

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

İtrakonazol-siklodekstrin komplekslerinin hazırlanması,
karakterizasyonu ve vajinal biyoadeziv formülasyonlarının
geliştirilmesi

AYŞE AÇMA

**DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. ERDAL CEVHER**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI /
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2009

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başanlı bulunarak Yüksek Lisans / Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

21 / 07 / 2009

Prof. Dr. Bahar Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Program Adı : Yüksek Lisans Programı

Programın seviyesi : Yüksek Lisans () Doktora ()

Anabilim Dalı : Farmasötik Teknoloji ABD

Tez Sahibi : Ayşe Açma

Tez Başlığı : **İtrakonazol-siklodekstrin komplekslerinin hazırlanması, karakterizasyonu ve vajinal biyodezif formülasyonlarının geliştirilmesi**

Sınav Yeri : İstanbul Üni. Eczacılık Fak.

Sınav Tarihi : 15.07.2009

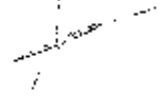
Tez Sınav Jürisi

1. Yrd. Doç. Dr. Erdal Cevher İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji ABD
2. Prof. Dr. Ahmet Arıman İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji ABD
3. Prof. Dr. Özgen Özer E.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji ABD
4. Prof. Dr. Yıldız Örsen İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji ABD
5. Yrd. Doç. Dr. Sevgi Güngör İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji ABD

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdaki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Ayşe Açma



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim sırasında tezimin yönetilmesi ve çalışmalarımın yönlendirilmesinde her zaman gösterdiği yakın ilgi, destek ve yardımlarından dolayı bilimsel bakış açısıyla vizyonumu genişleten danışman hocam Yard. Doç. Dr. Erdal Cevher'e teşekkürlerimi iletirim.

Çalışmalarım sırasında ilgi ve yardımlarını gördüğüm Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ahmet Araman'a teşekkürlerimi iletirim.

Tez çalışmam sırasında NMR çalışmalarına katkıda bulunan University of London, School of Pharmacy'den Prof. Dr. Mire Zloh'a, mikrobiyolojik çalışmalarda yardımcı olan Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Lütfiye Mülazımoğlu'na teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, yardımlarını benden esirgemeyen Prof. Dr. Yıldız Özsoy, Yard. Doç. Dr. Sevgi Güngör, Araş. Gör. Dr. Ayca Yıldız'a ve diğer araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimime başladığım günden beri yanımda olan beraber öğrenim gördüğüm Ecz. Pınar Gürpınar ve Ecz. Sinem Yıldırım'a teşekkür ederim. Benimle beraber öğrenim görmesede bana her türlü desteği göstere bütün arkadaşlarıma teşekkür ederim. Desteğini hiçbir zaman esirgemeyen ve bana her zaman cesaret veren aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 3078

Ecz. Ayşe Açma

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİİ
BEYAN.....	İV
İTHAF.....	V
TEŞEKKÜR.....	VI
İÇİNDEKİLER	Vİİ
TABLolar LİSTESİ.....	Xİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	XV
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XIX
ÖZET	2
ABSTRACT.....	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	4
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Siklodekstrinler Hakkında Genel Bilgiler.....	5
2.1.1. Siklodekstrinlerin Fizikokimyasal Özellikleri	5
2.1.2. Siklodekstrin Türevleri	9
2.1.3. Siklodekstrinlerin Farmakokinetik Özellikleri.....	12
2.1.3.1. Siklodekstrinlerin Enzimatik Parçalanması ve Stabİlİtesi.....	12
2.1.3.2. Memelİlerde Siklodekstrinlerin Oral Yolla Absorpsiyonu Ve Metabolizması.....	12
2.1.3.3. Siklodekstrinlerin Toksikolojisi	13
2.1.4. Siklodekstrin İÇerik Kompleksleri	15
2.1.5. Kompleksleşmeyi Etkileyen Faktörler.....	15
2.1.5.1. Sterik Etkiler	15
2.1.5.2. Polarite	16
2.1.5.3. Elektronik Etkiler	16
2.1.5.4. Sıcaklık, Katkı Maddesi ve Kosolvan (Yardımcı Çözücü) Etkisi.....	17
2.1.6. Kompleksleşme Mekanizması	17
2.1.7. Oluşma-Ayrışma Dengesi, Kompleks Oluşum Stabİlİte Sabitinin Hesaplanması ve Faz Çözünürlük Grafikleri	18

2.1.8. Kompleks Hazırlama Yöntemleri	21
2.1.8.1. Çözelti İçerisinde Siklodekstrin Komplekslerinin Hazırlanması	21
2.1.8.2. Birlikte Çöktürme Yöntemi.....	22
2.1.8.3. Nötralizasyon Yöntemi	22
2.1.8.4. Katı Fazda Kompleks Oluşturma	23
2.1.8.5. Örme Yöntemi.....	23
2.1.8.6. Dondurarak ve Püskürterek Kurutma Yöntemleri	23
2.1.9. Farmasötik Teknolojide Siklodekstrinlerin Önemi.....	23
2.1.9.1. Çözünürlüğün ve Biyoyararlanımın İyileştirilmesi.....	24
2.1.9.2. Yan Etkilerin ve Acı Tadın Azaltılması.....	25
2.1.9.3. İlaç Stabilesinin İyileştirilmesi	26
2.2. Vajina Hakkında Genel Bilgiler.....	27
2.2.1. Vajinanın Anatomik Yapısı	27
2.2.2. Vajinal Absorpsiyon	31
2.2.3. Vajinal Mukus.....	32
2.2.4. Vajinal İlaç Uygulamasının Avantaj ve Dezavantajları.....	32
2.2.5. Vajinaya Uygulanan Farmasötik Dozaj Şekilleri.....	33
2.2.5.1. Kremler, Köpükler ve Jeller	33
2.2.5.2. Supozituarlar ve Vajinal Tabletler	34
2.2.5.3. Halkalar	34
2.2.5.4. Tamponlar	34
2.2.5.5. Vajinal Kapsüller	35
2.2.5.6. Mukoadezif Sistemler	35
2.3. Mukozaya Yapışan Sistemler Hakkında Genel Bilgiler	36
2.3.1. Mukoadezyon Mekanizması ve Teorileri	36
2.3.1.1. Elektronik Teori	38
2.3.1.2. Islanma Teorisi.....	38
2.3.1.3. Adsorpsiyon Teorisi	39
2.3.1.4. Difüzyon Teorisi	39
2.3.1.5. Mekanik Teori.....	39
2.3.1.6. Kopma Teorisi.....	39

2.3.2. Mukoadezyon Ölçüm Yöntemleri.....	39
2.3.2.1. Wilhelmy Tablası Yüzey Gerilimi Yöntemi	39
2.3.2.2. Floresans İşaretleme Yöntemi.....	40
2.3.2.3. Modifiye Yüzey Gerilim Yöntemi	40
2.3.2.4. Gerilme Direnci Yöntemi.....	41
2.3.2.5. Akış Kanal Yöntemi.....	42
2.3.2.6. Özefagusa Adezyon Yöntemi	43
2.3.3. Mukozaya Yapışan Sistemlerin Uygulama Yolları	43
2.3.3.1. Bukkal Bölge.....	43
2.3.3.2. Nazal Bölge.....	43
2.3.3.3. Göz	44
2.3.3.4. Gastrointestinal Yol	44
2.3.3.5. Vajinal Bölge	44
2.3.4. Mukoadezif Polimerler	46
2.4. İtrakonazol Hakkında Genel Bilgiler	48
2.4.1. Fizikokimyasal Özellikleri :	49
2.4.2. Farmakodinamik Özellikleri	49
2.4.3. Farmakokinetik Özellikleri	50
2.4.3.1. Absorpsiyon	50
2.4.3.2. Dağılım.....	50
2.4.3.3. Metabolizması ve Eliminasyonu	51
2.4.4. Yan Etkileri	51
2.4.5. Miktar Tayini	52
2.4.5.1. Spektrofotometrik Yöntem.....	52
2.4.5.2. Kromatografik Yöntemler	52
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	53
3.1. Etkin Madde Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesi ve Validasyonu...54	
3.1.1. Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu	54
3.1.1.1. Doğrusallık.....	54
3.1.1.2. Kesinlik	55
3.1.1.3. Doğruluk	55

3.1.1.4. Seçicilik.....	56
3.1.1.5. Teşhis Limiti ve Miktar Tayini Limiti	56
3.1.1.6. Stabilité	57
3.2. İtrakonazol-Siklodekstrin İçerik Komplekslerinin Hazırlanması	57
3.2.1. İçerik Komplekslerini Hazırlama Metodunun Optimizasyonu	57
3.2.2. Faz Çözünürlük Çalışmaları ve Komplekslerin Hazırlanması.....	58
3.3. Hazırlanan İçerik Kompleksleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	59
3.3.1. Antifungal Duyarlılık Testleri.....	59
3.3.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri	59
3.3.3. Toz X-Işını Kırınım (PXRD) Analizleri	60
3.3.4. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Analizi	60
3.3.5. Moleküler Modelleme.....	60
3.4. Mukoadezif Tablet Formülasyonlarının Hazırlanması	61
3.5. Mukoadezif Tablet Formülasyonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar	62
3.5.1. Fiziksel Kontroller	62
3.5.1.1. Ağırlık Sapması.....	62
3.5.1.2. Çap ve Yükseklik	62
3.5.1.3. Ufalanabilirlik	62
3.5.1.4. Sertlik	62
3.5.2. Tablet Formülasyonlarının Şişme İndeksi	62
3.5.3. Mukoadazyon Çalışmaları	62
3.5.4. Tablet Formülasyonlarından <i>İn vitro</i> Etkin Madde Salım Hızı Çalışmaları	64
3.5.5. Tabletlerden etkin madde salımına ait verilerin kinetik yönden değerlendirilmesi.....	64
3.6. İstatistiksel Değerlendirmeler	66
4. BULGULAR.....	67
4.1. Miktar Tayini Yönteminin Validasyonuna Ait Bulgular	67
4.1.1. Doğrusallık.....	67
4.1.2. Kesinlik	68
4.1.3. Doğruluk	69

4.1.4. Seçicilik.....	69
4.1.5. Teşhis Limiti (TL) Ve Miktar Tayini Limiti (MTL).....	69
4.1.6. Stabilité	70
4.2. İtrakonazol:Siklodekstrin İçerik Komplekslerinin Hazırlanmasına Ait Bulgular.....	70
4.2.1. İçerik Komplekslerini Hazırlama Metodunun Optimizasyonuna Ait Bulgular.....	70
4.2.2. Faz Çözünürlük Çalışmalarına Ait Bulgular.....	73
4.3. İçerik Kompleksleri Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular	74
4.3.1. Antifungal Duyarlılık Testlerine Ait Bulgular.....	74
4.3.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizine Ait Bulgular	75
4.3.3. Toz X-Işını Kırınım (PXRD) Analizine Ait Bulgular	85
4.3.4. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Analizine Ait Bulgular	86
4.3.5. Moleküler Modelleme Bulguları.....	87
4.4. Mukoadesif Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular	89
4.4.1. Fiziksel Kontrollere Ait Bulgular	89
4.4.1.1. Ağırlık Sapması.....	89
4.4.1.2. Çap ve yükseklik	90
4.4.1.3. Ufalanabilirlik	91
4.4.1.4. Sertlik	92
4.4.2. Tablet Formülasyonlarının Şişme İndeksine ait Bulgular.....	92
4.4.3. Mukoadesyon Çalışmalarına Ait Bulgular	94
4.4.4. Tablet Formülasyonlarından <i>İn vitro</i> Etkin Madde Salım Hızı Çalışmalarına Ait Bulgular	96
4.4.5. Tabletlerden <i>İn Vitro</i> Etkin Madde Salımına Ait Verilerin Kinetik Yönden Değerlendirilmesine Ait Bulgular	100
5. TARTIŞMA	101
KAYNAKLAR	113
HAM VERİLER	148
FORMLAR	149
ETİK KURUL KARARI	150

PATENT HAKKI İZNİ	151
TELİF HAKKI İZNİ.....	152
ÖZGEÇMİŞ	153

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1: Doğal siklodekstrinlerin karakteristik özellikleri.....	7
Tablo 2-2: İtrakonazol'ün miktar tayininde kullanılan HPLC yöntemleri.....	52
Tablo 3-1: Mukoadezif tablet formülasyonları.....	61
Tablo 4-1: İtrakonazolün miktar tayini yönteminin doğrusallığına ait bulgular (n=3).....	68
Tablo 4-2: İtrakonazolün miktar tayini yönteminin gün içi kesinlik bulguları (n=3).....	68
Tablo 4-3: İtrakonazolün miktar tayini yönteminin günler arası kesinlik bulguları (n=3).....	69
Tablo 4-4: İtrakonazolün miktar tayini yönteminin doğruluğına ait bulgular (n=3).....	69
Tablo 4-5: Stabilite bulguları.....	70
Tablo 4-6: İtrakonazolün siklodekstrinler ile kompleksleşme verimine pH ve yardımcı çözücülerin etkisi (n=3).....	71
Tablo 4-7: İtrakonazolün SBE7-β-CD ile kompleksleşme verimine pH'nın etkisi (n=3).....	73
Tablo 4-8: SBE7-β-CD ile yapılan faz çözünürlük çalışmaları sonucu elde edilen etkin maddeye ait çözünürlük değeri, stabilite sabiti ve diyagram tipi	74
Tablo 4-9: İtrakonazol, siklodekstrin ve komplekslere ait minimum inhibisyon konsantrasyonları (MIC).....	75
Tablo 4-10: Komplekslerdeki itrakonazolün siklodekstrinlere molar oranları. D ₂ O içerisinde alınan NMR spektrumlarındaki siklodekstrinlere ait piklerin eğri altında	

kalan alanları itrakonazole ait 14 adet aromatik hidrojen atomlarına ait piklerin alanları ile karşılaştırılmıştır	87
Tablo 4-11: İtrakonazol içeren tabletlerde yapılan ağırlık sapması tayinine ait bulgular (n=10)	89
Tablo 4-12: İtrakonazol içeren tabletlerde yapılan çap ve yükseklik tayinine ait (n=10).....	90
Tablo 4-13: Tabletlerde ufalanabilirlik tayinine ait bulgular (n=20).....	91
Tablo 4-14: Tabletlerde yapılan sertlik tayinine ait bulgular (n=10).....	92
Tablo 4-15: Formülasyonlara ait mucoadezyon işi ve ayrılma kuvveti bulguları (n=3).....	94
Tablo 4-16: Ksantan zımkı ve Carbopol®934 ile hazırlanmış mukoadezif tabletlerden zamana bağı salınan yüzde itrakonazol miktarları.....	97
Tablo 4-17: HPMC ve Carbopol®934 ile hazırlanmış mukoadezif tabletlerden zamana bağı salınan yüzde itrakonazol miktarları.....	98
Tablo 4-18: <i>İn vitro</i> salım çalışmalarından elde edilen bulguların farklı kinetik modeller kullanılarak değ erlendirilmesi	100

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Siklodekstrinlerin kesik koni şeklindeki görüntüsü	5
Şekil 2-2: Hidroksil gruplarının siklodekstrin molekülü üzerindeki konumları... 6	
Şekil 2-3: Siklodekstrinin hidrofobik ve hidrofilik kısımları	6
Şekil 2-4: Sırasıyla 6, 7 ve 8 D-glukopiranoz ünitesine sahip olan α -CD, β -CD ve γ -CD molekülleri.....	7
Şekil 2-5: Faz-çözünürlük grafiği	20
Şekil 2-6: Vajinanın anatomik yapısı.....	28
Şekil 2-7: Mukoadezyonda etkin olan bölgeler	37
Şekil 2-8: Wilhelmy tablası yüzey gerilimi yönteminde kullanılan cihazın şematik görünümü.....	40
Şekil 2-9: Modifiye yüzey gerilim aletinin şematik görüntüsü	41
Şekil 2-10: Gerilme direnci aletinin şematik görünümü A: Metalik sporlar B ve C: Çeneler D:Mukus E:Tablet	42
Şekil 2-11: Akış kanal yönteminde kullanılan aletin şematik görünümü	42
Şekil 3-1: Mukoadezyon testine ait kuvvet-mesafe eğrisi	63
Şekil 4-1: İtrakonazolün standart eğrisine ait grafik.....	67
Şekil 4-2: 12mM siklodekstrin içeren pH 1,5 sulu çözelti içerisinde kompleksleşen itrakonazolün milimolar miktarı	71
Şekil 4-3: 12mM siklodekstrin içeren pH 1,5 sulu çözelti:metanol (9:1 h/h) karışımı içerisinde kompleksleşen itrakonazolün milimolar miktarı.....	72

Şekil 4-4: 12mM siklodekstrin içeren pH 1,5 sulu çözelti:asetonitril (9:1 h/h) karışımı içerisinde kompleksleşen itrakonazolün milimolar miktarı.....	72
Şekil 4-5: İtrakonazolün SBE7- β -CD ile kompleksleşmesine farklı pH değerlerinin etkisi	73
Şekil 4-6: İtrakonazolün pH 1,5 sulu çözelti:asetonitril (9:1 h/h) içerisinde SBE7- β -CD ile oluşturduğu komplekse (ITR:SBE7- β -CD) ait faz çözünürlük diyagramı	74
Şekil 4-7: İtrakonazolün taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme A) X2000, B) X5000.....	76
Şekil 4-8: SBE7- β -CD nin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme A) X200, B) X500.....	77
Şekil 4-9: HP- β -CD nin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme	78
Şekil 4-10: Met- β -CD nin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme A) X200, B) X500.....	79
Şekil 4-11: γ -CD nin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme	80
Şekil 4-12: ITR:SBE- β -CD nin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme A) X200, B) X500.....	81
Şekil 4-13: ITR:HP- β -CD nin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme A) X200, B) X500.....	82
Şekil 4-14: ITR:MET- β -CD nin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme A) X200, B) X500.....	83
Şekil 4-15: ITR: γ -CD nin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme A) X200, B) X500.....	84

Şekil 4-16: İtrakonazol, siklodekstrinler ve komplekslere ait X ışını kırınım desenleri 85

Şekil 4-17: a) SBE7- β -CD, b) HP- β -CD, c) Met- β -CD ve d) γ -CD varlığında itrakonazolün 1D ^1H NMR spektrumunun aromatik bölgesinin örtüşme grafiği (a, b ve c ile karşılaştırıldığında d 4 kat büyütülmüştür) 86

Şekil 4-18: ITR:SBE7- β -CD kompleksinin D_2O içerisinde 298 K sıcaklığında alınmış 1D ^1H NMR spektrumu 87

Şekil 4-19: MCMM metodu, MMFFs etki alanı ve GB/SA kurtarma modeli kullanılarak konformasyonel tarama ile hazırlanmış, ITR:SBE7- β -CD kompleksine ait en düşük enerji konformasyonu. Model, SBE7- β -CD nin sodyum atomlarının eksikliğinde hidroksillenmiş fosfat grupları ile elde edildi. 88

Şekil 4-20: Ksantan zmkı ve Carbopol®934P ile hazırlanmış mukoadezif tabletlere (C ve X serisi) ait şişme indeksi sonuçları 93

Şekil 4-21: HPMC ve Carbopol®934P ile hazırlanmış mukoadezif tabletlere (H serisi) ait şişme indeksi sonuçlar 93

4-22: Texture analiz cihazı ile yapılan mukoadezyon testi sonucunda elde edilen ve tabletlerin vajinal mukozaya yapışma kaabiliyetini gösteren mukoadezyon işi sonuçları 95

4-23: Texture analiz cihazı ile yapılan mukoadezyon testi sonucunda elde edilen ve vajinal mukoza ile 30 s boyunca temas eden tabletlerin mukozadan ayrılma kuvvetine ait sonuçlar 95

4-24: ITR:SBE7- β -CD kompleksini içeren Carbopol®934P ile hazırlanmış (C formülasyonu) tablet formülasyonuna ait mukoadezyon testi kuvvet-mesafe eğrisi 96

4-25: Ksantan zmkı ve Carbopol®934 ile hazırlanmış mukoadezif tabletlerden zamana bağlı yüzde salınan itrakonazol miktarları 99

4-26: HPMC ve Carbopol® 934 ile hazırlanmış mukoadezif tabletlerden zamana bağlı yüzde salınan itrakonazol miktarları.....	99
--	----

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

CD:	Siklodekstrin
ITR:	İtrakonazol
α -CD:	Alfa siklodekstrin
β -CD:	Beta siklodekstrin
γ -CD:	Gamma siklodekstrin
HP- β -CD:	Hidroksipropil beta siklodekstrin
Met- β -CD:	Metil beta siklodekstrin
SBE- β -CD:	Sülfobutileter beta siklodekstrin
ACN:	Asetonitril
HPMC:	Hidroksipropil Metil Selüloz
C934P:	Carbopol®934P
XG:	Ksantan zmkı
HPLC :	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
NMR:	Nükleer Magnetik Rezonans
SEM:	Taramalı Elektron Mikroskobu
NCCLS:	National Committee for Clinical Laboratory Standarts
MOPS:	M 3(N-morfolino) propan sulfonikasit
MIC:	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
DMSO:	Dimetil sülfoksit
D ₂ O:	Döteryum oksit
SD:	Standart Sapma
RSD:	Relatif Standart Sapma
r ² :	Determinasyon katsayısı
TL:	Teşhis limiti
MTL:	Miktar tayini limiti

ÖZET

Açma, A. (2009). İtrakonazol-siklodekstrin komplekslerinin hazırlanması, karakterizasyonu ve vajinal biyoadezif formülasyonlarının geliştirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

İtrakonazol, vajinal bölgede sıkça karşılaşılan kandida enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan triazol türevi antifungal bir antibiyotiktir. Renal yetmezlik çeken hastalarda düşük biyoyararlanıma sahip, yüksek dozlarda adrenal supresyon ve periferik nöropatiye neden olabilen ve ayrıca nefrotoksik bir madde olan itrakonazolün sudaki zayıf çözünürlüğü etkin kullanımını azaltmaktadır. Siklodekstrinler α -(1,4) glukozidik bağlarla kovalent olarak bağlanmış en az 6 D(+) glukopiranoz birimi içeren siklik oligosakkaritlerdir. Siklodekstrin ve türevleri ilaç molekülleriyle içerik kompleksleri oluşturarak, ilaçların sudaki çözünürlüğünü artırır ve yan etkilerini azaltırlar. Mukoadezif ilaç taşıyıcı sistemler mukus ile etkileşerek ilacın vajinal bölgede kalış süresini uzatır ve ilacın salımını yavaşlatarak tedavi etkinliği artırır.

Bu projede, itrakonazolün sudaki çözünürlüğünü artırmak ve antifungal etkinliğini değiştirmeksizin yan etkilerini azaltmak için γ -CD, HP- β -CD, Met- β -CD ve SBE7- β -CD gibi siklodekstrin türevleri ile kompleksleri hazırlanmıştır. Faz çözünürlük çalışmaları ile siklodekstrin:ilaç komplekslerinin çözünme profilleri ve stabilite sabiti tayin edilmiş ve taramalı elektron mikroskobu, ^1H -NMR, 2D [1H,1H] NOESY ve X-ışını kırınımı çalışmaları ile kompleks oluşum mekanizmaları aydınlatılmıştır.

Yapılan çalışmaların sonucunda SBE7- β -CD'in diğer siklodekstrinlerle karşılaştırıldığında itrakonazolün çözünürlüğünü belirgin bir şekilde artırdığı bulunmuştur. Hazırlanan komplekslerin kandida türlerine karşı antifungal aktivitesi standart *Candida albicans* (ATTC 90028) suşları kullanılarak incelenmiş ve suşların ITR:SBE7- β -CD kompleksine duyarlılığı daha yüksek çıkmıştır. Bu bulgular ışığında ITR:SBE7- β -CD kompleksi kullanılarak biyodezif ve sürekli salım yapan mukoadesif vajinal tablet formülasyonları geliştirilmiştir. Hazırlanan mukoadesif formülasyonların şişme ve matriks aşınma özellikleri, mukoadesifliği ve formülasyonlardan ilaç salımı incelenerek itrakonazolün tedavi etkinliği yüksek vajinal formülasyonları tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: itrakonazol, siklodekstrinler, vajinal kandidiyazis, vajinal tablet, mukoadesyon

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 3078

ABSTRACT

Açma, A. (2009). Preparation and characterization of itraconazole-cyclodextrin inclusion complexes and development of vaginal bioadhesive formulations. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmaceutical Technology, Master's Thesis, İstanbul.

Itraconazole, a triazole derivative antifungal antibiotic, is commonly used in the treatment of *Candida* infections. Itraconazole has a nephrotoxic effect and low bioavailability in patients who suffer renal insufficiency. It can also increase the plasma levels of hepatic transaminases and alkaline phosphatases. At high doses it can cause to adrenal suppression and peripheral neuropathy. Poor solubility of itraconazole in aqueous solutions makes it largely unavailable. Cyclodextrins are cyclic oligosaccharides consisting of at least six D(+) glucopyranose units covalently linked by α -(1,4) glucosidic bonds. Cyclodextrins and their chemically modified derivatives are used in the pharmaceutical area to form inclusion complexes with drug molecules to improve the aqueous solubility and to reduce side effects. The inclusion of mucoadhesive polymers into vaginal formulations increase the residence time of desired drug in the vagina, thereby boosting the efficacy of the treatment.

