

**POLİMERİK TAŞIYICI SİSTEM  
GELİŞTİRİLMESİ VE  
*İN VİTRO* KARAKTERİZASYONU**

**Nuran GÜNDOĞDU**

**Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı**

**Doç. Dr. Meltem ÇETİN**

**Yüksek Lisans Tezi-2012**

**T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**POLİMERİK TAŞIYICI SİSTEM GELİŞTİRİLMESİ VE *İN VİTRO* KARAKTERİZASYONU**

**Nuran GÜNDOĞDU**

**Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Meltem ÇETİN**

**ERZURUM  
2012**

T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

POLİMERİK TAŞIYICI SİSTEM GELİŞTİRİLMESİ VE *İN VİTRO*  
KARAKTERİZASYONU

Nuran GÜNDOĞDU

Tez Savunma Tarihi : 20.12.2012

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Meltem ÇETİN (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Halise İnci GÜL (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Mine GÜLABOĞLU (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Elif ÇADIRCI (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Kaan KÜÇÜKOĞLU (Atatürk Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yükseklisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM  
Enstitü Müdürü

Yükseklisans Tezi  
ERZURUM-2012

# İÇİNDEKİLER

<b>TEŞEKKÜR</b> .....	IV
<b>ÖZET</b> .....	V
<b>ABSTRACT</b> .....	VI
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	VII
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	IX
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	XI
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. Diabetes Mellitus .....	3
2.1.1. DM'nin Sınıflandırılması.....	3
2.1.2. Diyabet Epidemiyolojisi.....	5
2.1.3. Diyabet Risk Faktörleri.....	6
2.1.4. Tip 2 Diyabet Tedavisi.....	7
2.1.4.1. Oral Antidiyabetik İlaçlar.....	7
2.1.5. İlaç Taşıyıcı Yeni Sistemler.....	18
2.1.5.1. Mikropartiküler Sistemler.....	19
2.1.5.2. Nanopartiküler Sistemler.....	21
2.1.5.3. İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Karakterizasyonu.....	26
2.1.5.4. İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Hazırlanmasında Kullanılan Polimerler.....	26
2.1.5.4.1. Biyoparçalanabilen Polimerler.....	27
2.1.5.4.2. Biyoparçalanamayan Polimerler.....	31
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	32
3.1. Materyal.....	32
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	32
3.1.2. Kullanılan Cihazlar.....	33

3.2. Metotlar.....	34
3.2.1. Etkin Maddenin UV-Spektrofotometrik Yöntemle Miktar Tayini.....	34
3.2.1.1. Etkin Maddenin Kalibrasyon Doğrularının Elde Edilmesi.....	34
3.2.1.2. Analitik Yöntem Validasyonu.....	34
3.2.2. Polimerik Taşıyıcı Sistemlerin Hazırlanması.....	37
3.2.2.1. Boş PLGA-CS Polimerik Taşıyıcı Sisteminin Hazırlanması.....	37
3.2.2.2. Metformin HCl Yüklü-PLGA-CS Polimerik Taşıyıcı Sisteminin Hazırlanması.....	38
3.2.3. Hazırlanan Polimerik Taşıyıcı Sistemlerin Karakterizasyonu.....	39
3.2.3.1. Yüzey Özellikleri.....	39
3.2.3.2. Partikül Büyüklüklerinin Tayini.....	39
3.2.3.3. Hazırlama Verimi.....	39
3.2.3.4. Taşıyıcı Sistemlere Yüklenen metformin HCl Miktarının Belirlenmesi.....	40
3.2.3.5. <i>In Vitro</i> Salım Deneyleleri.....	40
3.2.3.6. Metformin HCl, PLGA, CS, PLGA-CS-Metformin HCl Fiziksel Karışımı, Boş Küre ve Etkin Madde Yüklü-PLGA-CS Formülasyonlarının FTIR Spektrumlarının Alınması.....	41
3.2.3.7. Metformin HCl, PLGA, CS, PLGA-CS-Metformin HCl Fiziksel Karışımı, Boş Küre ve Etkin Madde Yüklü-PLGA-CS Formülasyonlarının DSC Diyagramlarının Elde Edilmesi.....	41
3.2.2.8. İstatistiksel Yöntem.....	41
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>42</b>
4.1. Etkin Maddenin UV-Spektrofotometrik Yöntemle Miktar Tayini.....	42
4.1.1. Kalibrasyon Doğrusu.....	42

4.1.2. Analitik Yöntem Validasyonu Bulguları.....	44
4.1.2.1. Doğruluk ve Kesinlik.....	44
4.1.2.2. Duyarlılık.....	46
4.1.2.3. Özgünlük.....	46
4.1.2.4. Stabilité.....	46
4.1.3. Polimerik Taşıyıcı Sistem Özelliklerinin Tayinine Ait Bulgular.....	51
4.1.3.1. Yüzey Özelliklerine Ait Bulgular.....	51
4.1.3.2. Partikül Büyüklüklerine Ait Bulgular.....	51
4.1.3.3. Formülasyonların Hazırlama Verimine Ait Bulgular.....	52
4.1.3.4. Formülasyonlara Yüklenen metformin HCl Miktarına Ait Bulgular..	52
4.1.3.5. <i>In Vitro</i> Salım Çalışmalarına Ait Bulgular.....	52
4.1.3.6. Etkin Madde, PLGA, CS, Etkin Madde-Polimerlerin Fiziksel Karışımı, Etkin Madde Yüklü Formülasyonların DSC Termogramları.....	56
4.1.3.7. Etkin Madde, PLGA, CS, Etkin Madde-Polimerlerin Fiziksel Karışımı, Boş ve Etkin Madde Yüklü Formülasyonların FT-IR Spektrumları.....	60
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>65</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>76</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>77</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>94</b>
<b>EK-1 ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>94</b>
<b>EK-2 ETİK KURUL ONAY FORMU.....</b>	<b>95</b>

## TEŞEKKÜR

Yükseklisans tezi olarak sunduğum bu çalıŐmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Doç. Dr. Meltem ÇETİN'e en derin saygı ve Őükranlarımı sunarım.

Partikül boyutu ölçümlerinin yapılması için Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji AD laboratuvarında bulunan Zetasizer cihazını kullanmamıza izin veren Prof. Dr. Süheda HEKİMOĞLU'na ve ölçümler sırasında göstermiş olduğu yakın ilgi, yardımseverlik, nezaket ve güler yüzlü yaklaşım için Doç. Dr. İmran VURAL'a, DSC diyagramlarının alınmasında esirgemedikleri yardımları, yakın ilgi ve güler yüzlü yaklaşımları için Prof. Dr. M. Őahin GÜLABOĞLU'na ve Dr. Hatice BAYRAKÇEKEN'e, FT-IR spektrumlarının elde edilmesindeki katkılarından dolayı Doç. Dr. Duygu EKİNCİ'ye ve Tuba SARUHAN'a, çalıŐmalarım sırasında göstermiş oldukları maddi ve manevi desteklerinden dolayı Uzm.Ecz. Rukiye SEVİNÇ ÖZAKAR'a ve Ecz. Zehra YAZICI'ya, bugüne kadar yetişmemde emeği geçen tüm hocalarıma, her zaman yanımda olan ve beni destekleyen sevgili aileme sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

Nuran GÜNDOĞDU

## ÖZET

### Polimerik Taşıyıcı Sistem Geliştirilmesi ve *In vitro* Karakterizasyonu

**Amaç.** Bu çalışmanın amacı, oral uygulama için metformin HCl içeren pozitif yüklü PLGA-CS taşıyıcı sistemleri geliştirmek ve onların *in vitro* özelliklerini incelemektir.

**Materyal ve Metot.** UV-Spektrofotometrik yöntem ile etkin madde miktar tayini gerçekleştirilmiştir. FT-IR, DSC ve SEM, bu sistemleri karakterize etmek için kullanılmıştır. Polimerik taşıyıcı sistemlerin karakteristikleri örneğin, yüzey morfolojisi, partikül büyüklüğü ve dağılımı, enkapsülasyon etkinliği ve PB pH 6.8 ve HCl 0.2 M, pH 1.2 ortamlarındaki *in vitro* ilaç salımı incelenmiştir.

**Bulgular.** Hazırlanan polimerik taşıyıcı sistemlerin ortalama partikül boyutları  $506.67 \pm 13.61$ - $516.33 \pm 16.85$  nm arasında değiştiği ve pozitif yüzey yüküne sahip oldukları saptanmıştır ( $22.57 \pm 1.21$ - $32.37 \pm 0.57$  mV). İlaç/polimer oranı 0.27'den 0.42'ye çıkarıldığında ilaç yükleme kapasitesi hafif bir artış göstermiştir ( $p=0.041$ ). Hazırlanan sistemler için PB pH 6.8 ve HCl 0.2 M, pH 1.2 ortamlarında 144. saatte elde edilen % kümülatif salım değerleri sırasıyla, ~% 98 ve ~% 92'dir.

**Sonuç.** Etkili plazma konsantrasyonlarını devam ettirmek için yüksek dozlarda tekrarlayan uygulamaları azaltmak ve böylece hasta uyuncunu artırmak, yan etkileri azaltmak üzere PLGA-CS taşıyıcı sistemleri metformin HCl'ün oral uygulanması için kullanılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** *In vitro* çalışmalar, Kitosan, Metformin HCl, PLGA, Polimerik taşıyıcı sistem.



## ABSTRACT

### Development and In vitro Characterization of Polymeric Delivery System

**Aim.** The aim of the present study was to develop the positively charged PLGA-CS delivery systems containing metformin HCl for oral application and to investigate their *in vitro* characteristics.

**Material and Method.** The amount assay of active substance was performed using UV-spectrophotometric method. FT-IR, DSC and SEM were used to characterize these systems. The polymeric delivery systems' characteristics such as the surface morphology, particle size and size distribution, percentage drug entrapment, and *in vitro* drug release in PB pH 6.8 and HCl 0.2 M, pH 1.2 mediums were investigated.

**Results.** The mean particle sizes of prepared polymeric delivery systems ranged from  $506.67 \pm 13.61$  to  $516.33 \pm 16.85$  nm and their surface was positively charged ( $22.57 \pm 1.21$  to  $32.37 \pm 0.57$  mV). When the ratio of drug/polymer increased from 0.27 to 0.42, the drug loading capacity was slightly increased ( $p=0.041$ ). The extent of drug release from these systems in PB pH 6.8 and HCl 0.2 M, pH 1.2 mediums was up to about 98% and 92% at 144 h, respectively.

**Conclusion.** PLGA-CS delivery systems might be used for oral administration of metformin HCl, reducing the necessity of repeated administrations of high doses to maintain effective plasma concentrations, and thus, increasing patient compliance and reducing the incidence of side-effects.

**Keywords:** Chitosan, *In vitro* studies, Metformin HCl, PLGA, Polymeric delivery system.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>CS</b>	: Kitosan
<b>DM</b>	: Diabetes Mellitus
<b>DPP-4</b>	: Dipeptidilpeptidaz-4
<b>DSC</b>	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
<b>EMA</b>	: Avrupa İlaç Ajansı
<b>FDA</b>	: Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi
<b>FT-IR</b>	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
<b>GLP-1</b>	: Glukagon Benzeri Polipeptit-1
<b>HbA1c</b>	: Hemogloblin A1c Proteini
<b>HDL</b>	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
<b>IFG</b>	: Bozulmuş Açlık Glukozu
<b>IGT</b>	: Bozulmuş Glukoz Toleransı
<b>LDL</b>	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
<b>mV</b>	: Milivolt
<b>OGTT</b>	: Oral Glukoz Tolerans Testi
<b>PB</b>	: Fosfat Tamponu
<b>PGA</b>	: Poli(glikolik asit)
<b>PKOS</b>	: Polikistik Over Sendromu
<b>PLA</b>	: Poli(laktik asit)
<b>PLGA</b>	: Poli(laktik-ko-glikolik asit)
<b>PVA</b>	: Polivinil Alkol
<b>r<sup>2</sup></b>	: Belirlilik Katsayısı
<b>rpm</b>	: Dakikadaki Devir Sayısı
<b>SEM</b>	: Taramalı Elektron Mikroskobu

<b>SGLT-2</b>	: Sodyum Glukoz Taşıyıcısı-2
<b>SS</b>	: Standart Sapma
<b>VK</b>	: Varyasyon Katsayısı
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>X</b>	: Ortalama
<b><math>\lambda_{max}</math></b>	: Maksimum Dalga Boyu

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>		<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1.	Metformin HCl'ün kimyasal yapısı.....	14
Şekil 2.2.	PLA, PGA ve PLGA'nın kimyasal yapıları.....	29
Şekil 2.3.	Kitin (a) ve kitosanın (b) kimyasal yapıları.....	31
Şekil 3.1.	Analitik yöntem validasyonu doğruluk hesaplaması.....	36
Şekil 3.2.	Hazırlama verimi hesaplaması.....	40
Şekil 4.1.	Metformin HCl'ün PB pH 6.8 ortamındaki çözeltilerinin kalibrasyon doğrusu ve denklemi.....	43
Şekil 4.2.	Metformin HCl'ün HCl pH 1.2 ortamındaki çözeltilerinin kalibrasyon doğrusu ve denklemi.....	43
Şekil 4.3.	Metformin HCl yüklü formülasyonlara ait SEM fotoğrafları....	51
Şekil 4.4.	C-2 formülasyonunun PB içindeki salım profili.....	53
Şekil 4.5.	C-3 formülasyonunun PB içindeki salım profili.....	53
Şekil 4.6.	C-2 formülasyonunun HCl ortamındaki salım profili.....	54
Şekil 4.7.	C-3 formülasyonunun HCl ortamındaki salım profili.....	54
Şekil 4.8.	C2 ve C-3 formülasyonlarının PB içindeki salım profili.....	55
Şekil 4.9.	C-2 ve C-3 formülasyonunun HCl ortamındaki salım profili....	55
Şekil 4.10.	CS'ye ait DSC diyagramı.....	56
Şekil 4.11.	PLGA'ya ait DSC diyagramı.....	57
Şekil 4.12.	Metformin HCl'e ait DSC diyagramı.....	57
Şekil 4.13.	PLGA-CS-Metformin HCl fiziksel karışımına ait DSC diyagramı.....	58
Şekil 4.14.	C-2 formülasyonuna ait DSC diyagramı.....	58
Şekil 4.15.	C-3 formülasyonuna ait DSC diyagramı.....	59

<b>Şekil 4.16.</b>	Hazırlanan formülasyonların, etkin madde ve polimerlerin toplu DSC diyagramları.....	59
<b>Şekil 4.17.</b>	CS'ye ait FT-IR spektrumu.....	60
<b>Şekil 4.18.</b>	PLGA'ya ait FT-IR spektrumu.....	61
<b>Şekil 4.19.</b>	Metformin HCl'e ait FT-IR spektrumu.....	61
<b>Şekil 4.20.</b>	C-1 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu.....	62
<b>Şekil 4.21.</b>	C-2 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu.....	62
<b>Şekil 4.22.</b>	C-3 formülasyonuna ait FT-IR spektrumu.....	63
<b>Şekil 4.23.</b>	Hazırlanan formülasyonların, etkin madde ve polimerlerin toplu FT-IR spektrumları .....	64

## TABLolar DİZİNİ

<b><u>Tablo No</u></b>		<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 2.1.</b>	DM için tanı kriterleri .....	4
<b>Tablo 2.2.</b>	Oral antidiyabetik ajanlar ve klinik kullanımları.....	8
<b>Tablo 2.3.</b>	Tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan oral antidiyabetik ajanlar.....	9
<b>Tablo 2.4.</b>	Oral antidiyabetiklerin etki bölgesi, etkinlikleri, yan etkileri, kontrendikasyonları ve ilaç kombinasyonları.....	11
<b>Tablo 2.5.</b>	Mikropartikül hazırlama yöntemleri.....	21
<b>Tablo 2.6.</b>	Nanopartikül hazırlama yöntemleri ve hazırlamada kullanılan polimer örnekleri.....	23
<b>Tablo 2.7.</b>	Taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında kullanılan biyoparçalanabilen polimerler.....	27
<b>Tablo 3.1.</b>	Hazırlanan formülasyonlara ait bazı parametreler ve formülasyon kodları.....	39
<b>Tablo 4.1.</b>	PB pH 6.8 ortamındaki metformin HCl'ün gün içi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri.....	45
<b>Tablo 4.2.</b>	HCl pH 1.2 ortamındaki metformin HCl'ün gün içi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri.....	45
<b>Tablo 4.3.</b>	Metformin HCl'ün PB pH 6.8 ortamındaki stabilite sonuçları.....	47
<b>Tablo 4.4.</b>	Metformin HCl'ün HCl pH 1.2 ortamındaki stabilite sonuçları.....	49
<b>Tablo 4.5.</b>	Hazırlanan formülasyonların ortalama partikül büyüklükleri.....	51
<b>Tablo 4.6.</b>	Formülasyonlara ait hazırlama verimi bulguları.....	52
<b>Tablo 4.7.</b>	Taşıyıcı sistemlere yüklenen metformin HCl miktarları ve yükleme etkinliği değerleri.....	52

# 1. GİRİŞ

Etkin maddenin istenen doku veya organa taşınması, salım hızının kontrol edilmesi, hedef bölgede uzun süreli sabit ilaç konsantrasyonunun sağlanması, klasik dozaj formları ile karşılaştırıldığında; düzeltilmiş etkinlik, azaltılmış toksisite, düzeltilmiş hasta uyuncu ve hasta rahatlığının sağlanması ilaç taşıyıcı sistemlerle mümkün olmaktadır. “Diabetes Mellitus” (DM), insülin salgılanmasında, insülin duyarlılığında veya her ikisinde birden gözlenen eksikliklerden kaynaklanan metabolik bir hastalıktır. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde kronik mikrovasküler, makrovasküler ve nöropatik komplikasyonlar gelişebilir. Diyabet hastalarının sayısı, nüfusun yaşlanması, kentleşme, diyet ve yaşam tarzında meydana gelen köklü değişikliklerden dolayı dünya çapında artmaktadır. 2030 yılına kadar dünya çapında yaklaşık 439 milyon kişinin diyabet hastası olacağı tahmin edilmektedir. Özellikle, Tip 2 diyabet yaygınlığı dünya çapında hızla artmaktadır. Tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan metformin çalışmamızda model ilaç olarak seçilmiştir. Metformin, hem açlık hem de postprandial plazma glukoz düzeylerini düşürür. Metformin kullanımı sırasında birtakım yan etkiler (bulantı, kusma, karın ağrısı, gaz, diyare vb.) oluşturmaktadır. Metformin, nispeten düşük bir oral biyoyararlanıma (% 50-60), kısa ve değişken bir biyolojik yarılanma ömrüne (0.9-2.6 saat) sahiptir. Bu nedenle, etkili plazma konsantrasyonunun elde edilmesi için yüksek dozlarda metformin tekrarlayan uygulamalarla kullanılmalıdır. Ancak, bu durum, hasta uyuncunda azalmaya, istenmeyen yan etkilerde de artışa neden olmaktadır. Metforminin biyoyararlanımının artırılması, dozlama sıklığının azaltılması ve gastrointestinal yan etkilerinin azaltılması için yeni formülasyonlar geliştirilmelidir. Mide-bağırsak hareketliliği yavaşladığında metformin emilimi düzelmektedir.

Bu çalışmada, poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) ve kitosan (CS) kullanılarak polimerik ilaç taşıyıcı sistem hazırlanması amaçlanmıştır. PLGA, farklı ilaç taşıyıcı

sistemlerin (mikropartikül, nanopartikül vb.) hazırlanmasında yaygın olarak kullanılmıştır. Ancak, bu sistemler negatif yüzey yüküne sahiptirler. Bundan dolayı, katyonik olarak modifiye edilmiş PLGA taşıyıcı sistemleri, oral ilaç uygulaması için hazırlanmıştır. CS, katyonik doğasından dolayı mukoadezif ve membran geçirgenliğini artırıcı özelliklere sahiptir.

Bu çalışmanın amacı, oral uygulama için metformin hidroklorür (HCl) içeren pozitif yüklü PLGA-CS taşıyıcı sistemleri geliştirmek ve onların *in vitro* özelliklerini (yüzey morfolojisi, partikül büyüklüğü ve dağılımı, enkapsülasyon etkinliği, PB pH 6.8 ve HCl 0.2 Molar (M), pH 1.2 ortamlarındaki *in vitro* ilaç salımı) incelemektir. Ayrıca, Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR), Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) de bu sistemlerin karakterizasyon çalışmalarında kullanılmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diabetes Mellitus (DM)

DM, insülin salgılanmasında, insülin duyarlılığında veya her ikisinde birden gözlenen eksikliklerden kaynaklanan metabolik bir hastalıktır. Bu eksiklikler, kronik hipergliseminin yanı sıra karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında anomalilere yol açar. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde kronik mikrovasküler, makrovasküler ve nöropatik komplikasyonlar gelişebilir. Mikrovasküler komplikasyonlar; retinopati, nöropati ve nefropatiyi; makrovasküler komplikasyonlar ise koroner arter hastalığı, inme ve periferik damar hastalığı gibi çok çeşitli hastalıkları kapsar.<sup>1</sup>

#### 2.1.1. DM'nin Sınıflandırılması

Diyabet farklı kriterlere göre sınıflandırılabilir (insülin gereksinimi, başlama yaşı vb.). Amerikan Diyabet Birliği'nin 1997 yılında, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından önerilen Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT)'ne alternatif olarak ortaya attığı yeni tanı ve sınıflandırma sistemi en son kabul gören sınıflandırmadır. Buna göre, diyabet tanısı için plazma açlık glukoz seviyesine bakılarak normal, bozulmuş açlık glukozu (IFG) ve diyabet şeklinde bir sınıflandırma yapılması tavsiye edilmektedir.<sup>2-4</sup>

Amerikan Diyabet Birliği, 2003 yılında revizyona gitmiş ve DM tanısı için tanı kriterlerinde düzeltmeler yapmıştır (Tablo 2.1).<sup>2,5</sup>

**Tablo 2.1.** DM için tanı kriterleri<sup>2, 5</sup>

	Açlık plazma glukozu	2. saat plazma glukozu (OGTT'de)	
<b>Normal</b>	<100 mg/dL	<140 mg/dL	
<b>Bozulmuş Açlık glukozu (IFG)</b>	100-125 mg/dL	-	
<b>Bozulmuş Glukoz Toleransı (IGT)</b>	-	140-199 mg/dL	
<b>DM</b>	≥126 mg/dL	≥200 mg/dL	veya DM bulguları ile beraber herhangi bir zamanda alınan kan şekerinin ≥200 mg/dL olması

### Sınıflandırma<sup>2, 3, 6</sup>

✓ **Tip 1 diyabet:** Geçmişte “insüline bağımlı diyabet”, “juvenil diyabet”, “çocukluk çağında başlayan diyabet” olarak da adlandırılmıştır. Pankreas  $\beta$ - hücrelerinin çoğunlukla otoimmün kaynaklı harabiyeti ile oluşur ve mutlak insülin yetmezliği söz konusudur. Diyabet hastalarının % 5-10'u Tip 1 diyabetlidir. İnsülin eksikliğinin giderilmesi için günlük enjeksiyonlar yapılır. Çok su içme, ağız kuruluğu, sık idrara çıkma, sürekli açlık hissi, bulanık görme, yorgunluk vb. şikayetler söz konusudur.

✓ **Tip 2 diyabet:** Geçmişte “insüline bağımlı olmayan diyabet”, “erişkin diyabet” olarak da adlandırılmıştır. Gerek gelişmiş gerekse gelişmekte olan ülkelerde sıkça görülmekte; genellikle obeziteye ve fiziksel aktivitelerdeki azalmaya bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Toplumda görülen diyabetli hastaların ~% 90-95'i Tip 2 diyabete sahiptir. İnsülin direnci ve zamanla azalan insülin salgılanması söz

konusudur. Genellikle, 40 yaşından sonra görülen ve yaşlanma ile sıklığı artan bu hastalık ne yazık ki son yıllarda diyet, yaşam tarzı değişimlerine bağlı olarak özellikle obezitenin çocukluk çağında artması ile birlikte çocuk ve gençlerde de görülmeye başlamıştır.

✓ **Diğer özel tipler:** Diğer nedenlere bağlı olarak nadir görülen özel diyabet tipleridir ( $\beta$ -hücre fonksiyonlarının bozulmasına bağlı genetik defektler, insülin etkilerinde bozulmaya yol açan genetik defektler, bazı enfeksiyonlar, ekzokrin pankreas hastalıkları, ilaç ve kimyasal maddeler (nikotik asit, glukokortikoidler, tiroid hormonu, tiyazidler) vb. nedenlere bağlı olarak ortaya çıkabilirler).

✓ **Gestasyonel diyabet:** Gebelik sırasında tanı konur ve gebelerin % 2-4'ünde görülür. Belirtileri genelde tip 2 diyabete benzer, doğumdan sonra genellikle düzelir; ancak tekrarlama riski yüksektir. Bu kişilerin kontrol altında olması gerekir.

### **2.1.2. Diyabet Epidemiyolojisi**

Diyabet hastalarının sayısı, dünya çapında nüfusun yaşlanması, kentleşme, diyet ve yaşam tarzında meydana gelen köklü değişikliklerden dolayı artmaktadır.<sup>7,8</sup>

2010 yılında, dünya genelinde yaklaşık 285.000.000 kişi diyabet hastasıydı ve bu hastaların % 90'ı Tip 2 diyabete sahipti. 2030 yılına kadar dünya çapında yaklaşık 439 milyon kişinin diyabet hastası olacağı tahmin edilmektedir. Bu rakam, 20-79 yaşları arasındaki toplam dünya yetişkin nüfusun % 7.7'sini temsil etmektedir. Özellikle, Tip 2 diyabet yaygınlığı dünyada son otuz yıldır hızla artmaktadır. Genç erişkin ve çocuklarda Tip 2 diyabetin görülme sıklığında da bir artış eğilimi görülmektedir. Türkiye'de 2000 yılında 2.920.000 olan diyabet hasta sayısının 2030 yılında % 220 artış oranı ile 6.422.000'e ulaşacağı DSÖ tarafından tahmin edilmektedir. Bu artış oranı, Avrupa ve dünyadaki artış oranınının 1.5-2 katı kadardır.<sup>6,8</sup>

Ülkemizde, Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması (TURDEP-I) grubu tarafından, 1997-1998 yılları arasında, Sağlık Bakanlığı'nın, Türk İstatistik Entitüsü'nün ve Dünya Sağlık Örgütü'nün katılımlarıyla bir çalışma gerçekleştirilmiştir.<sup>9</sup> Bu çalışma sonucunda, diyabet görülme sıklığının % 7.2 olduğu, kadınlarda erkeklere oranla ve şehirlerde ise kırsal kesime oranla görülme sıklığının daha fazla olduğu saptanmıştır.<sup>9</sup>

Ocak 2010-Haziran 2010 tarihleri arasında ise TURDEP-II çalışması gerçekleştirilmiş, 15 ildeki 540 merkezde tamamlanmış ve çalışmaya rastgele seçilen 26499 kişi ( $\geq 20$  yaşlardaki) katılmıştır. Bu çalışma, TURDEP-I çalışmasının tekrarı niteliğinde planlanmış, aynı yöntem kullanılmış ve aynı merkezlerde gerçekleştirilmiştir. TURDEP-II çalışmasına göre, Türk erişkin toplumunda diyabet sıklığının % 13.7'ye ulaştığı, kentsel ve kırsal diyabet sıklığı arasında çok anlamlı bir fark kalmadığı, kadın ve erkekler arasında diyabet sıklığı açısından çok anlamlı bir fark görülmediği, diyabet farkındalığının Batı Anadolu'da en yüksek, Doğu Anadolu'da ise en düşük olduğu, Türkiye'de diyabetin 1998 yılına göre yaklaşık olarak 5 yaş daha erken başladığı saptanmıştır.<sup>6, 10</sup>

### **2.1.3. Diyabet Risk Faktörleri<sup>3, 11</sup>**

- Fiziksel hareketsizlik,
- Birinci derece akrabada diyabet öyküsü,
- Yüksek riskli ırksal özellik,
- Ağırlığı  $\geq 4.5$  kg olan bebek doğurmuş veya gestasyonel diyabet tanısı konmuş olmak,
- HDL  $< 35$  mg/dL ve/veya trigliserid  $> 250$  mg/dL,
- Hipertansiyon ( $\geq 140/90$  mmHg),
- Polikistik over sendromu (PKOS),

- Daha önceden pre-diyabet tanısı konmuş olmak,
- İnsülin direnciyle ilişkili diğer klinik durumların varlığı (Akantozis nigrikans, PKOS),
- Damar hastalığı öyküsü.

