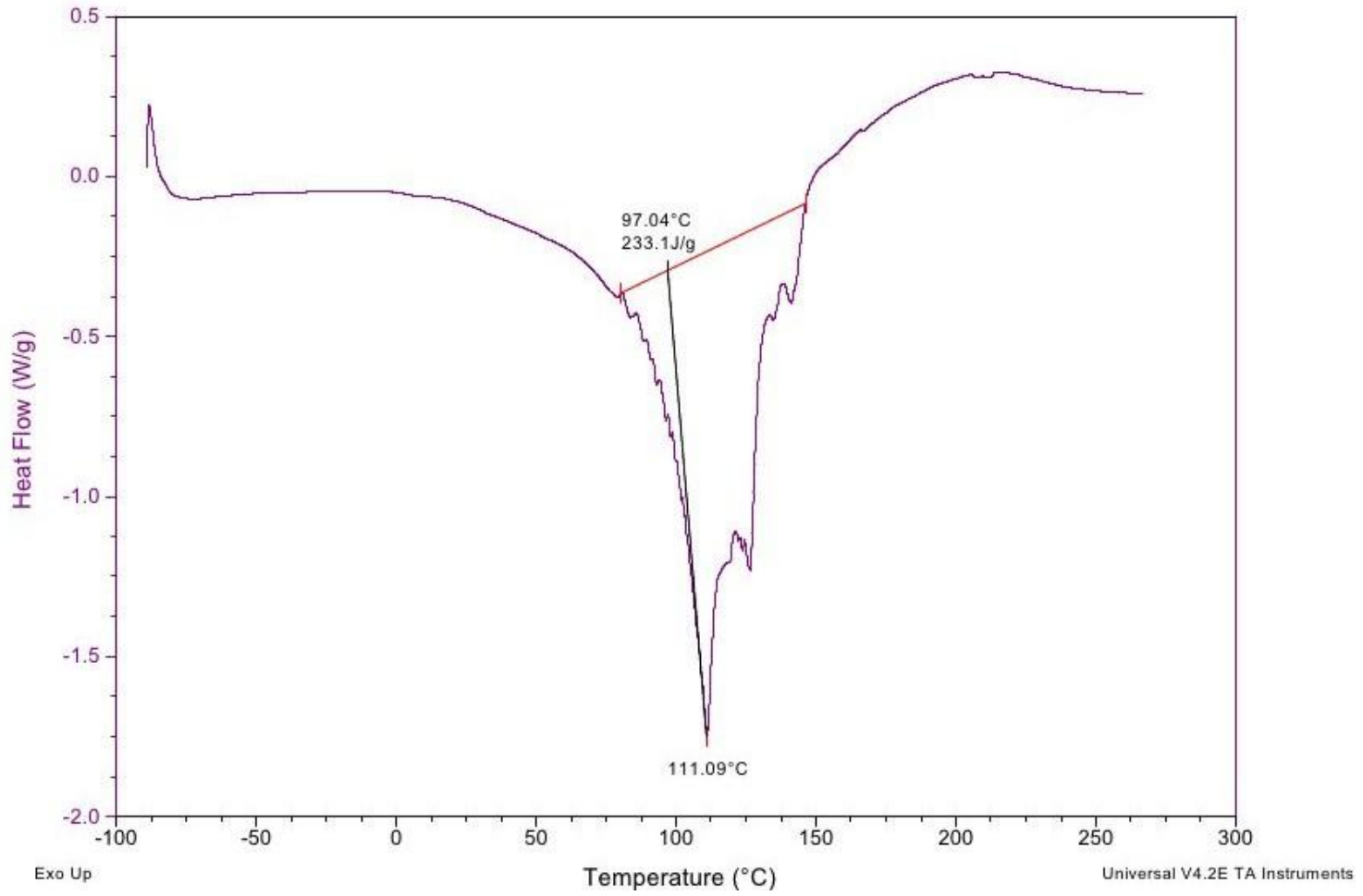
Optimum plastifiyan oranları PEG 400 ve TES için % 25 olarak belirlendi, bu sınır literatüre de uygundur (66).

Propilen glikol ve gliserin için denenen bu oranlar tek başına yeterli esneklik sağlamadı, diğer plastifiyanlar ile karışım halinde kullanılabilceği belirlendi.

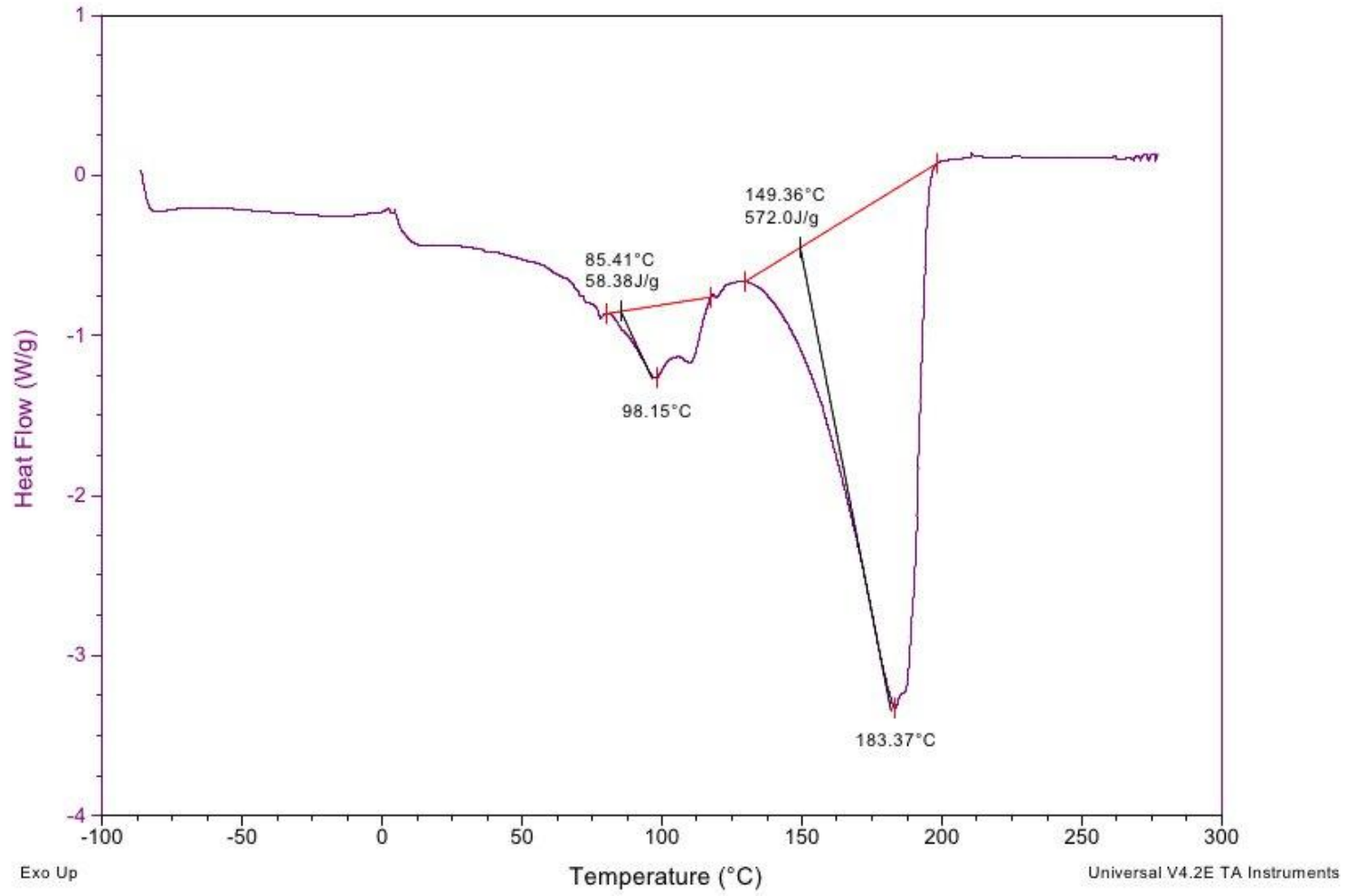
6.3.5.2. Formülasyon hazırlamada kullanılan yardımcı maddelerin ve betahistin bazın DSC taramaları bulguları

DSC taramaları yöntem 5.2.3.5.B'de anlatıldığı gibi gerçekleştirildi ve geçimsizlik olmadığı belirlendi.

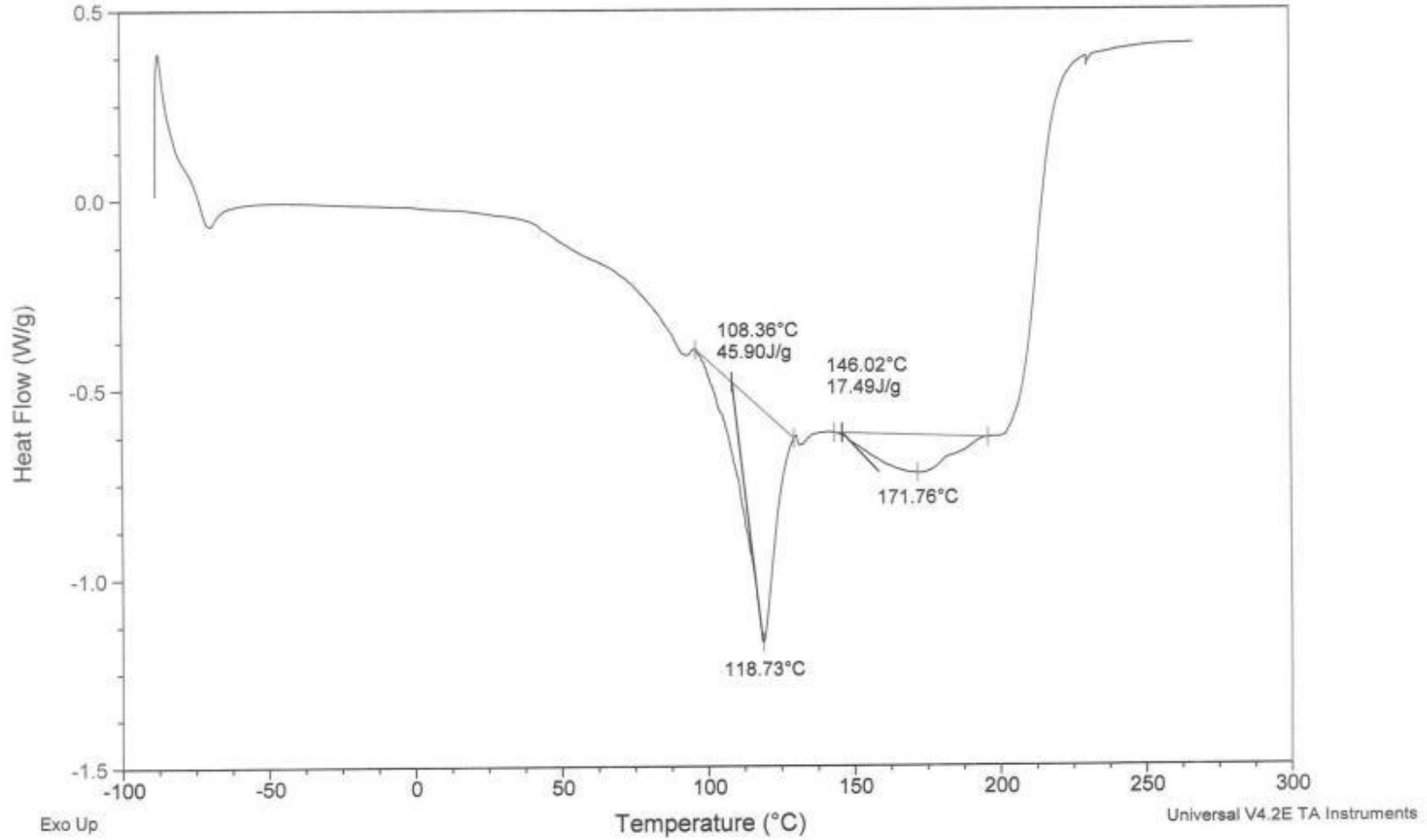
Sonuçlar termogramlarla gösterildi (Şekil 6.20-6.32).



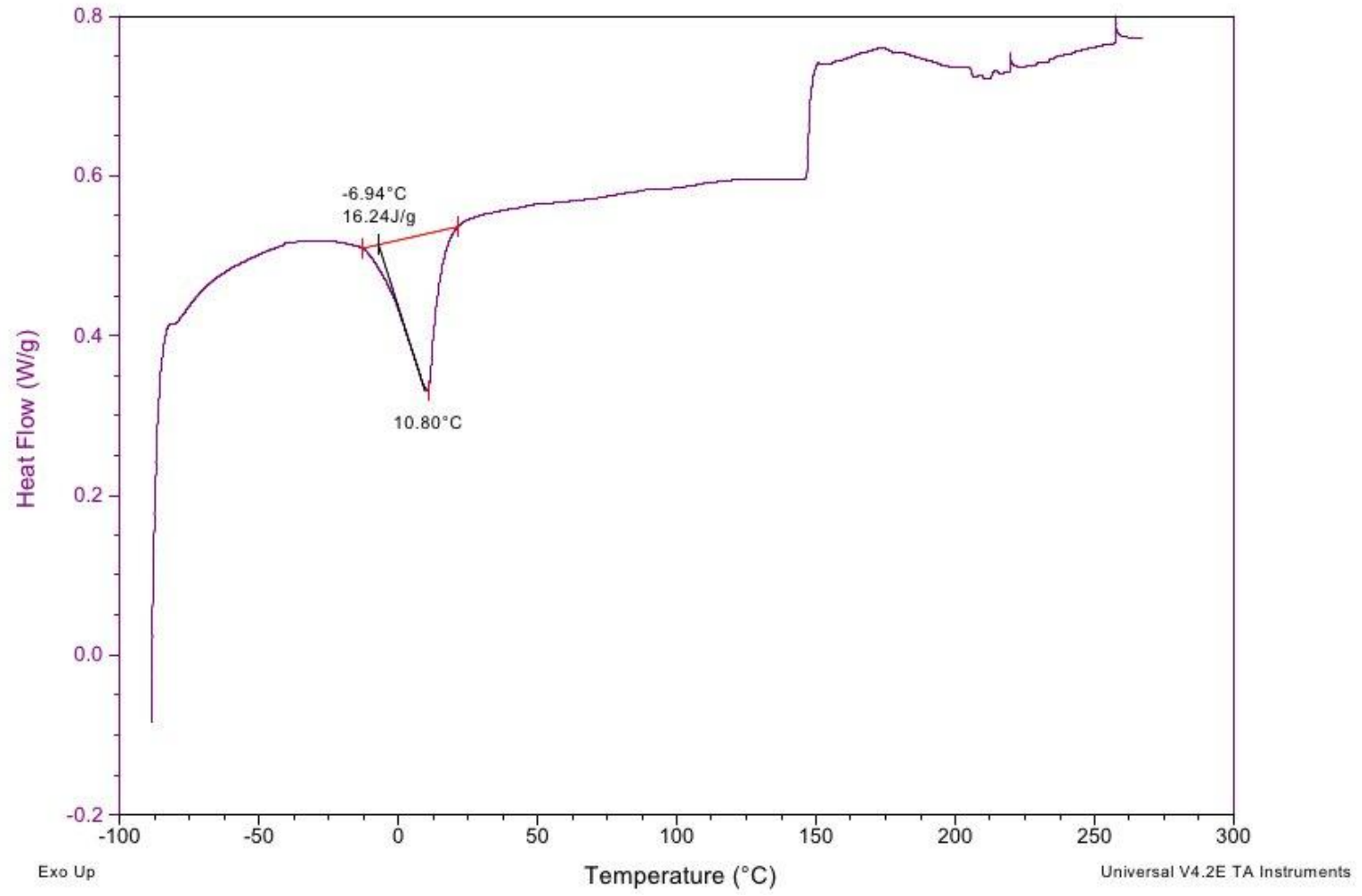
Şekil 6.20. Betahistin baza ait DSC profili



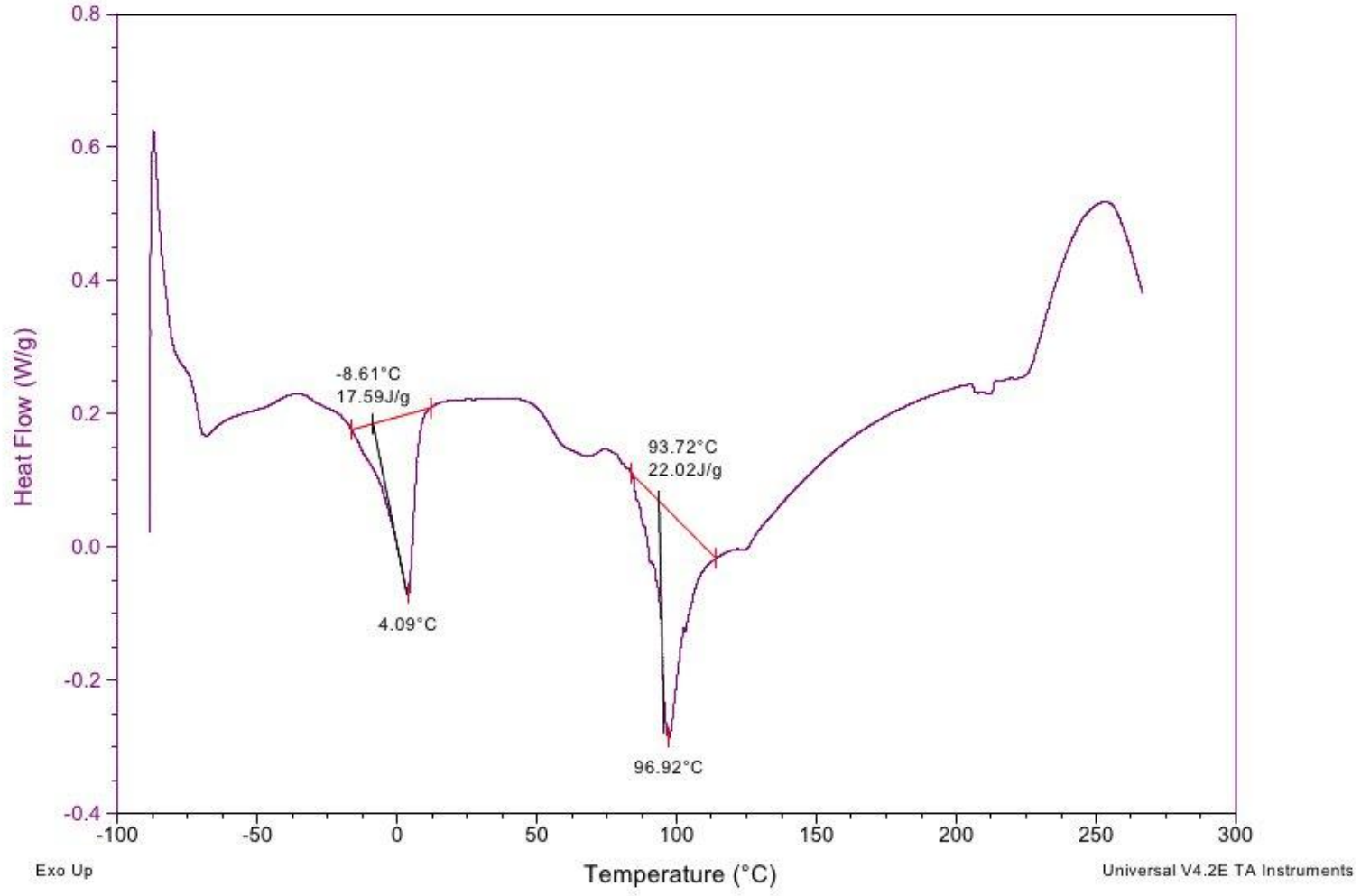
Şekil 6.21. Gliserine ait DSC profili



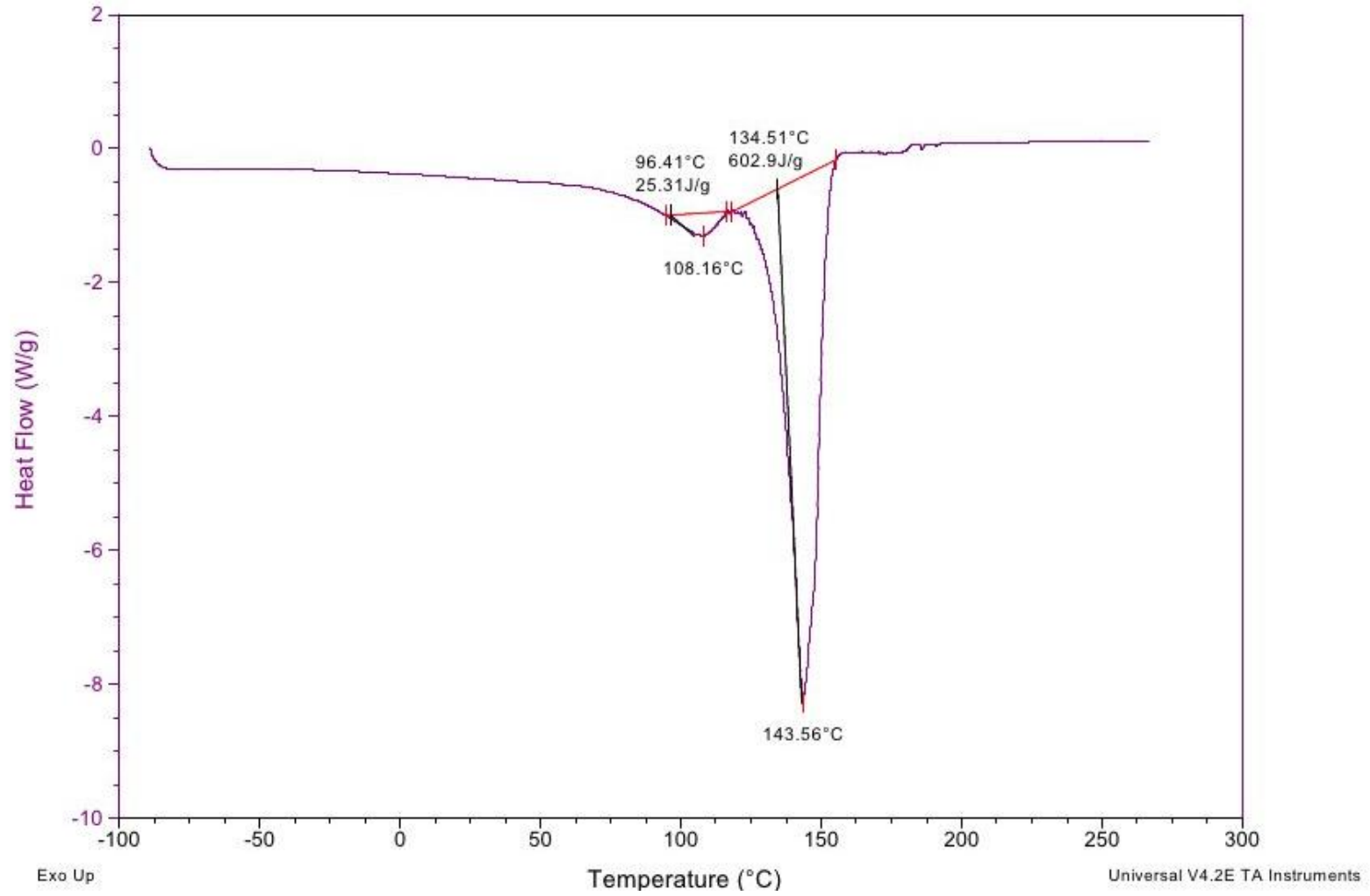
Şekil 6.22. Betahistin baz: Gliserin (1:1) (a/a) fiziksel karışımına ait DSC profili



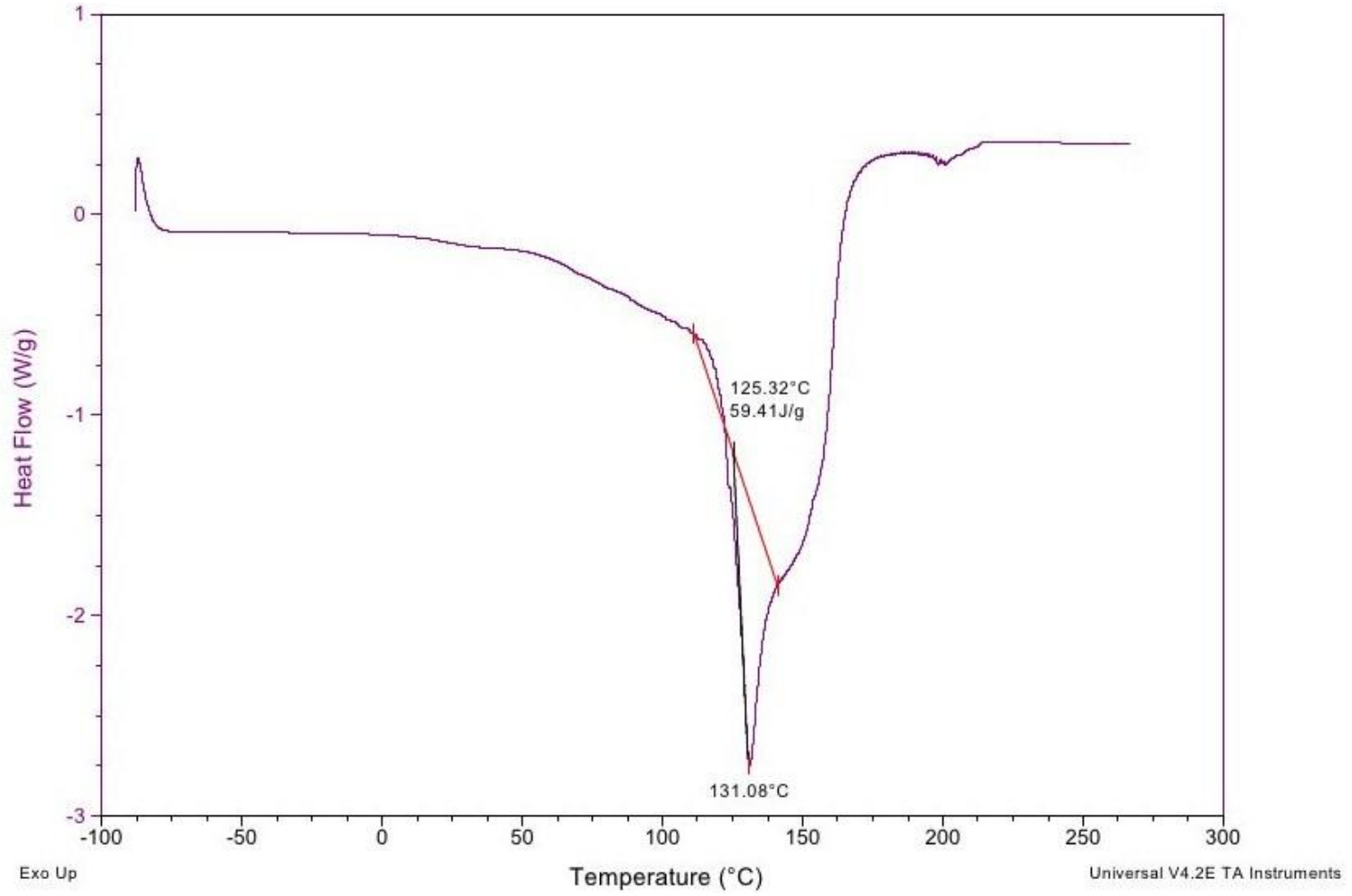
Şekil 6.23. PEG 400'e ait DSC profili



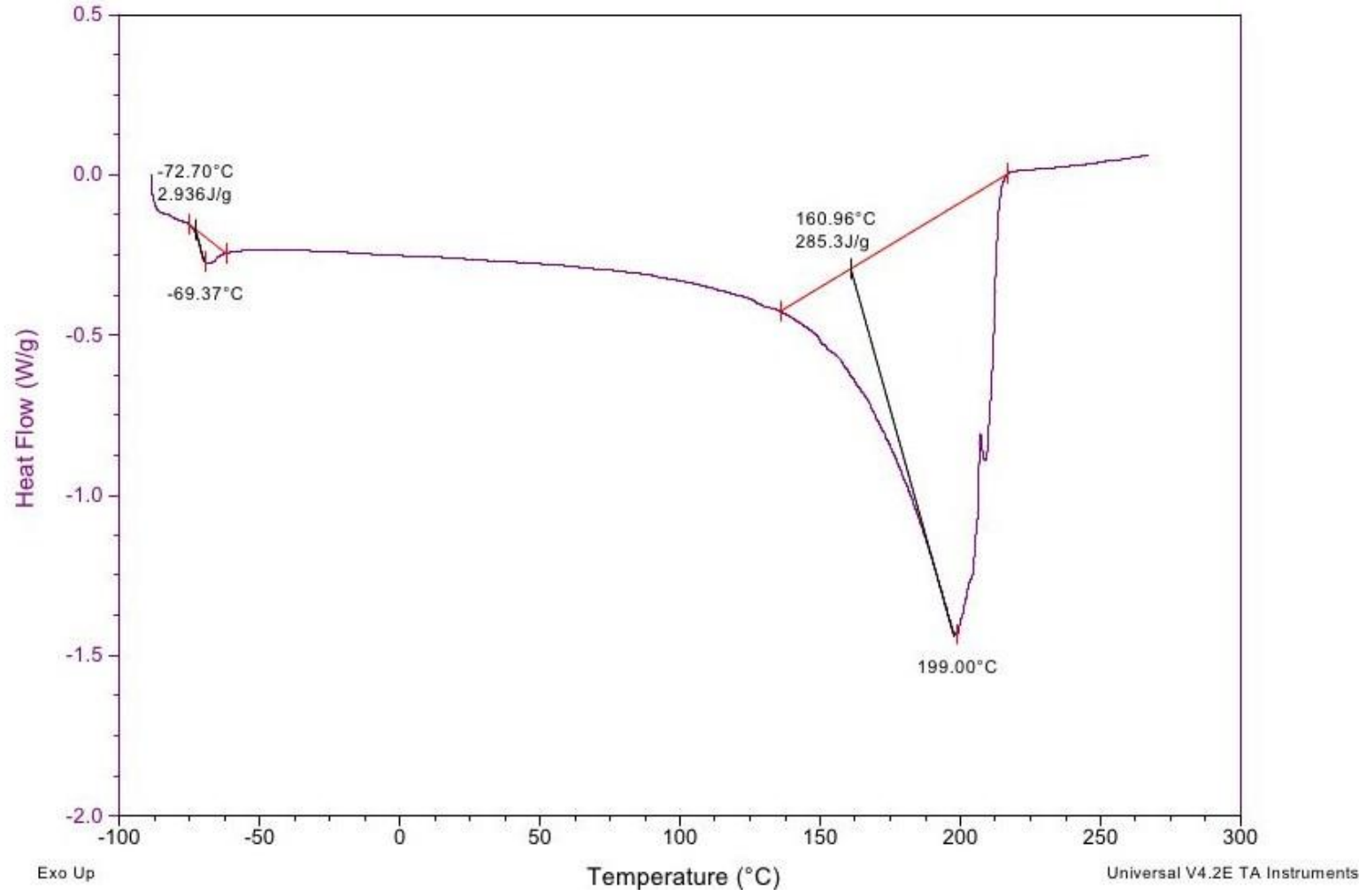
Şekil 6.24. Betahistin baz: PEG 400 (1:1) (a/a) fiziksel karışımına ait DSC profili



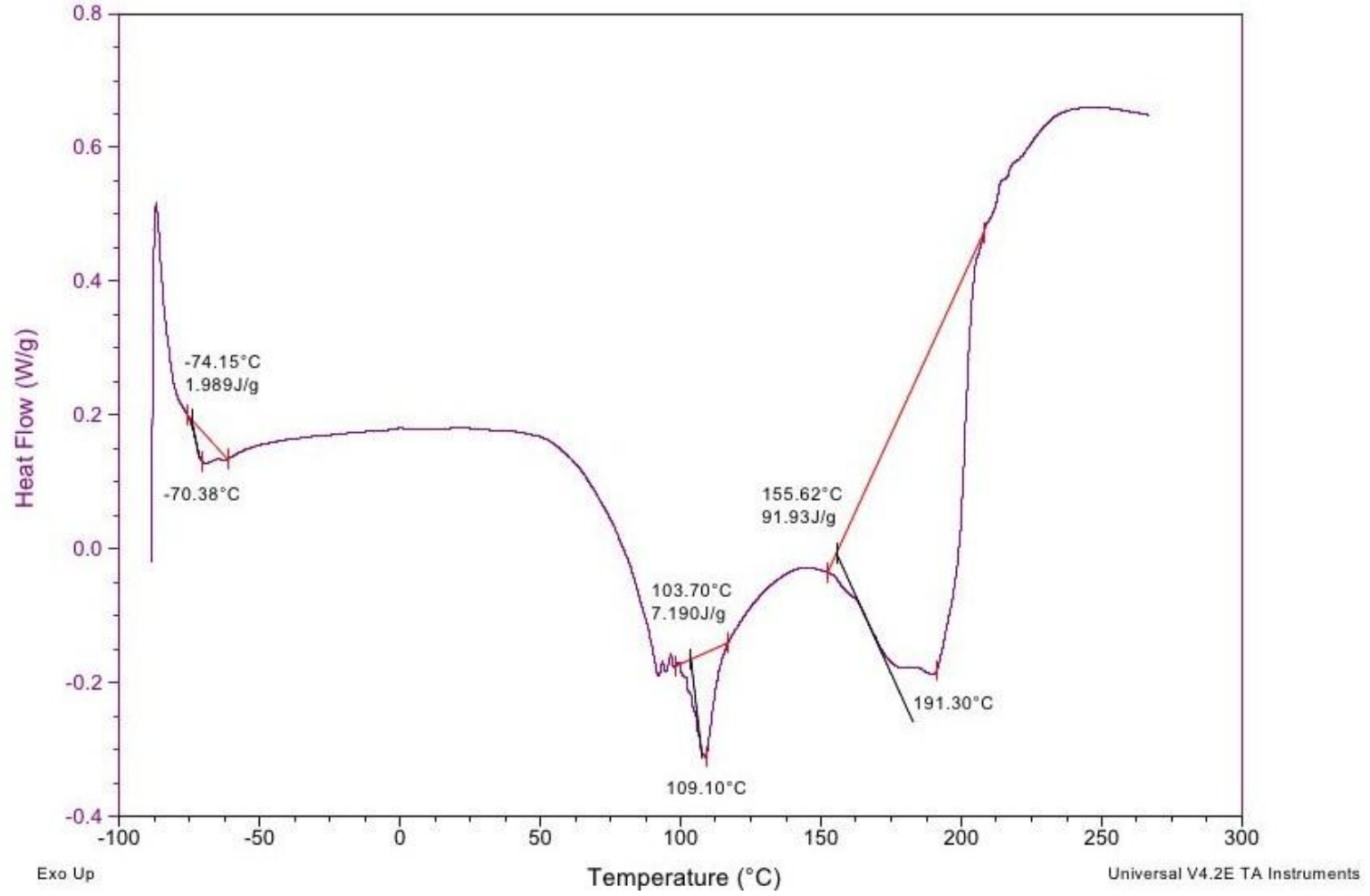
Şekil 6.25. Propilen glikol'e ait DSC profili