In this project, itraconazole was complexed with cyclodextrin derivatives such as γ -CD, HP- β -CD, Met- β -CD and SBE7- β -CD to increase the solubility of itraconazole in aqueous solutions and to reduce the side effects of the drug without decreasing antimycotic activity. Phase solubility studies were carried out and stability constant of the itraconazole:cyclodextrin was characterised and mechanisms of inclusion complex formation between itraconazole and cyclodextrins were evaluated using scanning electron microscopy, ^1H -NMR, 2D [^1H , ^1H] NOESY and powder X-ray diffraction studies.

Antifungal activity of the prepared itraconazole:cyclodextrin inclusion complexes was analyzed on standart ATTC *Candida albicans* strains againsts to *Candida sp.* and susceptibility of the strains was found higher for ITR:SBE7- β -CD complex than the complexes which were prepared with other cyclodextrin derivatives. According to findings, vaginal bioadhesive sustained release tablet formulations were developed by using ITR:SBE7- β -CD inclusion complex. Swelling, matrix erosion and bioadhesion properties of formulations and drug release rate from tablets were analyzed and the most therapeutically effective vaginal formulation of itraconazole was found.

Key Words: itraconazole, cyclodextrins, vaginal candidiasis, vaginal tablet, mucoadhesion

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 3078

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kandida enfeksiyonları vajinal bölgede sıkça karşılaşılan, kadınların yaklaşık %75 nin hayatlarında en az bir kez geçirdiği ve %40-50 kadarında ise enfeksiyonun tekrarladığı bir hastalıktır. İtrakonazol, Kandida enfeksiyonlarının tedavisinde sıkça kullanılan triazol türevi antifungal bir antibiyotiktir ve tedavi esnasında hücre zarı için hayati bir bileşen olan ergosterolün sentezine müdahale ederek mantarın büyümesini inhibe eder (Szejtli 1988; Frömming ve Szejtli 1994). Nefrotoksisiteye neden olabilen itrakonazol, böbrek yetmezliği çeken hastalarda düşük biyoyararlanıma sahiptir. Ayrıca, hepatik transaminazların ve alkalin fosfatazların plazma seviyelerini yükseltebilmekte, yüksek dozlarda adrenal baskılama ve periferik nöropatiye neden olabilmektedir. Sudaki zayıf çözünürlüğü itrakonazolün etkin kullanımını önemli ölçüde azaltır (Szejtli 1991). Siklodekstrinler α -(1,4) glukozidik bağlarla kovalent olarak bağlanmış en az 6 D(+) glukopiranoz birimi içeren siklik oligosakkaritlerdir. Siklodekstrin ve türevleri ilaç molekülleriyle içerik kompleksleri oluşturarak, ilaçların sudaki çözünürlüğü artırır ve yan etkilerini azaltırlar (Uekama ve Otagiri 1987). Mukoadezif ilaç taşıyıcı sistemler mukus ile etkileşerek ilacın vajinal bölgede kalış süresini uzatır ve ilacın salımını yavaşlatarak tedavi etkinliği artırır (Szente ve Szejtli 1999).

Bu çalışmada, itrakonazolün sudaki çözünürlüğünü artırmak ve antifungal etkinliğini değiştirmeksizin yan etkilerini azaltmak için γ -CD, HP- β -CD, Met- β -CD ve SBE7- β -CD gibi siklodekstrin türevleri ile içerik kompleksleri hazırlanmıştır. Faz çözünürlük çalışmaları ile siklodekstrin-ilacın komplekslerinin çözünme profilleri ve stabilite sabiti tayin edilmiştir. Taramalı elektron mikroskobu, ^1H -NMR, 2D [1H,1H] NOESY ve X-ışını kırınımı çalışmaları ile kompleks oluşum mekanizmaları aydınlatılmıştır. Hazırlanan itrakonazol:siklodekstrin komplekslerinin kandida türlerine karşı antifungal aktivitesi standart *Candida albicans* (ATCC 90028) suşları kullanılarak incelenmiştir. En yüksek kompleksleşme oranına ve antifungal aktiviteye sahip olan ITR:SBE7- β -CD kompleksi kullanılarak mukoadezif ve sürekli salım yapan vajinal tablet formülasyonları geliştirilmiştir. Mukoadezif tablet formülasyonlarının geliştirilmesinde doğal (Ksantan Zamkı), yarı sentetik (HPMC) ve sentetik (Carbopol®934P) gibi biyoadezif polimerler kullanılmıştır. Hazırlanan mukoadezif formülasyonların şişme ve matriks aşınma özellikleri, mukoadezifliği ve formülasyonlardan ilaç salımı incelenerek ideal vajinal formülasyonları tespit edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

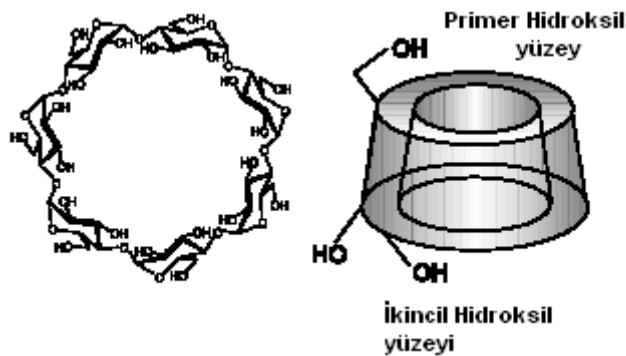
2.1. Siklodekstrinler Hakkında Genel Bilgiler

2.1.1. Siklodekstrinlerin Fizikokimyasal Özellikleri

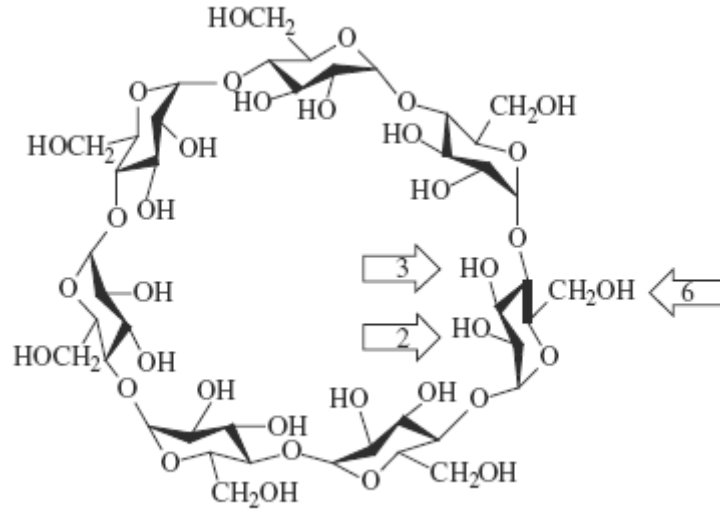
Nişastanın enzimatik parçalanması sonucunda oluşan maltoz, maltotrioz ve glukozun oluşturduğu düz zincirli veya dallanmış yapıdaki maltooligomerler, dekstrinler olarak adlandırılırlar (Szejtli 1988). Dekstrinler amorf, higroskopik, heterojen maddeler olup gıda, tekstil, kâğıt ve ilaç endüstrilerinde kullanılırlar (Frömming ve Szejtli 1994) .

Nişasta zincirinin siklodekstrin glukotransferaz enzimi ile parçalanmasıyla oluşan primer ürün bir intermoleküler reaksiyona girer ve α -(1,4) glukozidik bağlarla birbirine bağlanmış 6,7,8 D-glukopiranoz ünitelerinden oluşan ve hidrofobik bir iç boşluk ile hidrofilik dış yüzeye sahip siklik oligosakkaritler (siklodekstrinler) oluşur (Szejtli 1991).

Glukopiranoz ünitelerini birbirine bağlayan bağların serbest rotasyon kabiliyetleri bulunmadığından, siklodekstrinler mükemmel silindirik moleküller olmayıp kesik koniyi andıran bir yapıya sahiptirler (Şekil 2-1). Bu yapıya göre primer hidroksil grupları kesik koninin dar kısmında bulunan glukoz ünitelerinde ki C6 atomunda, sekonder hidroksil grupları geniş kısımda C2 ve C3 atomlarında bulunurlar (Şekil 2-2, Uekama ve Otagiri 1987) . Buna göre her bir glukoz birimi 3 süstitüe olabilen hidroksil grubu içerir; buda α -CD için 18 , β -CD için 21 ve γ -CD için 24 adet tepkimeye girebilecek hidroksil grubu demektir (Szente ve Szejtli 1999).

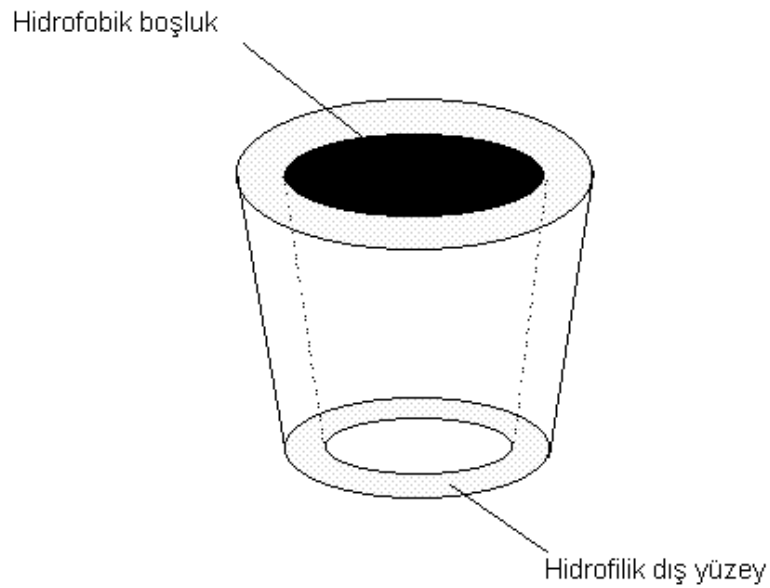


Şekil 2-1: Siklodekstrinlerin kesik koni şeklindeki görüntüsü



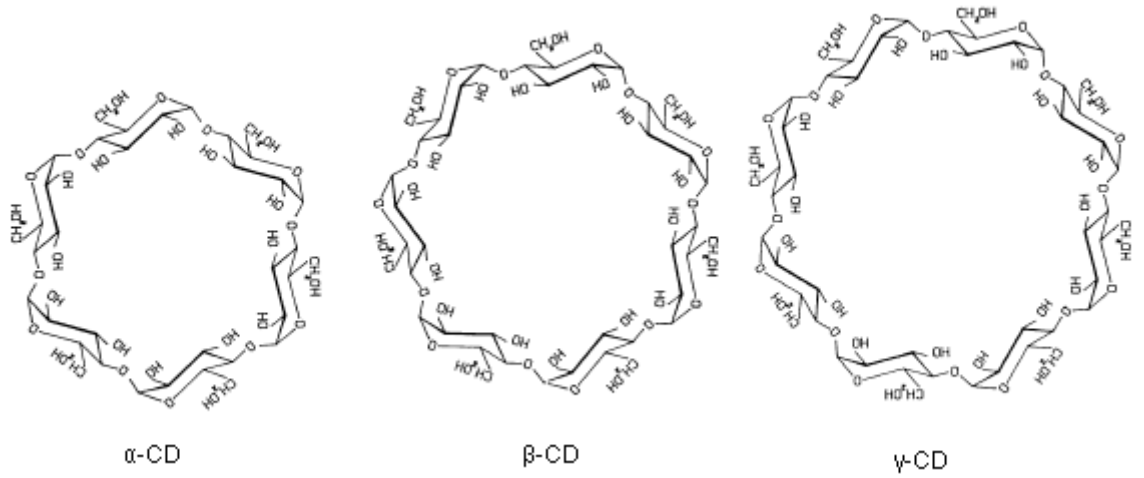
Şekil 2-2: Hidroksil gruplarının siklodekstrin molekülü üzerindeki konumları

Siklodekstrin boşluğunun içi oksijen köprüleri ve hidrojen atomları ile kaplıdır. Siklodekstrinlerin glikopiranoz birimlerinin hidroksil grupları dış yüzeye hidrofilik bir özellik vermektedir. Boşluğun glikozidik oksijen köprüleri ile sıralanması ve C2 ve C3 atomlarındaki sekonder hidroksil grupları arasında ki hidrojen bağları ise boşluğa hidrofobik bir özellik kazandırmaktadır (Şekil 2-3; Duchene ve Wouessidjewe 1990; Uekama ve Otagiri 1987).



Şekil 2-3: Siklodekstrinin hidrofobik ve hidrofilik kısımları

En fazla kullanılan doğal siklodekstrinler sırasıyla altı, yedi, sekiz glukopiranoz birimlerinden oluşan α -, β -, γ -siklodekstrinlerdir (Magnusdottir ve ark. 2002). Farmasötik açıdan incelendiğinde en küçük çapa (~ 5 Å) sahip olan α -CD ilaçlarla kompleks oluşturmaya çok uygun değildir. Ancak iç çapları sırasıyla ~ 6 Å ve ~ 8 Å olan β -CD ve γ -CD pek çok molekülle kompleks oluşturabilmektedir (Şekil 2-4, Tablo 2-1; Uekama ve Otagiri 1987,).



Şekil 2-4: Sırasıyla 6, 7 ve 8 D-glukopiranoz ünitesine sahip olan α -CD, β -CD ve γ -CD molekülleri

Tablo 2-1: Doğal siklodekstrinlerin karakteristik özellikleri

Siklodekstrin	Moleküler Ağırlık (Da)	Boşluk Hacmi (Å)	Boşluk Hacmi (Å)	Çözünürlük* (% a/h)
α -CD	972	4,7–5,3	~ 174	14,5
β -CD	1135	6,0–6,5	~ 262	1,85
γ -CD	1297	7,5–8,3	~ 472	23,2

*25°C’de su içerisinde

Siklodekstrinler, beyaz, kokusuz, tatlı lezzette, nem çekmeyen, kristal toz yapısında maddelerdir (Wade ve Weller 1994). Nişasta veya şeker kadar stabil olan siklodekstrinler bozulmadan yıllarca muhafaza edilebilirler.

Siklodekstrinlerin belirli bir erime noktaları yoktur ancak 200°C ve üzerinde dekompoze olmaya başlarlar. Gözlemlenen termoanalitik özellikler siklodekstrin su içeriğine ve kristal yapısına, ısıtma hızına ve atmosferik koşullara bağlı olarak değişebilir (Taneri 2004).

Siklodekstrin moleküllerinin çözelti içindeki yapısal özellikleri kristal hal ile hemen hemen aynıdır. Bu da primer ve sekonder hidroksil gruplarının çözünmüş veya kristal halde iken benzer konformasyonda olduklarını gösterir. Bu durum ise siklodekstrinlerin çözünürlüklerini açıklar: α -CD ve γ -CD'nin çözünürlüğü β -CD'inkinden sırasıyla 7 ve 14 kat daha yüksektir. β -CD, esnek olmayan bir yapıya sahip iken, α -CD'deki hidrojen bağı köprüsü tamamlanmamıştır, γ -CD ise daha esnektir (Bekers ve ark. 1991). Glukopiranoz biriminde bulunan C2 atomuna ait -OH grubu komşu glukopiranoz birimine ait C3 atomunun -OH grubu ile hidrojen bağı oluşturabilir. Böylece β -CD molekülü içerisinde bu hidrojen bağlarıyla oluşmuş ikincil bir kemer oluşur ve bu nedenle β -CD'in yapısı esnek değildir (Szejtli 2004). β -CD yapısında oluşan bu molekül içi hidrojen bağları, siklodekstrin molekülünün monosiklik yapısını stabilize etmekte ve değişmez bir yapı oluşmasına neden olmaktadır. Ayrıca siklodekstrin molekülünün hidrasyonunu da engelleyen bu hidrojen bağları β -CD'in çözünürlüğünün düşük olmasına neden olmaktadır. Genellikle doğal siklodekstrinlerin sudaki çözünürlükleri sıcaklık artışıyla artmaktadır (Bekers ve ark. 1991).

Siklodekstrinlerin kalitatif ve yarı kantitatif tayininde ince tabaka kromatografisi en hızlı ve en basit yöntemdir. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ise siklodekstrinlerin miktar tayini için en uygun yöntemdir. Gaz kromatografisi ise pek tercih edilmez. Siklodekstrinler HPLC yöntemi kullanılarak hem birbirlerinden hem de pek çok diğer maddelerden kolaylıkla ayrılabilir. Ancak UV alanda absorpsiyon göstermedikleri için miktar tayinlerinde UV detektör kullanılması uygun değildir (Frömming ve Szejtli 1994; Karadağ 1998).

2.1.2. Siklodekstrin Türevleri

Kimyasal olarak modifiye edilmiş siklodekstrin türevleri doğal siklodekstrinlerin fizikokimyasal özelliklerini geliştirmek ve kompleks oluşturma kapasitelerini artırmak üzere geliştirilmiştir. Kimyasal değişikliklerle sudaki çözünürlüğü, stabilitesi artırılmış ve parenteral toksisitesi azaltılmış bir çok amorf siklodekstrin türevi hazırlanmıştır (Matsuda ve Arima 1999; Szente ve Szejtli 1999).

Örneğin β -CD çözünürlüğü düşük olduğu için enjektabl çözeltilerde kullanılamaz. Ayrıca parenteral olarak uygulanan β -CD'in metabolize olamaması ve böbreklerde çözünmeyen kristal kolesterol kompleksleri oluşturması nedeniyle ciddi böbrek toksisitesine neden olmaktadır. Bu nedenle β -CD'in çözünürlüğünün artırılması ve kristalizasyonunun önlenmesi için mutlaka yapısal değişiklikler gerekmektedir (Taneri 2004).

Kristal yapılarındaki güçlü bağlanmalar nedeniyle doğal siklodekstrinlerin suda ki çözünürlüğü, doğrusal dekstrinlerden çok daha düşüktür. Siklodekstrin molekülünde kimyasal değişiklikler yapılarak suda çözünen siklodekstrin türevleri elde edilmektedir (Loftsson ve Duchêne 2007). Doğal siklodekstrin molekülünün kimyasal modifikasyonu için başlangıç noktası 18 (α -CD), 21 (β -CD) ve 24 (γ -CD) adet hidroksil grubudur. C₆-OH gruplarının reaksiyona girme kapasitesi en yüksek iken C₃-OH grubunun ki en düşüktür (Taneri 2004).

Siklodekstrin türevleri 3 ana grup altında incelenebilir (Matsuda ve Arima 1999, Hirayama ve Uekama 1999)

1. Hidrofilik siklodekstrinler: Sudaki çözünürlüğü düşük olan ilaçların çözünürlüğünü ve çözünme hızını arttırmak (Kimura ve ark. 2000).
2. Hidrofobik siklodekstrinler: Suda çözünebilen ilaçların çözünme hızını geciktirir, ilaçların taşıyıcılardan salımlarını değiştirirler. (Horiuchi ve ark. 1990)
3. İyonize siklodekstrinler: İçerik kompleksi oluşturma kapasitesini artırır (Gorecka ve ark. 1995), çözünme hızını değiştirir (Savolainen ve ark. 1998) ve ilaçların lokal irritasyonunu azaltırlar (Stella ve ark. 1995).

β -CD boşluğunun, geniş tarafında 14 adet sekonder hidroksil grubu dar kısmında ise 7 adet primer hidroksil grubu bulunur. Tüm yapısal değişikliklerin (modifikasyonların) başlangıç noktası bu hidroksil gruplarıdır ve pek çok fonksiyonel grup bu makrosiklik halkaya yerleştirilebilir (Taneri 2004). β -CD 'in hidroksil grupları arasında oluşabilecek molekül içi veya moleküller arası hidrojen bağları su molekülleriyle hidrasyonu engelleyerek siklodekstrinin sudaki çözünürlüğünü düşürebilir. Bu hidrojen bağlarının oluşması C₂, C₃ ve C₆ hidroksil gruplarına metil grubunun bağlanmasıyla engellenebilir ve β -CD'nin fizikokimyasal özellikleri önemli bir şekilde değiştirilebilir (Nakai ve ark. 1982; Uekama 1985). Rastgele metilenmiş heterojen Met- β -CD'in (RM- β -CD) yanı sıra iki adet iyi tanımlanmış metilenmiş siklodekstrin olan dimetil- β -CD (DİMEB) ve trimetil- β -CD (TRİMEB) ise sekonder C₂ ile primer C₆ hidroksil gruplarına dimetil, C₃ hidroksil grubuna trimetil grubunun yerleştirilmesiyle hazırlanırlar. Bu türevlerin sudaki çözünürlükleri çok yüksektir (>% 30 a/h, 25°C). DİMEB suda ve organik çözücülerde çok iyi çözünür. Katı haldeki ilacın hidrolitik parçalanmasını önler. Sıcaklık artışıyla doğal siklodekstrinlerin sudaki çözünürlükleri artarken, metillenmiş siklodekstrinlerin çözünürlükleri azalır (Taneri 2004).

β -CD'in alkali ortamda propilen oksit ile kondensasyon reaksiyonu sonucunda siklodekstrin molekülünün bir veya birkaç hidroksiline 2-hidroksipropil grubu bağlanarak hidroksipropil- β -CD'ler (HP- β -CD) hazırlanır (Duchene ve Wouessidjewe 1990). HP- β -CD ve hidroksietil- β -CD (HE- β -CD) bu gruptaki siklodekstrin türevlerine örnek olarak verilebilir. Hidroksialkillenmiş β -CD'lerin sudaki çözünürlükleri doğal siklodekstrinlerden çok daha yüksektir (> % 50 a/h) (Yoshida ve ark. 1989; Siefert ve Keipert 1997). HP- β -CD kompleksinin kristalizasyona eğiliminin β -CD kompleksine oranla çok daha düşük olması, aynı zamanda HP- β -CD'in böbrek toksisitesinin β -CD'den neden daha düşük olduğunun bir göstergesidir (Bekers ve ark. 1991). Ayrıca hidroksialkillenmiş β -CD'lerin insan eritrositleri üzerindeki hemolitik aktiviteleri doğal siklodekstrinler veya DİMEB'inkinden çok daha düşüktür. Sonuç olarak, hidroksialkillenmiş β -siklodekstrinler, substitüe olmamış veya alkillenmiş siklodekstrinlerin toksik potansiyellerini azaltırlar ve bu nedenle intravenöz de dahil olmak üzere parenteral formülasyonlarda kullanılabilirler (Yoshida ve ark. 1989).

Siklodekstrinin glukopiranoz birimine çeşitli anyonik gruplar bağlanarak anyonik siklodekstrin türevleri hazırlanabilir (Rajewski 1991) ve siklodekstrin türevlerinin kompleksleşme davranışları değiştirilebilir. Siklodekstrinin alkali ortamda propansulfon ile reaksiyonu sonucunda sulfopropil-CD, butansulfon ile reaksiyonu sonucunda sulfobutil-CD elde edilir. β -CD'nin sulfobutil eter (SBE- β -CD) türevi bu tip siklodekstrinlerin ticari amaçla en çok kullanılan türevidir (Szente ve Szejtli 1999). SBE7- β -CD (Captisol®), siklodekstrin molekülü başına ortalama yedi sülfobutil eter grubu içerir. Suda çözünürlüğü çok iyi olduğu için ve diğer sulfobutil eter siklodekstrin türevlerinden daha az toksik olduğu için parenteral formülasyonlarda kullanılır (Loftsson ve Johannesson 1994). Sülfonik asit gruplarının düşük pKa değerine bağlı olarak, SBE7- β -CD fizyolojik pH değerlerinde çoklu negatif yükler taşır. Siklodekstrine bağlı olmayan uç kısmında negatif yük taşıyan dört karbonlu butil zinciri siklodekstrinin boşluğunda genişlemeye neden olur. Böylece misafir molekül ile diğer siklodekstrin türevlerine göre, daha güçlü bir bağlanma sağlanır (Thompson 1997). İntestinal Caco-2 hücreleri ile yapılan bir çalışmada SBE7- β -CD'nin bu hücrelere sitotoksik etkisi olmadığı saptanmıştır (Totterman ve ark. 1997). Nagase ve ark. (2002; 2003) SBE7- β -CD ile hazırlanan ilaç siklodekstrin komplekslerinin ilaç kaynaklı sitotoksositeye karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir. Jain ve ark. (2002) danazol:SBE7- β -CD içerik kompleksini içeren tabletlerin tazi köpeklerinde *in vivo* biyoyararlanımını incelemiş ve ilacın absorpsiyonunun çözünürlüğünün artmasına bağlı olarak önemli ölçüde arttığını bildirmiştir. Bu avantajları nedeniyle SBE7- β -CD, suda çözünürlüğü zayıf olan ilaçların fizikokimyasal özelliklerini geliştirmek için üzerine çalışılan önemli siklodekstrin türevlerindendir (Dollo ve ark. 1999; Nagase ve ark. 2001).