#### **2.1.4. Tip 2 Diyabet Tedavisi**

Tip 2 diyabet tedavisi, geleneksel olarak aşamalı bir tedavi şeklinde gerçekleştirilir. Yaşam tarzının değiştirilmesi (eğitim, diyet ve egzersiz) ile başlar ve tek veya kombine oral antidiyabetik ajanların kullanılması ile devam eder.<sup>12</sup>

Tip 2 diyabet tanısı genellikle geç konulduğundan; hastaların % 20-50'si, tanı anında mikrovasküler ve/veya makrovasküler komplikasyonlar geliştirmiş durumdadırlar. Diyabet tedavisinin amacı, plazma glikozunun normale çekilmesi, mikro ve makrovasküler komplikasyonların, kardiyovasküler risk faktörlerinin kontrol altına alınmasıdır. Bu nedenle, günümüzde hastaların glisemik hedeflere mümkün olduğunca kısa sürede ulaşmaları amaçlanarak, oral antidiyabetiklerle ilaç tedavisine erken dönemde başlanmaktadır. İdeal bir antidiyabetik ajan, plazma glukoz seviyesini normal aralığa çekmeli ve bunu yaparken de mikrovasküler ve/veya makrovasküler komplikasyonların gelişimini engellemeli ve istenmeyen yan etkileri en az olmalıdır. Tek bir antidiyabetik ajanın yetersiz olduğu durumlarda bu ilaçların kombinasyonu yoluna gidilmekte; antihiperlisemik ajanların düzenlenmesi/eklenmesiyle istenen glikolize hemoglobin düzeyine mümkün olan en kısa sürede ulaşılabilmesi hedeflenmektedir.<sup>12-14</sup>

##### **2.1.4.1. Oral Antidiyabetik İlaçlar**

Oral antidiyabetikler, insülin salgılatıcı ilaçlar (sülfonilüreler, meglitinidler), insülin'e duyarlılığı artıran ilaçlar (tiyazolidindionlar, biguanidler),  $\alpha$ -glukozidaz inhibitörleri ve inkretin mimetik ilaçlar (dipeptidilpeptidaz-4 (DPP-4) inhibitörleri)

şeklinde sınıflandırılabilir.<sup>15</sup> Ayrıca, Tip 2 diyabet tedavisi için, Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (FDA)'nin ilacın faydaları ve özellikle riskleri konusunda ek çalışmalar yapılmasını isteyerek onaylamadığı ancak, Avrupa İlaç Ajansı (EMA), Beşeri Kullanım İçin Tıbbi Ürünler Komitesi'nin ise onaylanması için olumlu görüş bildirdiği diğer bir ilaç sınıfı ise böbrekten glukoz atılımını artırıcı ilaçlardır (sodyum glukoz taşıyıcısı-2 (SGLT-2) inhibitörü; FORXIGA® (dapagliflozin)).<sup>16</sup>

Oral antidiyabetik ilaçlar, onların klinik endikasyonları, dozları, kullanım zamanları, kontrendikasyonları, ilaç kombinasyonları, HbA1c ve açlık plazma glukoz düzeyleri üzerine etkileri Tablo 2.2, Tablo 2.3 ve Tablo 2.4'de gösterilmiştir.<sup>14, 15, 17</sup> Tip 2 diyabetin tüm patofizyolojik etkileri ile mücadele edebilecek tek bir ajan mevcut değildir. Bu nedenle, çoğunlukla kombine ilaç tedavisine başvurulmaktadır.<sup>15</sup>

**Tablo 2.2.** Oral antidiyabetik ajanlar ve klinik kullanımları<sup>15</sup>

	<b>İnsülin eksikliği</b>	<b>İnsülin direnci</b>	<b>Aşırı hepatik glukoz üretimi</b>	<b>İntestinal glukoz emilimi</b>	<b>Böbrekten glukoz atılımı</b>
Sülfonilüreler	×				
Meglitinidler	×				
Tiyazolidindionlar		×	×		
Metformin		×	×	×	
α-Glukozidaz				×	
İnhibitörleri					
DPP-4 İnhibitörleri	×		×		
SGLT-2 İnhibitörleri					×

**Tablo 2.3.** Tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan oral antidiyabetik ajanlar<sup>14, 17</sup>

İlaç sınıfı	İlaç adı	Günlük doz	Alınma zamanı
Sülfonilüreler	<b>Birinci kuşak</b>		
	(Uzamış hipoglisemi riskinden dolayı artık kullanılmıyorlar), Asetoheksamid, Klorpropamid, Tolazamid, Tolbutamid	-	-
	<b>İkinci kuşak</b>		
	Glipizid	2.5-40 mg	Günde 2 kez (kahvaltı ve akşam yemeğinden 15-30 dakika önce)
	Glipizid (kontrollü salım yapan dozaj şekli)	5-20 mg	Günde 1 kez (kahvaltıdan 15-30 dakika önce)
	Gliklazid	80-240 mg	Günde 1-2 kez, (kahvaltıdan 15-30 dakika önce; gerektiğinde, akşam yemeğinde)
	Gliklazid (kontrollü salım yapan dozaj şekli)	30-90 mg	Günde 1 kez, (kahvaltıdan 15-30 dakika önce)
Meglitinidler	Glimepid	1-8 mg	Günde 1-2 kez, (kahvaltıdan 15-30 dakika önce; gerektiğinde, akşam yemeğinde)
	Repaglinid	0.5-16 mg	Günde 3 kez, yemeklerden hemen önce
	Nateglinid	60-360 mg	Günde 3 kez, yemeklerden hemen önce

<b>İlaç sınıfı</b>	<b>İlaç adı</b>	<b>Günlük doz</b>	<b>Alınma zamanı</b>
Biguanidler	Metformin	500-2550 mg	Günde 1-3 kez, yemekte veya tok karnına
Tiyazolidindionlar	Rosiglitazon	2.8 mg	Günde 1-2 kez, yemekle birlikte veya yemekten bağımsız
	Pioglitazon	15-45 mg	Günde 1 kez, yemekten bağımsız
$\alpha$ -Glukozidaz İnhibitörleri	Akarboz	25-300 mg	Günde 3 kez, yemeğin ilk lokmasıyla birlikte
	Miglitol	25-100 mg	Günde 3 kez, yemeğin ilk lokmasıyla birlikte
DPP-4 İnhibitörleri	Sitagliptin	50-200 mg	Günde 1 kez yemeklerden bağımsız
	Vildagliptin	50-100 mg	Günde 1-2 kez yemeklerden bağımsız
	Saksagliptin	2.5-5 mg	Günde 1 kez yemeklerden bağımsız



**Tablo 2.4.** Oral antidiyabetiklerin etki bölgesi, etkinlikleri, yan etkileri, kontrendikasyonları ve ilaç kombinasyonları.<sup>14, 15</sup>

İlaç sınıfı	Etki mekanizması	Primer etki bölgesi	Açlık plazma glukozunda azalma	HbA1c' de azalma	Yan etkileri	Kontrendikasyonları	İlaç kombinasyonu
Sülfonilüreler	İnsülin salgılanması	Pankreas	3.34-3.88	1.0-2.0	Hipoglisemi, kilo alımı	Hiperglisemik acil durumlar (diyabetik ketoasidoz), alerji, gebelik, emzirme dönemi, sekonder diyabet (pankreas hastalıkları vb. nedenler), karaciğer ve böbrek yetmezliği, travma, stres, cerrahi müdahale, ağır enfeksiyon, ağır hipoglisemiye yatkınlık, Tip 1 diyabet	Biguanidler/ Tiyazolidindionlar/ $\alpha$ -Glukozidaz İnhibitörleri/ DPP-4 İnhibitörleri/İnsülin
Meglitinidler	İnsülin salgılanması	Pankreas	3.34-3.88	0.07-2.0	Hipoglisemi, kilo alımı	Alerji, diyabetik ketoasidoz, gebelik, emzirme dönemi	Biguanidler/ Tiyazolidindionlar/İnsülin
Tiyazolidindionlar	Periferik dokuların insüline duyarlılığını arttırır, hepatik glukoz üretimini baskılar	Periferik dokular	1.90-2.22	0.7-1.0	Sıvı retansiyonu, ödem, anemi, kilo alımı, hepatotoksisite	Kalp yetersizliği, diyabetik ketoasidoz, postmenopozal kadınlarda ve ileri yaştaki erkeklerde (özellikle el ve ayakta kırık riskini artırır), karaciğer hastalığı	Biguanidler/ Sülfonilüreler/ Tiyazolidindionlar/İnsülin/ DPP-4 İnhibitörleri
Biguanidler	Karaciğer ve periferik dokuların insüline duyarlılığını arttırır, hepatik glukoz üretimini baskılar	Karaciğer, Periferik dokular	3.34-3.88	1.0-2.0	Bulantı, kusma, gaz, karın ağrısı, diyare gibi gastrointestinal şikâyetler, vitamin B12 eksikliği	Renal fonksiyon bozukluğu (kadınlarda serum kreatinin >1.4 mg/dL, erkeklerde >1.5), hepatik fonksiyon bozukluğu, laktik asidoz, kronik alkolizm, kardiyovasküler kollaps, akut miyokard enfarktüsü, ketonemi ve ketonüri, konjestif kalp yetersizliği, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, periferik damar hastalığı, cerrahi girişim, gebelik ve emzirme dönemi, ileri yaş (>80 yaş)	Sülfonilüreler/ Tiyazolidindionlar/DPP-4 İnhibitörleri/ $\alpha$ -Glukozidaz İnhibitörleri/İnsülin

<b>İlaç sınıfı</b>	<b>Etki mekanizması</b>	<b>Primer etki bölgesi</b>	<b>Açlık plazma glukozunda azalma</b>	<b>HbA1c' de azalma</b>	<b>Yan etkileri</b>	<b>Kontrendikasyonları</b>	<b>İlaç kombinasyonu</b>
$\alpha$ -Glukozidaz inhibitörleri	Karbonhidrat emilimini geciktirir	İncebağırsak	1.38-1.66	0.5-1.0	Gaz, şişkinlik, abdominal ağrı ve diyare gibi gastrointestinal şikayetler	İnflamatuvar barsak hastalığı, kronik böbrek hastalığı, diyabetik ketoasidoz, kronik ülser, malabsorbsiyon, parsiyel barsak obstrüksiyonu, siroz, gebelik, emzirme dönemi	Biguanidler/ Sülfonilüreler/ Tiyazolidindionlar/İnsülin/ DPP-4 İnhibitörleri
DPP-4 İnhibitörleri	Endojen GLP-1'i artırır	B-hücreleri, mide, karaciğer	0.5-1.0	0.73-1.2	Bulantı, kusma, diyare, üst solunum yolu enfeksiyonu, idrar yolu enfeksiyonu, gastroenterit, sinüzit, hipoglisemi	Böbrek yetmezliği (doz azaltılmalı), Karaciğer hastalığı	Biguanidler/ Sülfonilüreler/ Tiyazolidindionlar/İnsülin
SGLT-2 İnhibitörleri	Glukoz reabsorpsiyonundan sorumlu SGLT-2'nin inhibisyonu ile böbrekten glukoz atılımını artırır	Renal tübüler SGLT-2	0.6-1.2	0.37-0.7	İdrar yolu enfeksiyonu		Tüm oral antidiyabetik ilaçlar

## Sülfonilüreler

Sülfonilüreler 1950'lerin başından beri diyabet tedavisinin esasını oluşturmaktadır.<sup>18</sup> Sülfonilüreler, çoğu hastada glukoz düzeylerini düşürmede oldukça etkilidirler. Bu sınıftaki ilaçlar etkinlik açısından birbirlerine çok benzerler. Ancak, etki süreleri, metabolik klerensleri ve hipoglisemi yapma sıklıkları bakımından farklılık gösterebilirler.<sup>19</sup> Birinci kuşak sülfonilürelerin kullanımında uzamış hipoglisemi riski olduğundan artık kullanılmamaktadırlar. Daha güçlü olan ikinci kuşak sülfonilürelerin ise hipoglisemi insidansları daha düşüktür.<sup>14, 20</sup> Sülfonilüreler,  $\beta$ -hücreleri üzerindeki özel reseptörlerine (ATP-bağımlı potasyum kanalları) bağlanarak pankreastan insülin salgılanmasını artırdıklarından dolayı etkilerini gösterebilmek için insülin salgılama kapasitesi olan bir pankreasa ihtiyaç duyarlar. Bu nedenle, Tip 1 diyabet tedavisinde kullanılamazlar.<sup>14</sup>

Tüm sülfonilüreler, kilo alınmasına neden olabildiklerinden obez hastalarda öncelikli tercih olmayabilirler.<sup>18</sup>

Sülfonilürelerle tedavi edilen tüm hastalarda yeterli bir yanıt gözlenmeyebilir. Sülfonilüre tedavisinde iki farklı türde tedavi başarısızlığı gözlenebilir. Birincisi, primer başarısızlıktır: Hasta sülfonilüre tedavisine başlangıçtan itibaren (açlık plazma glukoz düzeyinde 20 mg/dL'den daha düşük bir azalma ile karakterize) yetersiz yanıt verir. Tip 2 diyabet hastalarının yaklaşık % 20-25'i sülfonilüre tedavisine karşı primer tedavi başarısızlığı gösterir. İkincisi, sekonder başarısızlıktır: Hasta sülfonilüre tedavisine başlangıçta (açlık plazma glukoz düzeyinde 30 mg/dL'den daha fazla bir azalma ile karakterize) iyi yanıt verirken, daha sonra glisemik kontrolün idamesinde yetersiz kalır. Bu tür başarısızlığın görülme oranı yılda % 5-10'dur.<sup>21</sup> Bu dezavantajlarına rağmen sülfonilüreler Tip 2 diyabet tedavisinde etkin ve maliyet-etkili ilaçlardır.<sup>15</sup>

Sülfonilüreler, proteinlere bağlandıklarından diğer ilaçlarla etkileşebilirler. Bu etkin maddeler, genellikle karaciğerde metabolize olup, idrarla atılmaktadır, bu nedenle ağır karaciğer ve böbrek yetmezliğinde kullanılmamalıdır.<sup>14</sup>

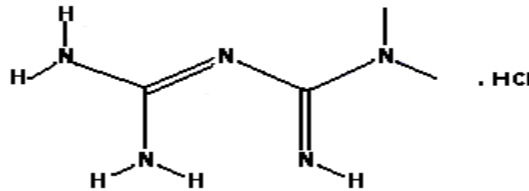
### **Meglitinidler**

Meglitinidler, etkileri hızlı başlayan ve kısa süren ilaçlardır.<sup>18</sup> ATP-bağımlı potasyum kanalları üzerinden fakat sülfonilürelerin etkilediği reseptörlerden farklı reseptörler aracılığıyla pankreas β-hücreleri üzerinde etkilerini gösterirler ve insülin salgılanmasını, sülfonilürelerin aksine “glukoza-duyarlı şekilde” uyarırlar.<sup>14, 22</sup> Glukoz yokluğunda insülin salgılanmasını uyarmadıkları için hipoglisemiye neden olma riskleri düşüktür.<sup>22</sup> Ayrıca, sadece öğünlerden önce alındıklarından, öğün atlanmasıyla ilişkili olarak gözlenen hipoglisemiye neden olmazlar. Yine de, yan etkiler arasında en sık gözlenen hipoglisemi olsa da bu etki sülfonilürelerde olduğu kadar belirgin değildir. Kilo aldırıcı özellikleri sülfonilürelerle benzerdir. Özellikle, hipoglisemiden korkulan yaşlı hastalarda tercih edilmektedirler.<sup>14, 23</sup>

### **Biguanidler**

#### **Metformin**

1960'lı yıllardan beri Tip 2 diyabetin tedavisinde kullanılır ve iki molekül guanidin içerir. Doğada, “Galega officinalis” (Fransız leylağı ya da sedef otu) bitkisinde bulunur.<sup>24</sup>



**Şekil 2.1.** Metformin HCl'ün kimyasal yapısı

Metformin hem açlık hem de postprandial plazma glukoz düzeylerini düşürür. Gerek karaciğer gerekse periferik dokuların insüline karşı duyarlılığını artırır. İnsülin duyarlılığındaki artış, esas olarak bazal hepatik glukoz üretiminin (temelde glukoneogenez) azalması ve glukozun iskelet kasları ve adipozitler gibi periferik dokularca alım ve kullanımının artmasının bir sonucudur.<sup>23, 25</sup>

Metformin, kan glukoz düzeylerini sülfonilüreler kadar iyi düşürür. Bu etkisinin yanı sıra, plazma trigliserid ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) kolesterolü düzeylerinde de azalma sağlayabilir.<sup>24</sup>

İnsülin salgılanmasını etkilemediğinden hipoglisemi nadiren görülmektedir. Kilo alınmasına neden olmaz, hatta hafif düzeyde kilo kaybına/sabit kalmasına neden olur.<sup>14</sup> Diğer oral ajanlar ve insülinle kombinasyonunda da kilo artışı gözlenmez. Bu nedenle obez hastalarda ilk tercih edilen oral antidiyabetik ilaçtır. Ancak, sadece obez hastalarda değil normal kilodaki hastalarda da glisemik kontrolü iyileştirdiği ortaya konmuştur.<sup>26</sup>

Metformin kullanan hastaların % 30'dan fazlasında tedavi başlangıcında bulantı, kusma, karın ağrısı, gaz, diyare veya bu yan etkilerin bir kombinasyonu gözlenir.<sup>18</sup> Gastrointestinal sistem üzerindeki yan etkileri azaltmak için, metformin yemeklerle birlikte verilir. Bununla birlikte, düşük dozla başlanıp yavaş doz artışıyla devam edilirse genellikle 15 gün sonra bu etkiler kaybolmaktadır.<sup>14, 27</sup> Ayrıca, ağızda metalik tat hissine ve uzun süreli kullanımda da vitamin B12 eksikliğine neden olabilmektedir.<sup>14</sup> Nadir gözlenen laktik asidoz, yaşamı tehdit edici olabilir.<sup>25, 28</sup>

Metformin öncelikle ince bağırsaktan absorbe edilir ve nispeten düşük (% 50-60) biyoyararlanıma sahiptir. Mide-bağırsak hareketliliği yavaşladığında metformin emilimi düzelmektedir. Metformin, kısa ve değişken bir biyolojik yarılanma ömrüne (0.9-2.6 saat) sahiptir. Bu durum, metforminin etkili plazma konsantrasyonunun devam

ettirilebilmesi için yüksek dozlarda tekrarlayan uygulamalarını gerektirir ve sonuç olarak da hasta uyuncunda azalma, istenmeyen yan etkilerde ise artış olur.<sup>29</sup>

Metformin dozu, hastaya göre günlük maksimum doz aşılmayacak şekilde ayarlanmalıdır. Maksimum günlük doz erişkin için 2550 mg, çocuklar için 2000 mg'dır. Metforminin genellikle başlangıç dozu günde 2 defa 500 mg veya günde tek doz 850 mg'dır (yemeklerle). Doz artışı, günlük doz 2000 mg, maksimum günlük doz ise 2550 mg'a kadar çıkmaktadır. Günlük 1500 mg'ın altında klinik cevap genellikle beklenmez. Yüksek doz, bölünerek verildiğinde daha iyi tolere edilir.<sup>28</sup>

Metformin metabolize edilemez ve büyük oranda böbreklerden atılır. Metforminin renal klirensi, kreatin klirensinin yaklaşık üç buçuk katıdır. Bu da metforminin asıl atılım yolunun tübüler sekresyon olduğunu gösterir. Metformin, FDA tarafından gebelikte kullanım açısından B kategorisinde sınıflandırılan bir ilaçtır. Bazı klinisyenler, gebelerdeki diyabetin tedavisinde rutin olarak metformin kullanmaktadır. Ancak, birçok klinik deneyim, gebelikte kan şekerinin düzenlenmesinde en uygun seçeneğin insülin olduğunu göstermiştir.<sup>30, 31</sup>

Metforminin biyoyararlanımının artırılması, dozlama sıklığının azaltılması ve gastrointestinal yan etkilerinin azaltılması açısından metformin için yeni formülasyonların geliştirilmesi önemlidir.<sup>32</sup>

### **$\alpha$ -Glukozidaz inhibitörleri**

Bu gruptaki ilaçlar (akarboz, miglitol), ince bağırsakta bulunan ve kompleks karbonhidratları basit şekerlere parçalayan  $\alpha$ -glukozidaz enzimini inhibe ederek karbonhidrat emilimini geciktirirler ve böylece postprandial pik glukoz düzeylerini azaltırlar. Tokluk hiperglisemi tedavisinde etkilidirler. En rahatsız edici yan etkileri diyare, şişkinlik ve gaz benzeri gastrointestinal sorunlardır. Bu şikayetler, tedaviye düşük dozla başlanıp dozun yavaşça artırılmasıyla azaltılabilir. İnflamatuvar bağırsak

hastalığı veya bağırsak tıkanıklıklarında, kronik ülserde, sirozda, gebelik ve emzirme dönemlerinde kullanılmamalıdır.<sup>14</sup>

### **Tiyazolidindionlar (Glitazonlar)**

Tiyazolidindionlar, peroksizom proliferatör aktive edici reseptör- $\gamma$  agonistleridir. Bu reseptörün aktivasyonu ile insüline cevap veren genlerin transkripsiyonu düzenlenir. Bu gruptaki ilaçlar, özellikle iskelet kasında olmak üzere periferik dokuların insülin duyarlılığını arttırarak etkili olurlar. Sonuçta, bu dokularda, insülin-aracılı glukoz alınması/kullanılmasını arttırırlar. Ayrıca, hepatik glukoz üretimini az da olsa inhibe edici etkileri vardır.<sup>14, 23, 33</sup>

Bu ilaçlar, çoğunlukla, trigliseridlerde azalma ve tüm kolesterol (total, LDL, HDL) düzeylerinde ise artışa neden olacak şekilde değişken etkilere sahiptirler. Ayrıca, bu ilaçların, postmenopozal kadınlarda ve ileri yaşta erkeklerde özellikle el ve ayak kırık riskini arttırdığı, belirgin kilo artışına neden olduğu bildirilmiştir.<sup>14, 37</sup>

Bu ajanlar, insülin salgılanmasını arttırmadıklarından tek kullanıldıklarında hipoglisemi riskleri yoktur. Tiyazolidindionlar, böbrek yetmezliği olan hastalarda çoğunlukla karaciğerde metabolize edilip feçesle atıldıklarından dolayı nispeten güvenlidirler. Ancak, karaciğer yetmezliğinde dikkatle kullanılmalıdırlar. Tiyazolidindion kullanan hastaların % 5-7'sinde hafif-orta düzeyde ödem bildirilmiştir ve kalp yetmezliği olan hastalarda bu ilaçlar kullanılmamalıdır.<sup>14, 37, 38</sup>

### **İnkretin Mimetik İlaçlar**

Glukagon benzeri polipeptid-1 (GLP-1) ve glukoz bağımlı insülinotropik polipeptid (GIP), gıda alımına cevap olarak gastrointestinal sistemdeki özel hücrelerden (sırasıyla L ve K hücrelerinden) salgılanır ve insülin salgılanmasını uyarırlar. Tip 2 diyabetin patofizyolojisindeki unsurlardan biri de inkretin hormonlarının düzeyi ve/veya etkisinin azalmasıdır. Bu ilaçlar, inkretin hormonları taklit ederek inkretinlerin

degradasyonunu inhibe ederek etki gösterirler. GLP-1 analogları ve DPP-4 inhibitörleri bu grupta yer alırlar. GLP-1 molekülünün postprandial dönemde hızlı yıkılmasını sağlayan DPP-4 enziminin inhibe edilmesi GLP-1 ve GIP düzeylerinin artmasına neden olur. DPP-4 enzimi vücutta karaciğer, akciğer, böbrek, bağırsak ve lenf dokularında, ayrıca çözünmüş olarak kanda bulunmaktadır. GLP-1'in yarılanma ömrü, DPP-4 enziminin etkisiyle oldukça kısadır (1-2 dk).<sup>14, 39</sup>

2005 yılında FDA tarafından kullanımı onaylanmış eksenatid, insan GLP-1 dizilimi ile homoloji gösterir; ancak, Eksenatid DPP-4 enziminin etkisine dirençli ve daha uzun ömürlüdür. Günde iki kez deri altına enjekte edilerek kullanılır (kullanıma hazır dolu enjeksiyon kalemi şeklinde hazırlanmıştır). İnsülin salgılanmasını artırır, glukagon artışını baskılar, midenin boşalmasını yavaşlatır. En sık görülen yan etkisi hafif şiddetteki bulantıdır. Metformin veya sülfonilüre gibi diğer şeker hastalığı tedavisinde kullanılan ilaçlardan biri veya her ikisi ile birlikte kullanılabilir. İnsülinler ile birlikte kullanımı önerilmez. Eksenatid kullanımında pankreas iltihabı belirtileri yönünden dikkatli olunmalı ve pankreatit durumunda kullanılmamalıdır. Ayrıca, Tip 1 diyabet ve diyabetik ketoz/ketoasidoz durumlarında kontrendikedir. Gebelerde ve emziren kadınlarda kullanımı hakkında bilgi yoktur. Gebelikte C kategorisindedir.<sup>39-41</sup>

Sitagliptin ve vildagliptin, DPP-4 enzim inhibitörleri için örnek verilebilir. Her iki molekül de oral olarak aktif ve hızlı absorbe edilir. Oral biyoyararlanımı, alımdan sonra 1-2 saat içinde % 80 düzeyine ulaşır. Enzim inhibisyonu sonrası antidiyabetik etkiler GLP-1 üzerinden görülmektedir.<sup>39</sup>

### **2.1.5. İlaç Taşıyıcı Yeni Sistemler**

Bir bileşenin bir başka kimyasalla, bir ilaç uygulama aygıtıyla ya da ilaç uygulama süreciyle salım hızını, dokulara salınması ya da her ikisini de kontrol eden sistemler ilaç taşıyıcı yeni sistemler olarak tanımlanırlar. İdeal olarak ilaç taşıyıcı



sistem, etkin maddeyi istenen doku veya organa istenen hızda taşınmalıdır. Etkin maddeyi istenen doku veya organa taşıyan sistemlere hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler denir. Etkin maddenin salım hızını kontrol eden sistemlere ise kontrollü salım sağlayan ilaç taşıyıcı sistemler denir. Bu amaçla ilaçların taşınması için yeni teknikler geliştirilmiştir. Bu teknikler, ilacın dokulara hedeflendirilerek taşınmasını, terapötik aktivite devamlılığının sağlanmasını ve hız kontrollü ilaç taşınmasını sağlamaktadır.<sup>42-44</sup>

İlacın, hedef bölgeye etkin bir dozda taşınabilmesi, uygun ilaç taşıyıcı sistemlerin kullanılması ile mümkündür. Kontrollü salım sağlayan sistemler, hedef bölgede uzun süre sabit ilaç konsantrasyonu sağlarlar.<sup>45</sup> Hedeflendirilmiş kontrollü ilaç salımı sağlayan sistemler klasik dozaj formları ile karşılaştırıldığında; düzeltilmiş etkinlik, azaltılmış toksisite, hasta uyuncu ve hasta rahatlığı açısından çok sayıda üstünlüklere sahiptir. Ancak, bu sistemlerle ilgili birtakım sakıncalar da mevcuttur (sistemin hazırlanmasında kullanılan polimer veya parçalanma ürünlerin toksik etki veya biyolojik uyumsuzluk gösterebilme olasılığı, sistem vücut içerisinde iken ilaç salınmasının istenilen sürede durdurulamaması, formülasyon geliştirme maliyetinin yüksek olması vb.).<sup>45, 46</sup>

Farmasötik teknolojinin bu alanı giderek artan bir öneme sahip olmakta ve buna bağlı olarak da yeni üretim tekniklerinin ve dozaj şekillerinin geliştirilmesiyle ilgili çalışmalar hız kazanmaktadır. Bu kısımda, sadece polimerik mikropartiküler ve nanopartiküler sistemler ile bu taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında kullanılabilen bazı polimerler hakkında kısaca bilgi verilecektir.

#### **2.1.5.1. Mikropartiküler Sistemler**

Çapları birkaç mikrometreden birkaç yüz mikrometreye kadar değişebilen, gözenekli ya da gözeneksiz, doğal veya sentetik, vücutta parçalanabilen veya parçalanamayan polimerler kullanılarak hazırlanan mikro taşıyıcı sistemlerdir. Farklı

yüzey ve yığın yapılarında hazırlanabilirler. Pasif veya aktif hedeflendirme yapılarak istenen bölgede, etkin maddenin toplanmasını ve orada etkin maddenin kontrol edilebilen bir hızla salınmasını sağlamak amacıyla kullanılabilirler.<sup>47-49</sup> İdeal bir taşıyıcı sistem aşağıdaki özelliklere sahip olmalı: <sup>42, 47</sup>

- ✓ Etkin maddeyi yapı ve aktivitesinde değişiklik yapmadan hedef organ, doku veya hücreye taşınmalı,
- ✓ Hedefe ulaşmaya kadar etkin madde sızıntısı olmamalı,
- ✓ *In vitro-in vivo* koşullarda dayanıklı olmalı,
- ✓ Düşük dozda ilaç taşınmalı ve buna bağlı olarak da toksisitede azalma sağlamalı,
- ✓ Biyolojik sistemle uyumlu olmalı, biyolojik olarak parçalanabilmeli ve parçalanma ürünleri toksik olmamalıdır.

