

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EMÜLSİYONLAŞMA-İYONOTROPİK JELLEŞME
TEKNİĞİYLE ETODOLAK YÜKLÜ ALJİNAT
MİKROKÜRELERİNİN HAZIRLANMASI**

Kimyager Fulya GÜNAY

**FBE Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programında
Hazırlanan**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sıdıka SUNGUR

İSTANBUL, 2010

İÇİNDEKİLER

KISALTMA LİSTESİ.....	V
ŞEKİL LİSTESİ.....	VI
ÇİZELGE LİSTESİ.....	VII
ÖNSÖZ.....	VIII
ÖZET.....	IX
ABSTRACT.....	X
1.GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2.GENEL BÖLÜM.....	2
2.1.Kontrollü Salım Sistemleri.....	2
2.1.1. Kontrollü Salımda Kullanılan İlaç Taşıyıcıları.....	5
2.1.1.1. Veziküler Sistemler.....	7
2.1.1.1.1. Lipozomlar.....	7
2.1.1.1.2. Niozomlar.....	8
2.1.1.2. Emülsiyon Sistemler.....	9
2.1.1.3. Miseller.....	9
2.1.1.4. Hidrojeller.....	9
2.1.1.5. Partiküler Sistemler.....	10
2.1.1.5.1. Mikroküreler.....	11
2.1.1.5.2. Mikrokapsüller.....	12
2.1.1.5.3. Nanopartiküller.....	12
2.1.1.5.3.1. Katı Lipid Nanopartiküller.....	13
2.1.1.5.3.2. Seramik Nanopartiküller.....	13
2.1.1.5.3.3. Manyetik Nanopartiküller.....	13
2.1.1.5.3.4. Dendrimerler.....	14
2.1.2. Kontrollü Salım Sistemlerinin Salım Mekanizmaları Ve İlaç Salım Kinetikleri..	15
2.1.2.1. Difüzyon Kontrollü Sistemler.....	15
2.1.2.2. Aktivasyon Sonucu Kontrollü Salım Sağlayan Sistemler.....	16
2.1.2.3. Çevreye Duyarlı Sistemler.....	17
2.1.2.4. Hedeflendirilmiş İlaç Taşıyıcı Sistemler.....	18
2.1.3. Mikroküre Hazırlama Yöntemleri.....	18
2.1.3.1. Monomerlerin Polimerizasyonundan Hazırlanan Mikroküreler.....	18
2.1.3.1.1. Emülsiyon Polimerizasyonu.....	18
2.1.3.1.2. Dispersiyon Polimerizasyonu.....	18
2.1.3.1.3. Süspansiyon Polimerizasyonu.....	19
2.1.3.1.4. Sedimantasyon Polimerizasyonu.....	19
2.1.3.2. Lineer Polimerlerden Hazırlanan Mikroküreler.....	19
2.1.3.2.1. Emülsiyon Oluşturma-Çözücü Buharlaştırma Yöntemi.....	20
2.1.3.2.2. Emülsiyon Oluşturma-İyonotropik Jelleşme Yöntemi.....	21
2.1.3.2.3. Emülsiyon Oluşturma-Koaservasyon Yöntemi.....	22
2.1.3.2.4. Emülsiyon Oluşturma-Püskürterek Kurutma Yöntemi.....	23

2.1.3.2.5. Membran Emülsifikasyonu.....	23
2.1.3.2.6. Ektrüzyon-Sferonizasyon Yöntemi.....	23
2.1.3.2.7. Sıcak Erimiş (Hot melt) Mikroenkapsülasyon.....	24
2.1.3.2.8. Damlatma Yöntemi.....	24
2.1.3.2.9. Faz değişimi (inversion) mikroenkapsülasyonu.....	24
2.1.3.3. Mikrokürelerde Karakterizasyon Yöntemleri	25
2.1.3.3.1. In vitro Karakterizasyon Yöntemleri.....	25
2.1.3.3.2. In Vivo Analiz Yöntemleri.....	28
2.2. Sodyum Aljinat	28
2.2.1. Elde Edilmesi	29
2.2.2. Kimyasal Özellikleri	29
2.2.2. Kontrollü İlaç Salımındaki Kullanımı.....	32
2.3. Eudragit	34
2.3.1. Özellikleri.....	34
2.3.2. Kontrollü İlaç Salımındaki Kullanımı.....	35
2.4. Etodolak	36
2.4.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	36
2.4.2. Farmakolojik Özellikleri	36
2.4.2.1. İlaç Metabolizması ve Farmakokinetik	40
2.4.2.2. Yan Etkiler	41
2.4.3. Analiz Yöntemleri	41
2.4.3.1. Tanınma ve Ayırma Yöntemleri.....	41
2.4.3.2. Miktar Tayini Yöntemleri	44
2.4.4. Etodolak ile Hazırlanmış Kontrollü Salım Sistemleri.....	45
2.4.4.1. Uzatılmış Salım (Sustained Release)	45
2.4.4.2. Kontrollü Salım	46
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	47
3.1. Kullanılan Malzemeler	47
3.1.1. Kimyasal Maddeler	47
3.1.2. Çözeltiler:	47
3.1.3. Araç ve Gereçler.....	48
3.2. Teknikler	48
3.2.1. Susuz CaSO ₄ 'ın Hazırlanması.....	48
3.2.2. Mikroküre Hazırlanması	49
3.2.3. Optimum Koşulların Saptanması	49
3.2.3.1. Aljinat'ın Çözünme Süresi	49
3.2.3.2. Emülsiyonu Karıştırma Hızı.....	49
3.2.3.3. İki fazın karıştırılması	50
3.2.3.4. Sıcaklık.....	50
3.2.3.5. Aljinat Tipleri	50
3.2.3.6. Yardımcı Polimer İlavesi	50
3.2.3.7. CaSO ₄ miktarı:.....	50
3.2.4. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	50
3.2.5. Mikrokürelerin Etodolak İçeriğinin Saptanması.....	50
3.2.6. Enkapsülasyon Etkinliği (Encapsulation Efficiency).....	51

3.2.7. İlaç Yükleme Kapasitesi (Drug Loading Capacity)	51
3.2.8. Verim (Recovery, Yield).....	51
3.2.9. Mikroskop İncelemesi	51
3.2.10. Elek Analizi	51
3.2.11. Etodolak Salımının İncelenmesi.....	51
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	53
4.1. Susuz CaSO ₄ 'ın Hazırlanması.....	53
4.2. Optimum Koşulların Saptanması	55
4.2. 1. Aljınatın Çözünme Süresi:	55
4.2.2. Emülsiyonu Karıştırma Hızı:	55
4.2.3. İki Fazın Karıştırılması:	55
4.2.4. Sıcaklık:.....	55
4.2.5. Aljınat Tipleri:.....	55
4.2.6. Yardımcı Polimer İlavesi:	56
4.2.7. CaSO ₄ Miktarı:	56
4.2.8. Yöntem:	56
4.3. Ölçü Eğrisi.....	56
4.4. Enkapsülasyon Etkinliği, İlaç Yükleme Kapasitesi ve Verim	57
4.5. Mikroskop İncelemesi	58
4.6. Elek Analizi	59
4.7. Etodolak Salımının İncelenmesi.....	59
5. KAYNAKLAR.....	62
6.ÖZGEÇMİŞ	76

KISALTMA LİSTESİ

- AFM:** Atomic Force Microscopy (Atomik Kuvvet Mikroskobu)
CMC: Critical Micelle Concentration (Kritik Misel Konsantrasyonu)
COX-2: Siklooksijenaz
DSC: Differential Scanning Calorimetry (Diferansiyel Taramalı Kalorimetri)
DTA: Differential Thermal Analysis (Diferansiyel Termal Analiz)
EA: Elemental Analysis (Elementel Analiz)
EPR: Enhanced Permeability and Retention (Geliştirilmiş Geçirgenlik ve Alıkonma)
FTIR: Fourier Transform Infrared (Fourier Dönüşümlü İnfrared)
HPC: Hydroxypropyl cellulose (hidroksi propil selüloz)
HPLC: High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
ITK: İnce tabaka kromatografisi
LD₅₀/ED₅₀: Lethal Dose (öldürücü doz) / Effective Dose (etkili doz)
LUV: Large uni-lamellar vesicle (büyük ve tek tabakalı vezikül)
MLV: Multi lamellar vesicle (çok tabakalı vezikül)
NMR: Nuclear Magnetic Resonance (Nükleer Manyetik Rezonans)
NSAIDs: Non steroidal anti-inflammatory drugs (steroid dışı yangı önleyici ilaçlar)
NSAI: Non steroidal anti-inflamatuar ilaçlar
PACA: Polli(alkilsiyanoakrilatlar)
PBS: Phosphate Buffered Saline (Fosfat tamponlu serum fizyolojik)
PDMS: Poli(dimetilsiloksan)
PEG: Polietilen glikol
PEO: Poli(etilen oksid)
PEVAc: Etilen vinil asetat kopolimeri
PGA: Poli(glikolik asit)
PHEMA: poli(hidroksietilmetakrilat)
PLA: Poli(laktik asit)
PLGA: Poli(laktik –ko-glikolik asit)
PTFE: Poli(tetrafloroetilen)
RES: Retikülo Endotelyal Sistem
RME: Receptor-Mediated Endocytosis (Reseptöre duyarlı endositoz)
SEM: Scanning Electron Microscopy (Taramalı Elektron Mikroskobu)
SGF: Simulated Gastric Fluid (Yapay Mide Ortamı (pH 1,2))
SPM: Scanning Probe Microscopy (Taramalı Uç Mikroskobu)
STM: Scanning Tunneling Microscopy (Taramalı Tünelleme Mikroskobu)
SUV: Small uni-lamellar vesicle (küçük ve tek tabakalı vezikül)
S/Y: Yağda su
S/Y/S: suda (yağda su)
TGA: Thermo Gravimetric Analyse (Termo Gravimetrik Analiz)
TEM: Transmission Electron Microscopy (Geçirmeli Elektron Mikroskobu)
U.S. FDA: United States Food and Drug Administration (Amerikan İlaç ve Gıda İdaresi)
USP: United States Pharmacopeia (Amerikan Farmakopesi)
UV-Vis: Ultra-violet- Visible (UV- görünür bölge)
Y/S: Suda yağ
Y/Y: Yağda yağ

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. Konvansiyonel ve kontrollü salım ilaçlarının plazma konsantrasyonunun zamana bağlı olarak değişim grafiği.....	3
Şekil 2.2. Bazı uygulama şekillerine göre plazma ilaç konsantrasyonları.....	5
Şekil 2.3. Polimer-ilâç konjugatı	7
Şekil 2.4. Lipozom.....	7
Şekil 2.5. Niozom.....	8
Şekil 2.6. Emülsiyon tipleri.....	9
Şekil 2.7. Akıllı jellerde ilâç salımı.....	11
Şekil 2.8. Dendritik yapılar ve ilâç salımında kullanımına uygun tasarımları.....	14
Şekil 2.9. a) Matriks sistemler b) Rezervuar sistemler.....	15
Şekil 2.10. Biyobozunur sistemler a) yüzeyden parçalanma ve ilâç salımı b) polimerin yavaşça çözünmesi ve ilâç salımı	20
Şekil 2.11. Püskürterek Kurutma.....	23
Şekil 2.12. Mikroküre oluşumunda etkili olan özellikler listesi.....	25
Şekil 2.13. DTA termogramı.....	26
Şekil 2.14. Sodyum aljinat'ın üretim akış şeması.....	29
Şekil 2.15. Aljinat'ın kimyasal yapısı.....	29
Şekil 2.16. Aljinat monomerleri.....	30
Şekil 2.17. G-G, M-M ve G-M bloklarının stereokimyasal yapıları.....	30
Şekil 2.18. Aljinat'ın Ca^{2+} iyonlarıyla şelatlaşarak yumurta kutusu yapısı oluşturması.....	31
Şekil 2.19. Eudragit NE 30D.....	34
Şekil 2.20. Eudragit NE 30 D IR spektrumu.....	35
Şekil 2.21. Etodolak'ın kimyasal yapısı.....	36
Şekil 2.22. Etodolak'ın diferansiyel taramalı kalorimetri termogramı (DSC).....	37
Şekil 2.23. Etanol'deki 20µg/mL etodolak çözeltisinin UV spektrumu.....	38
Şekil 2.24. Etodolak'ın IR spektrumu.....	38
Şekil 2.25. Etodolak'ın elektron çarptırma kaynağı kullanarak alınmış kütle spektrumu... ..	39
Şekil 2.26. Etodolak'ın CD_3OD çözeltisinde hazırlanmış proton NMR spektrumu.....	39
Şekil 2.27. Etodolak'ın elde edilmesi.....	42
Şekil 2.28. Etodolak'ın diğer safsızlıkları.....	42
Şekil 4.1. $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ ' nun termogramı.....	53
Şekil 4.2. $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ ' a ait DSC-TGA termogramı.....	54
Şekil 4.3. Susuz $CaSO_4$ ' a ait DSC-TGA termogramı.....	54
Şekil 4.4. Etodolak ölçü eğrisi.....	57
Şekil 4.5. Etodolak yüklü eudregit-aljinat mikroküresinin polarize mikroskop görüntüsü.....	59
Şekil 4.6. Etodolak'ın pH 1,2 tamponundaki ölçü eğrisi.....	60
Şekil 4.7. Etodolak'ın PBS'deki ölçü eğrisi.....	60
Şekil 4.8. pH 1,2 ve PBS'deki salım grafiği.....	61

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 2. 1. Akıllı Hidrojeller.....	17
Çizelge 2.2. Emülsiyonlaşma-İyonotropik Jelleşme Tekniğiyle Aljinat Mikroküreleri HazırlanmasındaYapılan Çalışmalar.....	33
Çizelge 2.3. Aljinat Mikroküreleri Hazırlamada Kullanılmış Olan Diğer Teknikler.....	34
Çizelge 3.1. Kimyasal Maddeler.....	47
Çizelge 3.2. Araç ve Gereçler.....	48
Çizelge 3.3. Aljinat tipleri.....	50
Çizelge 4.1. Etodolak Yüklü Eudragit Katkısız Mikrokürelere.....	58
Çizelge 4.2. Etodolak Yüklü Eudragit Katkılı Mikrokürelere	58
Çizelge4.3. Elek analizi.....	59
Çizelge 4.4. Mikrokürelere yapay mide ortamındaki salım profili.....	60
Çizelge 4.6. Mikrokürelere pH 7,4'teki etodolak salım profili.....	60

ÖNSÖZ

Tez çalışmalarım süresince desteğini hiçbir zaman esirgemeyen engin bilgi, tecrübe ve yardımlarıyla yol gösteren çok değerli hocam Sayın Prof.Dr. Sıdika Sungur'a; kontrollü ilaç salımı konusundaki değerli bilgi ve deneyimleriyle tezime destek veren sevgili hocam Sayın Prof.Dr. Ayla Gürsoy'a; laboratuvar çalışmalarım sırasında bana çok yardımcı olan Sayın hocalarım Yrd. Doç. Dr. Güzin Alpdoğan'a ve Araş. Gör. Şule Dinç'e, polarize mikroskop kullanımıyla ilgili yardımı için Prof.Dr. Belkıs Bilgin Eran'a ve yardım ve ilgilerini gördüğüm Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Bölümünün elemanlarına; eğitimim ve çalışmalarım sırasında desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Fulya Günay

ÖZET

Etodolak, steroid dışı yangı önleyici (NSAID) türü bir ilaç maddesidir. Bu tür ilaçlar az ya da çok şiddetli mide iritasyonuna yol açabilirler. Bu çalışmada, etodolak yüklü aljinat-eudragit mikroküreleri Gürsoy ve arkadaşlarının (85) emülsiyonlaşma-iyonotropik jelleşme tekniğiyle hazırlanmıştır. Mikrokürelerin hazırlanmasında farklı G/M oranları ve viskozitelerine sahip üç tip sodyum aljinat katkısız ya da Eudragit NE 30D (etil akrilat- metil akrilat kopolimeri) katkılı olarak, sertlik, küresel şekil, boyut, ilaç enkapsülasyon etkinliği, ilaç yükleme kapasitesi ve verim yönünden incelenmiştir. En iyi mikroküreler Eudragit NE 30 D katkılı LF 200 DL aljinat ile elde edilmiştir. Kürelerin enkapsülasyon etkinliği, ilaç yükleme kapasiteleri ve verimi sırasıyla %56,10 , %16,00 ve %85,70 olarak tayin edilmiştir. Partikül boyut analizi sonuçları ortalama mikroküre çapının 500µm olduğunu göstermiştir. In vitro salım çalışmaları yapay mide ortamı (pH =1,2) ve yapay barsak ortamında (pH = 7,4) yapılmıştır. Mikrokürelere yüklenmiş etodolak'ın pH 1,2'de %10'u 2 saat içerisinde salınmış, teste pH 7,4 ile devam edildiğinde 1 saat içinde %80'inin salındığı saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Steroid dışı yangı önleyici ilaçlar, etodolak, sodyum aljinat, eudragit , emülsiyonlaşma-iyonotropik jelleşme, mikroküreler.

ABSTRACT

Etodolac is a non-steroidal anti inflammatory drug (NSAID). These drugs can provoke mild to severe gastric irritation side effects. In this study, etodolac loaded alginate-eudragit microspheres were prepared by emulsification-ionotropic gelation method of Gürsoy et al. (85). Three types of sodium alginate having different G/M ratios and viscosities with or without additive polymer of Eudragit NE 30D (ethyl acrylate-methyl metacrylate copolymer) were investigated for the preparation of microspheres, in the view of hardness, spherical shape, size, drug encapsulation efficiency, drug loading capacity and recovery. The best microspheres were obtained using LF 200 DL alginate with eudragit NE 30 D additive polymer. Encapsulation efficiency, drug loading capacity and recovery values of these microspheres were determined as 56,10 %, 16,00 % and 85,70% respectively. The results of particle size analysis showed that mean diameter of microspheres were 500 μ m. In vitro release studies were carried out in simulated gastric fluid (pH = 1,2) and simulated intestinal fluid (pH = 7,4). 10% the drug was released within 2 h in pH = 1,2 and 80 % was released after 1 h in pH 7,4.

Key words: Non-steroidal anti inflammatory drugs, NSAIDs, etodolac, sodium alginate, eudragit, emulsification-ionotropic gelation microspheres.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kontrollü ilaç salımı, ilacı belirli bir zamanda belirli bir miktarda salacak şekilde tasarımının yapıldığı bir yöntemdir. Bu yöntemde, ilaç molekülleri, bir taşıyıcı molekül yardımıyla vücuda verilir ve böylece fizyolojik ve çevresel etkenlerden kaynaklanan degradasyonu önleme, düşük yarı-ömürlü ilaçların yarı-ömürünü uzatma, biyo-yararlanımı artırma gibi çeşitli olumlu özellik kazanırlar. Bu taşıyıcıların mikroküre olması, etkin maddeyi kontrollü bir şekilde salması, yapı ve ilaç aktivitesini değiştirmemesi, etkin maddeyi hedef organ, doku ve hücreye taşıması, hedefe ulaşana dek etkin madde sızıntısı olmaması, in-vitro ve in vivo koşullarda dayanıklı olması, düşük dozda ilaç kullanımına olanak sağlaması, düşük doza bağlı olarak toksisitenin azalması, gibi avantajları vardır. Bu taşıyıcıların biyolojik sistemle uyumlu olması, biyolojik olarak parçalanabilmesi istenir.

Bu tez çalışmasında non-steroidal anti-inflamatuar ilaç olan Etodolak içeren aljinat mikrokürelerinin hazırlanması amaçlanmıştır. Hazırlama tekniği olarak emülsiyonlaşma-iyonoropik jelleşme yöntemi kullanılmıştır.

Etodolak, non-steroidal anti-inflamatuar (NSAIDs) (Steroid dışı yangı önleyici ilaçlar) sınıfı ilaçlardandır. Anti-inflamatuar, analjezik ve anti-piretik özellikler gösterir. Osteoartrit, romatoid artrit ve ankilozan spondilitin (bel kemiği romatizması) tedavisinde etkili bir ilaçtır. En önemli yan etkisi, genellikle zayıf ve geri dönüşümlü gastrointestinal rahatsızlıklardır, fakat bazı hastalarda peptik ülser ve gastrointestinal kanamalara rastlanabilir(173). Yarı-ömürü $7,3\pm 4$ saattir. Etodolak'ın mikroküre içerisinde verilmesinin yan etkileri azaltmada ve biyoyararlanımı arttırmada önemi vardır.

Doğal biyopolimerlerin kullanımı toksik riski en aza indirmektedir. Bu amaçla, bir doğal biyopolimer olan ve şeker yapısında olan sodyum aljinat mikroküreleri hazırlanmıştır. İlaç tutunmasını arttırmak ve salımı geciktirmek amacıyla yardımcı polimer olarak Eudragit kullanılmıştır.

2.GENEL BÖLÜM

2.1.Kontrollü Salım Sistemleri

İlaç sanayii özel ihtisas komisyonu sekizinci beş yıllık kalkınma planına ait raporda, ilaçlar, “İnsanlarda hastalıklardan korunma, tanı, tedavi veya bir fonksiyonun düzeltilmesi ya da insan yararına değiştirilmesi için kullanılan genellikle bir veya birden fazla yardımcı madde ile formüle edilmiş etkin madde veya maddeleri içeren bitmiş dozaj şekli olarak tanımlanan tıbbî farmasötik ürünlerdir” şeklinde tanımlanmaktadır(1). İlaçların vücuttaki salımları konvansiyonel ve kontrollü olabilir.

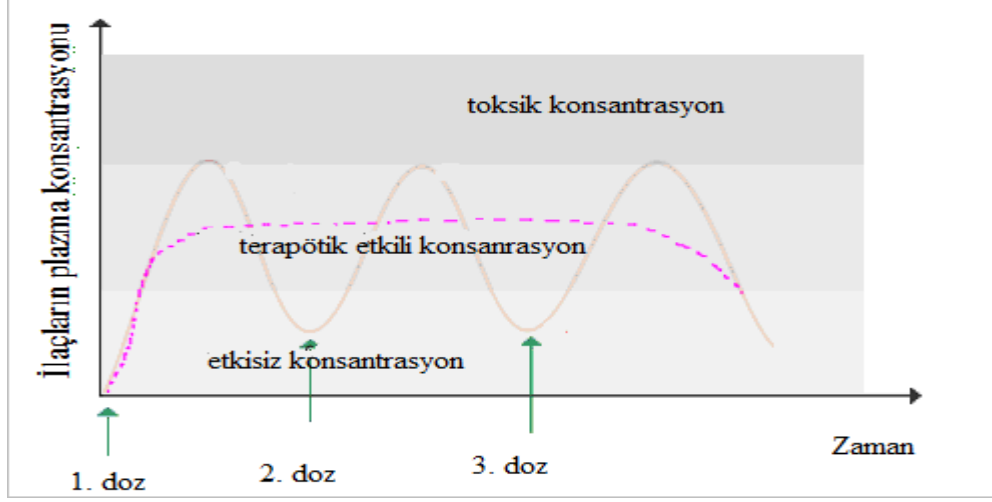
Konvansiyonel dozaj formları ilaç salım hızını kontrol edemez, hızlı bir salım görülür. İlacı terapötik seviyede tutabilmek için sık sık ilaç alımına gereksinim vardır(2). Ayrıca, konvansiyonel ilaçlar vücudun bütün hücrelerinde eşit oranda dağılır. Bu da, terapötik etkisinin yanı sıra aynı zamanda birer toksik madde olan etkin maddenin vücudun diğer organlarında yan etkiler oluşturmaya sebep olur. Tedavi amaçlı kullanılan farmasötikler, sadece hedef organa yönelemediğinden kullanılacak olan dozun da arttırılmasına sebep olmaktadır. Daha yüksek konsantrasyonda gönderilen ilacın toksik düzeylere çıkma riski vardır.

Bunun yanı sıra, yeni sentezlenen farmasötik olarak aktivite gösteren bir molekülün kullanılabilir hâle gelebilmesi için yaklaşık 15 yılı alan bir araştırmadan geçmesi gerekir. Ve sonuçta elde edilen ilaç, yeterince etkili olmayabilir ya da yan etki gösterebilir. Bu da ilaç endüstrisi için zaman ve ekonomik olarak büyük kayıplara yol açar. Bu tür sorunlara karşı koyabilmek için “*kontrollü salım sistemleri*” ismiyle daha etkili biyoyararlanım gösterebilen ve daha az toksik risk oluşturan yeni ilaç salım yöntemleri geliştirilmektedir.

Kontrollü salım, etkin maddenin polimer ya da lipid kökenli taşıyıcı bir sistem içerisinde istenilen sürede, belirlenmiş bir hızla ve gereken miktarda ilaç salacak şekilde tasarımının yapıldığı bir yöntemdir. İlaç, bir polimere ya da bir lipide bağlandığı ya da kapsül şekline getirildiğinde, ilaç güvenliği ve ilacın istenilen etkinliği sağlayabilme yeteneği büyük oranda arttırılabilir ve yeni tedaviler mümkün olur(3).

Böylece, terapötik alanda daha düşük konsantrasyonda ilaç kullanarak, toksik düzeye çıkmadan ve hedef organa yönelerek, doz sayısını azaltıp sabit bir konsantrasyonda, salım hızı daha önceden hesaplanmış daha etkili bir tedavi mümkün olabilir. Bu sayede hastanın tedavisinin yanı sıra, yaşam kalitesinin arttırılması hedeflenmektedir. Şekil 2.1’de

konvansiyonel ve kontrollü salım ilaçlarının plazma konsantrasyonunun zamana bağlı olarak değişim grafiği görülmektedir.



Şekil 2.1. Konvansiyonel ve kontrollü salım ilaçlarının plazma konsantrasyonunun zamana bağlı olarak değişim grafiği (4)

Şekil 2.1’de görüldüğü gibi ilaçların vücutta tedavi edici etkisini gösterebildiği “terapötik alan” olarak ifade edilen bir aralık vardır. Bu aralığın dışına çıktığında ilaçlar ya düşük konsantrasyonda olduğu için etkisiz olur ya da yüksek konsantrasyonlarda olduğu için toksik etki göstermektedir. Bazı ilaçlarda bu terapötik alan oldukça dardır. Terapötik alanı dar olan ilaçların kontrollü salımının hazırlanması tedavinin güvenliğini arttırmaktadır.

Ayrıca terapötik indeksi çok düşük olan ilaçlarda kontrollü salım sistemlerinin tasarlanması yan etkilerin azaltılmasında büyük avantaj sağlar(5). Terapötik indeks, etkin maddenin deney hayvanlarının yarısında öldürücü etki gösterdiği dozun (lethal doz-50 (LD₅₀)), uygulanan hayvanların yarısında iyileştirme etkisi gösteren doza (effective dose-50 (ED-50)) oranıdır. (TI=LD₅₀/ED₅₀) (6).

Alışılmış dozaj şekillerinde, ilaç alındıktan sonra etkin maddenin plazma konsantrasyonu yavaş yavaş artar ve maksimum değere ulaşır daha sonra da azalarak minimuma ulaşır ve etkin konsantrasyon bitince yeni bir doz alınması gerekmektedir. Ve bu tedavi şeklinde ilacın plazma konsantrasyon düzeyi etkisiz bölgeye düşebilir ya da toksik bölgeye çıkabilir. Ayrıca, daha sıklıkla ilaç alındığı için hastanın kullanım kolaylığı açısından dezavantaj göstermektedir.

Kontrollü salım sistemlerinde doz sayısı azdır, bu tür ilaçlar ile daha uzun süre etkili salım mümkündür. Salım hızı bir taşıyıcı sistem ile ayarlı olduğu için kanda belirli bir ilaç

konsantrasyonu elde edildikten sonra bu düzeyden ya düşüş olmaz ya da terapötik alanda çok az bir düşüş görülür. Bu da yan etkilerin azaltılmasında önemlidir.

Kontrollü salım ile daha düşük dozlarda ve etkili minimum konsantrasyonda tedavi amaçlanmaktadır. Özellikle kanser ilaçlarının tedavi etkisinin yanı sıra vücudun diğer organlarına gösterdiği toksik etkilerin azaltılmasında kontrollü ilaç salımı ve ilaçların hedeflendirilebilmesi büyük önem taşımaktadır.

Vücuda giren maddelerin mide-bağırsak sistemindeki enzimlerden etkilenip yıkıma uğraması veya vücudun doğal savunma sistemi olan Retiküloendotelyal Sistem (RES) tarafından ilaçların yabancı madde olarak tanınıp RES hücreleri olan karaciğer, dalak ve kemik iliği tarafından absorplanıp istenilen bölgeye gitmemesi riski vardır. Bu sebeple ilaçların vücutla uyumlu bir ilaç taşıyıcısı ile muamele edilip ilaçların etkinliğinin artırılması kontrollü salımın amaçları arasındadır. RES hidrofilik özellikteki maddeleri tanımamaktadır, bu amaçla ilaç taşıyıcılarının PEG(polietilen glikol) gibi polimerlerle kaplanıp hidrofilik özellik kazandırılması söz konusu olabilir.

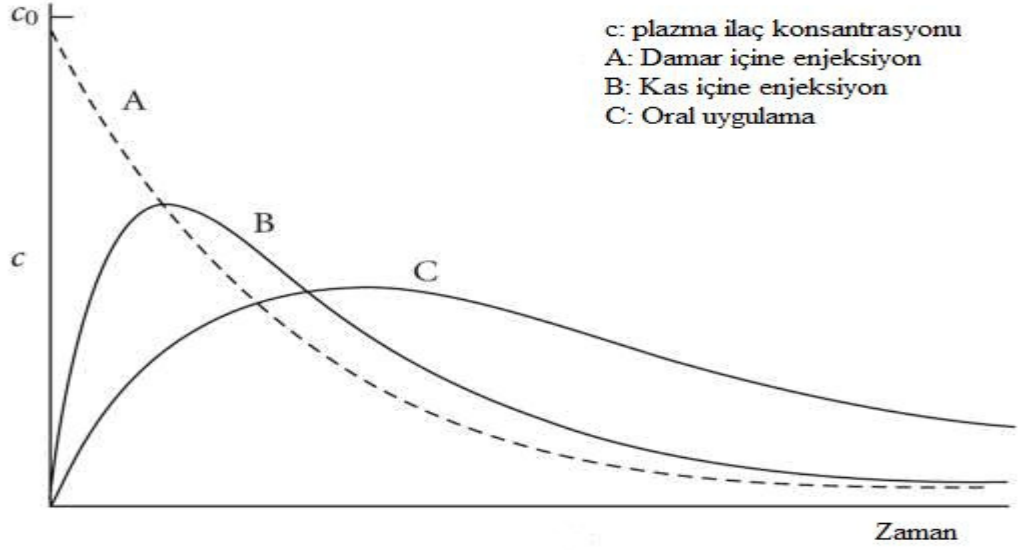
Vücutta gastrik asit salgısı, gastrointestinal kan akımı, karaciğerin metabolik aktivitesi, böbrek kan akımı gibi pek çok fizyolojik olay 24 saatlik bir döngü içerisinde gerçekleşir. Bütün bu etkiler ilaçların farmakokinetik davranışında önemli rol oynamaktadır(7).