Siklodekstrinlerin bir veya iki primer hidroksil grubuna enzimatik olarak α -1,6 glukozidik bağlarla mono- veya di- sakkaritler bağlanarak dallanmış siklodekstrinler hazırlanabilir ve sudaki çözünürlükleri önemli oranda artırılabilir (Hashimoto 1991). Glukozil- β -CD, maltozil- β -CD, dimaltozil- β -CD gibi dallanmış siklodekstrinlerin kompleksleşme yetenekleri doğal siklodekstrinler ile aynı olmasına rağmen, suda ki çözünürlük arttırıcı etkileri doğal siklodekstrinlerden çok daha yüksektir (Okada ve ark. 1999).

Ayrıca siklodekstrin halkalarının birbirine veya başka polimerlere kovalent yolla bağlanmasıyla elde edilen siklodekstrin polimerleri, mükemmel dağıtıcı ve bağlayıcı özelliklere sahip olduğu için tablet endüstrisinde sıkça kullanılmaktadır (Tarımcı ve Çelebi 1988; Frömmling ve Szejtli 1994).

2.1.3. Siklodekstrinlerin Farmakokinetik Özellikleri

2.1.3.1. Siklodekstrinlerin Enzimatik Parçalanması ve Stabilitesi

Siklodekstrinler nişastanın hidrolizine sebep olan enzimlere karşı mükemmel bir direnç gösterirler. β -amilaza karşı tamamen dayanıklıdır ancak α -amilaz tarafından hidrolize edilirler. Siklodekstrin kavitesinin boyutu arttıkça hidrolize olma eğilimi artış gösterir (α -CD < β -CD < γ -CD). Genellikle, hidroksil gruplarının süstitüentlerle muamele edilmesi siklodekstrinlerin enzimlere karşı ilgisini veya enzimlerin intrinsik reaktivitesini azaltarak siklodekstrinlerin hidrolizini yavaşlatır (Uekama ve ark. 1998; Taneri 2004).

α - ve β -CD'ler vücutta metabolizasyona dirençli iken γ -CD büyük bir iç boşluğa sahip olduğundan insan salyası ve pankreatik amilazlar tarafından hidrolize edilir (Uekama ve ark. 1985; Irie ve Uekama 1997).

β -CD fare, tavşan, köpek ve insan kanında, ayrıca fare karaciğer homojenatında hemen hemen hiç hidrolize olmaz (Yamamoto ve ark. 1991). HP- β -CD, intravenöz enjeksiyon sonrasında nerdeyse tamamen böbreklerden glomeruler filtrasyonla elimine edilir (Brewster ve Loftsson 2007). Memeli organizması siklodekstrinleri parçalayamaz. Ancak oral olarak alınan doğal siklodekstrinler ince barsaktan geçişte hidroliz olmazken, kalın barsakta bakteri florasının meydana getirdiği enzimatik hidroliz ile bozulmaya uğramaktadırlar (Frömmling ve Szejtli 1994).

2.1.3.2. Memelilerde Siklodekstrinlerin Oral Yolla Absorpsiyonu Ve Metabolizması

Siklodekstrinler ilaç veya gıda yardımcı maddesi olarak insan ve hayvanda oral yol ile kullanılmaktadır. Serbest halde veya içerik kompleksleri halinde bulunabilirler. β -CD'in serbest yada kompleks halinde oral olarak verilmesinin ardından gerçekleşen işlemler şöyle özetlenebilir (siklodekstrinlerin insanlardaki metabolizması da bu şekilde gerçekleşir) :

Kompleksin hızla çözünmesinin ardından, kompleksi oluşturan misafir ve ev sahibi molekül arasında bir oluşma-ayırışma dengesi oluşmaktadır. Misafir molekül hızla absorbe edilerek sistemik dolaşıma geçerken, siklodekstrinin çok az bir bölümü barsak kanalından absorbe edilir. Siklodekstrinin büyük bir bölümü kolon mikroflorası tarafından hidrolize edilerek kolonda metabolize edilir (Taneri 2004).

Siklik olmayan maltodekstrinler, maltoz ve glukoz gibi primer metabolitler, nişasta gibi metabolize olup absorbe edilirken, karbondioksit ve su şeklinde atılırlar. Siklodekstrinin metabolizmasının nişastaninkinden temel farkı, nişastanın ince barsakta, siklodekstrinin ise kolonda metabolize olmasıdır. Doğal siklodekstrinlerin metabolizma hızları β -CD < α -CD < γ -CD şeklinde sıralanabilir (Taneri 2004).

Szathmary ve ark. (1990) HP- β -CD'nin insanda ki farmakokinetiğini sağlıklı gönüllüler üzerinde tek intravenöz ve oral dozlama ile çalışmıştır. İntravenöz uygulamanın ardından metabolize olmamış HP- β -CD'nin plazma seviyelerinde hızlı bir düşüş görülmüştür. İdrar seviyeleri eliminasyonunun tamamen böbreklerden olduğunu göstermiştir. Oral uygulamadan 1 saat sonra HP- β -CD plazmada yada idrarda saptanamamıştır. Bu gastrointestinal yoldan absorpsiyonunun olmadığını ve insanda oral biyoyararlanımının düşük olduğu göstermektedir.

γ -CD'nin metabolizması nişasta ve doğrusal dekstrinlerinkine çok benzerdir (Munro ve ark. 2004). Oral yoldan alındığında sadece çok küçük bir miktar γ -CD gastrointestinal kanaldan değişmeden absorbe olurken, intravenöz yoldan alınan γ -CD değişmeden idrarla atılmaktadır (Koutsou ve ark. 1999).

Met- β -CD gibi lipofilik siklodekstrin türevlerinin gastrointestinal yoldan sistemik dolaşıma absorbe edildiği ve parenteral uygulamalarda sonra toksisiteye neden olduğu bildirilmiştir (Dordunoo ve Burt 1996).

2.1.3.3. Siklodekstrinlerin Toksikolojisi

Oral yolla alınan siklodekstrinler gastrointestinal yoldan çok az absorbe edildikleri için pratikte toksik değillerdir (Irie ve Uekama 1997). Bir çok güvenlik değerlendirmesi çalışmaları γ -CD, HP- β -CD, SBE7- β -CD, sülfatlanmış- β -CD ve maltozil- β -CD'in parenteral olarak uygulandığında bile güvenli olduklarını göstermiştir. Ancak doğal siklodekstrinlerden α - ve β -CD ve metilenmiş siklodekstrinler parenteral

uygulama için uygun değildir (Martin Del Vale 2004). Siklodekstrinlerin parenteral toksisiteyi böbrek toksisitesi ile karakterize edilirken, β -CD kullanımı ile proksimal tüplerdeki böbrek fonksiyonlarında değişimler, sitoplazmik vakuolasyon, hücre parçalanması ve amorf mineralizasyon gözlenmiştir (Irie ve ark. 1982). Düşük dozda β -CD uygulaması ile oluşan bu etkilere benzer sonuçlar ancak 1000 mg/kg dozda α -CD'in uygulanmasıyla görülebilmektedir. Siklodekstrinlerin insan eritrositlerinin şeklinin değişimine ve yüksek konsantrasyonlarda lizise neden olduğu bilinmektedir. Doğal siklodekstrinlerin hemolitik aktiviteleri sırasıyla β -CD > α -CD > γ -CD şeklinde rapor edilmiştir (Irie ve ark. 1982; Ohtani 1989). γ -CD ve komplekslerinin yüksek çözünürlüklerinin olması ve hızlı enzimatik parçalanmaya uğramaları nedeniyle enjektabl ilaç taşıyıcı olarak kullanılabilecek en uygun siklodekstrin, γ -CD'dir (Frömming ve Szejtli 1994). β -CD suda az çözünmesine ve böbrek toksisitesi gibi yan etkilerine bağlı olarak parenteral olarak uygulanamamasına rağmen oral yolla uygulandığında yüksek toksisiteye sahip değildir. β -CD oral olarak verildiğinde; Letal doz: farede 0.7-0.8 g/kg/gün, köpekte 2 g/kg/gün doz uygulaması ile toksik olmayan doz seviyeleri saptanmıştır (Bellringer ve ark. 1995). Ayrıca HP- β -CD ve SBE7- β -CD gibi hidrofilik siklodekstrinler düşük dozlarda oral ve intravenöz yolla uygulandığında toksik değildir (Irie ve Uekama 1997; Thompson 1997). HP- β -CD doğal β -CD 'den çok daha fazla suda çözünür ve toksikolojik olarak da daha zararsızdır. HP- β -CD 'nin 14 günlük kullanımda 16-24 g/gün dozda ishal gibi basit yan etkileri olmasına rağmen, insanlar tarafından iyi tolere edilebildiği görülmüştür (Irie ve Uekama 1997, Gould ve Scott 2005; Brewster 2007). Metillenmiş siklodekstrinler gastrointestinal kanaldan sistemik dolaşıma daha büyük oranda geçiş gösterirken parenteral uygulama sonrasında toksik oldukları gözlenmiştir (Irie ve Uekama 1997). Metillenmiş siklodekstrinlerin oral kullanımları potansiyel toksisiteyi nedeniyle günümüzde sınırlandırılmıştır. Faredeki oral biyoyararlanımı %5 civarındadır ve maddenin %90 dan fazlası değişmeden feçesle atılır. Fareye intravenöz yolla uygulanan RM- β -CD 'nin %95 i değişmeden idrarla atılmıştır (Toxicological Data 1997). Siklodekstrinlerle sıçan ve tavşanlar üzerinde yapılan çalışmalarda hiçbir teratojenik ve mutajenik etki gözlenmemiştir (Frömming ve Szejtli 1994). β -CD'in albino tavşan derisine 24 saat süre ile uygulanmasından sonra deri iritasyonu incelenmiş ve bu sürenin sonunda eritem, ödem gibi olumsuz etkiler gözlenmemiştir. Doğal siklodekstrinler yüksek dozlarda

kobaylara dermal uygulandığında sırasıyla β -CD > α -CD > γ -CD şeklinde irritasyona sebep olmuştur. Bu siklodekstrinlerin derideki lipitleri bozma kabiliyetlerine bağlı bir sonuçtur. β -CD, HP- β -CD ve RAMEB lipozomları destabilize edebilir ve *Stratum corneum*dan kolesterolü ayırabilirler (Legendre ve ark. 1995). Ancak DSC ve FT-IR çalışmaları siklodekstrinlerin stratum corneumun lipid yapısına penetre olmadıklarını göstermiştir (Irie ve Uekama 1997). β -CD, γ -CD ve HP- β -CD'ler gözde iritasyon yapmazken, α -CD az iritan etki göstermekle beraber korozif etki göstermediği bildirilmiştir (Doorne 1993).

2.1.4. Siklodekstrin İçerik Kompleksleri

Siklodekstrin molekülünün (ev sahibi) boşluğunun başka moleküller (misafir) ile doldurulması ile oluşan komplekslere "içerik kompleksi" denir. Siklodekstrin boşluğuna girebilecek misafir molekülleri kimyasal faktörlerden daha çok, geometrik faktörlere bağlıdır. Misafir molekül siklodekstrin boşluğu içine ya tamamen ya da kısmen girmiş olmalıdır. Boşluk, uygun boyuttaki ilaç moleküllerinin içine girip yerleşebileceği lipofilik bir ortam sunar. İlaç:siklodekstrin kompleksleşmesinde hiç bir kovalan bağ oluşmaz. Sulu çözeltilerde kompleksler derhal ayrışır. Genellikle siklodekstrin boşluğuna hidrofobik moleküller, hidrofilik moleküllerden daha fazla ilgi gösterirler. Siklodekstrinler katı, sıvı ve gaz misafir moleküllerle katı yapıda kompleksler oluştururlar. Böylece sıvılar katı yapılara dönüşebilir (Cromwell ve ark. 1985).

2.1.5. Kompleksleşmeyi Etkileyen Faktörler

2.1.5.1. Sterik Etkiler

Siklodekstrinler boşluk boyutlarına uyum gösteren bileşiklerle içerik kompleksi oluşturabilirler. Değişik iç çaplara sahip α -, β - ve γ -CD'ler değişik boyuttaki moleküllerin yerleşmesine olanak sağlarlar. Siklodekstrin boşluklarından daha büyük olan moleküllerle de kompleks oluşumu mümkündür, bu durumda büyük moleküllerin kenar zincirleri veya belirli gruplar siklodekstrin boşluğuna penetre olabilir ve kompleks oluşturabilir. Ancak çok daha büyük boyutlu moleküller boşluğa penetre olamazlar ve sonuç olarak kompleks oluşumu gerçekleşemez (Mosher ve Thompson 2007). Bunun yanında çok küçük boyutlu moleküllerde, siklodekstrin molekülleri

tarafından çevrelenemediği için boşluğa yerleşemezler (Szejtli 1998). Doğal siklodekstrinlerin bir veya iki kenarındaki hidroksillerin türevlendirilmeleri misafir molekül için gerekli sterik özellikleri etkileyebilir. Hidroksil gruplarında bulunan büyük moleküllerin varlığı sterik olarak siklodekstrin boşluğuna girişi kapatabilir. Bununla birlikte, bazı gruplar sayılarına, esnekliklerine ve bağlanma konumlarına göre boşluğu genişletmiş gibi davranabilir ve daha iyi kompleksleşme sağlayabilir. 3- ve 6-konumlarının sübsitüsyonu boşluğun girişini daraltırken 2- ve 6- konumlarının ki girişin genişlemesine neden olur (Mosher ve Thompson 2007). Müller ve Braun (1985) sübsitüsyon derecesinin siklodekstrinin kompleksleşme yetisine etkileri üzerine yaptıkları çalışmada düşük hidroksipropil sübsitüsyonun siklodekstrini kompleksleşmeye daha elverişli hale getirdiğini göstermiştir. Hidroksil gruplarıyla yer değiştiren bazı moleküllerin siklodekstrin halkasını genişletme etkisi bir avantajken γ -CD'den daha fazla glukopiranoz ünitesine sahip siklodekstrinler düzgün silindirik şekilli yapılar olmayıp, çökmüş bir yapı gösterirler ve boşlukları γ -CD'den daha küçüktür (Szejtli 1998). Ayrıca halkaya eklenen sübsitüentlerin sayısı da bağlanmayı olumlu veya olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Müller ve Brauns (1985) sübsitüsyonun molar derecesinin 3'den 11'e kadar artırılmasının hidrokortizonun HE- β -CD çözeltisi içindeki çözünürlüğünü 10.98 mg/mL den 5.76 mg/mL ye azalttığını göstermiştir.

2.1.5.2. Polarite

İçerik kompleksinin oluşabilmesi için, misafir molekülün polaritesi önem taşır. Genellikle hidrofobik moleküller sulu çözelti içerisinde siklodekstrin boşluğuna daha fazla ilgi gösterirler. Sudan daha fazla hidrofilik özellik gösteren moleküller genellikle kompleks oluşturmaz. Kompleks oluşumu için misafir molekülün sudan daha düşük polaritede olması gereklidir. Suda iyi çözünen kuvvetli hidrofilik moleküllerin, kuvvetli iyonize ve hidrate olabilen grupların kompleks oluşturma kabiliyetleri hiç yoktur ya da çok zayıftır (Betlach ve ark. 1991; 1993).

2.1.5.3. Elektronik Etkiler

Yapılan çalışmalar siklodekstrin boşluğuna çok yakın iyonik yapıların içerik kompleksleşmesinin termodinamik hareketini bozduğunu göstermiştir (Stella ve Rajewski 1992; Gerloczy ve ark. 1994). Yüklü sübsitüent direk olarak siklodekstrin

molekülüne bağlandığında minimum düzeyde kompleksleşme gerçekleşirken yük, dört karbonlu butil grubuyla siklodekstrine bağlandığında siklodekstrin molekülü kompleksleşme özelliğini geri kazanmaktadır (Stella ve Rajewski 1992). Eğer iyonik yük doğrudan siklodekstrinin karbohidrat iskeletine bağlanmıyorsa, iyonik yapıda ki siklodekstrinler nötral hidrofobik ilaçlarla kompleksleşme yapabilirler (Mosher ve Thompson 2007). Hem etkin madde hem siklodekstrin elektriksel olarak yüklü olduğunda, elektrostatik etkiler gözlemlenebilmektedir (Müller ve Brauns 1985; Thuaud ve ark. 1990). İlacın yapısındaki yükün konumu da anyonik bir siklodekstrin ile etkileşimini etkileyebilir (Mosher ve Thompson 2007).

2.1.5.4. Sıcaklık, Katkı Maddesi ve Kosolvan (Yardımcı Çözücü) Etkisi

İçerik kompleksleşmesi bir denge işlemidir ve sistemin sıcaklığı bağlanmanın gücünü etkiler. Bir çok durumda sıcaklığın yükselmesiyle beraber bağlanma sabiti düşer (Mosher ve Thompson 2007). Bağlanma sabitinin düşmesine rağmen sıcaklığın artmasıyla siklodekstrin çözeltisi içerisindeki serbest ilacın intrinsik çözünürlüğü artacaktır (Menard ve ark. 1990; Hoshino ve ark. 1993).

Dordunoo ve Burt (1996) siklodekstrinlerin taksolün çözünürlüğüne etkisini araştırdılar. Çalışmalarında taksolün çözünürlüğünün yardımcı çözücü olarak etanolün eklenmesiyle daha da arttığını gösterdiler.

Loftsson ve arkadaşları (1999) ile Redenti ve arkadaşları (2000) suda çözünen polimerlerin ve hidroksi asitlerin siklodekstrin ilaç kompleksleşmesini ve çözücü etkisini artırdığını rapor etmişlerdir.

2.1.6. Kompleksleşme Mekanizması

Siklodekstrinlerin içerik kompleksleşmesini harekete geçiren güçler; elektrostatik, hidrofobik, yük transfer, van der Waals etkileşimleri ile hidrojen bağlanması olabilir. Genelde van der Waals ve hidrofobik etkileşimlerin en büyük rolü oynadığı saptanmıştır (Liu ve Guo 2002). Siklodekstrin boşluğunun içine yerleşmiş su molekülleri yüksek entalpiye sahiptir ve hidrojen bağlanma potansiyelini doyuramazlar. Sistemin enerjisi, entalpisi yüksek su moleküllerinin yerine sudan daha az polar bir misafir molekülün gelmesiyle azalır (Uekama ve Otagiri 1987). İçerik işleminin iki ana gücünden biri apolar siklodekstrin boşluğu ile içindeki su molekülleri arasındaki itici

güç diğeri ise ortamdaki su ile apolar misafir molekül arasındaki itici güçtür (Szejtli 2004).

Kompleks oluşumu şu şekilde de açıklanabilir (Cramer ve Hettler 1967)

1. Su molekülleri siklodekstrin boşluğunu terk ederek, gaz haline tekabül eden bir enerji seviyesine ulaşırlar. Bunun sonucunda van der Waals etkileşimleri ve hidrojen bağlarının sayısı azalırken serbest su moleküllerinin üç-boyutlu rotasyonel dereceleri artar.

2. Rahatlama sonucu siklodekstrin halkasının konformasyon enerjisi azalır.

3. Polar olmayan misafir molekül, hidrate olan yapısına su almadan, ideal gaz gibi davranarak boş siklodekstrin kavitesine yerleşir ve van der Waals etkileşimleri ve bazen de hidrojen bağları ile kompleks oluşturur.

4. Yer değiştiren su molekülleri gaz halden sıvı hale geçer. Entalpi ve entropideki değişimler suyun kondensasyonunda görülen ile aynıdır.

5. Su molekülü, misafir molekülün dışarıda kalan bölümünü çevreler ve siklodekstrin molekülünün hidrate kabuğu ile birleşir.

2.1.7. Oluşma-Ayrışma Dengesi, Kompleks Oluşum Stabilite Sabitinin Hesaplanması ve Faz Çözünürlük Grafikleri

Siklodekstrin kullanılarak oluşturulan içerik bileşikleriyle çözünürlüğün artırılması, biyoyararlanımın iyileştirilmesi, absorpsiyon hızının artması ve gecikmesi, çözelti veya katı fazda stabilizasyon vb. etkilerin hepsi kompleksin stabilitesine ve çözünürlüğüne bağlı olmaktadır. Kompleks stabilitesi ve misafir molekülün zayıf çözünürlüğünün artırılması arasında doğrudan bir korelasyon mevcuttur.

1:1 – molar oranındaki misafir [D]:ev sahibi [CD] arasındaki denge hali:

$CD + D \leftrightarrow CD.D$ şeklinde olup, kompleks serbest bileşenleri ile daima denge halindedir. Kompleksin stabilite sabiti (K_c) aşağıdaki formülle ifade edilir:

$$K_c = \frac{[D \cdot CD]}{[D] \cdot [CD]} \quad [D] \cong S_0 \quad (2-1)$$

İlacın doymuş sulu çözeltisindeki serbest ilaç konsantrasyonu $[D]$, hemen hemen S_0 'a eşit olur. Buna dayanarak artan verim S_0 'ın, K_c 'nin veya her ikisinin artırılmasıyla sağlanabilir (Uekama ve ark. 1983). Bu durumda kompleksleşme verimi ilacın başlangıçta sudaki çözünürlüğü (S_0) ile ilaç- siklodekstrin kompleksinin stabilite sabitinin çarpımına eşit olacaktır.

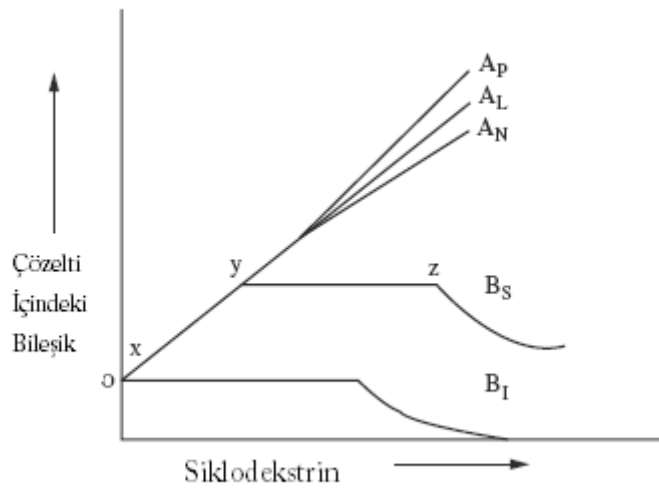
$$\text{Kompleksleşme verimi} = K_c \cdot S_0 = \frac{[D \cdot CD]}{[CD]} \quad (2-2)$$

İlaç-siklodekstrin kompleksleşmesinde hiçbir kovalan bağ oluşmaz veya kopmaz. Sulu çözeltiğinde kompleksler derhal ayrışır. Serbest ilaç molekülleri siklodekstrin boşluğuna bağlı moleküllerle denge halindedir.

Kompleksin stabilitesi (K_C), bu dengenin oluşma veya ayrışma sabiti ile ifade edilir. Seyreltik ilaç:siklodekstrin çözeltiğinde 1:1 stokiyometrisi görülürken, yüksek konsantrasyonlarda veya bazı özel misafir molekülleri ile 1:2, 2:1 veya 2:2 stokiyometrilere gözlenir. Değişik yöntemlerle elde edilen K_C değerleri çok farklıdır. Eğer misafir iyonize olabilen bir molekül ise kompleks oluşum stabilite, sabiti pH değerine ve sıcaklığa bağlı olarak değişmektedir. K_C değerlerinin saptanmasında kullanılan yöntemlerin çoğu misafir molekülünün fizikokimyasal özelliklerindeki titrasyon değişimlerine dayanmaktadır. K_C değerlerinin saptanması ile sudaki çözünürlük, kimyasal reaktivite, molar absorptivite ve diğer optik özellikler, pH-metrik yöntemler, kalorimetrik titrasyon, donma noktası alçalması ve sıvı kromatografisi alıkonma süreleri gibi ek özellikler de ölçülebilir. Serbest enerji (ΔG), entalpi değişim (ΔH) ve entropi değişimi (ΔS) gibi termodinamik parametreler, siklodekstrin kompleksinin sıcaklıkla olan ilişkisinden elde edilebilir (Martin 1969).

Siklodekstrin ve etkin maddelerin içerik komplekslerinin hazırlanabilmesi için önce çözünürlük denge sabitinin ve siklodekstrin bileşim oranlarının hesaplanması

gerekmektedir. Bunun için faz çözünürlük grafikleri çizilmektedir (Higuchi ve Connors 1965). Bir kompleksin oluşumunda bu grafiği saptayabilmek için, siklodekstrinin çeşitli konsantrasyonlarda sulu çözeltisine aşırı miktarda etkin madde ilave edilerek sabit sıcaklık altında denge oluşuncaya kadar karıştırılır. Sistem dengeye ulaştıktan sonra çözelti fazında misafir molekülün konsantrasyonu ölçülerek, total molar etkin madde konsantrasyonunun (y-ekseni), siklodekstrin konsantrasyonuna (x-ekseni) karşı grafiğe geçirilmesiyle faz çözünürlük grafiği çizilir. Bu grafikler A ve B tipi olmak üzere 2 tiptir (Şekil 2-5, Şahin 1998).