Mikropartiküllerin hazırlanmasında kullanılan çeşitli yöntemler vardır.<sup>42, 50-54</sup> Bu yöntemler Tablo 2.5’de özetlenmiştir. Uygun yöntemin seçilmesinde etkili olan faktörler:

- ✓ Hapsedilecek ilacın yapısı
- ✓ Kullanılacak polimerin yapısı
- ✓ Taşıyıcı sistemin kullanım amacı ve tedavi süresidir.

**Tablo 2.5.** Mikropartikül hazırlama yöntemleri <sup>42</sup>

<b>Yöntem</b>	<b>Tipleri</b>
Polimerizasyon	Emülsiyon Polimerizasyonu Süspansiyon Polimerizasyonu Misel Polimerizasyonu
Koaservasyon	Basit Koaservasyon Kompleks Koaservasyon
Emülsiyon oluşturma/Çözücü buharlaştırma	Y/S Emülsiyonu Y/Y Emülsiyonu S/Y/S Emülsiyonu
Polikondenzasyon	Süspansiyon Polikondenzasyon Emülsiyon Polikondenzasyon
İn-situ yöntem	
Püskürterek dondurma	
Püskürterek kurutma	
Delik (orifice) yöntemi	
Dispers fazda jelleşme ve Çapraz bağlanma	

### 2.1.5.2. Nanopartiküler Sistemler

Nanopartiküller, büyüklükleri 10-1000 nm arasında değişen, hapsedilmiş veya adsorbe edilmiş olan etkin maddeyi kontrollü bir şekilde salan katı kolloidal partiküllerdir.<sup>42</sup> Nanoteknoloji terimi ilk olarak 1974 yılında Tokyo Üniversitesi'nde çalışan Norio Taniguchi isimli bir bilim adamı tarafından nanoboyutlu materyalleri ifade etmek için kullanılmıştır. Bu nanoboyutlu materyallerin daha büyük boyutlu durumlarına göre farklı ve gelişmiş özelliklere sahip oldukları tespit edilmiştir.<sup>55</sup> Eczacılık alanında, nanopartiküllerle ilgili ilk çalışmalar antikanserijen ilaçlar ve aşuların taşınmasıyla ilgili çalışmalardır.<sup>45, 56</sup> Bu sistemler, etkin maddenin etkinliğinin artırılması ve toksitesinin azaltılmasında faydalı bulunmuştur.<sup>57</sup>

Nanopartiküllerin aşağıda sayılan özelliklere sahip olmaları istenmektedir: <sup>42, 58</sup>

- ✓ Fizyolojik ortamda parçalanmalı ve parçalanma ürünleri toksik olmamalı,
- ✓ İlacı hedef bölgeye taşınmalı,
- ✓ İlacı çevresel etkilere karşı korumalı,
- ✓ İlacı kontrollü bir şekilde salmalı,
- ✓ Stabilite sorunu olmamalı,
- ✓ Gerektiğinde sterilize edilebilmelidir.

Nanopartiküllerin hazırlanmasında, albümin, jelatin, aljinat, kitosan, dekstran gibi doğal ve poli (laktik asit) (PLA), PLGA, poli ( $\epsilon$ -kaprolakton) (PCL), poli (siyanoakrilat)'ın örnek verilebileceği sentetik polimerler kullanılmaktadır.<sup>42, 57, 59, 60</sup>

Nanopartikül hazırlama yöntemleri, polimer tipleri ve sisteme hapsedilebilecek etkin madde özellikleri Tablo 2.6'da özetlenmiştir.<sup>42, 57, 59</sup>

**Tablo 2.6.** Nanopartikül hazırlama yöntemleri ve hazırlamada kullanılan polimer örnekleri.<sup>37</sup>

<b>Polimer Tipi</b>	<b>Nanopartikül Hazırlama Yöntemi</b>
<b>Hidrofilik</b>	S/Y Emülsiyonunda ısı denatürasyonu ve çapraz bağlanma
Albümin, Jelatin	Sulu ortamda desolvasyon ve çapraz bağlanma
Aljinat, Kitosan	Sulu ortamda çapraz bağlanma
Dekstran	Organik çözücüden polimer çöktürmesi
<b>Hidrofobik</b>	Emülsiyon polimerizasyonu
Poli (alkilsiyanoakrilatlar)	Yüzeylearası polimerizasyon
Poliesterler (PLA, PLGA, PCL)	Emülsiyon oluşturma-çözücü buharlaştırılması Çözücü yer değişimi Tuzla çöktürme

*In vivo* olarak nanopartiküllerin davranışlarının anlaşılması ile birlikte fizikokimyasal özelliklerini (büyüklük, hidrofilitesi vb.) optimize etmek için yeni stratejiler geliştirilmiştir.<sup>59</sup> Bu taşıyıcı sistemlerin sirkülasyonunda uzun ömürlülüğünü ve stabilitesini artırmak için çeşitli polimerler (Polietilen glikol (PEG), Polietilen oksit (PEO) vb.) kullanılarak sistemin yüzey modifikasyonu sağlanır. Bu polimerler taşıyıcı sistemi biyolojik ortam bileşenleri ile oluşabilecek istenmeyen etkileşimlere karşı korur ve böylece makrofajlar tarafından alınmasının azaltılması ve sirkülasyonda daha uzun süreli kalması sağlanır.<sup>61-64</sup> PEG, toksik olmaması ve insanda kullanım için FDA tarafından onaylanmış olmasından dolayı yoğun bir şekilde kullanılmaktadır.<sup>61</sup>

Bu bölümde, laboratuvarımızda çoğunlukla kullandığımız polimerik nanopartikül hazırlama yöntemlerinden olan emülsiyon oluşturma/çözücü buharlaştırma yöntemi, emülsifikasyon-difüzyon yöntemi ve nanopresipitasyon yöntemleri hakkında kısaca bilgi verilecektir.

### **Emülsiyon Oluşturma-Çözücü Buharlaştırma Yöntemi**<sup>65, 66</sup>

Bu yöntem, polimerik nanopartiküllerin hazırlanmasında sıklıkla kullanılır ve iki basamaktan oluşur: (1). Polimer çözeltisinin sulu faz içerisinde homojenize edilmesiyle tekli emülsiyon hazırlanması, (2). Emülsifikasyon sonrası organik çözücünün ortamdan uzaklaştırılmasıyla nanopartiküllerin elde edilmesi. Bu yöntemle, nanoboyutlu taşıyıcı sistem hazırlanabilmesi için stabilize edici ajan ve yüksek enerjili homojenizasyon gerekmektedir. Polimer (genellikle, PLA, PLGA, PCL, Eudragit® vb. polimerler), diklorometan veya kloroform gibi suyla karışmayan uçucu çözücülerde çözündürülür ve daha sonra stabilize edici ajan (polivinil alkol (PVA), sodyum dodesil sülfat, Pluronic F68, Tween 80, sodyum taurodeoksikolat gibi yüzey aktif maddeler) içeren sulu faz ile karıştırılarak homojenize edilir. Emülsiyon oluşumu sonrası organik faz alçak basınç altında uzaklaştırılır ve böylece nanopartiküler yapılar elde edilir. Bu sistemlere, albumin, testosteron, loperamid, siklosporin A, nükleik asit, indometazin vb. çok sayıda ve farklı özelliklere sahip etkin maddeler yüklenebilmektedir. Bu yöntemle hazırlanan polimerik taşıyıcıların boyutu; karıştırma hızı, stabilize edici ajanın tipi, ajanın miktarı, organik ve sulu fazın viskozitesi, sıcaklık ayarı gibi parametreler değiştirilerek kontrol altında tutulabilir. Farklı tipte emülsiyon hazırlanabilir ancak aglomerat oluşumunun az olması, ekonomik olması ve yıkama aşamasının kolay olması gibi nedenlerden dolayı suyun kullanıldığı yağ/su emülsiyonu çoğunlukla tercih edilmektedir.

### **Emülsifikasyon-Çözücü Difüzyon Yöntemi**<sup>65, 66</sup>

Bu yöntemde, su ile kısmen karışabilen çözücülerde (benzil alkol, propilen karbonat, etil asetat, isopropil asetat, metil asetat vb.) polimer (genellikle, PLA, PLGA, PCL, Eudragit® vb. polimerler) çözündürülür ve stabilize edici ajan (polivinil alkol (PVA), sodyum dodesil sülfat, Pluronic F68, Tween 80, sodyum taurodeoksikolat gibi yüzey aktif maddeler) içeren sulu faza ilave edilir. Daha sonra, üzerine gereken

miktarda saf su eklenerek organik çözücünün difüzyonu sağlanır ve böylece nanopartiküller elde edilir. Bu yöntem, yüksek enkapsülasyon etkinliğinin (genellikle >% 70) görülmesi, yüksek enerjili homojenizasyon gerektirmemesi, ısı artışı gerektirmediğinden ısıya hassas etkin maddelerin formülasyonunda kullanılabilmesi, seriler arası tekrarlanabilirliğinin yüksek olması, ölçek büyütme izin vermesi, basit bir yöntem olması, dar bir partikül boyut aralığında nanopartiküllerin üretilmesine imkan vermesi gibi birtakım üstünlüklere sahiptir. Bu yöntemle genellikle yaklaşık 150 nm civarında nanopartiküller hazırlanabilmektedir. Bu yöntemde, su ile organik çözücünün karışabilirliği, karıştırma hızı ve stabilize edici ajanın konsantrasyonu artırıldığında hazırlanan polimerik taşıyıcıların boyutu küçültülebilmektedir. Ancak, polimer konsantrasyonu artırıldığında organik fazın viskozitesi artmakta ve sonuç olarak taşıyıcı sistem boyutu artmaktadır.

### **Nanopresipitasyon Yöntemi**<sup>66,67</sup>

Polimerik nanopartiküler sistem hazırlanmasında basit, düşük enerji gerektiren ve hazırlanma koşulları etkin madde açısından uygun olan bir yöntemdir. Bu yöntemin esası, polimerin (genellikle PLA, PLGA, PCL, Eudragit® vb. polimerler) suyla tamamen karışabilir bir organik çözücüde çözündürülmesi ve sonra iki fazın karıştırılması sonucu çözülmüş materyalin nanoboyutta presipitasyonuna (çökmesine) dayanmaktadır. Kullanılan organik çözücünün suyla tamamen karışabilir olması ve alçak basınç altında, sıcaklık ve karıştırma uygulanmasıyla ortamdan uzaklaştırılabilmesi önemlidir. Bu yöntem, en kolay nanopartikül hazırlama yöntemlerinden biridir. Basit, hızlı, ekonomik ve tekrarlanabilir olması bu yöntemin üstünlükleridir. Genellikle, çözücü olarak aseton kullanılmaktadır. Ayrıca, aseton-küçük miktarda su karışımı veya etanol-aseton karışımı gibi çözücü karışımları da kullanılabilir. Partikül boyutu, polimer konsantrasyonu ve kullanılan çözücülerin





#### 2.1.5.4.1. Biyoparçalanabilen Polimerler

Biyoparçalanabilen doğal ve sentetik polimerlerdir. Toksisitelerinin olmaması, biyolojik sistemle geçimli olmaları ve biyolojik sistemden parçalanarak uzaklaştırılabilmeleri nedeniyle yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar (Tablo 2.7).<sup>69</sup>

**Tablo 2.7.** Taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında kullanılan biyoparçalanabilen polimerler.<sup>68, 70, 71</sup>

Doğal Polimerler	Sentetik Polimerler
<b>Polisakkaritler</b> Kitosan, kitin, agaroz, dekstran, aljinat, hiyaluronik asit.	<b>Poliesterler</b> Poli(hidroksi bütirat), poli(laktik asit), poli(glikolik asit), poli(laktik-ko-glikolik asit), poli( $\epsilon$ -kaprolakton), poli( $\beta$ -malik asit)
<b>Protein yapıda polimerler</b> Albümin, jelatin, kollajen.	<b>Poliamidler</b> Poli(amino asitler), poli(imino karbonatlar)
	<b>Polianhidritler</b> Poli[bis(p-karboksifenoksi propan-ko-sebasik asit)], poli(yağ asidi dimer-kosebasik asit)

Protein yapısındaki polimerlerin kullanılmasında en önemli dezavantaj antijenik yanıt oluşturmalarıdır.<sup>42</sup>

Polifosfatazlar, poli(orto-esterler), poli(siyano akrilatlar), poli(üretanlar) gibi polimerler de biyoparçalanabilen polimerler arasında yer almaktadır.<sup>68</sup>

Polimerlerin parçalanması, hidrolitik veya enzimatik mekanizmalarla veya her ikisinin kombinasyonu ile gerçekleşmektedir.<sup>68, 69</sup>

Polimerlerin biyolojik olarak parçalanmasını etkileyen faktörler:<sup>70</sup>

- ✓ Kimyasal yapı ve içerik,
- ✓ Fizikokimyasal faktörler (iyon değişimi, iyonik güç, pH),

- ✓ Fiziksel faktörler (şekil, büyüklük),
- ✓ Morfoloji (amorf, yarı kristal, kristal, mikroyapı),
- ✓ Parçalanma mekanizması (enzimatik, hidroliz ile, mikrobiyolojik),
- ✓ Moleküler ağırlık dağılımı,
- ✓ Üretim şartları ve sterilizasyon işlemi,
- ✓ Sertleştirme ve saklama şartları,
- ✓ Uygulama yolu ve etki bölgesidir.

Çalışmamızda kullandığımız polimerler PLGA ve kitosan olduğu için bu kısımda bu polimerler hakkında bilgi verilecektir.

### **PLA, PGA ve PLGA**

Poliesterler ve özellikle de glikolik ve laktik asit kopolimeri (PLGA) çok yoğun ilgi odağı olan ve yoğun bir şekilde çalışılan polimerlerdir.<sup>72, 73</sup> Bu polimerler; halka açılma polimerizasyonu veya polikondenzasyon metodları ile sentez edilirler.<sup>72</sup>

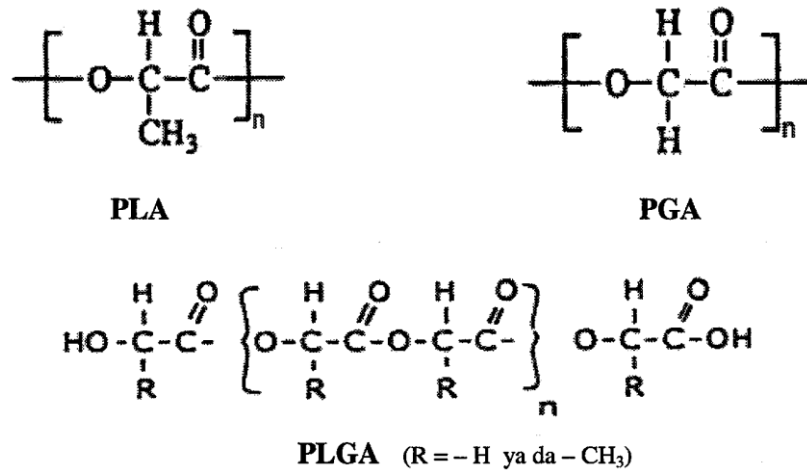
Laktik asit, optik olarak aktiftir. Yapısındaki asimetric  $\beta$  karbon atomundan dolayı, D ve L stereoizomerleri vardır. Bundan dolayı, poli(L-laktid), poli(D-laktid) ve poli (D,L-laktid) rasemik şekli halinde üretilmektedir.<sup>72, 74, 75</sup> L-PLA düzenli yapısından dolayı kristal yapıdadır (% 37 oranında) ve bundan dolayı daha uzun sürede parçalanmaktadır. D,L-PLA ise yapısındaki düzensizliklerden dolayı amorf yapıdadır. D,L-PLA, benzen, aseton, tetrahidrofuran ve klorlu hidrokarbonlar gibi organik çözücülerde çözünür.<sup>75, 76</sup> D,L-PLA daha homojen ilaç dağılımına izin verdiği için daha çok tercih edilmektedir. Ayrıca, laktik asit polimeri içerdiği metilen grubu nedeniyle glikolid polimerlerden daha çok hidrofobiktir.<sup>72, 75</sup> PGA, yüksek oranda kristalin yapıdadır (% 50 oranında).<sup>76</sup>

PLA, PGA ve PLGA yapısal formülleri Şekil 2.2’de gösterilmektedir.<sup>77</sup> PLGA % 25-75 arasında değişen oranlarda glikolid yapısı taşımaktadır.<sup>76</sup> PLGA polimerlerinin

biyolojik olarak parçalanma hızı, polimer zincirindeki laktik ve glikolik asitlerin molar oranına, polimerin molekül ağırlığına, kristalinite derecesine ve polimerin camsı geçiş sıcaklığına bağlıdır.<sup>72, 76, 78</sup> D,L-PLA'yı içermeye kopolimere amorf yapı kazandırır.<sup>76</sup> PLGA 50:50 stabilitesi en az olan ve homopolimerlerden daha hızlı parçalanan kopolimerdir.<sup>75, 76</sup>

Alifatik poliesterlerin biyolojik olarak parçalanması kütleli (homojen) aşınma ile meydana gelir.<sup>75, 79</sup> Kütleli parçalanmada iki aşama vardır; birinci aşamada moleküler bağların rastgele kopması sonucu polimerin molekül ağırlığı, mekanik özellikleri ve morfolojisinde değişimler meydana gelirken, kayda değer bir kütle kaybı meydana gelmez. İkinci aşamada, zincir kopması yanı sıra önemli bir ağırlık kaybı meydana gelir ve yapıdan koparak çözünen en küçük birim olan oligomerler oluşur.<sup>68</sup> Laktik/glikolik kopolimer zincirleri, hidroliz yolu ile monomerik asitlere parçalanır ve krebs döngüsü aracılığı ile CO<sub>2</sub> ve su halinde idrarla atılırlar.<sup>69</sup> Sıcaklık, pH değişimleri ve katalizör varlığı polimer zincirlerinin hidroliz olma hızını etkilemektedir.<sup>79</sup>

Bu polimerler; üretimlerinin kolaylığı, karakteristiklerindeki çok yönlülük ve FDA tarafından insanlar üzerinde kullanımları onaylandığından dolayı polimerik taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında çoğunlukla tercih edilmektedirler.<sup>76</sup>



Şekil 2.2. PLA, PGA ve PLGA'nın kimyasal yapıları<sup>68, 80</sup>

## **Kitin ve Kitosan**

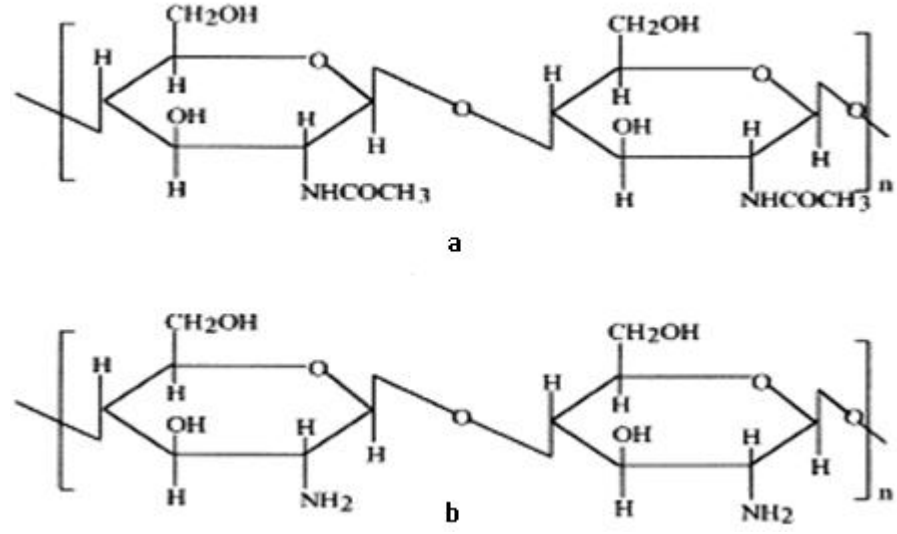
Kitin, poli-[ $\beta$ -(1,4)-2-asetamid-2-deoksi- $\beta$ -D-glukopiranoz], selülozdan sonra dünyada en yaygın olarak bulunan ikinci biyopolimerdir ve selülozdan farklı olarak C2 karbonunda hidroksil grubu yerine asetamido grubunu taşır (Şekil 2.3). Yengeç, karides gibi kabuklu su ürünlerinin ana bileşeni olup, böceklerin iskeletinde ve mantarların hücre duvarlarının yapısında bulunmaktadır.<sup>81, 82</sup>

Kitosan, ilk kez 1811 yılında Henri Bracannot tarafından keşfedilmiştir. 1894 yılında ise Hoppe-Seyler, kitini potasyum hidroksitle 180 °C'de işleme sokmuş ve deasetilasyon sonucu kitosanı elde etmiştir.<sup>81</sup>

Kitosan, poli-[ $\beta$ -(1,4)-2-amino-2-deoksi- $\beta$ -D-glukopiranoz], kitinin alkali ortamda deasetilasyonu sonucu elde edilen (1-4) bağlı D-glukozamin ünitelerinden oluşan lineer bir polisakkarittir (Şekil 2.3). Kitosanın fizikokimyasal özellikleri deasetilasyon derecesine, molekül ağırlığına, çözünürlük ve viskozitesine bağlıdır. Bu özelliklerin değişmesi kitosanın ve dolayısıyla hazırlanan dozaj şekillerinin özelliklerini değiştirmektedir. Deasetilasyon derecesi, kitinin yapısında bulunan aminoasetil gruplarından asetil grubunun uzaklaştırılma derecesidir. Kitinin belli derecede deasetillenmesiyle (% 60 ve üzeri) kitosan hazırlanır. Deasetilasyon derecesi, deniz kabuklularının cinsine, izolasyon yöntemine, sodyum hidroksit ile işlem görme süresine, konsantrasyonuna ve işlem sıcaklığına göre % 56-99 arasında değişebilmektedir.<sup>81, 82</sup>

Katyonik bir doğaya sahip olan kitosan, biyoparçalanabilir, biyoadezif doğal bir polimerdir. Toksik, iritan ve alerjik özellikler göstermez. Bu nedenle, eczacılık ve tıp alanında yaygın kullanıma sahiptir. Ayrıca, kozmetik, gıda, tekstil, tarım, diş hekimliği, besin endüstrisi, fotoğrafçılık gibi çeşitli alanlarda da kullanılmaktadır. Kitosan, ilaç taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında, tablet formülasyonlarında yardımcı madde olarak,

dişçilikte dolgu maddesi olarak, cerrahi iplik, antikoagulan olarak vb. çok çeşitli alanlarda farklı amaçlarla kullanılmaktadır.<sup>81, 82</sup>



Şekil 2.3. Kitin (a) ve kitosanın (b) kimyasal yapıları<sup>83</sup>

Kitosan özellikle mukoadezif formülasyonların hazırlanmasında,<sup>84-87</sup> çözünürlüğü zayıf olan etkin maddelerin çözünme hızının artırılmasında<sup>88, 89</sup> etkin maddelerin hedeflendirilmesinde<sup>90, 91</sup> kullanılmaktadır.

#### 2.1.5.4.2. Biyoparçalanamayan Polimerler

Bu polimerler biyolojik ortamda parçalanmazlar. Hidrofil veya hidrofob yapıdadırlar.<sup>68</sup> Bu polimerlerin en önemli dezavantajı kronik toksisite riskidir.<sup>42</sup>

Taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında kullanılan biyoparçalanamayan polimerler:<sup>68, 70</sup>

**Selüloz Türevleri** : Karboksi metil selüloz, selüloz asetat, etil selüloz

**Akrilik Polimerler** : Poli(hidroksi-etil-metakrilat), poli(hidroksietoksi-etil-metakrilat), poli(metoksi-etil-metakrilat), poli(metakrilik asit) v.b.

Silikonlar, polivinil prolidon, ko-poli(etilen-vinil asetat) bu grupta yer alan diğer polimerlerdir.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

<b>Kimyasal Maddeler</b>	<b>Firma</b>
Metformin HCl	Sandoz İlaç Sanayi ve Ticaret AŞ, Türkiye
Kitosan (Protosan UP CL 113)	FMC Biopolymer AS, Novamatrix Co., Norveç
Poli(D,L-laktid-ko-glikolid) (PLGA) (Resomer <sup>®</sup> RG 502, ort. Mw 7000-17000)	Sigma-Aldrich Co., ABD
Polivinil Alkol (PVA, MW 30000-70000)	Sigma-Aldrich Co., ABD
Aseton	Sigma-Aldrich Co., ABD
Monobazik Potasyum Fosfat	Merck, Almanya
Sodyum Hidroksit	Merck, Almanya
Potasyum Klorür	Riedel-de Haën., Almanya
Hidroklorik Asit	Riedel-de Haën., Almanya

### 3.1.2. Kullanılan Cihazlar

<b>Kullanılan Cihazlar</b>	<b>Firma</b>
Ultrasonik Prob	Sonoplus, HD 2070; Bandelin Electronics, Almanya
Liyofilizatör	Alpha 1-2 LD plus LT, Martin Christ, Almanya
Taramalı Elektron Mikroskobu	NOVA NanoSEM 430, FEI, Çek Cumhuriyeti
Zetasizer 3000HS	Malvern Instruments, İngiltere
FT-IR Spektrofotometresi	Perkin-Elmer Spectrum One, Amerika
Diferansiyel Taramalı Kalorimetre	Netsch STA 409 PC Luxx <sup>®</sup> , Netsch, Almanya
Soğutmalı Santrifüj (Kubota 3780)	Kubota Co., Japonya
Çoklu Manyetik Karıştırıcı (WisestirR MS-MR4)	Wisd Lab. Instruments, Almanya
Vorteks (MS 3) ve İlave Aksesuarları	IKA <sup>®</sup> -Werke GmbH & Co., Almanya
Çalkalamalı Su Banyosu	Memmert GmbH & Co., Almanya
Hassas Terazî	AND, A&D Company, Japonya
Rotavapor (Heidolph 4001)	Heidolph Instruments GmbH & Co., Almanya
Ultra Saf Su Cihazı (Easypure <sup>®</sup> RF)	Barnstead/Thermolyne Co., ABD
UV- Spektrofotometre	Beckman Coulter-DU <sup>®</sup> 730., ABD
Etüv	Memmert GmbH & Co., Almanya
pH Metre	Orion 3 Star., ABD
Ultrasonik Banyo	Bandelin Electronics, Almanya

## **3.2. Metotlar**

### **3.2.1. Etkin Maddenin UV-Spektrofotometrik Yöntemle Miktar Tayini**

Metformin HCl'ün fosfat tamponu (PB, pH 6.8; USP32/NF27) ve HCl tamponu (0.2 M; pH 1.2; USP32/NF27) içinde hazırlanan sırasıyla 10 µg/mL ve 8 µg/mL konsantrasyonlarındaki çözeltilerinin 200-400 nm dalga boyu aralığında UV spektrumları alınmış ve gözlenen maksimum absorpsiyon dalga boyları ( $\lambda_{max}$ ) tespit edilmiştir.<sup>92</sup>

#### **3.2.1.1. Etkin Maddenin Kalibrasyon Doğrularının Elde Edilmesi**

Metformin HCl'ün kalibrasyon doğrusunu hazırlamak için PB pH 6.8 ve HCl pH 1.2 tamponlarında 100 µg/mL konsantrasyonlarında stok çözeltileri hazırlanmıştır. Her bir stok çözeltiden hareketle uygun seyreltmeler yapılarak sırasıyla, 4-10 µg/mL ve 3-8 µg/mL konsantrasyon aralıklarında (altı farklı konsantrasyonda) her bir konsantrasyon için 6'şar standart çözelti hazırlanmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan bu çözeltiler vortekslenip önceden belirlenmiş olan  $\lambda_{max}$  değerlerinde okunmuştur. Her bir konsantrasyon ve bu konsantrasyona karşılık gelen absorpsiyon değerleri grafiğe geçirilerek regresyon analizi yardımıyla kalibrasyon doğruları ve denklemleri elde edilmiştir.

#### **3.2.1.2. Analitik Yöntem Validasyonu**

Analitik yöntem validasyonu, analizi yapılacak maddenin tayininde kullanılacak olan analitik yöntemin belirlenen koşullarda doğru, özgün ve tekrarlanabilir olduğunu garanti etmek için uygulanan işlemdir. Yöntem validasyonu, kullanılan analitik yöntemin güvenilirliğinin teminatıdır.<sup>93</sup> Bir analitik yöntemin değerlendirilmesinde aşağıdaki kriterler incelenir:<sup>94</sup>

- ✓ Doğrusallık
- ✓ Doğruluk



- ✓ Kesinlik (tekrar edilebilirlik, tekrar elde edilebilirlik)
- ✓ Duyarlılık
- ✓ Özgünlük
- ✓ Tutarlılık
- ✓ Stabilite

### **Doğrusallık**

Doğrusallık çalışması, analizi yapılan maddenin konsantrasyonu ile deney sonuçlarının doğru orantılı olduğu konsantrasyon aralığının bulunması amacıyla yapılır.<sup>93</sup> Analitik validasyon için gerekli doğrusallık kriterini göstermek üzere, metformin HCl'ün 100 µg/mL konsantrasyonlarında PB pH 6.8 ve HCl pH 1.2 tamponlarında stok çözeltileri hazırlanmış, bu çözeltilerden hareketle ilgili tamponlarla seyreltmeler yapılarak 6 farklı konsantrasyonda her bir konsantrasyon için 6'şar adet çözelti hazırlanmış ve absorbanları ölçülmüştür. Ölçülen absorban değerleri çözeltilerin konsantrasyonlarına karşılık grafiğe geçirilerek doğru denklemleri elde edilmiştir.