Kontrollü salım sistemli ilaçlarda gastrointestinal sistemdeki pH değişikliğinden yararlanır. Midedeki asit ortamında çabukça bozunabilen ilaçlar için kontrollü salım uygundur.(örneğin peptidler, proteinler gibi.) Kontrollü salım ilaçları ile lokal terapi yapılabilir. (kalın bağırsağa hedeflendirilmiş ilaçlar gibi)(8).

Kontrollü salım sistemlerinde ilaçlar kapalı bir sistem içerisinde olduğu için ortam koşullarından etkilenmez. Böylece yarılanma ömrü kısa olan ilaçların yarı ömrü uzatılmış olur.

Kontrollü salım sistemlerinde kullanılan polimerlerin kendisinin veya parçalanma ürününün toksik etki veya biyolojik uyumsuzluk gösterme ihtimali, sistem vücuda verildikten sonra ilaç salımının durdurulamaması, daha yüksek maliyet, her ilacın kontrollü salım sisteminin hazırlanamaması, her ilaca uygun tek bir yöntemin olmaması gibi sakıncaları vardır. Ayrıca yarılanma süresi uzun olan ilaçlarda gereksizdir(9).

Kontrollü salım ilaçları oral yol(ağızdan yutma), parenteral yol(enjeksiyon), oküler yol(gözün korneası üzerine veya gözün kenarlarına ya da boşluklarına yerleştirme), nazal yol(burun mukozasına yapıştırma), bukkal yol (ağız mukozasına yapıştırma), pulmoner yol (akciğerlere ağız veya burundan püskürtme yoluyla), vajinal yol, kolon yolu(kalın bağırsak yolu), rektal yol (anüs yoluyla), transdermal yol (göğüs, kol ve kulak arkası derisi üzerinde yapıştırma yoluyla) veya cerrahi yoldan verilebilir(3). Şekil 2.2’de bazı uygulama şekillerine göre plazma ilaç konsantrasyonları görülmektedir.



Şekil 2.2. Bazı uygulama şekillerine göre plazma ilaç konsantrasyonları (10)

2.1.1. Kontrollü Salımda Kullanılan İlaç Taşıyıcıları

İlaç taşıyıcıları, ilaç yükleme kapasitesini ve ilacın salım özelliklerini optimize etmek, kısa yarı-ömürlü ilaçların yarı-ömürünü uzatmak, toksisiteyi azaltmak ve biyoyararlanımı arttırmak amacıyla geliştirilmişlerdir.

Bu taşıyıcıların üretiminde kullanılan malzemeler yapı bakımından incelendiğinde doğal ve yapay biyo-malzemeler şeklinde ikiye ayırabiliriz. Yapay biyo-malzemeler ise biyo-parçalanabilir ve biyo-parçalanamaz olmak üzere kendi aralarında ikiye ayrılabilir. Aşağıda bazı örnekler verilmektedir:

Doğal biyo-malzemeler: (3)

Protein yapıda: Albümin, jelatin, kollajen, gluten, kazein, fibrinojen, fibronectin, antikorlar

Şeker yapıda: Aljinat, dekstran, kitin, kitosan, nişasta, selüloz, pektin

Lipid yapıda: Stearik asit, etil stearat, tristearin, hidrojenlenmiş bitkisel yağlar, fosfolipidler (soya veya yumurtadan elde edilen lesitin ve onun türevleri olan fosfatidil kolin, fosfatidil etanolamin gibi maddeler)

Nükleotid yapıda: Plazmit DNA

Diğer: Kalsiyum fosfat, seramikler

Yapay Biyo-malzemeler

A) Biyoparçalanabilir

Polli(alkilsiyanoakrilatlar)-(PACA)

Poli(α -hidroksi asitler)

Poli(laktik asit)-(PLA)

Poli(glikolik asit)-PGA

Poli(laktik –ko-glikolik asit)-PLGA

Poli(ortoesterler)

Poli(aminoasitler)

Poli(kaprolakton)

Poli(üretan)

Poli(ϵ -kaprolakton)

B) Biyoparçalanamaz

Hidrojeller:

poli(hidroksietilmetakrilat)-(PHEMA)

poli(metoksietilmetakrilat)

poli(vinil alkol)

poli(vinil asetat)

poli(etilen oksid) (PEO)

poli(etilen glikol) vb.

Silikonlar: poli(dimetilsiloksan) (PDMS)

Etilen vinil asetat kopolimeri PEVAc

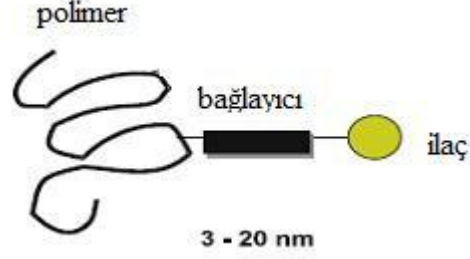
Poloksamerler

Kullanılan polimerlerin molekül ağırlığı ve polidispersite indeksi, camsı geçiş sıcaklığı ilaç salımında oldukça etkili parametrelerdir. Ayrıca polimer vücutta herhangi bir toksisiteye yol açmamalıdır.

Taşıyıcı sistemler üretim yöntemi açısından ya koloidal olarak dağıtılmış ya da partiküler olarak tasarlanmış polimerik (sentetik) ya da lipidik(doğal) sistemlerdir(11).

Koloidal taşıyıcılara örnek olarak emülsiyonlar, miseller, hidrojeller, lipozomlar, niozomlar verilebilir. Partiküler taşıyıcılara örnek olarak ise mikro-kapsüller, mikro-küreler, nano-partiküller, katı-lipid nano-partiküller verilebilir.

Bunların dışında polimer-ilaç konjugatları ile de ilaç taşıyıcı sistem oluşturmak mümkündür. Özellikle kanser ilaçlarının taşınmasında α,β -DL-poliaspartamidler, poliamidoaminler, poliamidler dikkat çekmektedir(10). Şekil 2.3'te genel polimer-ilaç konjugat yapısı görülmektedir.



Şekil 2.3. Polimer-ilaç konjugatı (12)

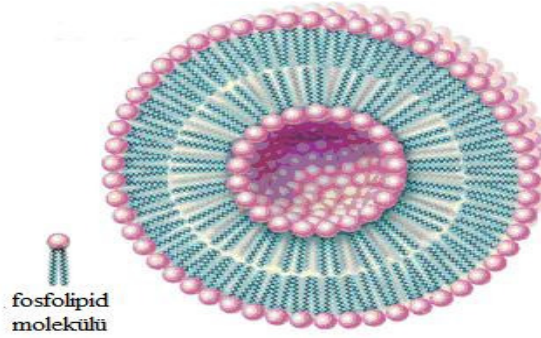
Çeşitli ilaç taşıyıcı sistemlerin terapötik amaçlı kullanımı kanser, diyabet, sedef, parkinson, alzheimer, romatoid artrit, AIDS, enfeksiyon hastalıkları, astım ve ilaç bağımlılığı gibi pek çok kronik hastalığın tedavisinde uygulanabilme potansiyeli taşımaktadır(13).

2.1.1.1. Veziküler Sistemler

2.1.1.1.1. Lipozomlar

1971 yılında ilk defa ilaç taşıyıcısı olarak kullanılmaya başlanan lipozomlar, lipid çift tabaka ve sulu fazdan oluşur(14).

Tek veya çoklu tabakaların bir araya gelmesiyle değişik türlerin elde edilebildiği lipozomlar boyutları 0,02-3,5µm arasında değişen koloidal taşıyıcı sistemlerdir. (15) Şekil 2.4'te genel lipozom yapısı görülmektedir.



Şekil 2.4. Lipozom (16)

Vücudun yapıtaşı olan ve amfoter özellikteki fosfolipidlerden oluştukları için biyo uyumludur ve toksik özellik göstermez(11).

Lipozomların hidrofilik karakteri, polar moleküllerin enkapsüle edilmesinde, fosfolipidlerden kaynaklanan lipofilik karakteri ise hidrofobik moleküllerin taşınmasında etkilidir. Fosfolipidler; oleik, linoleik, linolenik ve araşidonik asitler gibi doymamış yağ asitleri ve laurik, miristik, palmitik, stearik ve araşidik asitler gibi doymuş asitlerden oluşabilir. En çok

kullanılan doğal ve sentetik fosfolipidler yumurta veya soya fosfotidilkolin, dipalmitoilfosfotidilkolin, distearilfosfotidilkolindir.

Lipozomlar, büyüklük ve tabaka sayısına göre üç sınıfa ayrılır: çok tabakalı lipozomlar (MLV), büyük ve tek tabakalı lipozomlar (LUV) ve küçük ve tek tabakalı lipozomlar (SUV).

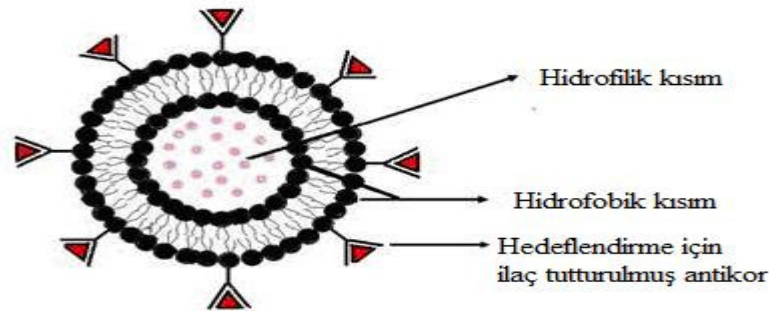
MLV'ler 400-3500nm arasında değişen boyutta içiçe pek çok tabakadan oluşur, lipid tabaka sayısı fazla olduğu için lipidik maddelerin tutulma oranı daha fazladır. 100nm'den büyük olan LUV'lerde daha fazla sulu faz bulunur ve daha çok hidrofilik etkin madde taşırlar. SUV'ler 25-50nm'lik tek tabakalı lipozomlardır(14,15).

2.1.1.1.2. Niozomlar

Niozomlar, fosfolipidler yerine non-iyonik sürfaktanlardan oluşmuş tek tabakalı ya da çok tabakalı veziküler taşıyıcı sistemlerdir(11).

Bu veziküller katı maddeleri hapsedebilir, osmotik özellik gösterir ve kararlıdır. Vezikül oluşturmada eter ya da ester tipi yapay lipidler kullanılabilir. Ester bağları enzimatik bozunmaya uğraması sebebiyle eterlere göre daha az kararlı ve daha az toksik özellik gösterirler(17).

Niozom oluşturan yüzey etkin maddeler arasında miristil, setil, stearyl alkollerin glukozitleri sayılabilir. Niozomların, lipozomlara göre kararlı ve ucuz olması avantaj sağlarken, fiziksel stabilite, agregasyon, molekülün yıkıma uğraması, depolama problemleri gibi sakıncaları vardır(18). Şekil 2.5'te niozomların genel yapısı görülmektedir.



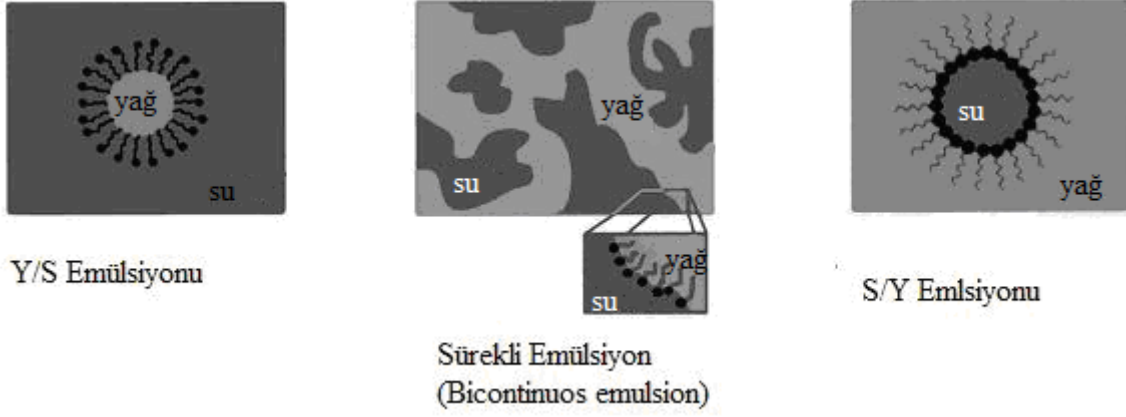
Şekil 2.5. Niozom (19)

Bunun dışında %10-25 sürfaktan ve %3-10 etanol içeren “**tranferzom**” olarak isimlendirilen deforme olabilen lipozomlar, ayrıca daha yüksek alkol içeriğine sahip “**etozomlar**” gibi özelleşmiş formülasyonlar da özellikle transdermal salım sistemlerinde deriden geçişi arttırmak amacıyla, ilaç taşıyıcısı olarak kullanılabilirler(20).

2.1.1.2. Emülsiyon Sistemler

Emülsiyonlar birbiriyle çözünmeyen iki sıvıdan oluşan kolloidlerdir. Yüzey aktif madde varlığında biri diğzerinin içerisinde disperse olur(21).

Klasik olarak emülsiyonlar için en az iki faz vardır. Yağlı fazın damlacıkları sulu fazda dağılırsa, bu emülsiyon türü suda yağ (Y/S), sulu fazın damlacıkları yağlı fazda dağılırsa yağda su (S/Y) emülsiyon türü hazırlanır. Şekil 2.6’da emülsiyon tipleri görülmektedir.



Şekil 2.6. Emülsiyon tipleri (22)

Emülsiyonların emülsiyonu olarak tanımlanabilecek **çoklu emülsiyonlar** ise S/Y/S veya Y/S/Y tipinde olabilir.

Ortalama çapı 10 nm’den küçük olan sistemler “**miseller emülsiyon**”, 10-100 nm olan sistemler “**mikro-emülsiyon**”, 100 nm’den büyük çaptaki emülsiyonlara “**makro-emülsiyon**” adı verilir. (23, 24)

Örneğin, suda çözünen ilaçlar için çoklu S/Y/S tipi emülsiyonlar kullanılabilir. Öncelikle ilaç suda çözülür ve dispers faz olarak ilaç/su fazı hazırlanıp emülsifiye edilir. Organik çözücü sürekli fazdır. Daha sonra çoklu emülsiyon oluşturmak için bu emülsiyon emülsifiye edici madde içeren büyük miktardaki sulu faza eklenir.(21).

2.1.1.3. Miseller

Miseller suda çözünmezler ve hidrofobik molekülleri çözerek bu tür ilaçların biyoyararlanımını arttırırlar(25).

Miseller, hidrofobik bir çekirdek ve hidrofilik bir dış kabuktan oluşmuş amfifilik blok kopolimerlerdir. Suda çözünmeyen ilaçların enkapsüle edilmesinde oldukça etkilidir. Miselin iç kısmındaki hidrofobik yapısı hidrofobik-hidrofobik etkileşimlerle ilacın çözünürlüğünü artırır ve hidrofilik bir dış kabukla çevrili olduğu için de RES tarafından tanınıp ilacın vücuttan uzaklaştırılması engellenmiş olur. İlaç enkapsüle edildiği için ilacın yarı-ömrü uzatılır.

Polimer misel taşıyıcılarının dezavantajı kritik misel konsantrasyonu olarak ifade edilen konsantrasyona bağlı olarak kanda düşük stabilite göstermesidir, bu da miselleri in-vivo olarak kullanımını sınırlandırır. Kritik misel konsantrasyonu(CMC), amfifilik polimerin sulu çözeltide misel oluşturmaya başladığı konsantrasyondur. CMC'da ya da CMC'nun hafif yukarısında miseller çökmeye başlar ve içlerinde su bulunur. Amfifilik polimer konsantrasyonundaki hafif bir artışla unimer-misel dengesi misel oluşumuna doğru kayar(26).

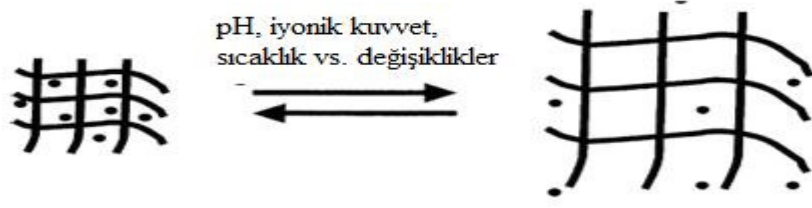
Polimerik miseller çekirdek-kabuk yapısındadır. Suda çözünmeyen ilaçlar için bir membran gibi davranan hidrofobik çekirdek genellikle biyobozunur bir polimerden (poli(β –benzil-L-aspartat), poli(DL-laktik asid ya da poli(ϵ - kaprolakton) gibi) oluşur. Çekirdek ayrıca, hidrofobik bir ilaçla kimyasal konjugasyon yapabilen, suda çözünen bir polimerden (poli(aspartik asid) gibi) de oluşabilir. Ya da iki zıt yüklü poli-iyonun asosyasyonu ile de ilaç taşıyıcı kompleks misel oluşabilir(27).

2.1.1.4. Hidrojeller (28)

Hidrojeller polimer bir zincir, su ve çapraz bağlayıcı ajandan oluşmuş yüksek molekül ağırlıklı üç boyutlu bir ağ yapısındadır. Medikal ve farmasötik alanda çok önemli bir yere sahiptir. Örneğin; kontakt lensler, hücre enkapsülasyonu, yapay organlar ve ilaç salım sistemleri gibi. Hidrojeller doğal ya da sentetik polimerlerden hazırlanabilir.

Hidrojeller fizyolojik sıcaklık ve pH'ta suda çözünmeyen materyallerdir, sulu ortamda şişerler ve %20'den daha fazla su emme kapasiteleri vardır.

Akıllı jeller ya da çevreye duyarlı jeller olarak da bilinen hidrojeller pH, iyonik güç, sıcaklık ve elektrik akımı gibi dış koşulların değişimine duyarlı bir faz geçişi sergilerler. Şekil 2.7'de genel olarak akıllı jel yapısı görülmektedir.



Şekil 2.7. Akıllı jellerde ilaç salımı (28)

Hidrofilik gruplar ($-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{CONH}_2$ ve $-\text{SO}_3\text{H}$ grupları gibi) taşıyan hidrojeller çözülmeye uğramadan su absorplayabilir.

Polimerin bir fazdan ayrılıp diğer faza geçiş sıcaklığı “*kritik çözelti sıcaklığı*” olarak tanımlanabilir. Sıcaklığa hassas polimerler kritik çözelti sıcaklığından uzaklaştıkça büzülür ya da şişerler. Bu yüzden ortamın sıcaklığının kritik çözelti sıcaklığından yukarıda ya da aşağıda olması ile sıcaklığa hassas polimerlerin hacminde âni değişiklikler meydana gelir.

Bunun dışında elektrik alan ve manyetik alan kullanılarak da özel tasarımı polimerlerden oluşan çevreye duyarlı jeller elde etmek mümkündür. Elektrikle uyarılmış sistemler ile hidrojelin şişme kapasitesi modifiye edilebilir. Bu da hidrojelin mekanik özelliklerini ve morfolojisini etkiler. Ayrıca yüzey modifikasyonu ile elde edilmiş polimerler de tasarlanabilir.

2.1.1.5 Partiküler Sistemler

Kontrollü salım sistemlerinde partiküler taşıyıcılar olarak mikro ve nano boyutlu taşıyıcılar kullanılmaktadır. Bunlar mikrokapsül, mikroküre, nanokapsül, nanoküre gibi türlerde olabilmektedir.

Kapsülleme işlemi, katı, sıvı, gaz, süspansiyon, emülsiyon şeklinde bir çekirdeğin bir çeper ile kaplanması sonucu olmaktadır. Çeşitli farmasötik ürünler ve biyoteknolojik ürünler ile çalışmalar bulunmaktadır.

2.1.1.5.1. Mikroküreler

Mikro-küreler çapı $1\mu\text{m}$ - $1000\mu\text{m}$ arasında değişen partiküllerdir(29). Düzenli (küresel, boru şeklinde(tubular) ve oval) ya da düzensiz şekilli olabilir. Küresel şeklindeki mikro-partiküller ilaç salımında daha çok kullanılır.

Kontrollü salım sistemlerinde kullanılan biyobozunur mikroküreler, terapötik ajanı uzatılmış bir zamanda kontrollü bir hızda salması, optimum ilaç konsantrasyonunu taşıması, ilacı

koruması ve stabilize etmesi, hastanın kullanım sıklığını azaltması yönünden avantajlıdır, cerrahi uygulamalarda geri alınması gerekmez. Partikül boyutu, polimer degradasyon ve erozyon hızı ve polimer erozyon mekanizması (bulk ya da yüzey erozyonu) ve diğer faktörler kontrol edilerek ilaç salım hızı ayarlanılabilir(30).

Ayrıca;

- ❖ Küçük hacimlerinden dolayı çabucak bütün vücuda yayılabilir.
- ❖ Adsorpsiyon, desorpsiyon, kimyasal reaksiyon vb uygulamalar için geniş yüzey alanına sahiptir. (0,1µ yarıçapındaki 1g mikrokürenin toplam yüzey alanı 60 m² dir.)
- ❖ Çevresel koşulların değişmesiyle (pH, iyonik kuvvet vs.) hacmi değişebilir.
- ❖ Disperse edildiğinde makroskopik olarak yer çekiminden, elektrik alandan vb. etkilenirler, mikroskopik olarak da Brownian hareketinden etkilenir, bu hareketler ortam ve mikroküreler arasındaki ara yüzeyde tekrarlanır.
- ❖ Partiküller yüzeyde yumuşak tabakalara sahiptir, böylece partiküllerden suyun geçişine izin verilir(31).

Çok çeşitli mikroküre hazırlama yöntemi kullanılmaktadır. Bu konuda daha ayrıntılı açıklama Bölüm 2.1.3'te verilmiştir.

2.1.1.5.2. Mikrokapsüller

Mikrokapsüller bir çekirdeğin katı, sıvı veya gaz hallerinin polimerik bir madde ile film halinde kaplanması ile elde edilir.

İdeal bir mikrokapsül etkin maddeyi mümkün olduğunca etkili bir şekilde kaplamalı, iyi fiziksel ve kimyasal stabilite göstermeli, ilacın etki süresini uzatabilmeli ve kötü koku, tad gibi istenmeyen durumlara çözüm olabilmelidir.

Mikrokapsül hazırlama yöntemleri arasında koaservasyon, yüzeylerarası polimerizasyon, in situ-polimerizasyon, delik yöntemi, wurster yöntemi, püskürterek kurutma, polielektrolit layer by-layer deposition (32), kolloidozom yöntemi(33) gibi çok çeşitli yöntemler bildirilmiştir.

2.1.1.5.3. Nanopartiküller

Nanopartiküllerin ilaç salımında taşıyıcı olarak kullanımındaki üstünlükleri küçük boyutlu olması, geniş yüzey alanı sayesinde reaktivite, güç, elektriksel özellik ve in-vivo davranışında olumlu özellikler kazandırılabilmesi, sıvılarda kolay süspansiyon olabilmemesi ve enjeksiyonluk uygulamalarda çökmemesi, hücre ve organellere giriş kolaylığı, çeşitli optik ve manyetik

özellikler, 200 nm'den küçük partiküllerin 0,22 μ 'luk filtreye kolayca sterilize edilebilmesi gibi üstünlükleri vardır.

Nanoboyutta ilaç taşıyıcısı üretmek için laboratuvar ölçeğinde üretim kimyasal sentez ya da moleküler düzenleme (self assembly) yoluyla yapılmaktadır. Endüstriyel ölçekte üretiminde ise boncuk değirmeni (pearl/ball milling) gibi öğütücü sistemler, yüksek basınçlı homojenizasyon teknikleri, püskürterek kurutma, pelletleme, süper-kritik akışkan teknolojisi gibi çeşitli yaklaşımlar mevcuttur.

Üretimindeki zor olan kısım ise nanopartiküllerin çoğunlukla organik moleküllerden oluşması ve organik moleküllerin anorganik moleküllere göre daha fazla yapışkanlık özelliği göstermesi ve partiküllerin birleşmeye olan eğilimidir(34).

2.1.1.5.3.1. Katı Lipid Nanopartiküller

1990'ların başlarında bulunmuş olan bir tekniktir. Katı yağlardan oluşmuş bir matriks yapısındadır. Boyutları 50-1000 nm arasında değişir. Yüksek basınçlı homojenizasyon ve mikroemülsiyon tekniklerinden yararlanılır. İlacı kimyasal degradasyona karşı korur ve etkin maddenin salım hızı ayarlanabilir (34, 35).

2.1.1.5.3.2. Seramik Nanopartiküller

İnorganik(seramik) partiküllerin kullanımı, özellikle biyomakromoleküllerin kullanımı ilaç salımında yeni bir alandır. Seramik nanopartiküller olduça düşük boyutlarından (<50nm) ve poröz yapılarından dolayı ilaç salımında önemli olmaya başlamıştır. Silikon, alüminyum oksid, titanyum dioksit gibi materyaller inert yapıda oldukları için biyolojik sistemle uyumludur. Bunun dışında bu partiküllerin yüzeyi kolayca fonksiyonlandırılabilir ve böylece özel ligantlarla hedeflendirerek konjuge hâle getirilebilir(36).

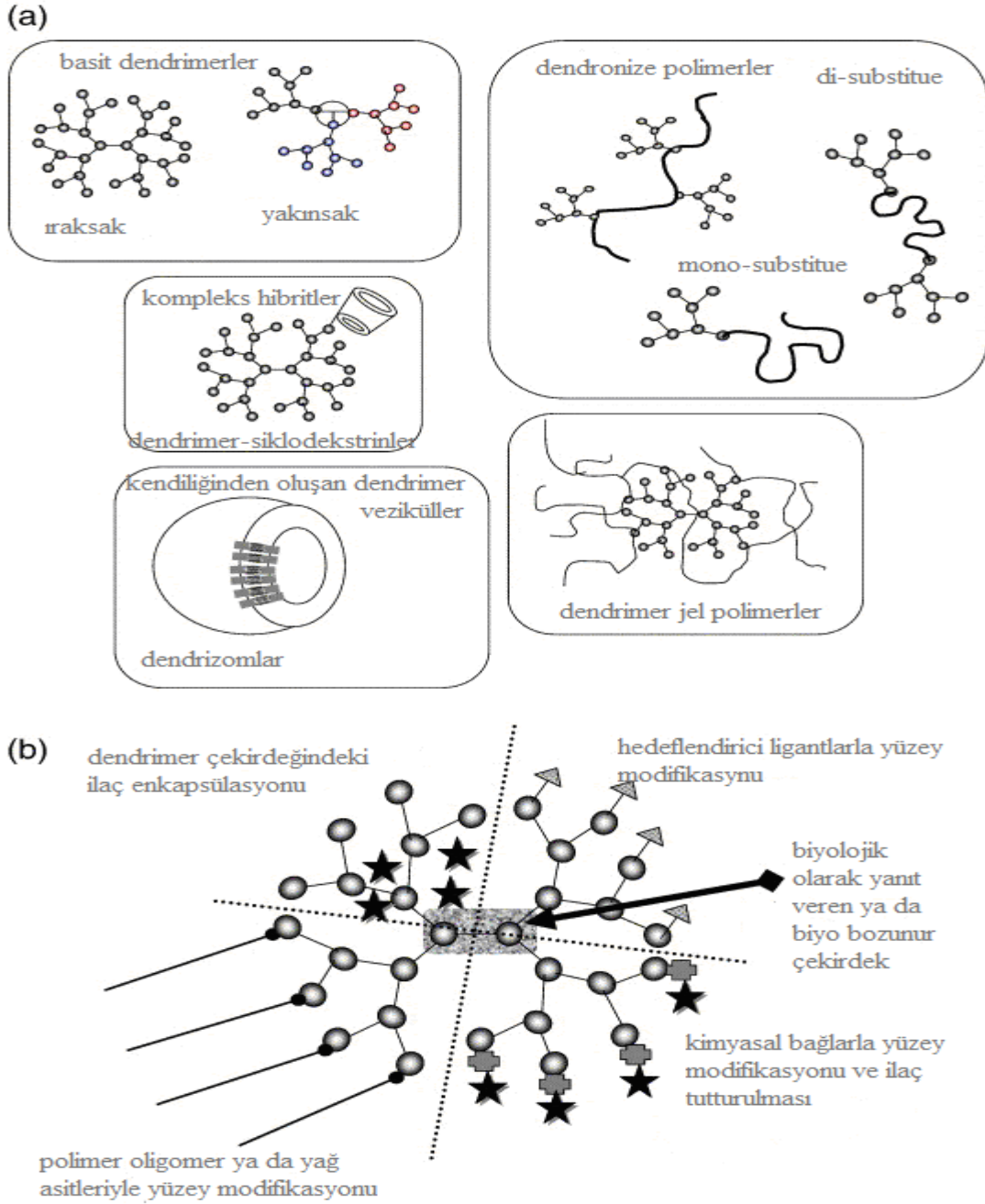
2.1.1.5.3.3. Manyetik Nanopartiküller

Koloidal manyetik nanopartiküllerle bölgeye özel ilaç salımı sağlanır. Bu nanopartiküller terapötik ajanı yüzeyde ya da bulk içerisinde taşırlar. Hedef bölgeye ulaşması için dışarıdan manyetik alan uygulanır ve istenilen bölgede ilaç salınır(36).

Özellikle nörolojik bozuklukların tedavisinde kullanılan ilaçların kan-beyin bariyerini geçebilmesi için Fe₃O₄ ile oluşturulmuş taşıyıcı manyetik nanopartiküllerin kullanımı tedavinin etkinliğini arttırmak açısından iyi bir alternatiftir(37).