Şekil 2-5: Faz-çözünürlük grafiği

Eğer çözünen bir kompleks oluşursa, A tipi; çözünürlüğü düşük ise B tipi faz çözünürlük izotermi görülür (Frömming ve Szejtli 1994, Thompson 1997). B_s tipi grafikler, sınırlı çözünürlüğe sahip komplekslerin; B_i tipi ise hiç çözünmeyen komplekslerin oluşumuna işaretler. B tipi grafiklerde substrat ve ligand arasındaki kompleks oluşumuna bağlı olarak çözünürlük artmaktadır. Belirli bir noktadan sonra kompleks maksimum çözünürlüğe ulaşmakta daha fazla siklodekstrin ilavesi ile çözünürlükte bir artış görülmemektedir. Daha sonra kompleksin çökmeye başladığı bu tip grafikler ise B_s tip olarak adlandırılır. B_i tipi diyagramda ise içerik kompleksi tamamen çözünmediği için başlangıçtaki artış kaydedilemez.

Eğer çalışılan siklodekstrin konsantrasyon aralığında, kompleksin çözünürlük sınırına ulaşılmazsa, A tipi izotermi söz konusudur. A_L tipinde ilaç çözünürlüğü siklodekstrin konsantrasyonuna bağlı olarak doğrusal bir artış gösterir. A_P tipinde ise doğrusallıktan pozitif bir sapma söz konusu olup, bu da kompleksin stokiyometrisinde devamlı bir artışı gösterir. Eğer A_N tipi söz konusu ise sistem daha da karmaşık bir hal alıp kesin olarak açıklanamamakla birlikte, doğrusallıktan negatif bir sapma görülür. Bu durum, misafir molekülün miktarının artışı, çözünen-çözücü etkileşiminde bir değişimi veya her ikisini de gösterir.

1:1 içerik kompleksi için kompleks stabilite sabitinin (K_C) değerleri grafiğin başlangıç doğrusal bölümünün eğim ve kesişiminden hesaplanabilir:

$$K_{1:1} = \frac{(St - So)}{So\{[CD]_t - (St - So)\}} = \frac{\tan \alpha}{So(1 - \tan \alpha)} = \frac{Eğim}{So(1 - Eğim)} \quad (2-3)$$

K_{1:1}: Oluşum stabilite sabiti

St: Toplam çözünmüş etkin madde konsantrasyonu

CD_t: Siklodekstrin konsantrasyonu

S₀: Etkin maddenin sudaki çözünürlüğü

Bu sabitin büyük olması oluşan ürünün stabilitesi yönünden ve misafir molekülün siklodekstrin kavitesine uyum göstermesi açısından önem kazanmaktadır. Ancak, misafir molekülün boşluğu kolayca terk ederek absorplanabilmesi için de çok fazla büyük olmaması gerekmektedir (Lach ve Chin 1964).

2.1.8. Kompleks Hazırlama Yöntemleri

2.1.8.1. Çözelti İçerisinde Siklodekstrin Komplekslerinin Hazırlanması

Bu yöntem hem suda çözünen hem suda çözünmeyen siklodekstrin:ilaç komplekslerinin hazırlanmasında kullanılmaktadır. Suda çözünen etkin maddeler için

siklodekstrinin sıcak sulu çözeltisi üzerine etkin madde ilave edilerek, karışım içerik kompleksi çökene kadar (birkaç saat veya birkaç gün) karıştırılır. Eğer çökme görülmez ise ortam soğutularak içerik kompleksinin çökmesi sağlanır (Frömming ve Szejtli 1994). Ancak suda çözünen etkin maddeler için bu yöntem çok sık kullanılan bir yöntem değildir.

Suda çözünmeyen ilaçların çözünürlüğü için ise yöntem şu şekilde uygulanmaktadır: Aşırı miktarda etkin madde siklodekstrin çözeltisine eklenir. Oluşan süspansiyon bir hafta boyunca istenilen sıcaklıkta çalkalanır. Bu süre sonunda süspansiyon süzülerek veya santrifüj edilerek etkin madde:siklodekstrin kompleksi ayrılır. Etkin madde siklodekstrin kompleksinin katı formülasyonlarını hazırlamak için su kompleks çözeltisinden süblimasyon veya evaporasyon yöntemiyle uzaklaştırılır (Loftsson ve Brewster 1996).

2.1.8.2. Birlikte Çöktürme Yöntemi

Misafir molekülün suda çözünmediği durumlarda bu yöntem uygulanabilmektedir. Misafir molekülün organik çözücüdeki sıcak (~64°C) çözeltisi, siklodekstrinin sudaki çözeltisine devamlı karıştırarak yavaş yavaş eklenir ve oluşan kompleks çöker. Daha sonra vakum altında organik çözücü uçurularak çökelti ayrılıp kurutulur (Çelebi 1987). Yöntemin uzun sürmesi, yüksek miktarda çözücü ve enerji kullanılması, siklodekstrin ile çözücü molekülleri arasında içerik komplekslerinin oluşma riski gibi dezavantajları vardır (Taneri 2004).

2.1.8.3. Nötralizasyon Yöntemi

İyonize olabilen ilaçların katı kompleksleri bu yöntemle hazırlanabilir. Bazık ilaçlar asidik bir çözeltide, asidik ilaçlar ise bazık bir çözeltide çözündürülür. Uygun miktardaki siklodekstrin devamlı kanştırma ile çözeltiye eklenir. Siklodekstrin iyonize olarak suda çözünen ilaç ile berrak bir çözelti oluşturur. pH değeri ilacın iyonize olmadığı değerlere getirilerek ilacın çözünürlüğü azaltılır. Böylece kompleks çözeltiden uzaklaştırılmış olur. Daha sonra katı kompleks santrifüj veya filtrasyon ile çözücünden ayrılır (Loftsson 1999).

2.1.8.4. Katı Fazda Kompleks Oluşturma

Siklodekstrin ve misafir molekülün havanda ezilerek öğütüldüğü fiziksel bir karıştırma söz konusudur (Kata ve Selmeczi 1987). Bu yöntem, ağızda dağılan tabletin kötü tadının maskelenmesinde veya bir bileşiğin çözünürlük problemlerinin giderilmesinde faydalı olabilir. Oluşan kompleksler nemden korunmalıdır (Nakai ve ark. 1978).

2.1.8.5. Örme Yöntemi

Bu yöntem suda az çözünen misafir moleküller için kullanılmaktadır. siklodekstrin ve misafir molekülün fiziksel karışımı üzerine 1:1 (h/h) oranında su:organik çözücü karışımı eklenerek homojen-viskoz bir pat kıvamına getirilir. Çözücü karışımı uçana dek karıştırılır. Önce oda sıcaklığında daha sonra da 105°C'de kurutulur. İşlemin kısa sürmesi, basit, ucuz, az miktarda çözücünün kullanılması ve kompleks oluşma veriminin yüksek olması bu yöntemin avantajlarındandır (Frömming ve Szejtli 1994).

2.1.8.6. Dondurarak ve Püskürterek Kurutma Yöntemleri

Hesaplı miktardaki misafir molekülün organik çözücüdeki çözeltisi ile siklodekstrinin sudaki çözeltisi karıştırılır, dondurarak kurutma yönteminde çözelti soğutulularak dondurulur (-40°C) ve vakum altında liyofilizasyon işlemi ile kurutularak içerik kompleksi hazırlanır. Püskürterek kurutma yönteminde ise karışım berrak bir çözelti elde edilene dek ısıtılır (~64°C), daha sonra bir kurutma hava odası içinde bir rotasyonel atomizer başlığından püskürtülerek kompleks hazırlanır.

Her iki yöntemin de hızlı olması, çok fazla ekipmana ihtiyaç duyulmaması, oluşan içerik kompleksinin partikül büyüklüğünün kontrol edilebilmesi, ürün veriminin yüksek olması bu yöntemin kullanılmasında büyük avantajlar sunmaktadır (Frömming ve Szejtli 1994).

2.1.9. Farmasötik Teknolojide Siklodekstrinlerin Önemi

Siklodekstrinler gıda, ilaç, kozmetik, çevre koruma, kağıt ve tekstil gibi pek çok endüstriyel alanda kullanılmaktadırlar.

İlaç endüstrisinde siklodekstrinler etkin maddelerin çözünürlüğünü artırmak amacıyla kullanılabildikleri gibi, taşıyıcı, çözücü yada tablet katkı maddesi olarakta kullanılmaktadır (Fenyvesi ve ark. 1984; Saleh 1993; Tsai ve ark. 1998; Wu ve ark. 2001).

Hidrofilik yapıdaki siklodekstrin polimerleri yüksek su absorpsiyon ve şişme kapasiteleri nedeniyle tablet hazırlamada bağlayıcı ve dağıtıcı ajan olarak kullanılırlar (Fenyvesi ve ark. 1984; Tarımcı ve Çelebi 1998).

Siklodekstrinlerin önemli özelliklerinden birisi de biyolojik membranlardan ilacın geçişini artırmalarıdır. Biyolojik bariyerlerin karşısında penetrasyon artırıcı gibi davranırlar (Martin Del Vale 2004). Bu amaçla dermal formülasyonların (Uekama ve ark. 2006), ağız yıkama çözeltilerinin (Uekama ve ark. 1992), nazal ilaç uygulama sistemlerinin (Kristmundsdóttir ve ark. 1996) ve göz damlalarının (van Dorne 1993; Kublik ve ark. 1996; Loftsson ve Stefánsson 1997) içeriğine girerler.

Siklodekstrinler topikal formülasyonlarda; transdermal absorpsiyonu artırmak (Uekama ve ark.1985; Glomot ve ark. 1988) ve ilaçların sebep olduğu istenmeyen etkileri gidermek (Hoshino ve ark. 1989; Tomono ve ark. 1991) üzere ilaçların çözünürlüğünü ve stabilitesini artırır (Uekama ve ark. 1992; Jarho ve ark. 1996).

Kontrollü ilaç salım sistemlerinin; tasarımında doğal ve modifiye edilmiş siklodekstrinler kullanılabilir. Oral salım sistemlerinde hidrofilik ve iyonize olabilen siklodekstrinler hem hızlı salım yapan hemde geciktirilmiş salım yapan formülasyonların hazırlanmasında kullanılırken, suda-çözünen ilaçların salım hızının hidrofobik siklodekstrinler ile uzatılabilmesi mümkündür (Hirayama ve Uekama 1999).

Tüm bunların yanında farmasötik alanda ki en geniş kullanımları ilaçların çözünürlüğünü, biyoyararlanımı, stabilitesini artırmaları ve yan etkilerini azaltmalarıdır.

2.1.9.1. Çözünürlüğün ve Biyoyararlanımın İyileştirilmesi

Suda az çözünen etkin maddelerin siklodekstrinler ile kompleks oluşturmaları sonucu hidrofilik özellikleri artmakta ve daha kolay ıslanarak hızla çözünmektedirler (Duchene ve ark. 1998). Kompleksleşmeyi artıran özellikler kısaca aşağıdaki şekilde açıklanabilir.

1.Saf etkin maddenin sudaki çözünürlüğü ne kadar düşük olursa; siklodekstrin kompleksleşmesi ile elde edilen çözünürlük artışı o kadar yüksek olacaktır. Sudaki çözünürlüğü $\mu\text{mol/litre}$ seviyelerinde olan ilaçlar daha büyük bir çözünürlük artışı göstereceklerdir. Eğer misafir molekülün sudaki çözünürlüğü yüksek ise, oluşan kompleks daha düşük çözünme özelliği göstermektedir. Bu durum ise etkin maddenin sürekli salım yapan preparatının hazırlanmasında tercih edilmektedir (Duchene ve Wouessidjewe 1990; Hirayama ve Uekama 1999).

2.Siklodekstrin türevlerinin düşük molar süstitüsyona sahip olanları yüksek molar süstitüsyonuna sahip olanlarından daha iyi çözücüdürler (Örn. düşük molar süstitüsyonlu metillenmiş Siklodekstrinler) (Taneri 2004).

3. Yüklü siklodekstrinlerin çözücü etkileri yükün siklodekstrin boşluğuna olan uzaklığına bağlıdır. Yük ne kadar uzakta olursa, kompleksleşme kabiliyeti o kadar yüksek olacaktır. Nötral siklodekstrinlere oranla, ilaç ve siklodekstrin molekülleri zıt yüklü olduklarında kompleksleşmenin arttığı, benzer yüklü olduklarında ise azaldığı görülmüştür (Taneri 2004).

Siklodekstrinler çözünürlüğü kötü olan ilaçların çözünürlüğünü düzeltir. Çözünürlüğün ve çözünme hızının düşük olması ilacın absorpsiyonunu sınırlandırdığından siklodekstrin ilaç kompleksi oral biyoyararlanımı iyileştirebilir (Swarbrick 2007). Örneğin sefotiyam heksetil hidroklorür midenin asidik şartları altında jel oluşturmakta ve düşük çözünürlük göstermektedir. İlacın siklodekstrin ile kompleksleri hazırlanarak jelleşme önlenmiş, aynı zamanda ilacın çözünürlüğü de artırılmıştır (Hirai 1994). Birçok farklı ilacın çözünürlüğünün ve biyoyararlanımının artırılması için siklodekstrin ve türevleri ile kompleksleri hazırlanmıştır ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Spironolakton (Soliman ve ark. 1997), meklizin (Saket 1997), ketoprofen (Nagarsenker ve ark. 1987), oxazepam (Moyano ve ark. 1997), danazol (Badawy ve ark. 1995), fenitoin (Savolainen ve ark. 1998), ve tolbutamid (Kimura ve ark. 2000) bunlardan bazılarıdır.

2.1.9.2. Yan Etkilerin ve Acı Tadın Azaltılması

Bir ilacın çözünme hızındaki ve derecesindeki iyileştirmeler ilacın absorpsiyon hızını da artırır (Swarbrick 2007). İlacın doku mukozasıyla temas süresini azaltmak ilacın neden olduğu doku irritasyonunu minimize eder. Nonsteroidal anti-inflamatuar

ilaçlar hem lokal irritasyona neden olması hem de sistemik prostaglandin sentezini inhibe etmesi nedeniyle yüksek oranda gastrointestinal ülseratif lezyonlara neden olurlar (Swarbrick 2007). Naproksen (Otero ve ark. 1991), diklofenak (Park ve ark. 1997) ve proksikamın (Santucci ve ark. 1992) siklodekstrin kompleksleri ilacın tek başına gösterdiği akut doku irritasyonundan çok daha az gastrik lezyona sebep olmaktadır. Siklodekstrin içeren formülasyonlar oftalmik (Loftsson ve Jarvinen 1999), intravenöz (Doenicke ve ark. 1994) ve intramusküler (Stella ve ark. 1995) uygulamalarda siklodekstrin içermeyenlere göre daha az irritasyona neden olmaktadır.

Ayrıca siklodekstrinlerle kompleksleşme ilacın tat reseptörleriyle temasını azaltır ve böylece acı tada sahip ilaçların oral çözeltilerinin hazırlanmasında büyük faydası olur. İlacın siklodekstrin boşluğuna yerleştirilmesi sadece ilaç-reseptör temasını engellemez aynı zamanda hidrofilikliği artırarak acı maddenin reseptör üzerinden uzaklaşmasını kolaylaştırır. Oksifenonyum bromit (Funasaki ve ark. 1999), propantelin bromit (Funasaki ve ark. 1996), klofibrat (Uekama ve ark. 1983) ve asetaminofen (Weiszfeiler ve Szejtli 1988) gibi bir çok ilacın acı tatları siklodekstrin kompleksleri hazırlanarak maskelenmiştir.

2.1.9.3. İlaç Stabilitesinin İyileştirilmesi

Siklodekstrinler farmasötik formülasyonlarda stabilizasyon ajanı olarak kullanılmaktadır (Loftsson 1995, Loftsson ve Brewster 1996). İlaçları hem çözelti hem de katı halde hidrolize (Ueda ve ark. 1997), hidrolitik dehalojenasyona (Ma ve ark. 2000), oksidasyona (Schlenk ve ark. 1955), dekarboksilasyona ve izomerizasyona (Hirayama ve ark. 1984) karşı dayanıklı hale getirirler. Pek çok etkin madde bu tip reaksiyonlara karşı siklodekstrinler ile kompleks oluşturularak stabilize edilebilir. Fakat ilaç:siklodekstrin kompleksi oluşturulması her zaman ilacın stabilizasyonu ile sonuçlanmaz. Bazı durumlarda kompleksin toz etkin maddeye göre daha dayanıksız olduğu gözlenmiştir. Antikanser bir madde olan karmofur'un katı durumdaki parçalanma hızının β -CD ile kompleksleşmesiyle arttığı saptanmıştır (Marshall ve Miwa 1981). Aztreonam maddesinin özel baz katalizli parçalanması pH 6'nın üzerindeki değerlerde baskındır ve siklodekstrinler aztreonamın bu pH değerlerinde parçalanmasını hızlandırırlar (Hirayama ve ark.1992). Ayrıca bazı özel koşullar altında siklodekstrinlerin aspirin (Kikuchi ve ark.1987), antialerjik bir ilaç olan transilast

(Choudhury ve Mitra 1993), antiülser ajan olan 2^L-(karboksimetoksi)-4, 4^L-bis(3-metil-2-buteniloksi)salkon (Utsuki ve ark. 1993a), ve tromboksan sentetaz inhibitörü (E)-4-(1-imidazoilmetil)sinnamik asit (Utsuki ve ark. 1993b) gibi ilaçları destabilize ettiği gösterilmiştir. Siklodekstrinler bozunma reaksiyonlarını yavaşlatabilir veya hızlandırabilirler. Diğer bir deyişle siklodekstrinler bazen enzimatik kataliz veya inhibisyonu taklit edebilirler. Bu özellikleri, etkin maddenin siklodekstrin boşluğuna uygun olup olmadığına, içerik kompleksi oluşturup oluşturmadığına ve oluşan kompleksin yapısına bağlıdır (Bekers ve ark. 1991, Acarturk 1993, Loftsson ve Brewster 1996). Stabilizasyonun doğası kullanılan siklodekstrine ve misafir molekülün siklodekstrin içindeki pozisyonuna bağlıdır. Katı durumda ilaçların parçalanmaya karşı stabilizasyonu nikardipin (Mielcarek 1996), kolşisin (Ammar ve El-Nahhas 1995), prostaglandin E1 (Yamamoto ve ark. 1992), diklofenak (Cwiernia ve ark. 1999) ve sulfametoksazol (Lee ve ark. 1988) gibi birçok ilaç için bildirilmiştir. Stabilizasyon küçük moleküllerle sınırlı değildir. Peptitler ve proteinler gibi büyük molekül ağırlığındaki bileşikler ile kompleks oluşturularak kimyasal ve fiziksel stabiliteleri artırılabilir (Sigurjonsdottir ve ark. 1999). Ayrıca siklodekstrinler etkin maddenin sulu çözelti içindeki dayanıklılığını da arttırabilirler (Uekama ve ark. 2001; Scalia ve ark. 2002; Linares ve Langhi 2003). Bu özellikleri onların hidroliz reaksiyonlarını engellemesi esasına dayanmaktadır. Siklodekstrinler sayesinde bazı ilaçların ışığa karşı hassasiyetleri minimuma indirilebilmektedir (Vincieri ve ark. 1988). Uçuculuğun azalması, etkin maddenin kaynama noktasının yükselmesi veya sıvı maddenin buharlaşması, katı maddenin süblimasyon koşullarının değişmesi ile olmaktadır. Yani buharlaşma, erime ve süblimasyon sıcaklıkları artmaktadır. Esansiyel yağlar ve bazı uçucu ilaçların siklodekstrinler ile içerik kompleksleri hazırlanmıştır (Lin ve Xu 1992; Qi ve Hedges 1995). Siklodekstrin kompleksleşmesinin limon yağı (Qi ve Hedges 1995), klofibrat (Uekama ve ark. 1983) ve izosorbid 5-mononitrat (El-Nimr 1983) gibi birçok maddenin uçuculuğunu azalttığı ve stabilitesini artırdığı gösterilmiştir.

2.2. Vajina Hakkında Genel Bilgiler

2.2.1. Vajinanın Anatomik Yapısı

Vajina, mesanenin arkasında rektumun önünde yerleşik olarak arkaya ve yukarıya doğru vestibülden uterusu kadar uzanır. Uzunluğu ön duvarı boyunca 6,5-7 cm

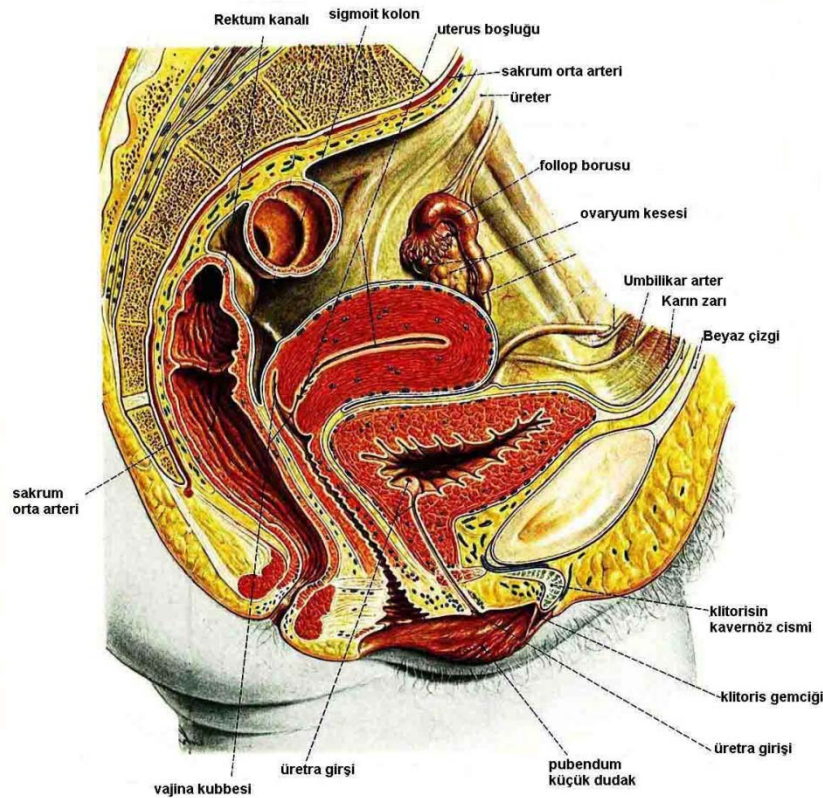
ve arka duvarı boyunca 9 cm kadardır. Başlangıç bölgesinde b z k, ortada genişleyen, uterus sınırında daralan bir yapısı vardır. Vajinanın  st kısmı serviksın etrafını sarar, serviks ile olan bu bağı uterusun arka duvarında  n duvarından daha yükseğe uzanır (Valenta 2005). Oldukça kalın bir bağ dokusu vajinanın uzunluğu boyunca,  n vajinal duvar ile üriner kanal arasında ve aynı zamanda arka vajinal duvar ile intestinal kanal arasına yerleşmiştir (Chien ve Lee 2007a).

Vajina duvarı içten dışa doğru yapı olarak farklı üç tabakadan oluşmaktadır (Acartürk 2002);

Tunica mucosa (epitel doku)

Tunica muscularis (düz kaslar)

Tunica adventita (organı saran bağ dokusu)



şekil 2-6: Vajinanın anatomik yapısı

Tunica mucosa çok katlı yassı epitel tabakası ile örtülüdür. Vajinal epitel; yüzeysel bölge, orta stratum ve bazal bölge olmak üzere 3 kısıma ayrılır. Yüzeysel bölge; dejenere olmuş gibi görünen basık hücrelerden oluşur. Orta stratum, epiteller

arası keratinizasyon bölgesidir, ayrıca burada ki hücreler yüzeysel bölgedeki hücrelerden daha basık ve kısmen keratinizedir. Bazal bölge ise genellikle iki tabakaya ayrılır, tabakalardan biri bir veya çok hücreli olarak farklı kalınlıktayken, diğer tabaka epidermisin *Stratum germinativum* tabakasına benzer ve keratinizasyon bölgesinin tam altındadır (Smith ve Brunner 2005). Ön ve arka duvarların iç yüzeyinde enine uzanan plikalar yer alır. Vajina mukozasında salgı bezleri bulunmaz. Mukozayı sürekli ıslak ve kaygan tutan salgının bir kısmı uterusun serviksinden gelir, diğer bir kısmı ise uterus salgısının içerdiği fermentler ve vajinada bulunan bakterilerin etkisi ile oluşmaktadır (Çalış ve ark. 1994). Vajinal epitel, yaşlanmayla beraber değişimlere maruz kalır. Bu tabakanın kalınlığı hormon aktivitesine bağlı olarak artar ve direnç kazanır. Özel bir etkiye bağlı olarak epitel tabakasında yer yer kalınlaşmalar meydana gelebilir. Üreme safhası epitelin en kalın olduğu dönemdir ve ovülasyon sırasında en yüksek glikojen içeriğine ulaşır. Sekresyon fazında epitelin kalınlığı hücrelerin dökülmesine bağlı olarak tekrar azalır (Williams ve ark. 1989).

Tunica muscularis genellikle düz kaslardan oluşur. Vajinanın kas dokusu zayıftır ve kas lifleri arasına karışmış bağ dokusu içerir (Simunek 1988; Leeson ve ark. 1998). Dış tarafındaki çok daha güçlü olan dikey tabaka ve iç tarafında olan dairesel tabaka olmak üzere iki tabakadan oluşur. Dikey lifler uterusun yüzeysel kas lifleri olarak devam eder. Bu iki tabaka birbirinden ayrı değildir, bir tabakadan diğerine geçen eğik çapraz demetlerle birbirlerine temas ederler. Bu kas tabakasının dışı büyük kan damar ağı içeren bağ dokusunun bir tabakasıdır (Valenta 2005).