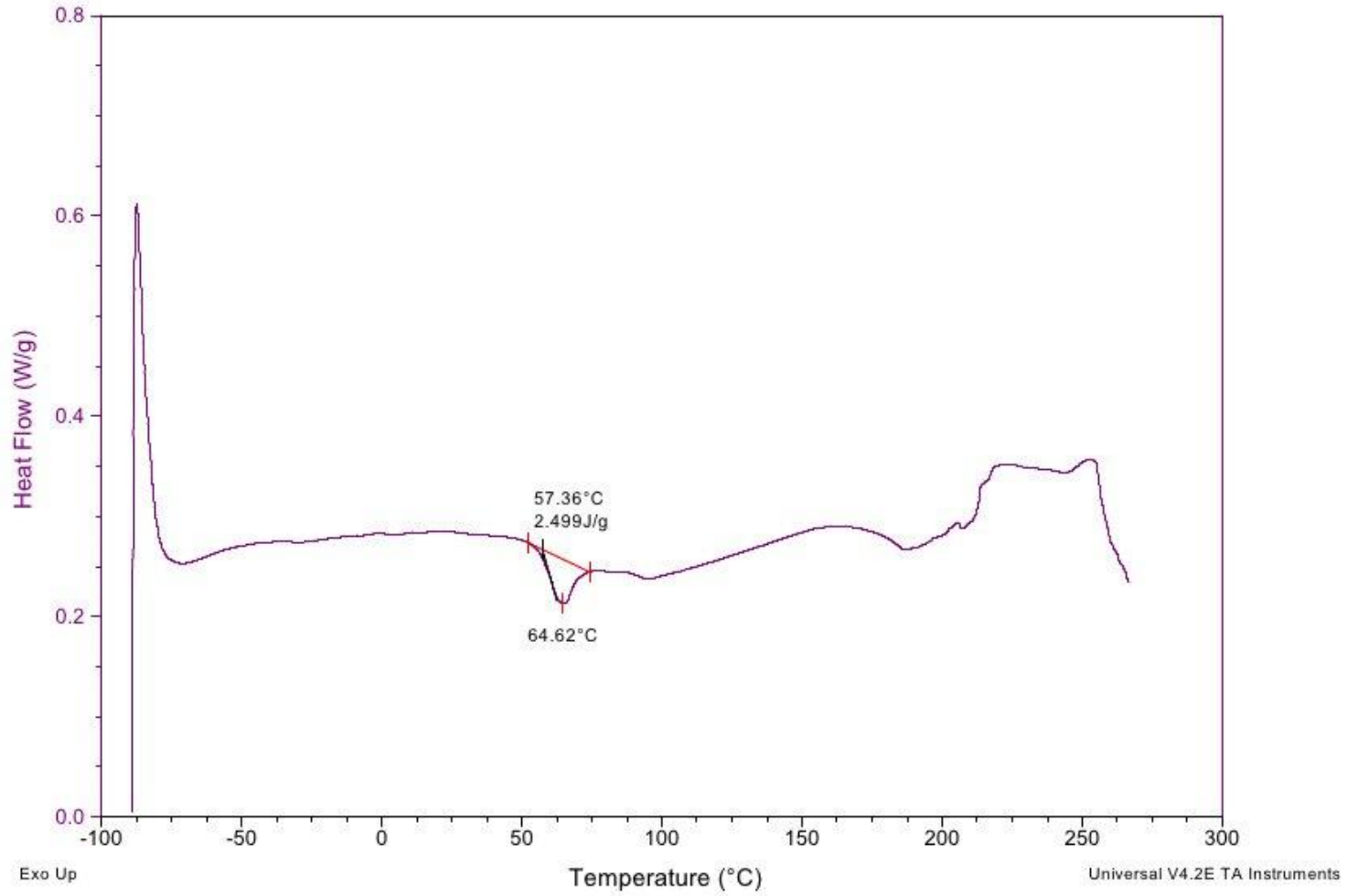
Şekil 6.26. Betahistin baz: Propilen glikol (1:1) (a/a) fiziksel karışımına ait DSC profili



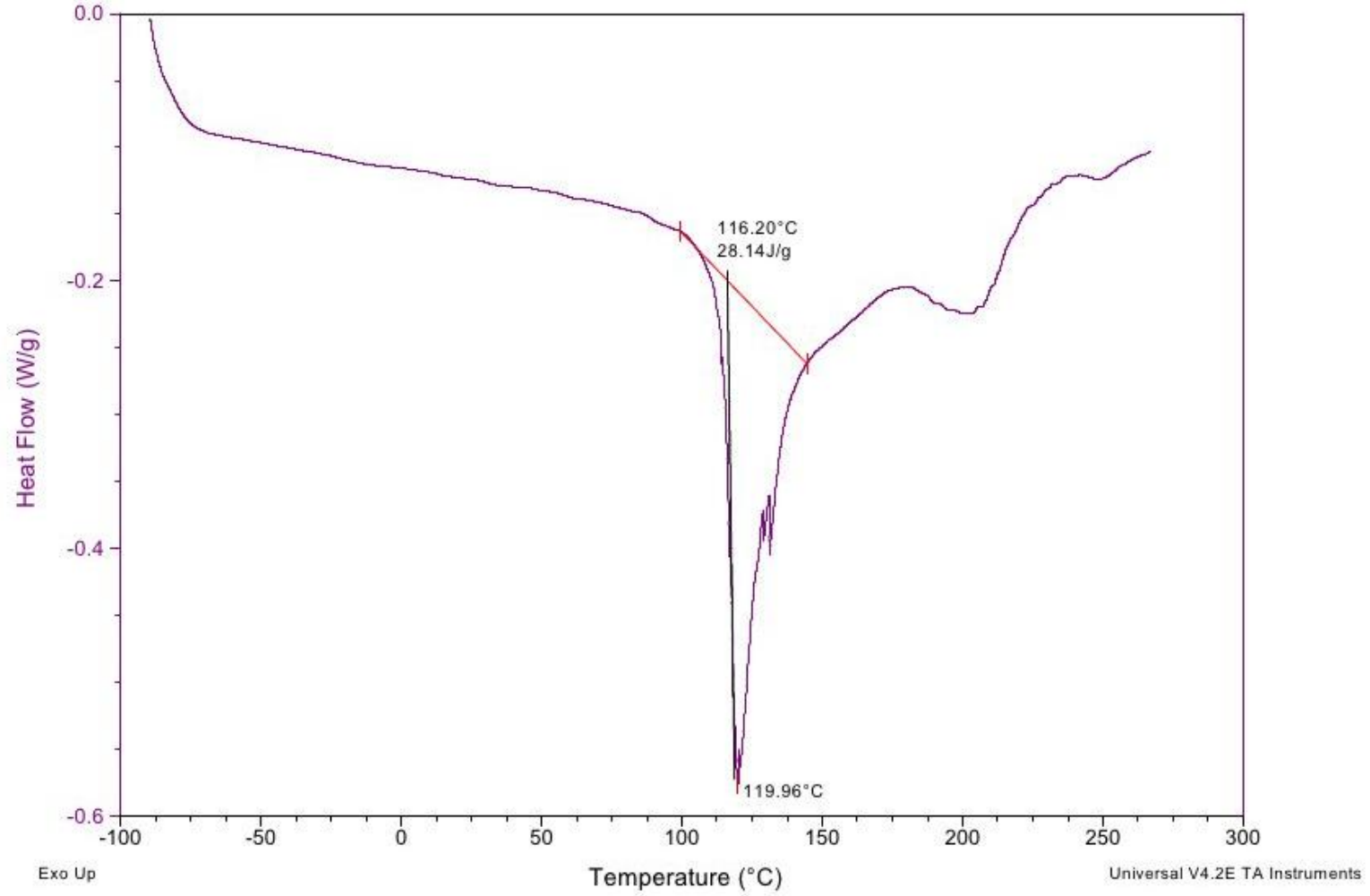
Şekil 6.27. Trietilsitrat'a ait DSC profili



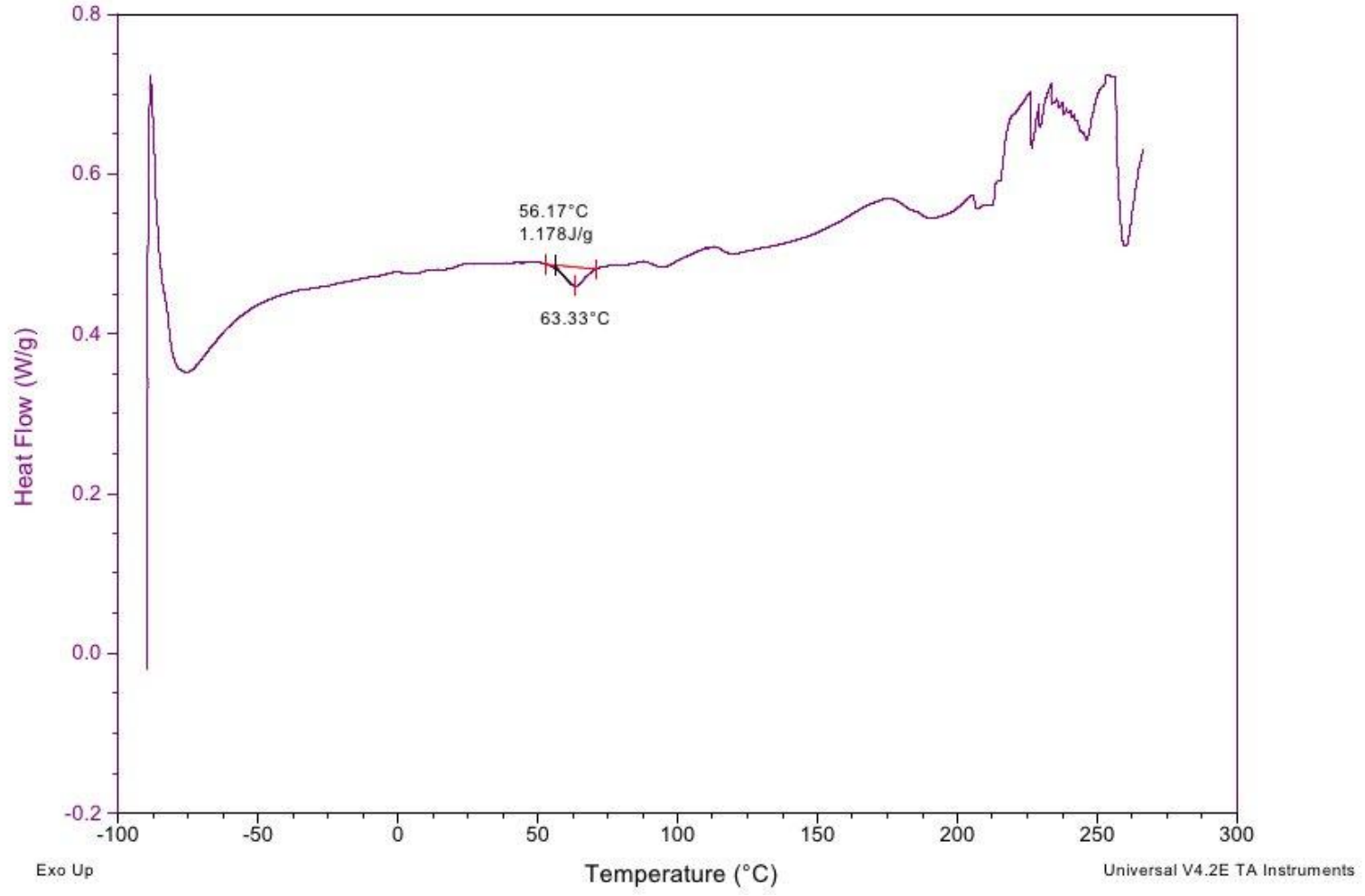
Şekil 6.28. Betahistin baz: Trietilsitrat (1:1) (a/a) fiziksel karışımına ait DSC profili



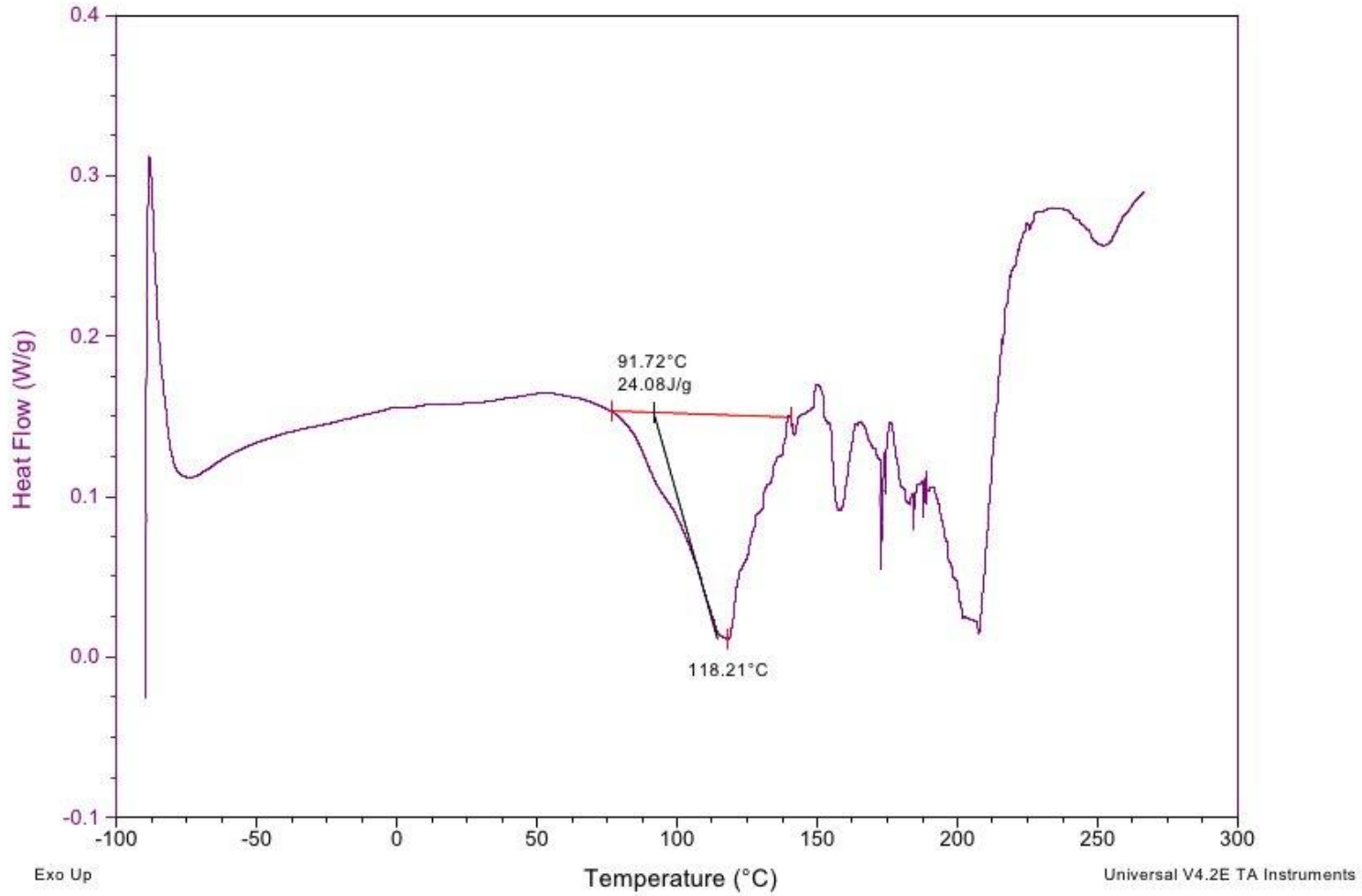
Şekil 6.29. Eudragit RS 100'e ait DSC profili



Şekil 6.30. Betahistin baz: *Eudragit* RS 100 (1:1) (a/a) fiziksel karışımına ait DSC profili



Şekil 6.31. *Eudragit* RL 100'e ait DSC profili



Şekil 6.32. Betahisitin baz: *Eudragit* RL 100 (1:1) (a/a) fiziksel karışımına ait DSC profili

6.3.5.3. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlarda yapılan kontroller hakkında bulgular

Yöntem 5.2.3.5.D'deki gibi çalışıldı ve elde edilen sonuçlar tablolar halinde verildi.

Tablo 6.41. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlarda miktar tayini verileri (n=3)

Formülasyon Kodu	BH miktarı %	SD (±)
F1	98.408	1.040
F2	100.511	1.500
F3	100.511	4.006
F4	93.706	2.007
F5	98.033	2.141
F6	98.709	0.724
F7	99.610	2.344
F8	97.960	0.711
F9	97.357	3.521
F11	102.538	5.068
F12	99.149	2.922
F15	98.236	1.445
F18	98.855	1.479
T5	96.607	0.724
T12	86.436	0.573
T15	96.456	4.472
T18	96.640	3.088

Tablo 6.42. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlarda kalınlık testi verileri (her bir seri için 12 farklı noktadan ölçüm alındı)

Formülasyon Kodu	Formülasyon Serileri	Ortalama Kalınlık (mm)	SD (±)
F1	F1a	1.02	0.06
	F1b	1.01	0.09
	F1c	0.93	0.04
F2	F2a	0.89	0.16
	F2b	0.98	0.10
	F2c	0.95	0.06
F3	F3a	0.91	0.04
	F3b	1.05	0.05
	F3c	0.93	0.04
F4	F4a	0.91	0.06
	F4b	1.05	0.04
	F4c	0.98	0.04
F5	F5a	0.97	0.07
	F5b	0.95	0.10
	F5c	1.01	0.06
F6	F6a	0.99	0.07
	F6b	0.93	0.11
	F6c	1.00	0.06
F7	F7a	1.11	0.05
	F7b	0.98	0.04
	F7c	0.98	0.04
F8	F8a	0.91	0.09
	F8b	0.89	0.06
	F8c	0.95	0.11
F9	F9a	1.00	0.12
	F9b	1.11	0.08
	F9c	1.04	0.10

F11	F11a	1.10	0.08
	F11b	1.08	0.08
	F11c	1.11	0.13
F12	F12a	0.92	0.03
	F12b	0.93	0.07
	F12c	0.89	0.06
F15	F15a	0.91	0.07
	F15b	0.96	0.10
	F15c	0.99	0.07
F18	F18a	1.12	0.09
	F18b	1.22	0.09
	F18c	1.21	0.10
T5	T5a	1.00	0.13
	T5b	1.00	0.08
	T5c	0.99	0.07
T12	T12a	0.98	0.12
	T12b	1.03	0.12
	T12c	1.08	0.14
T15	T15a	1.08	0.15
	T15b	1.06	0.11
	T15c	1.13	0.14
T18	T18a	1.28	0.18
	T18b	1.12	0.15
	T18c	1.16	0.12

Tablo 6.43. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlarda ağırlık sapması tayini verileri (n=3)

Formülasyon kodu	Ortalama Ağırlık (g)	SD (±)
F1	1.358	0.008
F2	1.364	0.006
F3	1.366	0.011
F4	1.361	0.011
F5	1.390	0.017
F6	1.419	0.004
F7	1.453	0.004
F8	1.425	0.003
F9	1.599	0.110
F11	1.616	0.002
F12	1.415	0.006
F15	1.461	0.003
F18	1.577	0.005
T5	1.367	0.012
T12	1.373	0.015
T15	1.411	0.007
T18	1.519	0.010

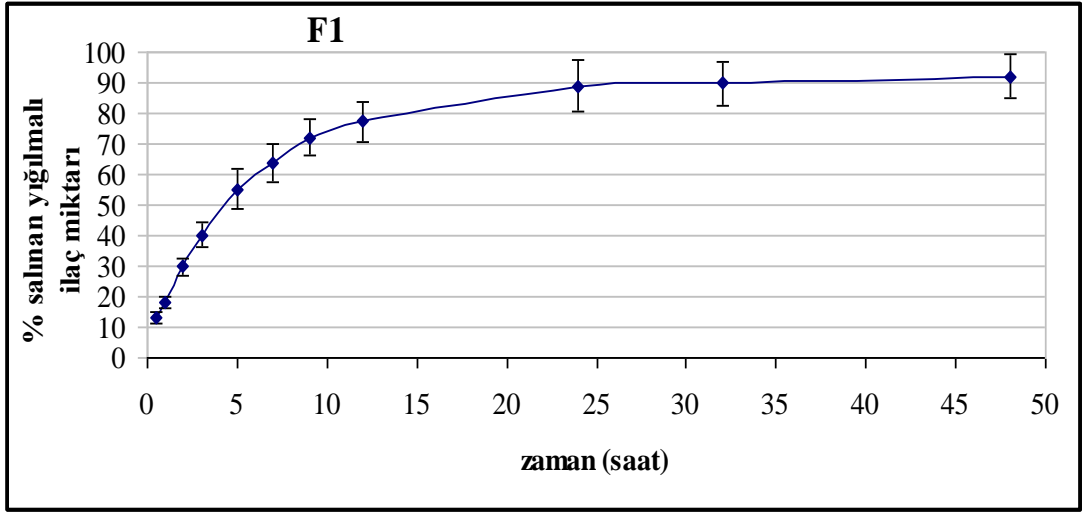
6.3.5.4. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlarda çözünme hızı tayininine ait bulgular

Tablo 5.10'da belirtilen formülasyonlar hazırlandı ve görsel olarak değerlendirildi. Bir kısmı tek dissolüsyon denemesi sonrası elimine edildi, T1- T4 arası formülasyonlar, dissolüsyon ortamında 7. saatte parçalanmaya başlaması sebebiyle devam edilmedi.

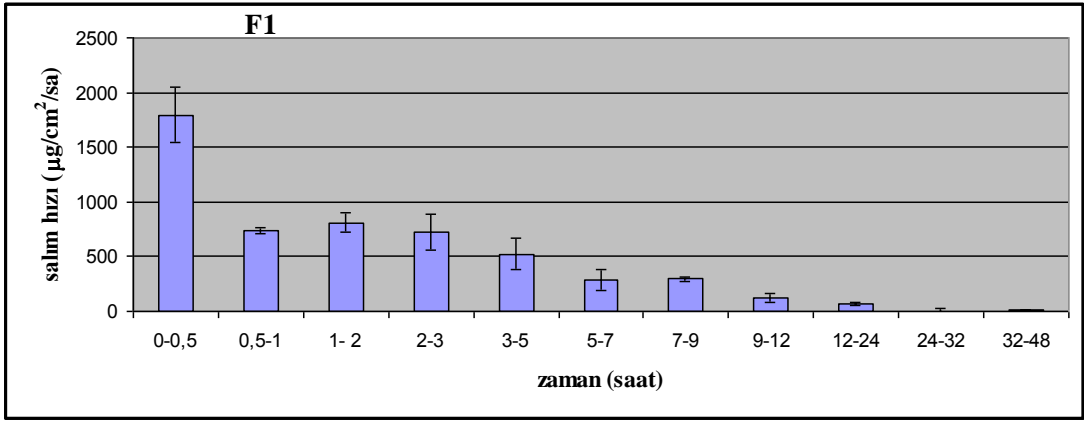
Yöntem 5.2.3.5.E'de belirtildiği şekilde çalışıldı. Elde edilen zamana karşı yığılmalı ilaç miktarı tablolarla ve grafiklerle gösterildi, ilaç salım hızları ise sütun grafikleriyle gösterildi.

Tablo 6.44. F1 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı (µg/cm²/sa)	SD (±)
0.5	12.899	1.844	1795.075	256.626
1	18.235	1.851	742.514	29.175
2	29.898	2.734	811.528	88.912
3	40.256	3.860	720.781	160.803
5	55.240	6.631	521.293	141.913
7	63.589	6.157	290.479	93.937
9	72.138	5.753	297.423	17.740
12	77.408	6.580	122.232	38.101
24	89.051	8.492	67.511	13.437
32	89.777	7.307	6.313	20.634
48	92.060	7.332	9.930	2.944



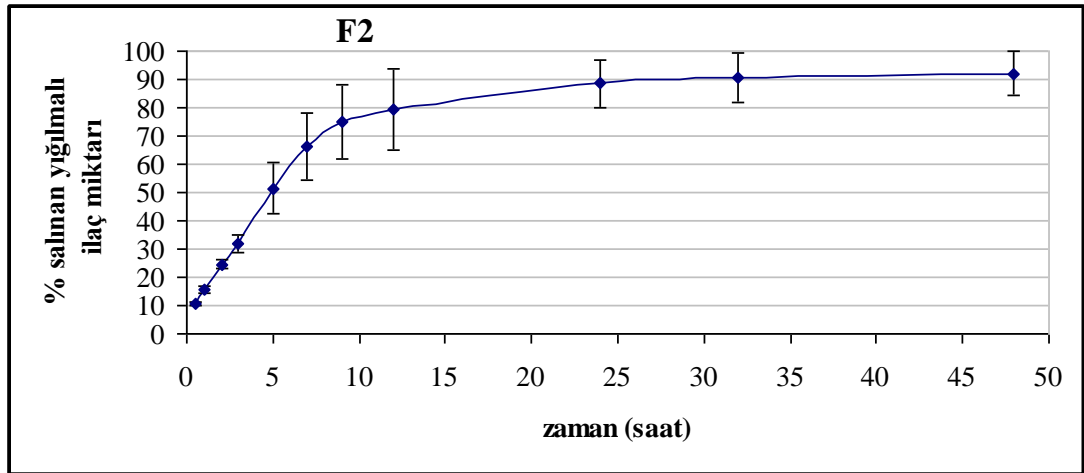
Şekil 6.33. F1 formülasyonuna ait ilaç salım profili



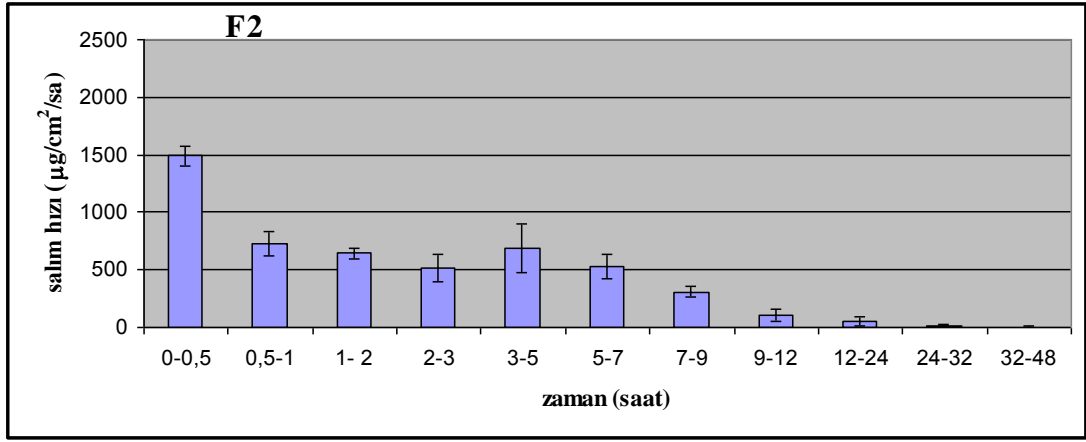
Şekil 6.34. F1 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.45. F2 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{sa}$)	SD (±)
0.5	10.485	0.618	1490.366	87.810
1	15.619	1.103	729.634	106.329
2	24.664	1.820	642.843	50.970
3	31.933	3.378	516.602	123.306
5	51.374	9.020	690.788	214.849
7	66.276	11.881	529.537	102.945
9	74.885	13.036	305.901	46.624
12	79.338	14.589	105.504	48.614
24	88.555	8.567	54.582	40.458
32	90.719	8.841	19.230	5.813
48	92.019	7.826	5.772	6.497



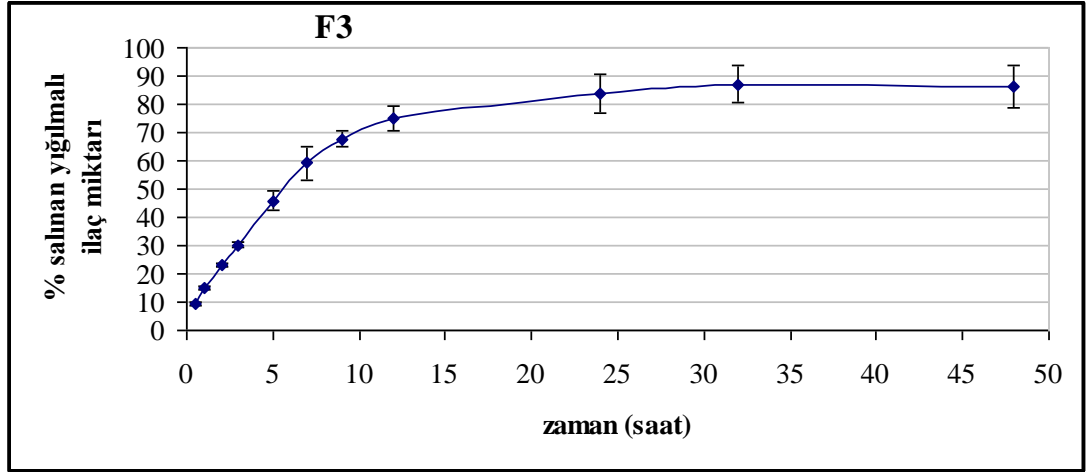
Şekil 6.35. F2 formülasyonuna ait ilaç salım profili



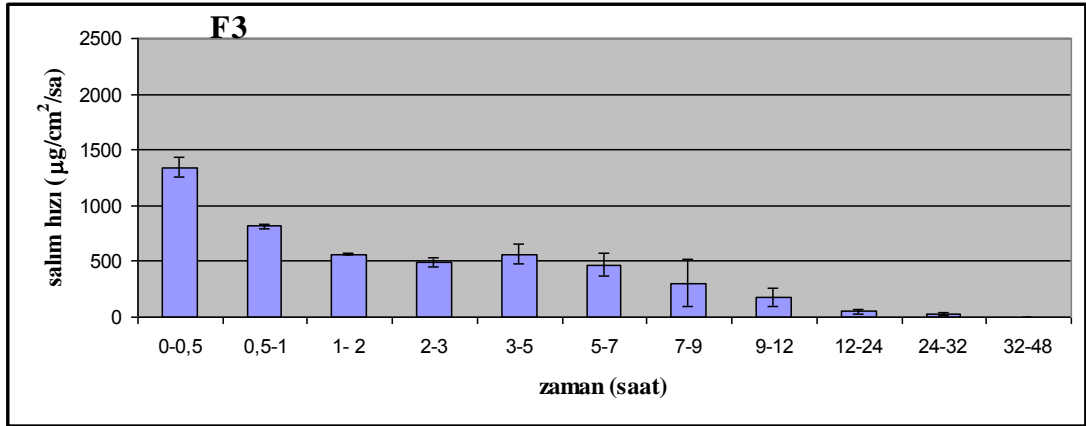
Şekil 6.36. F2 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.46. F3 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri.

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı (µg/cm ² /sa)	SD (±)
0.5	9.453	0.653	1343.652	92.822
1	15.184	0.543	814.515	19.461
2	23.147	0.433	565.906	9.488
3	30.095	0.876	493.778	44.155
5	45.930	3.308	562.696	89.730
7	59.063	5.781	466.674	100.510
9	67.606	2.891	303.573	213.367
12	75.046	4.395	176.239	83.795
24	83.666	6.856	51.047	18.245
32	87.148	6.401	30.937	13.161
48	86.380	7.553	-3.413	5.362



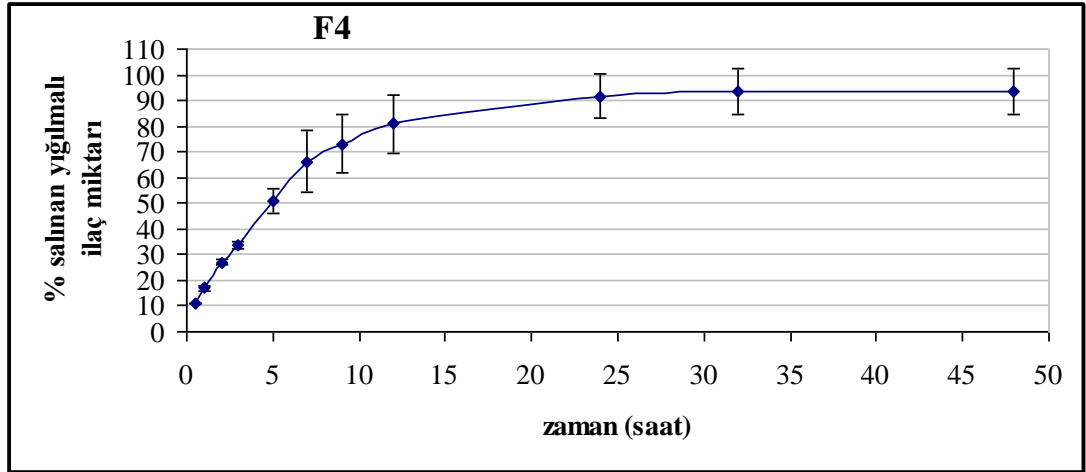
Şekil 6.37. F3 formülasyonuna ait ilaç salım profili



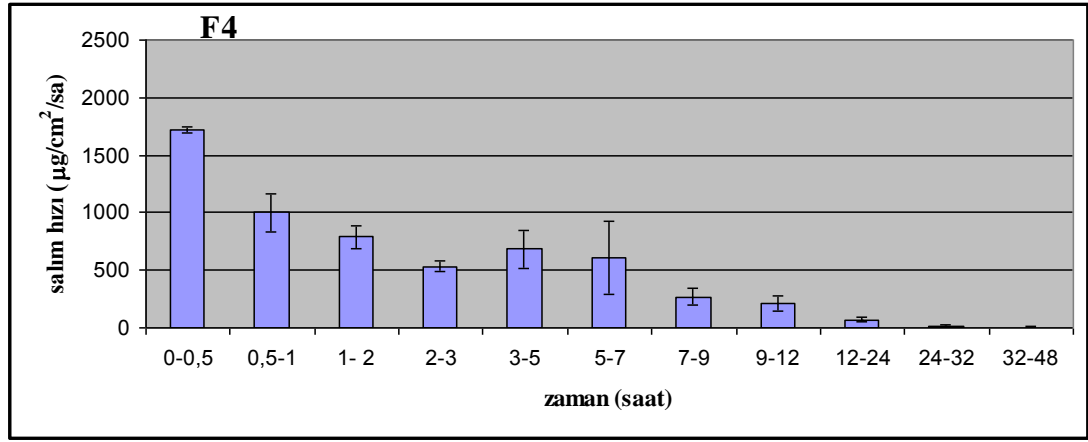
Şekil 6.38. F3 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.47. F4 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{sa}$)	SD (±)
0.5	10.840	0.175	1723.731	27.766
1	17.137	1.027	1001.369	165.253
2	27.066	1.117	789.424	96.102
3	33.770	1.436	533.011	47.196
5	50.942	4.826	682.679	164.315
7	66.266	11.844	609.191	318.473
9	73.047	11.448	269.605	68.837
12	81.004	11.418	210.877	63.388
24	91.781	8.588	71.402	20.288
32	93.325	8.920	15.347	11.073
48	93.510	8.840	1.838	7.139



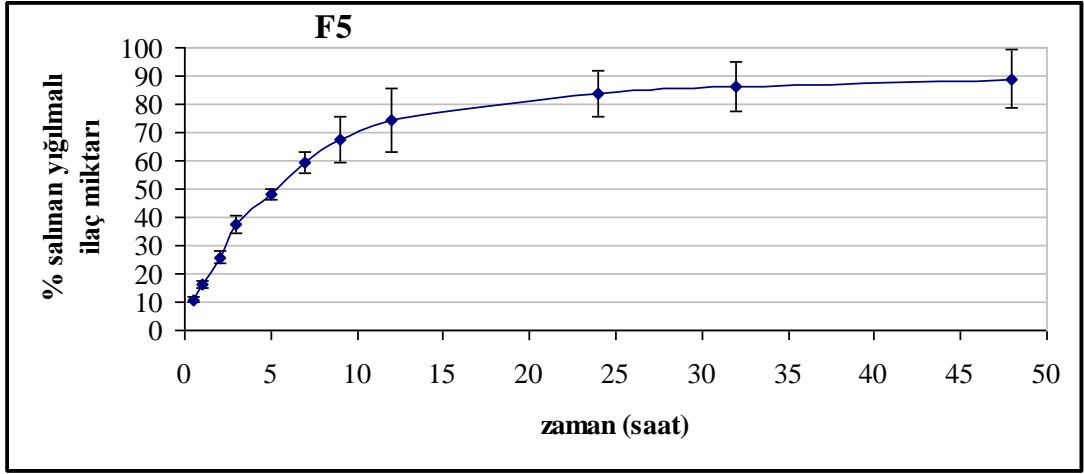
Şekil 6.39. F4 formülasyonuna ait ilaç salım profili



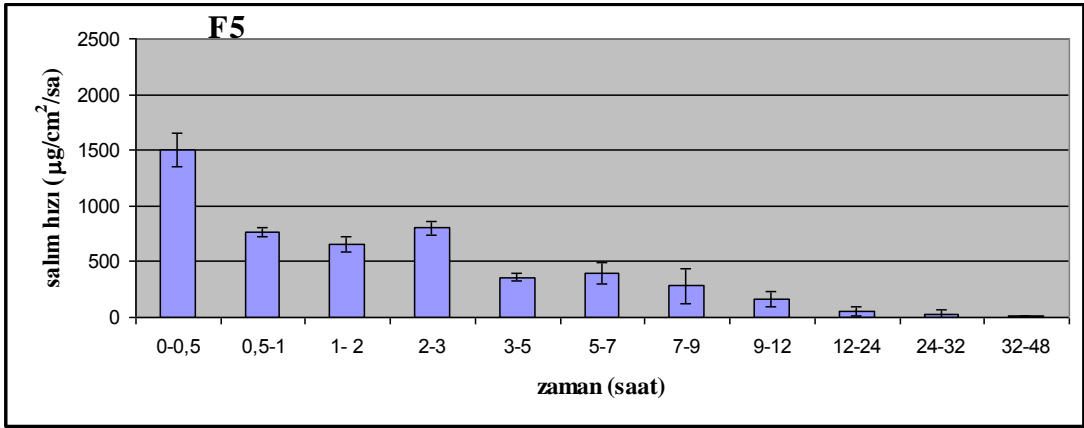
Şekil 6.40. F4 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.48. F5 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı (µg/cm ² /sa)	SD (±)
0.5	10.841	1.093	1502.903	151.592
1	16.394	1.388	769.925	41.446
2	25.893	2.354	658.386	69.304
3	37.477	3.041	803.024	63.835
5	47.890	1.945	360.906	38.010
7	59.243	3.837	393.473	96.815
9	67.448	8.263	284.370	155.533
12	74.658	11.257	166.597	69.161
24	83.996	8.161	53.940	36.487
32	86.460	8.848	21.351	51.343
48	88.975	10.438	10.894	7.238