2.1.1.5.3.4. Dendrimerler

Dendrimer polimerler, makromoleküler komplekslerdir; bir iç çekirdek etrafında dallanmalarla oluşmaktadır. Son yıllarda, dendrimerlerin nano-boyutlu(5-100nm) olması, dar bir polidispersite indeksi göstermesi ve yüzeyinin fonksiyonlandırılabilmesi gibi özellikleri sebebiyle ilaç salımında büyük öneme sahiptir. Globular (küresel olarak toplanmış) yapıları nedeniyle dendrimerler lineer polimerlere göre daha düşük hidrodinamik hacimleri vardır. Şekil 2.8’de dendritik yapılar ve ilaç salımında kullanımına uygun tasarımları görülmektedir(38)



Şekil 2.8. Dendritik yapılar ve ilaç salımında kullanımına uygun tasarımları (38)

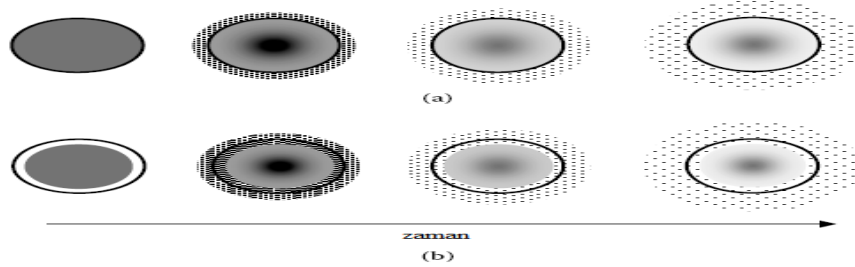
2.1.2. Kontrollü Salım Sistemlerinin Salım Mekanizmaları Ve İlaç Salım Kinetikleri (39, 40)

Kontrollü salımda kullanılan salım mekanizmaları 4 ana kategoriye ayrılabilir:

- ❖ Difüzyon kontrollü sistemler,
- ❖ Aktivasyon sonucu kontrollü salım sağlayan sistemler,
- ❖ Çevreye duyarlı sistemler,
- ❖ Hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemleri

2.1.2.1. Difüzyon Kontrollü Sistemler

Rezervuar (membran) kontrollü ve matris kontrollü olmak üzere iki tiptir. Şekil 2.9'da bu sistemlerin genel yapıları görülmektedir.



Şekil 2.9. a) Matris sistemler b) Rezervuar sistemler (39)

Bir **membran** (rezervuar), küresel, silindirik ya da diske benzer bir şekildedir ve sıvı ya da toz şeklindeki ilaç çekirdeğinden oluşur. Çekirdek; ilaç molekülünü yavaşça difüzleyen, hız kontrol edici, biyobozunur olmayan ince bir polimer tabaka ile çevrelenmiştir. İlaç ve polimerin özellikleri, ilacın difüzyon hızını ve kandaki salım hızını belirler. Denge durumunda ilaç salım hızı sabitleşir ve sıfırıncı dereceden salım gösterir ve membran sistemin ilaç salımındaki bu durum **Fick'in 1. yasası** ile açıklanmaktadır: (5, 39, 40)

$$J = -DK \frac{dc_m}{dx}$$

J: etkin maddenin azalan konsantrasyon yönünde membrandan akımı ($g \times cm^{-2} \times sn^{-1}$)

D: membrandan etkin maddenin difüzyon katsayısı ($cm^2 \times sn^{-1}$)

K: dağılım katsayısı

dc_m/dx : membran içindeki ilaç konsantrasyonunun x uzaklığındaki değişimini gösterir.

Membran içindeki etkin maddenin termodinamik aktivitesi sabit ve $K < 1$ olursa etkin maddenin salımı sıfırıncı dereceden gerçekleşebilir.

Bu özellik kontrollü salım ile uzatılmış salımı birbirinden ayırır. Bir başka ifadeyle kontrollü salımda sıfırıncı dereceden salım kinteği görülür, zamana bağlı olarak sabit bir

konsantrasyonda ilaç salınır; uzatılmış salımda ise zamana bağlı olarak yavaş salım vardır, konsantrasyon zamanla yavaş yavaş azalabilir(41).

Matriks(ya da monolitik) tipindeki difüzyon kontrolünde ilaç, polimer matriks içerisinde disperse edilmiştir, herhangi bir hız sınırlayıcı bariyer tabaka bulunmaz. Ani salımla karşılaşılmaz. Matriksi çevreleyen sıvı, porlardan ve granüller arası boşluklardan matriksin içine geçerek ilacı çözer. Çözünen ilaç, difüzyonla matriksin dışına çıkar.

Matriks sistemlerden etkin madde salımı **Higuchi salım kinetiği** ile açıklanmaktadır(5). Salım hızının sıfırinci dereceden olmadığını ve zamanın kareköküyle orantılı olarak azaldığını ifade etmektedir: $Q=kt^{1/2}$

İlaç molekülleri yüzeyden uzak olduğu için uzun bir mesafe boyunca göç etmek zorundadır, ve matriks içindeki etkin madde konsantrasyonunun doyumluk konsantrasyonun altına düşmesiyle de ilaç salım hızı(k) zamanla düşer ve sıfırinci dereceden salım göstermez.

Fick Yasasından Sapma Gösteren Sistemler (Non-Fickian Diffusion)

İlk defa 1966 yılında ifade edilmiştir. Şişme davranışı gösteren polimer sistemlerde görülür(42). İlaç, ilk etapta polimerden difüze olamaz. Ancak çözücünün camsı polimere difüzyonuyla ilaç salımı gerçekleşir.

$M_t/M_\infty=kt^n$ Difüzyon katsayısının konsantrasyondan bağımsız olduğu sistemlerde kullanılabilir. Filmlerden ilaç salımını, küre ve silindirlere ilaç salımını incelemek için kullanılabilir. Bu eşitliğin türevi alınır;

$dM_t/Sdt= n C_0kt^{n-1}$ $n=1$ ise ilacın salım hızı zamandan bağımsızdır. Bu durum sıfırinci derece kinetiğe uygundur. Fick Yasasına uymamaktadır. Bu durum **“Case II Transport”** olarak adlandırılır.

$n=0,5$ olursa	$t^{-0,5}$ -----Fick Difüzyonu
$n= 0,5<n<1,0$	t^{n-1} -----Non-Fickian Difüzyonu
$n=1,0$ olursa	Zamandan bağımsız (0.der)-----Case II Transport
$n>1.0$ olursa	t^{n-1} -----Super Case II

2.1.2.2. Aktivasyon Sonucu Kontrollü Salım Sağlayan Sistemler

Bu sistemlerde dışarıdan enerji verilerek ilaç taşıyıcısının fiziksel, kimyasal ya da biyokimyasal etkilerle ilacı dışarıya salması sağlanır.

Fiziksel aktivasyon: Bu sistemlerde, ozmotik basınç, hidrodinamik basınç, buhar basıncı, iyontofrez, mekanik güç, manyetik alan, ultrason, veya hidrasyon gibi fiziksel etkiler kullanılarak ilacın kontrollü salımı sağlanır.

Kimyasal ve Biyokimyasal Aktivasyon: pH, iyonizasyon, enzim ya da biyokimyasal yöntemlerle aktive olan sistemlerdir. Kimyasal bağlarla bağlı sistemler ve biyobozunur sistemler olmak üzere 2 kısma ayrılır.

2.1.2.3. Çevreye Duyarlı Sistemler

Kontrollü salım sistemlerinin hazırlanmasında ilaçların istenilen zamanda, istenilen bölgeye etki göstermesi en çok arzu edilen şeydir. Bu amaçla hidrojeller kullanılarak sıcaklık, pH, çözücü cinsi, iyonik kuvvet gibi dış ortam koşullarındaki değişikliğe duyarlı sistemler geliştirilmektedir. Bu tür hidrojellere “*akıllı hidrojel*” denilmektedir(43, 44). Çizelge 2.1’de bunlar toplu olarak gösterilmektedir.

Çizelge 2.1. Akıllı Hidrojeller

Etki (kaynak)	Mekanizma
pH (45)	pH değişikliği-şişme-ilaç salımı
İyonik kuvvet (46)	İyonik kuvvetin değişmesi-jelin içindeki iyonların konsantrasyonunun değişmesi-şişmenin değişmesi-ilaç salımı
Kimyasal özellikler	Elektron-donör bileşikleri-yük/transfer kompleks oluşumu-şişmenin değişmesi-ilaç salımı
Enzim-substrat (47)	Substrat varlığı-enzimatik dönüşüm-jelin şişmesiyle ürünün değişmesi-ilaç salımı
Termal (48)	Sıcaklığın değişmesi-polimer-polimer ve su polimer etkileşiminin değişmesi-şişmenin değişmesi-ilaç salımı
Elektriksel (49)	Elektrik alanının kullanılması- membran yüklenmesi(charging)-yüklenmiş ilaçların elektroforezi-şişmenin değişmesi- ilaç salımı
UV (50)	UV—sıcaklığın artması—ilaç salımı
Manyetik (51)	Manyetik alan uygulaması —Jeldeki porların değişimi— şişmenin değişmesi— ilaç salımı

2.1.2.4. Hedeflendirilmiş İlaç Taşıyıcı Sistemler

İlaçları hedeflendirmenin amacı konvansiyonel tedavide gözlenen olumsuzlukları elimine etmek ya da en aza indirmek, hücresel düzeylere taşınmayı arttırmak, ilaçların dolaşımında ya da diğer biyolojik sıvılardaki konsantrasyonunu ve salım kinetiklerini optimize etmek, ilaçların farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerini değiştirmek, ilaçların stabilitesini arttırmak ve vücudun diğer bölgelerinde istenmeyen etkileşime neden olmadan hedef bölgede istenilen düzeyde farmakolojik yanıt elde etmektir.

Hedeflendirme aktif ve pasif hedeflendirme olmak üzere 2 şekildedir:

Pasif hedeflendirmede ilaç taşıyıcı sistemlerin partikül boyutları, yüzey yükleri, veriliş yolları ve yüzey hidrofobisitesi değiştirilerek farklı hedeflere yönlendirilebilir. İlaçların geçirgenlik ve alıkonma etkisi (Enhanced Permeability and Retention (EPR)) geliştirilmiş sistemlerdir.

Aktif hedeflendirme, çeşitli reseptörlerle spesifik hücrelere, dokulara ya da organlara yönlendirilmesi esasına dayanır.(Receptor-Mediated Endocytosis (RME)) Sistemde ya doğrudan doğruya etkin maddeye ya da etkin maddeyi taşıyan taşıyıcıya bağlı hedefleyici bir madde bulunmaktadır. Manyetik alan, ultrason ve çeşitli ligantlar yardımıyla aktif hedeflendirme sağlanmaktadır(52, 53).

2.1.3. Mikroküre Hazırlama Yöntemleri

Mikroküreler kullanılan polimerin yapısına göre 2 şekilde hazırlanabilir:

2.1.3.1. Monomerlerin Polimerizasyonundan Hazırlanan Mikroküreler

İlaç salımında kullanılan mikroküreler çoğunlukla lineer polimerlerden oluşturulsa da, monomerlerden mikroküre hazırlanması hâlâ kullanılan bir yöntemdir. Polimerizasyon, monomerlerin zıt çözünürlüklü bir sıvıda disperse edilmesiyle gerçekleşir. Yağda çözünen organik monomerlerin sulu fazda dağılmasıyla (Y/S) ya da suda çözünen monomerlerin organik ortamda disperse edilmesiyle (S/Y) küresel damlacıklar oluşur.

Disperse edilmiş monomerlerin polimerizasyonu emülsiyon, süspansiyon ve dispersiyon, sedimentasyon gibi çeşitli tekniklerle gerçekleştirilir(54).

2.1.3.1.1. Emülsiyon polimerizasyonu: Emülsiyon polimerizasyonu, nanometre ölçüsünde (10^{-4} nm) homojen küreler oluşturmak için kullanılır(54). Suda çözünen iyonik bir başlatıcı, emülsifiye edici bir ajan ve suda çözünmeyen ya da çok az çözünen bir monomer kullanılır(55). Genellikle, monomer ve başlatıcı molekül suda disperse edilir(54). Polimerizasyon, yüzey aktif maddelerin varlığında oluşan misellerin içerisinde yürür.

2.1.3.1.2. Dispersiyon polimerizasyonu: Dispersiyon polimerizasyonu ile 0,5-10 µm aralığında partiküller elde edilir. Neredeyse bütün maddeler(monomer, başlatıcı ve stabilizatör(hidrofilik ve hidrofobik kısımları olan bir organik polimer)) organik ortamda çözülür(54). Bu durum, dispersiyon polimerizasyonunu diğer polimerizasyon yöntemlerinden ayıran en önemli özelliğidir. Dispersiyon polimerizasyonunda başlangıçta tek faz vardır. Monomerin çözüldüğü, ancak polimerin çözünmediği bir dağıtma ortamı seçilir. Genellikle alkol karışımları kullanılır. Bu faza belli oranda su katılır(56). Başlatıcı, monomer içerisinde çözüldüğü için polimerleşme, monomer damlacıklarının içerisinde olur. Polimer boncukları organik çözücüde çözünmez ve çöker ve stabilizatör boncukların topaklaşmasını önler. Son yıllarda dispersiyon polimerizasyonu yöntemiyle süper-kritik CO₂ kullanılarak mikroküre elde edilmeye başlanmıştır(54).

2.1.3.1.3. Süspansiyon polimerizasyonu: Süspansiyon polimerizasyonu ile mikron boyutlu partiküller elde edilir. (50-500 µm)(54) Düzgün, küresel tanecik oluşturması nedeniyle teknik boncuk ya da inci polimerizasyonu olarak da adlandırılır(55, 56). Süspansiyon polimerizasyonunda ya suda çözünemeyen ya da çok az çözünen monomer, sürekli faz olarak da su kullanılır(55). Monomer, stabilizatör içeren sulu fazda dağıtılır; başlatıcı molekül monomer fazında çözülür. Bu teknikte monomer veya monomerler, sürekli karıştırma ile asılı damlalar halinde bulunur, böylece monomer fazı ve sürekli faz olmak üzere birbirleriyle karışmayan iki ayrı faz oluşur. Suda çözünen monomerler için ise monomerin çözünmediği organik bir madde seçilir, bu durumda yöntem ters faz süspansiyon polimerizasyonu adını alır(57). Partikül boyutu ve miktarı, disperse edilen monomer damlacıklarının boyut ve miktarı ile ve mekanik karıştırma hızı ile belirlenir(54).

2.1.3.1.4. Sedimentasyon polimerizasyonu: Sedimentasyon polimerizasyonu, milimetre boyutunda homojen polimer boncukları elde etmek için kullanılmıştır. Sıcak parafin yağında polimerize olan sulu monomer damlacıkları yerçekiminin etkisinde kalır. Kısa bir süre içerisinde küreler bir araya gelmeden polimerize olurlar. Benzer olarak, milimetre boyutunda küre oluşturulmasında çözüldürülmüş lineer polimerler ile de çalışılabilir(54).

2.1.3.2. Lineer Polimerlerden Hazırlanan Mikroküreler

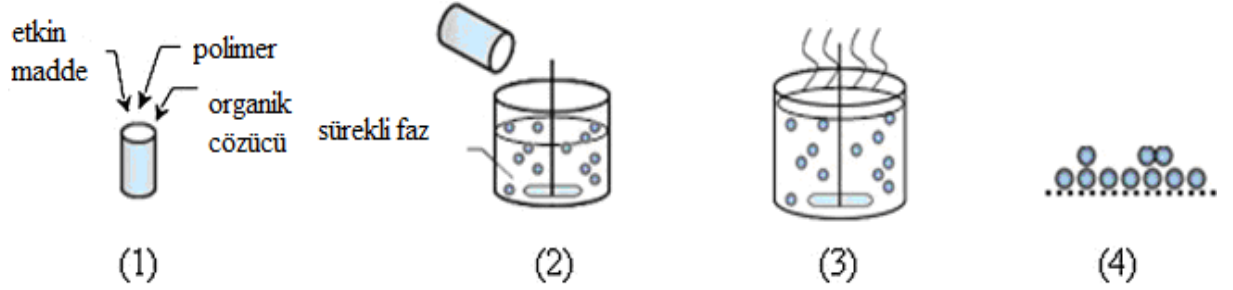
Bu mikroküre hazırlama tekniği, emülsiyon prosesiyle hazırlanamayan polimerler(örneğin biyoyumlu poli(laktid) ve poli(glikolid) gibi) ve doğal olarak bulunan polimerler(kitin, kitosan, selüloz gibi) için uygundur. Çözücü buharlaştırma, püskürterek kurutma gibi çok

çeşitli yöntemler kullanılabilir(54). İlaç salımında kullanılan mikroküreler genellikle doğal polimerlerden hazırlanır(58).

Linear polimerlerden mikroküre hazırlanmasında, ekstruzyon(59, 60), çözücü buharlaştırma(61), organik faz ayırma(koaservasyon)(62), ara-yüzey polimerizasyonu(63), püskürterek kurutma(spray-drying)(64), iyonotropik jelleşme(65), tek ya da çoklu emülsiyon oluşumu(66), jet değirmenleri(67), membran emülsifikasyonu(68), yüzey modifikasyonu gibi yöntemler kullanılmaktadır.

2.1.3.2.1. Emülsiyon Oluşturma-Çözücü Buharlaştırma Yöntemi (69)

Mikroenkapsülasyon yöntemleri arasında en çok kullanılan çözücü buharlaştırma yöntemi ilk olarak *Ogawa ve arkadaşları* tarafından 1988 yılında önerilmiştir(70). Şekil 2.10'da emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yönteminin şematik gösterimi verilmiştir.



Şekil 2.10. Emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırma yöntemi(69)

Bu yöntem suda çözünmeyen ya da zayıfça çözünen ilaçlar için uygundur. Hidrofobik bir ilaç ve polimeri organik bir çözücüde çözülür, daha sonra sürekli faz olan sulu faza organik faz ilave edilir, çözücü buharlaştırılır ve katı küreler elde edilinceye kadar karıştırmaya devam edilir. Elde edilen mikroküreler çözücünden uzaklaştırıldıktan sonra kurutulur.

Bu yöntem çok hidrofilik ilaçlar için uygun değildir. Çünkü hidrofilik ilaçlar organik çözücüde çözünmez ve emülsiyon oluşumu sırasında çok fazla ilaç kaybı olur.

Hidrofilik ilaçlar için alternatif yöntemler:

- ❖ *s/y/s çoklu emülsiyon yöntemi:* Hidrofilik ilacın sulu çözeltisi organik faza emülsifiye edilir (s/y) emülsiyonu oluşturulur, bu emülsiyon daha sonra ikinci bir sulu çözeltide emülsifiye edilir.
- ❖ *y/s yardımcı çözücü (co-solvent) yöntemi:* İlaç organik çözücüde çözünmediğinde yardımcı bir çözücü ile ilacın çözünmesi sağlanır.

- ❖ *y/s dispersiyon yöntemi:* polimer ve organik çözücü karışımında ilaç disperse edilir.
- ❖ *y/y suda çözünmeyen çözücü uzaklaştırma yöntemi:* Sulu faz yerine de yağ fazı kullanılır(örneğin mineral yağlar).

2.1.3.2.2. Emülsiyon Oluşturma-İyonotropik Jelleşme Yöntemi

İyonotropik jelleşme tekniği, poliiyonik yapıdaki bir polimerin zıt yüklü çok değerli bir iyon olan çapraz bağlayıcı ile reaksiyonu sonunda jelleşmesine dayanır(71). Doğal ya da yapay orijinli polianyonik ya da polikasyonik polimerler kullanılmıştır. Polianyonik polimerler arasında karboksilli asit ya da sülfat grupları içeren aljinik asit, pektinler, bazı karaginanlar, selüloz sülfat, dekstran sülfat gibi doğal polisakkaritler ile, polimetakrilik asit, polistiren sulfonat polifosfazen grubu polimerler gibi yapay polimerler bulunmaktadır(72-77).

Polikasyonik yapıdaki polimerler ise kitosan, amino dekstran, polipeptit gibi amino grubu içeren doğal polimerler ya da polialilamin hidroklorür, polietilenimin, polidialkil dimetilamonyum klorür ve poliamit-poliamin-epiklorhidrin gibi yapay polimerlerdir(78).

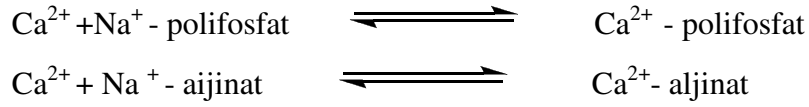
Çapraz bağlayıcı olarak polianyonlar için kalsiyum, baryum, magnezyum ve alüminyum gibi çok değerli kanyonlar, polikasyonik polimerler için ise çok değerli anyonlar kullanılmaktadır. İyonotropik jelleşme tekniği oluşacak mikrokürelerin boyutlarının küçük olmasını sağlamak üzere emülsiyonlaştırma işlemi ile birleştirilerek uygulanmaktadır. Bu şekilde ortaya çıkan teknik *emülsiyonlaştırma-iyonotropik jelleşme* ya da *emülsiyonlaştırma-jelleşme* adını almıştır. Bu teknik ile ilaç yüklü mikroküre oluşturulması amacıyla en fazla kullanılan polimer sodyum aljinattır. Çapraz bağlayıcı olarak çoğunlukla kalsiyumun klorür, karbonat, sülfat gibi tuzları tercih edilmiştir. Aljinat içeren sulu faz, uygun bir emülsifiyan yardımıyla organik faz içinde dağıtılır. Burada kullanılacak olan organik çözücünün biyolojik olarak zararlı olması bu tekniğin uygulanmasında sınırlamalar getirmektedir. Dikloroetan ve izooktan gibi organik çözücüler ve daha yaygın olarak likit parafin yada soya, kanola gibi bitkisel yağlar bu amaçla kullanılmıştır. Tween-80 ile Span-80 ve -85 de emülsifiyan olarak kullanılmıştır.

Çapraz bağlayıcı emülsiyon oluşumundan önce ya da sonra ilave edilebilmektedir. Araştırmacıların *emülsiyonlaşma-iç jelleşme* olarak adlandırdığı birinci teknikte kalsiyumun suda çözünmeyen bir tuzu aljinat çözeltisinde süspande edilmekte, emülsifiyan içeren organik faza ise yağda çözünen bir asit (genellikle glasiyal asetik asit) katılmaktadır. Böylelikle iki faz karıştırıldığında asit iki fazın ara yüzeyinden sulu faz damlacıklarına difüzenerek

kalsiyum tuzunun çözünmesini ve serbest kalan kalsiyum iyonlarının aljinatı jelleştirmesini sağlamaktadır(75, 79, 80).

İkinci teknikte ise, çözünen bir kalsiyum tuzu (klorür ya da sülfat) emülsiyon oluştuktan sonra ilave edilmekte ve aljinat damlacıklarının yüzeyinden içe doğru difüzlenererek jelleşmeyi sağlamaktadır Wong(76) ve Chuah(81) bu teknikten *dış jelleşme* olarak söz etmektedir.

İç-jelleşme tekniği ilk kez Poncelet ve çalışma arkadaşları(82) tarafından 1992de yayınladıkları bir çalışmada ortaya konmuştur. Bu çalışmada az çözünen kalsiyum tuzu olarak kalsiyum sitrat kullanılmıştır. Monshipouri ve Price (83), asit kullanılması nedeniyle bu tekniğin aside duyarlı hücreler ve proteinler yönünden ideal olmadığı düşüncesiyle farklı bir teknik önermişlerdir. Bu araştırmacılar, az çözünen kalsiyum tuzu olarak susuz kalsiyum sülfatı kullandıkları çalışmada kalsiyum ile aljinat arasındaki hızlı reaksiyonun hızını daha iyi kontrol ederek mikrokürelerin mekanik özelliklerini iyileştirmek için aljinat ve susuz kalsiyum sülfat içeren çözeltiye iyon tutucu (sequestering agent) olarak sodyum poli fosfat ilave etmişlerdir. Bu şekilde, kalsiyum aljinatın jelleşmesini, birbiriyle yarışan iki dengeye bağlı olarak gerçekleştirmişlerdir:



Gürsoy ve arkadaşları(84, 85) bu tekniği modifiye ederek susuz kalsiyum sülfatı emülsiyon oluşumundan sonra ilave etmişlerdir. Ayrıca yardımcı polimer olarak Eudragit de eklemişlerdir. Bu tezde de bu teknik kullanılmıştır.

2.1.3.2.3. Emülsiyon Oluşturma-Koaservasyon Yöntemi

Koaservasyon, kolloidal sistemlerdeki iki sıvı fazın ayrılmasıdır, kolloid bileşence daha konsantre olan faz “*koaservat*”, diğer faz ise “*denge çözeltisi*” olarak isimlendirilir. Basit koaservasyon ve kompleks koaservasyon olmak üzere iki türlü koaservasyon vardır.

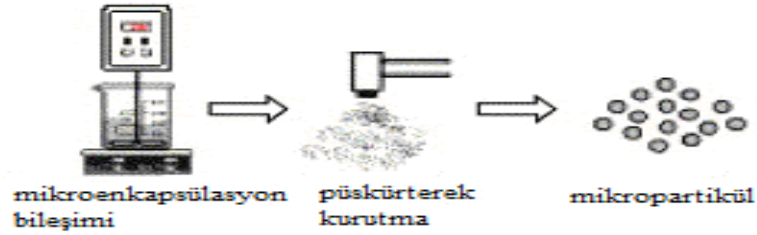
Basit koaservasyon, güçlü bir hidrofilik maddenin daha az hidrofilik bir kolloidal dispersiyona eklenmesiyle oluşur(86). Tuz veya alkol gibi suyla ilgisi yüksek olan maddeler eklenir, böylece etkin maddenin sudaki çözünürlüğü azaltılır.

Kompleks koaservasyon farklı yükteki iki polimerin birlikte nötralizasyonundan oluşan bir faz ayrımıdır. Sulu çözeltide belirli pH'ta ve belirli sıcaklıkta polimer emülsifiye edilir ve damlacıklar oluşturulur, daha sonra bu çözeltinin üzerine aynı koşullardaki zıt yüklü diğer

polimer çözeltisi ilave edilir. İlave edilen polimer damlacıkların etrafını sarar, sıcaklığın değiştirilmesi ve çapraz bağlayıcı ajanın ilavesiyle zıt yüklü polimer, damlacıkların etrafında sertleşir ve mikroküreler oluşur, daha sonra deiyonize su ile yıkanıp küreler ayrılır ve kurutulur(87).

2.1.3.2.4. Emülsiyon Oluşturma-Püskürterek Kurutma Yöntemi

İlaçların üretiminde degradasyondan korumak ve daha iyi ilaç hedeflendirmesi yapabilmek için daha çok kuru dozaj formları tercih edilir. Şekil 2.11’de püskürterek kurutma yöntemi genel olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.11. Püskürterek Kurutma(88)

Püskürterek kurutma, sıvı materyallerin sıcak kurutucu gaz ortamında püskürtülerek kuru partikül haline getirilmesi olarak tanımlanabilir. İlaç ve polimerin sulu dispersiyonu hazırlanır, çeşitli yardımcı maddeler ilave edilebilir, bir süre karıştırılıp homojenize hale getirildikten sonra püskürterek kurutulur ve kuru mikroküreler toplama kabında toplanır(88).

2.1.3.2.5. Membran Emülsifikasyonu

Membran emülsifikasyon yönteminde, gaz basıncı altındaki dispersiyon fazı, mikroporöz bir membranın porlarından geçerek sürekli fazda emülsifiye edilerek çok dar bir boyut dağılımında kararlı ve düzgün şekilli emülsiyonlar hazırlanır, sistem bir süre karıştırılıp homojenizasyon sağlandıktan sonra ortama çapraz bağlayıcı ilave edilir, böylece mikroküreler oluşur. Oluşturulan mikroküreler filtre edilip, yıkanır ve vakumda kurutulur.

Kullanılan membranlar; seramik, poröz cam ve polimer film (poli(tetrafloroetilen) (PTFE), poli(karbonat), poli(propilen) gibi) olabilir. Genelde seramik ve cam membranlar hidrofildir ve Y/S emülsiyonları hazırlamak için uygundur. Polimer membranlar ise hidrofobiktir ve S/Y emülsiyonları hazırlamak için uygundur. (89)

2.1.3.2.6. Ektrüzyon-Sferonizasyon Yöntemi

Ektrüzyon; işlenmemiş materyali, üniform şekil ve yoğunluktaki ürünlere dönüştürme prosesidir. İlaç endüstrisinde bir ya da birkaç ilacın eşit boyut, şekil ve yoğunluk özelliği

gösteren granül ve pelletlerin oluşturulmasında kullanılır. İlk etapta, kuru toz, ilaç ve yardımcı maddeler konvansiyonel bir blender'da karıştırılır, daha sonra homojen dağılımı sağlamak için sıvı faz eklenir, ve ıslak toz 0,5-2,0 mm çapındaki silindirik ekstruderlerden geçirilir(90). Yöntem, granülün ıslatılarak hazırlanması ve basınçla sıkıştırılarak belli formda partiküllerin küresel hale getirilmesi nedeniyle *ekstrüzyon-sferonizasyon* diye adlandırılmaktadır(91).

2.1.3.2.7. Sıcak Erimiş (Hot melt) Mikroenkapsülasyon

Bu yöntem ilk olarak *Mathiowitz ve Langer* tarafından 1987 yılında poli[bis(p-karboksi fenoksi) propan anhidrit]'in polianhidrit kopolimerinin sebasik asit ile mikroküre hazırlanması sırasında kullanılmıştır(92). Bu yöntemde polimer ilk olarak eritilir ve daha sonra 50µm'den küçük ilaç katı partikülleriyle karıştırılır. Bu karışım daha sonra birbiriyle karışmayan bir çözücüye(silikon yağı gibi) süspende edilir, sürekli olarak karıştırılır ve polimerin erime noktasının 5°C yukarısına ısıtılır. Emülsiyon stabilize edilir ve polimer partikülleri sertleşinceye kadar soğutulur. Bu yöntemin en önemli avantajı çözücü kullanılmamasıdır(90).