Tunica adventita ise organı saran bağ dokusudur ve vajinayı komşu organlara bağlar (Leeson ve ark. 1988; Simunek 1988). Vajina lümeninin hacmindeki oynamalar, bu tabakanın gerilmesindeki değişikliklere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Vajina, arter, ven ve lenf kapillerleri ile kaplanmış olup, duyu ve anatomik sınırlar ile kuşatılmıştır (Chien ve Lee 2007b). Vajina kas dokusu içerisinde bulunan yumuşak elastik lifler sayesinde mükemmel bir esnekliğe sahiptir. *Tunica adventia* tabakasının seyrek bağ dokusu da bu organın esnekliğini daha çok artırır (Hussain ve Ahsan 2005).

Vajinal mukozanın epiteli; bazal, parabazal, orta, geçiş/değişim ve yüzeysel tabaka olmak üzere beş farklı hücresel tabakadan oluşmaktadır. Bu tabakaları oluşturan hücre tipleri, hormonal aktivite ve hücre içi iletim ile uyarıldıkça devamlı olarak

yenilenir. Kolon veya skuamöz şekilli olan bazal hücreler membran yüzeylerinde mikrovilli taşır. Parabazal hücreler ise büyüklük ve yapıca bazal hücrelere benzemekle beraber yüzey mikrovilli ve interdişitasyon (Birbirini izleyen doku ya da organların bağlantısını sağlayan ara bağlar) oluşumları daha çoktur. Bu hücreler komşu hücrelerden bağımsız ve poligonal şekildedir. Orta tabaka hücreleri de mikrovillilere sahiptir (Chien ve Lee 2007b).

Vajina salgı bezi içermediğinden dolayı, vajina sıvısı; vajinal hücreler, kan damarlarından hücreler arası kanallarla gelen transudat (cilt, mukoza, seroza gibi yüzeyden sızan organik sıvı) ve serviks mukusundan oluşur (Chien ve Lee 2007b). Sıvının içeriğinde enzimler, enzim inhibitörleri, proteinler, karbohidratlar, aminoasitler, alkoller, hidroksiketonlar, aromatik bileşikler, alifatik asitler ve immünoglobulinler vardır (Wagner ve Levin 1978; Chien ve Lee 2007b). Vajinal sıvı heterojen bir salgıdır, epitel üzerinde koruyucu, kaydırıcı etkiye sahiptir. Vajinal epitelin kalınlığı gibi vajinal sıvının miktarı ve bileşeni de menstural döngü boyunca değişir. Üreme çağındaki kadınlardaki sıvı miktarı 3-4 g/4 saattir (Hussain ve Ahsan 2005). Menopoz sonrası kadınlarda ise üreme çağındaki kadınlara oranla sıvı üretimi % 50 azalır (Bergh 1988). Glikojen, östrojenin etkisi ile vajinal hücrelerde depolanır ve epitel hücrelerde glikojen oranı %3'dür. Bu, karaciğer hücrelerinden sonra ulaşılan en yüksek glikojen oranıdır. Vajina içinde bulunan *Lactobacillus acidophilus* türü bakteriler epitel hücrelerinde bulunan glikojeni direkt olarak laktik aside dönüştürerek vajina pH'sının 3.8-4.2 arasında olmasını sağlar (Butler ve Beakley 1960, Stolnick ve ark. 1963). Menstrüasyon süresince, vajinal sıvının pH değeri artar ve pH aralığı 6,5-9 olan serviks mukusunun varlığı ile vajinal transudat miktarı vajinanın pH'sında değişikliğe neden olur (Woolfson ve ark. 2000). Vajinanın dış hücre tabakaları çeşitli miktarlarda β -glukuronidaz, asit fosfotaz, α -naftilesteraz, difosfopiridin nükleotid diaforaz (DPND), fosfoamidaz ve suksinik dehidrojenaz içerir (Chien ve Lee 2007b). Vajina epitel tabakası yüksek enzim aktivitesine sahip olduğundan vajina içine uygulanan ilaçların kısa ve uzun dönem stabilitelerini etkileyebilir (Hussain ve Ahsan 2005).

Vajina ekolojisi, epitel hücrelerin glikojen içeriği, pH, hormonal seviyeler, cinsel ilişki sırasındaki travma, doğum kontrol metodu, yaş, antimikrobiyal tedavi gibi faktörlerden etkilenir. Vajinal flora; vajinal ortamda bulunan aerop ve anaerop

mikroorganizma türleri ile beraber çoğunlukla Laktobasillerden oluşan dinamik bir sistemdir (Valenta 2005). Laktobasiller dışında florayı oluşturan diğer mikroorganizmalar; Bakteriodes, Peptokoklar, *S. epidermitis*, Korinobakteriler, Peptostreptokoklar, B ve D grubu streptokoklar, *E. Coli* ve Eubakteriumlar'dır. *Candida albicans* ise vajina florasında düşük miktarlarda bulunur. Ayrıca florada *Gardnerella vaginalis* ve *Trichomonas vaginalis* de bulunur. Vajina florasında *Neisseria gonorrhoeae*, HSV (Herpes Simplex Virus) ve HPV (Human Papilloma Virus) bulunmaz (Balcı ve Çapar 2005). Menopoz öncesi dönemde östrojen üretimi düşer ve menopoz süresince vajinal glikojen içeriğinde kalıcı bir düşüş söz konusudur. Bu dönemde asidofilik organizmalar baskın değildir ancak varlıklarını sürdürür (Valenta 2005).

2.2.2. Vajinal Absorpsiyon

İlaçların vajina epitel tabakasından absorpsiyonu; vajina epitelinin kalınlığı ve porositesi, vajinal sıvının hacmi, viskozitesi ve pH'sı, siklik değişiklikler gibi fizyolojik faktörlerle beraber molekül ağırlığı, lipofilite, iyonizasyon gibi ilacın fizikokimyasal özelliklerinden de etkilenir (Richardson ve Illium 1992).

İlaçların vajina membranından geçişi;

1. Konsantrasyon farkına bağlı olarak hücreden difüzyon suretiyle gerçekleşen hücre içi yol,
2. Hücreler arası boşluklardan difüzyonun hakim olduğu hücreler arası yol,
3. Veziküllerden dolaylı transport,

olmak üzere üç temel yolla gerçekleşmektedir (Williams ve ark. 1989; Richardson ve Illium 1992) .

Absorpsiyondan önce ilaç absorpsiyon ortamında çözünmelidir (Chien ve Lee 2007b). Vajinada bulunan sıvı, ilaçların çözünmesine yardımcı olur, ancak servikal mukus salgısı bir bariyer teşkil eder ve fazla miktarda bulunduğu ilacın absorpsiyon bölgesinden uzaklaşmasına neden olur (Richardson ve Illium 1992).

2.2.3. Vajinal Mukus

Mukus heterojen bir salgıdır ve epitel üzerinde koruyucu ve kaydırıcı etkiye sahiptir. Menstrual döngüye bağlı olarak mukus miktarlarında değişkenlik görülebilir. Mukusun başlıca bileşeni glukoproteinlerdir. Yüksek molekül ağırlığına sahip glukoprotein, sülfat bağlarıyla diğer alt ünitelere bağlanır, iyonik bağlarla ise oligosakkarit zincirinin terminal uçlarına yerleşmiş sialik asitlerle etkileşir. Mukus bileşimindeki yüksek molekül ağırlığındaki (~500 kDa) glukoprotein yapısındaki bileşiğe musin adı verilmektedir. Başka bir ifadeyle musin, mukusun viskozitesini artıran ve mukoadesyon olayına katılan bir makromoleküldür (Khanvilkar ve ark. 2001; Chien ve Lee 2007b).

2.2.4. Vajinal İlaç Uygulamasının Avantaj ve Dezavantajları

Vajinal ilaç uygulamasının avantajları aşağıdaki şekilde sıralanabilir.

- Vajinanın yüzey alanı yani absorpsiyon alanı oldukça geniştir (Gürsoy 2002).
- Fizikokimyasal özellikleri uygun olan maddeler için yüksek geçirgenliğe sahiptir (Gürsoy 2002).
- Damarlanma fazla olduğu için emilim yüksektir (Gürsoy 2002),
- İlacı karaciğer ilk geçiş etkisinden korur (Patel 1984),
- İlaçların karaciğere olan yan etkileri azalır (Cedars ve Judd 1987),
- Gastrointestinal yolla ilaç uygulamasında görülen yan etkilerin büyük çoğunluğu ya görülmez ya çok az olur (Varmesh 1988),
- Paranteral yollarla oluşabilecek ağrı, acı, doku hasarı ve enfeksiyon gelişimi gibi sorunlar vajinal uygulamada görülmez.
- İlaç şeklinin hasta tarafından kendi kendine uygulanabilmesi ve çıkarılabilmesi mümkündür (Okada 1991).

Bu avantajlarının yanında, uygulamasının cinsiyete özgü olması ve kültürel etkenler gibi dezavantajları vardır (Gürsoy 2002). Ayrıca vajinal permeabilite östrojen konsantrasyonundan güçlü bir şekilde etkilenir ve bu da sistemik etki için tasarlanmış ilaçların farmakokinetik davranışlarını etkileyebilir (Okada 1991).

2.2.5. Vajinaya Uygulanan Farmasötik Dozaj Şekilleri

Kremler, jeller, tabletler, kapsüller, ovüller, köpükler, tamponlar, vajinal halkalar en çok kullanılan vajinal ilaç şekilleridir (Guyot ve Fawaz 1993, Çalış 1994).

Vajinaya uygulanan farmasötik dozaj şekillerinden beklenen özellikler (Despande ve ark. 1992) ;

- Vajinal epitel için optimum pH'nın devamı sağlanmalı
- Uygulama kolaylığı olmalı
- Vajina boyunca ilacın dağılımı eşit olmalı
- Diğer ilaçlarla geçimli olmalı
- Doku iritasyonu yapmamalı
- Rahatsız edici kokusu bulunmamalı
- Deri ve çamaşırlara leke bulaştırmamalı
- Cinsel ilişki sırasında ağrı oluşturmamalı
- Vajinanın fizyolojik koşullarına zarar vermemelidir.

2.2.5.1. Kremler, Köpükler ve Jeller

Piyasada bulunan pek çok vajinal ürün krem, köpük ve jel formundadır. Bu ürünlerin kullanımı kolay olmalı, vajinal membrana toksik veya iritan etki yapmamalıdır (Hussain ve Ahsan 2005). En yaygın olarak kullanılan ürünler, nonoksinol-9 gibi spermisidal etkin maddeleri içeren ve doğum kontrolünde kullanılan kontraseptif kremler, köpükler ve jellerdir. Menopoz semptomlarının tedavisi için östrojen içeren vajinal kremler piyasada bulunmaktadır. Menopoz sonrası dönemdeki kadınlar için vajinal biyoadeziv nemlendirici preparatlar mevcuttur (Nachtigall 1994). Düşük pH'da ki laktat jelleri bakteriyel vajinozis tedavisinde kullanılmaktadır. Vajinozisin intravajinal yoldan antimikrobiyal maddelerle lokal tedavisi özellikle hamile bayanlarda oral tedavi yerine tercih edilmektedir (Holst ve Brandberg 1990). Bakteriyel vajinozis tedavisinde, metronidazol ve klindamisin içeren vajinal kremlerin bu ilaçların oral formülasyonları ile neredeyse aynı etkinliği gösterdiği saptanmıştır (DuBouchet ve ark. 1998). Bunun yanı sıra intravajinal yolla aşı uygulaması için

geliştirilmiş jeller de bulunmaktadır. İntravajinal kolera aşısının oral uygulamaya göre daha iyi mukozal immün yanıt verdiği saptanmıştır (Wassen ve ark. 1996).

2.2.5.2. Supozituarlar ve Vajinal Tabletler

Vajinaya uygulanan supozituar ve tabletler vajinal boşluk içerisinde erimek ve ilacı istenen sürede salmak üzere tasarlanmışlardır. Vajinaya uygulanan tablet formülasyonlarında mukoadezif polimerlerin kullanılmasıyla formülasyonun vajinada kalma süresi artırılabilir. Supozituar sistemleri doğum öncesi servikal olgunlaşma için ve lokal tedavi için ilaç uygulanmasında çok sık kullanılan sistemlerdir (Hussain ve Ahsan 2005). Serviks uterus üzerine olgunlaştırıcı etkisi için dehidroepiandrosteron sülfat (Yamashita ve ark. 1991), vajinal kandidiyazis için mikonazol (Vukovich ve ark. 1977; Abrams ve Weintraub 1983) vajinal supozituar olarak uygulanan ilaçlardır. Vajinal tabletler vajinal dokuda oluşan hastalıkların bölgesel tedavisinde kullanılmaktadır (Holst ve Brandberg 1990; Knuth ve ark. 1993). Bir antitümör ajan olan bleomisin hidrokispropil selüloz ve poliakrilik asit gibi biyoadezif polimerler ile hazırlanan tablet formülasyonlarının, mukozal tahrişi en aza indirdiği ve yavaş salım ile ilacın tedavi etkinliğini arttırdığı görülmüştür (Machida ve ark. 1979).

2.2.5.3. Halkalar

Vajinal halkalar, etkin maddenin kontrollü olarak salımını sağlayan, doğum kontrolü için geliştirilmiş sistemlerdir. Bu amaçla en çok kullanılan etkin maddeler, medroksiprogesteron asetat, estradiol, norgesterol, levonorgesterol, progestin-estradiol kombinasyonu ve progestin-östrojen kombinasyonu olarak sıralanabilir (Çalış ve ark. 1994).

Vajinal halkalar, ilaç içermeyen bir çekirdek halka ve ilaç taşıyan bir kaplama tabakasından oluşan vücutla uyumlu silikon elastomerler ile hazırlanırlar. Vajinal halkalar serviksin çevresine yerleştirilir. Kontrasepsiyon için tasarlanan halkalar intravajinal olarak 21 gün tutulur ve menstrüel akışa izin vermek üzere 7 gün sonra çıkarılır (Chien ve Lee 2007b).

2.2.5.4. Tamponlar

Vajinal tamponlar, vajinal enfeksiyonların lokal tedavisinde kullanılan ve vajinaya belirli bir süre yerleştirilen tek dozlu katı preparatlardır. Uygulanmasından

sonra, tampon katları açılır ve tampon çapı genişleyerek vajina duvarına yapışır. Bu şekilde ilaç ile enfeksiyon bölgesi arasında yakın temas sağlanır. Genişleyen tampon, etkin maddenin tedavi boyunca vajinada kalmasını sağlar. Tamponlar özel aplikatörler gerektirmemeleri ve gece-gündüz tedavi olanağı sağlaması gibi üstünlüklere sahiptirler. Vajinal kandidiyaz tedavisinde kullanılan çeşitli antifungal ilaçları içeren tamponlar ilaç pazarında bulunmaktadır (Simunek 1988).

2.2.5.5. Vajinal Kapsüller

Temel spermisidal taşıyıcılardan biri olan vajinal kapsüller, tek dozlu, katı preparatlardır. Büyüklükleri ve şekilleri dışında genellikle yumuşak kapsüllere benzerler. Bu kapsüllerden etkin maddenin uzun süreli veya geciktirilmiş salımı sağlanabilmektedir. Vajinal enfeksiyonlara bağlı pH artışı ve vajinal kuruluk kapsüllerin parçalanmasında ve ilacın salımında dezavantaj oluşturur (British Pharmacopoeia 2002).

2.2.5.6. Mukoadezif Sistemler

Mukoadezif özellikteki maddeler ilaç formülasyonunun vajinada kalış süresini uzatır ve ilacın formülasyondan kontrollü olarak salımını sağlar. Pek çok hidrofilik polimer vajinaya uygulanan dozaj şekillerinin hazırlanmasında kullanılmıştır. Bunlar arasında kitozan, kollajen, proteinler, jelatin, selüloz türevleri ve poliakrilik asitler bulunmaktadır (Holst ve Brandberg 1990; Knuth ve ark. 1993; Chien ve Lee 2007b). Vajinaya uygulanan mukoadezif tabletler genellikle vajina dokusundaki hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Holst ve Brandberg 1990, Knuth ve ark. 1993). Antitümör etkinlikte bir ilaç olan bleomisin, HPMC ve Carbopol®934 kombinasyonu ile oluşturulmuş düz yüzeyli bir disk içine yerleştirilmiştir. Vajinal yolla uygulanan bu formülasyonun sağlıklı mukozanın irritasyonunu en aza indirdiği ve yavaş salım gösterdiği saptanmıştır (Machida ve ark. 1979).

Nazal ve oral yol ile kullanılan mukoadezif birçok mikropartiküler sistem intravajinal yoldan da kullanılmaktadır. Mukoadezif özellikteki hyaluronik asit benzil esteri, salmon kalsitonin vajinal mikroküre formülasyonlarının hazırlanmasında kullanılmıştır (Bonucci 1995).

2.3. Mukozaya Yapışan Sistemler Hakkında Genel Bilgiler

Biyoadesyon, sentetik veya doğal polimerlerin biyolojik dokuya belli bir süre bağlanma yeteneğidir. Diğer bir tanımla biyoadesyon, en az biri biyolojik kaynaklı olan iki yüzeyin yüzeylerarası kuvvetlerinin etkisiyle belirli bir süre temas etmeleri durumudur. Söz konusu doku mukoza olduğunda ise mukoadesyon olarak ifade edilmektedir (Mizina 2001, Salamat-Miller ve Chittchang 2005).

İçeriğinde bulunan polimerlerin hidratasyonu sonucu biyolojik dokuya yapışma özelliği kazanan mukoadezif sistemler, ilacın uygulama bölgesinde kalış süresini artırır ve uzun süreli ilaç salımına imkan sağlar. Uygun adezif özellik gösteren polimerler kullanılarak rektal, vajinal, pulmoner, oküler, bukkal, oral ve nazal yollarla etkin maddeyi kontrollü serbestleştiren formülasyonlar hazırlanabilmektedir (Dodou ve ark. 2005)

Mukoadezif sistemlerin üstünlükleri aşağıdaki şekilde sıralanabilir (Shojaei ve ark. 2001; Gürsoy 2002; Chowdary ve Rao 2004; Salamat-Miller ve Chittchang 2005):

1. Mukoadezif sistemler, ilacın biyoyararlanımını artırmak için uygulama bölgesine kolayca lokalize olur.
2. Dozaj şeklinin uygulama bölgesine tutunma süresini uzatarak etkin maddenin biyoyararlanımını artırır.
3. Etkin maddenin uygulanan bölgede kontrollü salımını sağlar.
4. Mukoadezif sistemler ilacın absorpsiyon yüzeyiyle yakın temasını sağlar. Böylece doku geçirgenliğini artırarak özellikle protein ve peptit gibi makromoleküllerin absorpsiyonunu düzenler.
5. Uygulama bölgesine bağlı olarak ilk geçiş etkisi elimine edilebilir.
6. Lokal uygulamalarda ilacın gastrointestinal yan etkilerini ortadan kaldırır ve gastrointestinal bölgedeki asit hidrolizini engeller.

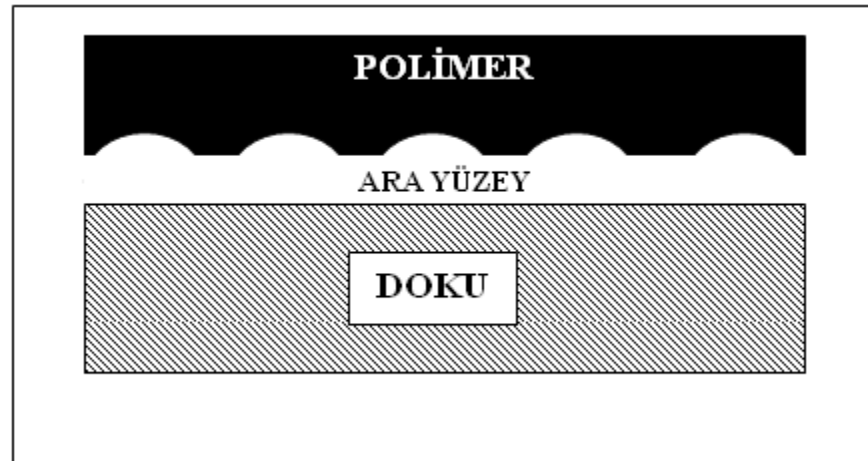
2.3.1. Mukoadesyon Mekanizması ve Teorileri

Mukozal dokular viskoz bir sıvı olan mukus ile kaplıdır. Mukus mukozayı mekanik, kimyasal, bakteriyel veya viral etkilere karşı korur (Duchene ve ark. 1988). Mukusun içeriğindeki ana bileşikler; glukoproteinler, lipitler, su, ölü epitel hücreleri,

elektrolitler ve bakterilerdir (Khanvilkar ve ark. 2001). Bunların yanında % 0,5-1 oranında mineral tuzlar ve % 1 oranında serbest protein içerir. İçeriğindeki su oranı % 95, glukoprotein ve lipid oranı ise % 0,5-5 civarındadır (Rathbone ve Hadgraft 1991). Ancak mukusun tam içeriği salgılandığı bölgeye, fizyolojik ya da mekanik rolüne ve herhangi bir hastalık durumuna göre değişir. Mukusun bileşimindeki yüksek molekül ağırlığındaki glukoprotein yapısındaki bileşiğe musin adı verilir (Allen 1978). Musin mukusun başlıca bileşenidir. Sekretuar musin ve membrana bağlı musin olmak üzere iki değişik formu bulunur (Strous ve Dekker 1992). Sekretuar musin, yüksek molekül ağırlığında olması ve molekül içi disülfid köprüsü oluşturabilmesinden dolayı mukoza üzerinde viskoz bir jel oluşturur (Khanvilkar ve ark. 2001).

Mukoadezif bir sistem ile doku arasında oluşan ara yüzeyde mukus tabakası önemli rol oynar (15). Polimer ile mukoza arasında adezyonun oluşması için etkin olan 3 bölge vardır (Gürsoy 2002, Şekil 2-7):

1. Mukoadezif materyalin yüzeyi
2. Mukozanın üst tabakası
3. Mukoza ile mukoadezif materyal arasında mukus içeren ara yüzey



Şekil 2-7: Mukoadezyonda etkin olan bölgeler

Adezyonun gerçekleşebilmesi için biyoadezif materyal ile biyolojik doku arasında sıkı bir temas gerekmektedir. Ara yüzeyin nemlenmesine bağlı olarak kullanılan polimerin şişmesi, polimer ile mukus makromolekülleri arasında karşılıklı interpenetrasyonun gerçekleşmesi ve düşük enerjili kimyasal bağların oluşması

mukoadezyon safhalarıdır. Mukoadezif materyalin doku kıvrımları arasına yerleşmesiyle fiziksel ve mekanik bağlar oluşmaktadır. İyonik bağlar, kovalent bağlar, hidrojen bağları, van der Waals bağları ve hidrofobik bağlar aracılığıyla polimer biyolojik dokuya yapışır (Duchene ve ark. 1988; Duchene ve Ponchel 1989).

Mukoadezyon için öne sürülen 6 adet adezyon teorisi vardır.

2.3.1.1. Elektronik Teori

Temas edecek yüzeyler arasında elektronik yapılarındaki farklılıklardan dolayı elektron transferi gerçekleşir. Çekici güçlere bağlı adezyon oluşumuyla birlikte ara yüzeyde elektriksel çift tabaka oluştuğu öne sürülmüştür (Ahuja ve ark. 1997, Mathiowitz ve Chickering 1999).

2.3.1.2. Islanma Teorisi

Bu teori öncelikli olarak sıvı sistemlere uygulanır. Yüzey ve yüzeyler arası enerjiler ve adezyon oluşumu için ön koşul olan bir sıvının bir yüzey üzerine kendiliğinden yayılabilme yeteneği önemlidir. Sıvının bir yüzey için ilgisi; sıvının yüzeye temas açısını hesaplamakta kullanılan teknikler kullanılarak hesaplanabilir. Genel kural; temas açısı düşükse sıvının yüzeye ilgisi yüksektir. Sıvının yüzeye yayılma katsayısı (SAB) katı yüzeyin ve sıvının yüzey enerjilerinden aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanabilir:

$$S_{AB} = \gamma_B - \gamma_A - \gamma_{AB} \quad (2-4)$$

γ_A : A sıvısının yüzey gerilimi (enerjisi)

γ_B : B katı yüzeyinin yüzey enerjisi

γ_{AB} : sıvı ve katı arasındaki yüzeyler arası enerji

Sıvının katı üzerinde kendiliğinden yayılması için S_{AB} değeri pozitif olmalıdır.

Adezyon işi (W_A), iki fazı birbirinden ayırmak için gerekli enerjiyi gösterir; ve

$$W_A = \gamma_A + \gamma_B - \gamma_{AB} \quad (2-5)$$

şeklinde ifade edilir.

Yüzeylerarası enerjiyle ilgili olarak sıvının ve katının birbirinden ayrı yüzey enerjileri ne kadar büyük olursa adezyon işi de o ölçüde büyük olur.