### **Doğruluk ve Kesinlik**

Doğruluk, kullanılan analitik yöntem ile elde edilen deney sonuçlarının gerçek değerlere yakınlığını ifade eder.<sup>93</sup> Metformin HCl'ün miktar tayini için kullanılan yöntemin deney içi (intra-assay) ve deneyler arası (inter-assay) doğruluğunun değerlendirilmesinde aşağıda verilen eşitlik kullanılmıştır.<sup>95</sup>

$$Doğruluk = \frac{a - b}{b} \times 100$$

a= Ortalama tayin edilen konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ )

b= Hazırlanan konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ )

### Şekil 3.1. Analitik yöntem validasyonu doğruluk hesaplaması

Kesinlik, bir analitik yöntemin tekrarlanabilirlik derecesinin ölçümü veya bireysel test sonuçlarının birbirine yakınlığının bir derecesidir.<sup>93, 96</sup>

Deney içi kesinlik ve doğruluğun tespiti için kalibrasyon doğrusu aralığında yer alan 3 farklı konsantrasyonda (PB pH 6.8 için 4.5, 6.5, 9  $\mu\text{g/mL}$  ve HCl pH 1.2 için 3.5, 5.5, 7.5  $\mu\text{g/mL}$ ), her bir konsantrasyondan 6'şar adet olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanmış ve aynı gün içinde arka arkaya ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Deneyle arası kesinlik ve doğruluğun tespiti için kalibrasyon doğrusu aralığında yer alan 3 farklı konsantrasyonda (PB pH 6.8 için 4.5, 6.5, 9  $\mu\text{g/mL}$  ve HCl pH 1.2 için 3.5, 5.5, 7.5  $\mu\text{g/mL}$ ), her bir konsantrasyondan 6'şar adet olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanmış ve birbirini takip eden 3 günde absorbansları ölçülmüştür.

Sistemin kesinliğinin tespiti için aynı konsantrasyondaki standart çözeltilerin ortalaması (X), standart sapması (SS) ve varyasyon katsayısı (VK) hesaplanmıştır.<sup>97</sup>

### Saptama ve Miktar Tayini Sınırı

Saptama sınırı, analizi yapılan maddenin analitik yöntemle tayin edilebilecek en düşük konsantrasyonudur. Bilinen en düşük konsantrasyonda analit içeren örnek sonuçlarının kör sonuçlarıyla karşılaştırılmasıyla (sinyal/gürültü oranı; 3:1) belirlenir.<sup>96</sup> Bu sınır, düşük konsantrasyona sahip bir seri örneğin analiz edilmesiyle belirlenmiştir.

Miktar tayini sınırı, yöntemin belirlenen şartlarında analizi yapılan maddenin kabul edilebilir kesinlik ve doğruluk ile tayin edilebildiği en düşük konsantrasyon

olarak tanımlanır.<sup>96</sup> Miktar tayini sınırı olarak kalibrasyon doğrusunun en alt noktasında bulunan konsantrasyon seçilmiştir.

### **Özgünlük**

Özgünlük, bir analitik yöntemin sadece amaçlanan maddeyi tayin edebilme yeteneğini gösterir.<sup>96</sup>

Hazırlanan mikroküre formülasyonlarında kullanılan maddelerin (PLGA, polivinil alkol (PVA), kitosan), kullanılan ortamların içerdiği bileşenlerin tayin yapılan dalga boylarında metformin HCl'ün absorbansını etkileyip etkilemediğini ve analitik yöntemin etkin maddeye özgün olup olmadığını göstermek üzere çözündürülen boş (etkin madde içermeyen) taşıyıcı sistemlerin ve ortamların UV spektrumları alınarak incelenmiştir.

### **Stabilite**

Metformin HCl'ün deney süresince dayanıklı olduğunun gösterilmesi amacıyla PB pH 6.8 için 4.5, 6.5, 9 µg/mL ve HCl pH 1.2 için 3.5, 5.5, 7.5 µg/mL konsantrasyonlarında çözeltileri hazırlanmıştır (n=3). Hazırlanan bu çözeltiler -20 °C, +4 °C ve oda sıcaklıklarında saklanmış ve 0., 24., 48. ve 72. saatlerde analizleri yapılmıştır.

#### **3.2.2. Polimerik Taşıyıcı Sistemlerin Hazırlanması**

Bu çalışmada, model etkin madde olarak metformin HCl seçilmiştir. Doğal kaynaklı biyoparçalanabilen polimerlerden kitosan ve sentetik biyoparçalanabilen polimerlerden PLGA kullanılarak metformin HCl içeren polimerik taşıyıcı sistem formülasyonları hazırlanmıştır.

##### **3.2.2.1. Boş PLGA-CS Polimerik Taşıyıcı Sisteminin Hazırlanması**

PLGA-CS polimerik taşıyıcı sistem, bazı çalışma grupları tarafından verilen yöntemler modifiye edilerek hazırlanmıştır.<sup>98</sup> 150 mg PLGA'nın 10 mL aseton

içerisinde çözündürülmesiyle organik faz hazırlanmıştır. Bu işlemin paralelinde, sulu faz, 30 mg kitosanın 20 mL, % 3'lük PVA çözeltisinde (a/h) çözündürülmesiyle (700 rpm'de 60 dakika karıştırılarak) hazırlanmıştır. Daha sonra, sulu faz, organik faz içerisine enjektör yardımıyla damlatılırken ultrasonik prob (% 60 güç, 7 dakika) kullanılarak homojenizasyon sağlanmıştır. Bu işlemin ardından aseton rotavaporda 45 °C'de, 15 dakika süreyle uçurulmuştur. Elde edilen süspansiyon için 5000 rpm'de, 5 dk ön santrifüj yapılmış ve ardından süpernatant kısmı alınarak 8 °C, 13500 rpm'de 50 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen çökelek, saf su içerisinde tekrar süspande edilmiş ve -20 °C'de dondurulmuştur. Dondurulan formülasyonlar, 24 saat süreyle 0.021 mbar ve -55 °C'de liyofilize edilmişlerdir.

### **3.2.2.2. Metformin HCl yüklü-PLGA-CS Polimerik Taşıyıcı Sistemlerinin Hazırlanması**

Metformin HCl yüklü-PLGA-CS polimerik taşıyıcı sistemlerin hazırlanması için Bölüm 3.2.2.1'de açıklanan hazırlama yöntemi sulu fazın hazırlanması dışında aynen tekrar edilmiştir. Etkin madde yüklü formülasyonların hazırlanması için 30 mg kitosan 20 mL, % 3'lük PVA çözeltisine (a/h) ilave edilerek karıştırılmış (700 rpm'de 30 dakika) ve daha sonra bu çözeltiye 50 mg metformin HCl'de eklenerek 700 rpm'de 30 dakika daha karıştırılarak sulu faz hazırlanmıştır (C-2 kodlu formülasyon). C-3 kodlu formülasyonun hazırlanması amacıyla ise 50 mg metformin HCl yerine 75 mg metformin HCl kullanılmıştır.

Her bir formülasyon en az üçer kez hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyonlara ait bazı parametreler ve formülasyon kodları Tablo 3.1'de verilmiştir.

**Tablo 3.1.** Hazırlanan formülasyonlara ait bazı parametreler ve formülasyon kodları.

<b>Formülasyon Kodu</b>	<b>Metformin HCl (mg)</b>	<b>PLGA (mg)</b>	<b>Kitosan (mg)</b>
<b>C-1</b>	-	150	30
<b>C-2</b>	50	150	30
<b>C-3</b>	75	150	30

### **3.2.3. Hazırlanan Polimerik Taşıyıcı Sistemlerin Karakterizasyonu**

#### **3.2.3.1. Yüzey Özellikleri**

Hazırlanan taşıyıcı sistemlerin şekilleri ve yüzey özellikleri SEM kullanılarak incelenmiştir. Bu formülasyonlar, iki tarafı yapışkan bant aracılığı ile metal levhalar üzerine tespit edilmiştir. Bu işlemi takiben, örnekler marka kaplama cihazında (BIORAD) 100 Å kalınlıkta altın ile kaplanmıştır. Daha sonra örnekler SEM ile incelenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir.

#### **3.2.3.2. Partikül Büyüklüklerinin Tayini**

Taşıyıcı sistemlerin partikül büyüklüğü tayini için Zetasizer 3000HS cihazı kullanılmıştır. Liyofilizasyon öncesi taşıyıcı sistemlerin partikül büyüklüğü ölçümleri yapılmıştır. Ölçümler, sistemlerin % 25 oranında saf su ile dilüsyonları sonrası 25 °C’de gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.3.3. Hazırlama Verimi**

Taşıyıcı sistemleri hazırlamada kullanılan yöntemlerin etkinliğinin değerlendirilmesi için verim hesabı yapılmıştır. Üretim sonunda elde edilen taşıyıcı sistemlerin ağırlığı, üretim sırasında kullanılan etkin madde ve polimer ağırlığının toplamına oranlanmış, elde edilen bu oran yüzde cinsinden ifade edilmiştir (Şekil 3.2.).

$$\text{Verim} = (A/B) \times 100$$

A: Elde edilen toplam taşıyıcı sistem ağırlığı (mg)

B: Etkin madde + Polimer ağırlığı (mg)

**Şekil 3.2.** Hazırlama verimi hesaplaması.

### **3.2.3.4. Taşıyıcı Sistemlere Yüklenen Metformin HCl Miktarının Belirlenmesi**

Hazırlanan taşıyıcı sistemlerden (C-1, C-2 ve C-3 formülasyonları) 10'ar mg tartılmıştır. Üzerlerine 5'er mL aseton ilave edilmiş ve 2 dakika vortekslenmiştir. Çok noktalı karıştırıcıda 750 rpm'de 30 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra, 10'ar mL PB pH 6.8 ilave edilerek çok noktalı karıştırıcıda 30 dakika daha karıştırılmıştır. Karıştırma sonrası, organik çözücü rotavaporda 10 dakika süreyle (45 °C'de) uçurulmuştur. Kalan kısım, 10000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenmiş ve UV-spektrofotometrik yöntem (232 nm) kullanılarak elde edilen süpernatantlarda etkin madde miktar tayini yapılmıştır.

### **3.2.3.5. *In Vitro* Salım Deneyleri**

*In vitro* salım deneyleri iki farklı ortamda (PB pH 6.8 ve HCl pH 1.2 tamponu) gerçekleştirilmiştir. Hassas terazide, renkli cam şişelere tam olarak 20 mg tartılan etkin madde yüklü taşıyıcı sistemler üzerine 4'er mL uygun ortam konmuş ve salım çalışması, sıcaklığı 37±0.5 °C'de sabit tutulan, çalkalama hızı 50 rpm olan yatay çalkalayıcılı su banyosunda gerçekleştirilmiştir. Aynı işlemler, metformin HCl içermeyen/boş polimerik taşıyıcı sistemlere de uygulanmıştır. Belirli zaman aralıklarında (0.5., 1., 3., 6., 12., 24., 48., 72., 96., 120., 144., 168. ve 192. saatlerde olmak üzere) salım şişelerinden 1'er mL örnek alınmış ve alınan örnek yerine aynı hacimde taze ortam konmuştur. Alınan örnekler, 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve elde edilen süpernatantlarda etkin madde miktar tayini UV spektrofotometrik

yöntem (PB pH 6.8 ortamı için 232 nm; HCl pH 1.2 ortamı için 209 nm) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir zaman noktası için metformin HCl'ün % kümülatif salım değeri hesaplanmış ve veriler grafikler halinde sunulmuştur.

### **3.2.3.6. Metformin HCl, PLGA, CS, PLGA-CS-Metformin HCl Fiziksel Karışımı, Boş Küre ve Etkin Madde Yüklü-PLGA-CS Formülasyonlarının FT-IR Spektrumlarının Alınması**

Metformin HCl, PLGA, CS, PLGA-CS-Metformin HCl fiziksel karışımı, boş küre ve etkin madde yüklü-PLGA-CS formülasyonlarının KBr diskleri hazırlanmış ve FT-IR kullanılarak infrared spektrumları alınmıştır.

### **3.2.3.7. Metformin HCl, PLGA, CS, PLGA-CS-Metformin HCl Fiziksel Karışımı, Boş Küre ve Etkin Madde Yüklü-PLGA-CS Formülasyonlarının DSC Diyagramlarının Elde Edilmesi**

Çalışmada kullanılan etkin madde, polimerler, boş küre ve etkin madde yüklü formülasyonlara ait DSC diyagramları Netzsch STA 409 PC Luxx<sup>®</sup> marka diferansiyel taramalı kalorimetre kullanılarak elde edilmiştir. DSC deneylerinin tümü azot atmosferinde gerçekleştirilmiştir. Gaz akış hızı 60 mL/dakika olarak ayarlanmıştır. Tüm DSC ölçümleri için 20-350 °C sıcaklık aralığında 5 veya 10 °C/dakika ısıtma hızında çalışılmıştır. Bütün analizlerde bir dizi standart (In, Sn, Bi, Zn, Al, Ag, Au, Ni) ve referans olarak da alumina kullanılmıştır.

### **3.2.2.8. İstatistiksel Yöntem**

Tez çalışması kapsamında, formülasyonlar arasında partikül büyüklüğü, enkapsülasyon etkinliği ve *in vitro* salım verileri açısından farklılığın anlamlı olup olmadığının belirlenmesi amacıyla Mann-Whitney U testi kullanılmış ve p değerinin 0.05'den küçük olması aradaki farkın anlamlı olması şeklinde tanımlanmıştır.

## 4. BULGULAR

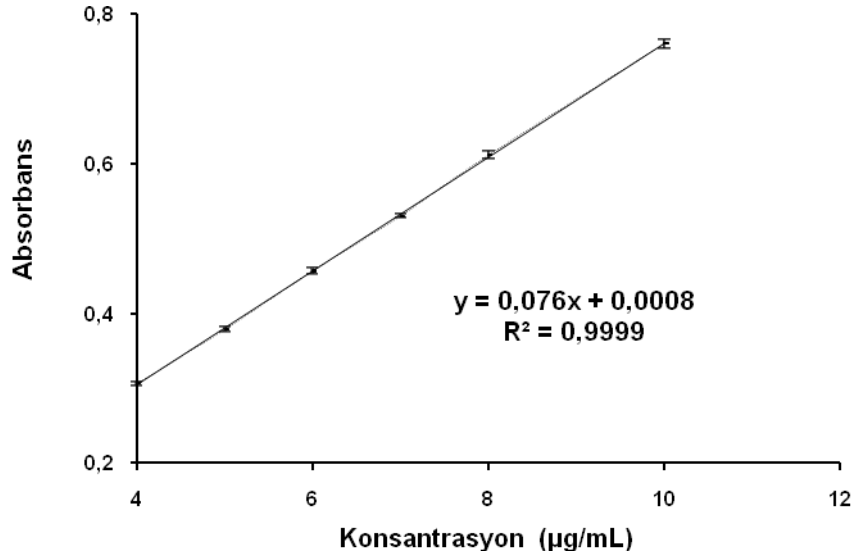
### 4.1. Etkin Maddenin UV-Spektrofotometrik Yöntemle Miktar Tayini

Metformin HCl'ün PB pH 6.8 ve HCl pH 1.2 tamponu içinde hazırlanan çözeltilerinin 200-400 nm dalga boyu aralığında UV spektrumları Bölüm 3.2.1'de anlatıldığı şekilde alınmıştır. Metformin HCl'ün PB pH 6.8 ve HCl pH 1.2 tamponları içindeki çözeltileri için maksimum absorbans dalga boyları sırasıyla 232 nm ve 209 nm olarak tespit edilmiştir.

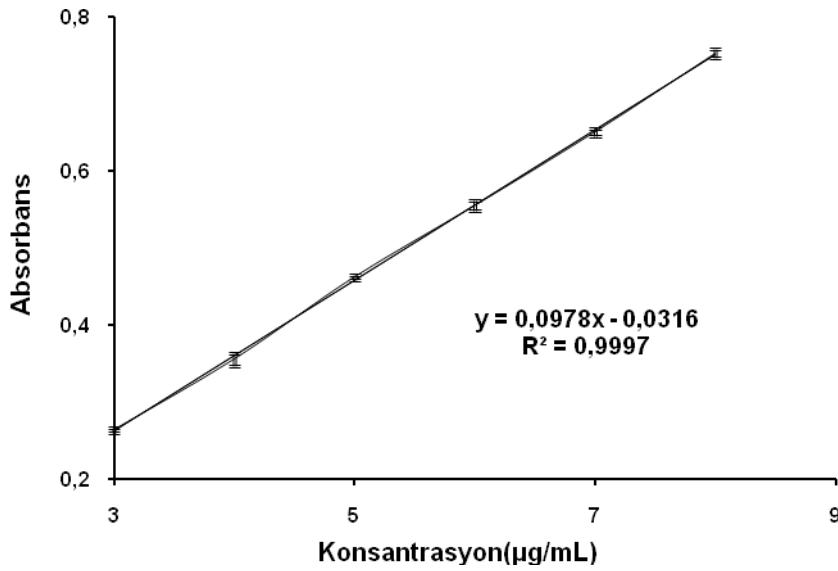
#### 4.1.1. Kalibrasyon Doğrusu

Metformin HCl'ün kalibrasyon doğrusu, Bölüm 3.2.1.1.'de belirtildiği gibi PB pH 6.8 ve HCl pH 1.2 tamponlarındaki stok çözeltilerinden hareketle uygun seyreltmeler yapılarak sırasıyla 4-10 µg/mL ve 3-8 µg/mL konsantrasyon aralıklarında hazırlanan standart çözeltileri kullanılarak elde edilmiştir. Çalışmalar 6 seri üzerinden gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan çözeltilerin absorbansları ölçülmüştür. Her bir konsantrasyon ve bu konsantrasyona karşılık gelen absorbans değerleri grafiğe geçirilerek doğru denklemleri elde edilmiştir. Kalibrasyon doğrularına ait denklemler lineer regresyon ile bulunmuştur. Her seri için elde edilen kalibrasyon doğrusuna ait eğimler karşılaştırılmıştır; karşılaştırma sonucunda PB pH 6.8 ve HCl pH 1.2 tamponları için VK değerleri sırasıyla 1.458 ve 2.268 olarak bulunmuştur. Metformin HCl'ün kalibrasyon doğru ve denklemleri Şekil 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.





**Şekil 4.1.** Metformin HCl'ün PB pH 6.8 ortamı içindeki çözeltilerinin kalibrasyon doğrusu ve denklemi ( $X \pm SS$ ;  $n=6$ ).



**Şekil 4.2.** Metformin HCl'ün HCl pH 1.2 ortamı içindeki çözeltilerinin kalibrasyon doğrusu ve denklemi ( $X \pm SS$ ;  $n=6$ ).

## **4.1.2. Analitik Yöntem Validasyonu Bulguları**

### **4.1.2.1. Doğruluk ve Kesinlik**

Metformin HCl'ün miktar tayini için kullanılan yöntemin gün içi ve günler arası kesinlik ve doğruluğunun değerlendirilmesi için yapılan deneyler Bölüm 3.2.1.2.'de açıklandığı gibi gerçekleştirilmiştir. Deney içi kesinlik ve doğruluğun tespiti için kalibrasyon doğrusu aralığında yer alan 3 farklı konsantrasyonda (PB pH 6.8 için 4.5, 6.5, 9 µg/mL ve HCl pH 1.2 için 3.5, 5.5, 7.5 µg/mL), her bir konsantrasyondan 6'şar adet olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanmış ve aynı gün içinde arka arkaya ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Deneyler arası kesinlik ve doğruluğun tespiti içinse yine yukarıda belirtilen 3 farklı konsantrasyonda (farklı ortamlardaki), her bir konsantrasyondan 6'şar adet olacak şekilde hazırlanan standart çözeltilerin birbirini takip eden 3 gün içinde absorbansları ölçülmüştür. Bölüm 3.2.1.2.'de belirtildiği şekilde varyasyon katsayıları hesaplanarak kesinlik bulguları ve söz konusu bölümde verilen eşitlik kullanılarak doğruluk değerleri hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 4.1, Tablo 4.2, Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.1.** PB pH 6.8 ortamındaki metformin HCl'ün gün içi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri.

	Konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ )	Hesaplanan		<sup>[1]</sup> Doğruluk	<sup>[2]</sup> Kesinlik
		Konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ ) ( $\bar{X} \pm \text{SS}$ )			
<sup>[3]</sup> Gün içi	4.5	4.424 $\pm$ 0.070		-1.680	1.585
	6.5	6.431 $\pm$ 0.080		-1.062	1.246
	9	8.936 $\pm$ 0.126		-0.710	1.413
<sup>[4]</sup> Günler arası	4.5	4.436 $\pm$ 0.066		-1.422	1.490
	6.5	6.387 $\pm$ 0.080		-1.738	1.254
	9	8.912 $\pm$ 0.116		-0.978	1.299

<sup>[1]</sup> Bağıl Hata (%); <sup>[2]</sup> Varyasyon katsayısı (%); <sup>[3]</sup> Her bir konsantrasyon için n=6; <sup>[4]</sup> Her bir konsantrasyon için n=6/gün

**Tablo 4.2.** HCl pH 1.2 ortamındaki metformin HCl'ün gün içi ve günler arası doğruluk ve kesinlik değerleri

	Konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ )	Hesaplanan		<sup>[1]</sup> Doğruluk	<sup>[2]</sup> Kesinlik
		Konsantrasyon ( $\mu\text{g/mL}$ ) ( $\bar{X} \pm \text{SS}$ )			
<sup>[3]</sup> Gün içi	3.5	3.537 $\pm$ 0.081		1.061	2.302
	5.5	5.469 $\pm$ 0.076		-0.572	1.384
	7.5	7.421 $\pm$ 0.099		-1.054	1.334
<sup>[4]</sup> Günler arası	3.5	3.503 $\pm$ 0.097		0.097	2.770
	5.5	5.471 $\pm$ 0.081		-0.527	1.485
	7.5	7.446 $\pm$ 0.091		-0.718	1.219

<sup>[1]</sup> Bağıl Hata (%); <sup>[2]</sup> Varyasyon katsayısı (%); <sup>[3]</sup> Her bir konsantrasyon için n=6; <sup>[4]</sup> Her bir konsantrasyon için n=6/gün

#### **4.1.2.2. Duyarlılık**

Analitik yöntemin duyarlılığı, Bölüm 3.2.1.2’de belirtildiği şekilde tespit edilmiş olup miktar tayini sınırları PB pH 6.8 ve HCl pH 1.2 ortamları için sırasıyla 4 µg/mL ve 3 µg/mL olarak tespit edilmiştir.

#### **4.1.2.3. Özgünlük**

Bölüm 3.2.1.2’de açıklandığı şekilde, hazırlanan formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin etkin madde ile aynı şartlarda absorbans verip vermediğinin belirlenmesi amacıyla UV spektrumları alınmıştır. Aynı şekilde, ilaç yükleme ve *in vitro* salım çalışmalarında etkin madde yüklü formülasyonlara uygulanan işlemler boş formülasyonda uygulanarak karşılaştırılmaları yapılmıştır. Metformin HCl’ün maksimum absorbans verdiği dalga boyunda ortam bileşenleri ve formülasyona giren yardımcı maddelerin absorbans vermedikleri gözlenmiştir.

#### **4.1.2.4. Stabilité**

Metformin HCl’ün deney süresince stabil kaldığının gösterilmesi amacı ile PB pH 6.8 ortamında 4.5, 6.5, 9 µg/mL ve HCl pH 1.2 ortamında ise 3.5, 5.5, 7.5 µg/mL konsantrasyonlarında çözeltileri hazırlanmıştır. -20 °C, +4 °C ve oda sıcaklığında saklanan örneklerin 0., 24., 48. ve 72. saatlerde analizleri gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Tablo 4.3 ve 4.4’de gösterilmiştir.

**Tablo 4.3.** Metformin HCl'ün PB pH 6.8 ortamındaki stabilite sonuçları

Sıcaklık (°C)	Konsantrasyon (µg/mL)	Ölçüm Zamanı (saat)	Hesaplanan konsantrasyon (X±SS)	% Kalan Metformin HCl	
+4	4.5	0	4.424 ± 0.856	100.00	
		24	4.345 ± 0.583	98.22	
		48	4.911 ± 0.010	111.01	
		72	4.481 ± 0.183	101.29	
	6.5	0	6.555 ± 0.010	100.00	
		24	6.599 ± 0.364	100.67	
		48	7.713 ± 0.010	117.66	
		72	6.419 ± 0.248	97.93	
	9	0	9.604 ± 0.934	100.00	
		24	9.147 ± 0.819	95.25	
		48	9.928 ± 0.353	103.38	
		72	9.297 ± 0.568	96.80	
	Oda sıcaklığı	4.5	0	5.038 ± 0.743	100.00
			24	4.538 ± 0.198	90.07
			48	5.060 ± 0.222	100.44
			72	4.358 ± 0.010	86.51
6.5		0	6.463 ± 0.575	100.00	
		24	6.007 ± 0.236	92.94	
		48	7.362 ± 0.430	113.91	
		72	6.472 ± 0.239	100.14	
9		0	9.428 ± 0.505	100.00	
		24	9.134 ± 0.139	96.88	
		48	10.011 ± 0.357	106.19	
		72	9.042 ± 0.139	95.91	
4.5		0	4.086 ± 0.179	100.00	
		24	4.424 ± 0.426	108.27	
		48	5.064 ± 0.099	123.94	
		72	5.630 ± 0.302	137.78	

Sıcaklık (°C)	Konsantrasyon (µg/mL)	Ölçüm Zamanı (saat)	Hesaplanan konsantrasyon (X±SS)	% Kalan Metformin HCl
-20	6.5	0	6.231 ± 0.209	100.00
		24	6.761 ± 0.434	108.52
		48	6.981 ± 0.239	112.04
		72	7.108 ± 0.091	114.08
	9	0	8.875 ± 0.209	100.00
		24	9.134 ± 0.597	102.92
		48	9.489 ± 0.209	106.92
		72	9.680 ± 0.084	109.07

**Tablo 4.4.** Metformin HCl'ün HCl pH 1.2 ortamındaki stabilite sonuçları

Sıcaklık (°C)	Konsantrasyon (µg/mL)	Ölçüm Zamanı (saat)	Hesaplanan konsantrasyon (X±SS)	% Kalan Metformin HCl	
+4	3.5	0	4.788 ± 0.033	100.00	
		24	4.321 ± 0.337	90.25	
		48	4.185 ± 0.233	87.40	
		72	4.529 ± 0.481	94.59	
	5.5	0	6.039 ± 0.054	100.00	
		24	6.243 ± 0.167	103.39	
		48	6.008 ± 0.283	95.13	
		72	6.424 ± 0.719	96.84	
	7.5	0	8.125 ± 0.293	100.00	
		24	7.729 ± 0.271	95.13	
		48	7.668 ± 0.192	94.38	
		72	7.903 ± 0.340	97.27	
	Oda sıcaklığı	3.5	0	4.560 ± 0.429	100.00
			24	4.382 ± 0.196	96.11
			48	4.181 ± 0.213	91.70
			72	4.665 ± 0.557	102.32
5.5		0	5.964 ± 0.538	100.00	
		24	5.957 ± 0.062	99.89	
		48	5.545 ± 0.348	92.97	
		72	5.521 ± 0.058	92.57	
7.5		0	7.470 ± 0.170	100.00	
		24	7.368 ± 0.667	98.63	
		48	7.160 ± 0.139	95.85	
		72	8.043 ± 0.405	107.66	
3.5		0	3.602 ± 0.171	100.00	
		24	4.045 ± 0.194	112.30	
		48	3.585 ± 0.161	99.53	
		72	4.362 ± 0.505	121.10	

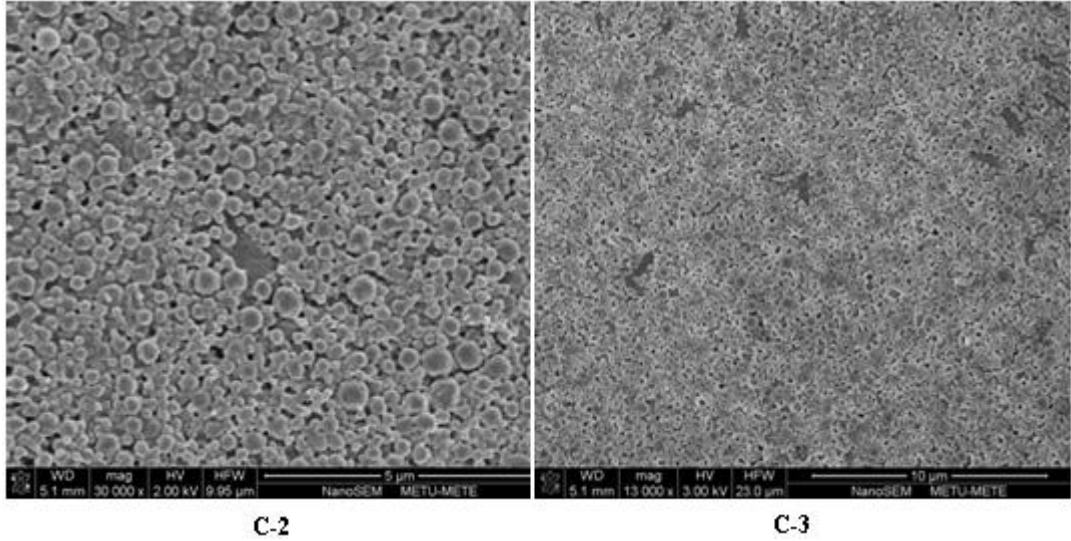
Sıcaklık (°C)	Konsantrasyon (µg/mL)	Ölçüm Zamanı (saat)	Hesaplanan konsantrasyon (X±SS)	% Kalan Metformin HCl
- 20	5.5	0	5.626 ± 0.068	100.00
		24	4.975 ± 0.277	88.43
		48	5.279 ± 0.354	93.82
		72	5.828 ± 0.593	103.57
	7.5	0	7.351 ± 0.159	100.00
		24	7.556 ± 0.257	102.78
		48	7.109 ± 0.102	96.71
		72	7.763 ± 0.503	105.61



### 4.1.3. Polimerik Taşıyıcı Sistem Özelliklerinin Tayinine Ait Bulgular

#### 4.1.3.1. Yüzey Özelliklerine Ait Bulgular

Hazırlanan polimerik taşıyıcı sistemlerin yüzey özellikleri SEM kullanılarak incelenmiştir. Hazırlanan sistemlerin yaklaşık olarak küresel olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil.4.3. Metformin HCl yüklü formülasyonlara ait SEM fotoğrafları.