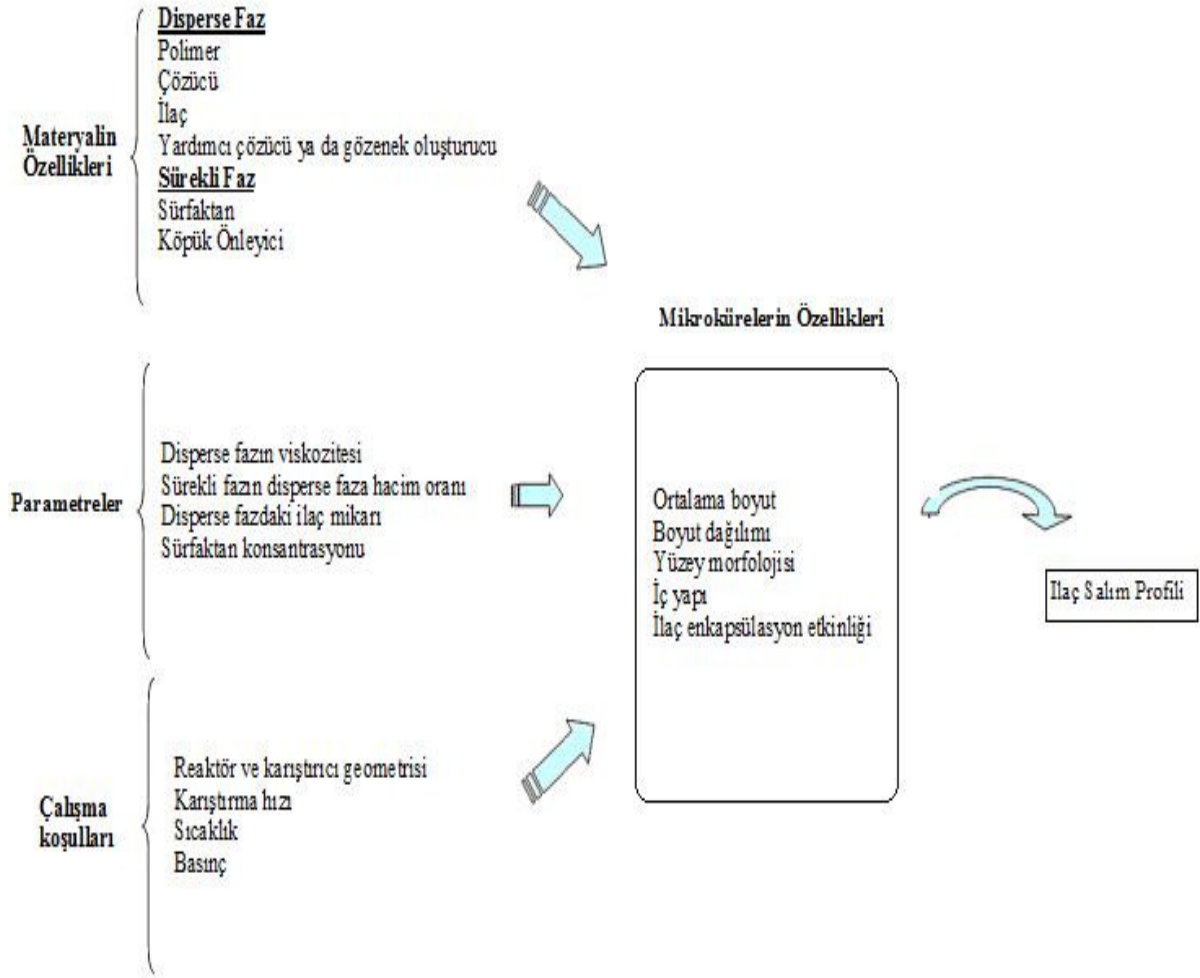
2.1.3.2.8. Damlatma Yöntemi

Aljinat gibi jel tipindeki polimerlerden mikroküre hazırlanmasında, polimer bir sulu çözeltide çözülür, etkin madde bu karışımda süspende edilir, duyarlı bir alet ile ekstrude edilir (kalıptan geçirilir). Oluşturulan mikrodamlar yavaşça karıştırılan sertleştirici bir banyo içerisine damlatılır. Sertleştirici banyo genellikle CaCl₂'dür, divalent Ca²⁺ iyonları polimer ile çapraz bağlanarak mikroküre oluşturur. Bu yöntemde tamamen sulu sistem kullanılır. Bu yöntemde elde edilen partiküllerin boyutları 0,5-3mm olur(93).

2.1.3.2.9. Faz değişimi(inversion) mikroenkapsülasyonu

Bu işlem seyreltik polimer çözeltisine ilaç ilavesiyle gerçekleşir. Bu karışım, birbiriyle karışmayan güçlü bir solvent-non-solvent karışımına dökülür. Non-solvent olarak petrol eteri kullanılabilir. Solvent-non-solvent oranı 1:100 olabilir. Polimer karışımı, bu çözücü karışımına döküldüğünde faz değiştirerek 0,5-5µ aralığında kendiliğinden mikroküreler oluşturur. Daha sonra petrol eteriyle yıkanarak filtrelenip havada kurutulur(93).

Genel olarak mikroküre oluşturmada etkili olan özellikler aşağıda liste haline getirilmiştir.



Şekil 2.12. Mikroküre oluşumunda etkili olan özellikler listesi(70)

2.1.3.3. Mikrokürelerde Karakterizasyon Yöntemleri

Mikrokürelerde yapılan incelemeler in vitro ve in vivo olmak üzere 2 gruptur:

2.1.3.3.1. In vitro Karakterizasyon Yöntemleri

Yapı Analizi

Elde edilen mikropartiküllerin yapısı infrared spektroskopisi (FT-IR), elementel analiz (EA), UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi(94), NMR(95) gibi yöntemler kullanılarak tayin edilebilir.

İlaç Yükleme Kapasitesi, Enkapsülasyon Etkinliği ve Ürün Verimi

Mikrokürelerdeki ilaç miktarını belirlemek için spektrofotometri (96) ya da HPLC(97) kullanılabilir.

Spektrofotometrik yöntemde mikroküreler içerisindeki ilaç içeriğini saptamak için belirli miktarda mikroküre alınıp havanda iyice öğütülüp toz haline getirilir, daha sonra ilacın çözücüsüyle birlikte belirli konsantrasyonda çözeltisi hazırlanır, analitik süzgeç kağıdından süzülür, gerekirse seyreltme yapılır. UV spektrometrede ilacın λ_{max} 'ında absorbans ölçülür. Başlangıçta hazırlanan konsantrasyon ve seyreltme oranı dikkate alınarak hesaplama yapılır.

HPLC yönteminde ise oluşturulan mikroküreler toz haline getirilip HPLC analizine uygun çözücüde çözülüp belirli konsantrasyonda örnek hazırlanır. Uygun büyüklükteki filtreden geçirilir. Tayin edilecek ilaç maddesine uygun kolon seçilir, hareketli faz ve detektör kullanılarak ayırma yapılır ve sonuç hesaplanır.

İlaç yükleme kapasitesi(%) = $W_d/W_t \times 100$ (Wd: mikrokürelerdeki yüklenen ilaç miktarı, Wt: toplam mikroküre ağırlığı)

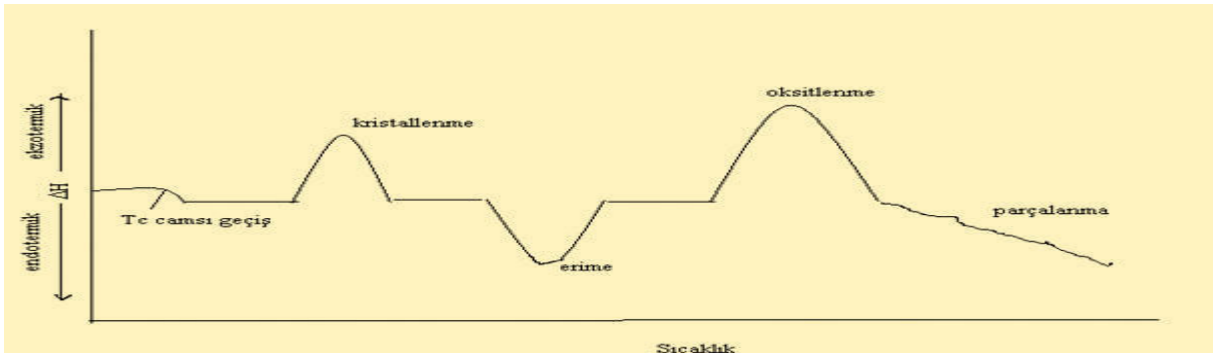
Enkapsülasyon etkinliği(%) = $W_a/W_t \times 100$ (Wa: var olan ilaç içeriği, Wt: teorik ilaç içeriği) (98)

Ürün verimi (%) = [mikroküre miktarı/(aljinat miktarı + ilaç çıkarı + (eudragit miktarı) + Ca^{2+} miktarı)] x 100

Termal Analiz

İlaçların kontrollü salımında kullanılan polimerin termografik özelliklerini inceleyerek polimerdeki fiziksel ve kimyasal değişiklikleri tespit etmek mümkündür. Bu amaçla DTA ve DSC yöntemlerinden yararlanılır.

DTA yönteminde madde inert bir kaptaki ve yalıtılmış bir hücrede referans bir maddeyle birlikte belli bir ısıtma programına göre ısıtılır. Maddenin soğurduğu veya dışarıya verdiği enerji referans ile karşılaştırılır. Bu yöntem, kütle kaybına bağımlı değildir. Sıcaklığa karşı zaman termogramı elde edilir. $\Delta T = T_{örnek} - T_{referans}$ denklemi dikkate alınır(99, 100). Genel olarak DTA termogramı aşağıdaki gibidir



Şekil 2.13. DTA termogramı (100)

DSC yöntemiyle kullanılan polimerin camsı geçiş noktası, erime noktası gibi özellikleri tespit edilir. DSC termogramında görülen piklerde DTA'daki gibidir, bu yöntemdeki tek fark hem referans hem de analiz edilecek maddenin aynı sıcaklıkta tutulmasıdır.

Morfoloji ve Boyut Analizi

Taramalı uç mikroskopları (SPM) [atomik kuvvet mikroskobu(AFM) ve taramalı tünelleme mikroskobu (STM)], geçirimli elektron mikroskobu (TEM), taramalı elektron mikroskobu (SEM), X-ray gibi yöntemlerle mikrokürelerin morfolojik özellikleri, boyutları ve boyut dağılımları belirlenebilir(101). Polimerdeki ilaç dağılımını ölçebilmek için konfokal lazer taramalı mikroskobu (CLSM) kullanılabilir.

Taramalı uç mikroskoplarında, bir iğne ile yüzey arasındaki fiziksel etkileşimleri atomik seviyede ölçerek tarama, veri toplama ve malzemelerin görüntülerini elde etme mümkündür. Bu mikroskoplar vakumda, yüksek basınç altında, sıvıda, havada, düşük ve yüksek sıcaklıklarda bile çalışabilmektedir, atomik seviyede bile fabrikasyon yapılmasına imkân vermektedir(102).

Geçirimli elektron mikroskobunda, ince bir katı örnek yüksek monoenerjili elektronlarla bombardımana tutulur. Bu elektronların enerji seviyelerine bağlı olarak örnekten geçerler veya kırınımına uğrarlar. Kırınımına uğrayan elektronlar difraksiyon paterni oluşturarak malzemenin atomik yapısı hakkında bilgi verirler. Örnekten geçen elektronlar ise malzeme içindeki atomlar ile etkileşime bağlı olarak hem atomik yapı hemde malzeme kusurları hakkında bilgi verirler(103).

SEM, çok küçük bir alana odaklanan yüksek enerjili elektronlarla yüzeyin taranması prensibiyle çalışır. En sık kullanıldığı biçimiyle, yüzeyden yayılan *ikincil* (secondary) elektronlarla yapılan ölçüm, özellikle yüzeyin engebeli (topografik) yapısıyla ilişkili bir görüntü oluşturur. Optik mikroskobun yetersiz kaldığı büyütmelerde doğrudan başvuru olan inceleme yöntemidir(103).

Boyut analizi için ışın saçılması, SEM gibi yöntemler kullanılabilir.

Salım Analizleri

Bu analiz hazırlanan kontrollü salım sistemi için çözünürlük bilgilerini verir. Bunun için USP'de belirtilen özel çözünürlük aletinden yararlanır. Bu alette 6 adet yarı-küresel dipli silindirik cam ya da inert şeffaf bir materyalden yapılmış kap bulunur. 1 L hacimli kaplar için

yükseklik 160-210mm ve iç çapı 98-106mm; 2L hacimli kaplar için yükseklik 280-300mm ve iç çapı 98-106mm; 4 L hacimli kaplar için yükseklik 280-300mm ve iç çapı 145-155mm'dir. (104)

Belirli bir hacimde $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'deki yapay vücut sıvısı (pH 1,2 HCl/NaCl mide ortamı ve pH 7,4 fosfat tamponu) ile doldurulur. Belirli bir hızda çalıştırılan alet sürekli karıştırılır. Kullanılan karıştırıcı ucu paslanmaz çelikten yapılmıştır, tablet ya da kapsül dozaj formları için palet yöntemi(T şeklindeki karıştırıcı ucu ile), daha küçük sudan az yoğun örnekler için basket yöntemi kullanılır. Hazırlanan kontrollü salım sistemi, çözünürlük aletine ilave edilir. Belirli süre aralıklarla içerisinden örnek alınır ve alınan örnek kadar hazırlanan yapay vücut sıvısı sisteme geri konulur. Alınan örnekler içerisindeki etkin madde miktarı spektrofotometri ya da HPLC ile belirlenir.

Şişme Davranışı

Mikrokürelerin su absorplama ve şişme davranışı incelenebilir. Bunun için başlangıçta belirli miktarda kuru mikroküre tartılır ve çeşitli ortam koşullarında (su, pH 1,2, pH 7,4) (105,106) bekletilir. Belirli bir süre sonunda şişen partiküller süzgeç kağıdıyla süzülüp sudan uzaklaştırıp tekrar tartım alınır. Ağırlık farkından absorplanan su yüzdesi hesaplanır :

$$\text{Şişme yüzdesi} = [(W_{\text{son}} - W_{\text{ilk}}) / W_{\text{ilk}}] \times 100$$

2.1.3.3.2. In Vivo Analiz Yöntemleri

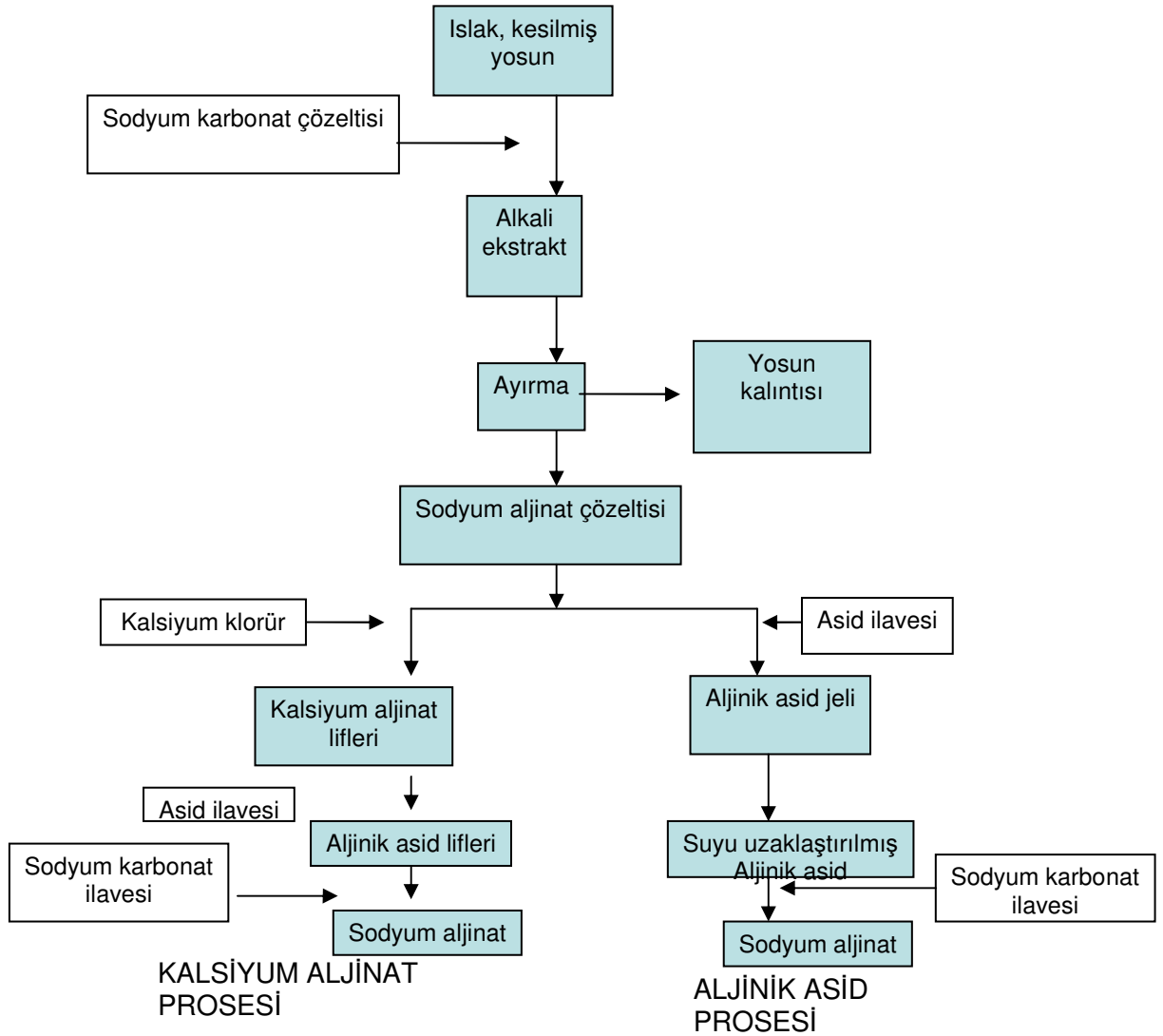
In vitro analizlerden alınan sonuçların hepsi uygun ve tutarlı çıkarsa, deney hayvanlarında analizlere başlanır. Belirli zamanlarda, tasarlanan kullanım yoluna göre deney hayvanına ilaç verilir, daha sonra alınan kan örneklerindeki ilaç miktarı tayin edilir. Biyodağılım ve toksisite çalışmaları yapılabilir.

2.2. Sodyum Aljinat

Kahverengi deniz yosunundan(alglerden) ekstrakte edilen, suda çözünebilen lineer bir polisakkarittir(107). Ticarî aljinatlar üç türlü kahverengi algden elde edilir: Laminaria hyperborean, Ascophyllum nodosum ve Macrocystis pyrifera. Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} ve Na^{+} gibi çeşitli katyonik tuzu halinde bulunur. Bakteriyel aljinatlar ise Azotobacter vinelandii ve çeşitli Pseudomonas türlerinden izole edilir(108).

2.2.1. Elde Edilmesi

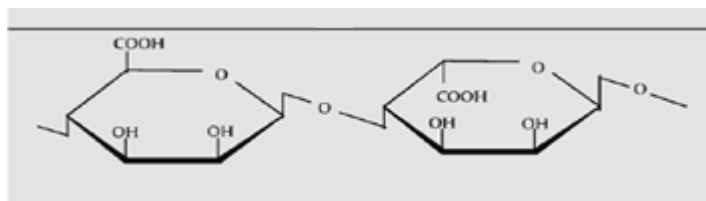
Aljinat üretim akış şeması Şeki 2.14' de gösterilmektedir.



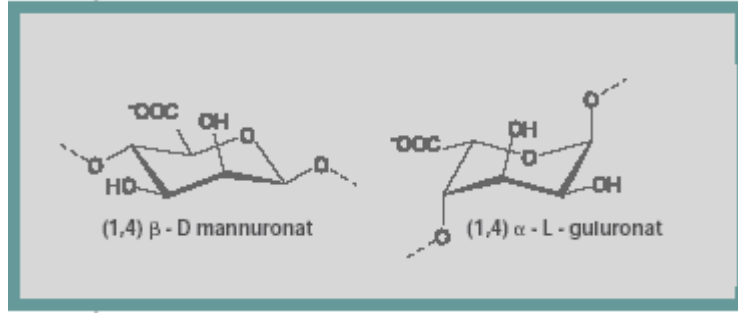
Şekil 2.14. Sodyum Aljinat'ın üretim akış şeması (109)

2.2.2. Kimyasal Özellikleri

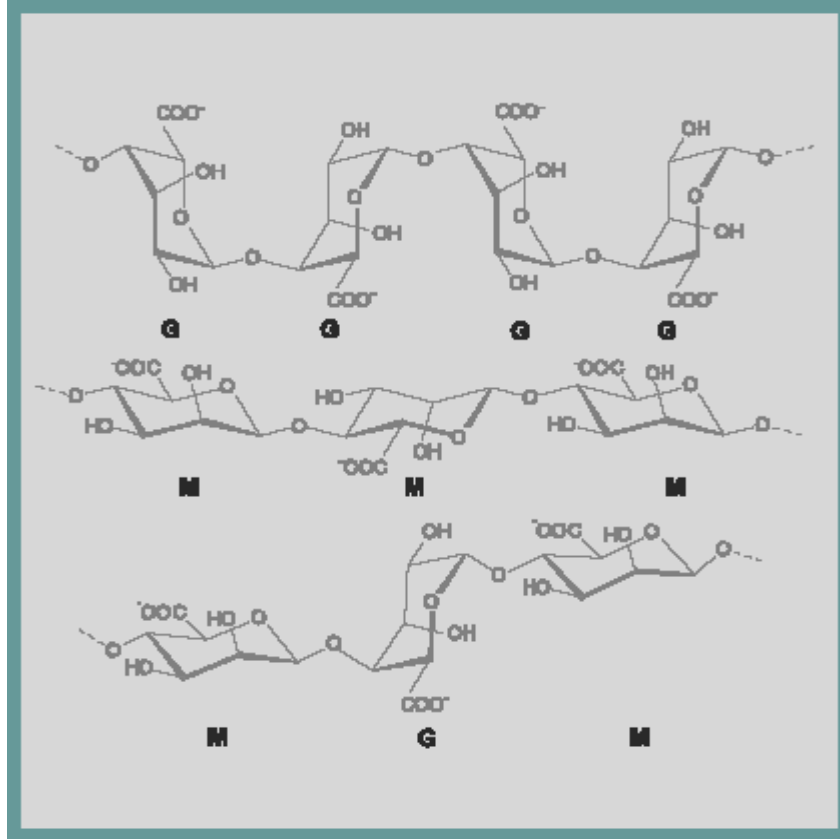
Aljinat'ın kimyasal yapısı Şekil 2.15'te, aljinat monomerleri Şekil 2.16'da ve G-G, M-M ve G-M bloklarının stereokimyasal yapıları Şekil 2.17'de gösterilmektedir:



Şekil 2.15. Aljinat'ın kimyasal yapısı



Şekil 2.16. Aljinat monomerleri (110)



Şekil 2.17. G-G, M-M ve G-M bloklarının stereokimyasal yapıları (110)

Aljinat, (1-4) bağı α -L-gluronik asit ve β -D-mannuronik asit bloklarından oluşur(107). D-mannuranik asidin kendi aralarında β -(1-4) glikozit bağları ile bağlanmaları sonucunda M blokları; L-gluronik asidin kendi aralarında α -(1-4) glikozit bağları ile bağlanmasıyla G blokları oluşur(111); M-M ya da G-G homopolimer blokların bir araya gelmesiyle M-G alternatif bloklar oluşur(109).

Bu üç farklı bloğun monomerlerdeki partiküler şekli ve bağlanma derecesi birbirinden farklıdır ve farklı geometrik özellik gösterirler. Bu blokların bileşimi, tekrarlanma derecesi ve moleküler ağırlık aljinatın kimyasal ve fiziksel özellikleri üzerinde etkilidir(108,111). Aljinatlar, rastgele (random) kopolimer değildir, ama aljinatın kaynağına göre benzer ve

birbirini tekrar eden farklı konformasyonel özellikle bloklardan oluşur ve çok çeşitli moleküler ağırlıkta olabilir (50-100 000)(112). Aljinat'ın jelleşme derecesi ve bununla birlikte salım özelliği polimer zincirindeki guluronik asid(G) yüzdesine bağlıdır(117).

G- ve M- blokları birbirinin epimeridir(112). yani tek bir stereojenik merkezi farklı olan diastereomerlerdir, ayna görüntüleri birbiri üzerinde çakışmaz(118). C5 pozisyonu uzaysal olarak birbirinden farklı konumda bulunmaktadır.

Aljinatın en önemli özelliği Ca^{2+} , Sr^{2+} ve Ba^{2+} gibi divalent katyonlarla reaksiyon vererek jel oluşturmasıdır. Monovalent katyonlar ve Mg^{2+} iyonları ile jel oluşturmaz. Aljinataki blokların 2 değerli katyonlarla ilgisi aşağıdaki gibidir (85) :

GG blokları : $Pb^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+}, Ni^{2+}, Co^{2+} > Mn^{2+}$

GG blokları : $Ba^{2+} > Sr^{2+} > Ca^{2+} \gg Mg^{2+}$

MM blokları : $Ba^{2+} > Sr^{2+} \sim Ca^{2+} \sim Mg^{2+}$

MG blokları : $Ba^{2+} \sim Sr^{2+} \sim Ca^{2+} \sim Mg^{2+}$

Polimerin jelleşmesi ve çapraz bağlanması guluronik asitteki Na^+ iyonlarının divalent katyonlarla yer değiştirmesi ve yumurta kutusu (egg-box) yapısı oluşturmak için guluronik asid gruplarının yığılmasıyla gerçekleşir(108). Şeki 2.18'de aljinat'ın Ca^{2+} iyonlarıyla ilişkilendirilerek yumurta kutusu yapısı oluşturması gösterilmektedir.



Şekil 2.18. Aljinat'ın Ca^{2+} iyonlarıyla ilişkilendirilerek yumurta kutusu yapısı oluşturması (108)

Ca^{2+} miktarına bağlı olarak, zincirler arası bağ geçici veya kalıcı olabilir. Düşük seviyelerdeki Ca^{2+} geçici bağları oluşturur ve yüksek viskoz, tiksotropik çözeltiler ele geçer. Yüksek Ca^{2+} seviyelerinde çökme ya da zincirde kalıcı bağ oluşumuyla jelleşme tamamlanır(108).

Sodyum aljinat katyonik yüzey aktif maddeler ve koruyucu maddeler gibi (kuarterner amonyum tuzları hariç) organik bileşikler başta olmak üzere pek çok katyonik, anyonik ve noniyonik polimerlerle geçimlidir(111). Akridin türevleri, kristal viole, fenil merkürü nitrat ve asetat, %5'ten daha fazla konsantrasyondaki alkol ve ağır metallerle geçimsizdir. Güçlü asit ve alkalide, özellikle ısı ile hidroliz veya parçalanmaya uğrar. Nötral ortamlarda, oda

sıcaklığında stabildir. pH 3'ün altında çöker, pH 4-10 arasında stabildir. Aljinat'ın pH'a bağlı davranışı, salım özelliklerini etkiler(108).

2.2.3. Kontrollü İlaç Salımındaki Kullanımı

Aljinat mukoadezif (mukozaya yapışan), biyoyumlu, biyobozunur, non-toksik, farmasötik ve biyomedikal uygulamalarda kullanılma potansiyeli olan hidrofilik ve anyonik bir biyopolimerdir. FDA tarafından oral kullanıma izin verilmiştir(107,108,119,120). Aljinat kanla uyumludur, organlara herhangi bir zararı ve in vivo degradasyonu görülmemiştir(121).

Aljinat, farmasötik ilaç taşıyıcısı olarak transdermal jel(122), nanoküre(123), mikrokapsül(124), boncuk(125), hidrojel(126) ve film(127) olarak kullanıldığı bildirilmiştir.

Bu tez çalışmasında aljinat mikroküreleri hazırlanmıştır. Son yıllarda aljinat ile ilgili yapılan mikroküre hazırlama çalışmaları Çizelge 2.2 ve 2.3'te'de bildirilmektedir.

Çizelge 2.3. Aljinat Mikrokürelerini Hazırlamada Kullanılmış Olan Diğer Teknikler

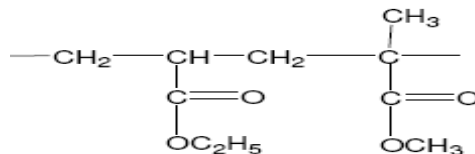
Madde adı	Yardımcı Polimer	Çapraz Bağlayıcı	Teknik	İlave edilen asit	Kaynak
Dikumarol	Tonopac(Baryum sülfat)	CaCl ₂	Damlatma	-	140 (1997)
Sodyum Diklofenak	Kitozan	AlCl ₃ .6H ₂ O ya da CaCl ₂ .6H ₂ O	Damlatma	Glasiyal asetik asit	141 (2002)
Metilen mavisi ve 4-fenilazoanilin	-	CaCl ₂	Spray koagülasyonu	-	142 (2005)
Verapamil HCl	Katkısız, Kitozan katkı ve Kitozan Kaplama	CaCl ₂	Damlatma	-, sey. HCl, sey. HCl	143 (2006)
Prednizolon	Kitozan	CaCl ₂	Kompleks koaservasyon	-	144 (2006)
Teofilin	Selüloz	CaCl ₂	Ektruzyon-Sferonizasyon	-	145 (2007)
Bovin Serum Albümin (BSA)	Kitozan	Ca ²⁺ , SO ₄ ²⁻ ve (Ca ²⁺ , SO ₄ ²⁻)	Damlatma	-	146 (2007)
Trandolapril	Laktoz	-	Püskürterek kurutma	-	147 (2008)
5-floro urasil	Kitozan	CaCl ₂	Damlatma	Glasiyal asetik asit	148 (2008)
Klorfeniramin maleat	Sodyum lauril sülfat (SLS)	CaCl ₂ ya da ZnSO ₄	Damlatma	-	149 (2008)

2.3. Eudragit

Enterik kaplama polimeri ve kontrollü salımda matris pH'a hassas ilaçların salım hızını modifiye edici, kötü tadı ve kokuyu maskeleyici, nemden koruyucu olarak kullanılan(150,151) eudragit'in çok çeşitli türleri bulunmaktadır, bunlar genel olarak poliakrilat ailesindedir. Akrilik ve metakrilik asidin (ya da esterlerinin) polimerizasyonu ile oluşturulmuşlardır. Asit ve ester gruplarının yanı sıra amin grubu içeren türleri de vardır.(152). Çalışmamızda Eudragit NE-30D ticarî isimli Eudragit türü kullanılmıştır.