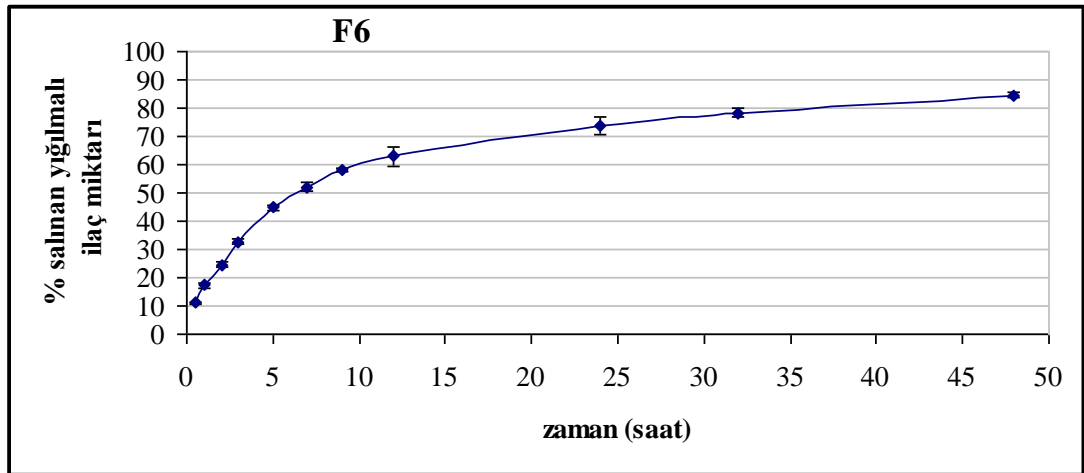
Şekil 6.41. F5 formülasyonuna ait ilaç salım profili



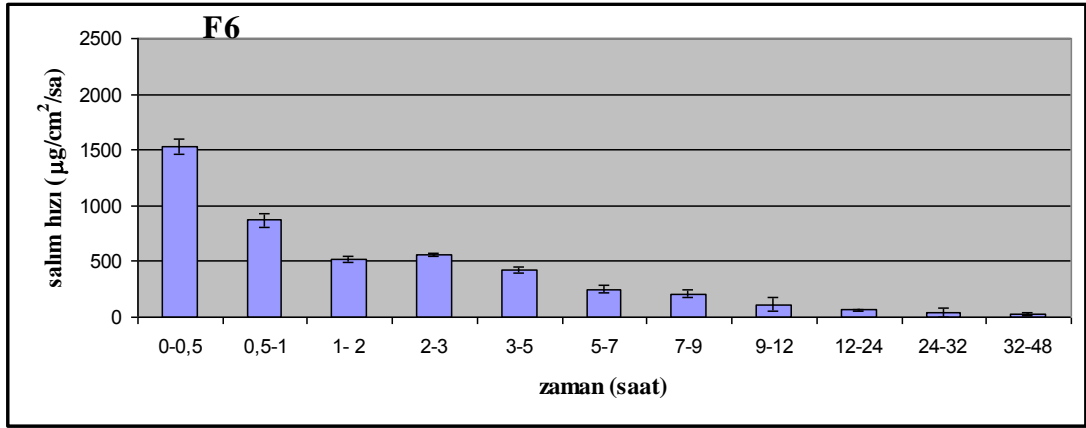
Şekil 6.42. F5 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.49. F6 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{sa}$)	SD (±)
0.5	10.980	0.494	1532.630	68.902
1	17.195	0.833	867.598	57.330
2	24.622	1.088	518.373	25.349
3	32.703	0.915	563.995	14.464
5	44.770	0.935	421.106	27.967
7	51.979	1.640	251.546	34.480
9	58.015	0.713	210.637	32.406
12	62.876	3.263	113.097	60.823
24	73.588	3.226	62.303	1.651
32	78.206	1.495	40.290	35.785
48	84.659	0.752	28.147	9.763



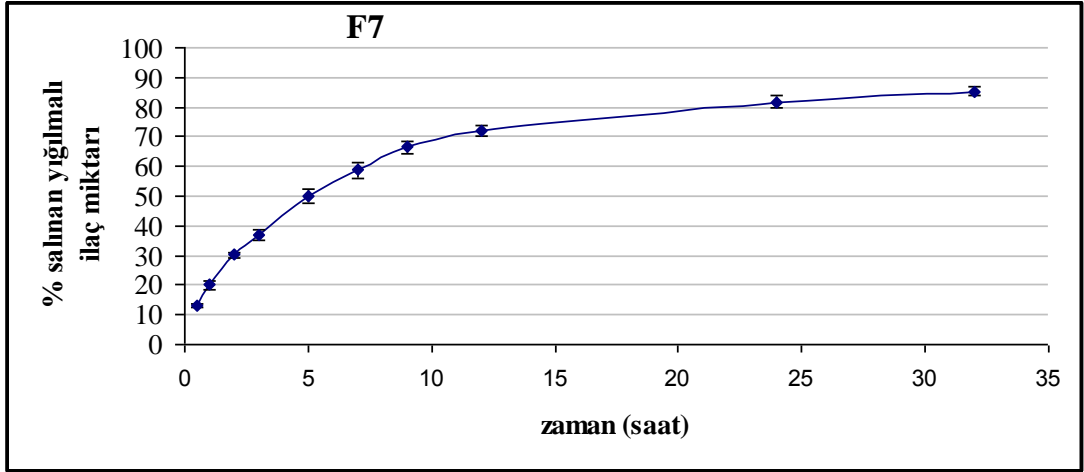
Şekil 6.43. F6 formülasyonuna ait ilaç salım profili



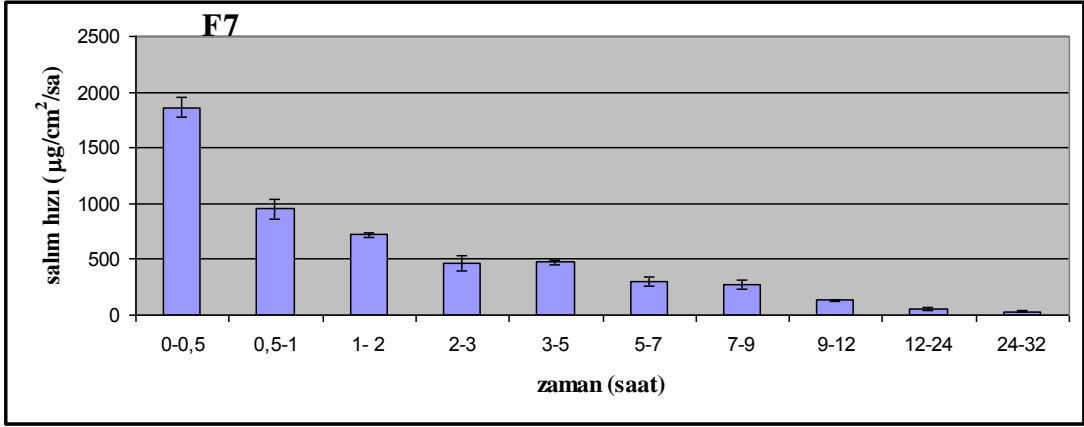
Şekil 6.44. F6 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.50. F7 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı (µg/cm ² /sa)	SD (±)
0.5	13.232	0.591	1863.871	83.299
1	19.979	1.253	950.409	94.268
2	30.194	1.021	719.443	16.373
3	36.721	1.886	459.705	67.230
5	50.134	2.263	472.369	15.467
7	58.690	2.488	301.318	40.624
9	66.404	2.065	271.656	41.276
12	71.963	1.945	130.500	9.517
24	81.829	1.860	57.903	10.973
32	85.202	1.447	29.696	5.361



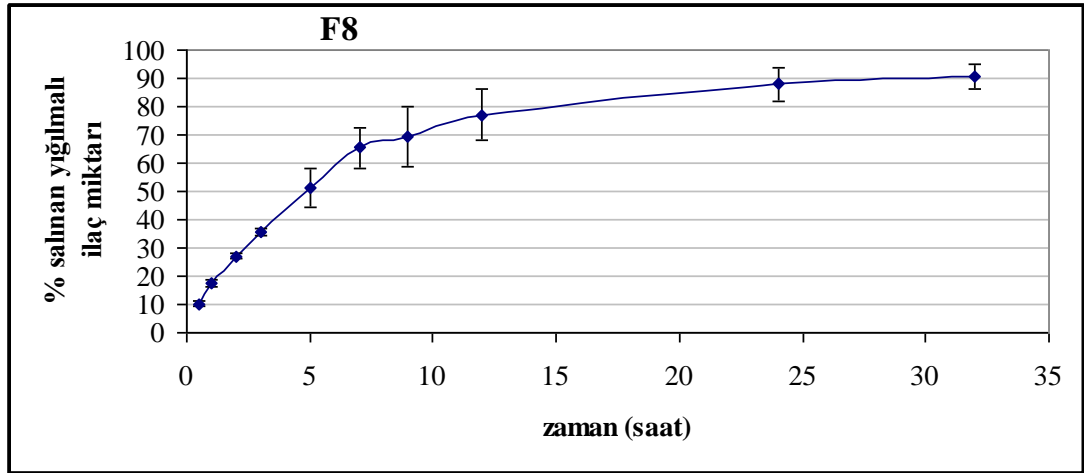
Şekil 6.45. F7 formülasyonuna ait ilaç salım profili



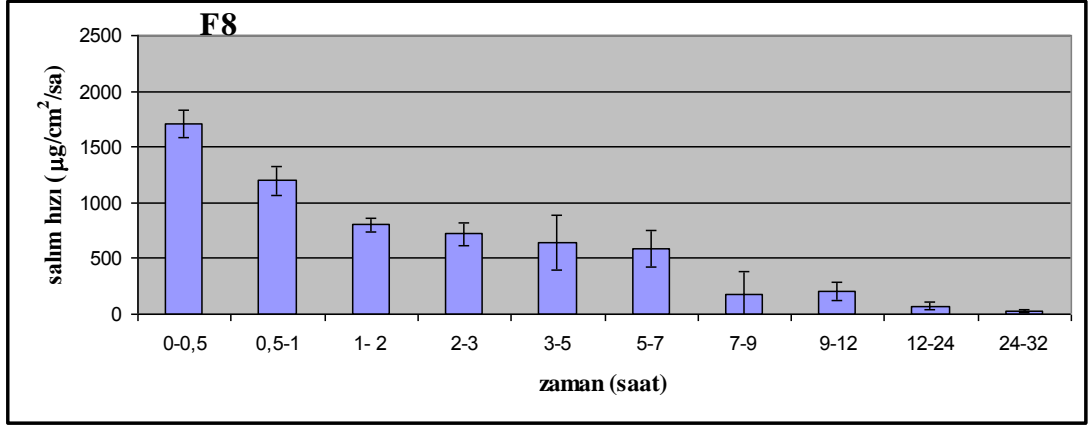
Şekil 6.46. F7 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.51. F8 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{sa}$)	SD (±)
0.5	10.293	0.731	1710.991	121.532
1	17.504	1.527	1198.840	132.552
2	27.157	0.785	802.349	64.792
3	35.833	1.152	721.137	99.707
5	51.233	6.998	639.974	247.887
7	65.321	7.311	585.510	164.850
9	69.552	10.583	175.806	203.229
12	77.009	8.930	206.612	77.380
24	87.853	5.686	75.111	31.956
32	90.480	4.330	27.291	18.952



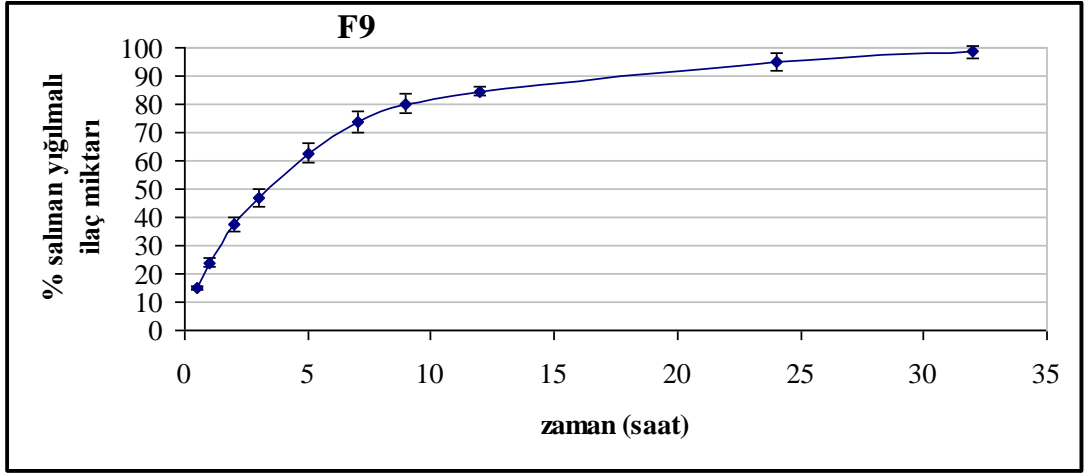
Şekil 6.47. F8 formülasyonuna ait ilaç salım profili



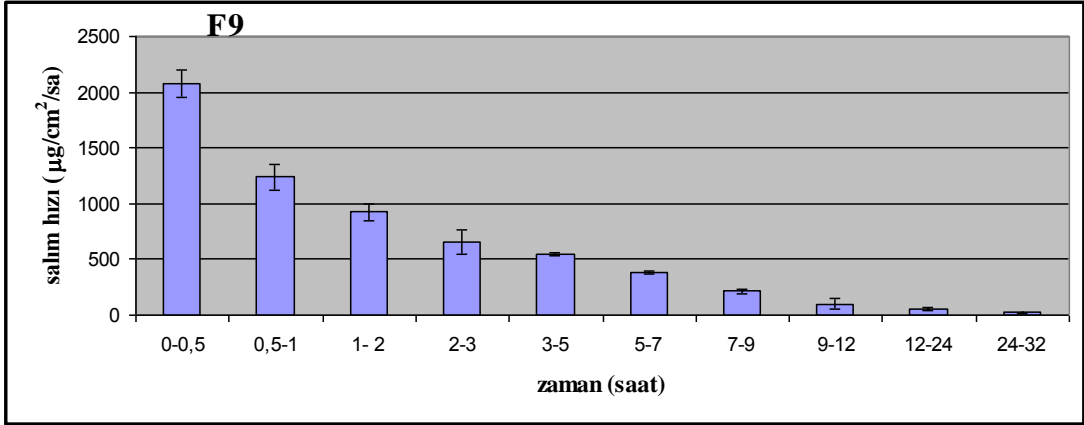
Şekil 6.48. F8 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.52. F9 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı (µg/cm²/sa)	SD (±)
0.5	15.049	0.886	2071.959	121.921
1	24.050	1.668	1239.184	113.296
2	37.469	2.423	923.781	71.848
3	46.936	3.343	651.710	108.786
5	62.761	3.517	544.675	12.126
7	73.944	3.641	384.915	10.037
9	80.152	3.435	213.685	19.782
12	84.614	1.768	102.391	42.702
24	94.776	3.078	58.294	11.789
32	98.527	2.057	32.273	25.022



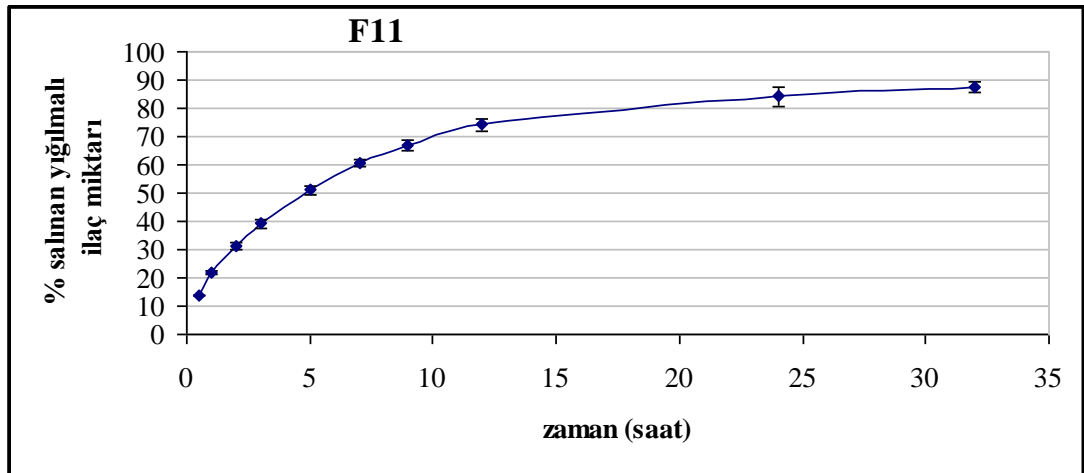
Şekil 6.49. F9 formülasyonuna ait ilaç salım profili



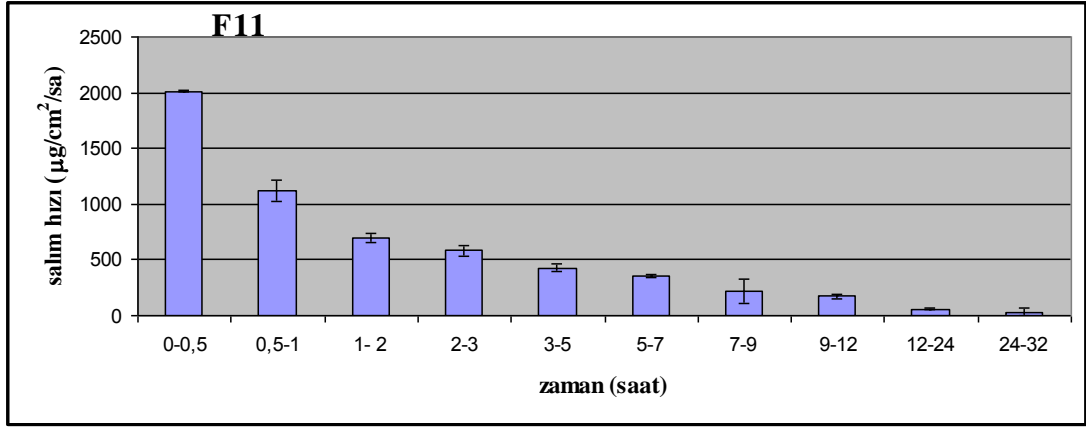
Şekil 6.50. F9 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.53. F11 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{sa}$)	SD (±)
0.5	13.894	0.091	2014.629	13.260
1	21.605	0.594	1118.153	95.621
2	31.137	1.153	691.096	41.731
3	39.194	1.727	584.182	45.302
5	51.046	1.487	429.626	36.111
7	60.724	1.157	350.854	15.268
9	66.908	1.893	224.148	108.444
12	74.113	2.143	174.144	21.213
24	84.145	3.423	60.608	9.801
32	87.401	2.071	29.510	35.044



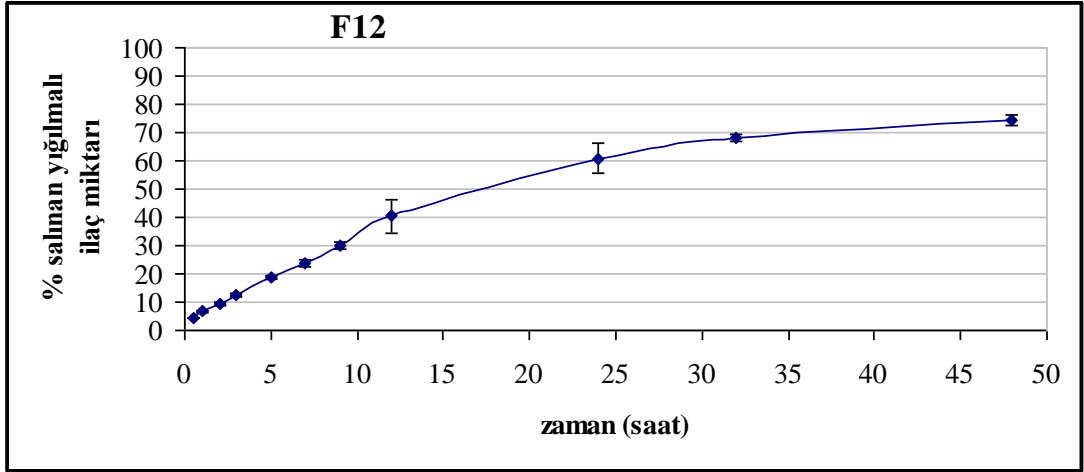
Şekil 6.51. F11 formülasyonuna ait ilaç salım profili



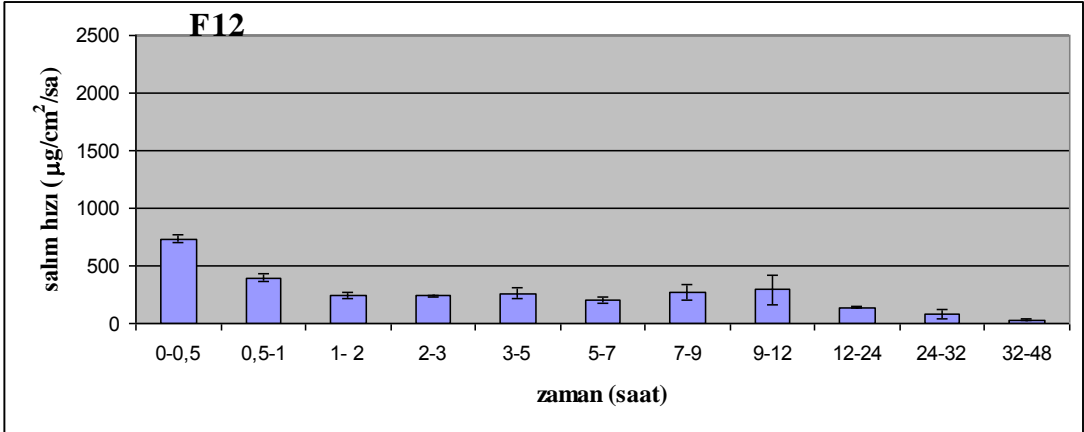
Şekil 6.52. F11 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.54. F12 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı (µg/cm ² /sa)	SD (±)
0.5	4.339	0.200	730.006	33.707
1	6.689	0.399	395.367	35.589
2	9.606	0.556	245.407	25.007
3	12.458	0.553	239.938	4.865
5	18.700	0.864	262.551	44.770
7	23.621	1.426	207.006	24.891
9	30.067	1.156	271.117	71.787
12	40.538	5.864	293.641	132.016
24	60.722	5.291	141.503	9.742
32	68.226	1.327	78.907	41.726
48	74.192	1.897	31.370	8.128



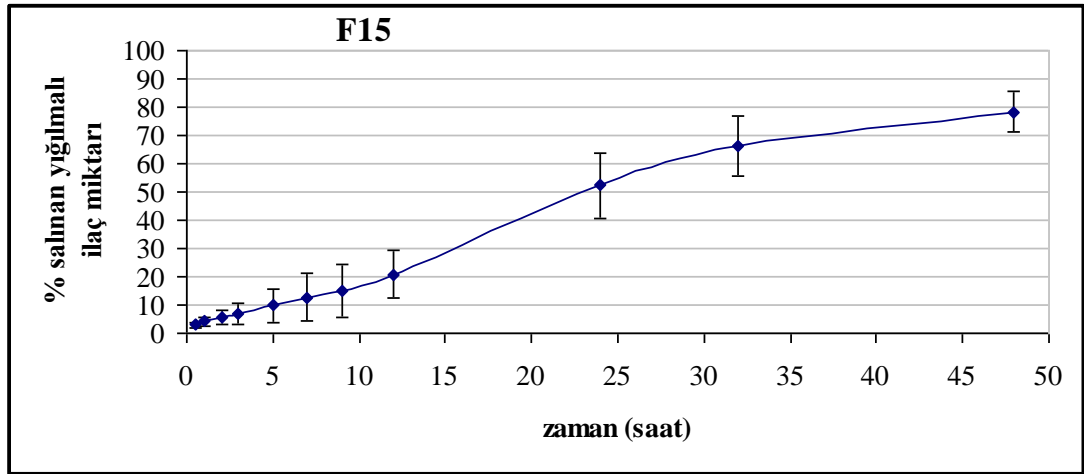
Şekil 6.53. F12 formülasyonuna ait ilaç salım profili



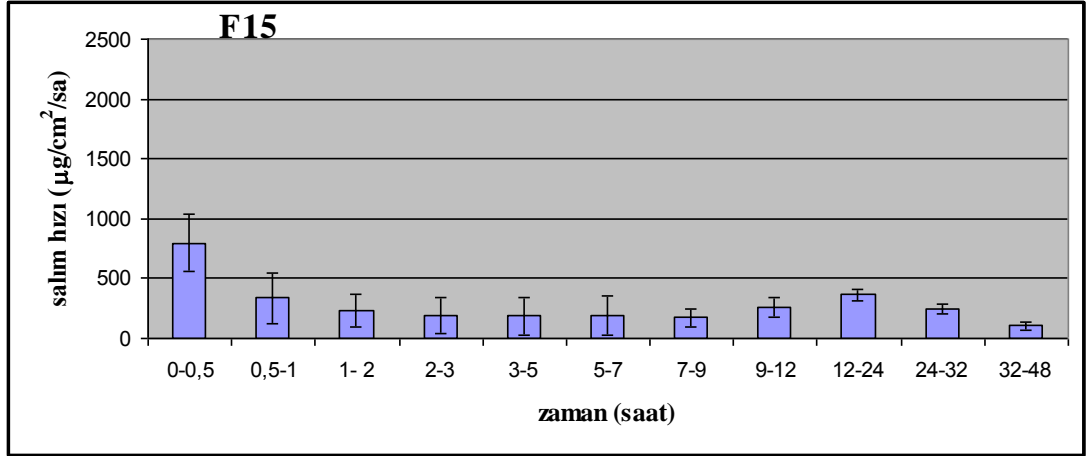
Şekil 6.54. F12 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.55. F15 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{sa}$)	SD (±)
0.5	2.864	0.862	795.829	239.562
1	4.079	1.631	337.612	215.171
2	5.768	2.627	234.630	138.844
3	7.144	3.743	191.101	154.990
5	9.843	6.052	187.491	160.627
7	12.583	8.371	190.288	161.610
9	15.081	9.448	173.549	77.289
12	20.746	8.453	262.325	82.358
24	52.218	11.685	364.333	44.195
32	66.352	10.489	245.439	40.132
48	78.178	7.172	102.685	28.797



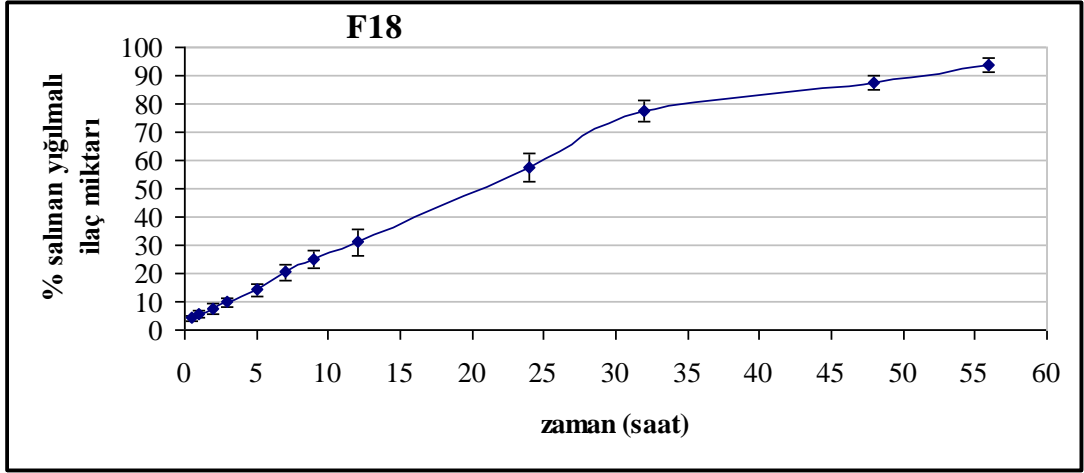
Şekil 6.55. F15 formülasyonuna ait ilaç salım profili



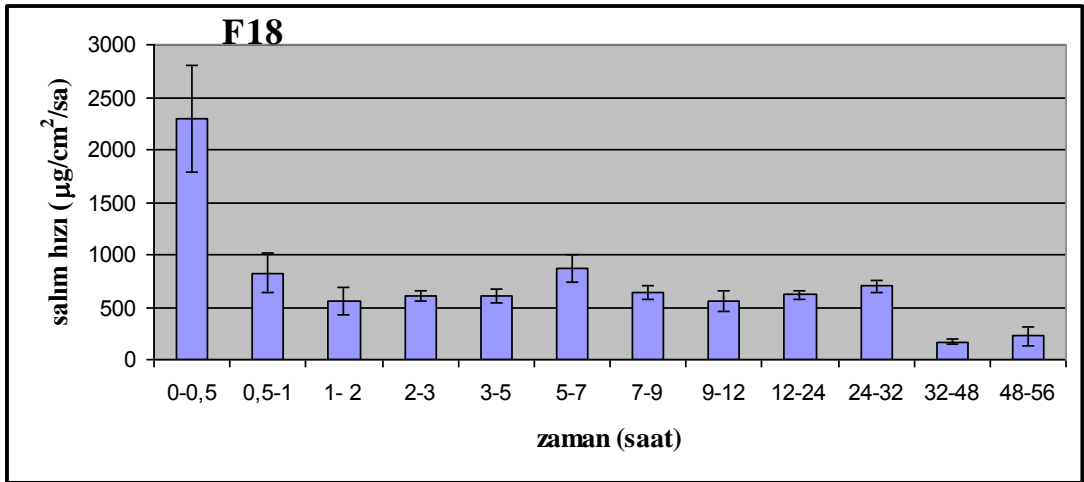
Şekil 6.56. F15 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.56. F18 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı (µg/cm ² /sa)	SD (±)
0.5	4.108	0.918	2297.034	513.292
1	5.585	1.260	825.981	191.349
2	7.598	1.730	562.686	131.720
3	9.770	1.621	607.276	42.414
5	14.112	1.970	607.064	59.437
7	20.349	2.912	871.862	132.111
9	24.975	3.383	646.719	66.166
12	31.005	4.460	562.020	101.894
24	57.563	5.003	618.766	39.048
32	77.599	3.588	700.255	58.336
48	87.406	2.312	171.362	28.580
56	93.761	2.559	222.128	83.181



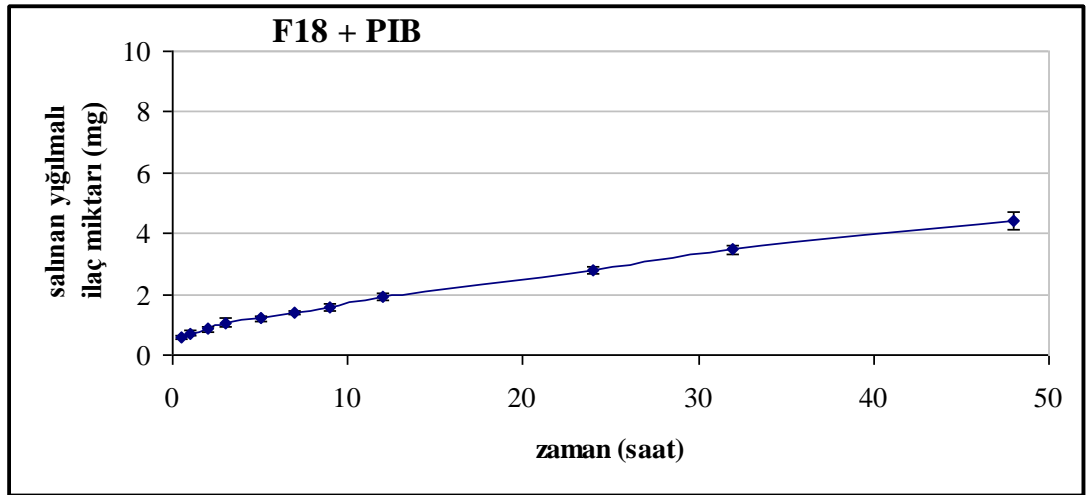
Şekil 6.57. F18 formülasyonuna ait ilaç salım profili



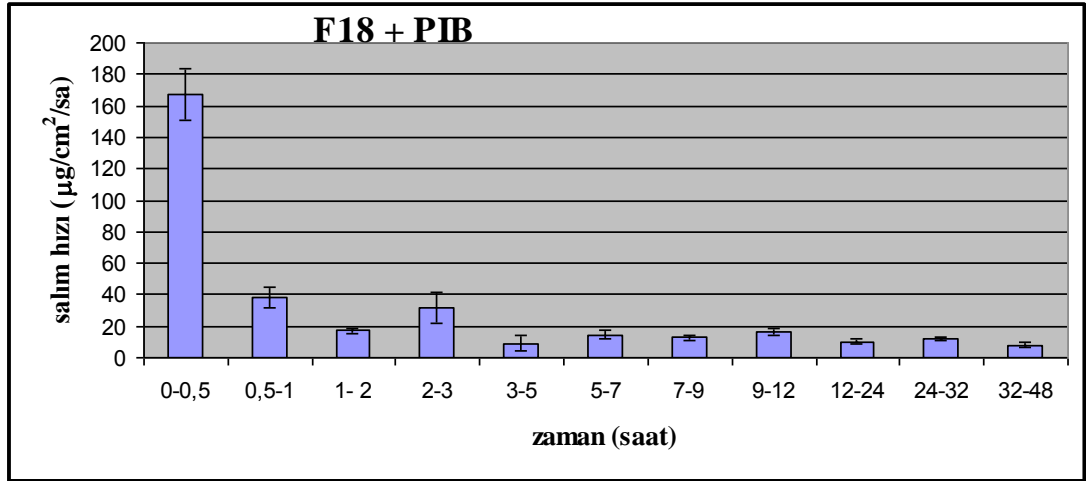
Şekil 6.58. F18 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.57. F18 (+0.1g PIB) formülasyonuna ait yığılmalı salınan ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (mg)	SD (±)	Salım hızı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{sa}$)	SD (±)
0.5	0.592	0.057	167.320	16.031
1	0.727	0.069	38.220	6.370
2	0.847	0.068	16.987	1.839
3	1.072	0.135	31.850	9.555
5	1.200	0.091	9.024	5.119
7	1.402	0.079	14.333	2.758
9	1.583	0.102	12.740	1.593
12	1.920	0.128	15.925	2.123
24	2.799	0.102	10.351	1.157
32	3.474	0.150	11.944	1.194
48	4.398	0.290	8.162	1.305



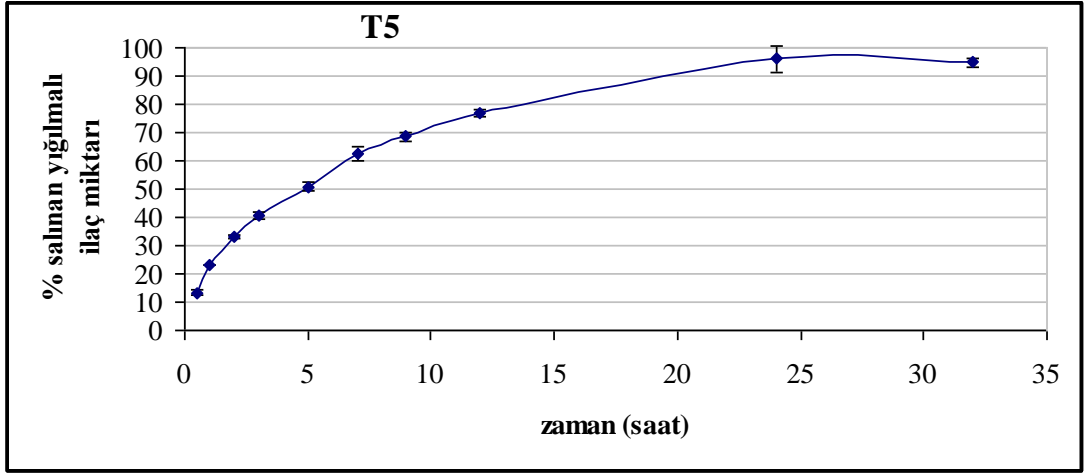
Şekil 6.59. F18 (+ 0.1 g PIB) formülasyonuna ait ilaç salım profili