#### 4.1.3.2. Partikül Büyüklüklerine Ait Bulgular

Hazırlanan boş ve etkin madde yüklü formülasyonların partikül büyüklük tayinleri Bölüm 3.2.3.2’de belirtildiği gibi Zetasizer 3000HS cihazı kullanılarak yapılmış ve sonuçlar Tablo 4.5’de verilmiştir.

**Tablo 4.5.** Hazırlanan formülasyonların ortalama partikül büyüklükleri (n=3,  $X \pm SS$ ).

Formülasyon Kodu	Zeta Potansiyeli (mV)	Ortalama Partikül Büyüklüğü (nm)
C-1	32.37 ± 0.57	514.63 ± 5.73
C-2	23.70 ± 0.80	506.67 ± 13.61
C-3	22.57 ± 1.21	516.33 ± 16.85

#### 4.1.3.3. Formülasyonların Hazırlama Verimine Ait Bulgular

Hazırlanan formülasyonlara ait hazırlama verimi bulguları Tablo 4.6'da gösterilmiştir.

**Tablo 4.6.** Formülasyonlara ait hazırlama verimi bulguları (X±SS).

Formülasyon Kodu	Verim (%)
C-1 (n=3)	58.31 ± 9.94
C-2 (n=5)	52.11± 4.98
C-3 (n=5)	45.62 ± 8.24

#### 4.1.3.4. Formülasyonlara Yüklenen Metformin HCl Miktarına Ait Bulgular

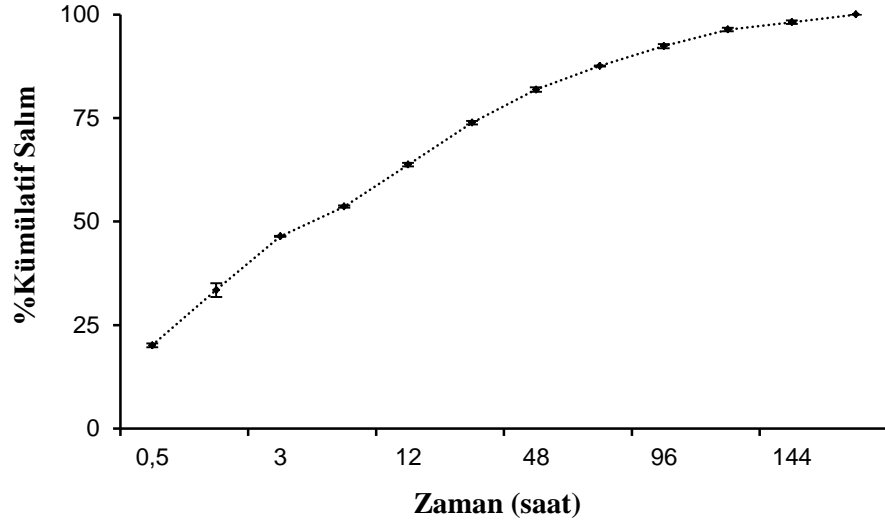
Hazırlanan taşıyıcı sistemlere yüklenen metformin HCl miktarı Bölüm 3.2.3.4'de açıklandığı şekilde saptanmış ve sonuçlar toplam yüklenen metformin HCl miktarı (%) ve yükleme etkinliği (%) olarak Tablo 4.7'de verilmiştir.

**Tablo 4.7.** Taşıyıcı sistemlere yüklenen metformin HCl miktarları ve yükleme etkinliği değerleri (n=4, X ± SS)

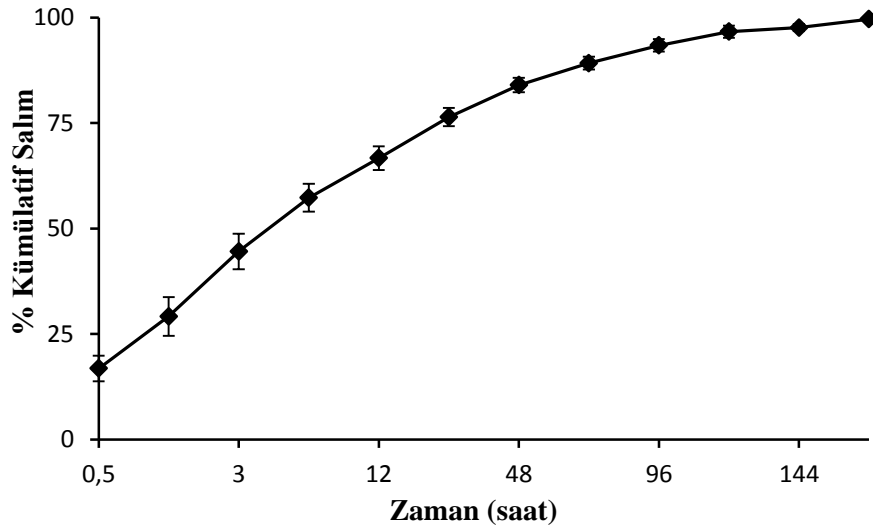
Formülasyon kodu	Toplam yüklenen Metformin HCl miktarı (%)	Yükleme etkinliği (%)
C-2	0.799 ± 0.444	4.311 ± 1.101
C-3	1.318 ± 0.165	4.480 ± 0.559

#### 4.1.3.5. *In Vitro* Salım Çalışmalarına Ait Bulgular

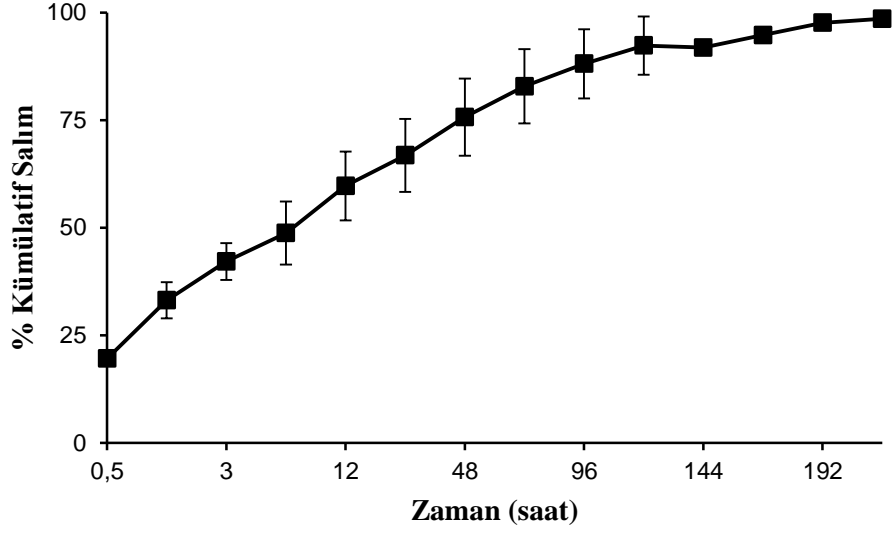
PLGA ve CS polimerleri ile hazırlanan metformin HCl yüklü formülasyonların *in vitro* salım çalışmalarından elde edilen verilere ait salım profilleri Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da verilmiştir.



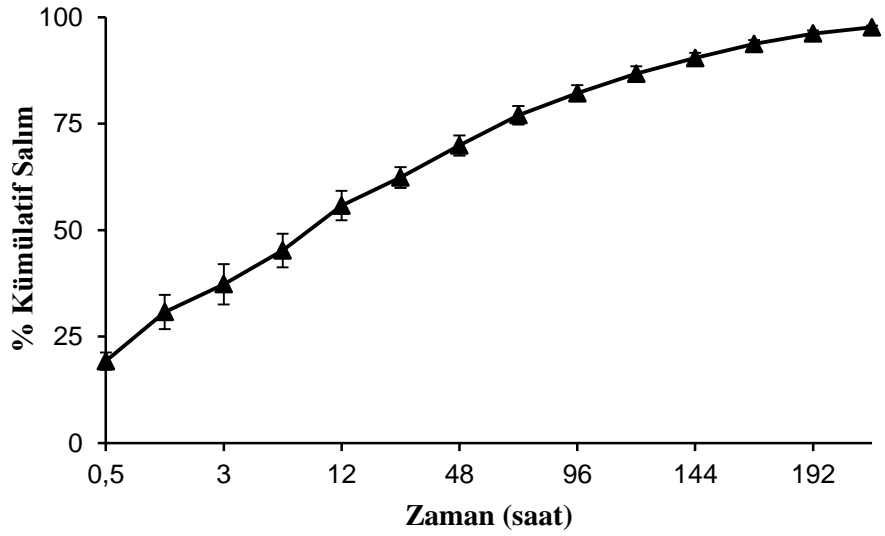
Şekil 4.4. C-2 Formülasyonunun PB içindeki salım profili (n=3;  $X \pm SS$ ).



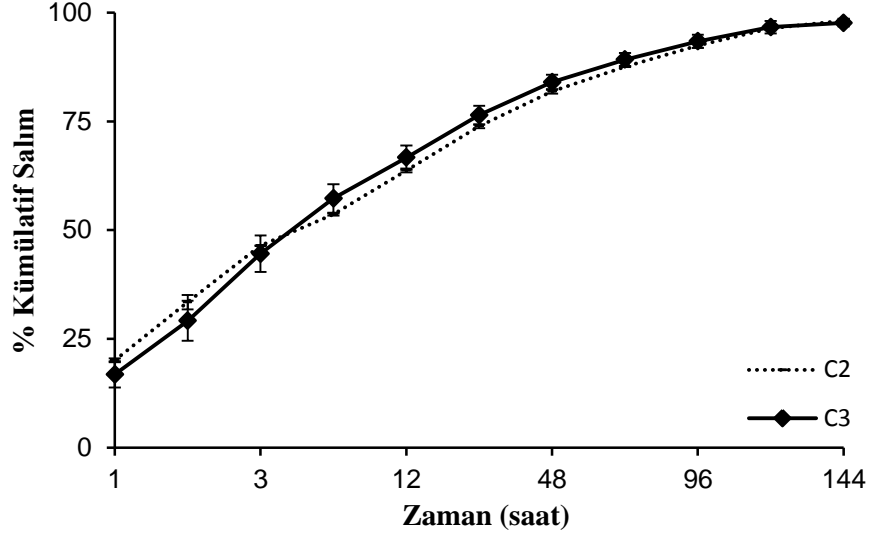
Şekil 4.5. C-3 Formülasyonunun PB içindeki salım profili (n=3;  $X \pm SS$ ).



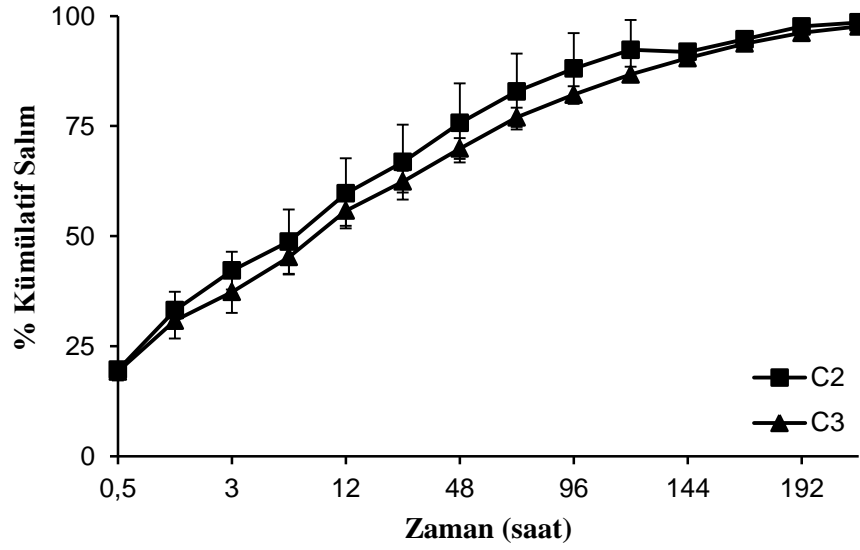
Şekil 4.6. C-2 Formülasyonunun HCl ortamındaki salım profili (n=3; X±SS).



Şekil 4.7. C-3 Formülasyonunun HCl ortamındaki salım profili (n=3; X±SS).



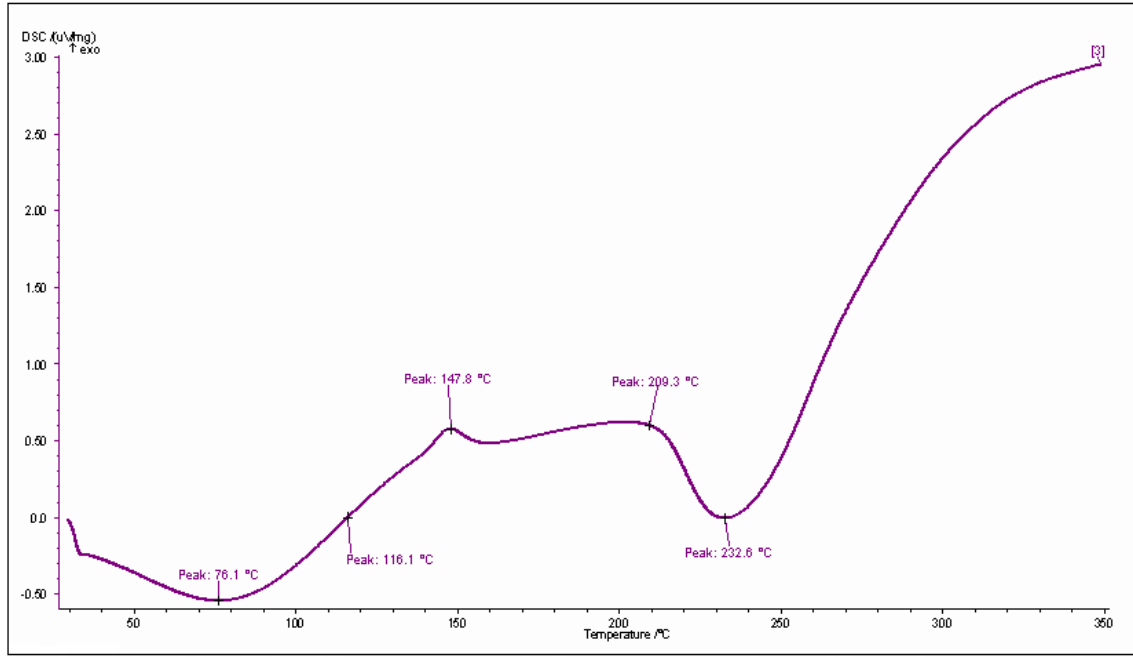
Şekil 4.8. C2 ve C-3 Formülasyonlarının PB içindeki salım profili (n=3;  $X \pm SS$ ).



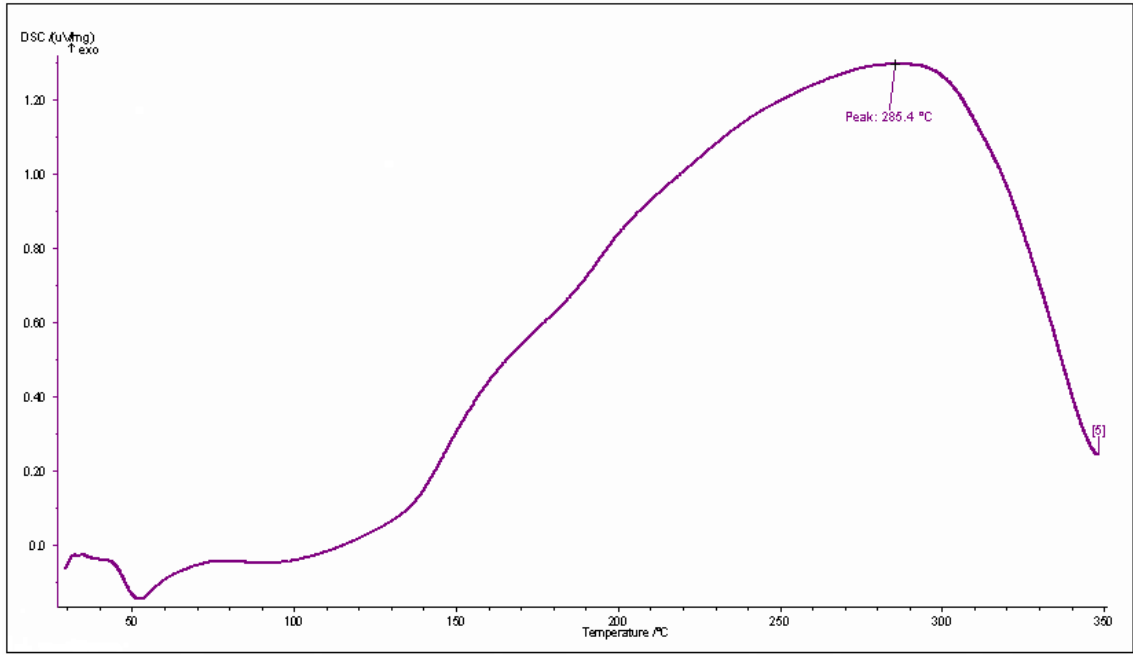
Şekil 4.9. C-2 ve C3 Formülasyonununun HCl ortamındaki salım profili (n=3;  $X \pm SS$ ).

#### 4.1.3.6. Etkin Madde, PLGA, CS, Etkin Madde-Polimerlerin Fiziksel Karışımı, Etkin Madde Yüklü Formülasyonların DSC Termogramları

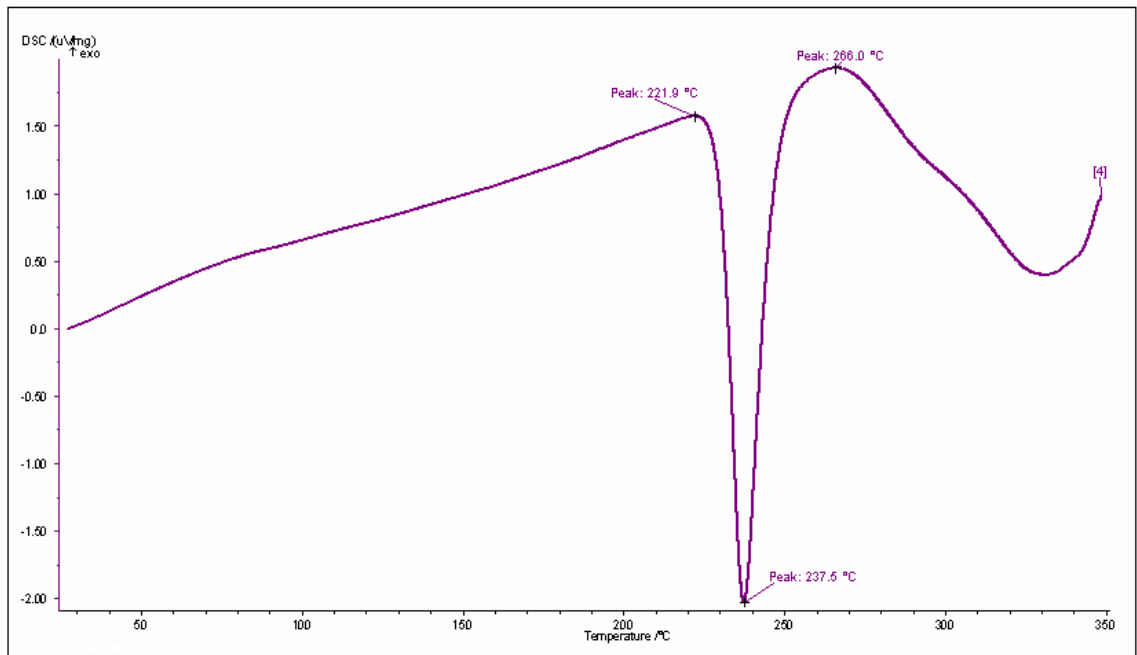
DSC cihazı kullanılarak hazırlanan etkin madde yüklü formülasyonların, bu formülasyonların hazırlanması sırasında kullanılan etkin madde ve polimerlerin termogramları alınmış ve bunlar Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15 ve Şekil 4.16’da gösterilmiştir.



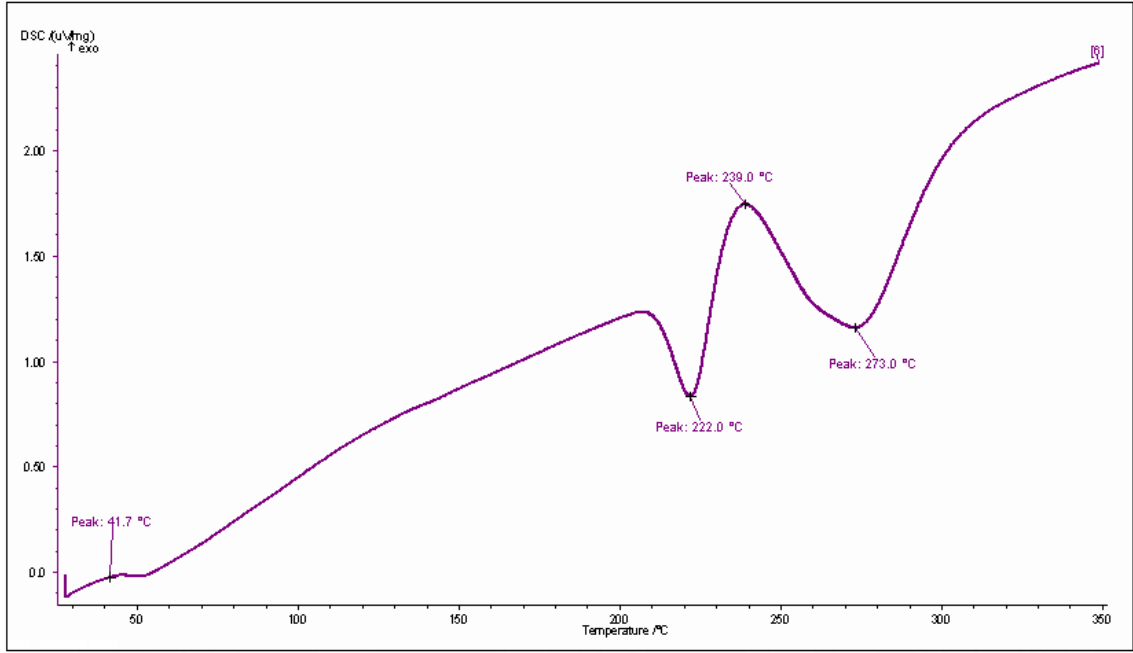
Şekil 4.10. CS'ye ait DSC diyagramı.



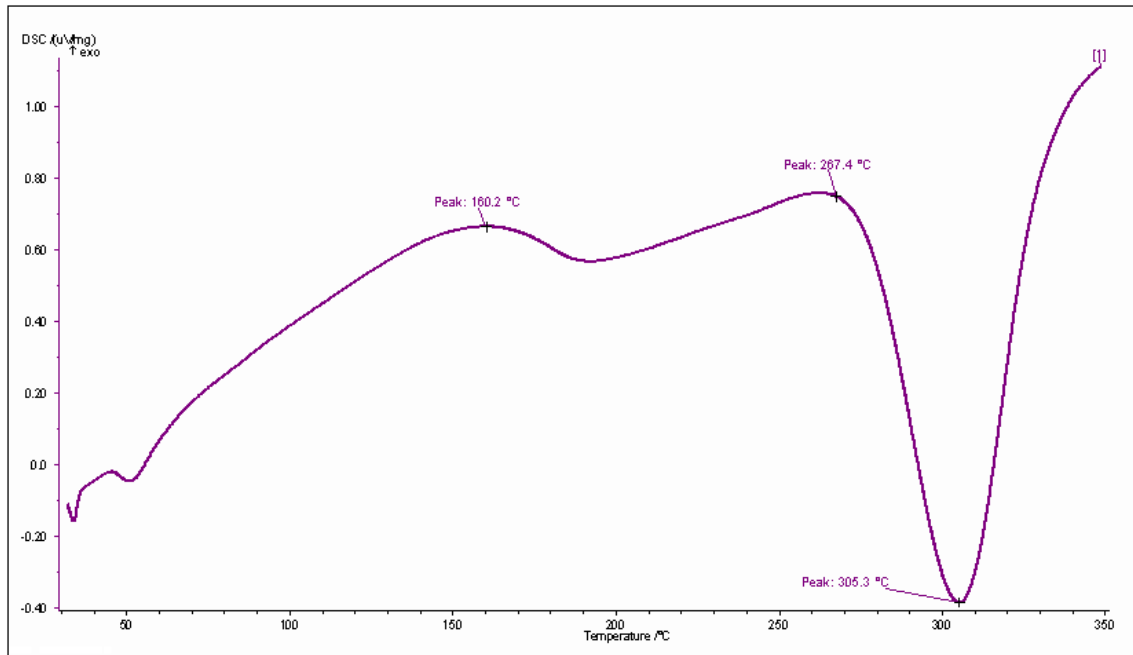
Şekil 4.11. PLGA'ya ait DSC diyagramı.



Şekil 4.12. Metformin HCl'e ait DSC diyagramı.