2.3.1.3. Adsorpsiyon Teorisi

Bu teori hidrojen bağları ve van der Waals kuvvetlerine dayanarak adezif bileşiklerin bağlanmasını açıklar. Adezif etkileşimlere katkıda bulunan ana kuvvetler bu kuvvetlerdir (Mathiowitz ve Chickering 1999).

2.3.1.4. Difüzyon Teorisi

Bu teori polimer zincirlerinin adezif ara yüzey içine yayılımını açıklar. Bu süreç moleküler zincirlerin uzunluklarından ve hareketliliklerinden etkilenir. Yüzeylerarası penetrasyonun derinliği difüzyon katsayısı ve temas süresine bağlıdır (Peppas ve Sahlin 1996).

2.3.1.5. Mekanik Teori

Bu teori sıvının adezif, pürüzlü bir yüzeydeki girintiler içine kenetlenmesiyle adezyonun ortaya çıktığını varsaymaktadır (Mathiowitz ve Chickering 1999).

2.3.1.6. Kopma Teorisi

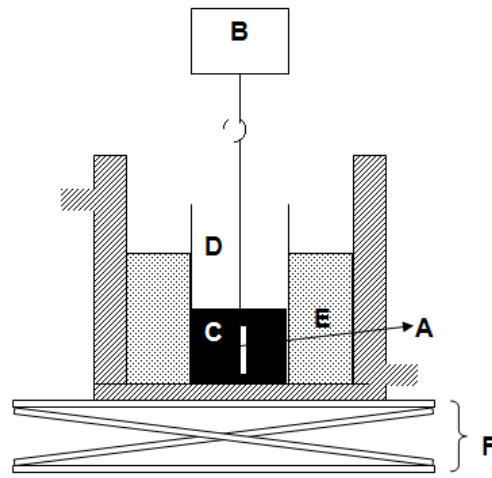
Adezyon sonrasında iki yüzeyi birbirinden ayırmak için gereken kuvvet ile ilgilidir. Birbirine yapışmış olan iki yüzeyi ayırma zorluğu, yapışma kuvveti ile bağlantılıdır (Peppas ve Buri 1985; Jimenez-Castallenos ve ark.1993).

2.3.2. Mukoadesyon Ölçüm Yöntemleri

2.3.2.1. Wilhelmy Tablası Yüzey Gerilimi Yöntemi

Kellaway ve ark. (1982; 1984) tarafından geliştirilmiş bir yöntemdir. Bu cihaz; genel olarak mikroteraziden (B) sarkıtılan bir cam plaka (A) ile bir beher (D), musin çözeltisi (C), beherin içinde bulundurulduğu bir su banyosu (E) ve banyonun tüm sistemle beraber üzerine oturtulduğu tabladan (F) oluşmaktadır. (Şekil 2-8) Mikroteraziden sarkıtılan cam plakalar incelenecek biyoadezif materyalin % 1'lik çözeltisine daldırılır ve ardından plaka 60°C'lik etüvde sabit ağırlığa kadar kurutulur.

Böylece üzeri ince bir polimer tabakası ile kaplı cam plaka elde edilmiş olur. Bu cam plaka homojenize musin çözeltisi içeren beher içine tamamen daldırılarak, 7 dakika boyunca bu şekilde bekletilir. Bu süre sonunda tüm sistemi üzerinde taşıyan platform, cam plaka tamamen ortamdaki çıkana kadar sabit hızda alçaltılır. Bu işlem sırasında kaydedilen maksimum kuvvet polimer ile mukusu birbirinden ayırmak için gerekli olan biyoadhezyon kuvvetidir. Bu metod hızlı ve ucuz bir yöntem olması açısından avantajlıdır.



Şekil 2-8: Wilhelmy tablası yüzey gerilimi yönteminde kullanılan cihazın şematik görünümü

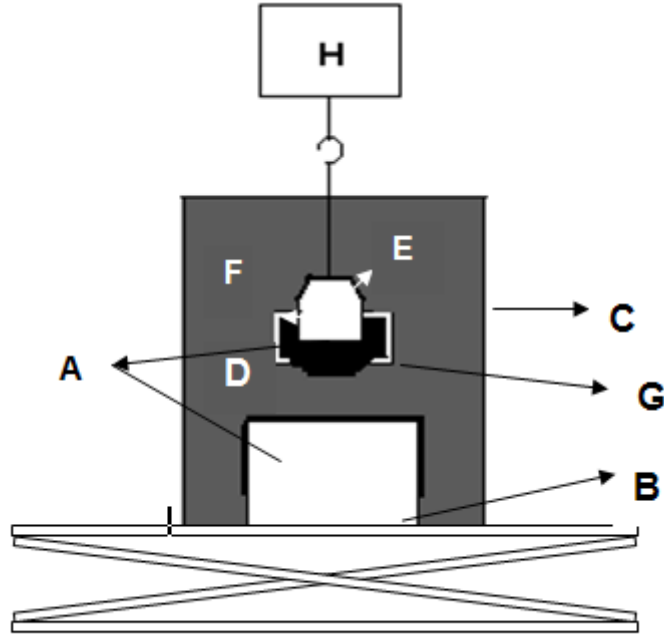
2.3.2.2. Floresans İşaretleme Yöntemi

Robinson ve ark. (1984) tarafından geliştirilmiş bu yöntemde insan konjunktival epitel hücreleri kullanılmıştır. Hücreler piren veya floressein izotiyosiyanat ile işaretlendikten sonra, biyoadhezif polimer çözeltisi ile karıştırılır. Bu işlem sonucunda hücre membranında meydana gelen değişim, floresansın da değişimine neden olmaktadır. Floresans spektrofotometrisi kullanılarak polimer ile hücreler arasındaki bağ kuvveti tespit edilir ve buna bağlı olarak da mukoadezyon kuvveti ölçülür.

2.3.2.3. Modifiye Yüzey Gerilim Yöntemi

Robinson ve ark. (Ching ve ark. 1985; Park ve Robinson 1985) tarafından geliştirilmiş bir diğer yöntemdir. Bu yöntemde polimerin tavşan mide mukoza dokusundan ayrılabilmesi için gereken kuvvet tespit edilmiştir (Şekil 2-9). Yöntemde

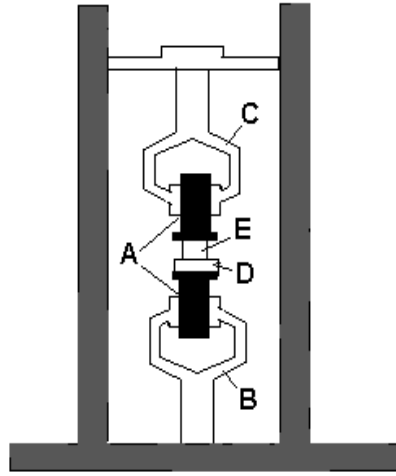
bir doku kesiti (A), beher (C) içerisinde bulunan bir cam şişenin (B) üzerine yerleştirilmiştir. Bir başka doku kesiti ise bir teraziden (H) sarkıtılan kauçuk tıpanın (E) alt yüzüne ortası delik bir şişe kapağı (F) içine konulmuştur. Beher içerisinde suni mide vasatı (D) bulunmaktadır. Üstte bulunan tıpada yer alan doku üzerine birkaç mg polimer (G) ilave edilmiştir. Doku kesitleri 1 dk süre ile temas ettirildikten sonra polimer ile mukus tamamen ayrılana kadar 10 mg/sn hızda gerilim uygulanmıştır.



Şekil 2-9: Modifiye yüzey gerilim aletinin şematik görüntüsü

2.3.2.4. Gerilme Direnci Yöntemi

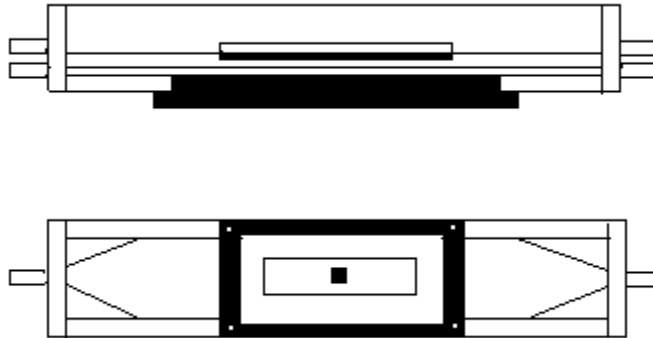
Ponchel ve ark. (1987) tarafından Instron gerilim testi cihazı modifiye edilerek cihazın üstte bulunan hareketli kirişine ve alttaki sabit çenesi üzerine T şeklinde metalik dikey sporlar eklenmiştir (Şekil 2-10). Bu yöntemde alt destek üzerine biyolojik materyal, üst desteğin alt yüzeyine ise biyoadhezif materyal yerleştirilir. İki destek polimer ile mukoza yüzeyi temas edecek şekilde yaklaşık 0.5 N kuvvetle 10 dakika bir arada tutulur. Süre sonunda iki yapı birbirinden tamamen ayrılana kadar sabit hızda çekme uygulanır. Kuvvet-mesafe eğrisinin altında kalan alanda adhezyon işi hesaplanır (Ponchel ve ark. 1987; Peppas ve ark. 1987; Duchene ve ark. 1988).



Şekil 2-10: Gerilme direnci aletinin şematik görünümü A: Metalik sporlar B ve C: Çeneler D:Mukus E:Tablet

2.3.2.5. Akış Kanal Yöntemi

Mikos ve Peppas (1990) tarafından geliştirilen bu yöntemde 29.9 cm boyunda, 4 cm eninde ve 0.4 cm yüksekliğinde olan bir akış kanalı kullanılmıştır (Şekil 2-11). Kanalin alt kısmındaki termostatlı bir ceket sistemi kanalın sıcaklığını kontrol etmeye imkan sağlamaktadır. Kanalin üst kısmında yer alan kapak, kanal içerisindeki 0.4 cm derinliğindeki boşluğa, suni veya doğal mukus jeli ve incelenen polimerin yerleştirilmesini sağlamaktadır. Kanal, akış kontrollü bir gaz tüpüne bağlı olup gaz akışı sırasında partikülün hareketini incelemek amacıyla ışık mikroskopyu, video kamera ve kayıt cihazı ile fotoğraf makinesi kullanılmaktadır. Bu yöntem kullanılarak mukoza ile 200 μm çapında katı polimerik mikropartiküllerin arasındaki adeziv kuvvetler tayin edilmiştir.



Şekil 2-11: Akış kanal yönteminde kullanılan aletin şematik görünümü

2.3.2.6. Özefagusa Adezyon Yöntemi

Farklı dozaj formlarının özefagusa adezyonunun incelenmesi esasına dayanan bu yöntem Marlova ve ark. (1982; 1983) tarafından geliştirilmiştir. Yöntemde, iki farklı banyo sistemi kullanılmış ve her iki sistemde domuz özefagusu ve 37°C de oksijenle havalandırılan Tyrode çözeltisi konulmuştur. Sistemde yer alan banyo 60 mL hacminde ve üst ucu bir tüp yardımıyla açık bırakılmıştır. Tüpün alt ucu ise sıkıca bağlanarak kapatılmıştır. Diğer banyonun hacmi 2000 mL olup buradaki özefagusun her iki ucu da bir tüp yardımıyla açık bırakılmıştır. Özefagusun içine yerleştirilecek olan dozaj formu ortasından delinerek 500 g kapasiteli teraziye bağlanmış ve sabit su akışı sağlanarak kopma uygulanmıştır.

2.3.3. Mukozaya Yapışan Sistemlerin Uygulama Yolları

2.3.3.1. Bukkal Bölge

Bukkal mukoza hem sistemik hem de lokal etki amacıyla mukoadezif sistemlerin sıklıkla uygulandığı bölgelerden biridir (Şenel ve Hıncal 1995). Ağız içi boşluk küçük yüzey alanına sahiptir (50 cm²) (Lee ve ark. 2000) ancak yine de sistemik ilaç absorpsiyonu açısından bazı avantajlara sahip bir bölgedir. İlaç ilk geçiş etkisinden korur ve keratinize olmayan epitel tabaka ilaçlar için oldukça geçirgendir. Tükürük salgılanması ve yutma yüzünden ağız içi boşlukta materyallerin kalış süresi kısa olur. Bu yüzden bukkal mukozaya tutunacak mukoadezif sistemlerin geliştirilmesi önemlidir. Ağız içi boşluk mide ve ince barsak da bulunan peptidaz enzimlerini içermediğinden, normalde enjekte edilerek kullanılan terapötik peptitlerin uygulanması için de uygun bir bölgedir (Woodley 2001).

2.3.3.2. Nazal Bölge

Kullanım kolaylığı, ilk geçiş etkisinden ilacı koruması, daha geçirgen olması ve iyi damarlanmış membranı nazal boşluğu ilaç iletim sistemleri için de çekici bir bölge haline getirmektedir. Ancak yüzey alanının küçük olması (150-200 cm²) (Verhoef ve Merkus 1994) ve mukosiliyer hareket ile ilacın kalış süresinin kısa olması bu bölgenin dezavantajlarıdır. Bu bölgeye uygulanan ilaçların ilaç salımına ve absorpsiyonuna uygun kalış süresi sağlamak için mukoadezif formülasyonların geliştirilmesi önemlidir. Nazal boşluk özellikle insülin ve aşılarda gibi terapötik makromoleküllerin uygulanması için uygun bir bölgedir (Woodley 2001).

2.3.3.3. Göz

Göze ilaç uygulamasında en önemli problemlerden biri göz yaşı ile ilacın hızlı atılımıdır. Bu yüzden biyoadezyonla ilacın kalış süresinin uzatılması bu bölge için tasarlanan ilaçlarda önemli bir hedeftir. Mukoadezif bir polimer olan Carbopol®934P nin prekorneal klirensi eşit viskozitede ki mukoadezif olmayan polivinil alkol (PVA) çözeltisiyle karşılaştırılmıştır. Carbopol®934P nin kornea üzerinde kalış süresinin PVA'dan belirgin bir şekilde daha yüksek olduğu bulunmuş ve bununla ilacın biyoyararlanımını artırdığı rapor edilmiştir (Davies ve ark. 1991). Ancak biyoadezif polimerler genelde biyoadezyon özelliğinden çok viskozite artırıcı olarak oftalmik formulasyonlarda kullanılmaktadır. Jel şeklindeki formulasyonların gözde kornea üzerine yayılma ve görüşü bulanıklaştırma gibi dezavantajları vardır (Woodley 2001). Biyoadezif mikropartiküller sistemler ve insertler oküler ilaç salımı için araştırılmakta ve lokal ilaç uygulamasında umut vaat etmektedir (Gurtler ve ark. 1995; Zimmer ve ark. 1995; Bourlais ve ark. 1998 Genta ve ark. 1997). Bununla birlikte göz sistemik ilaç uygulaması için sık kullanılacak bir yol gibi gözükmemektedir.

2.3.3.4. Gastrointestinal Yol

Gastrointestinal yol hiç kuşkusuz en çok tercih edilen ve olasılıkla ilaç absorpsiyonu en karmaşık yoldur. Oral yolla ilaç uygulamasının muhtemel sorunları; mukusla kaplı gastrointestinal epitel tabakası gibi kritik bariyerler, mukusun yenilenme hızı, pH aralığı, geçiş süresi, karaciğerdeki ilk geçiş etkisi, hızlı luminal enzimatik parçalanma ve terapötik kan seviyelerine ulaşmak için daha uzun sürenin gerekmesidir. Günlük tek doz uygulama ve lokal etki için ilacın kalış süresinin uzatılmasında oral biyoadezif sistemler kullanılmaktadır. Gastrointestinal yol için uzun süreli salım yapan tabletler, yarı katı şekiller, tozlar, mikro- ve nanopartiküller gibi biyoadezif dozaj şekilleri ile çalışılmıştır (Lee ve ark. 2000). Selüloz veya akrilik asit türevleri gibi polimerleri içeren biyoadezif çok tabakalı tabletler hızlı ve güçlü adezyon sağlayarak gastrointestinal yolda ilacın kalış süresini uzattığı saptanmıştır (Duchene ve Ponchel 1992).

2.3.3.5. Vajinal Bölge

Geleneksel vajinal dozaj şekilleri çözelti, süspansiyonlar, jeller, mikropartiküller, supozituarlar, kremler, köpükler ve tabletler kısa temas süresine

sahiptir. Robinson ve ark. (Robinson ve Bologna 1994) biyoadezif polikarbofil içeren jellerin vajinal dokuda 3-4 gün süre ile kaldığını ve bu nedenle progesteron gibi ilaçların salımı için kullanılabileceğini bildirmiştir. Chang ve ark. (2002) yaptıkları bir çalışmada, vajinal kandidiyaz tedavisinde yaygın olarak kullanılan klotrimazolün sıcaklığa duyarlı mukoadezif jel formülasyonlarını hazırlamışlardır. Klotrimazol içeren ısıya duyarlı mukoadezif sistemlerin kullanımının kolay olduğu ve dozlama sıklığını azalttığından dolayı vajinal kandidiyaz tedavisinde de etkili olduğunu belirtilmişlerdir.

Kalsein içeren vajinal lipozom formülasyonları farklı yöntemlerle hazırlanmıştır. Hidrofilik karakterinden ve biyoadezif özelliğinde dolayı poliakrilatlar (Carbopol® 974P ve Carbopol® 980NF) lipozom taşıyıcısı olarak seçilmiştir. Jel sistemlerin içine yerleştirilen lipozomların vajinal yolla yeni bir ilaç taşıyıcı sistem olarak etkinliği araştırılmıştır. Elde edilen bulgulara göre preparatın vajinada kalış süresi artmış, lipozomların jel içerisinde tutulma süreleri uzamış ve böylece kontrollü ve uzun süreli salım sağlanmıştır (Pavelic ve ark. 2001). Salmon kalsitoninin vajinal uygulama için hiyalüronik asitin benzil esteri kullanılarak mikropartikülleri hazırlanmış ve farelerde denenmiştir. Vajinal mukoadezif formülasyonların intramusküler uygulama kadar etkin olduğu saptanmıştır (Bonucci ve ark. 1995).

Richardson ve ark. (1992) koyunlarda insülinin çözeltiden ve biyoadezif mikrokürelerden vajinal absorpsiyonunu karşılaştırmalı olarak incelemişlerdir. İnsülinin çözeltiden elde edilen absorpsiyonu minimum düzeyde bulunurken mikrokürelerden sağlanan absorpsiyon ile plazma glukoz seviyelerinde ciddi düşüş sağlanmıştır.

Kitozan, mikrokristal selüloz, sodyum aljinat ve sodyum karboksimetil selüloz polimerleri kullanılarak % 20 oranında metronidazol içeren tablet formülasyonları hazırlanmıştır. Elde edilen bulgulara göre, % 6 kitozan, % 24 sodyum aljinat, % 30 sodyum karboksimetil selüloz ve %20 mikrokristal selüloz içeren formülasyonun en yüksek adezyonu gösterdiği ve pH 4.8 fosfat tamponunda 8 saat içerisinde metronidazolün % 100'ünü saldığı bildirilmiştir (El-Kamel ve ark. 2002a).

Doğum kontrolünde kullanılan nonoksinol-9 ve EDTA içeren vajinal mukoadezif jel sistemleri geliştirilmiştir. Koyun vajinasında yapılan mukoadezyon çalışmaları sonucunda, formülasyonlarda kullanılan Carbopol® 934P oranının artışına bağlı olarak mukoadezyonun arttığı görülmüştür. Formülasyonların pH değerinin artışı

ile jellerin mukozaya yapışma kuvvetinin azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca kalsiyum iyonlarının, çapraz bağlanma ajanı gibi hareket ederek polimerin karboksil gruplarıyla etkileştiği ve polimer zincirleri arasında köprüler oluşturduğu saptanmıştır. EDTA gibi kelat oluşturuca ajanların ise mukusa penetre olarak biyoadezyon kuvvetini arttırdığı tespit edilmiştir (Lee ve Chien 1996)

2.3.4. Mukoadezif Polimerler

Mukoadezif sistemlerin hazırlanmasında kullanılan polimerler iyonik yüklerine göre; noniyonik, anyonik ve katyonik olarak üç grup halinde sınıflandırılırlar.

Noniyonik Polimerler

Bu tip polimerler yavaş hidrasyon hızına bağlı olarak mukozal yüzeye etkili bir şekilde tutunur ve şişerek güçlü bir yüzeysel jel oluştururlar (Shojaei ve ark. 2005). Metil selüloz, hidroksipropilmetil selüloz, guar zambkı, polietilen oksit, polivinil alkol polivinil pirolidon ve skleroglucan noniyonik polimerlerden bazılarıdır. Hidroksipropil metilselüloz (HPMC), kısmen metilenmiş ve O-(2-hidroksi propillenmiş) selüloz türevi bir non iyonik polimerdir. Sıklıkla oral, oftalmik ve topikal farmasötik formülasyonlarda kullanılmaktadır (Rowe ve ark. 2006). Nasal uygulama için gentamisin sülfat içeren biyoadezif mikroküreler püskürterek kurutma yöntemiyle hazırlanmıştır. Mikrokürelerin burun mukozasında kalış süresini uzatmak için biyoadezif karakterdeki HPMC kullanılmış ve *in vitro* karakterizasyon çalışmaları sonucunda mikrokürelerin nazal uygulama için uygun boyutlarda olduğu ve iyi mukoadezif özellik gösterdiği saptanmıştır (Haşçıçek ve ark. 2002). Bukkal ilaç uygulamasına yönelik geliştirilen polimerik filmlerin hazırlanmasında HPMC ve sodyum karboksimetil selüloz kullanılmıştır. Filmlerin biyoadezyon, şişme ve mekanik özellikleri incelendiğinde, HPMC'nin bukkal ilaç uygulamasında taşıyıcı olarak sodyum karboksimetil selülozdan daha iyi olduğu; daha sağlam ve elastikiyetinin daha yüksek olduğu, *in vivo* olarak daha iyi biyoadezyon gösterdiği saptanmıştır (Peh ve Wong 1999). HPMC nin yanında sodyum karboksimetil selüloz, metilselüloz gibi diğer selüloz türevlerinin de vajinal mukoadezif formülasyon araştırmalarında kullanıldığı görülmektedir (Gordon-Wright ve Elder 1979; Ceschel ve ark. 2001; El-Kamel ve ark. 2002b).

Anyonik Polimerler

Yapılarındaki negatif yüklü gruplar musin glikoproteinlerindeki sialik asit ile van der Waals bağları oluştururlar ve bu da polimerin mukus ile etkileşmesini sağlar (Shojaei ve ark. 2001). Karboksimetil selüloz, pektin, ksantan zımkı, poliakrilik asitler, sodyum aljinat ve sodyum karboksimetil selüloz anionic polimerlerden bazılarıdır. Vajinal uygulamalarda üzerinde en çok araştırma yapılan polimerler arasında anyonik polimerlerden poliakrilik asit türevleri vardır. Vajinal kuruluk (Robinson ve Bologna 1994; Caswell ve Kane 2002), kontraseptif etki (Owen ve ark. 2003), vajinal immünizasyon (Kunisawaa ve ark. 2001; Yu-Kyoung ve ark. 2003), lokal tedavi (Bouckaert ve ark. 1995; Ghelardi ve ark. 1998; Jung ve ark. 2002) ve vajina yoluyla sistemik ilaç salımı (Han ve ark. 1995; Brown ve ark. 1997; Toner 2000) üzerine bir çok çalışma mevcuttur. Karbomerler (910, 934, 940, 941, 971P, 974P) pentaeritrolün alil eterleri veya alil sukrozu ile çapraz bağ yapmış yüksek moleküler ağırlıkta akrilik asit polimerlerdir. İçeriklerinde % 56-68 arasında karboksilik asit (COOH) grubu vardır (Rowe ve ark. 2006). Servikal intraepitelyal neoplazinin tedavisi için Carbopol®934P ile 5-florourasil yüklü yamalar hazırlanmış ve polimerin mukoadezif gücü ve ilaç salımına etkisi incelenmiştir. Preparat güçlü mukoadesyon sağlamış ve 20 saat içinde ilacın tamamını salmıştır (Woolfson ve ark. 1995). Disodyum kromoglikatın Carbopol®934P ile nazal mikroküreleri hazırlanmış ve çözünürlük hızı ve mukoadesyonu incelenmiştir. Mikrokürelerden ilaç salım hızının çözelti formuna göre daha yavaş olduğu ve mikrokürelerin yüksek mukoadesyon gösterdiği bildirilmiştir (Vidgren ve ark. 1992). Yüksek molekül ağırlıklı bir polisakkarit olan ksantan zımkı bir diğer zayıf anyonik polimerdir. İçeriğinde D-glukuronik asit ile birlikte D-glukoz ve D-mannoz bulunur (Rowe ve ark. 2006). Ksantan zımkı oral ve topikal farmasötik formülasyonlarda sıkça kullanılan bir polimerdir (Bumphrey 1986; Chollet ve ark. 1999). Toksik olmayan diğer birçok farmasötik maddeyle uyumlu, geniş pH ve sıcaklık değerleri aralığında iyi stabilite ve viskozite özelliklerine sahiptir. İlk olarak süspansiyon ajanı olarak kullanılsa da, uzatılmış salım yapan matriks tabletlerin hazırlanmasında da kullanılmıştır (Lu ve ark. 1991; Dhopeswarkar ve Zatz 1993; Talukdar ve ark. 1998; Billa ve ark. 2000). Diltiazem HCl'in ksantan zımkı kullanılarak hazırlanan kontrollü salım yapan tabletlerinin ilacın salımını sürekli hale getirdiği ve ilaç salım profilinin pH dan etkilenmediği rapor edilmiştir (Peh ve Wong 2000). Gözde musin ile etkileşerek

prekorneal alanda ilacın kalış süresini uzatan oftalmik sıvı dozaj şeklinin içeriğinde bulunur (Ceulemans ve ark. 2002). Ayrıca ksantan zatk vajinal formülasyonlarda biyoadeziv gücü arttırmak üzere ve kolona özel ilaç uygulama sistemlerinde bağlayıcı olarak kullanılabilir (Sinha ve Kumria 2002; Vermani ve ark. 2002). Sodyum alginat da vajinaya uygulanan mukoadeziv formülasyonların hazırlanmasında kullanılan bir diğer anyonik polimerdir (Dunmire ve Katz 1997; Owen ve ark. 1999).