2.3.1. Özellikleri (153)

Eudragit NE 30D, etil akrilat metil metakrilat kopolimeridir (Şekil 2.19)



Şekil 2.19. Eudragit NE 30D (153)

Ortalama moleküler ağırlık: yaklaşık 800.000

Görünüş: Süt gibi beyaz süspansiyon (katı madde içeriği %30)

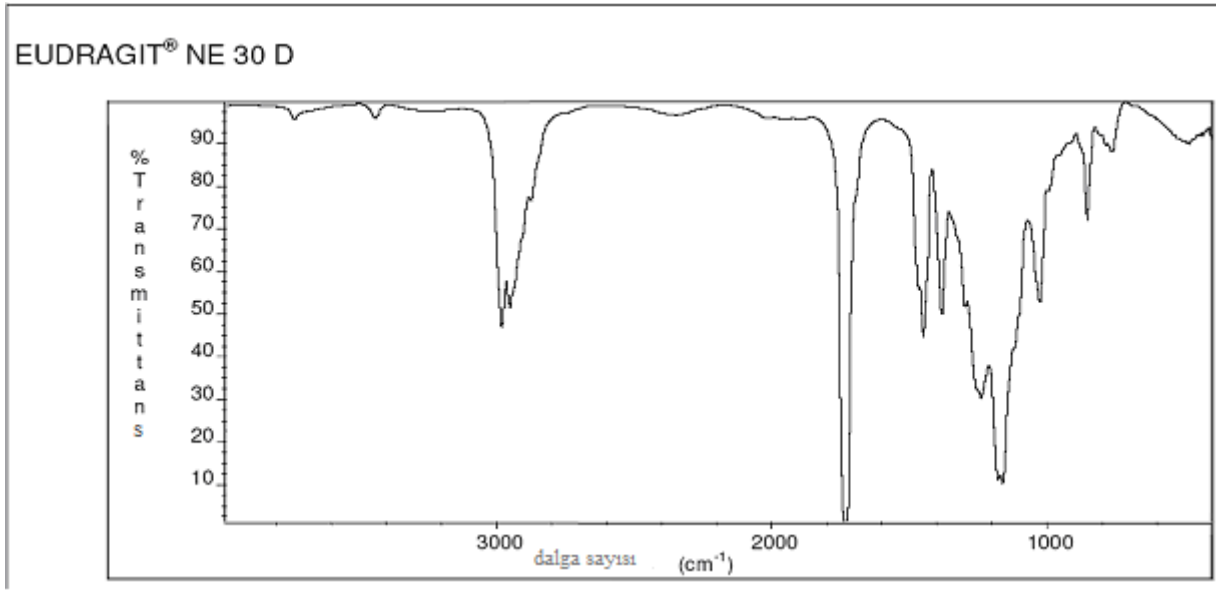
Çözünürlük: Suyla her oranda karıştırılabilir ve süt gibi görüntü devam eder. 1 kısım Eudragit NE30 D ve 5 kısım aseton(etanol ya da izopropil alkol) ile karıştırıldığında önce hafifçe bulutlu, viskoz bir çözelti olur ve polimer çöker; daha sonra organik çözücünün fazlasında ise çözünür. 1N NaOH ile karıştırıldığında çözünmez, süt gibi görüntü devam eder.

Viskozite: Maksimum 50 mPa.s

pH: 5,5-8,6

Yoğunluk: 1,037- 1,047 g/cm³

IR Spektrumu: Şekil 2.20'de Eudragit NE 30 D'nin IR spektrumu verilmektedir:



Şekil 2.20. Eudragit NE 30 D IR Spektrumu (153)

2.3.2. Kontrollü İlaç Salımındaki Kullanımı

Oftalmik(154), bukkal(yanak içi)(155), gasrointestinal(156), rektal(157), transdermal(158), vajinal(153) olarak kullanılabilir, ayrıca gen ilaçlarının(159) salımı ve aşılarında(160) da kullanılması mümkündür. (153)

Eudragitin çeşitli tipleri kontrollü ilaç salımında kullanılmaktadır. Bu polimerler, pH'a bağlı olarak polielektrolit davranışı gösterirler ki bu da kontrollü ilaç salımında değişik amaçlarla yararlanılmalarına olanak sağlar.

Aljinat mikrokürelerine yüklenen ilaç maddelerini mide yerine barsakta salınması, salım süresinin uzatılması veya enkapsülasyon etkinliğinin artırılması amacıyla çeşitli eudragit türleri aljinata katılmaktadır. Fernandez-Hervas ve çalışma arkadaşları(161) etodolak gibi NSAİ etkili bir ilaç etken maddesi olan diklofenak için enterik formülasyonu hazırlamak amacıyla aljinat+eudragit ve aljinat+kitosan mikroküreleri hazırlamışlar, bu kürelerden diklofenak salımının benzer olduğunu saptamışlardır. Jin-Lee ve Min(162),aljinata eudragit R 100 katarak hazırladıkları mikro taneciklere yükledikleri ibuprofen'in salımını geciktirdiklerini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar(163), aljinat mikrotaneciklerini eudragit S 100 katarak ya da kaplayarak hazırladıkları melatonin yüklü taneciklerin mide ve barsaktaki salım süresinin uzadığını bildirmişlerdir.

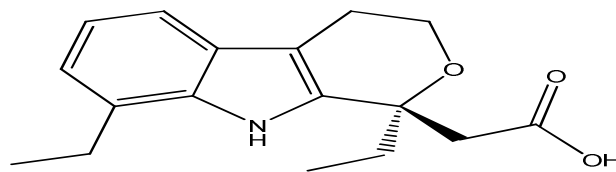
Ayrıca aljinat ve kitosandan oluşturulan mikrokürelerin eudragit ile kaplanarak salımın yavaşlatılması ve/veya salımın barsakta gerçekleşmesi amaçlanmaktadır. Crcarevska ve grubu (164), budesonit içeren aljinat+kitosan mikrokürelerini eudragit S 100 ile kaplayarak barsakta salımını gerçekleştirmişlerdir. Bir Çinli araştırmacı grubu(165), diltiazem yüklü aljinat ve kitosan+aljinat mikrokürelerini eudragite RS30D ile kaplayarak hem salımı yavaşlatmışlar hem de enkapsülasyon etkinliğini artırmışlardır.

Eudragit polimerlerinin bazıları polikasyon, bazıları da polianyon yapısındadır. Bu iki tipin karıştırılması ile interpolielektrolit kompleksleri oluşturulmakta ve ilaçların salımının geciktirilmesinde kullanılmıştır. Moustafine ve arkadaşları yaptıkları iki ayrı çalışmada (166,167), eudragit E 100 + eudragit L 100 ve eudragite E PO + eudragit L 100-55 interpolielektrolit kompleksleriyle hazırladıkları ibuprofen tabletlerinin salım süresinin uzadığını saptamışlardır. Aynı araştırmacılar kitosan + eudragit L 100 ve kitosan+ eudragit L 100-55 den interpolielektrolit kompleksleriyle hazırladıkları diklofenak tabletlerinde de aynı sonuçları almışlardır (168).

2.4.Etodolak

2.4.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri (169)

Etodolak'ın kimyasal yapısı Şekil 2.21'de gösterilmektedir.



Şekil 2.21. Etodolak'ın kimyasal yapısı

UIPAC adı: 1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano-[3,4-b]indol-1-asetik asit

Ampirik formülü: C₁₇H₂₁NO₃

Moleküler ağırlığı: 287,37g/mol

pKa değeri: 4,65

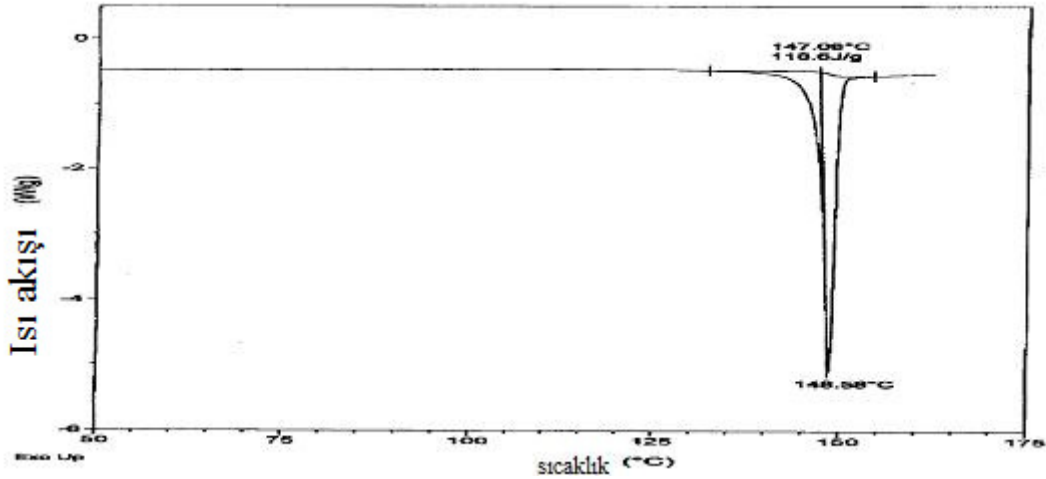
n-oktanol: su dağılım katsayısı: pH 7,4'te 11,4

Görünüşü: Beyaz, kristal

Çözünürlüğü: Suda çözünmez; alkol, kloroform, dimetil sülfoksit ve sulu polietilen glikolde çözünür.

Elementel analiz: C: %71,06, H: %7,37, O: %16,70, N: %4,87

Termal Özellikleri: Şekil 2.22'de etodolak'ın diferansiyel taramalı kalorimetri termogramı görülmektedir. Bu termogram, 148,58°C'de tek bir erime endotermik geçişine aittir.



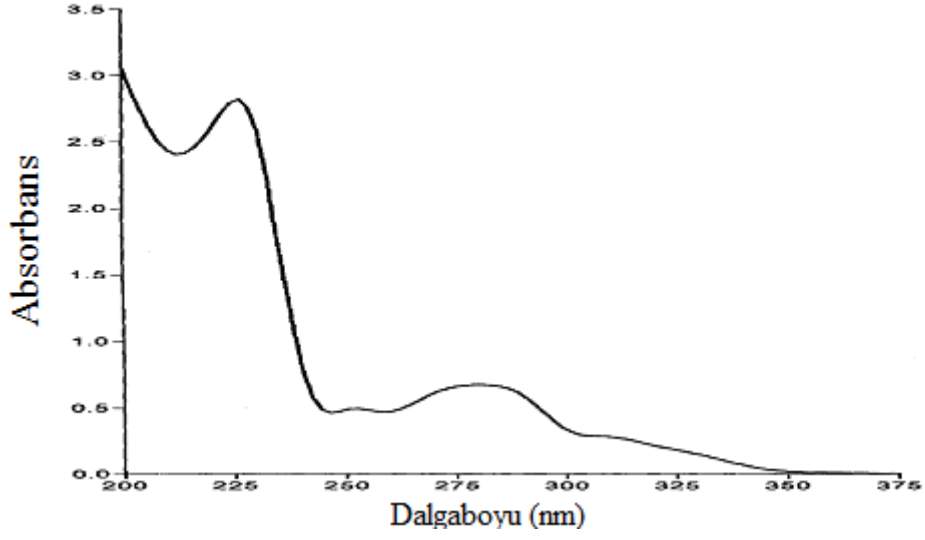
Şekil 2.22. Etodolak'ın diferansiyel taramalı kalorimetri termogramı (DSC)

Diferansiyel Termal Analizinde rasemik etodolak sodyum tuzu 80, 120 ve 297°C'de endotermik geçişler ve 83°C'de ekzotermik geçiş sergilemektedir(170).

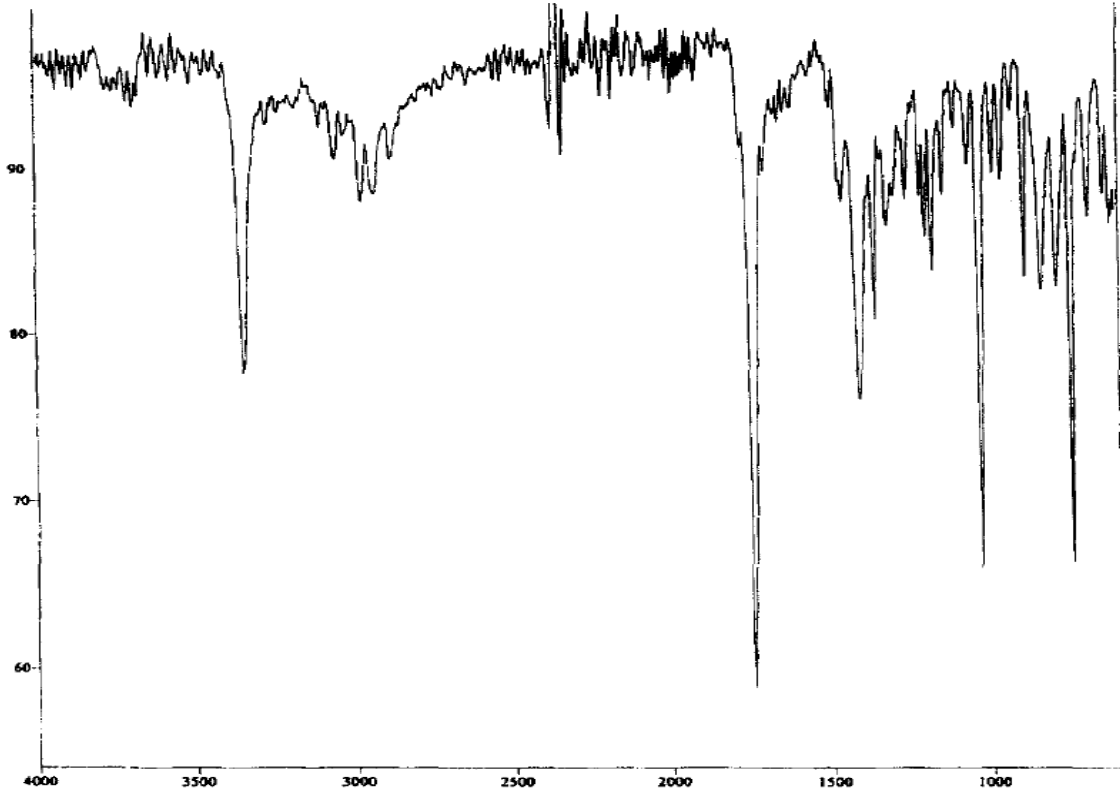
Tuz yapısı: Etodolak; sodyum, potasyum, magnezyum, trietilamin ve benzilamin tuz formlarında bulunabilir(171).

Optikçe Aktiflik: Etodolak'ın bir kiral merkezi ve iki enantiyomeri vardır. En iyi anti-inflamatuar aktivitesini (+) enantiyomeri ile gösterir.

UV spektrumu, IR spektrumu, Kütle Spektrumu ve Proton NMR Spektrumu Şekil 2.23-2.26'da verilmiştir(169).

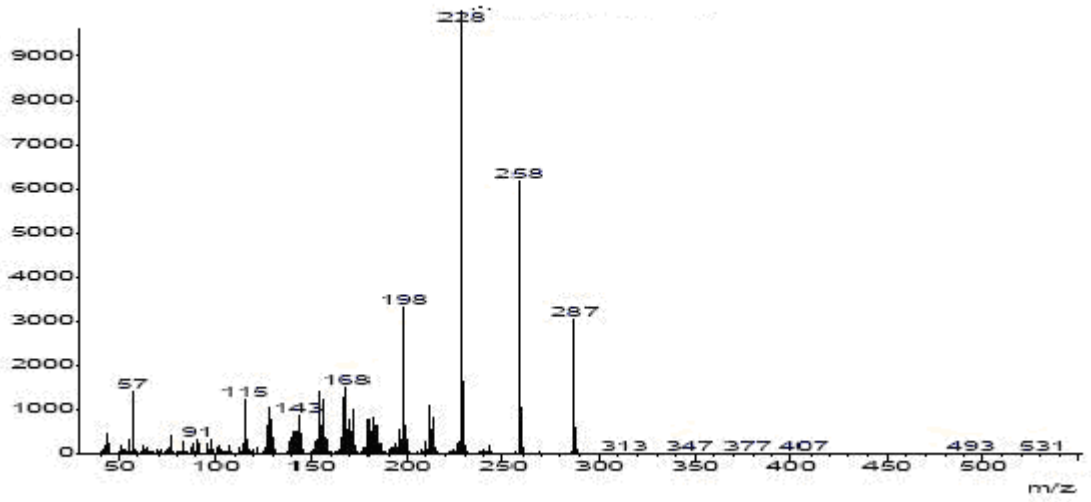


Şekil 2.23. Etanol'deki 20µg/mL etadolak çözeltisinin UV spektrumu (169)

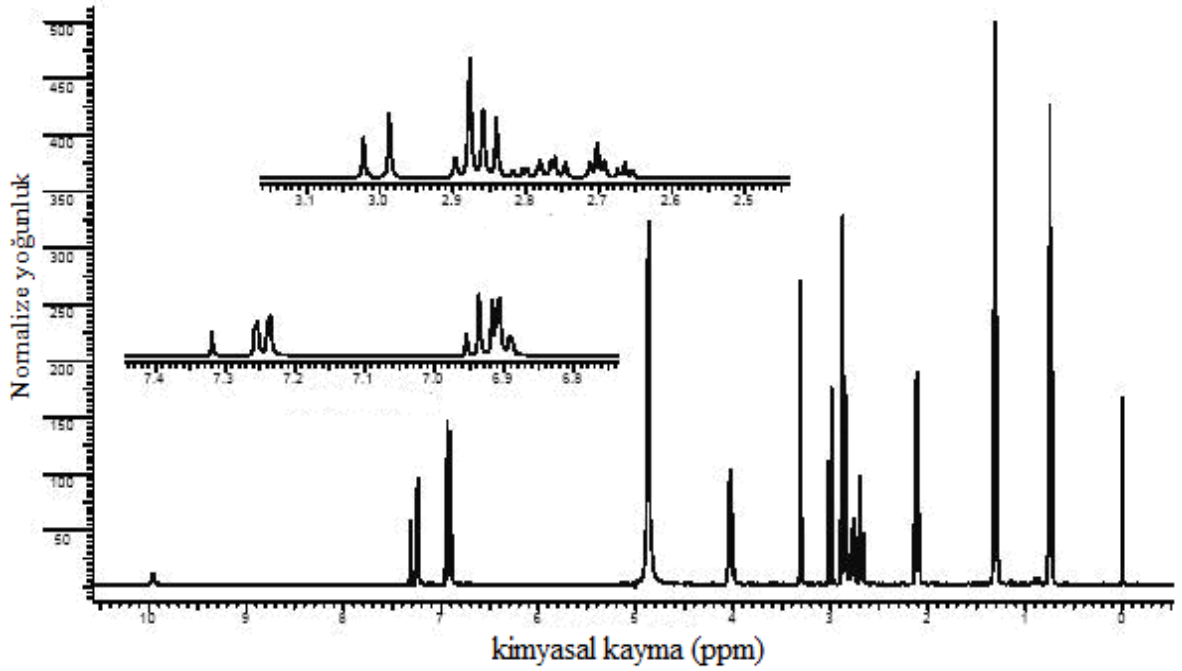


Şekil 2.24. Etodolak'ın IR spektrumu (169)

bolluk



Şekil 2.25. Etodolak'ın elektron çarpırma kaynağı kullanarak alınmış kütle spektrumu (172)



Şekil 2.26. Etodolak'ın CD₃OD çözeltilisinde hazırlanmış proton NMR spektrumu (172)

2.4.2. Farmakolojik Özellikleri

Etodolak, non-steroidal anti-inflamatuar (NSAIDs) (Steroid dışı yangı önleyici ilaçlar) sınıfı ilaçlardandır. Anti-inflamatuar, analjezik ve anti-piretik özellikler gösterir. NSAI ilaçlar düşük dozda analjezik özellikler sergilerken yüksek dozda anti-inflamatuar etki gösterir(169). “Non-steroidal” terimi benzer etkileri olan steroid türü ilaçlardan ayırmak için kullanılır.

Non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlar kimyasal yapılarına göre aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir:

1. Salisilatlar
2. Arilalkanoik asitler
3. 2-Arilpropiyonik asitler (profenler)
4. N- arilantranilik asitler (fenamik asitler)
5. Pirazolidin türevleri
6. Oksikamlar
7. Siklooksijenaz-2 (COX-2) İnhibitörleri
8. Sülfonilidler
9. Diğerleri (5)

Etodolak, bu sınıflandırma içerisinde siklo-oksijenaz-2 inhibitörleri arasında yer alır(173). Romatoid artrit, osteoartrit, ankilozan spondilitis, ameliyat sonrası ağrılar (diş, doğum, ortopedik cerrahî sonrası) ve cerrahî olmayan ağrıları (sırt ağrısı, tendonitis, spor incinmeleri, gut hastalığı gibi) tedavi etmede kullanılabilir(169). Ayrıca gut hastalığının tedavisinde kandaki ürik asit seviyesini düşürmek amacıyla da kullanılabilir (171).

2.4.2.1. İlaç Metabolizması ve Farmakokinetik

Etodolak; oral (tablet ve süspansiyon), rektal ve transdermal olarak kullanılmaktadır.

Absorpsiyon: Etodolak oral uygulamadan sonra hızla absorbe olur. Tablet ya da kapsül alımından sonra 1-2 saat içerisinde maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşır (C_{max}). Uzatılmış salım sistemli (sustained release) formülasyonlarda maksimum plazma konsantrasyona ulaşma süresi(t_{max}) $7,3 \pm 4$ saate uzar(169,174, 175).

Oral çözelti absorpsiyonu 0,5 saat içerisinde gerçekleşir. 200 mg oral doz alındığında 15-20 μ g/ml C_{max} değerine ulaşır. Uzatılmış salım ürünlerinde 200-400 ve 600mg'lık dozlar alındığında ortalama C_{max} değerleri sırasıyla 4,6; 7,5 ve 11,9 μ g/mL'dir. 200mg'lık rektal uygulamadan sonra 13,6 μ g/ml C_{max} değerine ulaşır(169).

Dağılımı: Oral uygulamadan sonra etodolak'ın ortalama dağılım hacmi yaklaşık 0,3-0,5 L/kg'dır. Etodolak'ın protein bağlama özelliği oldukça yüksektir (%95). Düşük konsantrasyonlarda R- etodolak, S- etodolak'tan daha yüksek protein bağlama özelliği gösterirken yüksek konsantrasyonlarda tam tersidir(169).

Metabolizma: İnsanlarda çoğunlukla metabolize olur, idrarda bozunmamış ilaca pek rastlanılmaz. Temel olarak etodolak metabolitleri, açıl glukuronid, 6-hidroksietodolak, 7-hidroksietodolak, 8(1'-hidroksietil) etodolak, 4-üreidoetodolak(169) ve N-metiletodolak(176)'tır. İnsanlarda en çok ilk üç metabolit oluşurken farelerde 4-oksoetodolak daha çok oluşmaktadır(177).

Eliminasyon: Etodolak kapsül, tablet, uzatılmış salım formülasyonu ve supozituar uygulamasının ardından 6-8 saat yarı ömürlü terminal eliminasyon gösterir. Eliminasyon doza bağımlı değildir. Dozun %80-92'lik kısmı idrar ve feçes yoluyla elimine edilirken çok düşük bir oran ise safra yoluyla elimine olur(169).

2.4.2.2. Yan Etkiler

En önemli yan etkisi, genellikle zayıf ve geri dönüşümlü gastrointestinal rahatsızlıklardır, fakat bazı hastalarda peptik ülser ve gastrointestinal kanamalara rastlanabilir(173). Bu etkiler genellikle hafif ve geçicidir. Etodolak'ın aspirin, ibuprofen, indometazin ve piroksikam gibi non-steroidal ilaçlardan daha az gastrointestinal yan etkilere yol açtığı belirtilmiştir(178).

Bulantı, epigastrik ağrı, diyare, gaz, konstipasyon görülebilir. Diğer NSAİ İlaçlar gibi etodolak trombosit fonksiyonunu azaltabilir. Özellikle antikoagülan tedavi gören hastalar gastrointestinal belirtiler yönünden takip edilmeli, kanama meydana gelmiş ise tedavi kesilmelidir(175).

Dermatolojik olarak döküntü, kaşıntı gelişebilir, aspirinle birlikte kullanıldığında astım krizini tetikleyebilir. Serum transaminazlarında hafif ve geçici yükselmeler olabilir. Baş ağrısı, baş dönmesi, yorgunluk görülebilir(175).

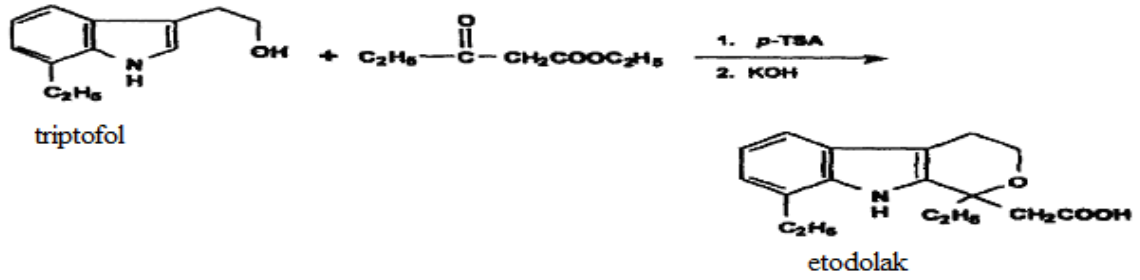
2.4.3. Analiz Yöntemleri

2.4.3.1. Tanınma ve Ayırma Yöntemleri

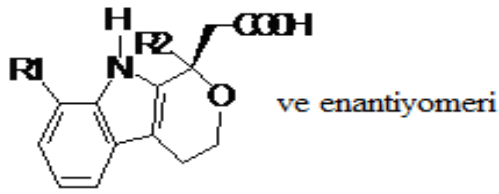
Etodolak'ın tanınmasında ince tabaka kromatografisi (ITK), IR spektroskopisi, HPLC ve kapiler elektrokromatografi yöntemlerinden yararlanılmıştır.

Avrupa farmakopesi 6'da etodolak'ın tanınması için IR spektroskopisi ve ince tabaka kromatografisi önerilmiştir. İnce tabaka kromatografisinde önceden askorbik asit ile kaplanmış floresans silikajel plak ve glasiyal asetik asit, susuz etanol, toluen (0,5:30:70 V/V/V) çözücü sistemi kullanılmış, etodolak 254 nm UV ışın altında belirlenmiştir(179).

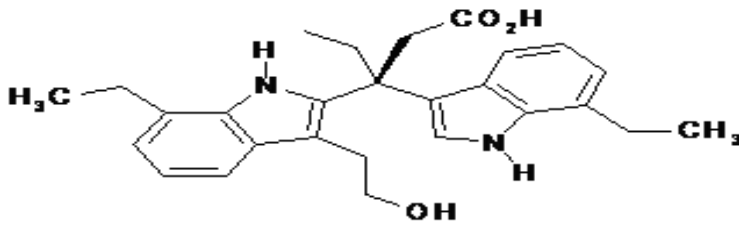
Avrupa farmakopesi 6'da bozunma ürünlerinin analizleri için HPLC tekniği önerilmiş ve her birinin izin verilen limitleri belirtilmiştir(179). Triptofol'un keto ester ile asit katalizli kondenzasyonu ve alkali hidrolizi sonucunda elde edilmesi (Şekil 2.27) nedeniyle en önemli safsızlığı triptofoldür. Diğer safsızlıklar Şekil 2.28'de verilmektedir (179).



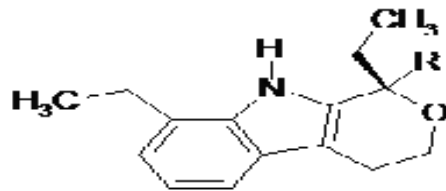
Şekil 2.27: Etodolak'ın elde edilmesi



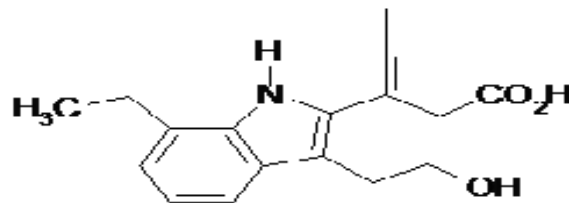
SAFSIZLIK ADI	R1	R2
A	H	CH ₂ CH ₃
B	CH ₃	CH ₂ CH ₃
C	CH ₂ CH ₃	CH ₃
D	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ CH ₃
E	CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃
F	CH ₂ CH ₃	CH(CH ₃) ₂
G	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₃



ve enantiyomeri



ve enantiyomeri



Şekil 2.28. Etodolak'ın diğer safsızlıkları

Dung ve arkadaşları etodolak'ın enantiyomerlerinin ayrılması için yaptıkları çalışmada etodolak'ı (-)-brusin ve (-)-sinkonidin diastereomerik tuzlar ile S-(+)-etodolak ve R-(-)-etodolak türevleri haline dönüştürüp kristallendirme ve daha sonra yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile Chiralcel OD-H tipinde kolon ile ayırma yöntemi geliştirmişlerdir(180).

Scharfenkamp ve arkadaşları(181) etodolak'ın diastereomerik tuzlarını birbirinden ayırabilmek için optikçe aktif 1-feniletülin ile fraksiyonel olarak kristallendirme ve HPLC yöntemini kullanmışlardır. İdrardaki metabolitlerini belirleyebilmek için ise protein bağlı kiral sabit faz kullanmışlardır.

Ammar ve arkadaşları(182) Avrupa Farmakopesi'nde belirtilen ayırma yöntemindeki pik genişlemelerine karşı bir çözüm bulmak amacıyla çözücü sistemlerini değiştirip yeni bir ayırma yöntem önermişlerdir.

Strickmann ve arkadaşları (183) etodolak ve faz-I metabolitleri olan 6-hidroksi etodolak, 7-hidroksi etodolak ve 8-(1-hidroksietil) etodolak'ın ayrılması için ise kapiler HPLC, basınç destekli kapiler elektrokromatografi ve kapiler elektrokromatografi yöntemlerini kullanarak C18 türü kolon ile ayırmışlardır. Daha sonra elektrospay iyonizasyon kütle spektroskopisi ile bu metabolitleri tayin etmişlerdir.