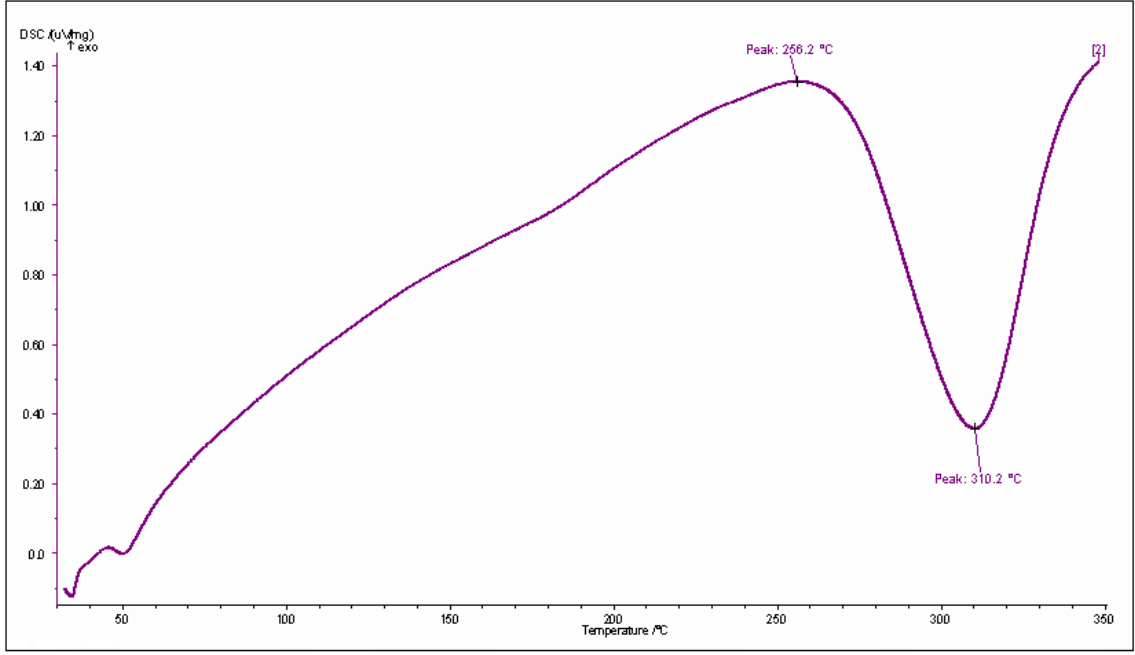


**Şekil 4.13.** PLGA-CS-Metformin HCl fiziksel karışımına ait DSC diyagramı.

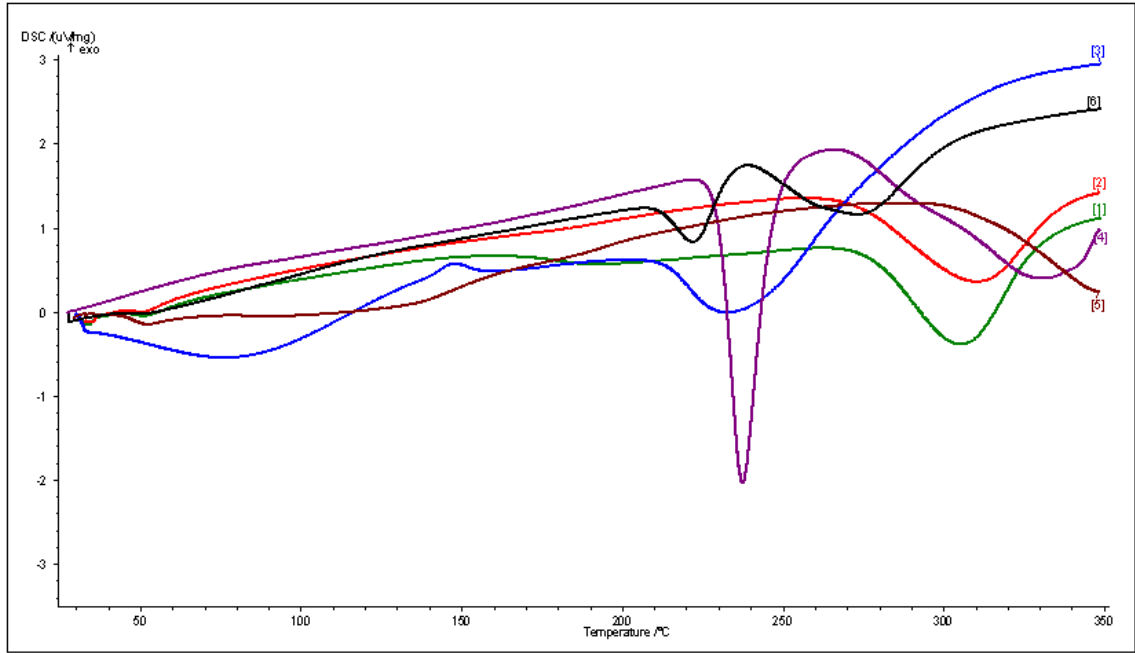


**Şekil 4.14.** C-2 Formülasyonuna ait DSC diyagramı.





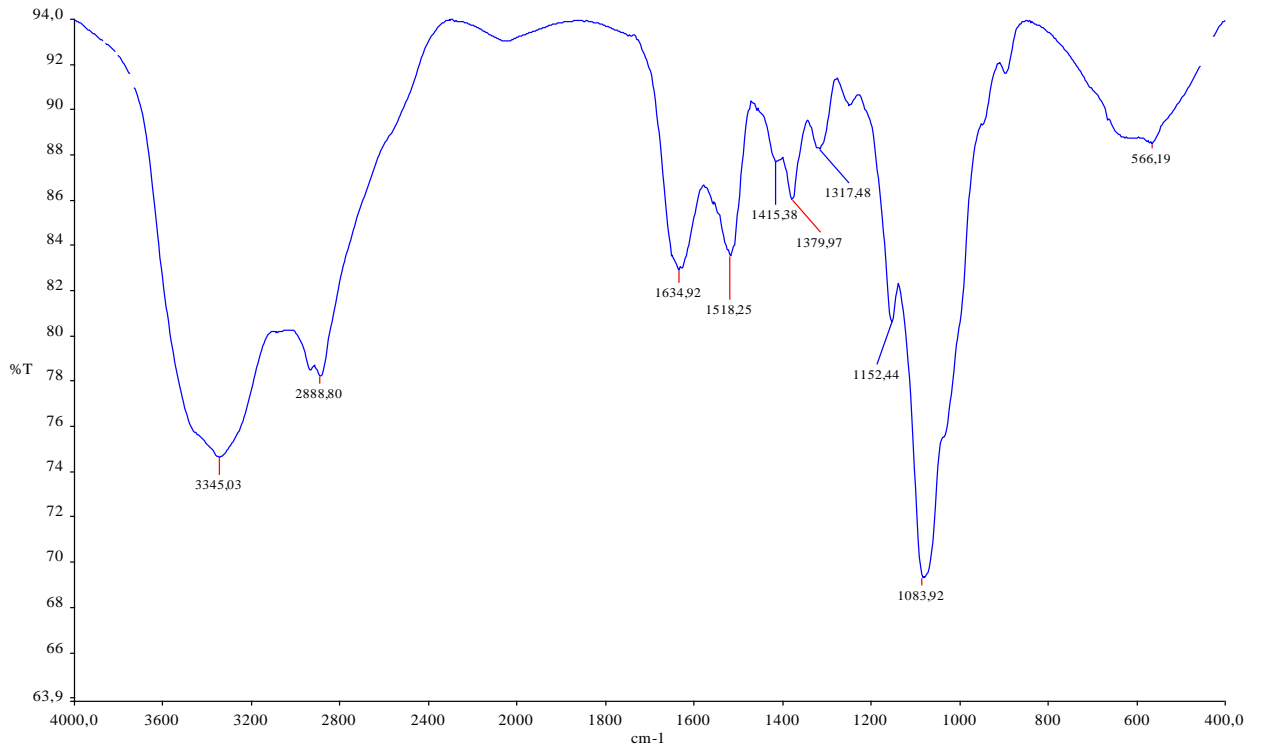
**Şekil 4.15.** C-3 Formülasyonuna ait DSC diyagramı.



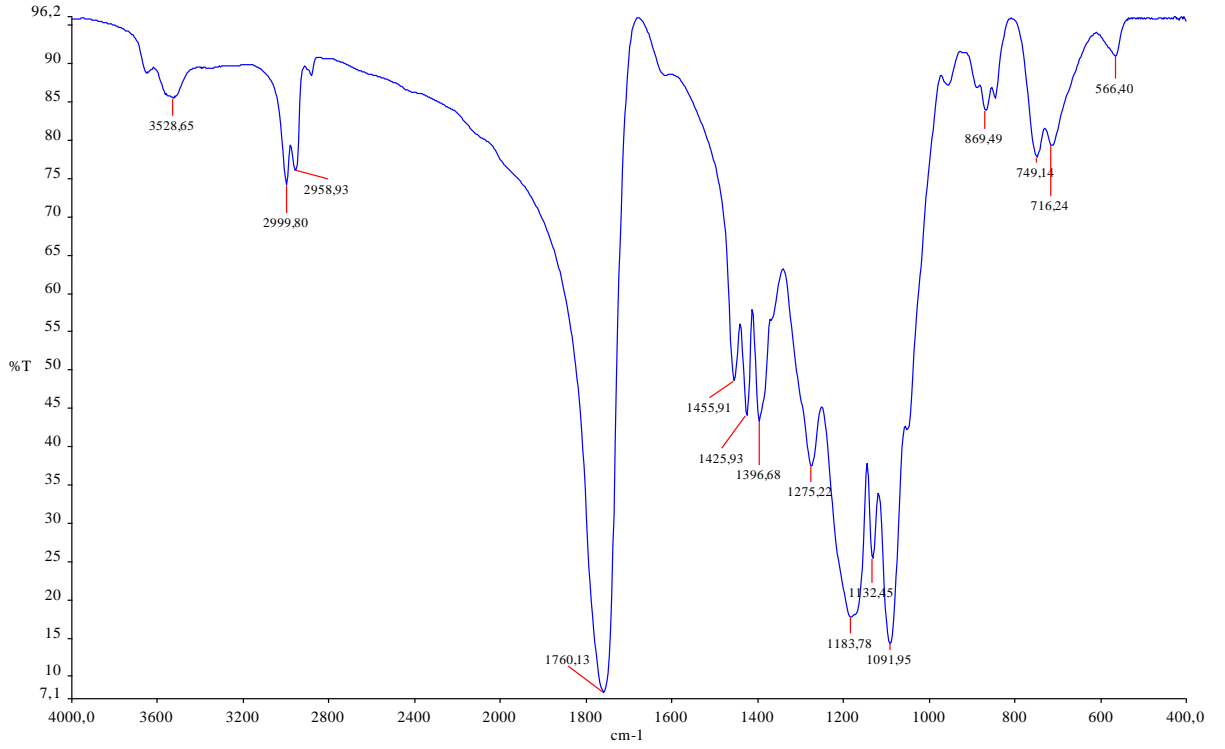
**Şekil 4.16.** Hazırlanan formülasyonların, etkin madde ve polimerlerin toplu DSC diyagramları [1]: C2 formülasyonu, [2]: C3 formülasyonu, [3]: CS, [4]: Metformin HCl, [5]: PLGA, [6]: PLGA-CS-Metformin HCl fiziksel karışımı.

#### 4.1.3.7. Etkin Madde, PLGA, CS, Etkin Madde-Polimerlerin Fiziksel Karışımı, Boş ve Etkin Madde Yüklü Formülasyonların FT-IR Spektrumları

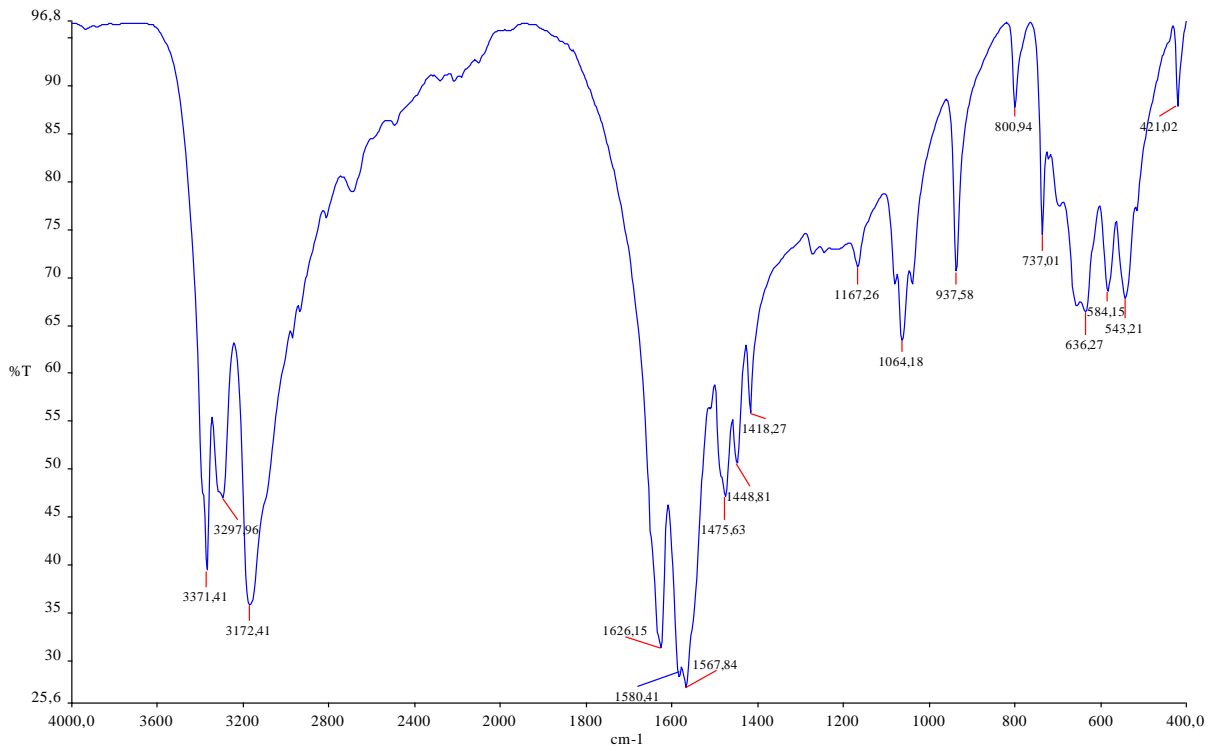
Polimer-etkin madde etkileşimlerinin belirlenebilmesi ve hazırlanan formülasyonlar içinde yer alan etkin madde varlığının tespit edilmesi amacıyla metformin HCl, PLGA, CS, PLGA-CS-Metformin HCl fiziksel karışımı, boş küre ve etkin madde yüklü-PLGA-CS formülasyonlarının FT-IR kullanılarak infrared spektrumları alınmıştır. Spektrumlar, Şekil 4.17, Şekil 4.18, Şekil 4.19, Şekil 4.20, Şekil 4.21, Şekil 4.22 ve Şekil 4.23’de gösterilmiştir.



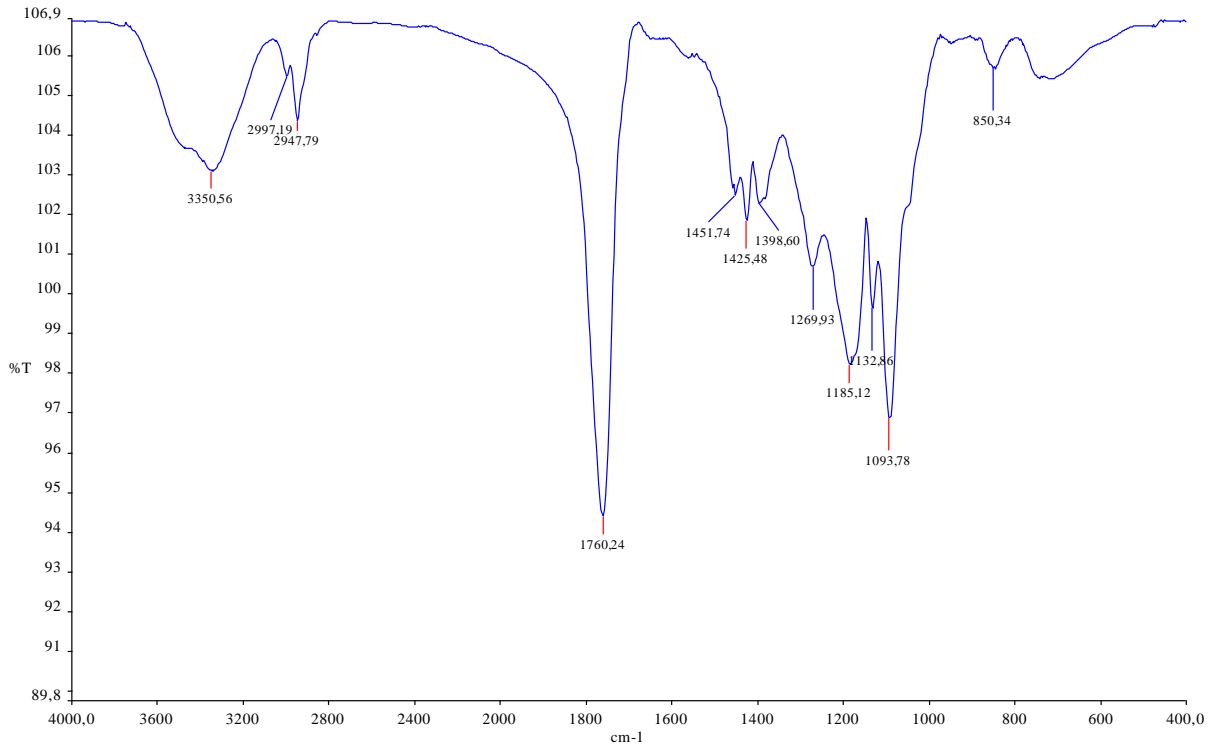
Şekil 4.17. CS'ye ait FT-IR spektrumu.



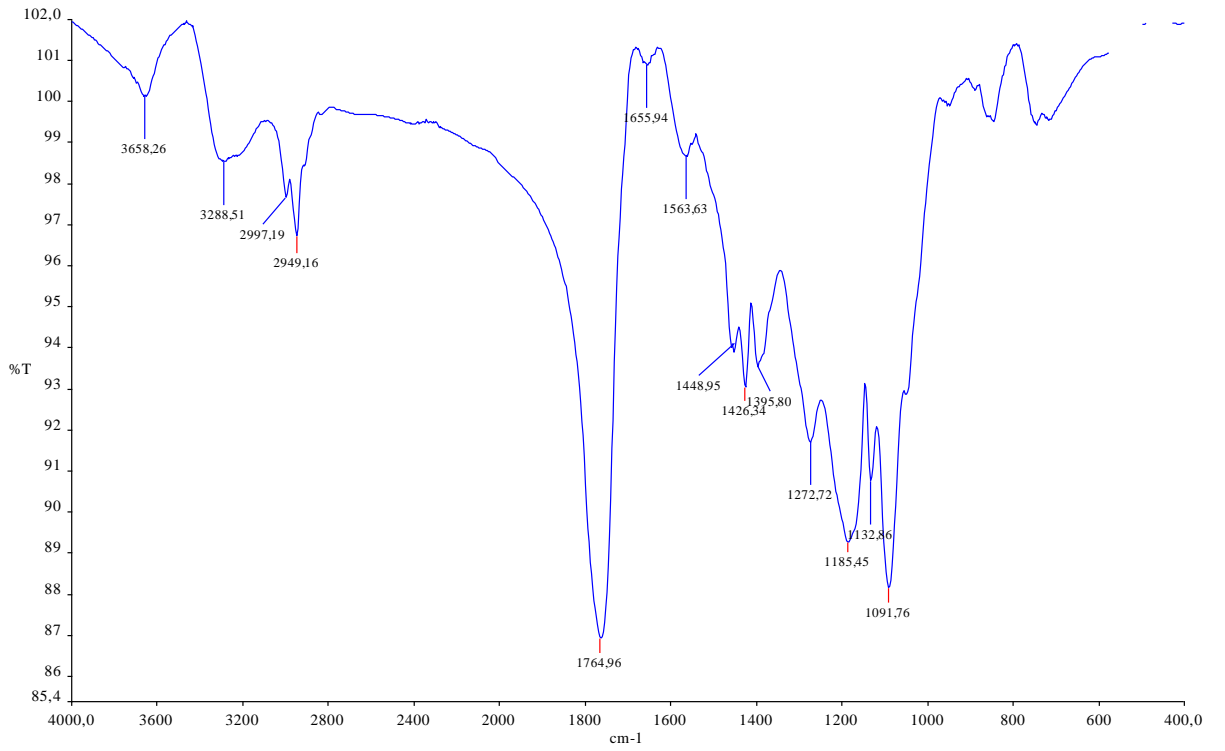
Şekil 4.18. PLGA'ya ait FT-IR spektrumu.



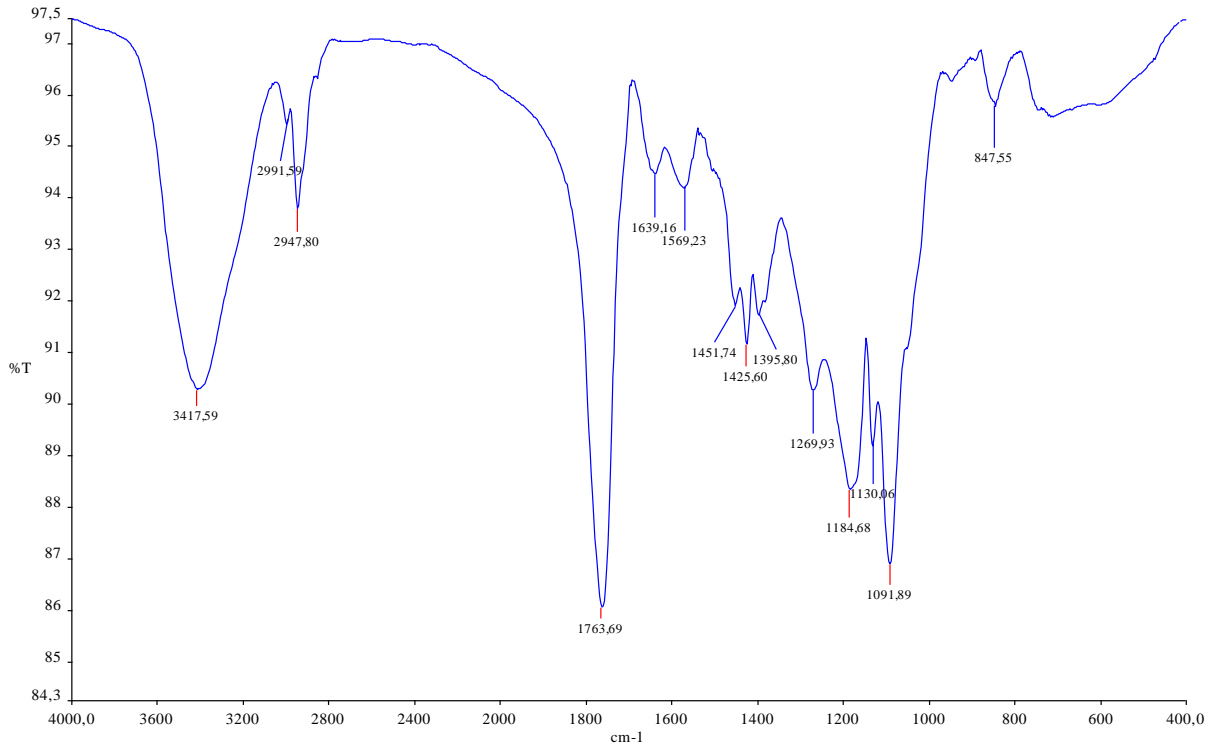
Şekil 4.19. Metformin HCl'e ait FT-IR spektrumu.



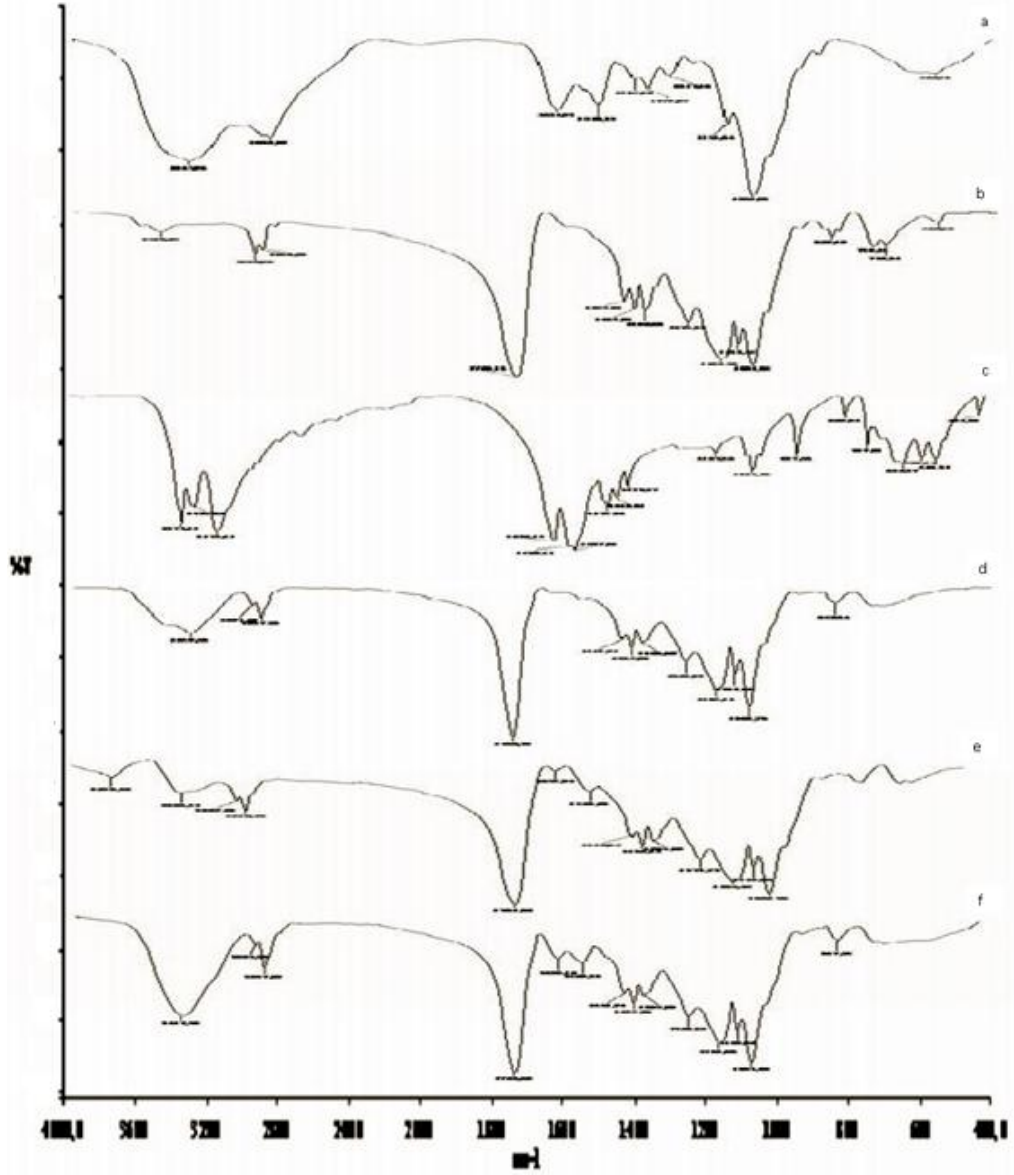
Şekil 4.20. C-1 Formülasyonuna ait FT-IR spektrumu.



Şekil 4.21. C-2 Formülasyonuna ait FT-IR spektrumu.



**Şekil 4.22.** C-3 Formülasyonuna ait FT-IR spektrumu.



**Şekil 4.23.** Hazırlanan formülasyonların, etkin madde ve polimerlerin toplu FT-IR spektrumları [a]: CS, [b]: PLGA, [c]: Metformin HCl, [d]: C-1 Formülasyonu, [e]: C2 formülasyonu, [f]: C3 Formülasyonu.