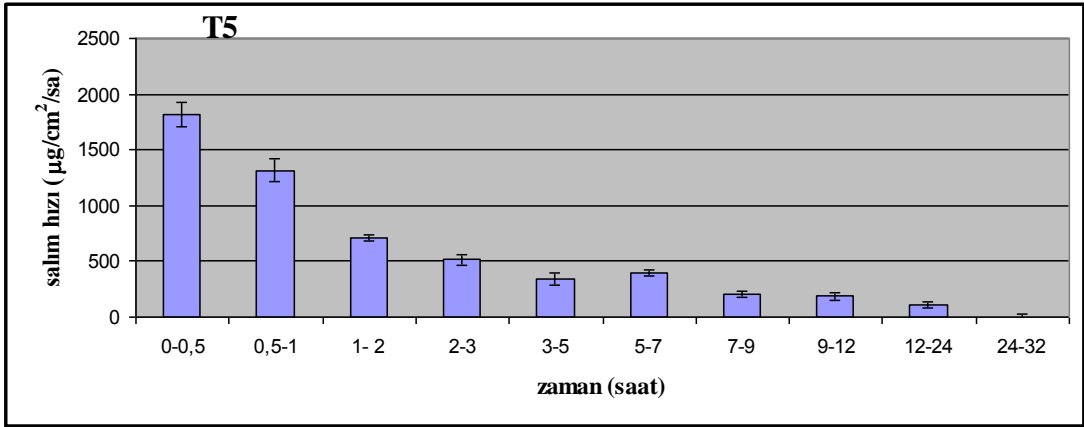
Şekil 6.60. F18 (+ 0.1 g PIB) formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.58. T5 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı (µg/cm ² /sa)	SD (±)
0.5	13.301	0.841	1817.158	114.896
1	22.931	0.081	1315.624	105.891
2	33.282	0.504	707.021	30.722
3	40.809	1.270	514.143	52.693
5	50.915	1.749	345.169	56.569
7	62.487	2.492	395.222	25.399
9	68.533	1.737	206.497	26.144
12	76.689	1.226	185.709	35.026
24	96.052	4.720	110.219	22.279
32	94.844	1.475	-10.316	36.698



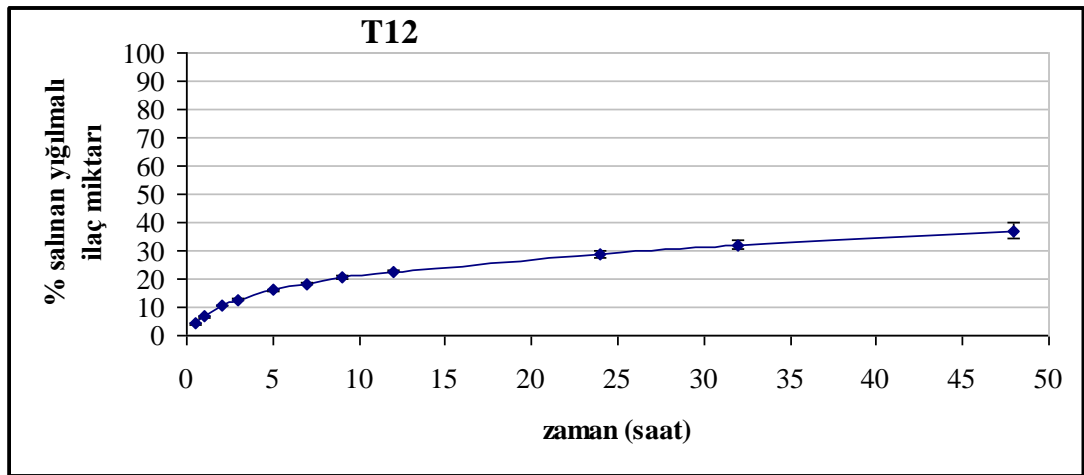
Şekil 6.61. T5 formülasyonuna ait ilaç salım profili



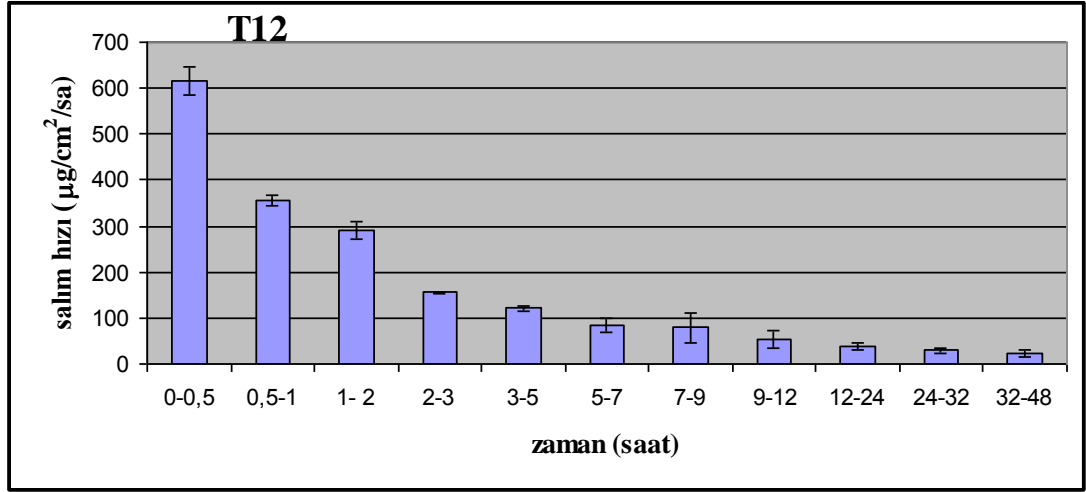
Şekil 6.62. T5 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.59. T12 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{sa}$)	SD (±)
0.5	4.195	0.217	615.345	31.850
1	6.627	0.157	356.722	11.033
2	10.608	0.239	291.960	19.461
3	12.721	0.289	155.004	3.678
5	16.022	0.140	121.031	5.742
7	18.318	0.470	84.191	14.711
9	20.482	0.457	79.376	31.778
12	22.695	0.344	54.083	19.176
24	28.907	1.124	37.966	6.436
32	32.178	1.363	29.989	5.520
48	36.932	2.824	21.792	7.492



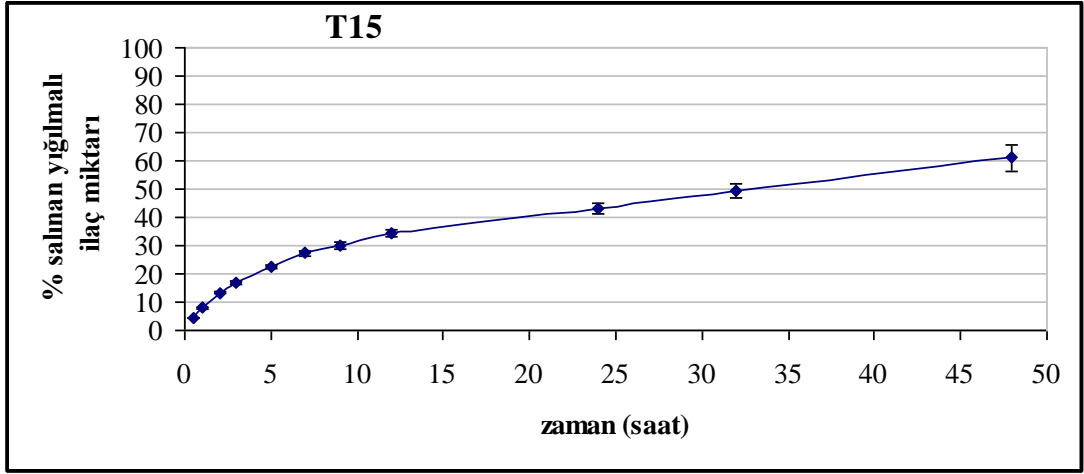
Şekil 6.63. T12 formülasyonuna ait ilaç salım profili



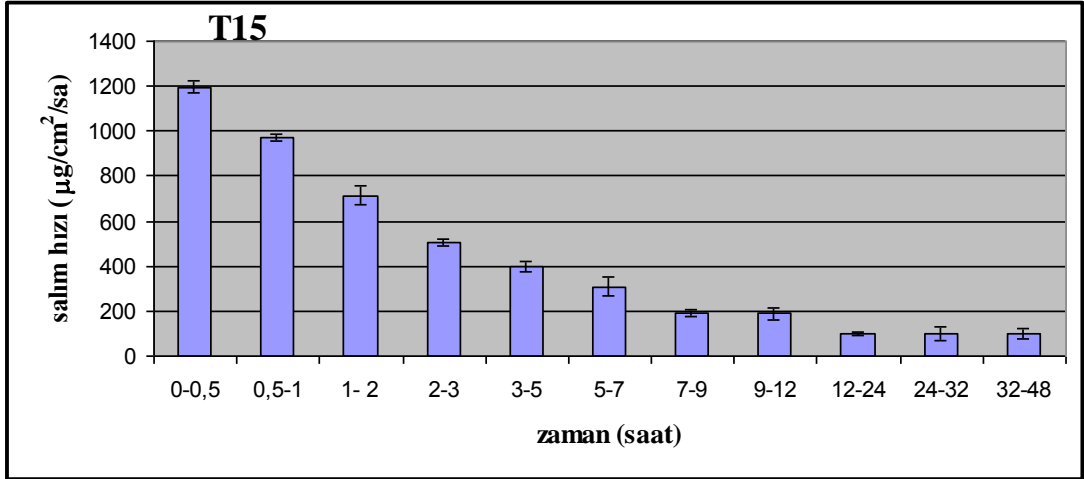
Şekil 6.64. T12 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.60. T15 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı (µg/cm ² /sa)	SD (±)
0.5	4.380	0.102	1195.018	27.766
1	7.945	0.137	972.492	13.260
2	13.168	0.319	712.382	41.568
3	16.865	0.397	504.294	14.362
5	22.702	0.643	398.127	19.569
7	27.245	1.135	309.796	41.046
9	30.055	1.275	191.632	18.156
12	34.201	1.174	188.521	24.071
24	43.119	1.757	101.368	6.657
32	49.136	2.460	102.588	30.033
48	61.095	4.606	101.957	23.248



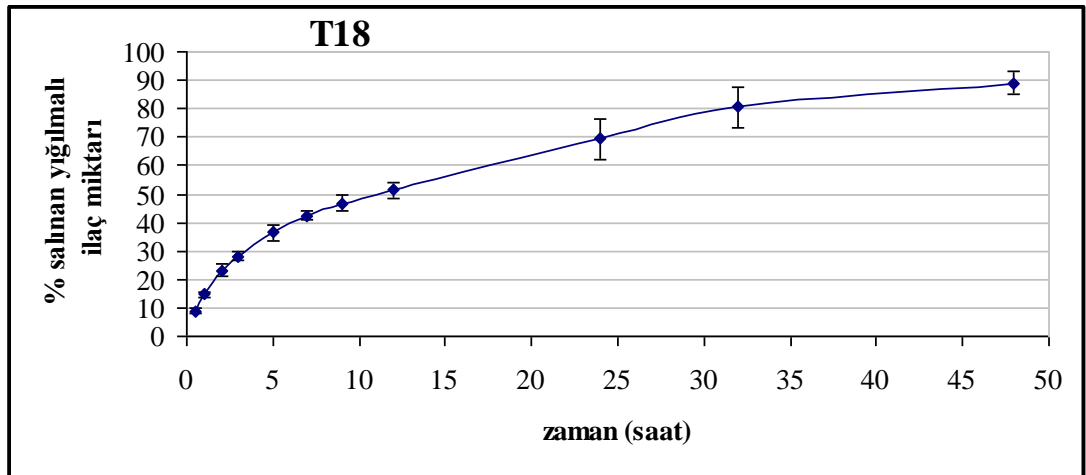
Şekil 6.65. T15 formülasyonuna ait ilaç salım profili



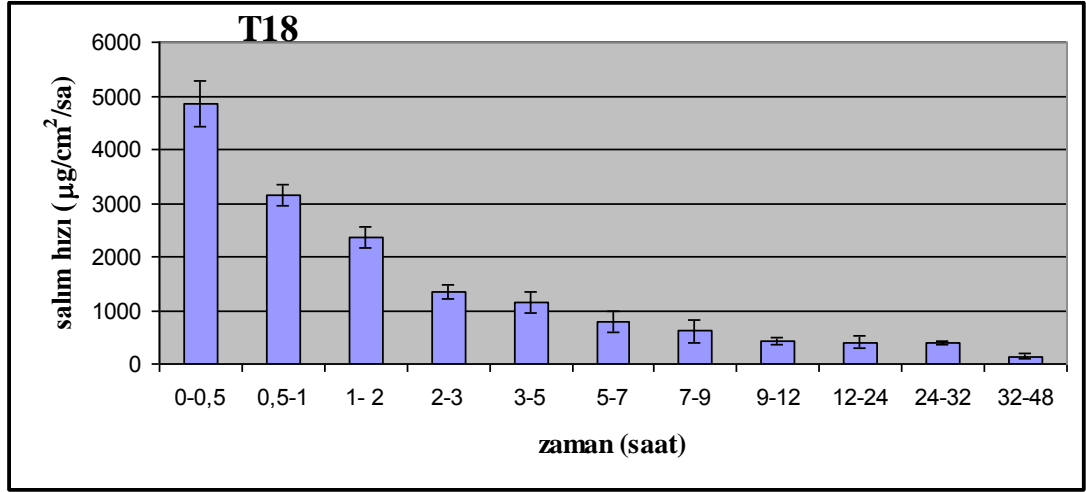
Şekil 6.66. T15 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.61. T18 formülasyonuna ait % salınan yığılmalı ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (%)	SD (±)	Salım hızı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{sa}$)	SD (±)
0.5	8.875	0.805	4851.416	439.994
1	14.634	1.175	3148.070	208.855
2	23.274	1.943	2361.726	211.998
3	28.203	1.645	1347.229	141.123
5	36.619	2.804	1150.153	183.640
7	42.423	1.559	793.168	198.710
9	46.867	3.029	607.358	216.589
12	51.485	2.771	420.765	70.626
24	69.373	7.150	407.425	113.687
32	80.604	7.276	383.749	37.297
48	89.098	4.283	145.102	51.202



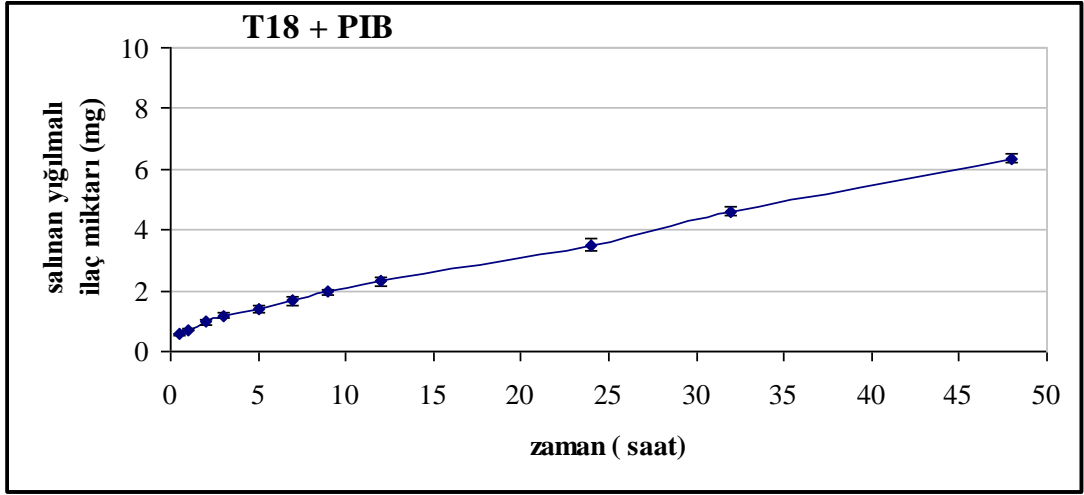
Şekil 6.67. T18 formülasyonuna ait ilaç salım profili



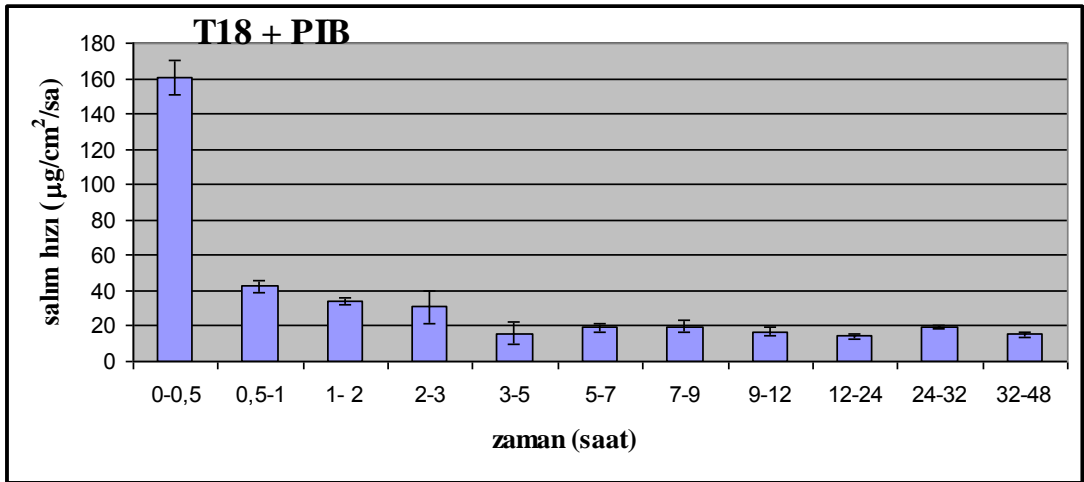
Şekil 6.68. T18 formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Tablo 6.62. T18 (+0.1g PIB) formülasyonuna ait yığılmalı salınan ilaç miktarları, salım hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (Saat)	Salınan ilaç miktarı (mg)	SD (±)	Salım hızı (µg/cm ² /sa)	SD (±)
0.5	0.569	0.034	160.949	9.730
1	0.719	0.047	42.467	3.678
2	0.959	0.060	33.974	1.839
3	1.177	0.102	30.788	9.194
5	1.402	0.102	15.925	6.370
7	1.673	0.138	19.110	2.758
9	1.950	0.098	19.641	3.315
12	2.311	0.141	16.987	2.123
24	3.512	0.214	14.156	1.807
32	4.616	0.160	19.508	1.053
48	6.342	0.148	15.262	1.325

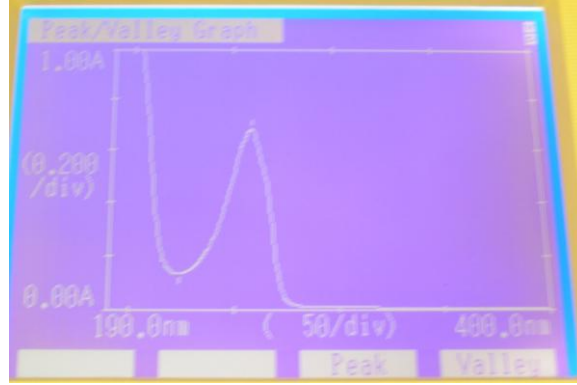


Şekil 6.69. T18 (+0.1 g PIB) formülasyonuna ait ilaç salım profili



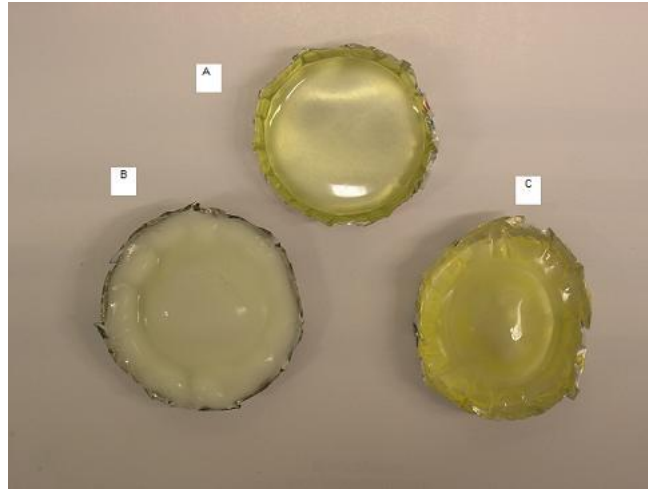
Şekil 6.70. T18 (+0.1g PIB) formülasyonuna ait salım hızı grafiği

Dissolüsyon çalışması bitiminde alınan numunelerin spektrumuna bakıldı ve etkin madde dışında herhangi bir pik görülmedi (Resim 6.12).



Resim 6.12. F9 formülasyonunun 32 saatlik dissolüsyonu sonrası dissolüsyon ortamının spektrumu

Formülasyonların dissolüsyon öncesi ve sonrası durumları ise Resim 6.13’de gösterildi.



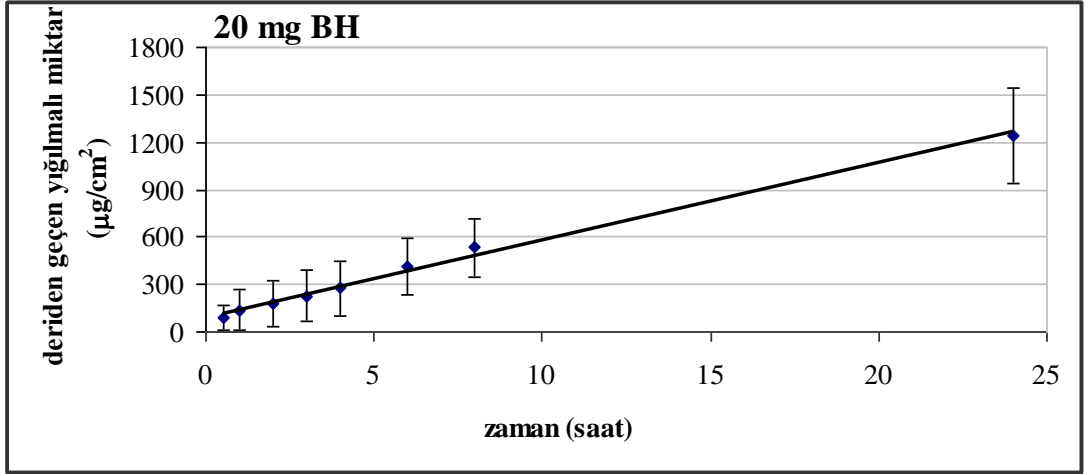
Resim 6.13. a: F1 formülasyonu, b: dissolüsyon sonrası hali
c: dissolüsyondan 1 hafta sonraki hali

6.3.5.5. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlarda insan derisinden *ex vivo* geçiş çalışmaları hakkında bulgular

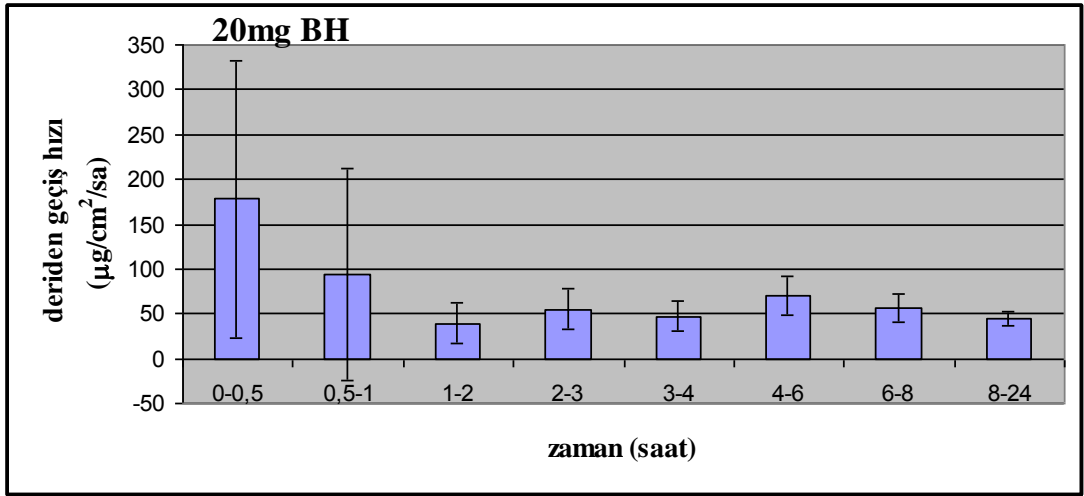
Çalışma, yöntem 5.2.3.5.F’de anlatıldığı gibi yapıldı. Deriden geçen yığılmalı miktarlar tablolar halinde verildi. Ayrıca zamana karşı deriden geçen miktar ve ilaç geçiş hızları da grafiklerle gösterildi.

Tablo 6.63. Fosfat tamponunda (1ml) çözündürülmüş 20 mg betahistin bazın deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (saat)	Deriden yığılmalı geçen miktar ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD (\pm)	Deriden geçiş hızı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{sa}$)	SD (\pm)
0.5	88.917	77.053	177.834	154.106
1	135.589	127.702	93.343	118.084
2	174.447	144.674	38.858	22.532
3	229.085	164.609	54.638	22.546
4	276.080	172.630	46.995	16.649
6	417.000	178.113	70.460	21.032
8	531.598	187.717	57.299	15.724
24	1242.616	301.304	44.439	8.370



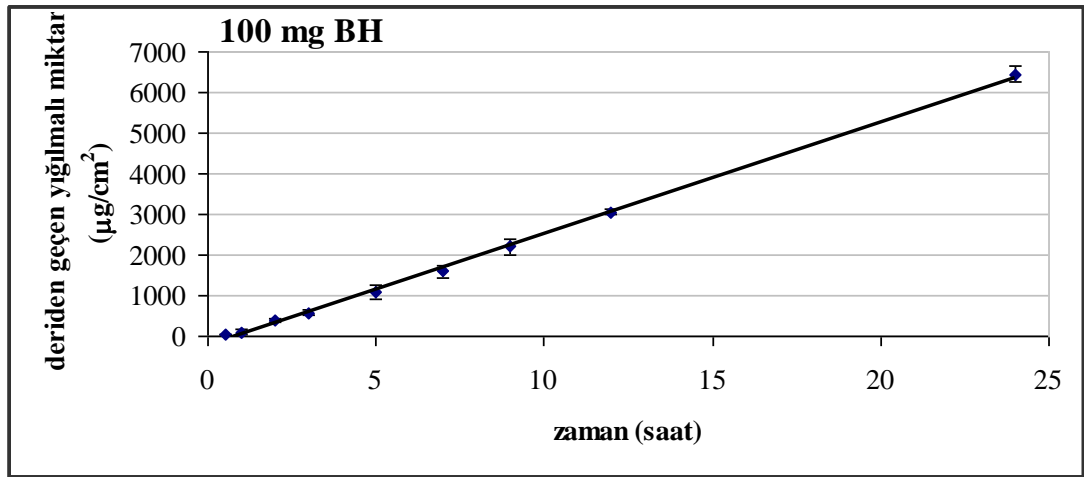
Şekil. 6.71. Fosfat tamponunda (1ml) çözündürülmüş 20 mg betahistin bazın deriden zamana karşı geçen yığılmalı miktarı



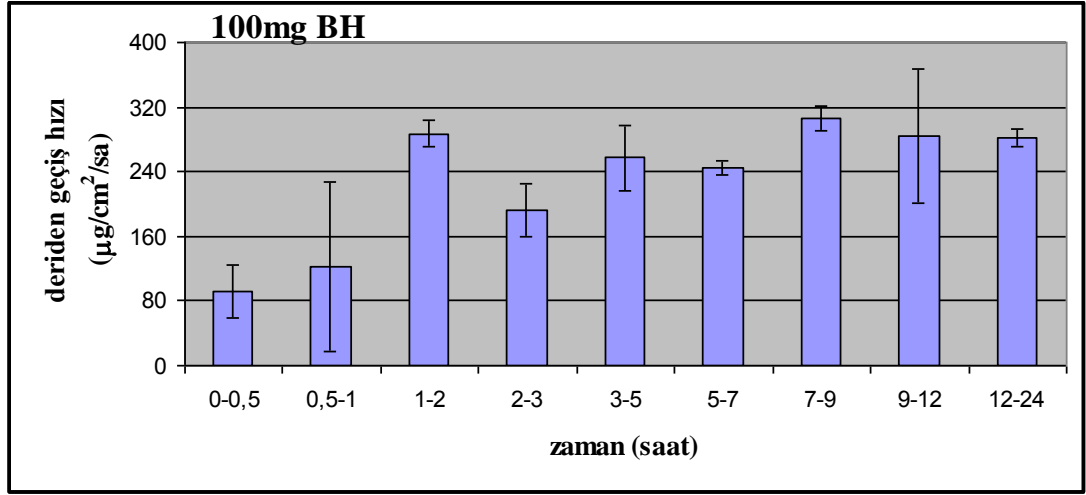
Şekil. 6.72. Fosfat tamponunda (1ml) çözündürülmüş 20 mg betahistin bazın deriden geçiş hızı

Tablo 6.64. Fosfat tamponunda (0.5 ml) çözüldürülmüş 100 mg betahistin bazın deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (saat)	Deriden yığılmalı geçen miktar ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD (\pm)	Deriden geçiş hızı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{sa}$)	SD (\pm)
0.5	45.785	16.210	91.571	32.420
1	106.708	68.403	121.845	104.387
2	393.945	52.494	287.237	15.910
3	586.173	85.173	192.228	32.679
5	1101.157	166.519	257.492	40.673
7	1590.553	150.558	244.698	7.980
9	2200.768	181.450	305.107	15.446
12	3052.692	69.490	283.975	83.647
24	6442.195	202.495	282.459	11.084



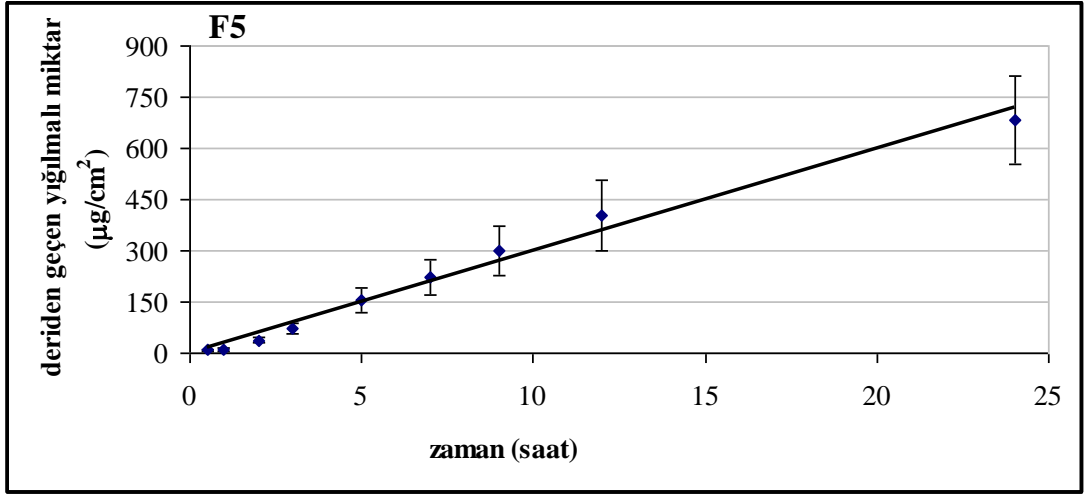
Şekil 6.73. Fosfat tamponunda (0.5 ml) çözüldürülmüş 100 mg betahistin bazın deriden zamana karşı geçen yığılmalı miktarı



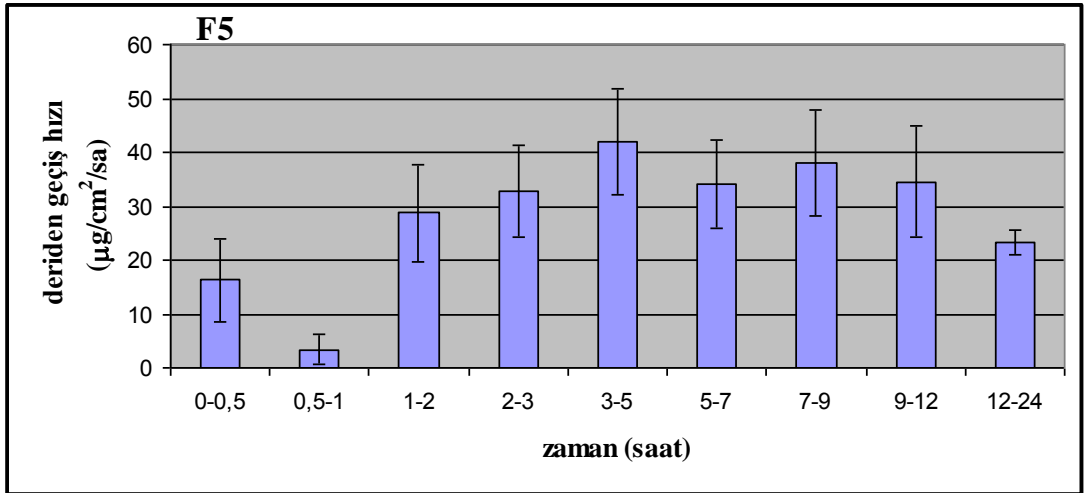
Şekil 6.74. Fosfat tamponunda (0.5 ml) çözündürülmüş 100 mg betahistin bazın deriden geçiş hızı

Tablo 6.65. F5 formülasyonunun deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (saat)	Deriden yığılmalı geçen miktar (µg/cm ²)	SD (±)	Deriden geçiş hızı (µg/cm ² /sa)	SD (±)
0.5	8.124	3.797	16.247	7.594
1	9.819	3.389	3.391	2.811
2	38.529	7.940	28.710	8.992
3	71.244	16.055	32.715	8.586
5	155.318	35.387	42.037	9.833
7	223.783	51.795	34.233	8.212
9	299.917	71.406	38.067	9.950
12	403.567	102.491	34.550	10.382
24	683.192	128.787	23.302	2.236



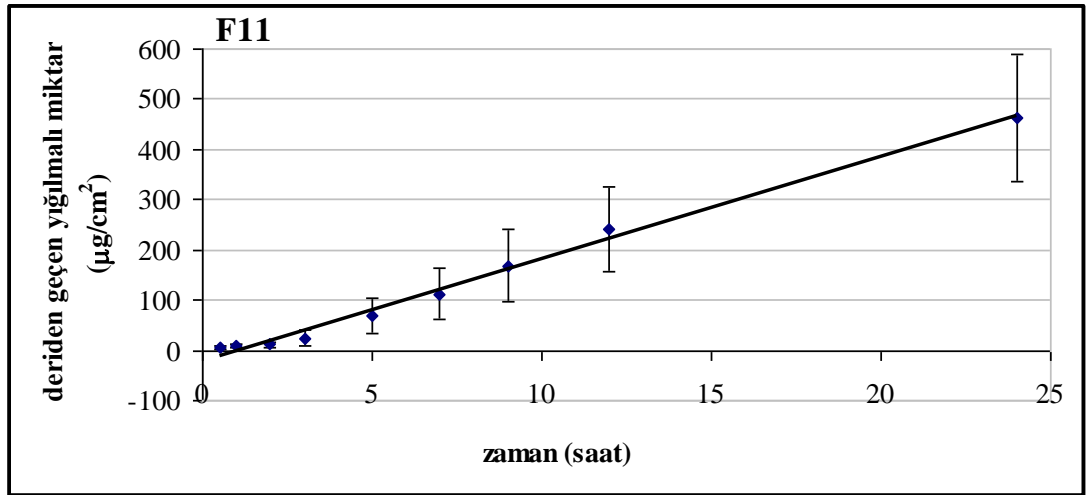
Şekil. 6.75. F5 formülasyonunun deriden zamana karşı geçen yağlımlı miktarı



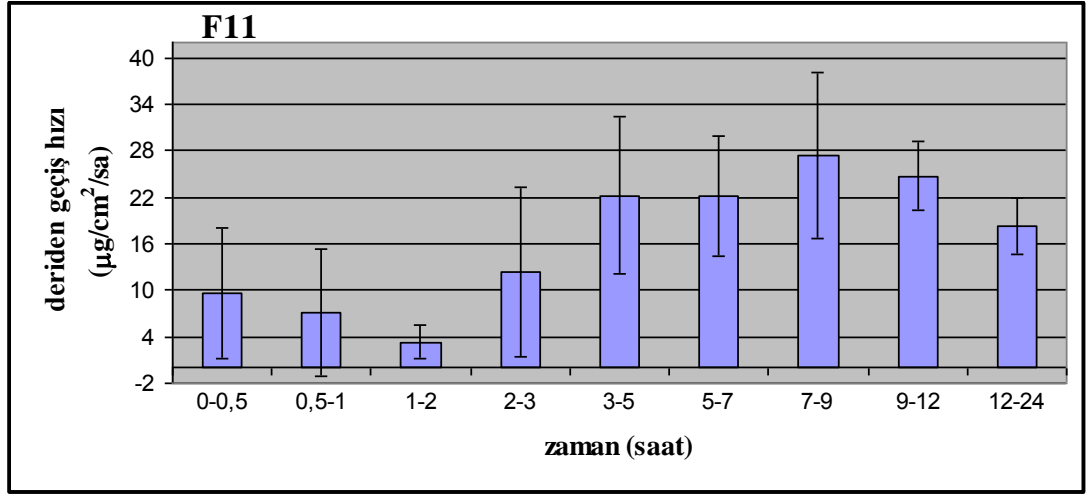
Şekil. 6.76. F5 formülasyonunun deriden geçiş hızı