Yılmaz ve arkadaşları (184) ilaçlarda ve insan serumundaki etodolak'ın elektrokimyasal oksidasyonunu incelemek için camsı karbon elektrot ile dönüşümlü, doğrusal taramalı, diferansiyel puls ve kare dalgalı voltametri yöntemini kullanmışlardır.

Strickmann ve arkadaşlarının (185) yaptığı başka bir çalışmada büyük bir oranda karaciğerde metabolize olan etodolak'ın idrarda monohidroksilenmiş metaboliti olan 5-hidroksi etodolak'ı tayin edebilmek için HPLC, elektrospay iyonizasyon kütle spektroskopisi, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR yöntemlerini kullanmışlardır.

2.4.3.2.Miktar Tayini Yöntemleri

Etodolak'ın miktar tayini için titrimetri, spektrofotometri, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve gaz kromatografisi yöntemlerinden yararlanılmıştır.

Titrimetrik Yöntemler: Avrupa farmakopesi 6,0'da etodolak miktar tayini için etodolak'ın metanol'deki çözeltisinin 0,1M tetrabutülamonyum hidroksid çözeltisiyle titrasyonu önerilmiştir. (179)

Spektrofotometrik Yöntem: Şekil 2.23'te görüldüğü gibi UV spektrumu 226nm'de ($\epsilon = 40530 \text{ L cm}^{-1} \times \text{mol}^{-1}$) ve 280 nm'de molar absortivitesi ($\epsilon = 9729 \text{ L x cm}^{-1} \times \text{mol}^{-1}$) olan iki adet λ_{max} içerir. İlaç preparatlarından çözünen etodolak miktarının tayininde genelde 279 ± 1 nm'deki absorbans değeri ölçülür(169). Ayrıca sülfirik asid ve demir(III)klorür varlığında p-dimetil amino benzaldehit ile renkli kompleksleri haline getirilip 591,5 nm'de ölçüm yapılmıştır (169).

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Yöntemi:

Yamaguchi ve arkadaşları(186) etodolak'ın karboksilik asid grubunu florlu türevi haline dönüştürüp floresans detektörlü yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemiyle tayin etmişlerdir. Türevlendirme ajanı olarak 4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptadekaflo-ro-*n*-undesilamin (HFUA) kullanılmıştır. Ters faz kolonda izokratik elüsyon ile çalışmışlardır.

Jin ve arkadaşları(187) insan plazmasındaki flurbiprofen, ketoprofen ve etodolak enantiyomer karışımlarından etodolak'ı kolon öncesi türevlendirmeden sonra HPLC yöntemiyle saf olarak ayırabilmişlerdir. Bu amaçla, (S)-(-)- α -(1-naftil)etilamin kiral ayırma belirteci ve bağlanma ajanı olarak 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilkarbodiimid ve karboksibenzotriazol kullanmışlardır. Analitik kolon olarak Agilent Zorbax C18(250 x 4.6, 5 μ m) ve koruyucu kolon olarak ODS (10 x 5 mm, 10 μ m) ile metanol(0.01 mol/L): potasyum dihidrojen fosfat tamponu (pH 4.5) (88:12 v/v) çözücü karışımıyla izokratik elüsyon 0,8 mL/dk akış hızıyla ayırma yapmışlar, UV detektörü (278 nm) kullanmışlardır.

Lee ve arkadaşları(188) insan plazmasından etodolak'ı sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile ayırdıktan sonra RP-HPLC-tandem MS tekniğiyle tayin etmişlerdir. Capcell pak MG II C18 kolon (50 x 2 mm i.d., 3 μ m, 12 nm) ve %65 asetonitril- %35 10mM amonyum format çözeltisi (pH 3,5)'dan oluşan mobil faz kullanarak ve 40°C kolon sıcaklığında izokratik olarak çalışılmıştır.

GC-MS:

Giachetti ve arkadaşları(189) tarafından etodolak'ın analizi için metil esteri halinde gaz kromatografik-kütle spektrofotometrik yöntem önerilmiştir.

2.4.4. Etodolak ile Hazırlanmış Kontrollü Salım Sistemleri

2.4.4.1. Uzatılmış Salım (Sustained Release, Extended Release)

Raghuvanshi ve arkadaşlarının(190) patent aldığı çalışmada Etodolak'ın günde bir kez uygulanan uzatılmış salımlı tablet formülasyonu hazırlanmıştır. Bu çalışmada çeşitli

viskozitelerde hidroksipropil selüloz (HPC-L ve HPC-M), dolgu maddesi olarak laktoz, bağlayıcı olarak polivinil pirolidon kullanarak ilaç salım hızını ve farmakokinetik profilini incelemişlerdir.

Michelucci ve arkadaşlarının(191) patent aldığı çalışmada Etodolak'ın uzatılmış salımlı tabletlerini hazırlamak için hidroksipropil metil selüloz ve etil selüloz çeşitli oranlardaki karışımı ve salım hızını ayarlayıcı ajan olarak da dibazik sodyum fosfat kullanılmıştır. İlacın gastrointestinal ortamdaki çözünürlüğünün minimum olduğu ve in-vitro koşullardaki salımının 14 saate uzadığı bildirilmiştir. Çalışmada hidroksipropil içeriğinin artmasıyla salım hızının arttığını vurgulamışlardır.

Hersh ve arkadaşlarının(192) 237 hasta üzerinde yaptığı istatistikî çalışmada günde 2 defa konvansiyonel etodolak(200 ve 400mg), tek doz uzatılmış salım etodolak(1200mg) ve günde 3 defa plasebonun dış operasyonu sonrası duyulan ağrılara karşı analjezik etkisi incelenmiştir. 400mg'lık konvansiyonel etodolak'ın 45 dk'da, 200 mg konvansiyonel etodolak'ın 60 dk'da analjezik etki gösterdiği ve bu etkinin 5-6 saat sürdüğü; buna karşılık uzatılmış salımlı etodolak'ın 60 dk.'da etki gösterdiği ve bu etkinin 12-24 saat sürdüğü belirtilmiştir. 2. ve 3. saatlerde konvansiyonel etodolak'ın diğer uygulamalardan daha etkili olduğu, 6-12 saatler arasında ise uzatılmış salımlı etodolak'ın daha etkili olduğu belirtilmiştir.

2.4.4.2. Kontrollü Salım

Barakat'ın(193) yaptığı bir çalışmada, suda zayıfça çözünen bir ilaç olan etodolak'ın oral biyoyararlanımını arttırmak amacıyla kendiliğinden emülsiyonlaştırarak (self-emulsifying) ilaç salım sistemi hazırlanmıştır. Formülasyonda %20 etodolak, %30 Labrafac Lipophile WL 1349, %10 Lauroglycol 90 ve %40 Labrasol kullanılmış ve tavşanlardaki biyoyararlanımı incelenmiştir. Toz ilacın ve 50mg/kg etodolak'ın sudaki süspansiyonunun farelerdeki anti-inflamatuar etkisi ayrıca karşılaştırılmıştır. Alınan sonuçlar hazırlanan formülasyonun etodolak ve diğer lipofilik ilaçlar için oral salımda kullanımına uygun olduğunu göstermiştir.

Barakat'ın(194) yapmış olduğu başka bir çalışmada, etodolak'ın rektal olarak kullanımı için poloksamer jel sistemleri hazırlanmıştır. Bu amaçla poloksamer ve biyoadezif polimerler (hidroksipropil-metil selüloz, poli(vinil)pirolidon, metil selüloz, hidroksietil selüloz ve karbopol) kullanılmıştır. Mukoadezif polimerin türüne göre, jelleşme sıcaklığı, jel gücü ve biyoadezif kuvveti gibi fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Salım analizleri etodolakın

Fick difüzyon yasasına uygun olarak salındığını göstermiştir. Etodolak-poloksamer jel sistemlerinin anti-inflamatuar etkisi fareler üzerinde incelenmiştir.

Cerderia ve arkadaşların(195) NSAİ ilaçların oluşturduğu gastrik yan etkiyi önleyebilmek için tercihen tablet ya da kapsül haline getirilmiş, etodolak yüklü, pH ile çözünürlüğü değişebilen hidroksipropilmetilselüloz ftalat boncukları hazırlamışlardır. Yoğunluk, kırılma kuvveti, enkapsülasyon etkinliği gibi etkiler hazırlanan boncukların farmasötik uygulamalarda kullanılabilir olduğunu, ayrıca in vitro salım çalışmaları ve matematiksel modelleme çalışmaları da ilacın birinci dereceden salım kinetiğiyle uyumlu olduğunu göstermiştir.

3.DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Kullanılan Malzemeler

3.1.1. Kimyasal Maddeler

Kullanılan kimyasal maddeler Çizelge 3.1’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1. Kimyasal Maddeler

Madde adı	Firma Adı	Katalog No
Etodolak	Mustafa Nevzat İlaç Sanayi A.Ş.*	B710K072/09008679 pot=%100.8 ASIS
Aljinat(Protanal LF 200 DL)	FMC Biopolymer **	S 21507
Aljinat(Protanal LF 10/ 60)	FMC Biopolymer **	S 22039
Aljinat(Protanal HF 120 RBS)	FMC Biopolymer **	S 21890
Sodyum polifosfat(NaPO_3) _n	Merck	1065291000
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Merck	142000
$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Merck	7336464 MA=172.17
Etanol	Merck	8187601000
Tween-80	Merck	8221870500
HCl	Sigma	<u>7647-01-0</u>
NaCl	SigmaAldrich	<u>7647-14-5</u>
KCl	Sigma-Aldrich	<u>7447-40-7</u>
Na_2HPO_4	Sigma-Aldrich	<u>7558-79-4</u>
KH_2PO_4	Sigma	<u>7778-77-0</u>
Gliserin Pure	Akkimya	MA=92.10
Eudrogit NE30D	Evonik Röhm GmbH Pharma Polymers ***	B080612057
Soya Yağı	Soyola	8690566100232

* Mustafa Nevzat İlaç San. A.Ş.’ye ve Dr. Taner Dortunç’a,

** FMC Biopolymer firmasına,

*** Karadeniz Kimya Tic. LTD.ŞTİ firmasına ilgili maddeleri bize hediye ettikleri için teşekkür ederiz.

3.1.2. Çözeltiler:

%2’lik Aljinat çözeltisi: 40°C’lik su banyosundaki behere 50 ml destile su ilave edilip, mekanik karıştırıcıyla karıştırırken kısım kısım 1g aljinat ilave edildi.

CaSO_4 (gliserin:su)(1:1) çözeltisi: 0,8 g susuz CaSO_4 tartılıp toplam 10ml’lik gliserin-su karışımına ilave edilir.

%1’lik $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 1,00 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılıp 100 ml’ye tamamlandı.

Etodolak stok çözeltisi (100ppm): 10 mg etodolak tartılıp etanol ile 100mL’ye seyreltildi

Etodolak standart çözeltileri (5-25 ppm): Stok çözeltilerden 0,5-1,0-1,5-2,0 ve 2,5 mL alınıp 10'ar mL'lik balonjojeler etanol ile hacmine seyreltildi, böylece 5-10-15-20-25 ppm'lik çözeltiler elde edildi.

(SGF)Yapay Mide Ortamı (pH 1,2): 2,00 g NaCl 150 ml suda çözülür ve üzerine 7 ml derişik HCl ilave edilip 1 L'ye tamamlanır.

(PBS) Yapay Barsak Ortamı (pH 7,4) : 8,00 g NaCl, 0,20 g KCl, 1,44 g Na₂HPO₄ ve 0,24 g KH₂PO₄ 800 ml distile suda çözülür pH'ı 7,4'e HCl ve NaOH ile ayarlanır ve distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır.

3.1.3. Araç ve Gereçler

Kullanılan araç ve gereçler Çizelge 3.2'te belirtilmiştir.

Çizelge 3.2. Araç ve Gereçler

Alet adı	Markası
Titreşimli Elek	Octagon 200 Endecotts
Su Banyosu	Kerman-Numan SM1
Mekanik Karıştırıcı ve pervaneli karıştırma ucu	Heidolph Type RZR-1 Seri no: 010736997
Destile su Cihazı	SG water- Sterile ventilation fitler with CO/2 trap Art nr. 3502
Terazi	Sartorius analytic
Polarize Mikroskop	Leica MPS 52 (50 kat büyütme)
UV-Visible spektrometre ve kuvarz küvet	Agilent
pH-metre	WTW inoLab pH720)
Termogravimetrik Analiz (TGA) Cihazı	SD TQ 600
Süzgeç Kağıdı	Macherey-Nagel
Kül fırını	Carbolite
Etüv	Philips Haris LTD
Çalkayıcı ve Termostatlı Su Banyosu	Julabo SW 22

3.2. Teknikler

3.2.1. Susuz CaSO₄'ın Hazırlanması

Toz halindeki CaSO₄.2H₂O bir porselen krozeze ince bir tabaka halinde konulup 8 saat boyunca 270°C'deki kül fırınında tutuldu. Suyun tamamen uzaklaştığından emin olmak için termogravimetrik analiz ile kontrol edildi.

3.2.2. Mikroküre Hazırlanması

Çalışmada kullanılan yöntem Gürsoy ve arkadaşları(85) tarafından uygulanan yöntemdir. (30 veya 40°C)'deki su banyosunda, %2'lik aljinat çözeltisi (30 ya da 60) dakika, 500 rpm hızında karıştırıldı. Gaz kabarcıklarının uzaklaştırılması için su banyosunun içinde 1 saat bekletildi. Ardından bu çözeltiden 25 mL alınıp 250 mL'lik bir behere kondu ve üzerine 0,35g sodyum polifosfat ilave edildi. Boş küre hazırlanacaksa başka bir şey ilave edilmedi, yardımcı polimer içeren boş küre hazırlanacaksa 0,75 mL Eudragit NE 30D, aljinatlı ilaç küreleri hazırlanacaksa 200mg, aljinat-eudragit küresi hazırlanacaksa 500 mg etodolak eklendi. Birkaç dakika karıştırıldıktan sonra su banyosunda bekletmeye alındı.

Diğer taraftan başka bir beherde yine (30 veya 40°C)'deki su banyosunda 60 mL soya yağı ve 0,6 ml Tween80 çözeltisi 15 dakika 500 rpm hızda karıştırıldı. Sonra (280, 500 ya da 750 rpm) hızında karıştırmaya devam edilerek üzerine aljinat çözeltisi (damla damla ya da birden) döküldü. 10 dakika karıştırıldı. Ve üzerine (5-10ml) 1:1 gliserin:su karışımındaki (450, 600, 800, 1000 ya da 1200mg) susuz CaSO₄ karışımı eklendi. Daha sonra 125 mL CaCl₂ çözeltisi ilave edilir ve fazlar ayrıldı, yağ fazı uzaklaştırıldı, su fazındaki küreler destile suyla defalarca yıkanarak nuçe erleniyle süzüldü ve 1 gece boyunca 30°C'deki etüvde kurutuldu.

3.2.3. Optimum Koşulların Saptanması

3.2.2'de anlatılan yöntem ile düzgün ve sağlam özellikte ayrıca ilaç yükleme kapasitesi yüksek olan mikroküreleri elde etmek için aşağıdaki koşullar araştırıldı. Alınan sonuçlar 4.2 de verilmiştir.

3.2.3.1. Aljinat'ın Çözünme Süresi:

Aljinat sulu çözeltisinin hazırlanmasında çözünmenin tamamlanması için uygun sıcaklıktaki su banyosunda 30 ve 60 dakika olmak üzere iki farklı süre karıştırıldı.

3.2.3.2. Emülsiyonu Karıştırma Hızı:

En iyi özellikte emülsiyon oluşması için sulu ve yağlı fazların karıştırılmasında 280 rpm(0. kademe), 500rpm(1.kademe) ve 750 rpm(2.kademe) olmak üzere üç ayrı karıştırma hızı denendi.

3.2.3.3. İki fazın karıştırılması:

Sulu faz ile yağlı fazın birbirine karıştırılmasında birden ve damla damla olmak üzere iki ayrı usul denendi.

3.2.3.4. Sıcaklık:

Aljinat çözeltisinin hazırlanmasından başlayarak tüm hazırlama işleminin 30° ve 40 °C de olmak üzere iki ayrı sıcaklıkta gerçekleştirildi.

3.2.3.5. Aljinat Tipleri:

G/M oranları ve viskoziteleri farklı olan üç ayrı tür sodyum aljinat kullanıldı Bunlar Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Aljinat tipleri

Aljinat Adı	G/M Oranı	Vizkozite (cps)
Protanal HF 120 RBS	45/55	600-800
Protanal LF 200 DL	55/65	200-400
Protanal LF 10/60	65/75	20-70

3.2.3.6. Yardımcı Polimer İlavesi:

Yardımcı polimer olarak Eudragit NE 30D kullanıldı.

3.2.3.7. CaSO₄ miktarı:

CaSO₄ miktarının mikrokürelerin özelliklerine olan etkisini incelemek amacıyla 475, 600, 800, 1000 ve 1200 mg CaSO₄ ile denemeler yapıldı.

3.2.4. Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

Etodolak konsantrasyonu ile absorptans arasındaki ilişkiyi incelemek üzere bölüm 3.1.2'deki gibi hazırlanmış olan etodolak standart çözeltilerinin absorptansı, etodolak'ın etanol'deki λ_{max} u olan 280 nm'de etanol'e karşı ölçüldü. Her konsantrasyon için 3 ölçüm yapıldı. Ortalama absorptans değerleri ile ölçü eğrisi çizildi. Ölçü eğrisine ait regresyon denklemi en küçük kareler yöntemi ile hesaplandı. Sonuçlar 4.3'te verilmiştir.

3.2.5. Mikrokürelerin Etodolak İçeriğinin Saptanması

Bir miktar mikroküre havanda öğütüldü ve 100 mg tartım alınarak 50 mL'lik balonjojeye etanol ile aktarıldı, etanol ile hacmine tamamlandı. Karıştırıldıktan sonra 1 mL alınıp etanol

ile 10 mL'ye seyreltildi. Bu çözeltinin 280 nm'deki absorbansı etodolak içermeyen aynı miktardaki mikroküreye aynı işlemin uygulanmasından elde edilen çözeltiliye karşı ölçüldü. Ölçülen absorbansın karşılığı olan etodolak konsantrasyonu, 3.2.5'te hazırlanmış olan ölçü eğrisinden bulundu. Buradan, başlangıçta alınmış olan tartım içindeki etodolak miktarı hesaplandı. Deneme 3 kez tekrarlandı ve ortalama alındı.

3.2.6. Enkapsülasyon Etkinliği (Encapsulation Efficiency)

Aşağıdaki formül kullanılarak enkapsülasyon etkinliği hesaplandı. Sonuçlar 4.4'te verilmiştir.

$$\text{Enkapsülasyon etkinliği(\%)} = \frac{W_a}{W_t} \times 100$$

(W_a : alınan tartımdaki etodolak miktarı, W_t : teorik etodolak miktarı) formülüne göre hesaplandı.

3.2.7. İlaç Yükleme Kapasitesi (Drug Loading Capacity)

$$\text{İlaç yükleme kapasitesi(\%)} = \frac{W_d}{W_t} \times 100$$

(W_d : mikrokürelere yüklenen ilaç miktarı, W_t : toplam mikroküre ağırlığı) formülüne göre hesaplandı.

3.2.8. Verim (Recovery, Yield)

$$\text{Verim(\%)} = \left[\frac{\text{mikroküre miktarı}}{\text{aljinat miktarı} + \text{ilaç miktarı} + \text{(eudragit miktarı)} + \text{Ca}^{2+} \text{ miktarı}} \right] \times 100$$

formülüne göre hesaplandı.

3.2.9. Mikroskop İncelemesi

Oluşturulan mikroküreler polarize mikroskopta gözlendi ve fotoğrafları çekildi.

3.2.10. Elek Analizi

10 g mikroküre Octagon 200 Endecotts markalı titreşimli eleklerden 850-710-600-500-425-355-250-125 μm 'luk elekler kullanılarak 5 dk. 4. seviyede elendi. Sonuçlar 4.6'da verilmiştir.

3.2.11. Etodolak Salımının İncelenmesi

Ölçü Eğrilerinin Hazırlanması:

Etodolak asitli ortamda suda çözünmediği için mide pH'ında yapılan salım testi için kullanılacak olan ölçü eğrisi pH:1,2 tamponu-etanol (1:1) de hazırlandı. PBS içinde yapılan salım testleri için kullanılacak olan ölçü eğrilerinin hazırlanmasında çözünme problemi olmaması nedeniyle alkol ilavesi yapılmadı. Her iki ölçü eğrisi için, 5-25 ppm

konsantrasyonda hazırlanan çözeltilerin $\lambda_{\max} = 280$ nm'deki absorbans değerleri ilgili çözücüye karşı ölçüldü ve ölçü eğrileri çizildi. Tüm ölçümler 3 kez yapıldı ve ortalamalar alındı. Ölçü eğrilerine ait regresyon denklemleri en küçük kareler yöntemi ile hesaplandı. Salım testinde salınan etodolak miktarlarının hesaplanmasında bu ölçü eğrilerinden yararlanıldı.

Salım Testlerinin Yapılışı:

15mg civarında mikroküre tam olarak tartıldı, üzerine 50 mL pH:1,2 tamponu ilave edildi, 29 rpm ve 37°C'de çalkalayıcı su banyosunda çalkalandı. 1. ve 2. saat sonunda 0,45 mikron filtreye takılmış olan enjektör kullanılarak ikişer mL örnek alındı, yerine aynı filtreden tersine akıtılarak pH:1,2 tamponu ilave edildi. Alınan örneğe 2mL etanol ilave edilip spektrofotometrede 280 nm'deki absorbansı etodolak içermeyen aynı miktardaki mikroküreye aynı işlemin uygulanmasından elde edilen çözeltiliye karşı ölçüldü ve karşılığı olan etodolak konsantrasyonu ölçü eğrisinden bulundu.

2. saatten sonra pH:1,2 tamponu 1 mL kalana dek çekildi ve kalan az miktardaki asit 0,1 N NaOH ile nötralize edildi ve daha sonra PBS tamponu ile 50 mL'ye tamamlandı. Üç saat boyunca belirli aralıklarla 2'şer ml örnek alındı ve yerine 2 mL PBS tamponu ilave edildi. Alınan 2 mL örneğin üzerine 2 ml PBS tamponu eklendi ve 280 nm'deki absorbansı etodolak içermeyen mikrokürelerden elde edilen çözeltiliye karşı ölçüldü ve karşılığı olan etodolak konsantrasyonları ilgili ölçü eğrisinden bulundu. Deneme 3 kez tekrarlandı.

Etodolak'ın salım yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$\frac{M}{M_t} \times 100$

M: Herhangi bir zamandaki salınan ilaç miktarı

M_t

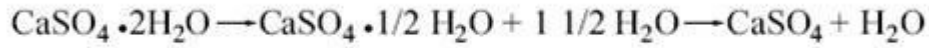
M_t : Alınan mikrokürelerdeki toplam ilaç miktarı

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

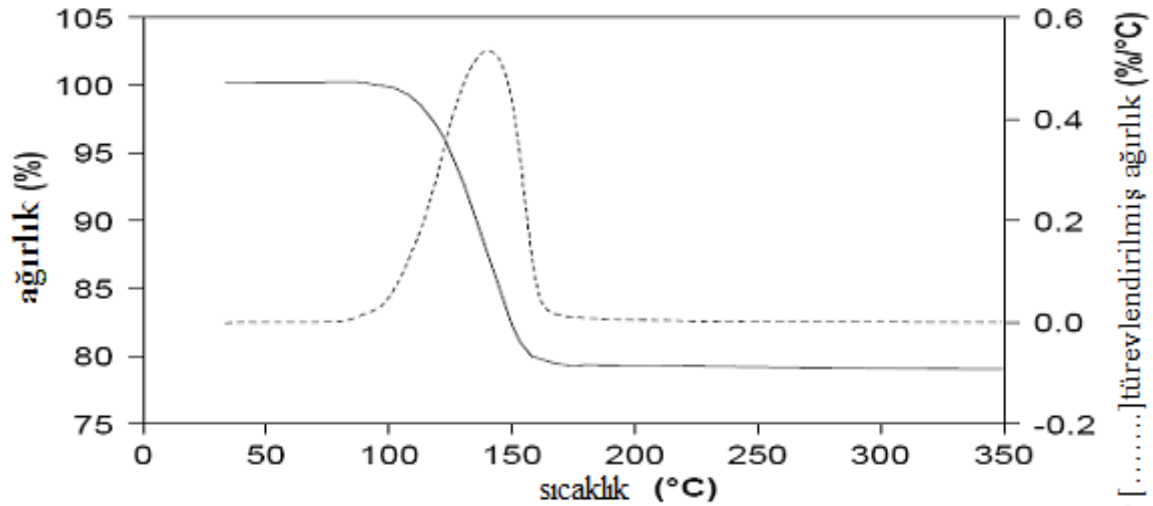
4.1. Susuz CaSO₄'ın Hazırlanması

Aljinat'ın guluronik asit bloklarında bulunan –COOH gruplarına Ca²⁺ iyonlarının bağlanarak çapraz bağlanma sonunda aljinat jeli oluşması hızlı bir reaksiyondur. Elde edilecek mikrokürelerin içlerinin dolu ve yeteri derecede sağlam olabilmesi için bu reaksiyonun hızının kontrol edilmesi gerekmektedir. Bu sebeple suda az çözünen bir kalsiyum tuzunun kullanılması daha uygundur. CaSO₄.2H₂O'nun sudaki çözünürlüğü 0,24 g/100mL (20°C)'dir, oysa susuz CaSO₄'ın sudaki çözünürlüğü 0,0021 g/100 mL (20 °C)'dir. Bu sebeple CaSO₄.2H₂O bölüm 3.2.1'de anlatılan şekilde susuz hale getirilmiştir.

CaSO₄. 2H₂O'nun dehidrasyonu(kalsinasyonu) 80 °C'de başlar, 100-150 °C arasında %75 suyunu kaybeder ve hemi hidrat (CaSO₄.0,5H₂O) formuna dönüşür. 170 °C'nin üzerine çıktığında kısmî olarak γ-anhidrit formu oluşur ve 250 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda doğal anhidrit formu olan β-anhidrit formu oluşur. (196)

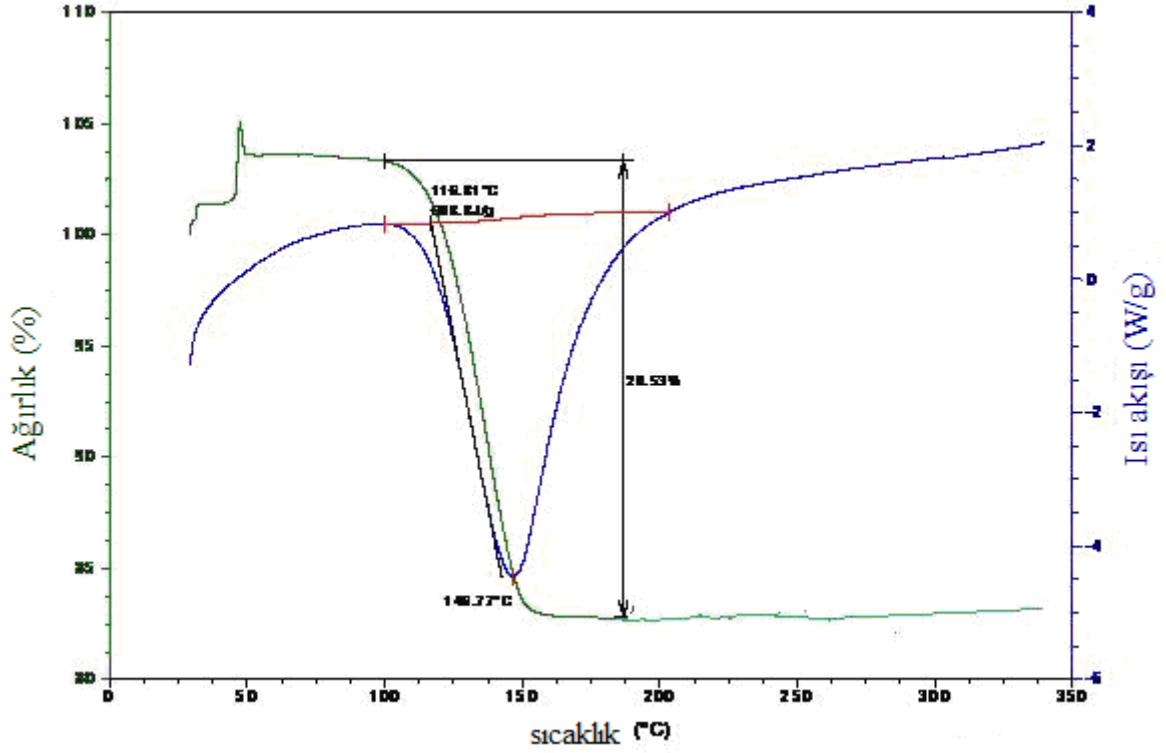


Şekil 4.1'de CaSO₄.2H₂O'nun termogramı görülmektedir.