## 5. TARTIŞMA

Özellikle kronik hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçlar başta olmak üzere oral ilaç taşıyıcı sistemlerinin geliştirilmesi büyük öneme sahiptir. İlaçların oral yolla uygulanması kolay kullanıma uygun olması, hasta uyuncunda artış sağlaması vb. birçok avantaja sahiptir. Özellikle oral nanoboyutlu ilaç taşıyıcı sistemlerin, ilaç absorpsiyonunun iyileştirilmesinde ve oral biyoyararlanımın artışında etkili oldukları gösterilmiştir. Oral ilaç taşıyıcı sistemlerin diğer bir üstünlüğü de ilacın gastrointestinal sistem koşullarında gerçekleşebilecek parçalanma olaylarından (midedeki asit katalizli parçalanma, enzimatik parçalanma vb.) korunmasıdır. PLGA, biyoparçalanabilir, biyoyumlu, sentetik ve FDA onaylı (insanda kullanım için) bir polimer olması, düşük toksisite/düşük immünojenite göstermesi, uygun mekanik özelliklere ve öngürülebilir biyoparçalanma kinetiğine sahip olmasından dolayı nanopartiküler veya mikropartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında çok yoğun olarak kullanılmaktadır. Ancak, PLGA-ilaç taşıyıcı sistemleri, hafif negatif yüzey yüküne sahiptirler ve bu durum bu sistemlerin oral uygulanması sonrası mukus (% 95 oranında su içeren ve % 5'lik kısmı ise esas olarak negatif yüklü glikoproteinlerden oluşan mukoza üzerindeki viskoelastik koruyucu jel yapısıdır.) yapısında bulunan negatif yüklü gruplarla etkileşimini sınırlandırmakta ve sonuç olarak da pozitif yüklü taşıyıcı sistemlerle elde edilenden daha düşük bir biyoyararlanım elde edilmesine neden olmaktadır.<sup>99-101</sup> Bu nedenle, bu sistemlerin yüzey yüklerinin değiştirilmesi amacıyla birtakım çalışmalar yapılmıştır.<sup>99</sup>

<sup>102</sup> Bu çalışmalarda en çok kitosan polimeri, partiküllerin yüzey yükünün pozitif olması amacıyla kullanılmıştır. Kitosan, polikasyonik, biyoyumlu ve biyoparçalanabilir doğal bir polimerdir ve mukoadezif özelliklere sahiptir. Mukoadezif özellikleri oral ilaç taşıyıcı sistemler için önemli bir rol oynar; çünkü ilaç taşıyıcı sistemin absorpsiyon bölgesinde daha uzun süre kalmasını ve burada ilaç ve mukozal membranın daha yakın

temasını sağlar sonuç olarak artmış permeabilite ve düzelmiş bir oral biyoyararlanım elde edilir.<sup>99</sup> Biyoadezif nanopartiküler taşıyıcı sistemler kullanıldığında, biyoadezif polimerler, mukoza yüzeyiyle etkileşir ve yüzey özelliklerinde değişime neden olurlar. Bunun yanı sıra, taşıyıcı sistemin absorpsiyon bölgesindeki kalış ve mukoza yüzeyi ile temas süresinin artırılmasına bağlı olarak bu bölgede yüksek ilaç konsantrasyonu ve sonuç olarak da ilaç absorpsiyonunda artış sağlanabilmektedir.<sup>103</sup> Bu nedenle, intestinal epitel boyunca absorpsiyon artırıcı potansiyelinden dolayı kitosan polimeri üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır.<sup>99, 104-107</sup> Bu çalışmada, pozitif yüklü polimerik taşıyıcı sistemlerin hazırlanması için kitosan ve PLGA polimerleri seçilmiştir. Çalışmamızda, farklı gruplar tarafından rapor edilen polimerik taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında kullanılan benzer yöntemlerde bazı değişiklikler yapılarak polimerik taşıyıcı sistemler hazırlanmıştır.<sup>102, 108</sup> Üretim sırasında, organik faz olarak PLGA'nın asetondaki çözeltisi, sulu faz olarak da kitosan içeren PVA'nın % 3'lük sulu çözeltisi kullanılmıştır. Organik faz, su ile karıştırıldığında PLGA'nın çökmesi sonucu partiküller şekillenmiştir.<sup>102, 108</sup>

Bu çalışmada, PVA stabilizan olarak seçilmiştir. PVA molekülleri damlacık yüzeyine adsorbe olarak damlacıkların birbirine yapışmasını engellemekte ve bu şekilde partikül stabilitesini artırmaktadır.<sup>109</sup> Son çalışmalar, PVA'nın tekrarlayan yıkamalar sonrası bile ara yüzeyde kaldığı, burada polimer ile bağlantılı bir ağ yapısı oluşturduğu ve bu durumun partiküllerin stabilitesinin sağlanmasında önemli olduğu rapor edilmiştir.<sup>98, 110</sup>

Hazırlanan metformin HCl yüklü formülasyonların (C-2 ve C-3) yaklaşık küresel yapılarda olduğu SEM görüntülerinden tespit edilmiştir (Şekil 4.3). Hazırlanan bu taşıyıcı sistemlerin ortalama partikül büyüklüğü ve zeta potansiyel değer aralıkları sırasıyla,  $506.67 \pm 13.61$ - $516.33 \pm 16.85$  nm,  $+22.57 \pm 1.21$ - $+32.37 \pm 0.57$  mV olarak



bulunmuştur (Tablo 4.5). Polimerik ilaç taşıyıcı sistemlerin partikül büyüklükleri üzerinde birçok faktör etkilidir. Bunlar, kullanılan stabilizan ajanın tipi, konsantrasyonu, organik çözücünün tipi, organik faz/su fazı oranı, polimer konsantrasyonu, ortamların viskozitesi, ilaç polimer oranı vb. faktörlerdir.<sup>111, 112</sup> Khemani ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada,<sup>111</sup> stabilizan olarak farklı molekül ağırlığına sahip PVA kullanılmış ve PVA molekül ağırlığı arttıkça ortalama partikül boyutunun arttığı rapor edilmiştir (molekül ağırlığı 9000 Da ve % 1 konsantrasyon için 250 nm; 115000 Da ve % 1 PVA konsantrasyonu içinse 312 nm), yine aynı çalışmada aseton kullanıldığında 337 nm, etilasetat kullanıldığında 250 nm ve diklorometan kullanıldığı durumda ise 211 nm boyutlarında partiküller elde edilmiştir.

Bizim çalışmamızda, istatistiksel olarak partikül büyüklüğü açısından boş formülasyon (C-1) ile metformin HCl yüklü formülasyonlar arasında (C-2, C-3) ve etkin madde yüklü formülasyonlar (C-2, C-3) arasında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır ( $p>0.05$ ).

Kitosan varlığında oluşan partiküllerin pozitif yüzey yüküne sahip oldukları saptanmıştır (Tablo 4.5). Kitosan ve PLGA polimerleri kullanılarak partiküler sistemlerin hazırlandığı çalışmalarda, kitosan konsantrasyonuna bağlı olarak partiküllerin pozitif yüzey yükünün arttığı rapor edilmiştir.<sup>102, 108</sup> Wang ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada,<sup>108</sup> kaplama için kitosan ve bunun yanı sıra aljinat polimerleri kullanılmıştır. Kitosan kullanıldığında, hazırlanan PLGA-CS nanopartiküllerinin pozitif yüzey yüküne sahip olduğu ( $18.8\pm 3.2$  mV, % 0.2 a/h kitosan konsantrasyonunda), PLGA-aljinat nanopartiküllerinin ise negatif yük ( $-23.4\pm 1.2$  mV, % 0.2 a/h aljinat konsantrasyonunda) taşıdığı rapor edilmiştir. Kitosan konsantrasyonu % 1'e çıkarıldığında zeta potansiyel değerinin +30 mV civarına yükseldiği ve ilave

edilen kitosan konsantrasyonunun sulu ortamda artırılmasıyla kazanılan pozitif yük değerinin arttığı rapor edilmiştir.

Polimerik taşıyıcı sistemlere yüklenen etkin madde miktarının saptanması çalışmasında, öncelikle, etkin madde için miktar tayini yöntemi geliştirilmiş ve analitik yöntem validasyonu gerçekleştirilmiştir. Miktar tayini için UV-spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Doğrusallık çalışmalarında, PB pH 6.8 ortamı için 4-10 µg/mL ve HCl pH 1.2 ortamı için 3-8 µg/mL konsantrasyon aralıklarında çalışılmıştır (n=6). Her seri için elde edilen kalibrasyon doğrusuna ait eğimler karşılaştırılmıştır; karşılaştırma sonucunda PB pH 6.8 ve HCl pH 1.2 tamponları için sırasıyla % VK değerleri 1.458 ve 2.268 olarak bulunmuştur. Validasyon çalışmalarında, % VK değerinin  $\leq$  2 olması istenir.<sup>93</sup> Deney sonuçlarımız, bu değer ile uyumludur. Elde edilen kalibrasyon doğrularına ait  $r^2$  değerleri 0.9999 (PB ortamı için) ve 0.9997 (HCl ortamı için) olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Tablo 4.1).

Analitik yöntemin gün içi kesinlik ve doğruluğunun tespiti için kalibrasyon doğrusu aralığında yer alan 3 farklı konsantrasyonda (PB pH 6.8 için 4.5, 6.5, 9 µg/mL ve HCl pH 1.2 için 3.5, 5.5, 7.5 µg/mL), her bir konsantrasyondan 6'şar adet olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanmış ve aynı gün içinde arka arkaya ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Deneyler arası kesinlik ve doğruluğun tespiti için ise yine yukarıda belirtilen 3 farklı konsantrasyonda (farklı ortamlardaki), her bir konsantrasyondan 6'şar adet olacak şekilde hazırlanan standart çözeltilerin birbirini takip eden 3 gün içinde absorbansları ölçülmüştür. Gün içi doğruluk için % bağıl hata değerleri PB pH 6.8 ve HCl pH 1.2 ortamları için sırasıyla, -0.710--1.680 ve -0.572--1.061 aralığında hesaplanmıştır (Tablo 4.1, Tablo 4.2). Günler arası doğruluk içinse % bağıl hata değerleri aynı ortamda sırasıyla, -0.978--1.738 ve -0.718--0.097 aralığında bulunmuştur (Tablo 4.1, Tablo 4.2). Gün içi kesinlik için % VK değerleri, PB pH 6.8 ve

HCl pH 1.2 ortamları için sırasıyla, 1.246–1.585 ve 1.334–2.302 aralığında hesaplanmıştır (Tablo 4.1, Tablo 4.2). Günler arası kesinlik içinse % VK değerleri aynı ortamda sırasıyla, 1.254–1.490 ve 1.219–2.770 aralığında bulunmuştur (Tablo 4.1, Tablo 4.2). Bulunan değerler,  $\leq$  % 2.77 olduğundan sistemin kesinliği ve doğruluğu kanıtlanmıştır.<sup>93</sup> Stabilite çalışmasında, metformin HCl'ün deney süresince stabil olup olmadığının gösterilmesi için PB pH 6.8 ortamında 4.5, 6.5, 9  $\mu\text{g/mL}$  ve HCl pH 1.2 ortamında ise 3.5, 5.5, 7.5  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonlarında çözeltileri hazırlanmış, farklı sıcaklıklarda tutulan örneklerin 0., 24., 48. ve 72. saatlerde analizleri gerçekleştirilmiştir. % Kalan etkin madde miktarı hesaplanmış ve miktar tayini çalışmalarının gerçekleştirildiği oda sıcaklığında PB pH 6.8 ortamında 4.5  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonun 72. ve 6.5  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonun 48. saatinde hesaplanan % kalan etkin madde miktarları (sırasıyla, % 87 ve % 114) dışında diğer konsantrasyon ve saatler için hesaplanan değerler % 90-110 aralığındadır. HCl pH 1.2 ortamı içinde oda sıcaklığında hesaplanan değerler % 90-110 aralığında bulunmuştur (Tablo 4.3, Tablo 4.4). Validasyon çalışması sırasında her seferinde taze stokla çalışılmış ve ölçümler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Bu sonuçlar, validasyon çalışması süresince etkin maddenin söz konusu ortamlarda dayanıklı olduğunu göstermiştir.<sup>113</sup>

İlave olarak, iki farklı sıcaklıkta (+4 °C ve -20 °C) daha etkin madde stabilitesi değerlendirilmiştir. Bu stabilite çalışmaları sonucu hesaplanan % kalan etkin madde miktarları PB pH 6.8 ortamında düşük konsantrasyonlarda (4.5 ve 6.5  $\mu\text{g/mL}$ ) 48. ve 72. saatlerde % 90-110 aralığından sapmış ve stabilite problemi olduğu saptanmıştır. HCl pH 1.2 ortamında ise çalışılan tüm konsantrasyonlar (3.5, 5.5, 7.5  $\mu\text{g/mL}$ ) için % kalan etkin madde miktarları +4 °C'de % 87-103, -20 °C'de ise % 88-121 aralığındadır. +4 °C ve -20 °C'deki söz konusu stabilite problemlerinin ve % 90-110 aralığından sapmanın

her iki ortamda da düşük konsantrasyonlarda gerçekleştiği saptanmıştır (Tablo 4.3, Tablo 4.4).

C-2 ve C-3 Formülasyonları için yükleme etkinliği değerleri sırasıyla, %  $4.311 \pm 1.101$  ve %  $4.480 \pm 0.559$  ( $p > 0.05$ ) ve % yükleme kapasitesi değerleri ise  $0.799 \pm 0.444$  ve  $1.318 \pm 0.165$  olarak bulunmuştur. İlaç/polimer oranı 0.27'den 0.42'ye çıkarıldığında etkin madde yükleme kapasitesinde hafif bir artış olduğu saptanmıştır ( $p = 0.041$ ). Yükleme etkinliği her iki formülasyon için de düşüktür. Yayınladığımız diğer bir çalışmada, metformin HCl yüklü-Eudragit®RSPO ve Eudragit®RSPO-PLGA nanopartikülleri hazırlanmıştır.<sup>114</sup> Söz konusu çalışmada, PLGA varlığında yükleme etkinliğinin ~% 42'den ~% 17'ye düştüğü rapor edilmiştir. Bu azalmada, Eudragit®RSPO (150,000 Da) ve PLGA (34,000 Da) polimerlerinin ortalama molekül ağırlıkları arasındaki farkın etkili olduğu rapor edilmiştir.<sup>114</sup> Partiküler sistemlere ilaç yüklenmesi üzerinde polimer tipi, molekül ağırlığı, organik fazın viskozitesi gibi çeşitli faktörler etkilidir. Genellikle, yüksek molekül ağırlıklı polimerler kullanıldığında daha yüksek % yükleme etkinliği değerleri elde edilmektedir.<sup>115-118</sup>

Salım çalışmaları, HCl pH 1.2 (Asidik mide ortamını taklit etmek amacı ile kullanılmıştır.) ve PB pH 6.8 ortamlarında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, hazırlanan C-2 ve C-3 Formülasyonlarından HCl pH 1.2 ortamında 192. saatte sırasıyla, %  $97.62 \pm 1.209$  ve %  $96.17 \pm 0.724$ , PB pH 6.8 ortamında ise 144. saatte sırasıyla, %  $98.15 \pm 0.430$  ve %  $97.61 \pm 0.803$  kümülatif salım değerleri elde edilmiştir (Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9). C-2 ve C-3 formülasyonlarının gerek HCl pH 1.2 gerekse PB pH 6.8 ortamlarındaki kümülatif salım değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır ( $p > 0.05$ ). Hazırlanan sistemlerdeki, polimer-etkin madde matriksinin fiziksel özellikleri, PLGA polimerinin molekül ağırlığı, laktid/glikolid oranı, etkin madde konsantrasyonu, etkin madde tipi,

matriksin şekli ve büyüklüğü, ortam pH'sı vb. özellikler etkin maddenin taşıyıcı sistemden salınması üzerinde etkilidir. PLGA kompozisyonu, taşıyıcı sistemin hidrofilik özelliği, degradasyonu ve salım hızı üzerinde etkilidir.<sup>119</sup> Kopolimerde, PGA oranı arttıkça oluşan oligomer yüzdesi ve polimerdeki ağırlık kaybı artar. Takip eden kopolimerlerin degradasyon hızları şu şekilde sıralanabilir: PLGA (50:50)>PLGA (65:35)>PLGA (75:25)>PLGA(85:15).<sup>119</sup> Salım hızı üzerinde etkili diğer bir faktör ise PLGA'nın ortalama molekül ağırlığıdır. Yüksek molekül ağırlığına sahip PLGA genellikle daha yavaş degradasyon hızına sahiptir. Molekül ağırlığı doğrudan polimer zincir uzunluğuyla alakalıdır. Daha kısa zincirli PLGA polimerine göre uzun zincirli PLGA polimerinin degradasyon için daha fazla zamana gereksinimi vardır. Polimer-etkin madde matriks degradasyon mekanizması ve salım hızı etkin madde tipine bağlı olarak da değişkenlik gösterebilmektedir. Etkin maddenin taşıdığı gruplar (örneğin: -OH grubu yoğunluğu gibi), sudaki çözünürlüğünü belirleyen hidrofilik özelliği salım üzerinde etkili olabilmektedir.<sup>119</sup> Matriks sistemin şekli ve büyüklüğü açısından daha yüksek yüzey alanı daha hızlı bir degradasyona neden olur. Partikül büyüklüğü kontrolü ile daha doğru tahmin edilebilir ve tekrarlanabilir salım özelliklerinin elde edileceği, partikül büyüklüğünde azalmayla salım ortamındaki polimerik sistem içerisine daha yüksek hızda bir su girişi olacağı ve bundan dolayı da daha hızlı bir ilaç difüzyonunun gerçekleşeceği ifade edilmiştir.<sup>119, 120</sup> Yüzey alanı/hacim oranı yüksek olan PLGA-taşıyıcı sistemlerinden etkin madde salım hızı daha yüksektir. PLGA polimerinin degradasyon hızı, hem alkali hem de güçlü asidik ortamlarda artmaktadır. Hafif asidik veya nötral ortamlarda ise daha yavaş bir degradasyon gerçekleşir.<sup>119</sup>

PLGA taşıyıcı sistemlerinden etkin madde salımı iki fazlı bir salım profili vermektedir. İlk olarak ani bir salım görülmektedir. Taşıyıcı sistem yüzeyinde tutulan ve ortamla temas eden etkin madde bu fazda salınmaktadır. İkinci fazda ise, taşıyıcı

sistem içerisine hapsedilmiş etkin maddenin devamlı bir salımı görülür. Burada, sulu ortam sistem içerisine hareket eder ve polimer ester bağlarının hidrolizi gerçekleşir ve çözünür oligomer ve monomer yapıları oluşur.<sup>119</sup> Bizim çalışmamızda, her iki ortam içerisinde de ilk yarım saat içinde, C-2 ve C3 formülasyonlarından ~% 20 civarında etkin madde salımı gerçekleşmiş, daha sonra ise devamlı artan bir etkin madde salımı gözlenmiştir (Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9).

Termoanalizler (DSC, DTA gibi) polimer analizlerinde çok faydalıdır. Aynı zamanda, bu analizler, mikropartiküler ve nanopartiküler taşıyıcı sistemlerin hazırlanması sırasında etkin madde-polimer arasında bir etkileşimin olup olmadığını incelemek amacıyla da yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar.<sup>121-123</sup> Etkin madde-polimer etkileşimlerini görmek veya bunların termal özelliklerinde bir değişim olup olmadığını anlamak amacıyla saf metformin HCl'ün, PLGA'nın, kitosanın, metformin HCl-PLGA-kitosan fiziksel karışımının, C-2 ve C-3 formülasyonlarının DSC analizleri yapılmış ve bunlara ait DSC diyagramları elde edilmiştir (Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15 ve Şekil 4.16). Metformin HCl'ün DSC diyagramında (Şekil 4.12), 237.5 °C'de karakteristik, keskin bir endotermik pik görülmektedir. Metformin HCl ile ilgili yapılan çalışmalarda DSC diyagramlarında aynı şekilde 226-231 °C aralığında belirgin keskin bir pik saptandığı ifade edilmiştir.<sup>29,</sup><sup>124-126</sup> PLGA ve kitosan polimerlerine ait DSC diyagramları, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'de gösterilmiştir. PLGA'nın DSC diyagramında ise ~50 °C ve ~300 °C ( $T_{pik}:285.4$  °C) de iki pik görülmektedir (Şekil 4.11). İlk pik polimerin camsı geçiş sıcaklığını ( $T_g$ ) gösterirken ikinci pik polimerin dekompozisyon sıcaklığı ile ilgilidir. Polimerin amorf doğasından dolayı belirgin bir erime derecesi gözlenmemiştir. Bu durum, yapılan diğer çalışmalarla da uyumludur ve PLGA 50:50 için  $T_g$  42-50 °C aralığında değişmektedir.<sup>127-129</sup> PLGA ile ilgili yapılan bir çalışmada, DSC analizi gerçekleştirilmiş

ve PLGA'nın 250 °C'ye kadar termal stabilitesini koruduğu, yaklaşık 355 °C'de ise termal dekompozisyonunun gerçekleştiği rapor edilmiştir.<sup>130</sup> Mukerjee ve arkadaşları<sup>131</sup> ise PLGA'nın termal dekompozisyonu ile alakalı olarak 303 °C ve 360 °C'de olmak üzere iki pik elde ettiklerini rapor etmişlerdir.

Kitosan polimerinin DSC diyagramı incelendiğinde (Şekil 4.10), önemli olan ve literatürlerde karakteristik olarak gösterilen piklerden birisi 80-100 °C civarında (Tpik: 76.1 °C, Şekil 4.10) olan ve polimerin hidrofilik gruplarıyla ilişkili olan suyun kaybedilmesi sonucu oluşan endotermik piktir. Diğer pik ise, büyük bir olasılıkla polielektrolitlerin oksidasyon reaksiyonları ve protonlanmış karboksilik asit grupların kısmi dekarboksilasyonu ile ilişkili dehidratasyon ve depolimerizasyon reaksiyonlarının neden olduğu polielektrolit degradasyonunun sonucu oluşan ekzotermik piktir (280-300 °C).<sup>132-135</sup> Metformin HCl-PLGA-CS fiziksel karışımının DSC diyagramı incelendiğinde etkin maddeye ait karakteristik pik 222 °C'de görülmektedir. Ayrıca, diyagram üzerinde, 50 °C civarında PLGA'nın camısı geçiş sıcaklığı ile ilgili pik ve 300 °C civarında ise CS'nin dekompozisyonunu gösteren ekzotermik pik saptanmıştır (Şekil 4.13). C-2 ve C-3 formülasyonlarına ait DSC diyagramlarına (Şekil 4.14 ve Şekil 4.15) bakıldığında ise PLGA'nın camısı geçiş sıcaklığını gösteren ~50 °C deki pik ve 305.3 °C (C-2 formülasyonu) ve 310.2 °C'de (C-3 formülasyonu) belirgin endotermik pikler elde edilmiştir. Metformin HCl'ün polimerik matriks içerisinde moleküler düzeyde dağılmasının ve yükleme etkinliğinin düşük olmasının bir sonucu olarak metformin HCl'ün karakteristik piki ise her iki formülasyona ait DSC diyagramlarında görülmemektedir.<sup>124</sup>

Şekil 17'de verilen CS'e ait FT-IR spektrumu incelendiğinde, 3345.03 cm<sup>-1</sup>'de görülen pikin NH<sub>2</sub>, O-H gerilimi ve hidrojen bağlarından kaynaklandığı söylenebilir; çünkü, 3200-3550 cm<sup>-1</sup>'de hidrosil ve molekül içi hidrojen bağları ve 3300-3500 cm<sup>-1</sup>

<sup>1</sup>,de ise primer aminler pik vermektedir. 2888.80 cm<sup>-1</sup>,de C-H, 1634.92 cm<sup>-1</sup>,de CO, 1152.44 cm<sup>-1</sup>,de O-köprüsü, 1083.92 cm<sup>-1</sup> civarında ise C-O-C simetrik gerilimlerine ait pikler ve sekonder amidler için karakteristik frekanslarda NHCO'nun kompleks titreşimlerinden dolayı 1379.97 cm<sup>-1</sup>,de pik gözlenmiştir.<sup>136-138</sup> Saf PLGA'ya ait FT-IR spektrumunda (Şekil 4.18), -OH gerilimi 3528.65 cm<sup>-1</sup>,de, -CH, -CH<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub> gerilimleri 2999.80 cm<sup>-1</sup> ve 2958.93 cm<sup>-1</sup>,de, karbonil -C=O gerilimi 1760.13 cm<sup>-1</sup>,de, CO gerilimi 1091.95 cm<sup>-1</sup>-1275.22 cm<sup>-1</sup>aralığında pikler görülmektedir. 1425.93 cm<sup>-1</sup>,deki pik ise, PLGA'nın glikolik asit yapısındaki -OCH<sub>2</sub> deki -C-H eğilmesine karşılık gelmektedir. 870-710 cm<sup>-1</sup>,de ise -C-H düzlem dışı eğilmelerden kaynaklanan pikler görülmektedir.<sup>123, 139, 140</sup> Metformin HCl'ün FT-IR spektrumu, 3371.41 cm<sup>-1</sup>,de N-H asimetrik gerilme, 3297.96 cm<sup>-1</sup> ve -3172.41 cm<sup>-1</sup>,de N-H simetrik gerilme, 1626.15 cm<sup>-1</sup> ve 1580.41 cm<sup>-1</sup>,de C=N gerilme, 1567.84 cm<sup>-1</sup>,de -N-H eğilme (düzlem içi), 1475.63 cm<sup>-1</sup>, 1448.81 cm<sup>-1</sup>, 1418.27 cm<sup>-1</sup>,de C-H asimetrik eğilme (-CH<sub>3</sub>), 1167.26 cm<sup>-1</sup>, 1064.18 cm<sup>-1</sup>,de, C-N gerilme (alkil), 937.58 cm<sup>-1</sup>, 737.01 cm<sup>-1</sup> N-H sallanma, 584.15, 543,21, 421.02 cm<sup>-1</sup>,de C-N-C eğilme ve 636.27 cm<sup>-1</sup>,de NH<sub>2</sub> bükülmelerinden ileri gelen pikler görülmektedir.<sup>141, 142</sup> Şekil 4.23'de verilen FT-IR spektrumu C-1 formülasyonuna ait pikleri göstermektedir. Bu spektrumda baskın olan PLGA'ya ait piklerdir. Ancak, PLGA'ya ait 3528.65 cm<sup>-1</sup>,deki ve 794-566 cm<sup>-1</sup> aralığındaki pikler C-1 formülasyonunda görülmemektedir. CS Spektrumundaki pike benzer şekilde 3350.56 cm<sup>-1</sup>,de bir pik görülmektedir. C-2 ve C-3 formülasyonlarının FT-IR spektrumlarında (Şekil 4.21 ve Şekil 4.22) ise C-1 Formülasyonunun (boş polimerik taşıyıcı sistem) FT-IR spektrumunda görünmeyen ve metformin HCl spektrumunda görülen piklere benzer pikler (C-2 pektrumunda: 3288 cm<sup>-1</sup>, 1655 cm<sup>-1</sup>, 1563 cm<sup>-1</sup>,de görülen pikler, C-3 spektrumunda: 3417 cm<sup>-1</sup>, 1639 cm<sup>-1</sup>, 1569 cm<sup>-1</sup>,deki pikler)



görülmekte ve polimerik taşıyıcı sisteme metformin HCl'ün yüklendiği sonucuna varılmaktadır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- ✓ Söz konusu çalışmada; metformin HCl-yüklü polimerik taşıyıcı sistemler, PLGA ve kitosan polimerleri kullanılarak başarıyla hazırlanmış ve *in vitro* olarak karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.
- ✓ Kitosan varlığında, pozitif zeta potansiyel değerlerine sahip, nanoboyutta, yaklaşık küresel şekilli, uygun salım özelliklerine sahip polimerik taşıyıcı sistemler elde edilmiştir.
- ✓ Metformin HCl miktar tayini için UV-spektrofotometrik yöntem geliştirilmiş ve analitik yöntem validasyonu gerçekleştirilmiştir.
- ✓ Metformin HCl yükleme etkinliğinin her iki formülasyonda da ~% 4 civarında olduğu bulunmuştur.
- ✓ FT-IR, DSC analizleri kullanılarak etkin maddenin polimerik taşıyıcı sisteme yüklendiği saptanmıştır.
- ✓ Bundan sonra gerçekleştirilmesi planlanan devam çalışmalarında, yükleme etkinliğinin artırılması ve bu sistemlerin *in vivo* etkinliğinin incelenmesi planlanmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Bastaki S. Diabetes mellitus and its treatment. *International Journal of Diabetes and Metabolism*, 2005, 13: 111-134.
2. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2009, 32 (Suppl 1): 62-67.
3. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2007. *Diabetes Care*, 2007, 30: 4-41.
4. Salman S, Salman F, Gedik S, Baştar İ, Yılmaz Y, Çiftçi S, Karşıdağ K, Dinççağ N, Satman İ, Yılmaz M. Diyabet ve bozulmuş glukoz metabolizması tanısında Dünya Sağlık Örgütü ve Amerikan Diyabet Birliği tanı kriterlerinin karşılaştırılması. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri*, 2001, 21: 63-68.
5. Özdoğan E. Tip 2 Diyabet Hastalarında Kan Lipid Düzeylerinin hba1c ve Obezite ile İlişkisi. İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Aile Hekimliği Koordinatörlüğü. Uzmanlık tezi, İstanbul: TC. Sağlık Bakanlığı, 2007.
6. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Türkiye diyabet önleme ve kontrol programı, eylem planı (2011-2014). <http://www.saglik.gov.tr/tr/dosya/1-71375/h/turkiye-diyabet-onleme-ve-kontrol-programi.pdf>. 26 Eylül 2011.
7. Murakami H, Yasui H, Yoshikawa Y. Pharmacological and pharmacokinetic studies of anti-diabetic Tropolonato-Zn (II) complexes with Zn (S (2) O (2)) coordination mode. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2012, 60: 1096-1104.
8. Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus—present and future perspectives. *Nature Reviews Endocrinology*, 2011, 8: 228-236.

9. Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, Bastar I, Tütüncü Y, Sargin M, Dinççag N. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey. *Diabetes Care*, 2002, 25: 1551-1556.
10. Satman İ, TURDEP-II Çalışma Grubu. Türkiye diyabet prevalans çalışmaları TURDEP-I ve TURDEP-II. 47. Ulusal Diyabet Kongresi, Antalya, 2011.
11. American Diabetes Association. Screening for type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2004, 27: 11-14.
12. Zimmet P. Globalization, coca-colonization and the chronic disease epidemic: can the doomsday scenario be averted? *Journal of Internal Medicine*, 2000, 247: 301- 310.
13. Chan JL, Abrahamson MJ. Pharmacological management of type 2 diabetes mellitus: rationale for rational use of insulin. *Mayo Clinic Proceedings*, 2003, 78: 459-467.
14. Ayvaz G, Kan E. Tip 2 diabetes mellitus tedavisinde oral antidiyabetik ilaçlar tip 2 diabetes mellitus tedavisi. *Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi*, 2010, 23-24: 8-13.
15. Tsang MW. The management of type 2 diabetic patients with hypoglycemic agents. *ISRN Endocrinology*, 2012.
16. EMA/CHMP/259852/2012. Committee for medicinal products for human use (CHMP)  
[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Summary\\_of\\_opinion\\_  
\\_Initial\\_authorisation/human/002322/WC500125684.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion/_Initial_authorisation/human/002322/WC500125684.pdf). 19 April 2012.
17. Luna B, Feinglos MN. Oral agents in the management of type 2 diabetes mellitus. *American Family Physician*, 2001, 63: 1747-1757.
18. Ahmann AJ, Riddle MC. Current oral agents for type 2 diabetes: Many options, but which to choose when? *Postgraduate Medicine*, 2002, 111: 32-46.