Tablo 6.66. F11 formülasyonunun deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (saat)	Deriden yığılmalı geçen miktar ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD (\pm)	Deriden geçiş hızı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{sa}$)	SD (\pm)
0.5	4.829	4.222	9.657	8.443
1	8.409	2.877	7.161	8.277
2	11.728	4.661	3.319	2.195
3	23.986	15.046	12.257	10.945
5	68.460	35.103	22.237	10.117
7	112.785	50.736	22.162	7.817
9	167.661	72.082	27.438	10.764
12	241.938	83.730	24.759	4.472
24	462.671	126.408	18.394	3.643



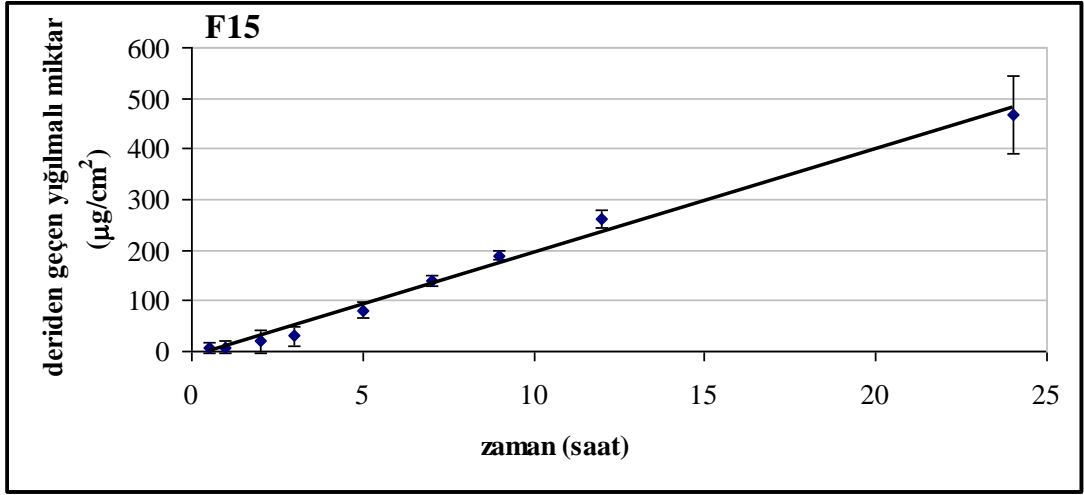
Şekil. 6.77. F11 formülasyonunun deriden zamana karşı geçen yığılmalı miktarı



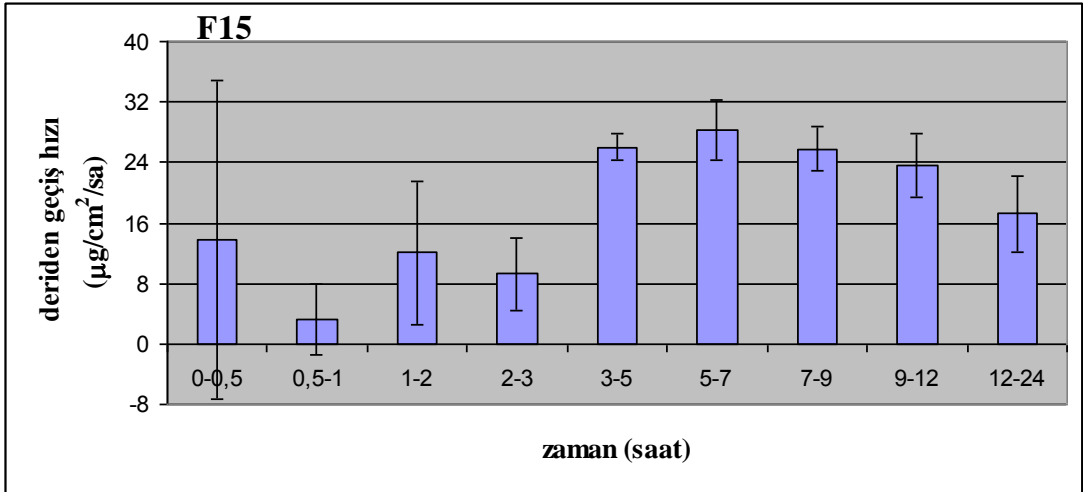
Şekil. 6.78. F11 formülasyonunun deriden geçiş hızı

Tablo 6.67. F15 formülasyonunun deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (saat)	Deriden yığılmalı geçen miktar (µg/cm ²)	SD (±)	Deriden geçiş hızı (µg/cm ² /sa)	SD (±)
0.5	6.891	10.587	13.782	21.175
1	8.506	12.969	3.229	4.767
2	20.555	22.421	12.050	9.452
3	29.771	18.112	9.216	4.723
5	81.730	17.167	25.980	1.769
7	138.277	10.116	28.273	4.063
9	189.816	9.768	25.769	2.878
12	260.935	17.753	23.706	4.197
24	467.940	76.040	17.250	5.024



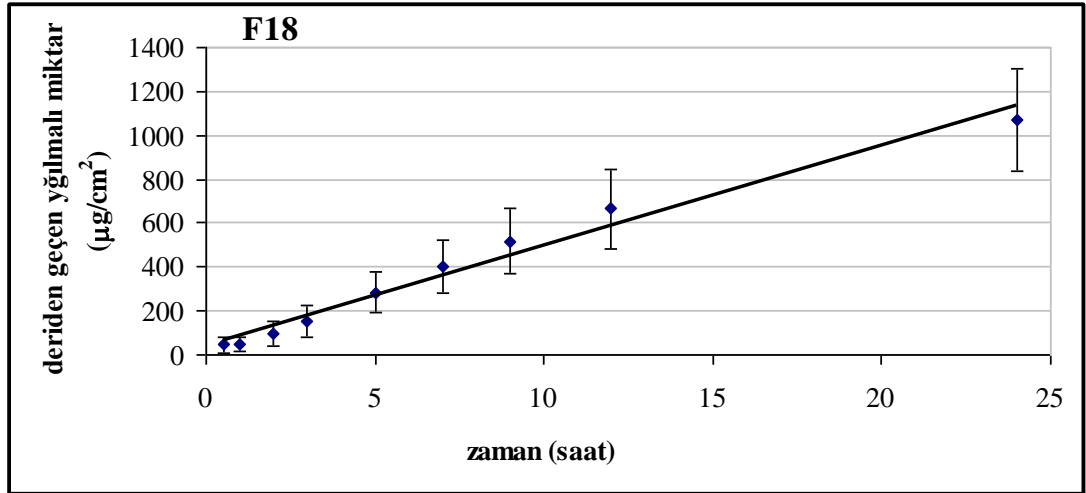
Şekil. 6.79. F15 formülasyonunun deriden zamana karşı geçen yağlımlı miktarı



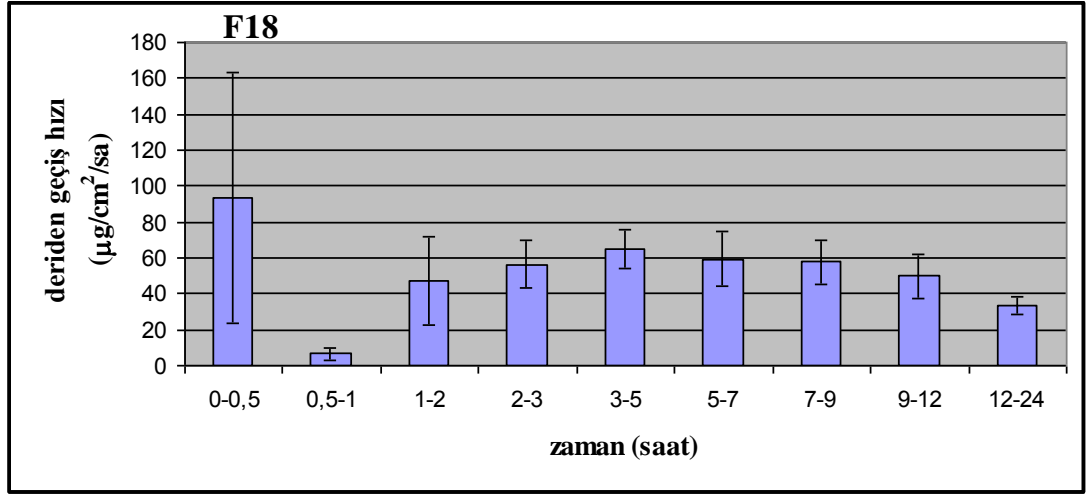
Şekil. 6.80. F15 formülasyonunun deriden geçiş hızı

Tablo 6.68. F18 formülasyonunun deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (saat)	Deriden yığılmalı geçen miktar ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD (\pm)	Deriden geçiş hızı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{sa}$)	SD (\pm)
0.5	46.886	34.986	93.771	69.973
1	50.182	33.215	6.593	3.549
2	97.327	57.190	47.145	24.268
3	153.542	70.609	56.215	13.425
5	282.816	92.072	64.637	10.769
7	401.419	122.327	59.302	15.480
9	516.896	147.064	57.738	12.372
12	665.976	180.392	49.694	11.967
24	1067.893	234.070	33.493	4.477



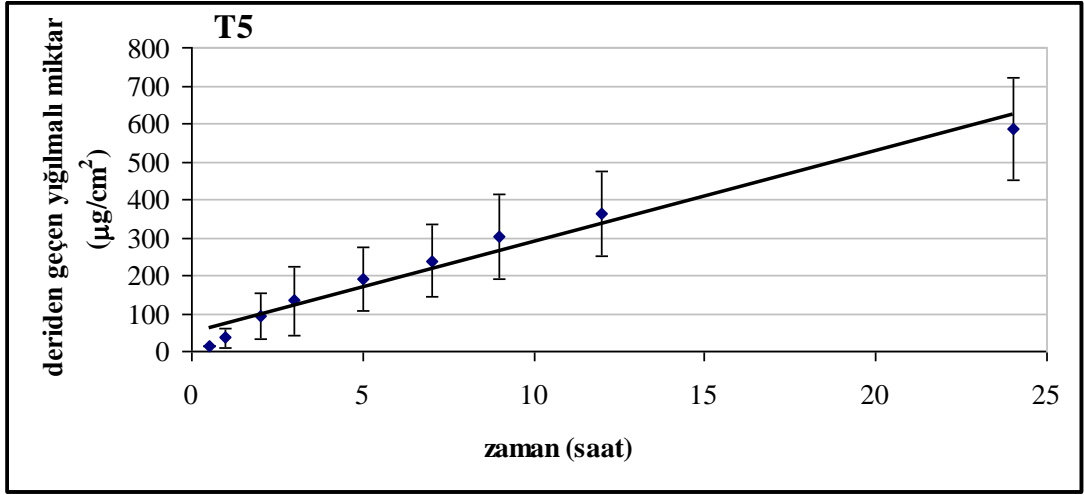
Şekil. 6.81. F18 formülasyonunun deriden zamana karşı geçen yığılmalı miktarı



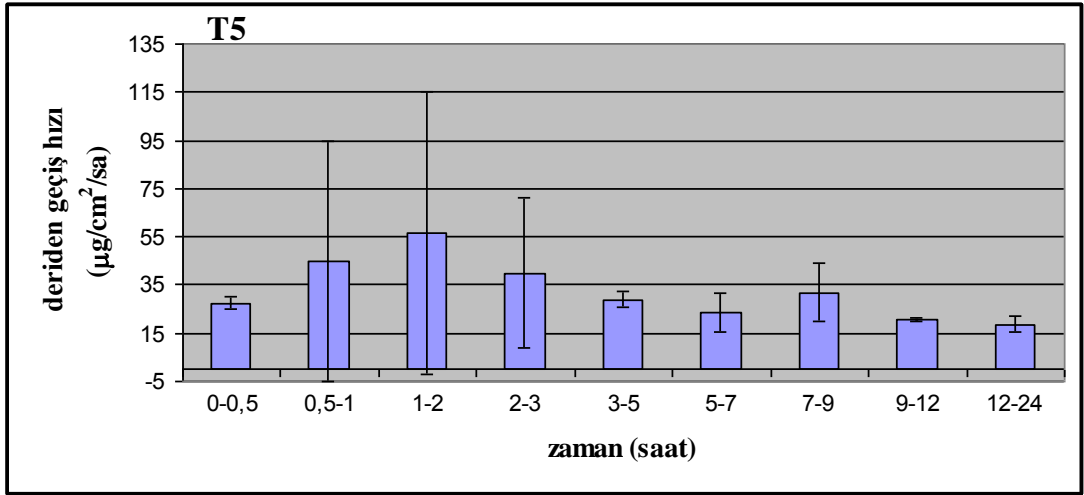
Şekil. 6.82. F18 formülasyonunun deriden geçiş hızı

Tablo 6.69. T5 formülasyonunun deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (saat)	Deriden yığılmalı geçen miktar (µg/cm ²)	SD (±)	Deriden geçiş hızı (µg/cm ² /sa)	SD (±)
0.5	13.759	1.340	27.518	2.679
1	36.277	26.238	45.037	49.814
2	92.783	61.764	56.506	58.676
3	132.784	89.714	40.001	31.275
5	190.631	83.804	28.923	3.285
7	237.904	95.672	23.637	7.914
9	301.316	111.603	31.706	12.113
12	363.234	112.890	20.640	0.937
24	587.751	134.563	18.710	3.283



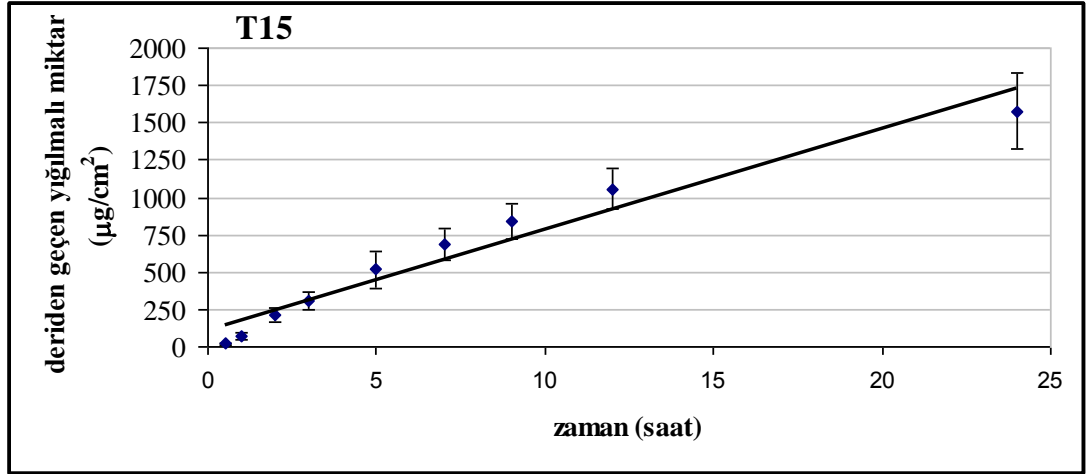
Şekil. 6.83. T5 formülasyonunun deriden zamana karşı geçen yığılmalı miktarı



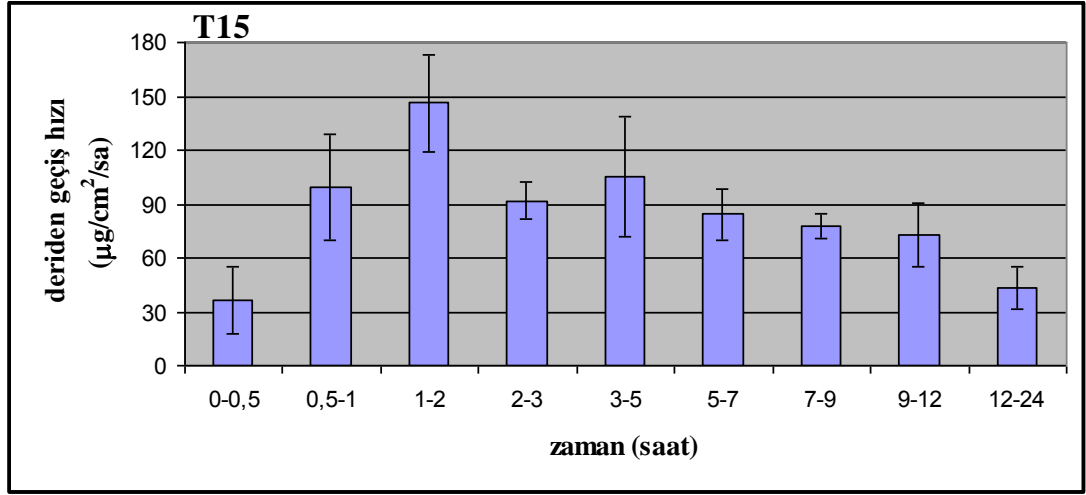
Şekil. 6.84. T5 formülasyonunun deriden geçiş hızı

Tablo 6.70. T15 formülasyonunun deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (saat)	Deriden yığılmalı geçen miktar ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	SD (\pm)	Deriden geçiş hızı ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{sa}$)	SD (\pm)
0.5	18.008	9.310	36.017	18.621
1	67.770	23.197	99.523	29.482
2	213.967	50.177	146.197	27.204
3	305.856	60.106	91.888	10.395
5	516.406	121.576	105.275	33.472
7	684.797	104.693	84.195	14.241
9	839.934	114.979	77.569	6.582
12	1057.851	138.074	72.639	17.378
24	1576.587	253.405	43.228	11.959



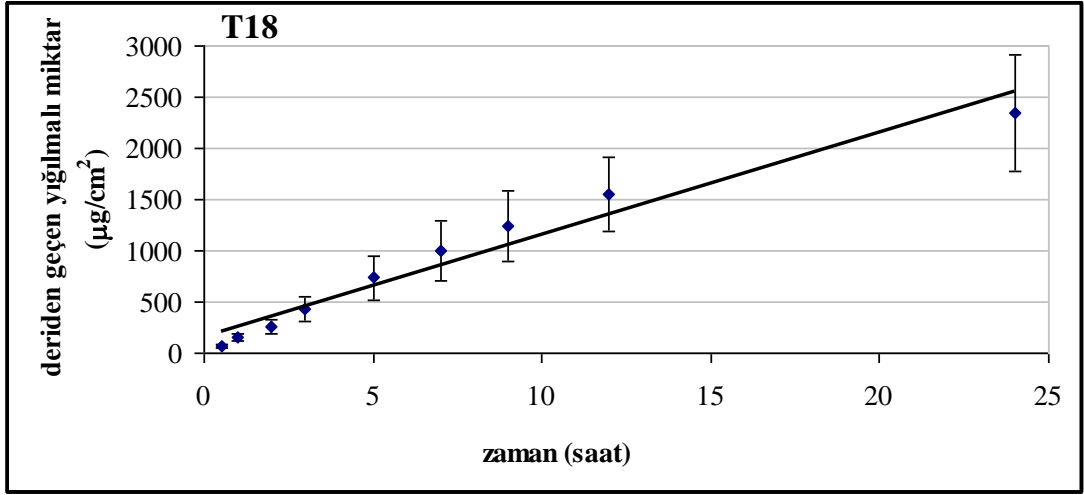
Şekil. 6.85. T15 formülasyonunun deriden zamana karşı geçen yığılmalı miktarı



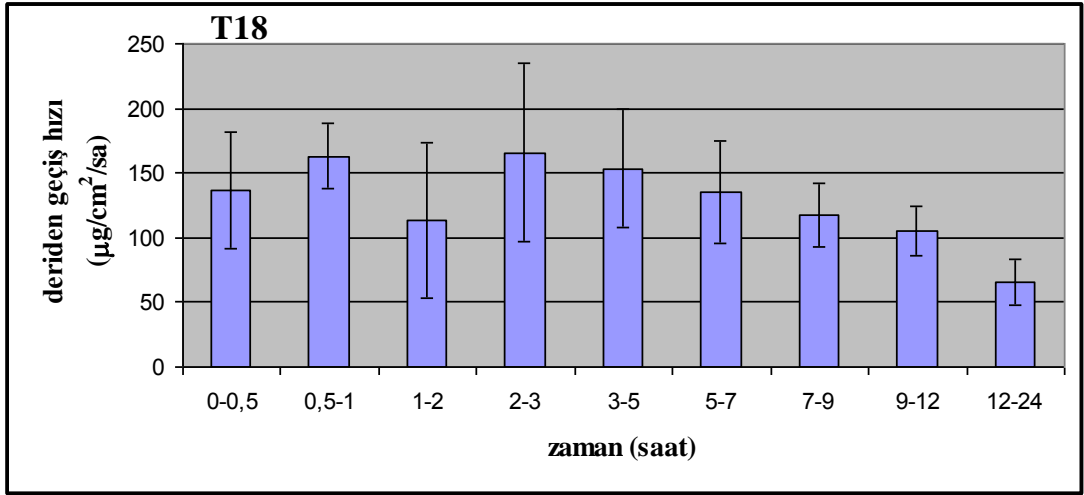
Şekil. 6.86. T15 formülasyonunun deriden geçiş hızı

Tablo 6.71. T18 formülasyonunun deriden geçen yığılmalı miktarları, deriden geçiş hızları ve bunlara ait standart sapma değerleri

Zaman (saat)	Deriden yığılmalı geçen miktar (µg/cm ²)	SD (±)	Deriden geçiş hızı (µg/cm ² /sa)	SD (±)
0.5	68.456	22.732	136.911	45.463
1	149.909	33.038	162.906	25.571
2	262.887	70.717	112.979	60.294
3	428.724	121.993	165.836	69.402
5	735.745	213.443	153.510	46.101
7	1006.734	291.581	135.495	39.794
9	1241.000	338.632	117.133	24.385
12	1556.370	360.001	105.123	18.768
24	2342.568	565.885	65.517	17.575



Şekil. 6.87. T18 formülasyonunun deriden zamana karşı geçen yağlımlı miktarı



Şekil. 6.88. T18 formülasyonunun deriden geçiş hızı

Tablo 6.72. Formülasyonların kararlı hal deriden geçiş hızları, standart sapmaları ve determinasyon katsayıları

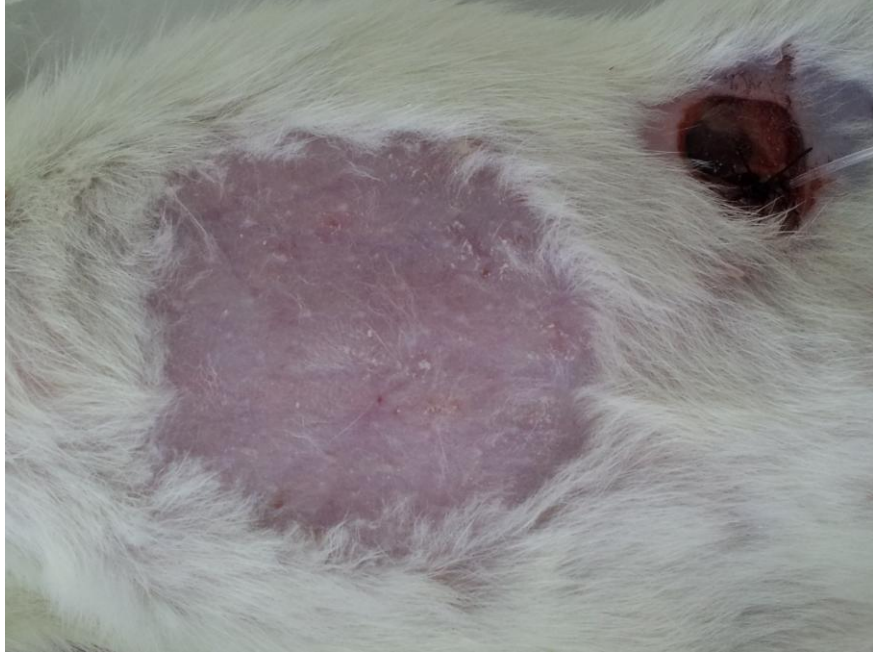
Formülasyon	Kararlı hal deriden geçiş hızı (Jss) (mg/cm ² /sa)	SD (±)	Determinasyon katsayısı (r ²)
20 mg BH	48.840	11.234	0.995
100 mg BH	273.933	11.114	0.999
F5	29.978	6.072	0.986
T5	24.066	4.948	0.970
F11	20.343	5.667	0.993
F15	20.605	2.364	0.990
T15	67.150	9.795	0.951
F18	45.472	8.967	0.978
T18	99.291	24.333	0.959

6.3.5.6. Betahistin baz ile hazırlanan formülasyonlarda sıçan derisinden *in vivo* geçiş çalışmaları hakkında bulgular

Yöntem 5.2.3.5.G’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen *in vivo* geçiş çalışmaları sonucunda elde edilen numuneler Yöntem 5.2.2.4.C’de anlatıldığı gibi analiz edildi. Elde edilen sonuçlar tablolar ve grafikler halinde gösterildi.

Transdermal yama yapıştırılmadan önce derinin görüntüsü Resim 6.14’de, yapıştırıldıktan sonraki Resim 6.15’de, çıkarıldıktan sonraki görüntüsü de Resim 6.16’da gösterildi.

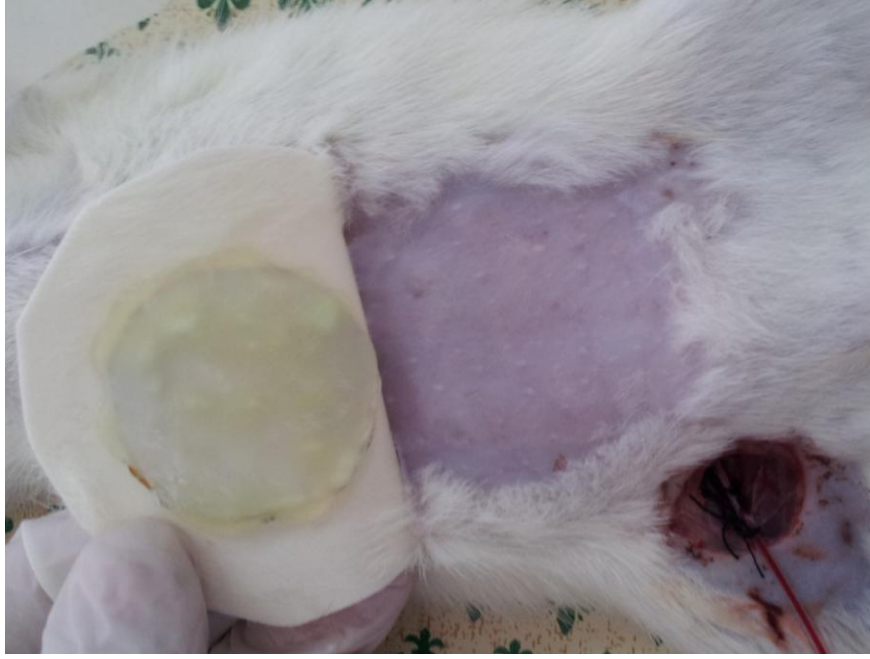
Transdermal uygulama yapılan T15 ve T18 nolu formülasyonların 24. saatte alınan kanlardaki analiz sonucunda elde edilen kromatogramlar sırasıyla Şekil 6.89 ve Şekil 6.90’da verildi.



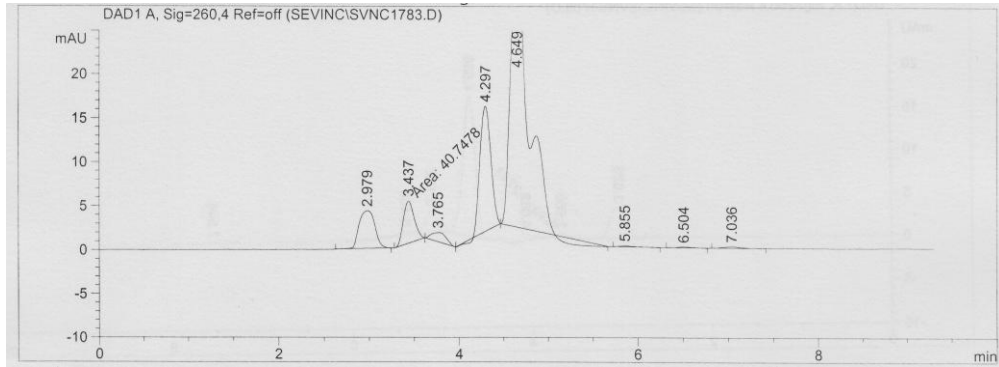
Resim 6.14. Yama yapışmadan önce sıçanın karın derisinin görüntüsü



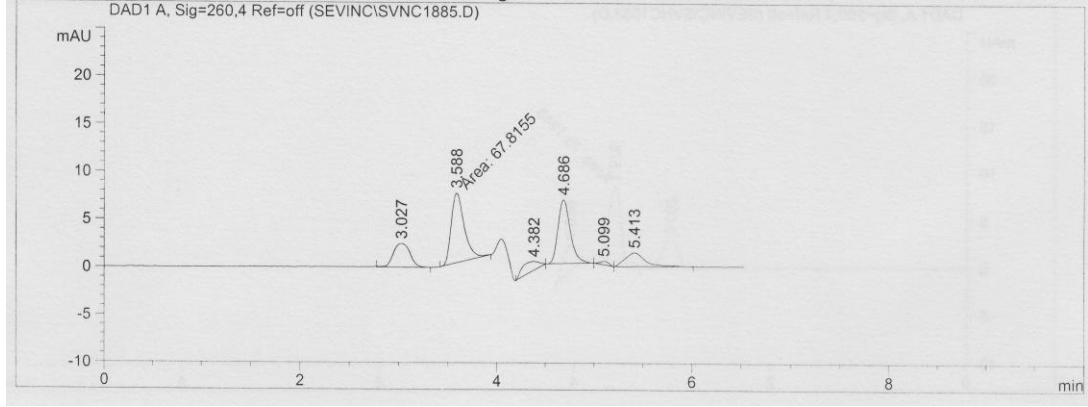
Resim 6.15. Transdermal yama sıçan derisine yapıştırıldığındaki görüntü



Resim 6.16. Transdermal yama çıkarıldıktan sonra derinin görüntüsü



Şekil 6.89. T 15 nolu formülasyon 24. saat numunesi kromatogramı
(Retansiyon zamanı: 3.4 dakika)



Şekil 6.90. T 18 nolu formülasyon 24. saat numunesi kromatogramı
(Retansiyon zamanı: 3.5 dakika)

Tablo 6.73. IV verilmiş sonrası elde edilen veriler

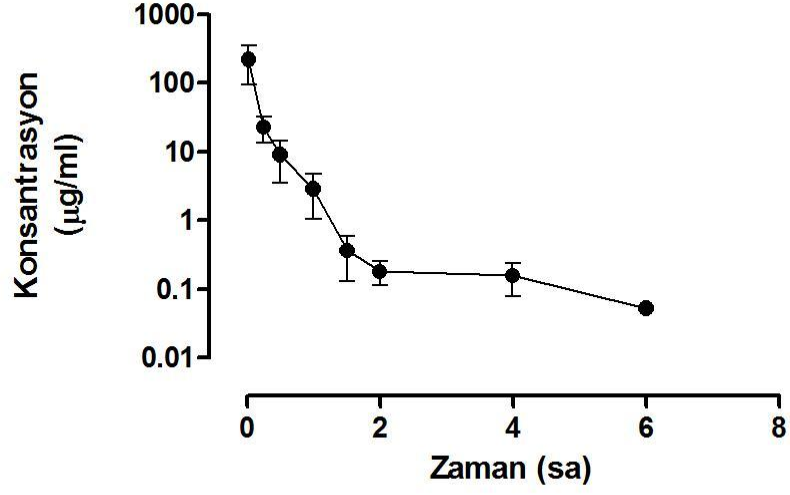
Intravenöz grubu	5mg/ kg uygulandı			
	Hayvan kodları ve Elde edilen konsantrasyonlar (µg/ml)			
Kan alma dakikaları	IV 1	IV 2	IV 3	IV 4
1	339.152	0.231	532.180	20.139
15	0.814	37.064	40.117	14.454
30	0.201	22.878	12.826	0.299
60	0.056	7.887	3.539	0.087
90	0.042	0.340	1.034	0.045
120	0.035	0.245	0.344	0.101
240	0.025	0.262	0.319	0.022
360	0.051	0.083	0.028	0.050

Tablo 6.74. T 15 nolu formülasyonun uygulanmasından sonra elde edilen veriler

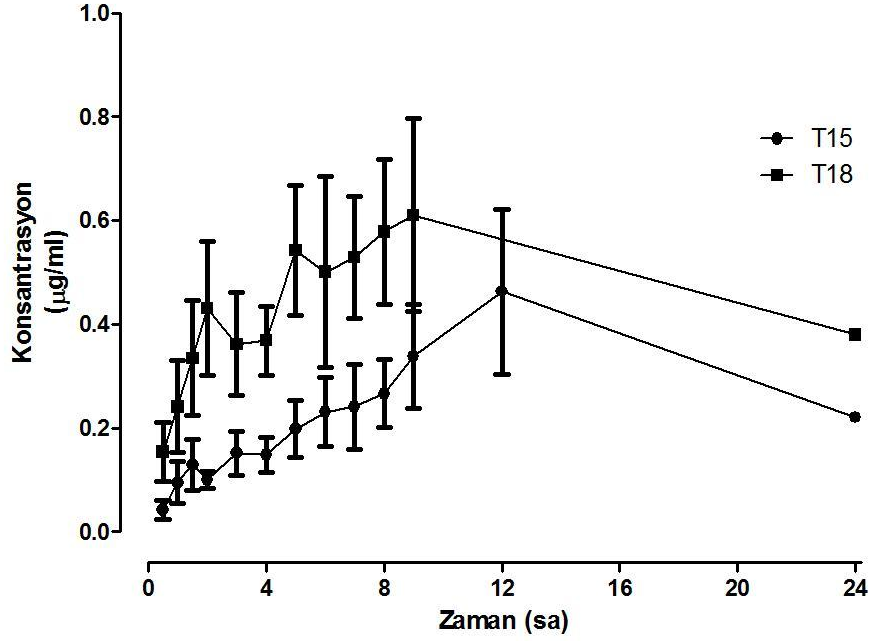
T15 nolu formülasyon	Bu formülasyonların içinde 100 mg betahistin baz vardır			
Hayvan kodları ve elde edilen konsantrasyonlar (µg/ml)				
Kan alma saatleri	T15 1	T15 2	T15 3	T15 4
0.5	0.027	0.098	0.028	0.018
1	0.061	0.215	0.071	0.033
1.5	0.088	0.276	0.091	0.064
2	0.117	0.276	0.116	0.069
3	0.177	0.271	0.145	0.075
4	0.188	0.213	0.135	0.059
5	0.259	0.307	0.168	0.059
6	0.269	0.399	0.171	0.087
7	0.213	0.474	0.194	0.084
8	0.330	0.405	0.226	0.106
9	0.511	0.500	0.243	0.102
12	0.740	0.738	0.201	0.176
24	-	-	0.221	-

Tablo 6.75. T 18 nolu formülasyonun uygulanmasından sonra elde edilen veriler

T18 nolu formülasyon					
		Bu formülasyonların içinde 200 mg betahistin baz vardır			
Hayvan kodları ve elde edilen konsantrasyonlar (µg/ml)					
Kan alma saatleri	T18 1	T18 2	T18 3	T18 4	
0.5	0.185	0.042	0.090	0.300	
1	0.222	0.120	0.126	0.499	
1.5	0.352	0.131	0.218	0.639	
2	0.457	0.232	0.250	0.784	
3	0.372	0.183	0.257	0.635	
4	0.487	0.226	0.287	0.475	
5	0.640	0.260	0.433	0.839	
6	0.489	0.177	0.317	1.022	
7	0.695	0.290	0.368	0.766	
8	0.738	0.298	0.392	0.887	
9	0.544	0.303	0.448	1.149	
12	-	-	-	-	
24	-	-	0.380	-	



Şekil 6.91 IV uygulama sonrası elde edilen kan profili (n=4)