Kasyonik polimerler

Yapılarındaki pozitif yüklü grupların musin glikoproteinlerindeki sialik asit ile hidrojen bağı veya iyonik bağlar oluşturmaları sonucu mukoadezyonu sağlar (Dodou ve ark. 2005). Aminodekstran, kitozan ve dimetilaminoetil dekstran (DEAE) kasyonik polimerlerden bazılarıdır. Kitozan, glukozamin ve *N*-asetilglukozamin birimleri içeren doğal polikasyonik kopolimerdir. Biyolojik olarak uyumlu ve toksik olmayan bir polimerdir (Singla ve Chawala 2001). Suda çözünmesi ve pozitif yüklü olması teknolojik açıdan bakıldığında önemli bir parametredir. Mukoza yüzeylerine yapışma gücünün yüksek olması nedeniyle, özellikle mukozaya ilaç taşıyan sistemler için uygun bir polimerdir (Luessen ve ark. 1996; Singla ve Chawla 2001; Kim ve ark. 2003).

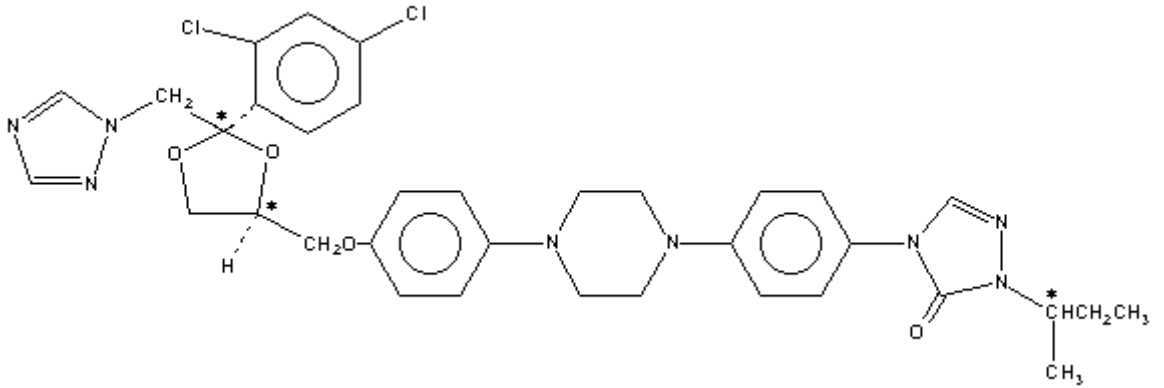
2.4. İtrakonazol Hakkında Genel Bilgiler

İtrakonazol geniş spektrumlu imidazol türevi antifungal bir maddedir.

Kapalı Formülü : $C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$

Molekül Ağırlığı : 705.64

Açık Formülü : 4-[4-[4-[4-[[2-(2,4-diklorofenil)- 2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)- 1,3-dioksola 4- il]metoksi]fenil] piperazin-1-il]fenil]- 2-(1-metilpropil)-2,4-dihidro-1, 2,4-triazol- 3-on



2.4.1. Fizikokimyasal Özellikleri :

İtrakonazol düşük pH değerlerinde iyonize olabilen zayıf bazik bir bileşiktir ($pK_a = 3,7$). Çözünürlüğü pH 1,2 de $1,8 \mu\text{g/mL}$ dir. n-oktanol/su tampon (pH 8,1) partiyon kat sayısının logaritmik değeri 5,66'dır ve yüksek lipofilik özellik gösterir (Heykants ve ark. 1989, Jung ve ark. 1999).

2.4.2. Farmakodinamik Özellikleri

İtrakonazol, fungal sitokrom P450-katalaz reaksiyonlarını inhibe ederek lanosterolün, mantarların büyümesinde aktif rol oynayan ergosterole dönüşümünü engeller (Vanden Bossche ve ark. 1995). Ergosterolün azalması ve lanosterolün ergosterole dönüşmesine aracılık eden 14α -metilsterollerin birikmesiyle hücre membranı geçirgenliğinde ve membrana bağlı enzim aktivitesinde anormallikler gelişerek hücre büyümesi inhibe edilir ve hücre ölür (Grant ve Clissold 1989; Bailey ve ark. 1990; Como ve Dismukes 1994; Zuckerman ve Tunkel 1994). Diğer kabul edilen antifungal etki mekanizması ise fungal sitokrom c oksidatif ve peroksidatif enzimlerin inhibisyonu ile hücreler arası hidrojen peroksit birikimi sonucu fungal hücre fosfolipit tabakasının bozulmasıdır (Bailey ve ark. 1990; Zuckerman ve Tunkel 1994). Yapılan *in vitro* duyarlılık çalışmalarında, itrakonazolün dermatofitlere (*Trichophyton*, *Epidermophyton* ve *Microsporum* türleri), mayalara (*Candida spp.* ve *Cryptococcus neoformans*), dimorfik ve dematiköz mantarlara ve *Aspergillus* gibi bazı küflere karşı geniş spektrumlu aktivitesi olduğunu göstermektedir (Haria ve ark. 1996).

İtrakonazolün albikan olmayan türlere karşı diğer antifungal ilaçlara daha iyi aktiviteye sahip olduğu belirtilmektedir (De Beule ve Van Gestel 2001).

2.4.3. Farmakokinetik Özellikleri

2.4.3.1. Absorpsiyon

İtrakonazol yüksek lipofilitede ve suda çözünürlüğü çok düşük (<1 mg/L) olan bir ilaçtır. Zayıf bazik (pKa 3,7) özellikte olduğundan sadece düşük pH değerlerinde iyonize olur. Bundan dolayı ilacın çözünmesi ve yeterli oral absorpsiyonu için mide asitliği gereklidir (Haria ve ark. 1996). Oral itrakonazol yiyeceklerle birlikte alındığında hastalar arasında farklılıklar görülse de iyi absorbe edilir (Hardin ve ark. 1988). Düşük mide aktivitesine sahip hastalarda açlık halinde düşük absorpsiyon görülmüştür. Açlık durumunda alınan itrakonazolün maksimum plazma konsantrasyonu (C_{max}) ve plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi altında kalan alan (AUC) değerlerinin tok iken saptanan değerlerin % 60'ı kadar olduğu bildirilmiştir (Barone ve ark. 1993, Lim ve ark. 2007). Çözelti içindeki 100 mg itrakonazolün mutlak oral biyoyararlanımı % 55'dir (Heykants ve ark. 1989).

2.4.3.2. Dağılım

Lipofilik yapıdaki itrakonazol kan hücrelerine ve başta albumin olmak üzere plazma proteinlerine sıkıca bağlanır. İlacın sadece % 0,2 si serbest halde bulunur. Plazma konsantrasyonlarına bağlı olarak serebrosipinal sıvı ve göz sıvısı da dahil olmak üzere birçok vücut sıvısına geçer (Grant ve Clissold 1989). Plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanmasına rağmen büyük dağılım hacmi (yaklaşık 11L/kg) nedeniyle dokular içerisindeki itrakonazol konsantrasyonları oldukça fazladır. Lipofilik karakterde ki diğer antifungal ilaçlarda olduğu gibi, itrakonazolün klinik olarak protein veya dokulara bağlanma konsantrasyonu serbest ilaç konsantrasyonundan daha anlamlıdır (Heykants ve ark. 1989). Böbrek, karaciğer, kemik, mide, dalak ve kas gibi dokularda yüksek konsantrasyonlarda itrakonazol birikimi görülür. Ayrıca itrakonazol mantar enfeksiyonlarına yatkın dokular olan kadın genital yolu, deri, tırnak, akciğerlerde de birirmektedir (Grant ve Clissold 1989). İtrakonazolün yaygın olarak proteinlere bağlanması enfeksiyon bölgesindeki konsantrasyonunun birkaç gün boyunca plazma konsantrasyonuna göre daha yüksek olmasını sağlamaktadır. Doku ve plazma

arasındaki denge sağlandıktan sonra itrakonazol yarılanma ömrü ($t_{1/2}$) ile uyumlu olarak dokudan elimine edilir (Heykants ve ark. 1989). Kısa sürelerle oral yolla küçük dozlar halinde verilen itrakonazol akut vajinal kandidiyazisin tedavisinde etkindir (Larosa ve ark. 1989).

2.4.3.3. Metabolizması ve Eliminasyonu

İtrakonazol başlıca karaciğerde olmak üzere 30 dan fazla metabolitine dönüşerek metabolize edilir. Metabolitlerin birçoğu aktif değildir ancak diğer azollerin aksine itrakonazol yan zincir hidroksilasyonu ile aktif metaboliti olan hidroksiittrakonazole döner (Haria ve ark. 1996). Birincil metaboliti olan hidroksi itrakonazol itrakonazolden daha yüksek plazma konsantrasyonlarına ulaşır ve itrakonazolünkine benzer antifungal etkinlik gösterir (Heykants ve ark. 1989; Poirer ve Cheymol 1998). Böbreklerde metabolize olmadığından böbrek yetmezliği olan hastalarda dozun azaltılmasına ve diyaliz sonrasında ekleme yapılmasına gerek yoktur (Boelaert ve ark. 1988). İntravenöz uygulama sonrası itrakonazolün total plazma klirensi saatte 22.9 L dir (Heykants ve ark. 1989). Bir çok metaboliti safra ve idrar yolu ile de metabolize edilir. İdrarda metabolize edilmemiş itrakonazol gözlenmezken verilen dozun % 3-18'lik kısmı feçesde saptanmıştır (Poirer ve Cheymol 1998).

2.4.4. Yan Etkileri

İtrakonazol ile beraber en sık görülen yan etkiler dispepsi, abdominal ağrı, bulantı, diyare baş ağrısı ve baş dönmesidir. Bunların yanında kaşıntı ve kusmada görülmektedir. Bir vakada da Stevens-Johnson sendromu itrakonazol ile ilişkilendirilmiştir. Bazı hastalarda karaciğer enzim değerlerinin yükseldiği ve sarılık görüldüğü saptanmıştır. Yüksek dozlarda verildiğinde birkaç hastada adrenal baskılama ve periferik nöropati gibi endokrin etkileri bildirilmiştir. Kemirgen hayvanlarda yapılan çalışmalarda embriyotoksik ve teratojenik etkiler görülmüştür (Martindale 2007).

2.4.5. Miktar Tayini

2.4.5.1. Spektrofotometrik Yöntem

İtrakonazolün UV spektrometrik yöntem ile 274 nm de verdiği UV absorbansının ölçülmesine dayanan yöntem literatürde kayıtlıdır (Ekiert ve Krzek 2009).

2.4.5.2. Kromatografik Yöntemler

İtrakonazolün yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile yapılan miktar tayinine ait çalışmalar literatürde kayıtlıdır (Tablo 2-2).

Tablo 2-2: İtrakonazol'ün miktar tayininde kullanılan HPLC yöntemleri

Kolon	Mobil faz	Dalga boyu	Referans
Pak RP-18 column (100x8 mm , 4 µm)	Asetonitril : 10mM Amonyum asetat (65:35;v/v) %0.5 dierilamin ile	260 nm	(Ng ve ark. 1996)
Lichrocart (250x4 mm I.D.) LiChrospher RP8 (5 µm)	Asetonitril:Su (55:45, v/v)	263 nm	(Cociglio ve ark. 1997)
Alltech Alltima® C-18 (250×4.6mm I.D., 5 µm)	Asetonitril: 0.05 M Fosfat tampon: Metanol (47:45:8 v/v)	263 nm	(Gubbins ve ark. 1998)
Hypersil C-18 oktaldesil (100x4.5mm, 3 µm)	Su:Asetonitril (40:60, v/v) %3 dietilamin ile	260 nm	(Law ve ark. 1994)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Kullanılan kimyasal maddeler

- İtrakonazol (*Nobel İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.*)
- HP- β -siklodekstrin (, Metil- β -siklodekstrin (*Cyclolab Ltd.*)
- γ - siklodekstrin (*ISP*)
- Sülfobutil eter- β -siklodekstrin (*Cydex Inc.*)
- Hidroksipropilmetilselüloz (HPMC) (*Colorcon Inc.*)
- Carbopol® 934P (*BF Goodrich Co.*)
- Ksantan Zamk (*International Specialty Products Inc.*)
- Laktik asit (*Merck Co.*)
- Sodyum hidroksit (*Riedel-de Haën*)
- Asetonitril (*Merck*)
- RPMI 1640 (*Sigma-Aldrich*)

Kullanılan cihazlar

- Texture analiz cihazı (*Stable Micro Systems, Model TA-XT2 Plus*)
- Çözünme hızı tayin cihazı (*Sotax, Model AT 7 Smart*)
- Ultrasonik banyo (*Bersonic*)
- Terazî (*Denver Instruments, TB-Series*)
- Santrifüj (*Nüve, Model CG-809*)
- Orbital çalkalayıcı (*Thermo Electron Corporation, Model 420*)
- pH-metre (*Schott Geräte, Model CG-809*)
- Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) cihazı (*Bruker, Model 500*)
- Taramalı elektron mikroskopu (SEM) (*Jeol, Model 840A*)
- X-ray (*Rigaku, Model D/max-2200/PC XRD*)
- Derin Dondurucu (*Electrolux, Model MRF 120/35*)
- Liyofilizatör (*Leybold-Heraeus, Model Lyovac GT2*)
- Hidrolik pres (*Korch EK-0*)
- Friabilitör (*Erweka*)

- Sertlik (*Sotax, Model HTI*)
- Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (*Shimadzu, Model LC 10A*)
- Distile su aleti (*Elga, Pure Lab Option*)
- Su banyosu (*Poly Science, Model 8201*)
- Etüv (*Heraeus*)
- Mikroplak okuyucu (*Dynex, Model MRX*)

3.1. Etkin Madde Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesi ve Validasyonu

Hazırlanan komplekslerde itrakonazol miktar tayini ve *in vitro* çözünme deneyleri ile salım çalışmalarında etkin madde analizi için literatürde kayıtlı (R. Woestenborgh ve ark. 1987) yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi bazı değişiklikler yapılarak uygulandı.

Yapılan ön deneme çalışmalarında asetonitril:su mobil fazı (60:40 h/h) kullanıldı. Fakat etkin madde pikinin alıkonma süresi (20 dk) çok uzun sürdüğü için mobil faz oranı (70:30 h/h) olarak optimize edildi. Akış hızı 1 mL/dk olarak denendikten sonra yine etkin madde pikinin alıkonma süresini kısaltmak için 1,5 mL/dk olarak optimize edildi. Enjeksiyon hacmi 50 µL olarak belirlendi. Kolon olarak 4,6 x 250 mm ebadında 5 µm partikül boyutuna sahip oktadesilsilan (intersil ODS-3 C18) kullanıldı. Mobil faz hazırlandıktan sonra 30 dk süre ile ultrasonik banyoda degaze edildi. HPLC kromatogramlarının değerlendirilmesinde etkin madde pik alanları kullanıldı. Yöntemin güvenilirliğini saptamak üzere analitik yöntem validasyon çalışması yapıldı.

3.1.1. Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

Analitik yöntem validasyonu, bir test yönteminin kesin ve doğru bir şekilde sürekli olarak bekleneni gerçekleştirdiğinin kanıtlanmasıdır (ICH Tripartite Guideline 1995). Kullanılan analitik yöntemin validasyonu için doğrusallık, kesinlik, doğruluk, seçicilik, teşhis limiti ve stabilite parametreleri çalışıldı.

3.1.1.1. Doğrusallık

Bir analitik yöntemin doğrusallığı, elde edilen bulguların örnek çözeltisi içindeki madde konsantrasyonu ile belli bir aralıkta olmasıdır (ICH Tripartite Guideline 1995).

Miktar tayini yönteminin doğrusallığı için 5 mg itrakonazol hassas olarak tartıldı, 20 mL asetonitril ilave edilerek ultrasonik banyoda karıştırıldı ve stok çözeltinin hacmi asetonitril ile 50 mL'ye tamamlandı. 100 µg/mL konsantrasyondaki bu çözeltiden 2 mL alınarak mobil faz ile 10 mL'ye seyreltildi. 20 µg/mL konsantrasyondaki bu ara stok çözeltisinden 10, 25, 50, 125, 250, 375, 500 ve 750 µL alındı ve her biri 1'er mL'ye seyreltildi. Hazırlanan 1 mL'lik çözeltiler 50 µL enjeksiyon hacmi ile HPLC ye enjekte edildi. 8 farklı konsantrasyonun (0.2, 0.5, 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 15 µg/mL) 3 ayrı enjeksiyon ile elde edilen pik alanları hesaplanarak standart eğri çizildi. Doğru denklemi, determinasyon katsayısı (r^2), standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (% RSD) değerleri hesaplandı.

3.1.1.2. Kesinlik

Bir analitik yöntemin kesinliği, belirli çalışma koşullarında hazırlanan aynı örnek çözeltisinden birden fazla seyreltme ile elde edilen bir serinin ölçümleri arasındaki uyumun yakınlığını ifade eder (ICH Tripartite Guideline 1995). SD veya % RSD değerleri ile ifade edilir. Yöntemin kesinliği için RSD değeri % 2 den küçük olmalıdır.

Analitik yöntemin kesinliğinin tayini için yöntem 3.1.1.1. de belirtilen konsantrasyonlarda stok çözelti hazırlandı ve aşağıda belirtildiği şekilde çalışıldı.

Gün içi kesinlik: İtrakonazolün üç farklı konsantrasyonda (5, 10, 15 µg/mL) mobil faz ile tamamlanmış 1'er mL lik çözeltileri hazırlandı, vorteksle karıştırıldıktan sonra 50 µL enjeksiyon hacmi ile HPLC kolonuna uygulandı. Konsantrasyon hesaplanmasında 3 enjeksiyon sonucu elde edilen pik alanlarının ortalaması kullanıldı. Doğru denklemi kullanılarak itrakonazolün miktarı hesaplandı ve sonuçların ortalamaları alındı, SD ve % RSD değerleri hesaplandı.

Günler arası kesinlik: Bir gün içinde yapılan kesinlik çalışmaları 2. ve 3. günlerde tekrarlandı. Üç gün boyunca elde edilen sonuçların ortalamaları alındı, SD ve % RSD değerleri hesaplandı.

3.1.1.3. Doğruluk

Kullanılan analitik yöntemin doğruluğunu saptamak için, 5 mg itrakonazol 20 mL asetonitril ile çözündürüldü ve balon joje de 50 mL'ye tamamlandı. Bu çözeltiden

0.5 mL, 1 mL ve 1.5 mL alınarak mobil faz ile 10 ar mL'ye tamamlandı. Bu 3 farklı konsantrasyondaki çözeltilerin her birinden 50 µL HPLC kolonuna enjekte edildi. Elde edilen pik alanlarından yöntem 3.1.1.1. de anlatıldığı gibi çalışılarak doğru denklemi yardımıyla çözeltilerdeki itrakonazol konsantrasyonu hesaplandı. Yöntemin doğruluğu geri kazanma değerleri hesaplanarak saptandı.

3.1.1.4. Seçicilik

Kompleksleşme çalışmalarında kullanılan siklodekstrinler için miktar tayini yönteminin seçiciliği incelendi. Siklodekstrinlerin (HP-β-CD, Met-β-CD, γ-CD, SBE7-β-CD) sudaki çözeltileri hazırlandı ve yöntem 3.1.1.1. deki gibi çalışılarak siklodekstrinlere ait piklerin itrakonazole ait pik ile girişim yapıp yapmadığı saptandı. Aynı şekilde tablet formülasyonunda kullanılan yardımcı maddelerin miktar tayini yönteminin seçiciliğini saptamak için etkin madde içermeyen tabletler hazırlandı. Yöntem 3.1.1.1. deki gibi çalışılarak etkin maddenin pik verdiği alana girişim yapıp yapmadığı saptandı.

3.1.1.5. Teşhis Limiti ve Miktar Tayini Limiti

Teşhis limiti (TL) tayini için, kalibrasyon doğrusunun eğimi veya kesişim noktasının (en az 3 doğruya ait) standart sapmaları (δ) kullanıldı (ICH Tripartite Guideline 1995). Bu amaçla hesaplanan 3 adet kalibrasyon doğrusunun eğimlerine ait δ değerleri aşağıdaki formüllere yerleştirildi. TL ve miktar tayini limiti (MTL) hesaplandı.

$$TL = \frac{3.3\delta}{S} \quad (3-1)$$

$$MTL = \frac{10\delta}{S} \quad (3-2)$$

S = Ortalama kalibrasyon doğrusu eğimi

δ = kalibrasyon doğrusunun eğimine ait standart sapma değeri

3.1.1.6. Stabilité

In vitro salım çalışmaları süresince etkin maddenin 48 saat dayanıklı kaldığından emin olmak için stabilite testi yapılmıştır. Bu amaçla hassas tartılan 5 mg itrakonazol asetonitril ile çözündürüldü ve balon jojede 50 ml'ye tamamlandı. Gerekli seyreltmeler mobil faz ile yapılarak itrakonazol çözeltisi yöntem 3.1.1.1. de belirtildiği şekilde çalışılarak 1., 2., 4., 6., 24., ve 48. saatlerde HPLC kolonuna enjekte edildi. Elde edilen pik alanları kullanılarak itrakonazol konsantrasyonunda değişiklik olup olmadığı ve farklı pik oluşup oluşmadığı saptandı.

3.2. İtrakonazol-Siklodekstrin İçerik Komplekslerinin Hazırlanması

3.2.1. İçerik Komplekslerini Hazırlama Metodunun Optimizasyonu

Optimizasyon çalışmalarında, ıslanabilirliği zayıf ve hidrofobik bir madde olan zayıf bazik karakterdeki itrakonazolün siklodekstrinler ile içerik kompleksi oluşturmaya, kompleksleşme ortamının pH sınır ve yardımcı çözücülerin (metanol veya asetonitril) etkisi incelenmiştir.

Zayıf bazik karakterdeki itrakonazolün kompleksleşme ortamındaki çözünürlüğünü ve buna bağlı olarak kompleksleşme verimini artırmak amacıyla kompleksler, asidik ortamda (HCl ile pH'sı 1.5 e ayarlanmış sulu çözelti içinde) hazırlandı ve kompleksleşme verimleri distile su içinde hazırlanan kompleksler ile karşılaştırıldı. Bu amaçla, her bir siklodekstrinin (HP- β -CD, Met- β -CD, γ -CD, SBE7- β -CD) 10 ar mL çözücü içinde 12 mM lık çözeltileri hazırlandı. Her bir çözeltiliye aşırı miktar (20 mg) itrakonazol eklendi. Çözücü içerisindeki etkin madde dengeye gelinceye kadar (7 gün) orbital çalkalayıcıda 35°C de 300 rpm'de çalkalandı. Süre sonunda her bir karışım 0.45 μ m por çapındaki selüloz asetat membran filtreden süzüldü. Süzüntülerdeki etkin madde miktarı HPLC yöntemi ile tayin edildi ve kompleksleşme verimi hesaplanarak pH'nın kompleksleşmeye etkisi incelendi.

Ayrıca kompleksleşme verimine yardımcı çözücülerin etkisini araştırmak amacıyla itrakonazol-siklodekstrin kompleksleri pH 1.5 sulu çözelti:metanol (9:1 h/h) ve pH 1.5 sulu çözelti:asetonitril (9:1 h/h) karışımlarında hazırlandı. Kompleksler yukarıda anlatılan metodla hazırlandı ve HPLC metodu ile kompleksleşme verimleri hesaplandı. En yüksek kompleksleşme veriminin elde edildiği ITR:SBE7- β -CD kompleksleri, pH 2.0 sulu çözelti:asetonitril (9:1 h/h) ve pH 2.5 sulu çözelti:asetonitril

(9:1 h/h) karışımları içinde hazırlanarak artan pH'nın kompleksleşmeye etkisi de araştırıldı.

Her bir yöntem 3'er kez çalışıldı.