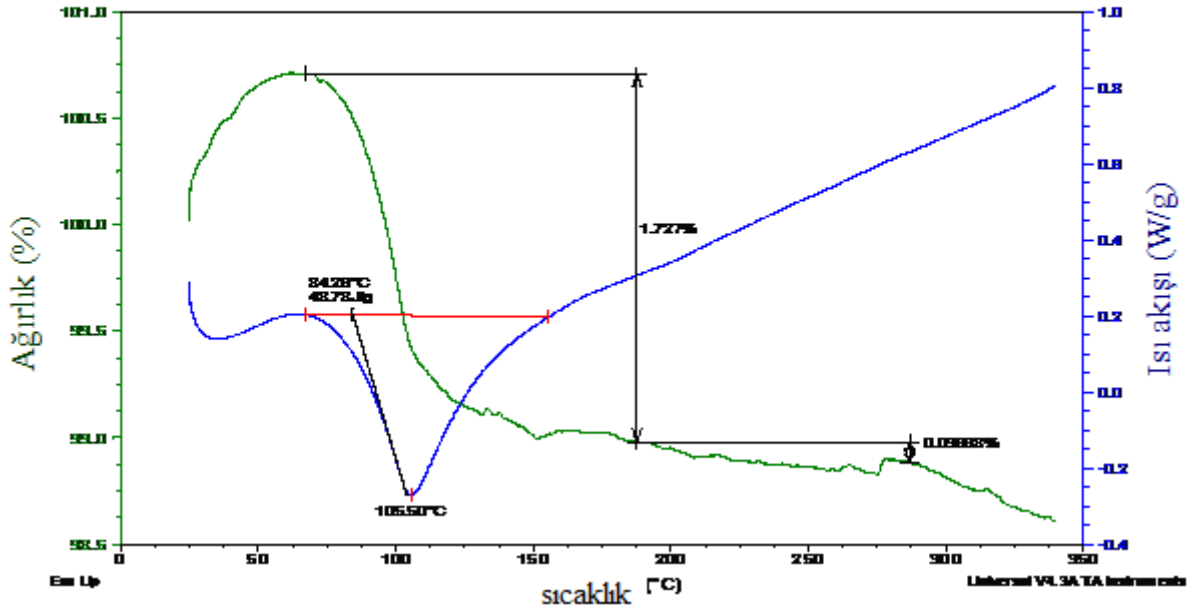


Şekil 4.1. CaSO₄.2H₂O'nun termogramı (197)

Şekil 4.2 ve 4.3 de kullandığımız CaSO₄.2H₂O ve 270°C'de elde ettiğimiz susuz CaSO₄'a ait DSC-TGA termogramları görülmektedir.



Şekil 4.2. $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 'a ait DSC-TGA termogramı



Şekil 4.3. Susuz CaSO_4 'a ait DSC-TGA termogramı

Grafikte mavi ile görülen kısım DSC termogramıdır. Başlangıçtaki maksimum noktasından minimum noktaya kadar olan kısım maddenin ne kadar enerji aldığını göstermektedir. Bu durum maddenin ısı alması, içerisindeki su molekülünün uzaklaştırılması veya maddenin

parçalanması gibi kimyasal olaylarla açıklanabilir. Yeşil ile gösterilen kısım ise TGA termogramıdır. Bu da maddenin başlangıçtaki halinden belirli sıcaklık uygulandıktan sonraki kütle kaybını göstermektedir. $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ içerisinde teorik olarak %20 civarında su bulunmaktadır, TGA termogramı da bunu doğrulamaktadır.

4.2. Optimum Koşulların Saptanması

3.2.3'te yapılan incelemelerin sonuçları ve bunlara göre oluşturulan kesin yöntem aşağıda verilmiştir.

4.2. 1. Aljinatın Çözünme Süresi:

Aljinat 0,5 saat karıştırılıp mikroküre hazırlandığında, reaksiyon tamamlandıktan sonra beherin dibindeki mikrokürelerin üzerinde jel fazı görüldü. Bu durumun, aljinatın yeterince çözünmemiş olmasından kaynaklandığı düşünülerek karıştırma süresi 60 dakikaya uzatıldığında bu jel tabakasının oluşmadığı görüldü.

4.2.2. Emülsiyonu Karıştırma Hızı:

Emülsiyonun oluşması için sulu ve yağlı fazın mekanik karıştırıcı ile 280 rpm hızda karıştırıldığında oluşan partiküllerin şeklinin küresel olmadığı, topak topak, şekilsiz ve homojen olmayan yapılar oluştuğu görüldü. 500 rpm hızda karıştırıldığında oluşan kürelerin şekli iyi ve daha homojen görüntülü küreler elde edildi. 750 rpm hızda karıştırıldığında ise görüntü açısından çok bir fark yoktu, ancak bu hız kaptan madde sıçramalarına yol açtığı için 500 rpm'de çalışma tercih edildi.

4.2.3. İki Fazın Karıştırılması:

Yağ fazının üzerine su fazının ilavesi bir enjektör yardımıyla damla damla yapıldığında partiküllerin şeklinin küresel olmadığı gözlemlendi. Su fazının birden ilavesiyle daha güzel görüntülü küreler elde edildi.

4.2.4. Sıcaklık:

Genelde 30°C ile çalışıldığı zaman reaksiyon tamamlandığında karıştırıcı ucunda ipliksi jeller oluştuğu gözlemlendi, ayrıca polarize mikroskopla incelendiğinde mikrokürelerin üzerinde parlak uzantılar ve küreler etrafında parlaklıklar görüldü ve bu da aljinat'ın 30°C'de tam olarak çözünemediğini düşündürdü ve bunun üzerine viskoziteyi azaltmak ve çözünürlüğü arttırmak amacıyla çalışma sıcaklığı 40°C'ye çıkarıldı. 40°C'deki çalışmada elde edilen küreler daha

sert olması, jelleşme miktarında azalma ve mikroküre miktarındaki artış nedeniyle 40°C'nin daha uygun olduğuna karar verildi.

4.2.5. Aljinat Tipleri:

LF 10/60, LF 200 DL ve HF 120 RBS tipi aljinatlara yapılan çalışmalar sonucunda HF 120 RBS ve LF 200 DL ile daha küresel, homojen boyutlu ve jelleşmenin daha az olduğu mikroküreler elde edildi. LF 10/60 ile ise küresel olmayan büyük ve topaklanmış partiküller elde edildi.

4.2.6. Yardımcı Polimer İlavesi:

Eudragit NE30 D ilavesiyle elde edilen mikrokürelerde HF 120 RBS ve LF 200 DL ile elde edilenler küresellik, boyut, homojenlik ve jel oluşumu özellikleri yönünden LF10/60 ile elde edilenlerden daha iyi olduğu görüldü. Buna göre bundan sonraki çalışmalara eudragit NE30 D katkılı olarak HF 120 RBS ve LF 10/60 ile devam edilmesine karar verildi.

4.2.7. CaSO₄ Miktarı:

HF 120 RBS ve LF 200DL ile bile çok az oranda jelleşme görülmesi nedeniyle kalsiyum miktarının buna etkisinin incelenmesi için 3.2.3.7 bölümünde anlatıldığı gibi 475, 600, 800, 1000 ve 1200 mg'lık CaSO₄ ilavesiyle denemeler yapıldı. Eudragitli kürelerde 800 mg'dan sonra jelleşmelerin tamamen yok olduğu, ancak 1200 mg CaSO₄ ilavesi ile partiküllerde şekil bozuklukları olduğu gözlemlendi. Eudragitsiz kürelerde ise şekil bozukluklarının 800 mg'dan itibaren başladığı gözlemlendi. Buna göre şekil yönünden polimer katkısız küreler için 475 ve 600 mg, eudragit katkılı küreler için ise 800 ve 1000 mg kalsiyum sülfat'ın uygun olduğu anlaşıldı.

4.2.8. Yöntem:

Yukarıdaki sonuçlardan elde edilen optimum koşullara göre mikrokürelerin hazırlanma yöntemi aşağıdaki şekilde belirlenmiştir.

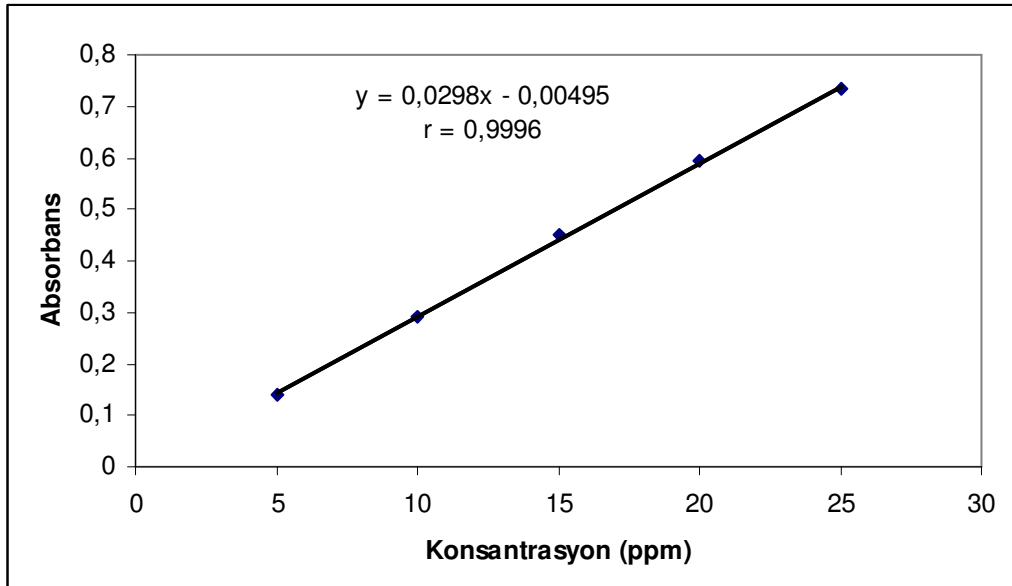
40°C'lik bir su banyosunda, 250 mL'lik bir beher içerisine 1g Na-aljinat ve 50mL destile su konuldu. Pervaneli uçlu mekanik bir karıştırıcıyla 1 saat boyunca karıştırılıp iyice çözünmesi sağlandı. Aljinat çözeltisinde oluşan gaz kabarcıklarının çıkması için su banyosu içerisinde 1 saat dinlendirildi. Dinlendirme aşamasından sonra aljinat çözeltisi hacim kaybettiği için 25 mL'lik transfer pipetiyle çözeltinin 25 mL'si 250 mL'lik bir behere konuldu. Daha sonra, sodyum polifosfat (0,35 g) ilave edildi ve karıştırmaya devam edilerek yaklaşık 10 dakika

içerisinde çözünmesi sağlandı. Yardımcı polimer olarak eudragit, (aljinat: eudragit oranı 1:1,5 olacak şekilde) ilave edildi ve 3 dakika karıştırıldı ardından etodolak yüklü mikroküreleri hazırlamak için etodolak (500mg) ilave edildi ve 1-2 dakika karıştırıldı.

Diğer yandan, 60mL soya yağına 0,6 mL Tween 80 eklendi ve 40°C'lik bir su banyosu içinde, 500 rpm'de karıştırıldı. Aljinat, polifosfat, eudragit ve etodolak içeren 40°C'deki sulu faz, 40°C'deki yağ fazının üzerine yavaş bir akışla, bir seferde ilave edildi ve 5 dakika karıştırılıp emülsiyon oluşumu sağlandı. 1,0 g susuz CaSO₄ içeren 10ml gliserin:su(1:1) karışımının ilavesinden sonra mikroküreler oluştu ve 10 dakika karıştırmaya devam edildi. Reaksiyonu sonlandırmak, fazları birbirinden ayırmak ve küreleri sağlamlaştırmak amacıyla 125 mL kalsiyum klorür çözeltisi ilave edildi ve 10 dakika boyunca karıştırıldı. Daha sonra 10 dakika dinlendirildi ve bir pipet yardımıyla yağ fazı üstten toplandı ve kabın dibindeki mikroküreler yağ damlaları iyice uzaklaşana kadar distile suyla defalarca yıkandı ve kuruduktan sonra mikroküreler birbirine yapışmasın diye birkaç tane beyaz bantlı analitik süzgeç kağıdına ince bir tabaka olacak şekilde nuçe erleniyle süzüldü ve 30 derecelik etüvde 1 gece boyunca kurumaya bırakıldı.

4.3. Ölçü Eğrisi

Bölüm 3.2.4.'te yapılan çalışmalar sonucunda 5-25 ppm aralığında elde edilen ölçü eğrisi Şekil 4.4'de görülmektedir.



Şekil 4.4. Etodolak ölçü eğrisi

4.4. Enkapsülasyon Etkinliği, İlaç Yükleme Kapasitesi ve Verim

Eudragit katkısız 475 ve 600 mg CaSO₄ ile hazırlanan 200 mg etodolak yüklü mikrokürelerin etodolak içerikleri bölüm 3.2.5'te anlatıldığı gibi tayin edildi. Buna göre hesaplanan enkapsülasyon etkinliği, ilaç yükleme kapasitesi değerleri ve ayrıca verim Çizelge 4.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.1. Etodolak Yüklü Eudragit Katkısız Mikroküreler

Aljinat adı	CaSO ₄ miktarı (mg)	İlaç yükleme kapasitesi (%)	Enkap sü-lasyon Etkinliği (%)	Verim (%)
Protanal HF 120 RBS	475	1,84	7,08	92,1
	600	1,91	8,44	100,9
Protanal LF 200 DL	475	1,94	9,68	87,8
	600	2,74	11,78	98,3

Eudragit katkısız hazırlanan kürelerin ilaç yükleme kapasitesinin çok düşük olduğu görülmektedir. 800 ve 1000 mg CaSO₄ içeren Eudragitli ve 500 mg ilaç yüklü küreler hazırlandı. Bu kürelerin özellikleri Çizelge 4.2'de gösterilmektedir.

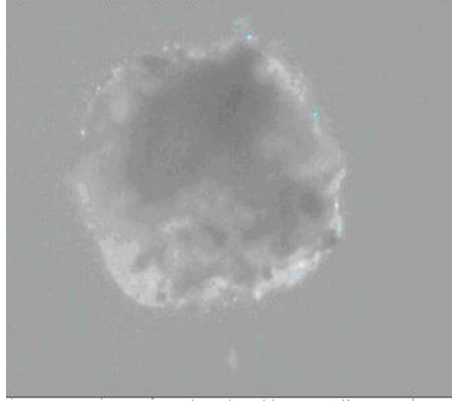
Çizelge 4.2. Etodolak Yüklü Eudragit Katkılı Mikroküreler

Aljinat adı	CaSO ₄ miktarı (mg)	İlaç yükleme kapasitesi (%)	Enkap sü-lasyon Etkinliği (%)	Verim (%)
Protanal HF 120 RBS	800	11,01	27,26	62,7
	1000	11,23	31,69	69,1
Protanal LF 200 DL	800	14,55	40,41	72,2
	1000	16,00	56,10	85,7

İlaç yükleme kapasitesi, enkapsülasyon etkinliği ve verim yönünden en iyi mikrokürelerin LF 200 DL tipi Na-aljinat, 1000 mg CaSO₄ ve eudragit katkıli olarak oluşturulanlar olduğu sonucuna varılmıştır.

4.5. Mikroskop İncelemesi

Polarize mikroskopla alınan küre fotoğrafları Şekil 4.5'teki gibidir. Oluşan partiküllerin küresel ve içlerinin dolu olduğu görülmektedir.



Şekil 4.5: Etodolak yüklü eudregit-aljinat mikroküresinin polarize mikroskop görüntüsü

4.6. Elek Analizi

Bölüm 3.2.10'da anlatıldığı gibi yapılan elek analizinin sonuçları Çizelge 4.3 verilmiştir.

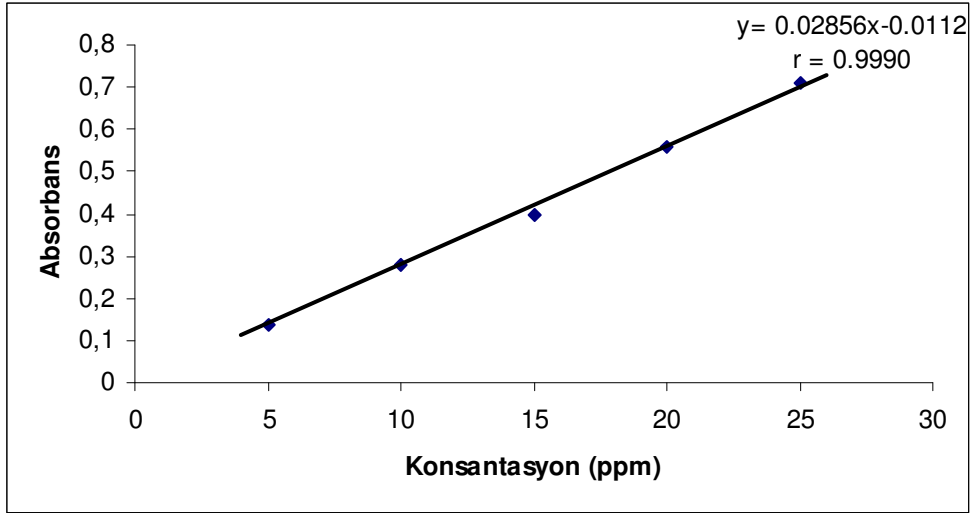
Çizelge4.3. Elek analizi

Elek Boyutu(μ)	Partikül Yüzdesi (%)
>850	22,87
>710	11,04
>600	8,51
>500	10,00
>425	16,45
>355	12,08
>250	15,03
>125	4,01

Çizelgeden ortalama partikül büyüklüğü 500 μ olduğu görülmektedir.

4.7. Etodolak Salımının İncelenmesi

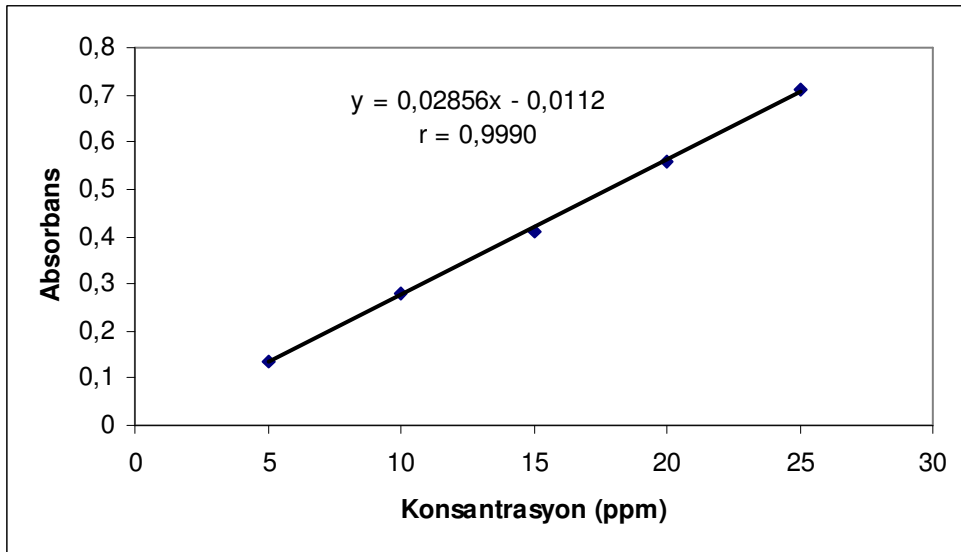
Etodolak'ın farklı ortamlardaki salım testleri için Bölüm 3.2.11'de anlatıldığı gibi hazırlanmış olan ölçü eğrileri Şekil 4.6 ve 4.7 de verilmiştir. Yine aynı bölümde anlatılan şekilde yapılmış olan salım testlerinin sonuçları Çizelge 4.4 ve 4.5' de bu sonuçlara göre çizilmiş olan salım grafiği ise Şekil 4.8'de mide ve barsak pH larındaki salımlar bir arada olmak üzere görülmektedir.



Şekil 4.6. Etodolak'ın pH 1,2 tamponundaki ölçü eğrisi

Çizelge 4.4.pH 1,2 tamponundaki salım profili

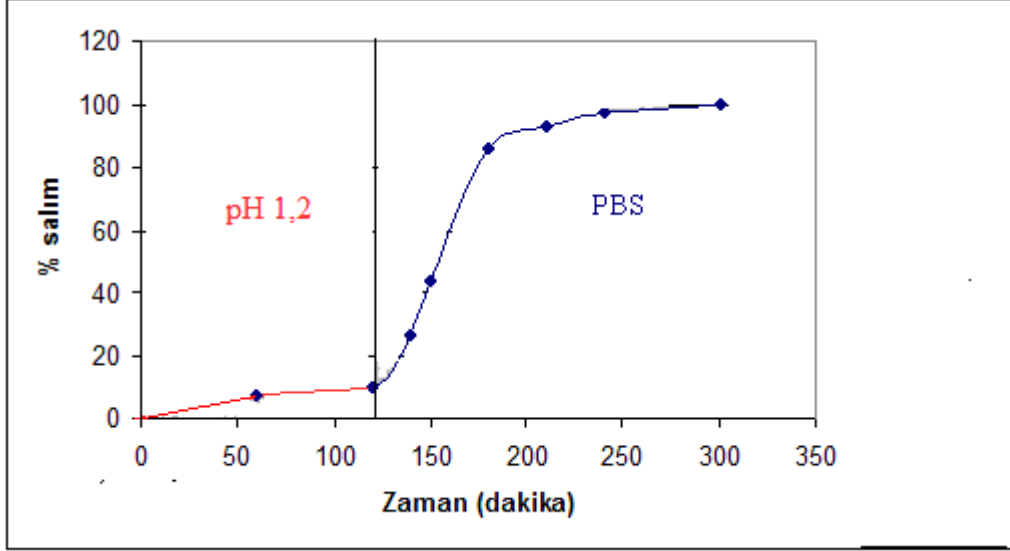
Süre (dakika)	Absorbans	Konsantrasyon (ppm)	% salım
60	0,0807	1,966	7,86
120	0,0973	2,534	10,14



Şekil 4.7. Etodolak'ın PBS'deki ölçü eğrisi

Çizelge 4.5. PBS'deki salım profili

Süre (dakika)	Absorbans	Miktar (ppm)	% Salım
140	0,178	6,625	26,50
150	0,300	10,896	43,58
180	0,601	21,436	85,74
210	0,651	23,186	92,54
240	0,681	24,237	96,95
300	0,701	24,937	99,75



Şekil 4.8. pH 1,2 ve PBS'deki salım grafiği

Sonuç olarak,

Emülsiyonlaşma-iyonotropik jelleşme tekniğiyle hazırlanan eudragit katkılı aljinat mikrokürelerinin etodolak'ın enkapsülasyonu için uygun olduğu görülmüştür. Etodolak'ın kontrollü salımı ile ilgili çalışmalar fazla değildir. Literatürde, uzatılmış salım ile ilgili olan iki çalışma (190,191) ile Cerdeira ve arkadaşlarının(195) hazırladıkları etodolak yüklü hidroksipropil metil selüloz ftalat boncuklarının hazırlandığı bir makale bulunmaktadır. Bu boncuklarının boyutlarının 1,08-1,40 mm, enkapsülasyon etkinliğinin %94'ün üstünde, ilaç yükleme kapasitesinin % 11,76- 42,03 arasında olduğu belirtilmiştir. Etodolak salımının ise 0,1 N HCl'de 2 saatte %1,5'dan daha az, pH 6,8'de ise 45 dakikada %80'den fazla olduğu rapor edilmiştir. Buna göre tanecik büyüklüğü yönünden bu tezdeki çalışmanın daha üstün, enkapsülasyon etkinliği ve ilaç yükleme kapasitesi yönünden ise Cerdeira'nın çalışmasının daha iyi olduğu görülmektedir. Daha iyi sonuçlar elde etmek amacıyla bu çalışmalara farklı eudragit tipleriyle ve çapraz bağlayıcı olarak CaSO_4 yerine CaCO_3 kullanarak iç jelleşme tekniğiyle devam edilmesi düşünülmektedir.

5. KAYNAKLAR

1. <http://www.dpt.gov.tr/DocObjects/Download/3442/oik556.pdf>
2. *Controlled Release Dosage Form Design*, Cherng-ju Kim, CRC pres, 2000
3. Öner, F., (2002) “Biyomalzemeler, Biyoetkin Moleküller ve Kontrollü Salım” *Bilim Teknik Dergisi*
4. <http://www.sunpharma.in/images/wrap-matrix1.gif>
5. Acharya, G. ve Park, K. (2006) “Mechanisms of controlled drug release from drug-eluting stents” *Advanced Drug Delivery Reviews* 58(3):387-401
6. Burns M., (1999), “Management of Narrow Therapeutic Index Drugs”, *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* 7:137–143
7. Halsas, M., Hietala, J., Veski, P., Jürjenson, H. Ve Marvola, M., (1999), “Morning versus evening dosing of ibuprofen using conventional and time-controlled release formulations”, *International Journal of Pharmaceutics* 189(2):179-185
8. Löbenberg, R., Kim, J.S. ve Amidon, G.L., (2005), “Pharmacokinetics of an immediate release, a controlled release and a two pulse dosage form in dogs”, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 60(1):17-23
9. Gürsoy, A.Z., (2002), *Konrollü Salım Sistemleri*, 3-6, *Konrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını No:1*
10. Neuse, E.W., (2008), “Synthetic Polymers as Drug-Delivery Vehicles in Medicine” *Met Based Drugs*. 469531
11. <http://www.azonano.com/details.asp?ArticleID=1538>
12. Duncan, R., Ringsdorf, H. ve Fainaro, R.S, (2006), *Advances in Polymer Science*, 192:1-8 Springer-Verlag Berlin heidelberg
13. <http://www.begellhouse.com/journals/3667c4ae6e8fd136.html>
14. Barratt, G.M., (2000), “Therapeutic applications of colloidal drug carriers”, *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 3(5):163-171
15. Gürsoy, A.Z., (2002), *Konrollü Salım Sistemleri*, 103-120, *Konrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını No:1*
16. <http://media-2.web.britannica.com/eb-media/37/96837-004-AAC9A5BB.jpg>
17. Beyhan, N., Hancıoğlu, N. (2008) “İlaçların Kontrollü Salımı ve Nanopartiküller” *Bitirme Tezi*, Y.T.Ü, İstanbul
18. Solanki, A.B., Parikh, J.R., ve Parikh R.H, (2007), “Formulation and Optimization of Piroxicam Proniosomes by 3-Factor, 3-Level Box-Behnken Design” *PharmSciTech*. 8(4):43-49
19. <http://www.pharmainfo.net/reviews/niosome-unique-drug-delivery-system>

20. Heather A. E. Benson, (2005), "Transdermal Drug Delivery: Penetration Enhancement Techniques", , Current Drug Delivery, 2:23-33
21. Schmidt, C. ve Lamprecht, A., (2009) Nanocarriers in Drug Delivery-Design, Manufacture and Physicochemical Properties, Pan Stanford Publishing
22. Patravale V.B. ve Date, A.A., (2009), Microemulsions Background, New Concepts, Applications, Perspectives, 259-293, A John Wiley and Sons, Ltd , Publication
23. Yazan, Y. (2002), 133-150, Kontrollü Salım Sistemleri, ed. Gürsoy, A.Z., Konrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını No:1
24. <http://www.dowcorning.com/content/publishedlit/22-1746.pdf>
25. Glen S. Kwon ve Teruo Okano, (1996), "Polymeric micelles as new drug carriers", Advanced Drug Delivery Reviews 21(2):107-116
26. Cha, E.J., Kim, J.E. ve Ahn, C.H., (2009) "Stabilized polymeric micelles by electrostatic interactions for drug delivery system", European Journal of Pharmaceutical Sciences 38(4):341-346
27. Jones, M.C. ve Leroux, J.C., (1999), "Polymeric micelles – a new generation of colloidal drug carriers", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 48(2):101-111
28. Azadi, A. ve Rafiei, P., (2008), "Hydrogel nanoparticles in drug delivery", Advanced Drug Delivery Reviews 60:1638–1649
29. Vasir, J.K., Tambwekar, K. ve Garg, S., (2003), "Bioadhesive microspheres as a controlled drug delivery system" International Journal of Pharmaceutics 255(1-2):13-32
30. Berkland, C., Kipper, M.J., Narasimhan, B., Kim, K. ve Pack D.W., (2004), "Microsphere size, precipitation kinetics and drug distribution control drug release from biodegradable polyanhydride microspheres", Journal of Controlled Release 94(1):129-141
31. Kawaguchi, H., (2000), "Functional polymer microspheres", Prog. Polym. Sci. 25(8) :1171-1210
32. Graff, A., Benito, S.M., Verbert, C. ve Meier, W., (2007), Nanobiotechnology Concepts, Applications and Perspectives, WILEY-VCH Verlag GmbH&Co.KG&A
33. Miranda, F.J.R., Schroën, C.G.P.H., ve Boom, R.M., (2009), "Colloidosomes: Versatile microcapsules in perspective", Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 343(1-3) 43-49
34. Thassu, D., Pathak, Y. ve Deleers, M., (2007), Nanoparticle Drug Delivery Systems, Informa Healthcare USA Inc. New York London

35. Müller, R.H., Mäder, K. ve Gohla, S. (2000), "Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 50(1):161-177
36. Sahoo, S.K., Jain, T.K., Reddy, M.K. ve Labhasetwar, V., (2008), *Nanobiotechnology-BioInspired Devices and Materials of the Future*, Bölüm 13, Humana Press , Totowa, New Jersey
37. Huang, W.C., Hu, S.H., Liu, K.H., Chen, S.Y. ve Liu, D.M., (2009), "A flexible drug delivery chip for the magnetically-controlled release of anti-epileptic drugs", *Journal of Controlled Release* 139(3):221-228
38. Duncan.R. ve Izzo, L., (2005), "Dendrimer biocompatibility and toxicity", *Advanced Drug Delivery Reviews* 57(15):2215-2237
39. Ranade, V.V. ve Hollinger, M.A., (2004), *Role of Polymers in Drug Delivery, Drug Delivery Systems second edition*, CRC Press Section-2 Chapter-3
40. Çapan, Y., (2002), *Kontrollü Salım Sistemleri*, ed. Gürsoy, A.Z., *Konrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını No:1 Bölüm 3*
41. [http://en.wikipedia.org/wiki/Time_Release_Technology_\(medicine\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Time_Release_Technology_(medicine))
42. Collins, R., (1998), "Mathematical modelling of controlled release from implanted drug-impregnated monoliths", *Pharmaceutical Science & Technology Today* 1(6):269-276
43. Qiu, Y. ve Park, K., (2001), "Environment-sensitive hydrogels for drug delivery", *Advanced Drug Delivery Reviews* 53(3):321-339
44. Masteiková, R., Chalupová, Z. Ve Šklubalová1, Z., (2003), "Stimuli-sensitive hydrogels in controlled and sustained drug delivery" *MEDICINA* 39 tomas, 2 priedas
45. Johnson, B., Niedermaier, D.J., Crone, W.C., Moorthy, J. ve Bebe, D.J., (2002), "Mechanical Properties of a pH Sensitive Hydrogel", *Society for Experimental Mechanics, SEM Annual Conference Proceedings, Milwaukee, WI*
46. Ozmen, M.M., Okay, O., (2006), "Superfast Responsive Ionic Hydrogels: Effect of the Monomer Concentration" *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 43(8): 1215 – 1225
47. De Hoo, H.P.M., Arends, I.W.C.E., Rowan, A.E. ve Cornelissen, J.J.L.M. ve Nolte, R.J.M., (2010), "A hydrogel-based enzyme-loaded polymersome reactor", *Nanoscale* 2: 709-716
48. Park, J.S., Park, J.W. ve Ruckenstein, E., (2001), "Thermal and dynamic mechanical analysis of PVA/MC blend hydrogels", *Polymer* 42(9): 4271-4280
49. Kim, S.J., Kim, H.I., Park, S.J., Kim, I.Y., Lee, S.H., Lee, T.S. ve Kim, S.I., (2005), "Behavior in electric fields of smart hydrogels with potential application as bio-inspired actuators", *Smart Materials and Structures* 14(4): 511-514