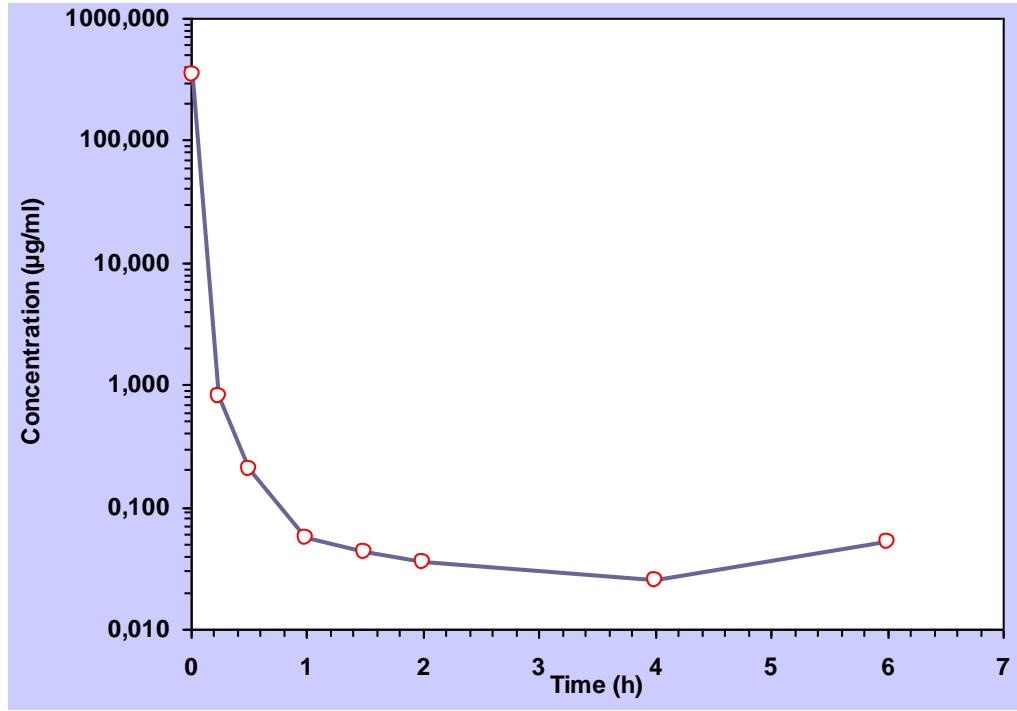
Şekil 6.92. Transdermal uygulamalar sonrası elde edilen kan profilleri (n=4)

Tablo 6.76. IV 1 uygulamasının verileri

Zaman (saat)	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	$\ln(C)$	AUC	AUMC	R	R_adj
0.02	339.152	5.826	9.122	0.068	-0.533	0.165
0.25	0.814	-0.206	48.218	0.871	-0.575	0.197
0.5	0.201	-1.604	48.345	0.909	-0.475	0.032
1	0.056	-2.882	48.409	0.948	-0.132	-0.310
1.5	0.042	-3.170	48.434	0.978	0.233	-0.418
2	0.035	-3.352	48.453	1.011	0.528	-0.443
4	0.025	-3.689	48.513	1.181		
6	0.051	-2.976	48.589	1.587		

Tablo 6.77. IV 1 uygulamasının kinetik parametreleri

Parametre	Birim	Değer
Lambda_z	1/h	0.336
t1/2	h	2.062
Tmax	h	0.020
Cmax	$\mu\text{g/ml}$	339.152
C0	$\mu\text{g/ml}$	573.060
Clast_obs/Cmax		0.000
AUC 0-t	$\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$	48.589
AUC 0-inf_obs	$\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$	48.741
AUC 0-t/0-inf_obs		0.997
AUMC 0-inf_obs	$\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}^2$	2.949
MRT 0-inf_obs	h	0.061
Vz_obs	(mg)/($\mu\text{g/ml}$)	0.076
Cl_obs	(mg)/($\mu\text{g/ml}$)/h	0.026
Vss_obs	(mg)/($\mu\text{g/ml}$)	0.002



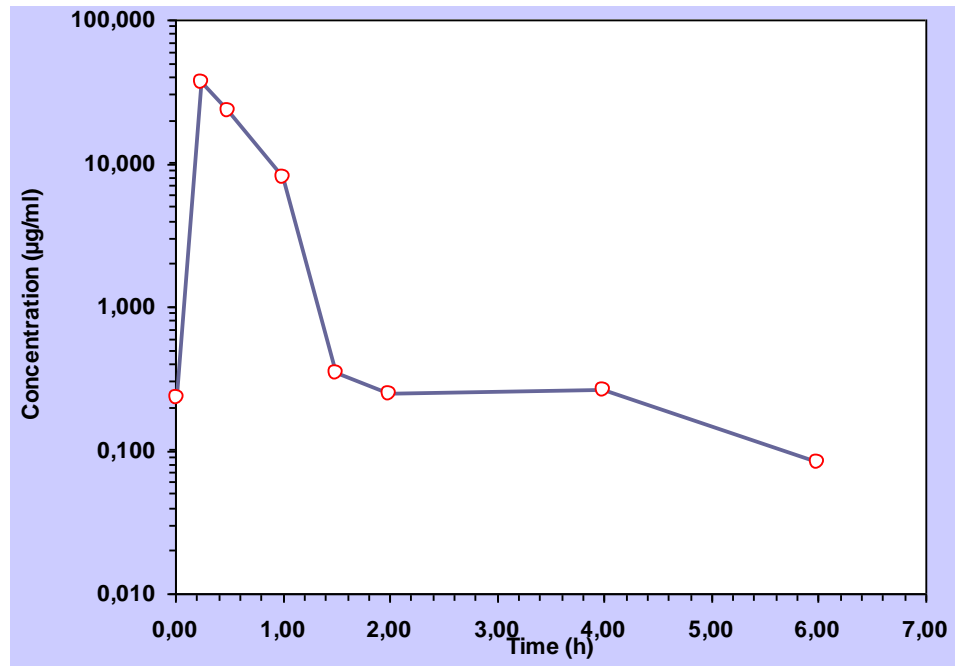
Şekil 6.93. IV 1 uygulamasının yarı logaritmik grafiği

Tablo 6.78. IV 2 uygulamasının verileri

Zaman (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	ln(C)	AUC	AUMC	R	R_adj
0.02	0.231	-1.465	0.005	0.000		
0.25	37.064	3.613	4.294	1.066	-0.817	0.601
0.5	22.878	3.130	11.786	3.654	-0.780	0.511
1	7.878	2.064	19.475	8.484	-0.726	0.370
1.5	0.340	-1.079	21.530	10.581	-0.888	0.682
2	0.245	-1.406	21.676	10.831	-0.839	0.407
4	0.262	-1.339	22.183	12.369		
6	0.083	-2.489	22.528	13.915		

Tablo 6.79. IV 2 uygulamasının kinetik parametreleri

Parametre	Birim	Değer
Lambda_z	1/h	0.269
t1/2	h	2.576
Tmax	h	0.250
Cmax	µg/ml	37.064
C0	µg/ml	0.231
Clast_obs/Cmax		0.002
AUC 0-t	µg/ml*h	22.528
AUC 0-inf_obs	µg/ml*h	22.837
AUC 0-t/0-inf_obs		0.986
AUMC 0-inf_obs	µg/ml*h ²	16.912
MRT 0-inf_obs	h	0.741
Vz_obs	(mg)/(µg/ml)	0.203
Cl_obs	(mg)/(µg/ml)/h	0.055
Vss_obs	(mg)/(µg/ml)	0.041



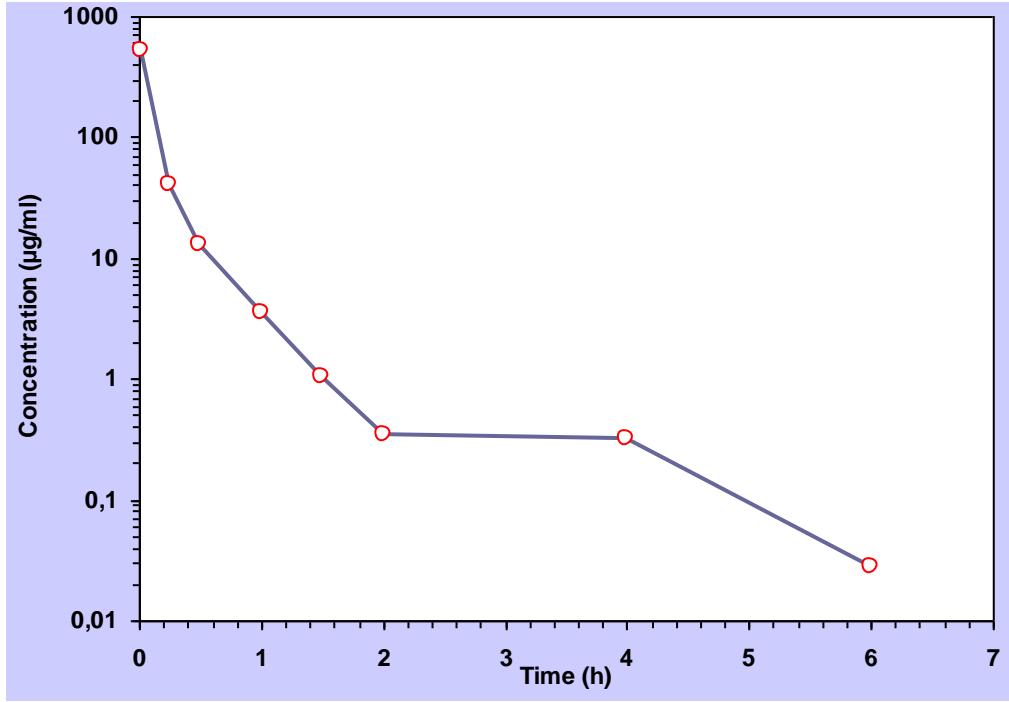
Şekil 6.94. IV 2 uygulamasının yarı logaritmik grafiği

Tablo 6.80. IV 3 uygulamasının verileri

Zaman (saat)	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	$\ln(C)$	AUC	AUMC	R	R_adj
0.02	532.18	6.277	11.985	0.106	-0.874	0.725
0.25	40.117	3.692	77.799	2.484	-0.918	0.811
0.5	12.826	2.551	84.417	4.539	-0.927	0.825
1	3.539	1.264	88.508	7.027	-0.932	0.825
1.5	1.034	0.033	89.652	8.300	-0.925	0.785
2	0.344	-1.067	89.996	8.859	-0.879	0.545
4	0.319	-1.143	90.659	10.823		
6	0.028	-3.576	91.006	12.267		

Tablo 6.81. IV 3 uygulamasının kinetik parametreleri

Parametre	Birim	Değer
Lambda_z	1/h	0.804
t1/2	h	0.862
Tmax	h	0.020
Cmax	$\mu\text{g/ml}$	532.180
C0	$\mu\text{g/ml}$	666.327
Clast_obs/Cmax		0.000
AUC 0-t	$\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$	91.006
AUC 0-inf_obs	$\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$	91.041
AUC 0-t/0-inf_obs		1.000
AUMC 0-inf_obs	$\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}^2$	12.520
MRT 0-inf_obs	h	0.138
Vz_obs	(mg)/($\mu\text{g/ml}$)	0.018
Cl_obs	(mg)/($\mu\text{g/ml}$)/h	0.015
Vss_obs	(mg)/($\mu\text{g/ml}$)	0.002



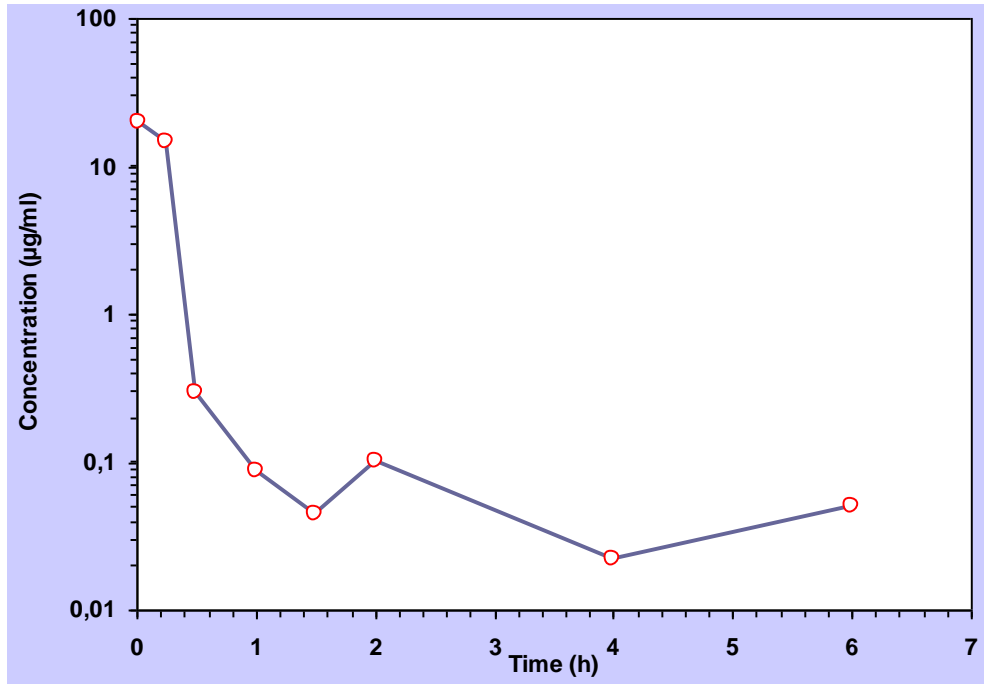
Şekil 6.95. IV 3 uygulamasının yarı logaritmik grafiği

Tablo 6.82. IV 4 uygulamasının verileri

Zaman (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	ln(C)	AUC	AUMC	R	R_adj
0.02	20.139	3.003	0.409	0.004	-0.657	0.337
0.25	14.454	2.671	4.387	0.466	-0.593	0.221
0.5	0.299	-1.207	6.231	0.936	-0.632	0.250
1	0.087	-2.442	6.327	0.995	-0.486	-0.018
1.5	0.045	-3.101	6.360	1.034	-0.333	-0.333
2	0.101	-2.293	6.397	1.101	-0.461	-0.575
4	0.022	-3.817	6.520	1.391		
6	0.05	-2.996	6.592	1.779		

Tablo 6.83. IV 4 uygulamasının kinetik parametreleri

Parametre	Birim	Değer
Lambda_z	1/h	0.834
t1/2	h	0.831
Tmax	h	0.020
Cmax	µg/ml	20.139
C0	µg/ml	20.728
Clast_obs/Cmax		0.002
AUC 0-t	µg/ml*h	6.592
AUC 0-inf_obs	µg/ml*h	6.652
AUC 0-t/0-inf_obs		0.991
AUMC 0-inf_obs	µg/ml*h ²	2.211
MRT 0-inf_obs	h	0.332
Vz_obs	(mg)/(µg/ml)	0.180
Cl_obs	(mg)/(µg/ml)/h	0.150
Vss_obs	(mg)/(µg/ml)	0.050



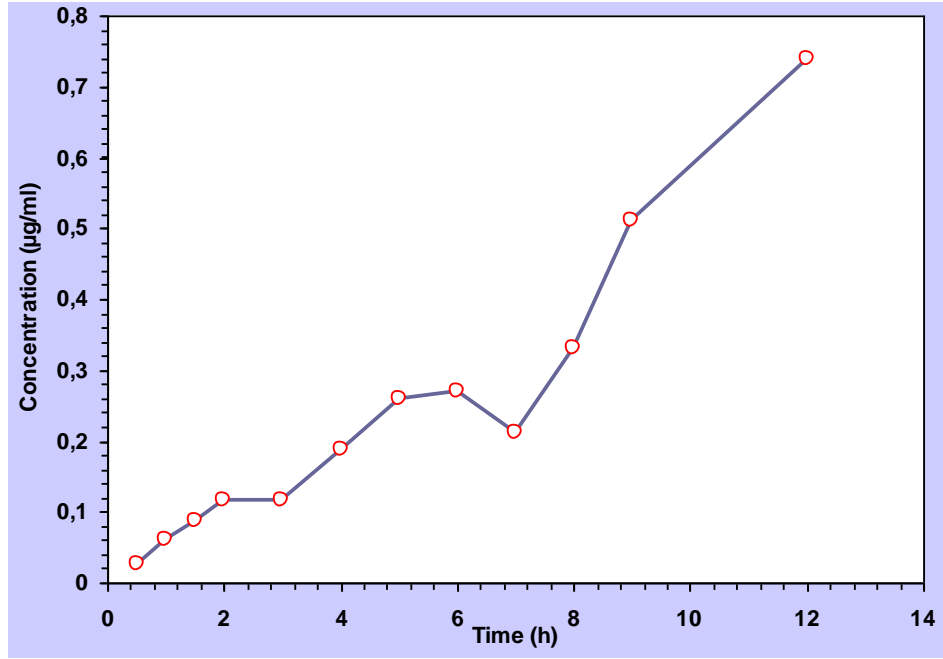
Şekil 6.96. IV 4 uygulamasının yarı logaritmik grafiği

Tablo 6.84. T15 1 uygulamasının verileri

Zaman (saat)	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	$\ln(C)$	AUC	AUMC
0.5	0.027	-3.612	0.007	0.003
1	0.061	-2.797	0.029	0.022
1.5	0.088	-2.430	0.066	0.070
2	0.117	-2.146	0.117	0.162
3	0.117	-2.146	0.234	0.454
4	0.188	-1.671	0.387	1.006
5	0.259	-1.351	0.610	2.029
6	0.269	-1.313	0.874	3.484
7	0.213	-1.546	1.115	5.036
8	0.33	-1.109	1.387	7.102
9	0.511	-0.671	1.807	10.721
12	0.74	-0.301	3.684	30.940

Tablo 6.85. T15 1 uygulamasının kinetik parametreleri

Parametre	Birim	Değer
Tmax	h	12
Cmax	$\mu\text{g/ml}$	0.74
Tlag	h	0
Clast_obs/Cmax		1
AUC 0-t	$\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$	3.684



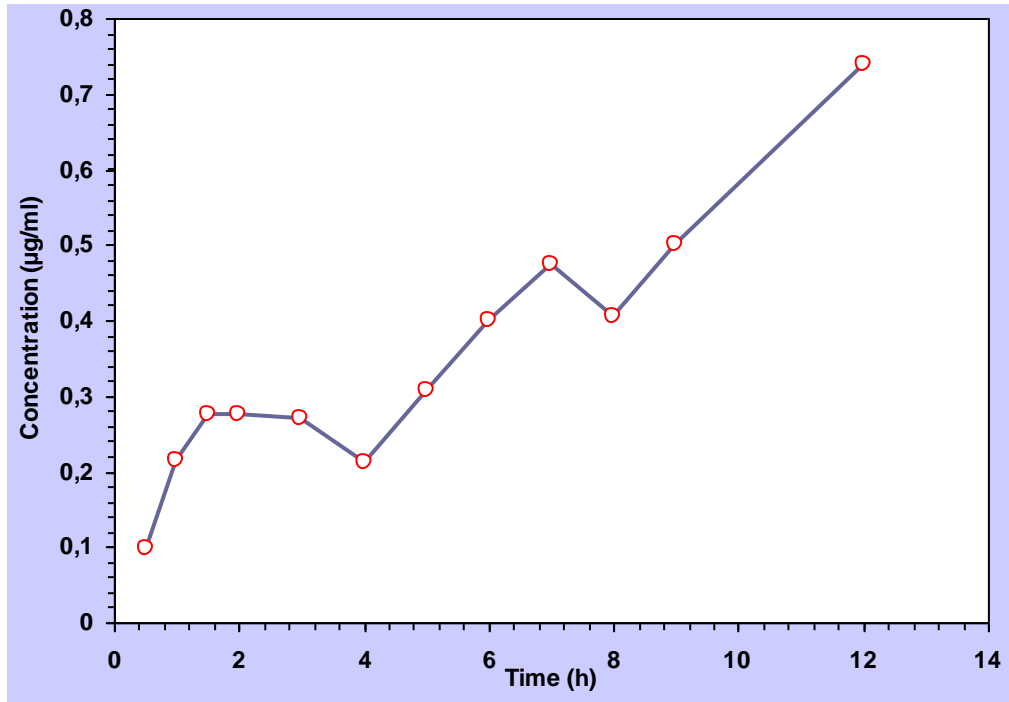
Şekil 6.97. T15 1 uygulamasının grafiği

Tablo 6.86. T15 2 uygulamasının verileri

Zaman (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	ln(C)	AUC	AUMC
0.5	0.098	-2.323	0.025	0.012
1	0.215	-1.537	0.103	0.078
1.5	0.276	-1.287	0.226	0.236
2	0.276	-1.287	0.364	0.477
3	0.271	-1.306	0.637	1.160
4	0.213	-1.546	0.879	1.992
5	0.307	-1.181	1.139	3.186
6	0.399	-0.919	1.492	5.150
7	0.474	-0.747	1.929	8.006
8	0.405	-0.904	2.368	11.285
9	0.5	-0.693	2.821	15.155
12	0.738	-0.304	4.678	35.189

Tablo 6.87. T15 2 uygulamasının kinetik parametreleri

Parametre	Birim	Değer
Tmax	h	12
Cmax	$\mu\text{g/ml}$	0.738
Tlag	h	0
Clast_obs/Cmax		1
AUC 0-t	$\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$	4.678



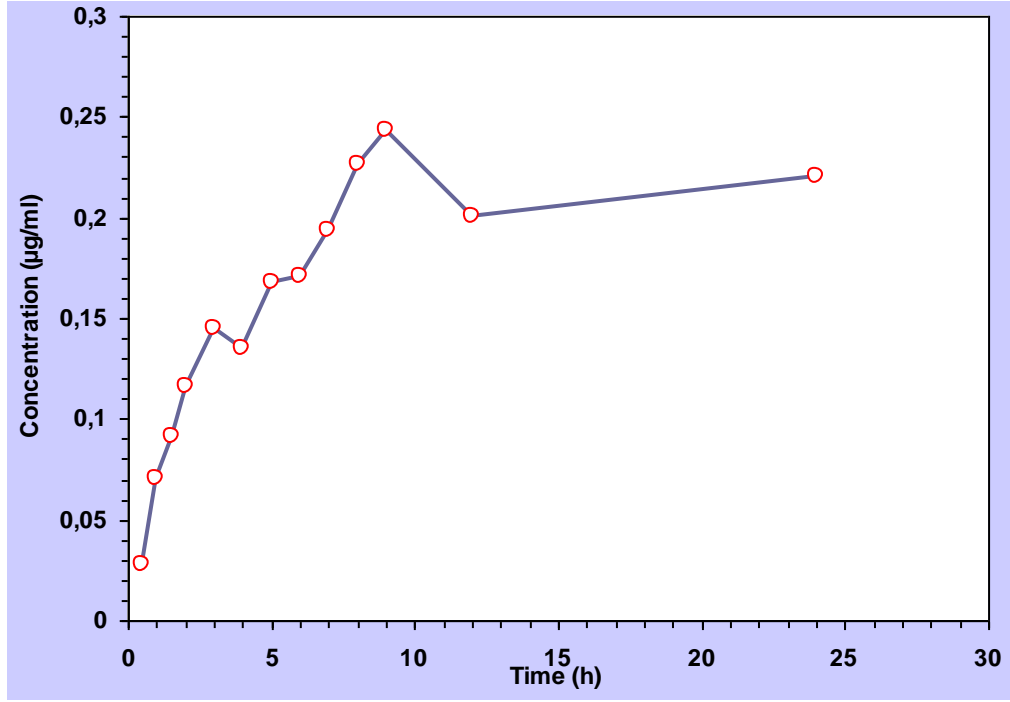
Şekil 6.98. T15 2 uygulamasının grafiği

Tablo 6.88. T15 3 uygulamasının verileri

Zaman (saat)	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	$\ln(C)$	AUC	AUMC	R	R_adj
0.5	0.028	-3.576	0.007	0.004		
1	0.071	-2.645	0.032	0.025		
1.5	0.091	-2.397	0.072	0.077		
2	0.116	-2.154	0.124	0.169		
3	0.145	-1.931	0.255	0.502		
4	0.135	-2.002	0.395	0.990		
5	0.168	-1.784	0.546	1.680		
6	0.171	-1.766	0.716	2.613		
7	0.194	-1.640	0.898	3.805		
8	0.226	-1.487	1.108	5.388		
9	0.243	-1.415	1.343	7.385	-0.189	-0.928
12	0.201	-1.604	2.009	14.284		
24	0.221	-1.510	4.541	60.580		

Tablo 6.89. T15 3 uygulamasının kinetik parametreleri

Parametre	Birim	Değer
Lambda_z	1/h	0.002
t1/2	h	306.639
Tmax	h	9
Cmax	$\mu\text{g/ml}$	0.243
Tlag	h	0
Clast_obs/Cmax		0.909
AUC 0-t	$\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$	4.541
AUC 0-inf_obs	$\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$	102.308
AUC 0-t/0-inf_obs		0.044
AUMC 0-inf_obs	$\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}^2$	45657.904
MRT 0-inf_obs	h	446.280
Vz/F_obs	(mg)/($\mu\text{g/ml}$)	432.407
Cl/F_obs	(mg)/($\mu\text{g/ml}$)/h	0.977



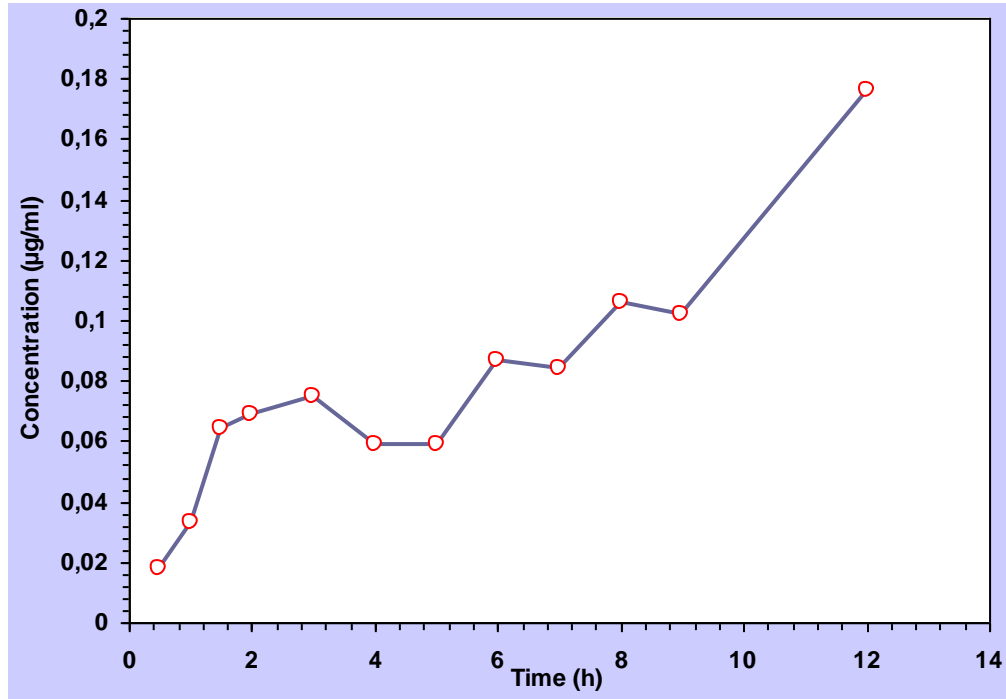
Şekil 6.99. T15 3 uygulamasının grafiği

Tablo 6.90. T15 4 uygulamasının verileri

Zaman (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	ln(C)	AUC	AUMC
0.5	0.018	-4.017	0.005	0.002
1	0.033	-3.411	0.017	0.013
1.5	0.064	-2.749	0.042	0.045
2	0.069	-2.674	0.075	0.104
3	0.075	-2.590	0.147	0.285
4	0.059	-2.830	0.214	0.516
5	0.059	-2.830	0.273	0.781
6	0.087	-2.442	0.346	1.190
7	0.084	-2.477	0.431	1.745
8	0.106	-2.244	0.526	2.463
9	0.102	-2.283	0.630	3.346
12	0.176	-1.737	1.047	7.891

Tablo 6.91. T 15 4 uygulamasının kinetik parametreleri

Parametre	Birim	Değer
Tmax	h	12
Cmax	$\mu\text{g/ml}$	0.176
Tlag	h	0
Clast_obs/Cmax		1
AUC 0-t	$\mu\text{g/ml}*\text{h}$	1.047



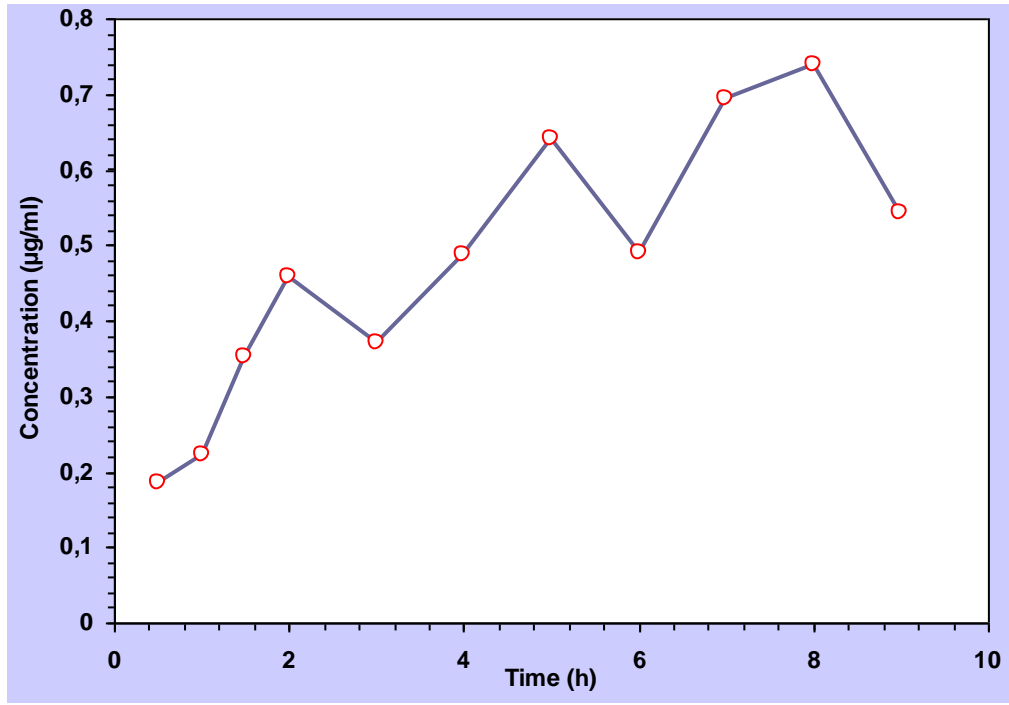
Şekil 6.100. T15 4 uygulamasının grafiği

Tablo 6.92. T18 1 uygulamasının verileri

Zaman (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	ln(C)	AUC	AUMC
0.5	0.185	-1.687	0.046	0.023
1	0.222	-1.505	0.148	0.102
1.5	0.352	-1.044	0.292	0.289
2	0.457	-0.783	0.494	0.650
3	0.372	-0.989	0.908	1.665
4	0.487	-0.719	1.338	3.197
5	0.64	-0.446	1.901	5.771
6	0.489	-0.715	2.466	8.838
7	0.695	-0.364	3.058	12.737
8	0.738	-0.304	3.774	18.122
9	0.544	-0.609	4.415	23.522

Tablo 6.93. T18 1 uygulamasının kinetik parametreleri

Parametre	Birim	Değer
Tmax	h	8
Cmax	µg/ml	0.738
Tlag	h	0
Clast_obs/Cmax		0.73712737
AUC 0-t	µg/ml*h	4.41525



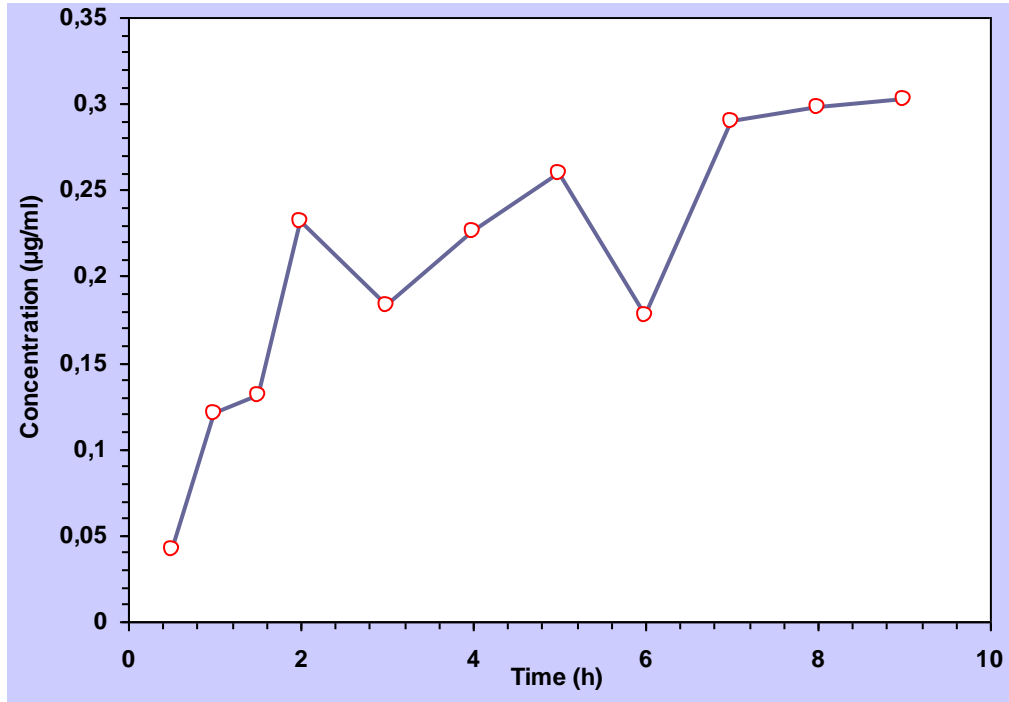
Şekil 6.101. T18 1 uygulamasının grafiği

Tablo 6.94. T18 2 uygulamasının verileri

Zaman (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	ln(C)	AUC	AUMC
0.5	0.042	-3.170	0.011	0.005
1	0.12	-2.120	0.051	0.041
1.5	0.131	-2.033	0.114	0.120
2	0.232	-1.461	0.205	0.285
3	0.183	-1.698	0.412	0.791
4	0.226	-1.487	0.617	1.518
5	0.26	-1.347	0.860	2.620
6	0.177	-1.732	1.078	3.801
7	0.29	-1.238	1.312	5.347
8	0.298	-1.211	1.606	7.554
9	0.303	-1.194	1.906	10.109

Tablo 6.95. T18 2 uygulamasının kinetik parametreleri

Parametre	Birim	Değer
Tmax	h	9
Cmax	$\mu\text{g/ml}$	0.303
Tlag	h	0
Clast_obs/Cmax		1
AUC 0-t	$\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$	1.906



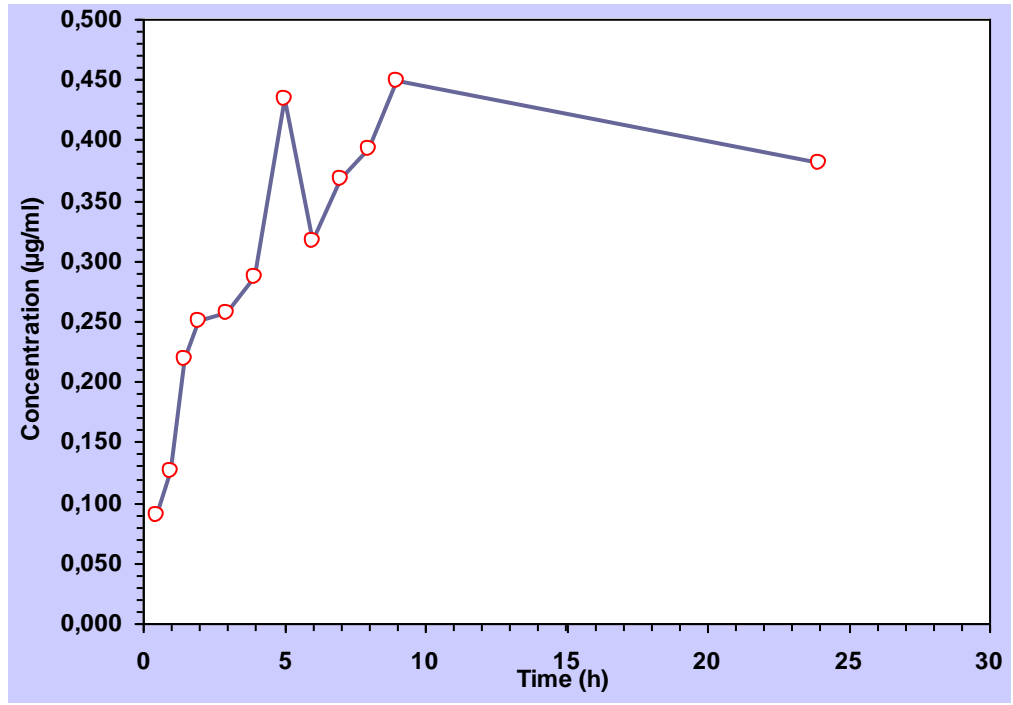
Şekil 6.102. T18 2 uygulamasının grafiği

Tablo 6.96. T18 3 uygulamasının verileri

Zaman (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	ln(C)	AUC	AUMC
0.5	0.090	-2.408	0.023	0.011
1	0.126	-2.071	0.077	0.054
1.5	0.218	-1.523	0.163	0.167
2	0.250	-1.386	0.280	0.374
3	0.257	-1.359	0.533	1.010
4	0.287	-1.248	0.805	1.969
5	0.433	-0.837	1.165	3.626
6	0.317	-1.149	1.540	5.659
7	0.368	-1.000	1.883	7.898
8	0.392	-0.936	2.263	10.754
9	0.448	-0.803	2.683	14.338
24	0.380	-0.968	8.893	112.978

Tablo 6.97. T 18 3 uygulamasının kinetik parametreleri

Parametre	Birim	Değer
Tmax	h	9
Cmax	µg/ml	0.448
Tlag	h	0
Clast_obs/Cmax		0.848
AUC 0-t	µg/ml*h	8.893



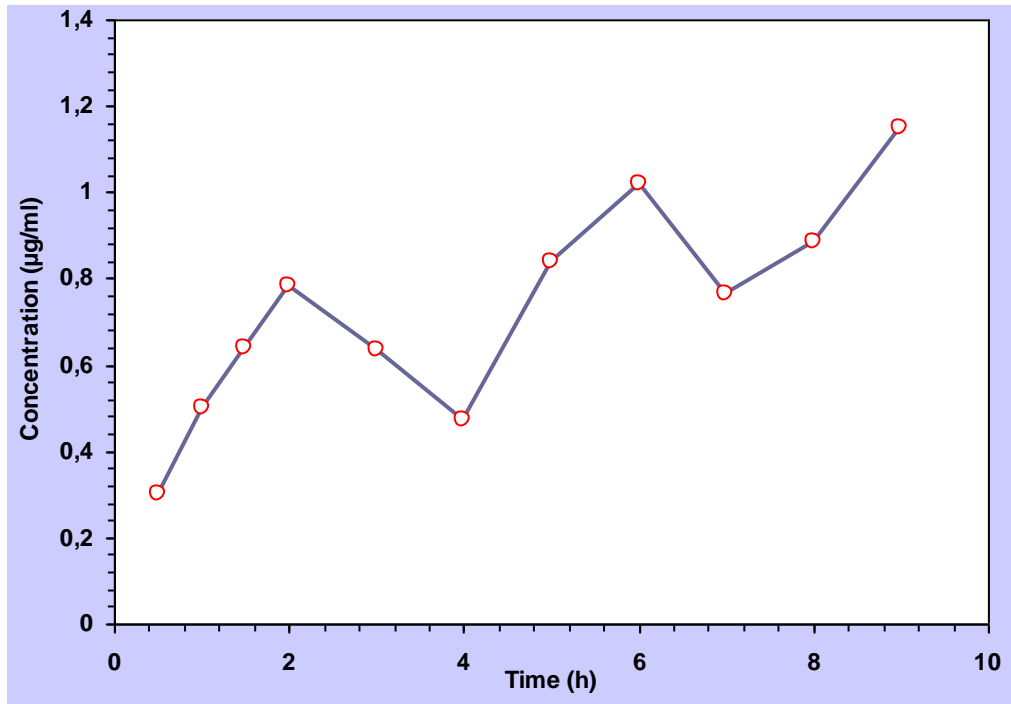
Şekil 6.103. T18 3 uygulamasının grafiği

Tablo 6.98. T18 4 uygulamasının verileri

Zaman (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	ln(C)	AUC	AUMC
0.5	0.3	-1.204	0.075	0.038
1	0.499	-0.695	0.275	0.200
1.5	0.639	-0.448	0.559	0.564
2	0.784	-0.243	0.915	1.196
3	0.635	-0.454	1.625	2.932
4	0.475	-0.744	2.180	4.835
5	0.839	-0.176	2.837	7.882
6	1.022	0.022	3.767	13.046
7	0.766	-0.267	4.661	18.793
8	0.887	-0.120	5.488	25.022
9	1.149	0.139	6.506	33.740

Tablo 6.99. T18 4 uygulamasının kinetik parametreleri

Parametre	Birim	Değer
Tmax	h	9
Cmax	$\mu\text{g/ml}$	1.149
Tlag	h	0
Clast_obs/Cmax		1
AUC 0-t	$\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$	6.506



Şekil 6.104. T18 4 uygulamasının grafiği

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Transdermal terapötik sistemler, sistemik dolaşıma ilaç geçişini kontrollü olarak sağlamak amacıyla deri yüzeyine uygulanan farmasötik dozaj şekilleridir. (41,42).