19. Zimmerman BR. Sulfonylureas. *Endocrinology & Metabolism Clinics of North America*, 1997, 26: 511-522.
20. Holstein A, Plaschke A, Egberts EH. Lower incidence of severe hypoglycaemia in patients with type 2 diabetes treated with glimepiride versus glibenclamide. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 2001, 17: 467-473.
21. Gerich J. Drug therapy: oral hypoglycemic agents. *The New England Journal of Medicine*, 1989, 321: 1231-1245.
22. Kristensen JS, Frandsen KB, Bayer T, Müller PG. Compared with repaglinide, sulfonylurea treatment in type 2 diabetes is associated with a 2.5 fold increase in symptomatic hypoglycemia with blood glucose levels < 45 mg/dL. *Diabetes Research and Clinical Practide*, 2000, 49(Supplement1): A131-A131.
23. Blickle JF. Meglitinide analogues: a review of clinical data focused on recent trials. *Diabetes and Metabolism*, 2006, 32: 113-120.
24. Atmaca MH, Ecemiş GC. Oral antidiyabetik ajanlar. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 2012, 29: 23-29.
25. Stumvoll M, Nurjhan N, Perriello G, Dailey G, Gerich JE. Metabolic effects of metformin in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, 1995, 333: 550-554.
26. Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, Heine RJ, Holman RR, Sherwin R, Zinman B. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy. *Diabetes Care*, 2006, 29: 1963-1972.
27. Bloomgarden ZT, Futterweit W, Poretsky L. Use of insulin-sensitizing agents in patients with polycystic ovary syndrome. *Endocrine Practice*, 2001, 7: 279-286.
28. Sweetman S (ed). *Martindale: The complete drug reference*, 36<sup>th</sup> ed. London, Pharmaceutical Press, 2009: 453-454.

- 29.** Corti G, Cirri M, Maestrelli F, Mennini N, Mura P. Sustained-release matrix tablets of metformin hydrochloride in combination with triacetyl- $\beta$ -cyclodextrin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2008, 68: 303-309.
- 30.** Ben-Haroush A, Yogev Y, Fisch B. Insulin resistance and metformin in polycystic ovary syndrome. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2004, 115: 125-133.
- 31.** Baran SY. Polikistik Over Sendromlu İnfertil Hastalarda Ovülasyon İndüksiyonunda Metformin ve Klomifen Sitratin Karşılaştırılması. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği. Uzmanlık tezi, İstanbul: T.C. Sağlık Bakanlığı, 2009.
- 32.** Marathe PH, Wen Y, Norton J, Greene DS, Barbhaiya RH, Wilding IR. Effect of altered gastric emptying and gastrointestinal motility on metformin absorption. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2001, 50: 325-332.
- 33.** Yki-Järvinen H. Thiazolidinediones. *New England Journal of Medicine*, 2004, 351: 1106-1118.
- 34.** Goldberg R, Einhorn D, Lucas C, Rendell M, Damsbo P, Huang W, Strange P, Brodows R. A randomized placebo-controlled trial of repaglinide in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 1998, 21: 1897-1903.
- 35.** Khan MA, Peter JVS, Xue JL. A prospective, randomized comparison of the metabolic effects of pioglitazone or rosiglitazone in patients with type 2 diabetes who were previously treated with troglitazone. *Diabetes Care*, 2002, 25: 708-711.
- 36.** Bohannon NJ. Treating dual defects in diabetes: insulin resistance and insulin secretion. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 2002, 59 (Suppl 9): 9-13.
- 37.** Rabuş ŞA. Diyabetik Hastalarda Tedavi Profilinin Belirlenmesi ve Topikal İnsülin Uygulamasının Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Sağlık Bilimleri

Enstitüsü, Klinik Eczacılık Bilim Dalı Farmakoloji Anabilim Dalı. Doktora tezi, İstanbul: Marmara Üniversitesi, 2007.

**38.** Nesto RW, Bell D, Bonow RO, Fonseca V. Thiazolidinedione use, fluid retention, and congestive heart failure: a consensus statement from the American Heart Association and American Diabetes Association. *Circulation*, 2003, 108: 2941-2948.

**39.** Ükinç K, Gürlek A, Usman A. Yeni antidiyabetik ilaçlar. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 2007, 38: 113-120.

**40.** Norris S, Lee N, Thakurta S, Chan B. Exenatide efficacy and safety: a systematic review. *Diabetic Medicine*, 2009, 26: 837-846.

**41.** Raschi E, Piccinni C, Poluzzi E, Marchesini G, De Ponti F. The association of pancreatitis with antidiabetic drug use: gaining insight through the FDA pharmacovigilance database. *Acta Diabetologica*, 2011: 1-9.

**42.** Kaş HS. İlaç Taşıyıcı Partiküler Sistemler. İçinde: Gürsoy AZ (editör). *Kontrollü Salım Sistemleri*, 2. Baskı. İstanbul, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği, 2002: 65-102.

**43.** Çapan Y. Kontrollü Salım Sistemlerinin Salım Mekanizmaları-Kullanılış Yolları. İçinde: Gürsoy AZ (editör). *Kontrollü Salım Sistemleri*, 2. Baskı. İstanbul, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını, 2002: 41-64.

**44.** Chien YW. Concepts and system design for rate-controlled drug delivery. In: Chien YW (ed). *Novel Drug Delivery Systems*, 2<sup>nd</sup> ed. New York, Marcel Dekker, 1992: 1-42.

**45.** Ravi Kumar MN. Nano and microparticles as controlled drug delivery devices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2000, 3: 234-258.

**46.** Kaş HS, Eldem T. Kontrollü Salım Sistemlerinin Hedeflendirilmesi. İçinde: Gürsoy AZ (editör). *Kontrollü Salım Sistemleri*, 2. Baskı. İstanbul, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını, 2002: 299-316.

47. Gürkan H, Kaş HS. Mikroküreler I. Özellikleri, hazırlama yöntemleri ve uygulama alanları. *Doğa Türk Tıp ve Eczacılık Dergisi*, 1986, 10: 254-265.
48. Gürkan H, Kaş HS. Mikroküreler I. Hedeflendirilmeleri ve etken maddeyi *in vitro* salma özellikleri. *Doğa Türk Tıp ve Eczacılık Dergisi*, 1986, 10: 267-280.
49. Widder K, Flouret G, Senyei A. Magnetic microspheres: synthesis of a novel parenteral drug carrier. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1979, 68: 79-82.
50. Benoit JP, Marchais H, Rolland H, Velde VV. Biodegradable microspheres: advances in production technology. In: Benita S (ed). *Microencapsulation; Methods and Industrial Application*, 2<sup>nd</sup> ed. New York-Basel-Hong Kong, Marcel Dekker, 1996: 35-72.
51. Jain RA. The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly (lactide-co-glycolide)(PLGA) devices. *Biomaterials*, 2000, 21: 2475-2490.
52. Couvreur P, Blanco-Prieto MJ, Puisieux F, Roques B, Fattal E. Multiple emulsion technology for the design of microspheres containing peptides and oligopeptides. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1997, 28: 85-96.
53. O'Donnell PB, McGinity JW. Preparation of microspheres by the solvent evaporation technique. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1997, 28: 25-42.
54. Watts PJ, Davies MC, Melia CD. Microencapsulation using emulsification/solvent evaporation: an overview of techniques and applications. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1990, 7: 235-259.
55. Ochekepe NA, Olorunfemi PO, Ngwuluka NC. Nanotechnology and drug delivery part 1: background and applications. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2009, 8: 265-274.



- 56.** Couvreur P, Kante B, Grislain L, Roland M, Speiser P. Toxicity of polyalkylcyanoacrylate nanoparticles II: Doxorubicin-loaded nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1982, 71: 790-792.
- 57.** Couvreur P, Couarraze G, Devissaguet J, Puisieux F. Nanoparticles: Preparation and characterization. In: Benita S (ed). *Microencapsulation, Methods and Industrial Applications*, 2<sup>nd</sup> ed. New York- Basel- Hong Kong, Marcel Dekker, 1996: 183-211
- 58.** Gutierro I, Hernandez R, Igartua M, Gascon A, Pedraz J. Size dependent immune response after subcutaneous, oral and intranasal administration of BSA loaded nanospheres. *Vaccine*, 2002, 21: 67-77.
- 59.** Alonso M. Nanoparticulate drug carrier technology. In: Cohen S, Bernstein H (eds). *Microparticulate Systems for The Delivery of Proteins and Vaccines*. New York, Marcel Dekker, 1996: 203-241.
- 60.** Julienne M, Alonso M, Gomez Amoza J, Benoit J. Preparation of poly (D, L-lactide/glycolide) nanoparticles of controlled particle size distribution: application of experimental designs. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1992, 18: 1063-1077.
- 61.** Gref R, Minamitake Y, Peracchia M, Domb A, Trubetskoy V, Torchilin V, Langer R. Poly(ethylene glycol)-coated nanospheres: potential carriers for intravenous drug administration. *Pharmaceutical Biotechnology*, 1997, 10: 167-198.
- 62.** Vila A, Sanchez A, Tobio M, Calvo P, Alonso M. Design of biodegradable particles for protein delivery. *Journal of Controlled Release*, 2002, 78: 15-24.
- 63.** Suh H, Jeong B, Rathi R, Kim SW. Regulation of smooth muscle cell proliferation using paclitaxel-loaded poly(ethylene oxide)-poly(lactide/glycolide) nanospheres. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1998, 42: 331-338.

- 64.** Calvo P, Gouritin B, Chacun H, Desmaële D, d'Angelo J, Noel JP, Georgin D, Fattal E, Andreux JP, Couvreur P. Long-circulating PEGylated polycyanoacrylate nanoparticles as new drug carrier for brain delivery. *Pharmaceutical Research*, 2001, 18: 1157-1166.
- 65.** Pinto Reis C, Neufeld RJ, Ribeiro AJ, Veiga F. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2006, 2: 8-21.
- 66.** Vauthier C, Bouchemal K. Methods for the preparation and manufacture of polymeric nanoparticles. *Pharmaceutical Research*, 2009, 26: 1025-1058.
- 67.** Schubert S, Delaney Jr JT, Schubert US. Nanoprecipitation and nanoformulation of polymers: from history to powerful possibilities beyond poly(lactic acid). *Soft Matter*, 2011, 7: 1581-1588.
- 68.** Brannon-Peppas L, Peppas N. Kontrollü salım sistemlerinde kullanılan polimerler. İçinde: Gürsoy AZ (editör). *Kontrollü Salım Sistemleri*, 2. Baskı. İstanbul, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını, 2002: 21-40.
- 69.** Tunçay M, Çalış S. İlaç taşıyıcı sistemlerde kullanılan biyoparçalanabilir sentetik ve doğal polimerler. *FABAD Journal Pharmaceutical Sciences*, 1999, 24: 109-123.
- 70.** Pillai O, Panchagnula R. Polymers in drug delivery. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2001, 5: 447-451.
- 71.** Blanco Prieto MJ, Delie F, Fattal E, Tartar A, Puisieux F, Gulik A, Couvreur P. Characterization of V3 BRU peptide-loaded small PLGA microspheres prepared by a (W<sub>1</sub>/O)W<sub>2</sub> emulsion solvent evaporation method. *International Journal of Pharmaceutics*, 1994, 111: 137-145.

- 72.** Roskos K, Maskiewicz R. Degradable controlled release systems useful for protein delivery. In: Sanders LM, Hendren RW (eds). *Protein Delivery, Physical Systems*. New York and London, Plenum Pres, 1997: 45-83.
- 73.** Fitzgerald JF, Corrigan OI. Mechanisms governing drug release from poly- $\alpha$ -hydroxy aliphatic esters. In: El-Nokaly MA, Piatt DM, Charpentier BA (eds). *Polymeric Delivery Systems, Properties and Applications*. Washington DC, American Chemical Society, 1993: 311-325.
- 74.** Okada H, Toguchi H. Biodegradable microspheres in drug delivery. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1995, 12: 1-99.
- 75.** Erden N, Çelebi N. Biyolojik olarak parçalanabilen polimer sistemlerin peptid ve proteinlere uygulanması: Sürekli etki sağlayan laktid/glikolid mikroküreleri. *FABAD Journal Pharmaceutical Sciences*, 1993, 18: 161-171.
- 76.** De Luca PP, Mehta RC, Hausberger AG, Thanoo BC. Biodegradable polyesters for drug and polypeptide delivery. In: El-Nokaly MA, Piatt DM, Charpentier BA (eds). *Polimeric Delivery Systems*. Washington DC, American Chemical Society, 1993: 77-95.
- 77.** BME 379/385 CHE 379.  
<http://www.bme.utexas.edu/faculty/schmidt/Courses/BME379/Notes-Biomaterials-I.pdf>. Biomaterials-I. 12 Eylül 2011.
- 78.** Anderson JM, Shive MS. Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1997, 28: 5-24.
- 79.** Lactide/glycolide copolymers: Review on toxicity, biocompatibility and clinical application. <http://www.ghimas.it/dentale/documenti/inglese/Lactide-glycolide.PDF>. Lactide/glycolide copolymers. 15 Haziran 2011.
- 80.** Kitchell JP, Wise DL. [32] Poly (lactic/glycolic acid) biodegradable drug—polymer matrix systems. *Methods in Enzymology*, 1985, 112: 436-448.

- 81.** Demir A, Seventekin N. Kitin, kitosan ve genel kullanım alanları. *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 2009, 3: 92-103.
- 82.** Duman S, Şenel S. Kitosan ve veteriner alandaki uygulamaları. *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 2004, 10: 62-72.
- 83.** Berscht PC, Nies B, Liebendörfer A, Kreuter J. Incorporation of basic fibroblast growth factor into methylpyrrolidinone chitosan fleeces and determination of the *in vitro* release characteristics. *Biomaterials*, 1994, 15: 593-600.
- 84.** Lehr CM, Bouwstra JA, Schacht EH, Junginger HE. *In vitro* evaluation of mucoadhesive properties of chitosan and some other natural polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 1992, 78: 43-48.
- 85.** Lueßen HL, Lehr CM, Rentel CO, Noach A, de Boer A, Verhoef J, Junginger H. Bioadhesive polymers for the peroral delivery of peptide drugs. *Journal of Controlled Release*, 1994, 29: 329-338.
- 86.** Illum L, Farraj NF, Davis SS. Chitosan as a novel nasal delivery system for peptide drugs. *Pharmaceutical Research*, 1994, 11: 1186-1189.
- 87.** Imai T, Shiraishi S, Saitô H, Otagiri M. Interaction of indomethacin with low molecular weight chitosan, and improvements of some pharmaceutical properties of indomethacin by low molecular weight chitosans. *International Journal of Pharmaceutics*, 1991, 67: 11-20.
- 88.** Miyazaki S, Ishii K, Nadai T. The use of chitin and chitosan as drug carriers. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1981, 29: 3067-9.
- 89.** Sawayanagi Y, Nambu N, Nagai T. Enhancement of dissolution properties of prednisolone from ground mixtures with chitin or chitosan. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1983, 31: 2507-2509.

- 90.** Gallo JM, Hassan EE. Receptor-mediated magnetic carriers: basis for targeting. *Pharmaceutical Research*, 1988, 5: 300-304.
- 91.** Hassan EE, Parish RC, Gallo JM. Optimized formulation of magnetic chitosan microspheres containing the anticancer agent, oxantrazole. *Pharmaceutical Research*, 1992, 9: 390-397.
- 92.** The United States Pharmacopeial Convention, *U.S. Pharmacopeia: The standart of quality*, USP32/NF 27<sup>th</sup> ed. Maryland, United Book Press, 2008: 861.
- 93.** Shabir GA. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis: Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization. *Journal of Chromatography A*, 2003, 987: 57-66.
- 94.** Van Zoonen P, Hoogerbrugge R, Gort SM, van de Wiel HJ, van't Klooster HA. Some practical examples of method validation in the analytical laboratory. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 1999, 18: 584-593.
- 95.** Tomiyama N, Tsuji H, Watanabe M, Takeda M, Harada T, Kobayashi H. High-performance liquid chromatographic method for determination of DDT and its degradation products in rat plasma, liver and brain: validation and application to a pharmacokinetic study. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 2000, 748: 361-368.
- 96.** Lambropoulos J, Spanos GA, Lazaridis NV, Ingallinera TS, Rodriguez VK. Development and validation of an HPLC assay for fentanyl and related substances in fentanyl citrate injection, USP. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 1999, 20: 705-716.

- 97.** Ertaş ÖS, Kayalı A. Analitik yöntem geçerliliğine genel bir bakış. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 2005, 34: 41-57.
- 98.** Ravi Kumar M, Bakowsky U, Lehr C. Preparation and characterization of cationic PLGA nanospheres as DNA carriers. *Biomaterials*, 2004, 25: 1771-1777.
- 99.** Zhang X, Sun M, Zheng A, Cao D, Bi Y, Sun J. Preparation and characterization of insulin-loaded bioadhesive PLGA nanoparticles for oral administration. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2012, 45: 632-638.
- 100.** Muthu MS, Rawat MK, Mishra A, Singh S. PLGA nanoparticle formulations of risperidone: preparation and neuropharmacological evaluation. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2009, 5: 323-333.
- 101.** Song X, Zhao Y, Hou S, Xu F, Zhao R, He J, Cai Z, Li Y, Chen Q. Dual agents loaded PLGA nanoparticles: Systematic study of particle size and drug entrapment efficiency. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2008, 69: 445-453.
- 102.** Parveen S, Sahoo SK. Long circulating chitosan/PEG blended PLGA nanoparticle for tumor drug delivery. *European Journal of Pharmacology*, 2011, 670: 372-83.
- 103.** Garcia-Fuentes M, Prego C, Torres D, Alonso M. A comparative study of the potential of solid triglyceride nanostructures coated with chitosan or poly (ethylene glycol) as carriers for oral calcitonin delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2005, 25: 133-143.
- 104.** Thirawong N, Nunthanid J, Puttipipatkachorn S, Sriamornsak P. Mucoadhesive properties of various pectins on gastrointestinal mucosa: An *in vitro* evaluation using texture analyzer. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2007, 67: 132-140.

- 105.** Mao S, Germershaus O, Fischer D, Linn T, Schnepf R, Kissel T. Uptake and transport of PEG-graft-trimethyl-chitosan copolymer–insulin nanocomplexes by epithelial cells. *Pharmaceutical Research*, 2005, 22: 2058-2068.
- 106.** Van der Merwe S, Verhoef J, Kotze A, Junginger H. N-Trimethyl chitosan chloride as absorption enhancer in oral peptide drug delivery. Development and characterization of minitablet and granule formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2004, 57: 85-91.
- 107.** Ma Z, Lim LY. Uptake of chitosan and associated insulin in Caco-2 cell monolayers: a comparison between chitosan molecules and chitosan nanoparticles. *Pharmaceutical Research*, 2003, 20: 1812-1819.
- 108.** Wang Q, Jamal S, Detamore MS, Berkland C. PLGA-chitosan/PLGA-alginate nanoparticle blends as biodegradable colloidal gels for seeding human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2011, 96: 520-527.
- 109.** Niwa T, Takeuchi H, Hino T, Kunou N, Kawashima Y. Preparations of biodegradable nanospheres of water-soluble and insoluble drugs with D,L-lactide/glycolide copolymer by a novel spontaneous emulsification solvent diffusion method, and the drug release behavior. *Journal of Controlled Release*, 1993, 25: 89-98.
- 110.** Sahoo SK, Panyam J, Prabha S, Labhasetwar V. Residual polyvinyl alcohol associated with poly (D,L-lactide-co-glycolide) nanoparticles affects their physical properties and cellular uptake. *Journal of Controlled Release*, 2002, 82: 105-114.
- 111.** Khemani M, Sharon M. Encapsulation of berberine in Nano-Sized PLGA synthesized by emulsification method. *ISRN Nanotechnology*, 2012.
- 112.** Jelvehgari M, Nokhodchi A, Rezapour M, Valizadeh H. Effect of formulation and processing variables on the characteristics of tolmetin microspheres prepared by double

emulsion solvent diffusion method. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2010, 72: 72-78.

**113.** Kumar R, Patil S, Patil M, Patil SR, Paschapur MS. Isolation and evaluation of disintegrant properties of fenugreek seed mucilage. *International Journal of PharmTech Research*, 2009, 1: 982-996.

**114.** Cetin M, Atila A, Sahin S, Vural I. Preparation and characterization of metformin hydrochloride loaded-Eudragit® RSPO and Eudragit® RSPO/PLGA nanoparticles. *Pharmaceutical Development and Technology*, 2011: 1-7.

**115.** Fattal E, Quaglia F, Gupta P, Brazeau G. Biodegradable microparticles for the development of less-painful and less-irritating parenterals. In: Gupta P, Brazeau G (eds). *Injectable Drug Development: Techniques to Reduce Pain and Irritation*. Informa Health Care, 1999: 355-78.

**116.** Valot P, Baba M, Nedelec JM, Sintès-Zydowicz N. Effects of process parameters on the properties of biocompatible ibuprofen-loaded microcapsules. *International Journal of Pharmaceutics*, 2009, 369: 53-63.

**117.** Tuncay M, Çalış S, Kaş H, Ercan M, Peksoy I, Hincal A. Diclofenac sodium incorporated PLGA (50:50) microspheres: formulation considerations and *in vitro/in vivo* evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, 2000, 195: 179-188.

**118.** Song X, Zhao Y, Wu W, Bi Y, Cai Z, Chen Q, Li Y, Hou S. PLGA nanoparticles simultaneously loaded with vincristine sulfate and verapamil hydrochloride: Systematic study of particle size and drug entrapment efficiency. *International Journal of Pharmaceutics*, 2008, 350: 320-329.

**119.** Makadia HK, Siegel SJ. Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. *Polymers*, 2011, 3: 1377-1397.



- 120.** Dawes GJS, Fratila-Apachitei L, Mulia K, Apachitei I, Witkamp GJ, Duszczyk J. Size effect of PLGA spheres on drug loading efficiency and release profiles. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2009, 20: 1089-1094.
- 121.** Calvo P, Vila-Jato JL, Alonso MJ. Comparative in vitro evaluation of several colloidal systems, nanoparticles, nanocapsules, and nanoemulsions, as ocular drug carriers. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1996, 85: 530-536.
- 122.** Gamisans F, Lacoulonche F, Chauvet A, Espina M, García M, Egea M. Flurbiprofen-loaded nanospheres: analysis of the matrix structure by thermal methods. *International Journal of Pharmaceutics*, 1999, 179: 37-48.
- 123.** Mainardes RM, Gremião MPD, Evangelista RC. Thermoanalytical study of praziquantel-loaded PLGA nanoparticles. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 2006, 42: 523-530.
- 124.** Pandit V, Pai RS, Yadav V, Devi K, Surekha B, Inamdar MN, Suresh S. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of floating microspheres of metformin hydrochloride. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2012: 1-11.
- 125.** Block LC, Schmeling LO, Couto AG, Segatto MA, Tagliari MP, Bresolin T, Mourao SC. Effect of binders on 500 mg metformin hydrochloride tablets produced by wet granulation. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 2009, 30: 145-152.
- 126.** Kumar A, Balakrishna T, Jash R, Murthy T. Formulation and evaluation of mucoadhesive microcapsules of metformin HCl with gum karaya. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2011, 3: 150-155.
- 127.** Islam S. Lipophilic and hydrophilic drug loaded PLA/PLGA in situ implants: studies on thermal behavior of drug & polymer and observation of parameters influencing drug burst release with corresponding effects on loading efficiency &

morphology of implants. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2011, 3: 181-188.

**128.** Mi FL, Shyu SS, Lin YM, Wu YB, Peng CK, Tsai YH. Chitin/PLGA blend microspheres as a biodegradable drug delivery system: a new delivery system for protein. *Biomaterials*, 2003, 24: 5023-5036.

**129.** Said SS, Aloufy AK, El-Halfawy OM, Boraei NA, El-Khordagui LK. Antimicrobial PLGA ultrafine fibers: Interaction with wound bacteria. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2011, 79: 108-118.

**130.** Mahmoodı M, Khosroshahi M, Atyapı F. Early experimental results of thrombolysis using controlled release of tissue plasminogen activator encapsulated by plga/cs nanoparticles delivered by pulse 532 nm laser. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 2011, 6: 889-905.

**131.** Mukerjee A, Vishwanatha JK. Formulation, characterization and evaluation of curcumin-loaded PLGA nanospheres for cancer therapy. *Anticancer Research*, 2009, 29: 3867-3875.

**132.** Gazori T, Khoshayand MR, Azizi E, Yazdizade P, Nomani A, Haririan I. Evaluation of alginate/chitosan nanoparticles as antisense delivery vector: Formulation, optimization and in vitro characterization. *Carbohydrate Polymers*, 2009, 77: 599-606.

**133.** Tripathi S, Mehrotra G, Dutta P. Physicochemical and bioactivity of cross-linked chitosan–PVA film for food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2009, 45: 372-376.

**134.** Cevher E, Orhan Z, Mülazımoğlu L, Şensoy D, Alper M, Yıldız A, Özsoy Y. Characterization of biodegradable chitosan microspheres containing vancomycin and treatment of experimental osteomyelitis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus*

aureus with prepared microspheres. *International Journal of Pharmaceutics*, 2006, 317: 127-135.

**135.** Ming Yang J, Chih Chiu H. Preparation and characterization of polyvinyl alcohol/chitosan blended membrane for alkaline direct methanol fuel cells. *Journal of Membrane Science*, 2012, 419-420: 65-71.

**136.** Mouryaa V, Inamdara NN, Tiwarib A. Carboxymethyl chitosan and its applications. *Advance Material Letters*; 2010, 1: 11-33.

**137.** Gonil P, Sajomsang W, Ruktanonchai UR, Pimpha N, Sramala I, Nuchuchua O, Saesoo S, Chaleawlert-Umpon S, Puttipipatkachorn S. Novel quaternized chitosan containing  $\beta$ -cyclodextrin moiety: Synthesis, characterization and antimicrobial activity. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 83: 905-913.

**138.** Salehizadeh H, Hekmatian E, Sadeghi M, Kennedy K. Synthesis and characterization of core-shell Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-gold-chitosan nanostructure. *Journal of Nanobiotechnology*, 2012, 10: 1-7.

**139.** Kang Y, Yin G, Ouyang P, Huang Z, Yao Y, Liao X, Chen A, Pu X. Preparation of PLLA/PLGA microparticles using solution enhanced dispersion by supercritical fluids (SEDS). *Journal of Colloid and Interface Science*, 2008, 322: 87-94.

**140.** Kiremitci-Gumusderelioglu M, Deniz G. Synthesis, characterization and *in vitro* degradation of poly (D,L-lactide)/poly (D,L-lactide-co-glycolide) films. *Turkish Journal of Chemistry*, 1999, 23: 153-161.

**141.** Gunasekaran S, Natarajan R, Renganayaki V, Natarajan S. Vibrational spectra and thermodynamic analysis of metformin. *Indian Journal of Pure and Applied Physics*, 2006, 44: 495-500.

**142.** Banerjee P, Deb J, Roy A, Ghosh A, Chakraborty P. Fabrication and development of pectin microsphere of metformin hydrochloride. *ISRN Pharmaceutics*, 2012, 1-7.

## EKLER

### EK-1. ÖZGEÇMİŞ

<b>KİŞİSEL BİLGİLER</b>	
Adı Soyadı	: Nuran GÜNDOĞDU
Doğum tarihi	: 10.04.1984
Doğum yeri	: Erzurum
Medeni hali	: Bekar
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM
Tel	: 0532 783 84 60
Faks	:
E-mail	: nurangundogdu1@hotmail.com
<b>EĞİTİM</b>	
Lise	: Erzurum İbrahim Hakkı Fen Lisesi (2002)
Lisans	: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2003-2007)
Yüksek lisans	:
Doktora	:
<b>YABANCI DİL BİLGİSİ</b>	
İngilizce	: Basit düzeyde
<b>ÜYE OLUNAN MESLEKİ KURULUŞLAR</b>	
13. Bölge Erzurum Eczacı Odası	
<b>İLGİ ALANLARI, HOBİLER</b>	
Farklı alanlarda yapılan organizasyonlara katılmak,	
Gezmek,	
Spor yapmak.	

## EK 2. ETİK KURUL KARARI

“2010 .6.1/21 “SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURUL KARARI 31.12.2010

6.1/21 - Enstitümüz Eczacılık Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Nuran GÜNDOĞDU’ nun “ Polimerik Taşıyıcı Sistem Geliştirilmesi ve İn Vitro Karakterizasyonu “ tez konusu görüşüldü.

İlgilinin tez konusunun etik değerlere uygun olduğu mevcudun oybirliği ile,

Prof. Dr. Türkan PASİNLİOĞLU  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkanı

Başkan Yardımcısı  
Prof. Dr. Funda BAYINDIR

ÜYE  
Prof. Dr. Mustafa ATAŞEYER

ÜYE  
(Katılmadı)  
Prof. Dr. Zekeriya AKTÜRK

ÜYE  
Doç. Dr. Abdülkadir YILDIRIM

ÜYE  
Prof. Dr. İsmail CEYLAN

ÜYE  
Prof. Dr. H.İnci GÜL

ÜYE  
Doç. Dr. Hakan USLU

ÜYE  
Yrd. Doç. Dr. İhan ŞEN  
(Raportör)