50. Ma, D., Zhang, L.M., Yang, C. ve Yan, L., (2008), “ UV photopolymerized hydrogels with β -cyclodextrin moieties” , Journal of Polymer Research 15(4): 301-307
51. <http://www.nanowerk.com/spotlight/spotid=507.php>
52. Park, J.H., Saravanakumar, G., Kim, K. ve Kwon, I.C., (2010), “Targeted delivery of low molecular drugs using chitosan and its derivatives” Advanced Drug Delivery Reviews 62(1): 28-41
53. Kaş, H.S. ve Eldem, T., (2002), Kontrollü Salım Sistemleri, ed. Gürsoy, A.Z., Konrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını No:1 Bölüm 15
54. Freiberg, S. ve Zhu, X.X., (2004) “Polymer microspheres for controlled drug release” International Journal of Pharmaceutics 282: 1–18
55. <http://web.mst.edu/~wlf/chem381/chap21.html>
56. Arshady, R. Ve George, M.H., (1993), Polymer Engineering and Science 33, 14: 865-876
57. Grulke, E., (1989), Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, Ed. Mark, H.F., John Wiley&Sons, New York
58. Kawaguchi, H., (2000), “Functional polymer microspheres”, Prog. Polym. Sci. 25: 1171-1210
59. Varshosaz, J., Kennedy, R.A., ve Gipps, E.M., (1997), “Use of enteric polymers for production of microspheres by extrusion-spheronization” Pharmaceutica Acta Helvetiae, 72(3): 145-152
60. Sriamornsak, P., Nunthanid, J., Anan, M.L. ve Puttipipatkachorn, Y.W.S, (2008) “Alginate-based pellets prepared by extrusion/spheronization: Effect of the amount and type of sodium alginate and calcium salts”, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 69(1): 274-284
61. Wang, C., Ye, W., Zheng, Y., Liu, X. ve Tong, Z., (2007) “Fabrication of drug-loaded biodegradable microcapsules for controlled release by combination of solvent evaporation and layer-by-layer self-assembly”, International Journal of Pharmaceutics 338(1-2): 165-173
62. Saravanan, M., Rao, K.P., (2010) Pectin–gelatin and alginate–gelatin complex coacervation for controlled drug delivery: Influence of anionic polysaccharides and drugs being encapsulated on physicochemical properties of microcapsules” Carbohydrate Polymers 80(3): 808-816
63. Sawhney, A.S., Pathak, C.P. ve Hubbell, J.A., (1993) “Interfacial photopolymerization of poly(ethylene glycol)-based hydrogels upon alginate-poly(*l*-lysine) microcapsules for enhanced biocompatibility” Biomaterials 14(13): 1008-1016
64. Semyonov, D., Ramon, O., Kaplun, Z., Brener, L.L., Gurevich, N. ve Shimoni, E., (2010), “Microencapsulation of *Lactobacillus paracasei* by spray freeze drying”, Food Research International 43(1):193-202

65. Ma, L., ve Liu, C., (2010), "Preparation of chitosan microspheres by ionotropic gelation under a high voltage electrostatic field for protein delivery", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75(2): 448-453
66. Rosca, I.D., Watari, F. ve Uo, M., (2004), "Microparticle formation and its mechanism in single and double emulsion solvent evaporation", *Journal of Controlled Release* 99(2): 271-280
- 67 Nykamp, G., Carstensen, U. ve Müller, B.W., (2002), "Jet milling—a new technique for microparticle preparation" *International Journal of Pharmaceutics* 242(1-2): 79-86
- 68 You, J.O., Park, S.B., Park, H.Y., Haam, S., Chung, C.H. ve Kim, W.S., (2001) "Preparation of regular sized Ca-alginate microspheres using membrane emulsification method", *J. Microencapsulation*, 18(4): 521-532
- 69 Li, M., Rouaud, O. Ve Poncelet, D., (2008) "Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches", *International Journal of Pharmaceutics* 363(1-2): 26-39
- 70 Ogawa, Y., Yamamoto, M., Okada, H., Yashiki, T., Shimamoto, T., (1998), "A new technique to efficiently entrap leuprolide acetate into microcapsules of polylactic acid or copoly(lactic/glycolic)acid". *Chem. Pharm. Bull.* 36:1095–1103
71. <http://www.freepatentsonline.com/20070178162.pdf>
72. Andrianov, A.K., Chen, J.P. ve Payne, L.G., (1998), "Preparation of hydrogel microspheres by coacervation of aqueous polyphosphazene solutions", *Biomaterials*, 19(1-3): 109-1 15
73. Thimma, R.T. and S. Tammishetti, (2001), "Barium chloride crosslinked carboxymethyl guar gum beads for gastrointestinal drug delivery. *Journal of Applied Polymer Science*, 82(12): 3084-3090.
74. Park, S.J. and J.Y. Kang, (2005) "*Preparation and characterization of calcium alginate microcapsules by emulsification-internal gelation*", *Polymer-Korea*, 29(4): 369-374.
75. Reis, C.P., Neufeld, R.J., Vilela, S., Ribeiro, A.J. ve Veiga, F., (2006) "Review and current status of emulsion/dispersion technology using an internal gelation process for the design of alginate particles" *Journal of Microencapsulation*, 23(3): 245–257
76. Wong, T.W., Lee, H.Y., Chan, L.W., Wong, P.W.S.H., (2002) "Drug release properties of pectinate microspheres prepared by emulsification method" *International Journal of Pharmaceutics* 242: 233–237
77. Lee, J.S., Kim, E.J., Chung, D. ve Lee, H.G., (2009), "Characteristics and antioxidant activity of catechin-loaded calcium pectinate gel beads prepared by internal gelation", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 74 (2009) 17–22
78. Vorlop, K.D. ve Klein J., (1981) "Formation of spherical chitosan biocatalysts by ionotropic gelation", *Biotechnology Letters* Volume 3, Number 1 / January, 1981).

79. Silva C.M., Riberio, A.J., Veiga, F. ve Sousa, A (2006), “ Insulin Release from Alginate Microspheres Reinforced with Dextran Sulphate” *CI&CEQ* 12(1): 40-46
80. Soni, M.L., Kumar, M. ve Namdeo, K.P., (2010) “Sodium alginate microspheres for extending drug release: formulation and *in vitro* evaluation” *International Journal of Drug Delivery*, 2: 64-68
81. Chuah, A.M., Kuroiwa, T., Kobayashi, I., Zhang, X., Nakajima, M., (2009),”Preparation of uniformly sized alginate microspheres using the novel combined methods of microchannel emulsification and external gelation *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 351: 9–17
82. Poncelet D, Lencki R, Beaulieu C, Halle JP, Neufeld RJ, Fournier A., (1992) “Production of alginate beads by emulsification/internal gelation. I. Methodology”, *Applied Microbiology & Biotechnology* 38:39–45
83. Monshipouri, M ve Price, R.R., (1995) “Emulsification preparation of calcium alginate beads in the presence of sequesterant” *J. Microencapsulation* 12(3): 255-262
84. Gürsoy, A., Kalkan, F. ve Okar, I., (1998), “Preparation and tableting of dipyridamole alginate-Eudragit microspheres”, *J. Microencapsulation* 15(5): 621-628
85. Gürsoy, A. ve Çevik, S., (2000), “Sustained release of alginate microspheres and tabletted microspheres of diclofenac sodium”, *J. Microencapsulation*, 17(5): 565-575
86. De Kruif, C.G., Weinbreck, F. ve De Vries, R., (2004), “Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides” *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 9(5): 340-349
87. Charpentier, C.A., Benoit, J.P., Gadille, P. ve Richard, J., (1998), “Preparation of rhizobacteria-containing polymer microparticles using a complex coacervation method” *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 144(1-3): 179-190
88. Rattes, A.L.R ve Oliveira, W.P., (2007),”Spray drying conditions and encapsulating composition effects on formation and properties of sodium diclofenac microparticles” *Powder Technology* 171(1): 7-14
89. You, J.O, Park, S.B, Park, H.Y., Haam, S., Chung, C.H. ve Kim, W.S., (2001) “Preparation of regular sized Ca-alginate microspheres using membrane emulsification method”, *J. Microencapsulation*, 18(4): 521-532
90. Breitenbach, J., (2002), “Melt extrusion: from process to drug delivery technology”, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 54(2): 107-117
91. Baykara, T., (2004), *Tozlar, Granüller ve Mikropelletler*, ed. Gürsoy, A.Z, *Farmasötik Teknoloji –Temel Konular ve Dozaj Şekilleri- Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını* No:2

92. Mathiowitz E., Langer R., J, (1987) "Polyanhydride microspheres as drug carriers I. Hot melt microencapsulation". *Control. Rel.* 5, 13-22
93. Vasir, J.K., Tambwekar, K ve Garg, S., (2003), "Bioadhesive microspheres as a controlled drug delivery system", *International Journal of Pharmaceutics*, 255(1-2): 13-32
94. Yang, X., Chen, L., Huang, B., Bai, F. ve Yang, X., (2009), "Synthesis of pH-sensitive hollow polymer microspheres and their application as drug carriers" *Polymer* 50(15): 3556-3563
95. Messaritaki, A., Black, S.J., van der Walle C.F. ve Rigby, S.P., (2005), "NMR and confocal microscopy studies of the mechanisms of burst drug release from PLGA microspheres" *Journal of Controlled Release* 108(2-3): 271-281
96. Ma, L., Liu, M., Liu, H., Chen, J. ve Cui, D., (2010), "In vitro cytotoxicity and drug release properties of pH- and temperature-sensitive core-shell hydrogel microspheres" *International Journal of Pharmaceutics* 385(1-2): 86-91
97. Grinberg, O., Hayun, M., Sredni, B. ve Gedanken, A., (2007), "Characterization and activity of sonochemically-prepared BSA microspheres containing Taxol – An anticancer drug" *Ultrasonics Sonochemistry* 14(5): 661-666
98. Ma, N., Xu, L., Wang, Q., Zhang, X., Li, Y., Jin, L., Li, S., (2008), "Development and evaluation of new sustained-release floating microspheres", *International Journal of Pharmaceutics* 358: 82-90
99. <http://www.scribd.com/doc/23589473/Thermogravimetric-Analysis>
100. <http://lisanskimya.balikesir.edu.tr/~f10501/ter.htm>
101. Roy J. Haskell, (2006), "Physical Characterizaion of Nanoparticles", *Nanoparticle Tecnology for Drug Delivery*, ed. Gupta, R.B. ve Kompella, U.B., Taylor&Francis Group, New York, Chapter 5
102. http://www.emo.org.tr/ekler/118806694c9d9b1_ek.pdf?tipi=38&turu=X&sube=0
103. http://tr.wikipedia.org/wiki/Taramal%C4%B1_elektron_mikroskobu
104. <http://www.usp.org/pdf/EN/USPNF/chapter711.pdf>
105. Peng, X., Zhang, L. ve Kennedy, J.F., (2006), "Release behavior of microspheres from cross-linked N-methylated chitosan encapsulated ofloxacin" *Carbohydrate Polymers*, 65(3): 288-295
106. Banerjee, I., Mishra, D. ve Maiti, T.K., (2009), "PLGAMicrospheres Incorporated Gelatin Scaffold: Microspheres Modulate Scaffold Properties" *International Journal of Biomaterials* Article ID 143659

107. Li,P., Dai1, Y.N., Zhang, J.P., Wang, A.Q, Wei1,Q, (2008),”Chitosan–Alginate Nanoparticles as a Novel Drug DeliverySystem for Nifedipine”Int J Biomed Sci 4(3):221-228)
108. George, M., Abraham, T.E., (2006), “Polyionic hydrocolloids for the inestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan-a review”, Journal of Controlled Release114: 1-14
109. <http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4765E/y4765e08.htm>
110. <http://www.fmcbiopolymer.com/Food/Ingredients/AlginatesPGA/Chemistry.aspx>
111. Sezer,A.D., (1996), Kitozan-Aljinat Mikrokapsüllerinin Oluşturulması ve Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, İstanbul
112. <http://www.lsbu.ac.uk/water/hyalg.html>
117. Cohen,S., Lobel, E., Trevgoda, A., Peled,Y., (1997), “A novel in situ-forming ophthalmic drug delivery system from alginates undergoing gelation in the eye”, Journal of Controlled Release 44: 201-208
118. <http://en.wikipedia.org/wiki/Epimer>
119. Ahmad,Z., Pandey, R., Sharma, R. ve Khuller, G.K., (2006), “Pharmacokinetic and pharmacodynamic behaviour of antitubercular drugs encapsulated in alginate nanoparticles at two doses” International Journal of Antimicrobial Agents 27: 409–416
120. Douglas, K.L., Piccirillo, C.A. ve Tabrizian, M., (2006), “Effects of alginate inclusion on the vector properties of chitosan-based nanoparticles” Journal of Controlled Release 115: 354–361
121. Motwani, S.K., Chopra, S., Talegaonkar, S., Kohli, K., Ahmad, F.J., Khar, R.K., (2008), “Chitosan–sodium alginate nanoparticles as submicroscopic reservoirs for ocular delivery: Formulation, optimisation and in vitro characterisation” European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 68: 513–525
122. Thacharodi, D. ve Rao, K.P., (1996), “Rate-controlling biopolymer membranes as transdermal delivery systems for nifedipine: Development and in vitro evaluations” Biomaterials 17(13): 1307-1311
123. De, S. ve Robinson, D., (2003), “Polymer relationships during preparation of chitosan–alginate and poly-l-lysine–alginate nanospheres”, Journal of Controlled Release 89(1): 101-112
124. Thu, B., Bruheim, P., Espevik, T., Smidsrød, O., Shiong, P.S. ve Bræk, G.S., (1996), Alginate polycation microcapsules : II. Some functional properties”, Biomaterials, 17(11): 1069-1079
125. Pasparakis, G. ve Bouropoulos, N., (2006), “Swelling studies and in vitro release of Verapamil from calcium alginate and calcium alginate–chitosan beads International Journal of Pharmaceutics 323(1-2): 34-42

126. Leonard, M., De Boisseson, M.R., Hubert, P, Dalençon, F. ve Dellacherie, E., (2004), "Hydrophobically modified alginate hydrogels as protein carriers with specific controlled release properties", *Journal of Controlled Release* 98(3): 395-405
127. Dong, Z., Wang, Q. ve Du, Y., (2006), "Alginate/gelatin blend films and their properties for drug controlled release", *Journal of Membrane Science*
128. Quong, D., Neufeld, R.J., Break, G.S., Poncelet, D., (1997), "External Versus Internal Source of Calcium During the Gelation of Alginate Beads for DNA Encapsulation" John Wiley & Sons, Inc.
129. Fundueanu, G., Nastruzzi, C., Carpov, A., Desbrieres, J. ve Rinaudo, M., (1999), "Physico-chemical characterization of Ca-alginate microparticles produced with different methods", *Biomaterials*, **20**: 1427-1435
130. Ribeiro, A.J, Neufeld, R.J, Arnaud, P. ve Chaumeil, J.C. "Microencapsulation of lipophilic drugs in chitosan-coated alginate microspheres", *Int J Pharm.* 1999;187:115–123
131. Chan, L.W., Lee, H.Y. ve HengChan, P.W.S., (2002), "Production of alginate microspheres by internal gelation using an emulsification method" *International Journal of Pharmaceutics* 242(1-2): 259-262
132. Liu, X.D., Yu, W.Y., Zhang, Y., Xue, W.M., Yu, W.T., Xiong, Y., Ma, X.J., Chen, Y. ve Yuan, Q (2002), "Characterization of structure and diffusion behavior of Ca-alginate beads prepared with external or internal calcium sources" *J. Microencapsulation* 19(6): 775782
133. Ribeiro, A.J., Silva, C, Ferreira, D. ve Veiga, F., (2005), "Chitosan-reinforced alginate microspheres obtained through the emulsification/internal gelation technique" *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 25: 31–40
134. Silva, C.M., Ribeiro, A.J., Figueiredo, I.V., Goncalves, A.R. ve Veiga, F., (2006), "Alginate microspheres prepared by internal gelation: Development and effect on insulin stability", *International Journal of Pharmaceutics* 311: 1–10
135. Silva, C., Ribeiro, A.J., Ferreira, D., Veiga, F., (2006), "Insulin encapsulation in reinforced alginate microspheres prepared by internal gelation", *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29: 148-159
136. Reis, C.P., Ribeiro, A.J., Neufeld, R.J. ve Veiga, F., (2006) "Alginate Microparticles as Novel Carrier for Oral Insulin Delivery", *Biotechnology and Bioengineering*, 96(5): 977-989
137. Rastogi, R., Sultana, Y., Aqil, M., Ali, A., Kumar, S., Chuttani K. ve Mishra, A.K., (2007), "Alginate microspheres of isoniazid for oral sustained drug delivery", *International Journal of Pharmaceutics*, 334(1-2): 71-77
138. Das, M.K. ve Maurya, D.P., (2009), "Microencapsulation of Water-Soluble Drug by Emulsification-Internal Gelation Technique", *Indian J. Pharm. Educ. Res.* 43(1): 28-38

139. Sultana, Y., Mall, S., Maurya, D.P., Kumar, D. ve Das, M., (2009), "Preparation and in vitro characterization of diltiazem hydrochloride loaded alginate microspheres", *Pharmaceutical Development and Technology*, 14(3): 321–331
142. Tu, J., Bolla, S., Barr, J., Miedema, J., Li, X. ve Jasti, B., (2005), "Alginate microparticles prepared by spray-coagulation method: Preparation, drug loading and release characterization" *International Journal of Pharmaceutics* 303 (1-2): 171-181
143. Pasparakis, G. ve Bouropoulos, N., (2006), "Swelling studies and in vitro release of verapamil from calcium alginate and calcium alginate-chitosan beads", *International Journal of Pharmaceutics* 323(1-2): 34-42
144. Areekul, S.W., Krueenate, J. ve Prahsarn, C., (2006), "Preparation and in vitro evaluation of mucoadhesive properties of alginate/chitosan microparticles containing prednisolone", *International Journal of Pharmaceutics* 312(1-2): 113-118
145. Sriamornsak, P., Nunthanid, J., Anan, M.L., Weerapol, Y. ve Puttipipatkachorn, S., (2008), "Alginate-based pellets prepared by extrusion/spheronization: Effect of the amount and type of sodium alginate and calcium salts", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 69(1): 274-284
146. Xu, Y., Zhan, C., Fan, L., Wang, L. ve Zheng, H., (2007), "Preparation of dual crosslinked alginate-chitosan blend gel beads and in vitro controlled release in oral site-specific drug delivery system" *International Journal of Pharmaceutics* 336(2): 329-337
147. Makai, Z., Bajdik, J., Erős, I. ve Hódi, K.P., (2008), "Evaluation of the effects of lactose on the surface properties of alginate coated trandolapril particles prepared by a spray-drying method" *Carbohydrate Polymers* 74(3): 712-716
148. Yu, C.Y., Zhang, X.C., Zhou, F.Z., Zhang, X.Z., Cheng, S.X. ve Zhuo, R.X., (2008), "Sustained release of antineoplastic drugs from chitosan-reinforced alginate microparticle drug delivery systems", *International Journal of Pharmaceutics* 357(1-2): 15-21
149. Taha, M.O., Nasser, W., Ardakani, A. ve AlKhatib, H.S., (2008), "Sodium lauryl sulfate impedes drug release from zinc-crosslinked alginate beads: Switching from enteric coating release into biphasic profiles", *International Journal of Pharmaceutics* 350(1-2): 291-300
150. <http://www.ipph.purdue.edu/peck/2006/hoag.pdf>
151. <http://abstracts.aapspharmaceutica.com/ExpoAAPS09/Data/EC/Event/Exhibitors/33/productBrochure1.pdf>
152. <http://www.pharmainfo.net/satishsinghkadian/publications/eudragit-and-its-pharmaceutical-significance>
153. http://www.solimide.eu/en/pharmapolymers/eudragit/quality/spezifikationen_neu.Par.0001.TRow.0009.TCell.0002.File.tmp/7.1.06_INFO7.6e_NE30D_200409.pdf
154. Pignatello, R., Bucolo, C., Ferrara, P., Maltese, A., Puleo, A., ve Puglisi, G., (2002), "Eudragit RS100[®] nanosuspensions for the ophthalmic controlled delivery of ibuprofen" *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 16(1-2):53-61

155. Wong, C.F., Yuen, K.H. ve Peh, K.K.,(1999), "Formulation and evaluation of controlled release Eudragit buccal patches", *International Journal of Pharmaceutics* 178(1):11-22
156. Oosegi, T., Onishi, H. ve Machida, Y., (2008), "Gastrointestinal distribution and absorption behavior of Eudragit-coated chitosan–prednisolone conjugate microspheres in rats with TNBS-induced colitis" *International Journal of Pharmaceutics* 348(1-2):80-88
157. Onishi, H., Oosegi, T. ve Machida, Y., (2008), "Efficacy and toxicity of Eudragit-coated chitosan–succinyl-prednisolone conjugate microspheres using rats with 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis" *International Journal of Pharmaceutics* 358(1-2):296-302
158. Mahapatra, S., Gupta, R., Patra, B., Tiwari, A., Arora, P. ve Mukherjee, B., (2005), "A comparison between povidone-ethylcellulose and povidone-eudragit transdermal dexamethasone matrix patches based on in vitro skin permeation" *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 59(3):475-483
159. Esposito, E., Sebben, S., Cortesi, R., Menegatti, E. ve Nastruzzi, C., (1999), "Preparation and characterization of cationic microspheres for gene delivery" *International Journal of Pharmaceutics* 189(1):29-41
160. Delgado, A., Lavelle, E.C., Hartshorne, M. Ve Davis, S.S., (1999), "PLG microparticles stabilised using enteric coating polymers as oral vaccine delivery systems" *Vaccine* 17(22): 2927-2938
161. Fernandez- Herva's, M.J., Holgado, M.A., Fini, A. ve Fell, J.T., (1998), "In vitro evaluation of alginate beads of a diclofenac salt", *International Journal of Pharmaceutics* 163: 23–34
162. Lee, B.J. ve Min, G.H., (1995), "Preparation and release characteristics of polymer-reinforced and coated alginate beads", *Archives of Pharmacal Research* 18(3): 183-188
163. Lee, B.J. ve Min, G.H., (1996), "Oral controlled release of melatonin using polymer-reinforced and coated alginate beads", *International Journal of Pharmaceutics* 144(1): 37-46
164. Crcarevska, M.S., Dodov, M.G. ve Goracinova, K., (2008), "Chitosan coated Ca-alginate microparticles loaded with budesonide for delivery to the inflamed colonic mucosa", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 68: 565–578
165. Ma, N., Xu, L., Wang, Q., Zhang, X., Zhang, W., Li, Y., Jin, L., Li, S., (2008), "Development and evaluation of new sustained-release floating microspheres", *International Journal of Pharmaceutics* 358: 82–90
166. Moustafine, R.I., Kabanova, T.V., Kemenova, V.A., Van den Mooter, G., (2005), "Characteristics of interpolyelectrolyte complexes of Eudragit E100 with Eudragit L100", *Journal of Controlled Release* 103 (2005) 191–198
167. Moustafine, R.I., Zaharov, I.M. ve Kemenova, V.A., (2006), "Physicochemical characterization and drug release properties of Eudragit E PO/Eudragit L 100-55 interpolyelectrolyte complexes", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 63: 26–36

168. Moustafine, R.I., Margulis, E.B. ve Sibgatullina, L.F., Kemenova, V.A., Van den Mooter, G., (2008), "Comparative evaluation of interpolyelectrolyte complexes of chitosan with Eudragit_L100 and Eudragit_L100-55 as potential carriers for oral controlled drug delivery", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 70: 215–225
169. Shah, K.P., Shah, K.G. ve Britain, G. (2002), *Analytical Profiles of Drug Substances* 29:105-147, Elsevier Science (USA)
170. Zawadski, J., Lee, H.K., ve Enever, R., (1991), "Abnormal desolvation behavior on solvate of etodolac sodium salt" *J Pharm Sci.* 80(6):559-63
171. Mullane, J.F., (1987), Etodolac for Treatment of Gout, United States Patent No: 4663345
172. http://www.justice.gov/dea/programs/forensicsci/microgram/journal_v6_num34/pg5.html
173. Tas, C., Ozkan, Y., Okyar A., ve arkadaşları, (2007), "In Vitro and Ex Vivo permeation studies of etodolac from hydrophilic gels and effect of Terpens as enhancers"; *Drug Delivery* 14(7):453-459
174. Benet, L.Z., (1993), "Pharmacokinetics of sustained-release etodolac", *Rheumatol Int* 13:3-5
175. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Etodolac>
176. Humber, L.G., Ferdinandi, E., Demerson, C.A., Ahmed, S., Shah, U., Mobilio, D., Sabatucci, J., Lange, B.D., Labbadia, F., Hughes, P., Virgilio, J.D., Neuman, G., Chau, T.T. ve Weichman, B.M., (1988), "Etodolac, a Novel Antiinflammatory Agent. The Syntheses and Biological Evaluation of Its Metabolites" *J. Med. Chem.*, 31:1712-1719
177. Chauhan, S.M.S., Kandadai, S.A. ve Sahoo, B., (2001), "Regioselective Biomimetic Oxidation of Etodolac with Iodosylbenzene Catalyzed by Halogenated and Perhalogenated Metalloporphyrins in Dichloromethane", *Chem. Pharm. Bull.* 49(10):1375—1376
178. Schattenkirchner, M., (1993), "The safety profile of sustained-release etodolac", *Rheumatology International* 13(2 Suppl):S31-5.
179. *European Pharmacopea* 6.0, 1847-1848
180. Dung, P.T., Trung, T.Q. ve Kim KH., (2009), "Preparative resolution of etodolac enantiomers by preferential crystallization method", *Arch Pharm Res.* 32(10):1425-31
181. Scharfenkamp, U.B. ve Blaschke, G., (1993), "Evaluation of the stereoselective metabolism of the chiral analgesic drug etodolac by high-performance liquid chromatography" *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 621(2): 199-207
182. Ammar, A. ve Surmann P., (2008), "Improvement of the etodolac purity test by reversed phase high-performance liquid chromatography", *Pharmazie* 63(12):913-4

183. Strickmann, D.B., Chankvetadze, B., Blaschke, G., Desiderio, C. ve Fanali S., (2000), "Separation and identification of etodolac and its urinary phase I metabolites using capillary electrochromatography and on-line capillary electrochromatography-electrospray ionisation mass spectrometry coupling ", *Journal of Chromatography A*, 887(1-2):393-407
184. Yılmaz, S., Uslu, B. ve Özkan, S.A., (2001), "Anodic oxidation of etodolac and its square wave and differential pulse voltammetric determination in pharmaceuticals and human serum" *Talanta* 54(2): 351-360
185. Strickmann, D.B. ve Blaschke, G.(2001), "Isolation of an unknown metabolite of the non-steroidal anti-inflammatory drug etodolac and its identification as 5-hydroxy etodolac", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 25(5-6): 977-984
186. Sakaguchi, Y., Yoshida, H., Todoroki, K., Nohta, H. ve Yamaguchi, M., (2009), "Separation-Oriented Derivatization of Native Fluorescent Compounds through Fluorous Labeling Followed by Liquid Chromatography with Fluorous-Phase", *Anal. Chem.* 81(12): 5039–5045
187. Jin, Y.X, Tang, Y.H. ve Zeng. S., (2008), "Analysis of flurbiprofen, ketoprofen and etodolac enantiomers by pre-column derivatization RP-HPLC and application to drug–protein binding in human plasma", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 46:953–958
188. Lee, H.S., Kanga, I.M., Lee, H.W., Seo, J.H., Ryu, J.H., Choi, S.J., Lee, M.J., Jeong, S.Y., Cho, Y.W. ve Lee, K.T., (2008), "Development and validation of a high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the determination of etodolac in human plasma", *Journal of Chromatography B*, 863:158–162
189. Giachetti, C., Assandri, A., Zanolò ., ve Brembilla, E., (1994), "Gas chromatography-mass spectrometry determination of etodolac in human plasma following single epicutaneous administration", *Biomedical Chromatography* 8(4):180 – 183
190. Raghuvanshi, R.S., Rampal, A. ve Sen, H., (2003), Extended Release Formulation of Etodolac, United States Patent No: 6586005 B1
191. Michelucci, J.J., Sherman, D.M. ve DeNeale, R.J. (1990), Sustained Release Etodolac, United States Patent No: 4966768
192. Hersh, E.V., Levin, L.M., Cooper, S.A., Reynolds, D., Gallegos, L.T., McGoldrick, K. ve Appel, A., (1999), "Conventional and extended-release etodolac for postsurgical dental pain", *Clin Ther.* 21(8):1333-42.
193. Barakat, N.S., (2010), "Enhanced oral bioavailability of etodolac by self-emulsifying systems: in-vitro and in-vivo evaluation", *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 62(2): 173-180
194. Barakat, N.S. (2009), "In Vitro and *In Vivo* Characteristics of a Thermogelling Rectal Delivery System of Etodolac", *AAPS PharmSciTech* 10(3):724-731 (2009)

195. Cerdeira, A.M., Goucha, P. ve Almeida, A.J., (1998), “Hydroxypropyl methylcellulose phthalate beads containing a model non-steroid anti-inflammatory drug”, International Journal of Pharmaceutics 164:147–154

196. http://en.wikipedia.org/wiki/Calcium_sulfate

197. http://www.tainstruments.co.jp/application/pdf/Thermal_Library/Thermal_Solutions/TS029.PDF

3. ÖZGEÇMİŞ

Doğum Tarihi: 09.02.1984

Doğum Yeri: İstanbul

Lise: 1998-2002 Rıfat Canayakın Lisesi (YDA)

Lisans : 2002-2007 Yıldız Teknik Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi
Kimya Bölümü

Yüksek Lisans: 2008-2010 Yıldız Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı
Analitik Kimya Programı