Bu sistemler parenteral veya oral yola göre daha etkili ve daha rahat uygulama sağlar. Girişimsel olmayan, ağrısız, basit bir uygulamadır ve bu sayede hasta uyuncunda artış sağlanır. Bu uygulama yolu ile dozlama sıklığı azalır, sabit kan seviyeleri uzun süre elde edilebilir, bununla birlikte yan etkiler de azalır. Etkin maddelerin ilk geçiş etkisine uğramadan sistemik dolaşıma geçmesi, oral yolla ilaç verilmesinin mümkün olmadığı durumlarda uygulamaya imkan vermesi, gastrointestinal sistemdeki değişkenlere (pH, besin ve sıvı alımı, mide boşalması, enzim faaliyetleri) maruz kalmaması, uygulandığı yerde 7 güne kadar kalabilmesi ve istenildiği anda vücuttan uzaklaştırılabilmesi gibi avantajlar sağlamaktadır (1,2,4,43,45).

İlaçların deri yoluyla uygulanması çok eski zamanlara dayanmaktadır. Enfeksiyonlara karşı topikal ilaçların veya hormonların sistemik etki amaçlı kullanımlarına dair 1940'lı yıllara ait belgeler vardır. Modern transdermal yama teknolojisi ise 1970'lerin sonlarına doğru geliştirilmiştir ve 1980 yılında Alza şirketi tarafından hareket hastalığı tedavisi için geliştirilerek kullanıma sunulan Transderm-Scop®, skopolamin içeren transdermal terapötik sistemdir (9,41).

Betahistin, *Ménière* hastalığında ve çeşitli nedenlerle oluşan baş dönmelerinde kullanılan ilk ilaçtır. Günlük dozu 24 mg ile 48 mg arasında olan betahistin kullanılışı günde üç sefer 8 veya 16 mg şeklindedir. Peptik ülser öyküsü olan hastalarda kontrendike olması, yaşlı hastalarda demansta kullanımı ve sık dozlama gerekliliği gibi nedenlerle ilacın oral yol dışında bir yolla verilmesi daha uygun olacaktır (83,91,105).

Betahistin dihidroklorür, molekül ağırlığının düşük olması (209.1), yarı ömrünün kısa olması (3-5 saat) ve günlük dozunun düşük olması (24 mg-48 mg) gibi özellikleri ile transdermal terapötik sistemler için iyi bir adaydır. Ayrıca betahistin baz formunun sıvı bir madde olması (erime derecesi <200°C), molekül ağırlığının tuz

formuna göre daha düşük olması (136.1) böyle bir formülasyon hazırlamak için önemli avantajlardandır.

Betahistin dihidroklorürün oral yolla uygulanan uzun etkili formülasyonları hazırlanmış fakat bunların çoğunun sadece 8 saat uzatılmış etki gösterebildiği görülmüştür (124 -126).

Shamma ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise betahistin dihidroklorürün uzun etkili oral multipartiküler dozaj formu hazırlanmış ve sonuçta *in vitro* çalışmalarla günde tek sefer alınabileceği belirtilmiştir (123).

1990'lı yıllarda ise Ogiso ve arkadaşları tarafından betahistin deriden geçişiyle ilgili bazı çalışmalar yapılmış, ancak bu çalışmalarda yarı katı formülasyonlar denenmiştir (109,114,115).

Heda ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları çalışmada betahistin bazın adezif tipte yama formülasyonları hazırlanmış ve *in vitro* kobay derisinden geçiş çalışmaları yapılmıştır (127).

Mikroemülsiyon hazırlanarak betahistin dihidroklorürün deriden geçişinin incelendiği başka bir çalışmada ise fare derisi kullanılmıştır. Heda ve arkadaşlarının çalışmasında hazırlanan adezif yama ile kıyaslanmış ve 24 saatlik ilaç geçişi değerlendirildiğinde mikroemülsiyonların deriden daha iyi geçtiği sonucuna varılmıştır (128).

Bu çalışmaların dışında betahistin deriden geçişine dair başka bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Sonuç olarak literatürde betahistin matriks şeklinde hazırlanan transdermal yama formülasyonuna rastlanmamıştır. Ayrıca betahistin insan derisinden geçişine dair herhangi bir çalışma da mevcut değildir. Literatürde adezif özellikte betahistin içeren yama şeklinde hazırlanan bir çalışma mevcut olsa da yama formülasyonunun *in vivo* deriden geçiş çalışmasına rastlanmamıştır.

Çalışma bu açıdan literatürdeki eksikliği kapatacak niteliktedir.

Bu çalışmada polimer olarak kontrollü ilaç salım sistemlerinin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan, akrilik ve metakrilik asit esterlerinin kopolimerleri olan *Eudragit RL 100* ve *Eudragit RS 100* seçilmiştir. Transdermal

terapötik sistem formülasyonlarında polimer olarak Eudragit RL 100 ve Eudragit RS 100 kullanılarak yapılmış birçok çalışma literatürde de kayıtlıdır (64-71).

Eudragit RL 100 ve Eudragit RS 100 kullanılarak matriks difüzyon kontrollü sistem tasarlanmıştır. Yapışkan tabaka olarak 3M firmasına ait “Foam Tape 9772 L” kullanılmıştır. Koruyucu tabaka olarak yine aynı firmanın ürünü olan “Release Liner 1022” kullanılmıştır.

Plastifiyan seçiminde ise literatürlerden faydalanılarak, bu polimerlerin geçimsizlik göstermediği ve üretici firma tarafından da tavsiye edilen plastifiyanlar tercih edilmiştir (67, 129).

Çalışmaya etkin madde olarak öncelikle betahistin dihidroklorür tuzu ile başlanmıştır. Maddenin, erime derecesi tayini, FTIR spektrumu alınmış, UV spektrofotometrik tayinleri gerçekleştirilmiş, çözünürlük testi yapılmış ve spektrofotometrik yöntem validasyon çalışmaları tamamlanmıştır.

FTIR spektrumunda elde edilen bantların betahistin dihidroklorürün içerdiği molekül gruplarına ait oldukları görülmüş, erime derecesi sonuçlarının da literatürle uyumlu olduğu saptanmıştır. UV ölçümleri sonucu elde edilen 259 nm absorbans, yine literatürle uyumlu bulunmuştur (108).

UV spektrofotometrik yöntemin validasyonu yapılarak yöntemin doğrusallığı, kesinliği, doğruluğu ve seçiciliği araştırılmıştır. Betahistin dihidroklorür için yapılan tayinlerde korelasyon katsayısının 0.998 çıkması yöntemin doğrusallığını teyit etmektedir. Tekrar edilebilirlik ve tekrar elde edilebilirlik için yapılan çalışmalarda elde edilen relatif standart sapma değerinin % 2’den küçük bulunmasına dayanılarak yöntemin kesinliği de ispatlanmıştır (Tablo 6.2, 6.3). Yöntemin doğruluğu ise geri kazanma değerinin istenen sınırlar içinde (100 ± 2) olmasıyla ispatlanmıştır (Tablo 6.4, 6.5, 6.6).

Betahistin dihidroklorürün sudaki çözünürlüğüne bakılmış ve çok çözünür (very soluble) olduğu belirlenmiştir.

Stabilite çalışmaları sonucunda betahistin dihidroklorürün belirlenen deney koşullarında sulu ortamda stabil olduğu saptanmıştır (Tablo 6.7).

Ön deneme formülasyonları yöntem 5.2.3.1’de anlatıldığı gibi, *Eudragit* RL 100 ve *Eudragit* RS 100 polimerlerinin farklı oranda karışımları kullanılarak etkin madde içermeyecek şekilde hazırlanmış, fakat plastifiyan kullanılmadığı durumda formülasyonların kırılgan olduğu belirlenmiştir. Hazırlanan bu formülasyonların, transdermal kullanıma uygun olmadığına karar verilmiştir. Ayrıca etanol ve aseton kullanımını arasında belirgin bir fark olmadığı, fakat asetonun etanole kıyasla polimerleri daha hızlı çözüldürdüğü için çalışma süresini kısalttığı saptanmıştır. Bu durumda uygun esnekliği belirlemek amacıyla polimerlere uygun oranda esneklik kazandıracak plastifiyan seçilerek, plastifiyan oranları optimize edilmiştir.

Sonuçta, plastifiyan olarak propilen glikol, gliserin, trietil sitrat ve PEG 400 farklı oranlarda denenmiş, PEG 400 veya tritetsitratın polimer ağırlığının % 25’i olacak şekilde kullanımının uygun olduğuna karar verilmiştir. Gliserin ve propilen glikolün ise yardımcı plastifiyan olarak eklenmesi uygun bulunmuştur.

Betahistin dihidroklorür içeren formülasyonlar hazırlanırken, *Eudragit* RL 100 ve *Eudragit* RS 100 ayrı ayrı veya kombinasyonları şeklinde kullanılmıştır. Bu kapsamda erlende istenilen miktarda tartılan plastifiyan madde üzerine, ayrı bir yerde tartılmış polimer veya polimer karışımı eklenmiş, polimer çözücüsü olarak seçilen aseton da üzerlerine ilave edilmiştir. Etkin maddeyi çözmek için ise etanol kullanılmış ve ayrı bir erlende etkin maddenin çözünme işlemi gerçekleştirildikten sonra etkin madde çözeltisi, polimer çözeltisinin üzerine ilave edilmiş, homojen bir karışım olana kadar mekanik çalkalayıcıda karışması beklenmiştir. Daha sonra elde edilen bu homojen karışım, 5 cm çapında petri kapları ile şekillendirilmiş alüminyum folyo kalıplara dökülmüştür. Çözücüler tamamen uzaklaşana kadar oda sıcaklığında 4 gün bekletilmiştir.

Seçilen formülasyonlarla çözünme hızı tayini yapılmıştır. *Eudragit* RL 100 ile hazırlanan 1, 2 ve 4 nolu formülasyonlarda yapılan çözünme hızı testlerinde ilk 3 saat içinde etkin maddenin yarısından fazlasının serbestleştiği görülmüştür (Tablo 6.30, Şekil 6.10). Daha sonra *Eudragit* RS 100 (ERS) ile hazırlanan formülasyonların çözünme hızı çalışması yapılmış ve diğerine kıyasla çok daha yavaş bir salım olduğu sonucuna varılmıştır.

Optimum salım hızı elde edebilmek amacıyla farklı polimer oranları ve farklı plastifiyanlar ile yine betahistin dihidroklorür kullanılarak formülasyon hazırlamaya karar verilmiştir. Tablo 5.8’de belirtilen formülasyonlarda yapılan çözünme hızı tayin sonuçları şu şekilde değerlendirilmiştir;

- 0.5 g ERL + 1.5 g ERS oranları için, kullanılan oranlara bağımlı olarak plastifiyan etkisi değerlendirilmiş ve en yüksek miktarda ilaç salımı TES kullanıldığında gerçekleşmiştir (Şekil 6.12).
- 0.5 g ERL + 1.5 g ERS ve 0.5 g plastifiyan (TES) oranları için penetrasyon artırıcının ilaç salımına etkisi değerlendirilmiş ve üç formülasyonda da benzer sonuçlar çıkmıştır (Şekil 6.13).
- 0.5 g ERL + 1.5 g ERS oranları için plastifiyan (PEG 400) miktarının etkisi değerlendirilmiş ve miktar artınca salım ilk 7 saatte daha yüksek çıkmıştır fakat toplam yığılmalı miktara bakıldığında düşük plastifiyan oranı ile daha yüksek bir salım elde edilmiştir (Şekil 6.14).
- 0.5 g ERL + 1.5 g ERS oranları için farklı plastifiyan (gliserin) oranları etkisi değerlendirilmiş ve ilk 7 saat yakın miktarlarda etkin madde salındığı, 24. saate gelince ise yüksek oran plastifiyan içeren formülasyondan daha yüksek etkin madde salındığı görülmüştür (Şekil 6.15).
- Aynı miktar plastifiyan (TES) için polimer oranının ilaç salımına etkisi RL 100 miktarına göre değişmiştir, formülasyondaki Eudragit RL oranı arttıkça salım artmıştır, F21 ve F13’de ise bu sıralama yer değiştirmiştir (Şekil 6.16).
- 0.3 g ERL + 1.7 g ERS polimer oranları için TES ve gliserin aynı miktarlarda kullanılmıştır. TES içeren formülasyon gliserine göre daha yüksek miktarda ilaç salımı yapmıştır (Şekil 6.17).
- 0.8 g ERL + 1.2 g ERS için TES ve DF kıyaslanmıştır. DF içeren ilk 7 saat yüksek oranda ilaç serbestleştirmiş, 24. saatteki toplam miktarda ise TES içeren yüksek salım göstermiştir (Şekil 6.18).

- Aynı miktar PEG (0.3 g) için polimer oranının ilaç salımına etkisi değerlendirilmiş ve RL miktarının artmasıyla ilaç salımı artmıştır (Şekil 6.19).

Sonuçta Eudragit RL 100'ün yüksek oranda kullanıldığı formülasyonlarda yüksek ilaç salımı görülmüştür. Plastifiyan olarak kullanılan trietil sitratın yüksek oranda kullanılması ilaç serbestleşmesini artırmıştır. Penetrasyon artırıcı kullanılması ise ilaç salımına etkisi olmamıştır. F1, F3 ve F4 formülasyonları günlük dozu serbestleşirmesi açısından uygun görünmektedir.

Yapılan bu çalışmalar sonucunda; betahistin dihidroklorürün çok asidik olması (sulu çözeltisi pH 2), formülasyonlarda zamanla meydana gelen fiziksel değişimler gibi nedenler de göz önünde bulundurularak maddenin baz formu ile çalışılmaya karar verilmiştir.

Betahistin bazın sıvı olması, dihidroklorür tuzuna göre daha düşük molekül ağırlığına sahip olması ve transdermal terapötik sistem hazırlamak için kullanılacak olan etkin maddenin taşınması gereken özellikler arasında bulunan sulu çözeltisinin pH'sının 4-9 arasında olması, betahistin baz ile çalışmayı transdermal yol için daha avantajlı hale getirmiştir (45,48).

Ogiso ve arkadaşları terodilinin tuz formu ve tuzdan elde ettikleri baz formu ile yarı-katı transdermal formülasyonlar hazırlamış ve tam kalınlıkta sıçan derisi ve *stratum corneum*dan geçişlerini farklı sıcaklıklarda kıyaslamışlardır. Sonuçta *stratum corneum*dan geçişte her bir sıcaklık için baz formu tuz formuna göre deriden daha yüksek akı göstermiştir (112).

Ön denemeler için betahistin baz formu; dihidroklorür tuzundan sodyum bikarbonat ile suda alkali çözeltisinin hazırlanması ve çözeltinin diklorometan ile ayırma hunisinde ekstrakte edilmesi ve rotaevaporatörde organik çözücünün uzaklaştırılması aşamaları ile elde edilmiştir. HPLC analizi ile de saflığı tespit edilen betahistin baz ile ön deneme formülasyonları hazırlanmış ve bu formülasyonlar görsel olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak çalışmaların betahistin baz ile devamına karar verilmiş ve betahistin baz 2-(2-Metilaminoetil) piridin, Sigma Aldrich'ten temin edilmiştir.

Betahistin bazın, çözünürlük testi yapılmış, FTIR spektrumu alınmış, UV spektrofotometrik tayinleri yapılmış ve spektrofotometrik yöntem validasyon çalışmaları tamamlanmıştır.

FTIR spektrumunda elde edilen bantların betahistin bazın içerdiği molekül gruplarına ait oldukları görülmüştür.

Betahistin bazın teşhisinin ardından kantitatif teşhisinin yapılabilmesi için UV spektrumu kullanılmıştır. Betahistin bazın degaze distile suda çözeltisi hazırlanarak 259.5 nm'de en yüksek absorbans verdiği saptanmıştır. UV spektrofotometrik yöntemin validasyonu yapılarak yöntemin doğrusallığı, kesinliği, doğruluğu ve seçiciliği araştırılmıştır. Betahistin baz için yapılan tayinlerde korelasyon katsayısının 0.999'dan yüksek çıkması yöntemin doğrusallığını teyit etmektedir. Tekrar edilebilirlik ve tekrar elde edilebilirlik için yapılan çalışmalarda elde edilen relatif standart sapma değerinin %2'den küçük bulunmasına dayanılarak yöntemin kesinliği de ispatlanmıştır (Tablo 6.9, 6.10). Yöntemin doğruluğu ise geri kazanma değerinin istenen sınırlar içinde (100 ± 2) olmasıyla ispatlanmıştır (Tablo 6.11, 6.12, 6.13).

Betahistin bazın sudaki çözünürlüğüne bakılmış ve çok çözünür (very soluble) olduğu belirlenmiştir.

Stabilite çalışmaları sonucunda betahistin bazın belirlenen deney koşullarında sulu ortamda stabil olduğu saptanmıştır (Tablo 6.14).

Formülasyon çalışmasına başlamadan önce betahistin baz ve formülasyonlarda kullanılacak olan polimer ve plastifiyanlar arasında geçimsizlik olup olmadığının anlaşılması için DSC analizi yapılmıştır. Maddeler tek tek ve sonrasında betahistin ile 1:1 fiziksel karışımları yapılarak analiz edilmişlerdir. DSC analizleri sonucunda, etkin maddenin kullanılan yardımcı maddeler ile geçimsizlik göstermediğine karar verilmiştir.

Betahistin baz ile hazırlanacak formülasyonlarda kullanılacak plastifiyanlar değerlendirildiğinde;

- PEG 400 ile deneme formülasyonları dahil %15, %20, %25, %30, %33 oranlarında çalışıldı. Formülasyonlar hazırlandığında homojen

olmakla birlikte, bekleme sonrasında bu görünümün değiştiği, betahistin dihidroklorür ile hazırlananlarda ise zamanla yüzeyde sarımsı tabaka oluştuğu saptandı.

- Trietil sitrat ile %10, %20, %25, %30 gibi oranlarda çalışıldı. %25 ve %30 plastifiyan içeren formülasyonların kabul edilebilir esneklikte ve homojen olduğu görüldü. Ayrıca plastifiyan miktarı arttırıldıkça formülasyondaki adezif özelliğin de arttığı belirlendi.
- Dietil ftalat için %10, %15, %17.5, %20 oranları denendi, fakat sadece %15 ve %20 oranları iyi sonuç verdi. Ancak ftalat kullanımının toksik riskleri olabileceği ve alternatif plastifiyanların da varlığı nedeniyle bu yardımcı maddeden vazgeçildi.
- Propilen glikol %30 oranı ile tek başına kullanıldığında başlangıçta iyi görünen ama sonrasında yüzeyinde yağimsı tabaka oluşan formülasyonlar elde edildi, bu nedenle tek başına plastifiyan olarak kullanılmasından vazgeçildi.
- Gliserin ile uygun sonuç alabilmek için çok yüksek oranlarda kullanmak gerektiğinden tek başına kullanılmasından vazgeçildi.

Betahistin baz formu ile çalışmaya başlamadan önce formülasyon tasarımında bazı değişikliklere gidilmiştir. Toplam polimer ağırlığının 1 g, kalıp çapının ise 3 cm olmasına karar verilmiştir. *Eudragit* RL 100 veya RS 100 oranları değiştirilerek farklı kombinasyonlar denenmiş, etkin madde miktarı ise 50-300 mg aralığında çalışılmıştır.

PEG 400 ile hazırlanan formülasyonların içeriği değiştirilmeden aynı formülasyon trietilsitrat ile de hazırlanmıştır. Bazı formülasyonlar ise depo görevi görmesi için çift katlı olarak tasarlanmıştır.

Transdermal terapötik sistem formülasyonlarında yapılan miktar tayininde betahistin bazın izin verilen sınırlar içinde ($\% 100 \pm 10$) olduğu ve tüm formülasyonların uygun olduğu belirlenmiştir (Tablo 6.41) (108).

Hazırlanan transdermal terapötik sistem formülasyonlarında yapılan makroskobik kontrollerde kalınlık ve ağırlık sapması değerleri saptanmış ve sırası ile

Tablo 6.42 ve 6.43’de gösterilmiştir. Tablo 6.42 incelendiğinde formülasyonlarının kalınlıklarının birbirine benzer ve standart sapmalarının uygun olduğu görülmüştür.

Tablo 6.43 incelendiğinde betahistin baz içeren transdermal formülasyonların ağırlık sapmalarının standartlara uygun olduğu görülmüştür.

Formülasyonlardan ilaç serbestleşmesini değerlendirmek için çözünme hızı çalışmaları yapılmıştır. Çözünme ortamı olarak distile su kullanılmıştır, çünkü maddenin çözünme ile ilgili bir sorunu yoktur ve 500 ml hacim de sonsuz seyrelme koşulunu sağlamaktadır. Çalışmalar 3 paralel olarak yürütülmüştür.

Hazırlanan formülasyonların alanı 7 cm^2 dir. Günlük dozun 24 mg kullanıldığı bir hastaya saatte 1 mg ilaç gerekecektir. Bu yüzey alanda kullanılacak bir formülasyonun saatte, $150 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ ilaç serbestleştirmesi uygundur. Eğer 48 mg kullanılacaksa da $300 \mu\text{g}$ ilaç serbestleştirmesi gereklidir.

Çözünme hız tayini sonucu madde çıkışında düzensizlikler görülen formülasyonların paralel deneyleri yapılmamış ve bu formülasyonlara ait sonuçlar bulgular kısmında sunulmamıştır. Ayrıca trietil sitrat ile hazırlanan T1, T2, T3 ve T4 formülasyonlarında 7. saatte parçalanma gözlenmiştir, bu nedenle bulgular kısmında bu formülasyonlara da yer verilmemiştir.

Formülasyonların çözünme hızı tayinleri incelendiğinde sabit hızla ilaç salımı F12, F15 ve F18 ile elde edilebilmiştir (Şekil 6.54, 6.56, 6.58).

T12, T15 ve T18’e bakıldığında ise ilaç salım hızlarının giderek azaldığı görülmektedir (Şekil 6.64, 6.66, 6.68).

F1- F6 arası formülasyonlarda ilaç salım hızları benzer profiller göstermiştir (Şekil 6.34, 6.36, 6.38, 6.40, 6.42, 6.44).

Bütün formülasyonlarda ilk yarım saatte yüksek ilaç salımı saptanmış, ve ilaç salım hızlarının genel olarak terapötik dozun üzerinde olduğu belirlenmiştir. Bu deriden de aynı oranda geçeceği anlamına gelmese de fikir vermektedir. Ayrıca ilaç miktarı arttıkça ilaç salım hızları da bütün formülasyonlarda artmıştır. Yine artan Eudragit RL oranı ile ilaç salım hızının da doğru orantılı olarak arttığı belirlenmiştir.

PEG 400 ile hazırlanan F5, F11, F15 ve F18 formülasyonları ve TES ile hazırlanan T5, T15, T18 formülasyonları ile insan derisinden *ex vivo* deri geçiş çalışmaları yapılmasına karar verilmiştir.

Deri geçiş çalışmaları için spektrofotometrik yöntem yeterli hassasiyette olamayacağından, HPLC analiz yöntemi geliştirilmiştir.

Literatürde (120) belirtilen mobil faz oranları: %30 asetonitril ve %70 sodyum asetat (0.02 mol/L, pH4.5) 1 ml/dak, 1. dakikada bu şekilde başlayıp 21. dakikada %70 asetonitril, %30 sodyum asetat olacak şekilde gradient sistem tanımlandı. Betahistin bazın sulu çözeltisi ve % 0.85 NaCl- 10 mM pH 7.4 fosfat tamponunda çözeltileri hazırlanarak enjekte edildi. Çalışmanın başında 250 mm x 4.6 mm iç çap ölçülerinde 5C18 kolon kullanıldı. Elde edilen madde pikleri çözücü ile üst üste çakıştı.

Bunu daha ileri kaydırabilmek için mobil faz oranları değiştirildi, gradient sistem yerine sabit oranlar denendi fakat madde piki retansiyon zamanı hem çok erken (2-3 dakika gibi), hem de çözücü ile üst üste çakışmaya devam etti.

Bunun üzerine literatür (114) literatür temel alınarak, mobil faz Metanol-0.025M KH₂PO₄ (pH 3) (25/75 h/h) (0.5g/ 1 oranında sodyum-1 heptan sülfonat içerecek şekilde) hazırlandı. Kolon olarak 150 mm x 4.6 mm iç çap ölçülerinde 5 C18 kolon kullanıldı.

Betahistin baz Franz difüzyon hücresi reseptör fazında kullanılacak olan % 0.85 NaCl- 10 mM pH 7.4 fosfat tamponunda çözüldürüldü.

Bu yöntem önceki denemelere göre iyi sonuç verir gibi görünse de elde edilen piklerde görülen yüksek oranda kuyruklanma nedeniyle metotda değişikliğe karar verildi. Akış arttırılarak sırasıyla önce 1.1ml/ dak, sonra 1.2 ml/ dak olarak çalışıldı ve olumlu sonuç alınamadı. Akış 1ml/ dak'da metanol oranı % 25'den %20'ye ve daha sonra % 15'e düşürüldü yine olumlu sonuçlar alınamadı.

Konsantrasyonu 2.5 mM olarak kullanılan iyon çifti ajanı 5mM konsantrasyona çıkarıldı. Mobil faz iyon çifti içerdiği için çalışmaya her yeni başlarken dengeye gelmesi için kolon hacminin 100- 200 katı mobil faz sistemden geçirildi.

Geliştirilen bu yöntemde retansiyon zamanı 12 dakika olarak belirlenmiştir.

Ogiso ve arkadaşları (114) Franz difüzyon hücresinde kullanılan pH 7.4 fosfat tamponu içeren reseptör fazdan alınan numuneyi aşamalı ekstraksiyon sonrası analiz etmişlerdir, bu yöntem hem çok zordur hem de ekstraksiyon verimi düşüktür. Modifiye edilen bu yöntem ile sonra reseptör fazdan alınan numune herhangi bir işleme tabi tutulmadan HPLC’de direkt analiz edilebilmiştir.

Betahistin bazın HPLC yöntemiyle kantitatif tayininin yapılabilmesi için metot geliştirilmesi sonrasında validasyon çalışmasına geçilmiştir. Yöntemin validasyon çalışması ile yöntemin doğrusalılığı, kesinliği, doğruluğu ve seçiciliği değerlendirilmiştir. Betahistin baz için yapılan tayinlerde korelasyon katsayısının 1 bulunması yöntemin doğrusallığını teyit etmektedir. Tekrar edilebilirlik ve tekrar elde edilebilirlik için yapılan çalışmalarda elde edilen relatif standart sapma değerinin %2’den küçük bulunmasına dayanılarak yöntemin kesinliği de ispatlanmıştır (Tablo 6.16, 6.17). Yöntemin doğruluğu ise geri kazanma değerinin istenen sınırlar içinde ($\% 100 \pm 2$) olmasıyla ispatlanmıştır (Tablo 6.18, 6.19, 6.20).

Betahistin bazın mobil fazdaki çözünürlüğüne bakılmış ve çok çözünür olduğu sonucuna varılmıştır.

Stabilite çalışmaları sonucunda betahistin bazın belirlenen deney koşullarında sulu ortamda stabil olduğu saptanmıştır (Tablo 6.21).

Resim 6.11’de görülen 191 nolu kromatogramda ise 12 saat boyunca Franz hücresinde, bulunan betahistine ait pik görülmektedir. Betahistin standart enjeksiyonunun spektrumu ile üst üste konulduğunda da spektrumda bir değişiklik olmadığı görülmektedir.

Betahistin bazın bu yöntemle teşhis limiti 25 ng/ml, miktar tayini limiti ise 90 ng/ml olarak belirlenmiştir.

Franz difüzyon hücresinde membran olarak plastik cerrahi ameliyatları sonucu artan insan derisi kullanılmıştır. Bu deri meme veya karın derisidir. Deri kesildiği anda hemen subkutan yağ tabakası ayrılmış ve derin dondurucuda (-20°C ’ den -30°C ’ye) sıkıca kapalı bir ambalajda saklanmıştır. Kullanılacağı zaman oda sıcaklığına gelmesi beklenerek Franz hücresi dış çapı ile aynı ölçüdeki silindir kalıp yardımıyla kesilmiş ve 60°C ’lik su banyosunda 90 saniye “Ringer çözeltisi” içinde inkübe edilmiştir. Bu sayede epidermis pens yardımıyla ayrılmıştır Franz hücresinde

kullanılacak olan bu deri epidermis üstte diyaliz membran altta olacak şekilde yerleştirilmiş ve hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilmiştir (121,122). İnsan derisinden ex vivo geçiş çalışmaları için reseptör faz çözeltisi olarak 0,85 % NaCl - 10 mM fosfat tamponu (pH7,4) kullanılmıştır, Franz difüzyon hücresi reseptör faz hacimleri 16 ml'dir. Her formülasyon 3 paralel olacak şekilde çalışılmıştır ve çalışmalar 24 saat devam ettirilmiştir. Seçilen 7 formülasyonda yapılan deri geçiş çalışmaları analizi geliştirilen HPLC yöntemiyle analiz edilmiştir.

Formülasyonların kararlı hal geçiş hızları kıyaslanmış ve en yüksek akı değerlerinin sırasıyla T18 ve T15 formülasyonları ile elde edildiği görülmüştür.

Etkin maddenin pH 7.4 fosfat tamponunda çözündürülmesiyle hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerinin deriden geçişleri değerlendirildiğinde madde konsantrasyonu arttıkça akının da arttığı gözlenmiştir.

İçerik olarak tamamen aynı sadece plastifiyanların farklı fakat aynı oranlarda kullanıldığı formülasyonlardan F5 ve T5 için akı değerleri sırasıyla 29.978 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{sa}$ ve 24.066 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{sa}$ olarak ölçülmüştür. Birbirine yakın değerler elde edilmiştir.

F15 ve T15 formülasyonları akı değerleri kıyaslandığında ise trietilsitrat içeren T15 formülasyonunun diğerinden 3 kat fazla akı gösterdiği görülmüştür.

F18 ve T18 formülasyonları akı değerleri kıyaslandığında ise trietilsitrat içeren F18 formülasyonunun diğerinden 2 kat fazla akı gösterdiği görülmüştür.

F11 formülasyonunun ise bütün formülasyonlar içinde en düşük akı değerine sahip olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak ex vivo insan derisinden geçiş çalışmaları tamamlanarak günlük terapötik doz olarak belirlenen 150 $\mu\text{g}/\text{saat}/\text{cm}^2$ geçiş hızı ortalamalarına en yakın değeri sağlayan ve ayrıca en yüksek akı değerini sağlayan T15 ve T18 formülasyonları ile in vivo sıçan derisinden geçiş çalışmaları yapılmasına karar verilmiştir.

Transdermal formülasyonların *in vivo* sıçan derisinden geçiş çalışmalarında elde edilen numunelerdeki betahisin baz miktar tayini için literatürde kayıtlı yöntemden faydalanılarak ex vivo çalışmalar için kullanılan yöntemdekinden farklı olarak

yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi geliştirildi ve veriler Agilent Chemstation programı ile değerlendirildi (113).

Betahistin bazın HPLC yöntemiyle kantitatif tayininin yapılabilmesi için metot geliştirilmesi sonrasında validasyon çalışmasına geçilmiştir. Yöntemin validasyon çalışması ile yöntemin doğrusalılığı, kesinliği, doğruluğu ve seçiciliği değerlendirilmiştir. Betahistin baz için yapılan tayinlerde korelasyon katsayısının 0.998 bulunması yöntemin doğrusallığını teyit etmektedir. Tekrar edilebilirlik ve tekrar elde edilebilirlik için yapılan çalışmalarda elde edilen relatif standart sapma değerinin %2'den büyük bulunan değerler mevcuttur, fakat bu sonuçlar analizin kandan yapılmasından kaynaklanmaktadır (Tablo 6.24, 6.25). Yöntemin doğruluğu ise geri kazanma değerinin istenen sınırlar içinde ($\% 100 \pm 2$) olmasıyla ispatlanmıştır (Tablo 6.26, 6.27, 6.28).

Betahistin bazın mobil fazdaki çözünürlüğüne bakılmış ve çok çözünür olduğu sonucuna varılmıştır.

Stabilite çalışmaları sonucunda betahistin bazın belirlenen deney koşullarında sulu ortamda stabil olduğu saptanmıştır (Tablo 6.29).

In vivo çalışma için geliştirilen bu HPLC yönteminde betahistin baz retansiyon zamanı 3.5 dakika olarak belirlenmiştir.

In vivo çalışmalar kapsamında Wistar dişi sıçanlar kullanılmış ve 3 grup oluşturulmuştur. Bu gruplar transdermal T15 formülasyon grubu, transdermal T18 formülasyon grubu ve intravenöz kontrol grubudur. Her gruptaki hayvan sayısı anestezi uzunluğu ve hayvanların uzun süre dayanamaması sebebiyle 4 olarak belirlenmiştir.

Üretan anestezisi altındaki sıçanların karın bölgeleriyle kanül takılacak olan bölgeleri traş edilmiş ve iliak arterlerine kanül takılmıştır. Formülasyonların yeterli yapışkanlıkta olmaması sebebiyle Nitradisc® müstahzarında olduğu gibi formülasyonun sırt tabakasına 3M köpük bant yerleştirilmiştir (Resim 6.15) Anestezi sonrası kanülasyon yapılmıştır, intravenöz ilaç grubuna ayrıca ven kanülasyonu da yapılmıştır. Formülasyon veya intravenöz uygulama yapılmadan önce kan alınmış ve daha sonra uygulama yapılarak boş kan ile kıyaslanmıştır.

Intravenöz uygulama için 5mg/ kg olacak şekilde ilaç verilmiş, çalışma 6 saat devam ettirilmiştir. Diğer gruplarda 24 saatlik çalışma hedeflenmiş, anestezi uzunluğu nedeniyle az sayıda hayvan bu kadar süre yaşayabilmiştir.

24 saat sonunda transdermal yama çıkarıldığında sıçan derisinde görsel herhangi bir değişiklik görülmemiştir (Resim 6.16).

Çalışma sonrası elde edilen kan profilleri değerlendirildiğinde intravenöz uygulama sonrası beklenen kan profili gözlenmiş, 6. saatte ilacın neredeyse tamamen elimine olduğu izlenmiştir.

Transdermal uygulamalarda 24. saat kan alımı yapılabilen hayvanlarda, kanda hala betahistin baz olduğu tespit edilmiştir (Şekil 6.89 ve Şekil 6.90). AUC (eğri altı alan), Cmax ve Tmax değerleri tablolarda gösterilmiştir. 24. saat numuneleri alınamayan formülasyonlarda ise kanda eliminasyon fazına geçilemediği görüldüğünden MRT (kanda tutulma süreleri) hesaplanamamıştır.

Bu çalışmada betahistin bazın 24 saat süresince kanda bulunması hedeflenmiştir. Formülasyonları tamamen aynı, içlerindeki etkin madde miktarları farklı olan iki formülasyon ile yapılan in vivo çalışmalar sonucunda betahistin 24 saat boyunca kanda görülebildiği saptanmıştır.

Sonuç olarak betahistin transdermal yama formülasyonları başarılı bir şekilde hazırlanmıştır. Formülasyondaki yardımcı maddelerin etkin madde ile geçimli olduğu DSC çalışmaları ile ispatlanmıştır. Madde miktar tayini için 3 farklı analiz yöntemi geliştirilerek gerekli validasyon çalışmaları yapılmıştır. Çözünme hızı tayinleri sonucunda belirlenen formülasyonlarla ex vivo insan derisinden geçiş çalışmaları yapılmış ve 24 saat boyunca değerlendirilmiştir. Deriden geçiş hızı olarak amaçlanan 150 µg/saat/cm² seviyesine en yakın elde edilen formülasyonlar ile in vivo sıçan derisinden geçiş çalışmaları yapılmıştır. In vivo çalışmalar kapsamında planlanmış olduğu gibi 24 saat süresince kanda betahistin baz görülebilmıştır.

Çalışmanın bir sonraki aşaması insanlarda klinik çalışmalar yapılması olarak öngörülmektedir.

8. KAYNAKLAR

1. Barry BW. (2007). Transdermal Drug Delivery. In: *Aulton's Pharmaceutics, The Design and Manufacture of Medicine*. Ed: Aulton ME, 3rd ed, Churchill Livingstone Elsevier, Hungary, p.565-597.
2. Ağabeyoğlu İ. (2002). Transdermal sistemler. *Kontrollü Salım Sistemleri*, Ed:Gürsoy AZ, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını, İstanbul,.s: 239-260.
3. Gibson M. (Ed), (2004). *Pharmaceutical Preformulation and Formulation: A Practical Guide from Candidate Drug Selection to Commercial Dosage Form*. Interpharm/CRC Press, U.S.A.
4. Hadgraft J. (2004). Skin deep. *Eur J Pharm Biopharm*, 58: 291-299.
5. Kielhorn J, Melching Kollmus S, Mangelsdorf I. (2006). Environmental Health Criteria 235: Dermal Absorption, World Health Organization, Stuttgart, Germany.
6. Tırnaksız F, Ağabeyoğlu İ, Çelebi N, Değim T, Değim Z, Doğanay T, Takka S, Acartürk F. (Eds), (2007). *Modern Farmasötik Teknoloji*. Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi Yayını, Ankara.
7. Powell J. (2006). Skin physiology. *Women's Health Medicine*, 3(3):130-133.
8. Yazan Y.(Ed), (2004) *Kozmetik Bilimi*, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
9. Walters KA, Roberts MS (2002). The Structure and Function of Skin, In: *Dermatological and Transdermal Formulations*.Ed: Walters KA, Marcel Dekker, USA.p.1-39.
10. Toitou E, Barry BW. (Eds), (2007). *Enhancement in drug delivery*, CRC Press, Taylor & Francis Group, U.S.A.
11. El Maghraby GM, Barry BW, Williams AC. (2008). Liposomes and skin: From drug delivery to model membranes. *Eur J Pharm Sci*, 34(4-5):203–222.
12. Norlén L. (2001). Skin barrier structure and function: the single gel phase model. *J Invest Dermatol*, 117(4):830-836.
13. Li X, Jasti BR. (2006). *Design of controlled release drug delivery systems*, McGraw-Hill, USA.
14. Wilkinson JB, Moore RJ. (1982). The skin. In: *Harry's Cosmeticology*, Ed: Godwin G, USA.

15. Türkoğlu M, Pekmezci E.(2006). İnsan derisine genel bir bakış, Kozmetolojiye Giriş: Kozmetik formüllerin tasarımı, imalatı ve deri ile etkileşimi, Karakter Color Matbaası, İstanbul.
16. Fernandes M, Simon L, Loney NW. (2005). Mathematical modeling of transdermal drug-delivery systems:Analysis and applications. *J. Membr Sci*, 256: 184-192.
17. Scientific committee on consumer safety, SCCS. Basic criteria for the in vitro assessment of dermal absorption of cosmetic ingredients; 2010.
18. Ghosh TK, Pfister WR. (1997). Transdermal and Topical Delivery Systems: An Overview and Future Trends. In: *Transdermal and Topical Drug Delivery Systems*. Eds: Ghosh TK, Pfister WR, Yum SI, Buffalo Grove, Illinois, p.1-32
19. Palzet A, Antoniou C, Sterry W, Lademann J. (2008). Skin penetration from the inside to the outside: A review, *Drug Disc Today: Disease mechanisms*, 5(2): 229-235.
20. Alexander A, Dwivedi S, Ajazuddin, Giri TK, Saraf S, Saraf S, Tripathi DK. (2012). Approaches for breaking the barriers of drug permeation through transdermal drug delivery. *J.Control Release*, 164: 26-40.
21. Williams AC. (2003). *Transdermal and Topical Drug Delivery: From Theory to Clinical Practice*, Pharmaceutical Press, London.
22. Barry BW (2006). Penetration Enhancer Classification. In: *Percutaneous Penetration Enhancers*. Eds: Smith EW, Maibach HI, CRC Press, Taylor & Francis Group, USA.
23. Vinod KR, Sravani P, Banji D,Teja BB. (2010). Transdermal Drug Delivery System – Overcoming Challenges Of Popular Drug Delivery Systems, *International Journal Of Pharma World Research*,1(3): 1-14.
24. Roberts MS, Cross ES, Pellet MA (2002). Skin Transport. In: *Dermatological and Transdermal Formulations*.Ed: Walters KA, Marcel Dekker, USA. p.89-195.
25. Valenzuela P, Simon JA. (2012). Nanoparticle delivery for transdermal HRT. *Maturitas*, 73:74-80.
26. Surber C, Davis AF. (2002). Bioavailability and Bioequivalence of Dermatological Formulations, In: *Dermatological and Transdermal Formulations*. Ed: Walters KA, Marcel Dekker, USA p. 401-498.

27. Brain KR, Walters KA, Watkinson AC. (2002). Methods for Studying Percutaneous Absorption, In: *Dermatological and Transdermal Formulations*. Ed: Walters KA, Marcel Dekker, USA p. 197-269.
28. Gupta KS, Sathyan G, Hwang SS. (1997). Clinical Assessment of Transdermal Drug Delivery Systems In: *Transdermal and Topical Drug Delivery Systems*. Eds: Ghosh TK, Pfister WR, Yum SI, Buffalo Grove, Illinois, p. 215-248.
29. Steinstrasser I, Merkle HP. (1995). Dermal metabolism of topically applied drugs: Pathways and models reconsidered *Pharmaceutica Acta Helveticae* (70): 3-24.
30. Weigand DA, Haygood C, Gaylor JR. (1974) Cell layers and density of Negro and Caucasian stratum corneum. *J. Invest. Dermatol.* (62): 563–568.
31. Fluhr JW, Darlenski R, Berardesca E. (2008). Ethnic groups and sensitive skin: two examples of special populations in dermatology, *Drug Discovery: Disease Mechanisms*, 5(2): 249- 263.
32. Zhai H, Maibach H. (2001). Effects of Skin Occlusion on Percutaneous Absorption, *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* (14):1–10.
33. Lee RS, Long M, Rawlings AV, Tubek J, Whitehead L, Moss GP, Taylor LJ. (2002). Effect of occlusion on the percutaneous penetration of linoleic acid and glycerol. *Int. J. Pharm*, 249: 157–164.
34. Ansel HC. (1985). *Transdermal Drug Delivery Systems: Ointments, Creams, Lotions and Other Preparations, Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, Fourth Edition*, Lea & Febiger, Philadelphia, USA.
35. Sharma N, Agarwal G , Rana AC, Bhat ZA, Kumar D. (2011). A Review: Transdermal Drug Delivery System: A Tool For Novel Drug Delivery System. *Int. J. Drug Dev. & Res.*, 3(3): 70-84.
36. Hıncal AA, Bilensoy ME (2004) Ön Formülasyon ve Ürün Geliştirme, Farmasötik Teknoloji, Temel Konular ve Dozaj Şekilleri, Gürsoy AZ (Ed), Pıksel Bilişim Matbaacılık, 2004, İstanbul.
37. Natan Ş (2002). Kaptopril içeren matriks tipi transdermal terapötik sistemlerin hazırlanması ve In vitro değerlendirilmesi. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, (Danışman Prof. Dr. B Dortunç).

38. Watkinson AC, Brain KR. (2002). Basic Mathematical Principles in Skin Permeation, In: *Dermatological and Transdermal Formulations*. Ed: Walters KA, Marcel Dekker, USA. p.61-88.
39. Spencer TS (1997). Perclinical Assessment of Transdermal Drug Delivery Systems. In: *Transdermal and Topical Drug Delivery Systems*. Eds: Ghosh TK, Pfister WR, Yum SI, Buffalo Grove, Illinois, p.167-190.
40. Kaliaa YN, Guy RH. (2001). Modeling transdermal drug release, *Advanced Drug Delivery Reviews*, (48) :159–172.
41. Tan HS, Pfister WR.(1999).Pressure-sensitive adhesives for transdermal drug delivery Systems, *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 2(2): 60-69.
42. Vasil'ev AE, Krasnyuk II, Ravikumar S, Tokhmakchi VN. (2001) Transdermal therapeutic systems for controlled drug release. *Pharm Chem. J*, 35: 613-626.
43. Flynn GL, Weiner ND. (1993). Topical and Transdermal Delivery-Provinces of Realism. In: *Dermal and Transdermal Drug Delivery- New Insights and Perspectives*, Eds: Gurny R, Teubner A, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, p.33-65.
44. Hadgraft J. (2003). Dermal and Transdermal Delivery. In: *Modified Release Drug Delivery Technology*, Eds: Rathbone MJ, Hadgraft J, Roberts MS, Marcel Dekker Inc, New York. p. 471-480.
45. Pfister WR. (1997). Transdermal and Dermal Therapeutic Systems: Current Status, Transdermal and Topical Drug Delivery Systems, Ghosh TK, Pfister WR, Yum SI, Interpharm Press, Illionis, USA, 33-112.
46. Chiranjib DB, Chandira M, Jayakar B, Sampath KP. (2010) Recent Advances In Transdermal Drug Delivery System, *International Journal of PharmTech Research*, 2(1):68-77.
47. Keleb E, Sharma RK, Bmosa E, Zaljahwi A. (2010). Transdermal Drug Delivery System- Design and Evaluation. A Review *International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences* 1: 201-211. [Electronic Journal]
<http://www.arjournals.org/ijoaps.html>
48. Naik A, Kalia YN, Guy RH. (2000). Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function: *PSST*,3(9): 318-326.

49. Sinha VR, Kaur MP. (2000). Permeation Enhancers for Transdermal Drug Delivery, *Drug Dev & Ind Pharm*, 26 (11): 1131–1140.
50. Williams AC, Barry BW (2004). Penetration enhancers, *Adv Drug Del Rev* (56): 603–618.
51. Kavitha K, Rajendra KM, Mangalbhai PD, Sandeep DS, Ganesh NS. (2010) Chemical permeation enhancers for transdermal drug delivery: A brief review *Der Pharmacia Lettre* , 2(6): 358-365.

[Electronic Journal] www.scholarsresearchlibrary.com

52. Pahtan IB, Setty CM. (2009).Chemical Penetration Enhancers for Transdermal Drug Delivery Systems Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 8 (2): 173-179. [Electronic Journal] <http://www.tjpr.org>
53. Lane ME. (2013). Skin penetration enhancers, *Int J Pharm*, 447:12-21.
54. Wokovich AM, Prodduturi S , Doub WH, Hussain AS, Buhse LF. (2006). Transdermal drug delivery system (TDDS) adhesion as a critical safety, efficacy and quality attribute, *Eur J Pharm Biopharm* 64: 1–8.
55. Bhowmik D,Chiranjib, Chandira M, Jayakar B, Sampath KP. (2010). Recent Advances In Transdermal Drug Delivery System, *International Journal of PharmTech Research*, 2 (1): 68-77.
56. Güngör S, Erdal MS, Özsoy Y (2012). Plasticizers in Transdermal Drug Delivery Systems Recent Advances in Plasticizers, Dr. Mohammad Luqman (Ed.), , InTech, Available

<http://www.intechopen.com/books/recent-advances-in-plasticizers/plasticizers-in-transdermal-drugdelivery-systems>

57. Walters KA, Brain KR (2000). Dermatological Formulation and Transdermal Systems, Dermatological and Transdermal Formulations, Walters KA (Eds), Marcel Dekker, USA, 319- 401.
58. Peterson TA, Wick SM, Co C.(1997). Design, development, manufacturing and testing of transdermal drug delivery systems, Transdermal and Topical Drug Delivery Systems, Ghosh TK, Pfister WR, Yum SI (Eds), Interpharm Press, Illinois, USA, 249-297.

59. Kandavilli S, Nair V, Panchagnula R. (2002). Polymers in Transdermal Drug Delivery Systems, *Pharmaceutical Technology*, 62- 80, [Electronic Journal] www.pharmtech.com
60. Godin B, Touitou E. (2007). Transdermal skin delivery: Predictions for humans from in vivo, ex vivo and animal models, *Adv Drug Deliv Rev*, 59(11):1152-1161.
61. Bartek MJ, Labudde JA, Maibach HI. (1972). Skin permeability in vivo: comparison in rat, rabbit, pig and man. *J Invest Dermatol*, 58(3):114-123.
62. Wilkinson SC, Williams FM. (2005). The relationship between in vivo dermal penetration studies in human and in vitro predictions using human skin, *Percutaneous Absorption, Drugs-Cosmetics-Mechanisms-Methodology*, Bronaugh RL, Maibach HI (Eds), 4th ed, Taylor and Francis Group, USA.
63. Friend DR. (1992). In vitro skin permeation techniques, *J Cont Rel*, 18:235-248.
64. Eudragit datasheets, Röhm Pharma GmbH. Darmstad FRG
65. Eudragit, Acrylic polymers for solid oral dosage forms. Evonik Industries. [Electronic Journal], <http://www.pharma-polymere.de>
66. Rowe RC, Sheskey PJ, Owen SC. (Eds), (2006). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 5th ed, Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association, London, UK.
67. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, (1986). American Pharmaceutical Association and the Pharmaceutical Society of Great Britain, USA.
68. Chourasia MK, Jain SK. (2003). Pharmaceutical approaches to colon targeted drug delivery systems, *J Pharm Pharmaceut Sci*, 6 (1): 33- 66.
69. Cilurzo F, Minghetti P, Casiraghi A, Tosi L, Pagani S, Montanari L. (2005) Polymethacrylates as crystallization inhibitors in monolayer transdermal patches containing ibuprofen. *Eur J Pharm Biopharm*, 60 (1): 61-66.
70. USP (United States Pharmacopeia/ The National Formulary, 1995, USP 23/ NF 18. United States Pharmacopeial Convention, Inc., Twinbrook Parkway, Rockville, MD.
71. Keskin E (2009). Matriks Tipindeki Transdermal Terapötik Sistemden Kaptoprilin Difüzyonunun Değerlendirilmesi. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, (Danışman Yrd. Doç. Dr. Oya Sipahigil).
72. Weiser M, Strösser W, Klein P. (1998). Homeopathic vs Conventional Treatment of Vertigo. *Arch Otolaryngol Head and Neck Surg*, 124:879-885.

73. Brandt T, Dieterich M, Strupp M. (2005) *Vertigo and Dizziness*, Springer Verlag, London.
74. Büttner U (ed) (1999). *Vestibular Dysfunction and Its Therapy*, Karger, Switzerland.
75. Aantaa E. (1991). Treatment of Acute Vestibular Vertigo. *Acta Otolaryngol* (Stockh), (Suppl 479):S44-S47.
76. Carola R, Harley JP, Noback CR. (1990). *Human Anatomy & Physiology*. Mc Grow-Hill, Inc.,US, p.469.
77. Unemoto H, Sasa M, Takaori S, Ito J, Matsuoka I. (1982). Inhibitory effect of betahistine on polysynaptic neurons in the lateral vestibular nucleus. *Arch Otolaryngol*, 236:229-236.
78. Fischer AJ. (1991). Histamine in The Treatment of Vertigo. *Acta Otolaryngol* (Stockh), (Suppl 479):S24-S28.
79. Van Cauwenberge PB, De Moor SEG. (1997). Physiopathology of H₃ -Receptors and Pharmacology of Betahistine. *Acta Otolaryngol* (Stockh), (Suppl 526):S43-S46.
80. Kayaalp SO, Tuncer M. (2000). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 9. baskı, 2.Cilt, , Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara, s.1471-1489.
81. Kleeman A, Engel J. (2001). *Pharmaceutical Substances: Synthesis, Patents, Applications*. 4th Ed, Thieme, Germany.
82. Tighilet B, Trottier S, Mourre C, Chotard C, Lacour M. (2002). Betahistine dihydrochloride interaction with the histaminergic system in the cat: neurochemical and molecular mechanisms. *Eur J Pharmacol*, 446:63-73.
83. Spruill JH, Toole JF, Kitto W, Miller HE. (1975). A Comparison of Betahistine Hydrochloride With Placebo for Vertebral-Basilar Insufficiency: A Double-Blind Study. *Stroke*, 6(2):116-120.
84. Timmerman H. (1991). Histamine Agonists and Antagonists. *Acta Otolaryngol* (Stockh), (Suppl 479):S5-S11.
85. Fossati A, Barone D, Benvenuti C. (2001). Binding affinity profile of betahistine and its metabolites for central histamine receptors of rodents, *Pharmacol Res*, 43(4):389-392.

86. Kawabata A, Sasa M, Kishimoto T, Takaori S. (1991). Effects of Anti- Vertigo Drugs on Medial Vestibular Nucleus Neurons Activated by Horizontal Rotation, Japan. *J Pharmacol*, 55:101-106.
87. Anderson WD, Kubicek WG. (1971). Effects of Betahistine HCl, Nicotinic Acid, and Histamine on Basilar Blood Flow in Anesthetized Dogs. *Stroke*, 2:409-415
88. Baressi M, Bruschini L, Volsi GL, Manzoni D (2005). Effects of Betahistine on the spatiotemporal response properties of vestibulospinal neurons to labyrinthine volleys. *Eur J Pharmacol*, 515:73-82.
89. Frew IJC, Menon GN. (1976). Betahistine hydrochloride in Ménière's disease. *Postgrad Med J*, 52:501-503.
90. Dziadziola JK, Laurikainen EL, Rachel JD, Quirk WS. (1999). Betahistine increases vestibular blood flow. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 120(3):400-405.
91. Reynolds JEF (Ed), (1982). Martindale The Extra Pharmacopoeia. 28th Ed, , London Pharmaceutical Press, London, p.1616.
92. Meyer JS, Mathew NT, Hartman A, Rivera VM. (1974). Orally administered betahistine and regional cerebral blood flow in cerebrovascular disease. *J Clin Pharmacol*, 14:280.
93. Pathy J, Menon G, Reynolds A, Van Strik R. (1977). Betahistine hydrochloride (Serc) in cerebrovascular disease: a placebo-controlled study. *Age Ageing*, 6: 179- 184.
94. Sweetman SC (Ed), (2007). Martindale: The Complete Drug Reference. 35th Ed, Pharmaceutical Press, US
95. Laurikainen E, Miller JF, Pyykkö I. (2000). Betahistine Effects on Cochlear Blood Flow: From the Laboratory to the Clinic. *Acta Otolaryngol*, (Suppl 544): S5-S7.
96. Tighilet B, Trottier S, Lacour M. (2005). Dose- and duration-dependent effects of betahistine dihydrochloride treatment on histamine turnover in the cat. *Eur J Pharmacol*, 523:54-63.
97. Strupp M, Hupert D, Frenzel C, Wagner J, Hahn A, Jahn K, Zingler VC, Mansmann U, Brandt T. (2008). Long-term prophylactic treatment of attacks of vertigo in Meniere's disease- comparison of a high with a low dosage of betahistine in an open trial. *Acta Otolaryngol*, 128:520-524.

98. Cavaliere M, Mottola G, Iemma M. (2005). Benign Paroxysmal Positional Vertigo: A study of two manoeuvres with and without betahistine. *Acta Otorhinolaryngol*, 25:107-112.
99. Mira E, Guidetti G, Ghilardi PL, Fattori B, Malannino N, Maiolino L, Mora R, Ottoboni S, Pagnini P, Leprini M, Pallestrini E, Passali D, Nuti D, Russolo M, Tirelli G, Simoncelli C, Brizi S, Vicini C, Frasconi P. (2003). Betahistine dihydrochloride in the treatment of peripheral vestibular vertigo. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 260:73-77.
100. Szelag A, Trocha M, Merwid-Lad A. (2001). Betahistine inhibits food intake in rats. *Pol J Pharmacol*, 53:701-707.
101. Sakata T. (1995). Histamine receptor and its regulation of energy metabolism. *Obes Res*, 3(Suppl 4):S541- S548.
102. Rossi R, Prete ED, Scharrer E. (1999). Effect of the H1-Histamine Receptor Agonist Betahistine on Drinking and Eating Behavior in Pygmy Goats, *Physiol Behav*, 66(3):517-521.
103. Bray GA, Greenway FL. (2007). Pharmacological Treatment of the Overweight Patient. *Pharmacol Rev*, 59:151-184.
104. Phillips JS, Prinsley PR. (2008). Prescribing practices for Betahistine. *Br J Clin Pharmacol*, 65(4):470-471.
105. Serc[®] Product Monograph, 2004.
106. III: Sustained-release betahistine dihydrochloride, (1992). *Acta Oto-Laryngologica*, 112 (1) (Suppl 497): 45-54.
107. Reynolds JEF (Ed), (1989). Martindale The Extra Pharmacopoeia. 29th Ed, London Pharmaceutical Press, p. 1494,
108. European Pharmacopoeia (2004) 5th edition, supplement 5.1, Council of Europe, Cedex, France.
109. Ogiso T, Iwaki M, Jing-ping Z, Tanino T, Noguchi A. (1994). Percutaneous Absorption of Betahistine Through Rat Skin and Pharmacokinetic Analysis of the Plasma Concentration, *Int. J. Pharm* (102) 141-149.
110. Moffat AC, David M. (2004). Clarke's Analysis of Drugs and Poisons, Pharmaceutical Press Software, Medicines Complete browser version 1.1.1586.26116, publications division of the Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, London,.

111. Morissette G, Lodge R, Bouthillier J, Marceau F. (2008). Receptor-independent, vacuolar ATPase-mediated cellular uptake of histamine receptor-1 ligands: Possible origin of pharmacological distortions and side effects, *Toxicology and Applied Pharmacology* (229) p. 320–331.
112. Ogiso T, Hirota T, Iwaki M, Hino T, Tanino T. (1998). Effect of temperature on percutaneous absorption of terodiline, and relationship between penetration and fluidity of the stratum corneum lipids, *Int J Pharm* (176) 63-72.
113. Chen XY, Zhong DF, Duan JL, Yan BX. (2003). LC-MS-MS analysis of 2-pyridylacetic acid, a major metabolite of betahistine: application to a pharmacokinetic study in healthy volunteers, *Xenobiotica*, 33 (12) p. 1261-1271.
114. Ogiso T, Niinaka N, Iwaki M. (1996) (a). Mechanism for enhancement effect of lipid disperse system on percutaneous absorption. *J. Pharm. Sci.* (85): 57-64
115. Ogiso T, Ogiso H, Paku T, Iwaki M. (1996) (b) Phase transitions of rat stratum corneum lipids by an electron paramagnetic resonance study and relationship of phase states to drug penetration, *Biochim. Biophys. Acta*, 1301: 97-104.
116. Ogiso T, Niinaka N, Iwaki M, Tanino T. (1997). Mechanism for enhancement effect of lipid disperse system on percutaneous absorption: Part II, *Int J Pharm* (152) p. 135-144.
117. ICH Harmonised Tripartite Guideline, Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Q2(R1) (November 2005).
118. Analytical Procedures and Methods Validation: Chemistry, Manufacturing, and Controls Documentation, Draft Guidance, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER), August 2000.
119. Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures: Methodology (Q2B) (CPMP/ ICH/ 281/ 95) (November 1996).
120. Khedr A, Sheha M. (2008). Stress degradation studies on betahistine and development of a validated stability-indicating assay method. *J Chromatogr B*, 869: 111–117.
121. Kligman AM, Christophers E.(1963). Preparation of isolated sheets of human stratum corneum, *Arch Dermatol* 88(6):702-705.

122. Lab Course I: Skin. (2008). 7th International Conference and Workshop on Biological Barriers and Nanomedicine Advanced Drug Delivery and Predictive non vivo Testing Technologies, Saarbruecken, Germany, February 20-29.
123. Shamma RN, Basalious EB, Shoukri RA. (2011). Development and optimization of a multiple-unit controlled release formulation of a freely water soluble drug for once-daily administration, *Int J Pharm*, 405 (1-2) pp 102,112.
124. Fossati F. (2005). Controlled release compositions of betahistine. Patent EP 1,158,963.
125. Fabiani F. (2003). Controlled release compositions of betahistine. Patent EP 502,642.
126. Jean SC, Alain CD. (1981). New galenical form of adminstartion of betahistine and its derivative and the preparation thereof. US Patent 4(264)574.
127. Heda AA, Sonawane AR, Naranje GH, Somani VG, Puranik PK. (2010). Development and in vitro evaluation of betahistine adhesive- type transdermal delivery system. *Trop J Pharm Res*, 9 (6):516-524.
128. Hathout RM, Nasr M. (2013). Transdermal delivery of betahistine hydrochloride using microemulsions: Physical characterization, biophysical assessment, confocal imaging and permeation studies. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 110: 254-260.
129. Verma PRP, Iyer SS. (2000). Transdermal delivery of Propranolol Using Mixed Grades of Eudragit: Design and In Vitro and In Vivo Evaluation. *Drug Dev Ind Pharm*, 26 (4): 471-476.



MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ARAŞTIRMA ETİK KURULU

SAYI: B.30.2.MAR.0.01.02/AEK/311
İLGİ :

08.05.2009

Sayın : Prof.Dr. Betül DORTUNÇ

MAR-YÇ-2009-0177 protokol nolu “ Betahistin dihidroklorünün transdermal amaçlı farklı tipteki formülasyonlarının hazırlanması ve in vitro-in vivo değerlendirmesi ” isimli projeniz Fakültemiz Araştırma Etik Kurulu tarafından incelenerek onaylanmıştır.

Prof. Dr Haner DİRESKENELİ
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Araştırma Etik Kurul Başkanı

Prof. Dr. Tülin ERGUN.....Dermatoloji.....

Prof. Dr. Nesrin KARTAL ÖZER...Biyokimya.....*Katılmadı*.....

Prof. Dr. Haluk KAZOKOĞLU.....Göz Hast.....

Prof. Dr. Abdullah BERKET..... Çocuk Sağlığı ve Hast.....

Prof. Dr. Çiğdem ÇELİKEL.....Patoloji.....

Doç. Dr. Zafer GÖREN.....Farmakoloji.....

Öğr. Gör. Dr.Tolga GÜVEN.....Deontoloji.....

Öğr. Gör.Dr. Gürkan SERT.....Deontoloji.....

Prof. Dr. Nazan KÜÇÜKKELEŞ.....Diş Hekimliği.....*Katılmadı*.....

Prof. Dr. Gül AYANOĞLU DÜLGER.....Ecz. Fakültesi.....

10) HASTA ONAY FORMU

(Form çalışmanın ismini ve varsa protokol numarasını içermelidir.)

“Betahistin dihidroklorürün transdermal amaçlı farklı tipteki formülasyonlarının hazırlanması ve in vitro- in vivo değerlendirilmesi” başlıklı proje bilgilendirme formunu okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarda söz konusu bu çalışmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ya da zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum. İki nüsha halinde düzenlenmiş olan bu bilgilendirme formu metninin bir örneğini aldım.

Adı Soyadı: *Tülin Kır*

Yaşı: *46*

Adresi: *Libadiye cad. Canlar sok. No: 4 D-10*
Cumhuriyet mah. Üsküdar

Telefonu: *0216 344 65 79*

Tarih: *24-03-2010*

İmza:



Açıklamaları yapan araştırmacının adı soyadı imzası:

Dr. Furkan CERYEL
Marmara Üniversitesi
Araştırma ve Uygulama Hastanesi
Plastik ve Rekonstrüktif Cerr. AD.
Dip. Tesc. No: 145A77

Prof. Dr. Mehmet BAYRAMIÇLI
(Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı)



MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURULU
PROJE ONAY FORMU

PROJENİN ADI : Betahistin dihidroklorürün transdermal amaçlı farklı tipteki formülasyonlarının hazırlanması ve in vitro- in vivo değerlendirilmesi
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ : Prof. Dr. Betül Dortunç
PROJEDEKİ ARAŞTIRICILAR : Araştırma Görevlisi Sevinç Şahbaz
PROJENİN YÜRÜTÜLECEĞİ LABORATUVAR : Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI : 43.2009.mar- 11.06.2009

Sayın : Prof. Dr. Betül Dortunç

Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'na "Betahistin dihidroklorürün transdermal amaçlı farklı tipteki formülasyonlarının hazırlanması ve in vitro- in vivo değerlendirilmesi" isimli projeniz Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından incelenerek onaylanmıştır. Çalışmalarınızda başarılar dileriz.

Prof.Dr. Berrak YEĞEN
Hayvan Deneyleri Etik Kurul
Başkanı

Doç.Dr. Zafer GÖREN

Prof.Dr. Göksel ŞENER

Prof.Dr. Ayşen YARAT

Doç.Dr. Halil TUĞTEPE

Öğr. Gör. Dr. Gürkan SERT

Vet. Hek. Dilek ÖZBEYLİ

Av. Serkan DURAN

Av. Onur GİR

Not: Deneylerin yapılması sırasında ortaya çıkan zorluklar, deney protokolünde yapılması gereken değişiklikler, "Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu'na" bildirilmelidir. Bütün yazışmalarda, proje onay tarihi ve onay sayısı belirtilmelidir. Araştırmacıların proje ile yapılan bütün yayınlarda proje onay tarih ve numarası belirtmesi zorunludur.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Sevinç	Soyadı	Şahbaz
Doğum Yeri	Havza	Doğum Tarihi	19.04.1981
Uyruğu	Türkiye Cumhuriyeti	TC Kimlik No	24977485196
E-mail	sevren@marmara.edu.tr	Tel	0535 976 2279

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans		
Lisans	Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2003
Lise	Kocaeli Anadolu Lisesi	1999

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Araştırma Görevlisi	Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2005-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi

* Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Yabancı Dil Sınav Notu #								
KPDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	80							

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	LES 64.91	LES 64.52	LES 64.13
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

YAYINLAR

Sipahigil O., Şahbaz S., Dortunç B., Turkoglu M., “Diffusion Of Metronidazole Through Human Skin and Synthetic Membranes” Acta Pharm.Sci. 53(1), 99- 105 (2011).

Farmasötik Teknoloji Laboratuvar Kitabı, Dortunç B., Türkoğlu M., Sipahigil O., Uğurlu T., Özaydın F., Şahbaz S., Alarçin E., Gedik G., Yaşayan G., 2009, İstanbul.

PROJELER

“Betahistin Dihidroklörürün Transdermal Amaçlı Farklı Tipteki Formülasyonlarının Hazırlanması ve İn Vitro- İn Vivo Değerlendirilmesi”. TÜBİTAK (Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu) 1002 Hızlı Destek projesi, (Proje No: 110S008) (2010- 2011).

“Kaptopril İçeren Matris Tipindeki Transdermal Terapötik Sistemlerin Mekanik ve Farmakodinamik Özelliklerinin Değerlendirilmesi”. BAPKO (Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi) A tipi proje (Proje No: SAG-A- 060510-0111) (2010-2012).

ULUSLARARASI TOPLANTILARDA SUNULAN BİLDİRİLER

KERİMOĞLU O. , ŞAHBAZ S. , DORTUNÇ B. , ŞEHİRLİ Ö. & ŞENER G. (2012). *Mechanical Evaluation Of Captopril Containing Matrix Type Transdermal Therapeutic Systems*, 16 th International Pharmaceutical Technology Symposium, Antalya, Turkey.

ŞAHBAZ S. & DORTUNÇ B. (2010). *Modification and Optimization of a High Performance Liquid Chromatographic Method for Assay of Betahistine* 3. International Meeting on Pharmacy & Pharmaceutical Sciences. İstanbul, Turkey.

ŞAHBAZ S. & DORTUNÇ B. (2008). *Formulation Studies and in vitro evaluation of betahistine dihydrochloride containing transdermal systems* 7 th International Conference and Workshop on Biological Barriers and Nanomedicine Advanced Drug Delivery and Predictive non vivo Testing Technologies. Saarbruecken, Germany.

TÜRKOĞLU M., ŞAHBAZ S. & GEDİK, G. (2008). *Monitoring, comparing and artificial neural network modeling of different skin areas* 14. IPTS. Antalya, Turkey.

ŞAHBAZ S., GEDİK G., COLBOURN E. & TÜRKOĞLU M. (2007). *Artificial neural network modeling and optimization of shampoo formulations* 7. ICOS. İstanbul, Turkey.

SİPAHİGİL O., ŞAHBAZ S., TÜRKOĞLU M., DORTUNÇ B. & EMBİL K. (2006). *Diffusion of metronidazole through human skin and synthetic membranes* 13. IPTS Antalya, Turkey.

TÜRKOĞLU M., ŞAHBAZ S. & TEMEL Ö. (2006). *Artificial neural network modeling and optimization of diphenhydramine matrix tablets based on HPMC grades* 13. IPTS Antalya, Turkey.