3.2.2. Faz Çözünürlük Çalışmaları ve Komplekslerin Hazırlanması

Faz çözünürlük çalışmaları Higuchi ve Connors (1965) tarafından yapılan çalışmalara dayanarak gerçekleştirildi. 25 mL'lik kapaklı erlen içinde 10 mL pH 1.5 sulu çözelti:asetonitril (9:1 h/h) karışımında sırasıyla 0, 2, 4, 8 ve 12 mM konsantrasyonlarda SBE7-β-CD içeren çözeltiler hazırlandı. Her bir çözeltiliye doygunluk konsantrasyonunu aşan miktarda (20 mg) itrakonazol ilave edildi. Kapakları sıkıca kapatılan erlenler orbital çalkalayıcıya yerleştirildi ve çözücü içerisindeki etkin madde konsantrasyonu dengeye gelinceye kadar 7 gün boyunca 35°C'de 300 rpm'de çalkalandı. Süre sonunda karışımlar, 0.45 µm por çapındaki selüloz asetat membran filtreden süzüldü ve çözücü içerisindeki itrakonazol konsantrasyonları HPLC yöntemi ile tayin edildi. Faz çözünürlük diyagramları çizildikten sonra diyagramların başlangıç lineer kısımları kullanılarak aşağıdaki eşitlik yardımı ile stabilite sabiteleri hesaplandı.

$$K_c = \frac{E_{\infty} t_m}{S_0(1 - E_{\infty} t_m)} \quad (3-3)$$

K_c: Stabilite sabiti

S₀: İntrinsik çözünürlük

İtrakonazol:siklodekstrin kompleksleri faz çözünürlük çalışmalarında kullanılan yöntem ile hazırlandı. 25 mL'lik kapaklı erlen içinde 10 mL pH 1.5 sulu çözelti:asetonitril (9:1 h/h) karışımında 12 mM lık siklodekstrin (HP-β-CD, Met-β-CD, γ-CD, SBE7-β-CD) çözeltileri hazırlandı. Çözeltilerin her birine 20 şer mg itrakonazol ilave edildi. Kapakları sıkıca kapatılan erlenler orbital çalkalayıcıya yerleştirildi ve çözücü içerisindeki etkin madde konsantrasyonu dengeye gelinceye kadar 7 gün boyunca 35°C'de 300 rpm'de çalkalandı. Süre sonunda karışımlar 0.45 µm por çapındaki selüloz asetat membran filtreden süzüldü ve -35°C'de dondurulduktan sonra 3 gün boyunca liyofilize edilerek kurutuldu. Komplekslerdeki itrakonazol miktarı HPLC

yöntemi ile tayin edildi. 3 ayrı seriden elde edilen komplekslerde yapılan miktar tayini sonucunda ortalama kompleksleşme verimi ve SD hesaplandı.

3.3. Hazırlanan İçerik Kompleksleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

3.3.1. Antifungal Duyarlılık Testleri

Standart *Candida albicans* (ATCC 90028) suşlarının itrakonazole ve itrakonazol:siklodekstrin komplekslerine (ITR:HP- β -CD, ITR:Met- β -CD, ITR: γ -CD, ITR:SBE7- β -CD) duyarlılıkları NCCLS M27-A (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1997) kriterlerine uyularak 0.165M morfolin-propan sulfonik asit (MOPS) ile tamponlanmış fenol kırmızılı, L-glutaminli ve sodyum bikarbonatsız steril RPMI-1640 (pH7.0) besiyerinin kullanıldığı mikrodilüsyon yöntemi ile çalışılmıştır.

C. Albicans inokulumu 35°C de 24 saat boyunca sabouraud dekstroza agar besiyerinde hazırlandı. İnokulum, steril sodyum klorür çözeltisi (% 0.85) ile seyreltilerek mantar süspansiyonunun dansitesi spektrofotometrik yöntemle 530 nm dalga boyunda 0.5 MacFarland (McF) bulanıklığına ayarlandı. 0.5 McF standardı $1-5 \times 10^6$ CFU/mL ye eşittir. 0,5 McF standardına getirilmiş mantar süspansiyonundan 20 μ L alınarak pH 7,0 steril RPMI-1640 besiyeri ile 1 mL'ye, yine bu süspansiyondan 0.5 mL alınarak aynı besiyeri ile 10 mL'ye seyreltildi ve mantar süspansiyonunun konsantrasyonu $1-5 \times 10^3$ CFU/mL ye getirildi. Mikroplak kuyucuklarının her birine 100 μ L mantar süspansiyonu kondu.

Suda çözünmeyen itrakonazolün dimetil sülfoksit içinde, siklodekstrin komplekslerinin ise steril distile su içinde stok çözeltileri hazırlandı. Bu stok çözeltilerden final konsantrasyonları 0.250 μ g/mL ile 32 μ g/mL aralığında olacak şekilde mikroplak kuyucuklarına eklendi. Mikroplaklar çalkalandı ve 35°C de 48 saat inkübe edildikten sonra Dynex MRX mikroplak okuyucu ile 570 nm de okundu. Mantar üremesini tam olarak inhibe eden itrakonazol ve kompleks (ITR:HP- β -CD, ITR:Met- β -CD, ITR: γ -CD, ITR:SBE7- β -CD) konsantrasyonu, minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) olarak değerlendirildi. Her bir deney üç kez tekrarlandı.

3.3.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri

İtrakonazolün, siklodekstrinlerin (HP- β -CD, Met- β -CD, γ -CD, SBE7- β -CD) ve bunlarla hazırlanan içerik komplekslerin (ITR:HP- β -CD, ITR:Met- β -CD, ITR: γ -CD,

ITR:SBE7- β -CD) taramalı elektron mikroskobu ile 10 kV gerilim altında ve farklı büyütme oranlarında (x200, x500) SEM fotoğrafları çekildi.

3.3.3. Toz X-Işını Kırınım (PXRD) Analizleri

İtrakonazolün, siklodekstrinlerin (HP- β -CD, Met- β -CD, γ -CD, SBE7- β -CD) ve bunlarla hazırlanan içerik komplekslerin (ITR:HP- β -CD, ITR:Met- β -CD, ITR: γ -CD, ITR:SBE7- β -CD) X-ışını kırınım desenleri Cu-K α radyasyonu kullanılarak 2 θ açısı ile ve 1°/dk hız ile 2-70° arasında taranarak elde edildi. Kırınım şekilleri incelenerek örneklerin kristal yapılarındaki değişimler incelendi.

3.3.4. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Analizi

İtrakonazolün, siklodekstrinlerin (HP- β -CD, Met- β -CD, γ -CD, SBE7- β -CD) ve bunlarla hazırlanan içerik komplekslerin (ITR:HP- β -CD, ITR:Met- β -CD, ITR: γ -CD, ITR:SBE7- β -CD) döteryum oksit (D₂O) içindeki çözeltilerinin spektrumları 500 MHz ¹H frekansında 298 K (25°C) sıcaklığında, 5mm BBO probu olan Bruker Avance spektrometre ile alındı ve itrakonazol ile siklodekstrin arasındaki olası etkileşimler 400 ms ile 1200 ms arasındaki farklı karıştırma sürelerinde 2D[H1, H1] NOESY kullanılarak tespit edildi. Tüm spektrumlar TOPSPIN 1.3 programı kullanılarak incelendi.

3.3.5. Moleküler Modelleme

Tüm moleküler modelleme hesaplamaları Macromodel 9.11 moleküler modelleme programı (Mohamadi ve ark. 1990) kullanılarak MMFFs güç alanında (Cramer ve Truhlar 1995) yapıldı. Kesin çözücü sunumu, sabit dielektrik kuvveti ($\epsilon=1$) ile genellenmiş “Born/surface area continuum (GB/SA)” metodu (Still ve ark. 1990) kullanılarak sağlandı. Genişletilmiş bağlı olmayan bir kesme (van der Waals: 8Å; elektrostatik: 20Å) kullanıldı. Kompleks modellemesi konformasyonel tarama ve bükümsel örnekleme (MCMM) kullanılarak gerçekleştirildi. Siklodekstrinlerin her bir başlangıç modeline karşın itrakonazol 4 farklı başlangıç konfigürasyonunda konumlandırıldı ve daha sonra her bir konfigürasyon için 5000 kademeli Monte Carlo konformasyonel tarama gerçekleştirildi. Elde edilen yapılar kümelendirildi ve küme analiz programı Xcluster kullanılarak incelendi (Shenkin ve McDonald 1994).

3.4. Mukoadezif Tablet Formülasyonlarının Hazırlanması

Vajinal mukoadezif tablet formülasyonlarının hazırlanmasında en yüksek kompleksleşme verimine sahip olan ITR:SBE7- β -CD kompleksi kullanıldı. Tablet formülasyonları hazırlanmadan önce hem kompleks ve hemde polimerler 250 μ m'lik elekten elendi. Her bir formülasyonun içeriğine giren maddeler tartıldı ve kübik karıştırıcıda 20 dk karıştırıldı (Tablo 3-1). Toz karışımına kaydırıcı olarak magnezyum stearat (% 0.5 a/a) ilave edildi ve aynı karıştırıcıda 5 dk daha karıştırıldı. Toz karışımı hidrolik pres kullanılarak 0.8 mm düz yüzeyli zımba ile 1000 psi basınç uygulanarak tablet haline getirildi.

Tablo 3-1: Mukoadezif tablet formülasyonları

Formülasyon	Ksantan zamkı (mg)	HPMC (mg)	Carbopol® 934 (mg)	ITR:SBE7- β -CD (mg)
X1	100	-	-	100
X2	80	-	20	100
X3	60	-	40	100
X4	50	-	50	100
X5	40	-	60	100
X6	20	-	80	100
C	-	-	100	100
H1	-	100	-	100
H2	-	80	20	100
H3	-	60	40	100
H4	-	50	50	100
H5	-	40	60	100
H6	-	20	80	100

3.5. Mukoadezif Tablet Formülasyonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar

3.5.1. Fiziksel Kontroller

3.5.1.1. Ağırlık Sapması

Her bir formülasyona ait 10 ar adet tablet tek tek hassas terazi ile tartıldı ve ortalama ağırlık, SD ve % RSD değerleri hesaplandı.

3.5.1.2. Çap ve Yükseklik

Her bir formülasyona ait 10'ar adet tablet alınarak Sotax HT1 aleti ile tabletlerin çap ve yükseklikleri ölçüldü. Ortalama çap ve tablet yüksekliği, SD ve % RSD değerleri hesaplandı.

3.5.1.3. Ufalanabilirlik

Her bir formülasyona ait 20 adet tablet tartılarak Roche friabilitörüne yerleştirildi, dakikada 25 devir yaptırılarak 4 dk çalıştırıldı. Tabletler tekrar tartılarak % ağırlık kayıpları hesaplandı.

3.5.1.4. Sertlik

Her bir formülasyona ait 10 ar adet tablet Sotax HT1 marka sertlik aletine tek tek yerleştirildi ve kırılma değerleri okundu. Ortalama sertlik, SD ve % RSD değerleri hesaplandı.

3.5.2. Tablet Formülasyonlarının Şişme İndeksi

Her bir formülasyona ait 3 er adet tablet tartıldı (WD) ve pH 5 laktat tamponunun içinde $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ de bekletildi. 15. dk, 30. dk ve 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7., 8. ve 24. saatlerde tabletler ortamdan alındı ve suyun fazlası filtre kağıdına emdirildikten sonra hassas olarak tartıldı (WS). Aşağıdaki formül yardımı ile formülasyonların şişme indeksi (SI) hesaplandı.

$$SI = \frac{(WS - WD)}{WD} \quad (3 - 3)$$

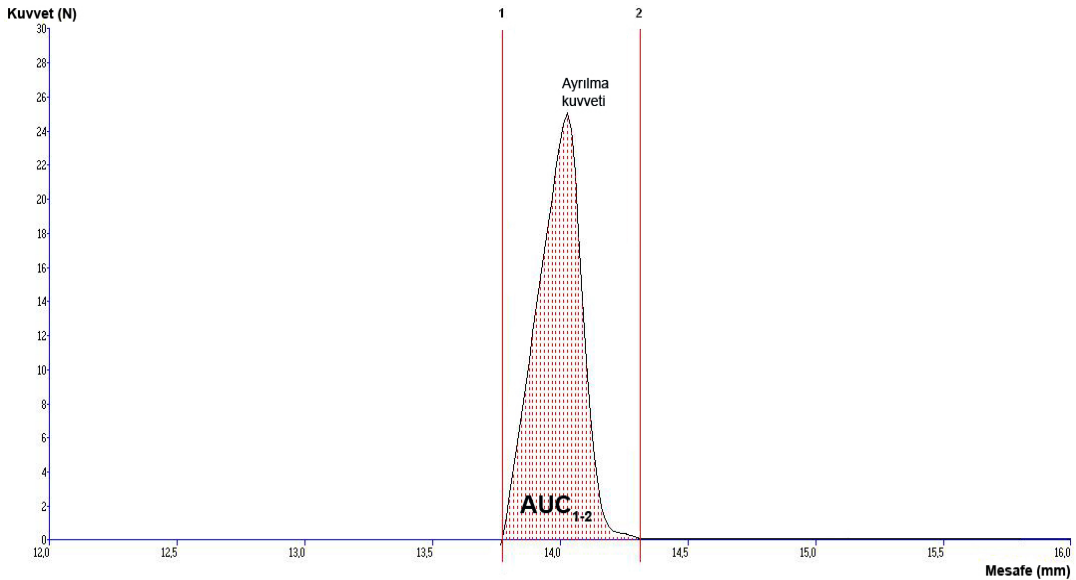
3.5.3. Mukoadezyon Çalışmaları

Tabletlerin mukoadezif özelliği 5 kg yükleme hücresi içeren TA-XTPlus Texture analiz cihazı kullanılarak saptandı. Mezbahada yeni kesilmiş ineklerden alınan

vajinal mukozalar -30°C de donduruldu. Dondurulmuş vajinal mukozanın iç yüzeyinden dermatom yardımı ile 2 mm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesit analiz cihazına ait biyoadezyon test aparatına sabitlendi ve deneyden hemen önce vajinal mukozanın üzerine 50 μL inek vajinal mukusu (Mukus kesimden sonra vajinanın iç yüzeyinden bir spatül kullanılarak toplandı, -30°C de donduruldu ve deney esnasında 37°C ye getirildi) eklendi. Bu esnada tablet, çift taraflı bant kullanılarak aletin silindirik probunun (P10 Perspex, θ : 10 mm) ucuna tutturuldu. Prob 1 mm/s hız ile dokunun yüzeyine doğru indirildi. Tablet ile vajinal mukozanın 30 s boyunca 1N'luk temasından sonra prob 1 mm/s hız ile dikey olarak yukarı kaldırıldı. Deney 37°C de gerçekleştirildi ve her bir deney 3 er kez tekrarlandı. Şekil 3-1 de görüldüğü gibi kuvvet-mesafe eğrisinin altında kalan (AUC_{1-2}) mukodezyon işini (mJ/cm^2) ve eğride görülen en yüksek kuvvet ise tabletin mukozadan ayrılma kuvvetini (N/cm^2) vermektedir.

$$\text{Mukoadazyon işi } \left(\frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2} \right) = \frac{AUC_{1-2}}{\pi r^2} \quad (3 - 4)$$

πr^2 : Tabletın yüzey alanı



Şekil 3-1: Mukoadazyon testine ait kuvvet-mesafe eğrisi

3.5.4. Tablet Formülasyonlarından *İn vitro* Etkin Madde Salım Hızı Çalışmaları

Çözünürlük testi için USP 23 de belirtilen 'Palet Yöntemi' kullanıldı. Çözünme ortamı olarak 250 mL (Yu ve ark. 2004) $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ de pH 5.0 laktat tamponu kullanıldı. Karıştırma hızı 75 rpm olarak ayarlandı. Çözünürlük ortamından 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7., 8., 12., 18., 24., ve 36. saatlerde 1.8 mL örnek alındı ve yerlerine yine aynı miktarda pH 5.0 laktat tamponu eklendi. Alınan örnekler 0.45 μm por çapındaki selüloz asetat membran filtreden süzüldü ve HPLC yöntemi ile itrakonazol miktarı tayin edildi ve % salınan ilaç miktarının zamana karşı grafiği çizildi. Deney her bir formülasyon için 3 er kez tekrarlandı.

3.5.5. Tabletlerden etkin madde salımına ait verilerin kinetik yönden değerlendirilmesi

pH 5 laktat tamponunda yapılan mukoaadezif tabletlerden etkin madde salım hızı deneyleri sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda etkin madde salımının hangi kinetik eşitliğe uyduğu incelendi. Tablet formülasyonlarından etkin maddenin serbestlenmesi sıfıncı derece, birinci derece, Higuchi ve Hixon-Crowel kinetiklerine göre değerlendirildi.

Sıfıncı Derece Kinetik (Martin 1993)

Sıfıncı derece hız ifadesi aşağıdaki eşitlikte verilmiştir.

$$-dC / dt = k_0$$

Bu eşitlik integre edildiğinde,

$$C = C_0 - k_0t$$

eşitliği elde edilir.

C_0 : Başlangıçtaki etkin madde miktarı

C : Herhangi bir T anında çözünmeden kalan etkin madde miktarı

k_0 : Sıfıncı derece çözünme hız sabiti

Sıfıncı derece kinetikte, zamana (t) karşı konsantrasyon (C) değerleri grafiğe çizildiğinde eğimi k_0 olan bir doğru elde edilir. Bu kinetiğe göre dozaj şeklinde her bir zaman aralığında çözeltiye geçen etkin madde miktarı sabit olmaktadır.

Birinci Derece Kinetik (Martin 1993)

Bu kinetiğe ait hız ifadesi;

$$-dC / dt = k.C$$

Bu eşitliğin integrasyonu ile;

$$\ln C = \ln C_0 - k_1 t$$

eşitliği elde edilir.

C_0 : Başlangıçtaki etkin madde miktarı

C : Herhangi bir T anında çözünmeden kalan etkin madde miktarı

k_1 : Sıfırıncı derece çözünme hız sabiti

$\ln C$ ye karşı t değerleri grafiğe geçirildiğinde eğimi k_1 olan doğru elde edilir. Birinci derece kinetikte, zamana bağlı olarak çözünen etkin madde miktarı üssel olarak azalmaktadır.

Higuchi Kinetiği (Higuchi 1963)

$$Q = [Dt (2A - C_s) C_s]^{1/2}$$

Q : Birim yüzeyden t zamanında salınan etkin madde miktarı

D : Homojen matris ortamı içinde etkin maddenin difüzyon katsayısı

A : Matrisin birim hacmindeki etkin madde miktarı

C_s : Etkin maddenin matris maddesindeki çözünürlüğü

Bu modelde, etkin maddenin önce matrisin yüzey tabakasından çözüldüğü, bu tabaka boşaldıktan sonra bir sonraki tabakanın çözünme ve difüzyon vasıtasıyla dıştaki çözeltiye doğru boşalamaya başladığı varsayılmaktadır.

Hixon-Crowel Kinetiği (Martin 1993)

Bu kinetiğe ait çözünme hızı eşitliği aşağıdadır.

$$W_0^{1/3} - W^{1/3} = kt$$

W_0 : Başlangıçtaki etkin madde miktarı

W : t anında çözünmeden kalan etkin madde miktarı

k : Spesifik çözünme hız sabiti

t : Zaman

Bu modelde, çözünme tabletin yüzeyine dik olarak gerçekleşir ve katının yüzey alanının tamamına karşı karıştırılma etkisi esas olarak aynı derecededir. Tabletten etrafında yoğun bir karıştırma söz konusudur. Böylece bu bölgede difüzyonu yavaşlatacak şekilde durağan bir sıvı tabakası oluşmamaktadır.

3.6. İstatistiksel Değerlendirmeler

Çalışmalarda elde edilen tüm bulgular tek yönlü varyans analizini (ANOVA) takiben Newman-Keuls çoklu karşılaştırma testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Miktar Tayini Yönteminin Validasyonuna Ait Bulgular

4.1.1. Doğrusallık

İtrakonazolün Yöntem 3.1.1.1.'de anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilen standart eğri grafiği Şekil 4-1'de, standart eğrinin hazırlanmasında kullanılan ortalama pik alanı oranları, standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (% RSD) sonuçları Tablo 4-1'de verilmiştir. Doğru denklemi ve determinasyon katsayısı (r^2) aşağıda verilmiştir:

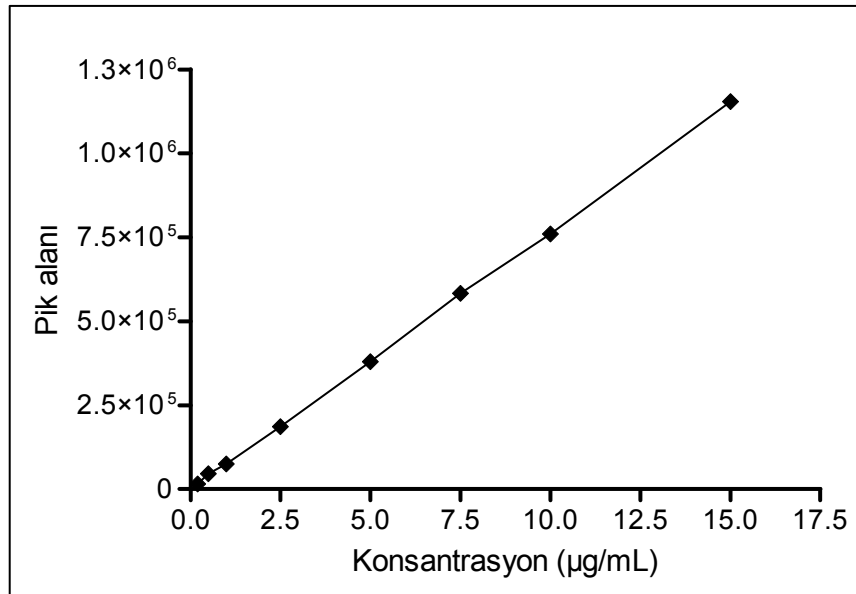
$$y = 76,772x + 49,928$$

$$r^2 : 0,9998$$

y= pik alanı

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

r^2 = determinasyon katsayısı



Şekil 4-1: İtrakonazolün standart eğrisine ait grafik

Tablo 4-1: İtrakonazolün miktar tayini yönteminin doğrusallığına ait bulgular (n=3)

Konsantrasyon (µg/mL)	Pik alanları ortalaması	SD (±)	RSD (%)
0,2	15407	30	0,187
0,5	46224	732	1,585
1	74700	244	0,327
2,5	186632	247	0,132
5	380024	2912	0,766
7,5	583742	98	0,016
10	760423	1134	0,149
15	1154656	3988	0,345

4.1.2. Kesinlik

İtrakonazol'ün Yöntem 3.1.1.2. de belirtildiği gibi yapılan miktar tayini yöntemine ait gün içi kesinlik bulguları Tablo 4-2'de, günler arası kesinlik bulguları ise Tablo 4-3'de verilmiştir.

Tablo 4-2: İtrakonazolün miktar tayini yönteminin gün içi kesinlik bulguları (n=3)

Konsantrasyon	Pik alanları ortalaması	SD (±)	RSD (%)
5 µg/mL	399369	2005	0,502
10 µg/mL	784345	3852	0,491
15 µg/mL	1172980	2747	0,234

Tablo 4-3: İtrakonazolün miktar tayini yönteminin günler arası kesinlik bulguları (n=3)

Konsantrasyon	1. gün	2. gün	3. gün	Ortalama	SD (±)	RSD (%)
5 µg/mL	371898	380024	366037	372653	7024	1,880
10 µg/mL	752376	760423	738036	750278	11340	1,510
15 µg/mL	1137065	1154656	1157591	1149771	11101	0,960

4.1.3. Doğruluk

Farklı konsantrasyonlardaki itrakonazolün miktar tayini için, yöntem 3.1.1.3. de anlatıldığı şekilde çalışılarak yöntemin doğruluğu saptandı. Her konsantrasyon için geri kazanma değeri (%), standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (% RSD) değeri Tablo 4-4'de verilmiştir.

Tablo 4-4: İtrakonazolün miktar tayini yönteminin doğruluğuna ait bulgular (n=3)

Konsantrasyon	Geri kazanma	Geri kazanma (%)	SD (±)	RSD (%)
5 µg/mL	4,950 µg/mL	99,00	0,037	0,766
10 µg/mL	9,904 µg/mL	99,04	0,014	0,149
15 µg/mL	15,040 µg/mL	100,20	0,052	0,345

4.1.4. Seçicilik

Yöntem 3.1.1.4. de belirtildiği koşullarda yapılan çalışmalar sonucunda, formülasyonda kullanılan diğer maddelerin itrakonazol ün pik alıkonma zamanında girişim yapmadığı saptandı.

4.1.5. Teşhis Limiti (TL) Ve Miktar Tayini Limiti (MTL)

Yöntem 3.1.1.5. de anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilen ölçüm sonuçları ve verilen formüller yardımı ile hesaplanan TL ve MTL değerleri aşağıda belirtilmiştir.

ø değeri: 0,572 TL: 0,025 µg/mL MTL: 0,075 µg/mL

4.1.6. Stabilité

Yöntem 3.1.1.6. da belirtildiği şekilde etkin maddenin 48 saat boyunca miktar tayininde kullanılan mobil faz içerisindeki stabilitesi incelendi. Elde edilen miktar tayini sonuçlarının RSD değerinin % 2 nin altında olması ile maddenin 48 saat süresince kararlı olduğu saptandı. Stabilité bulguları Tablo 4-5'de verilmiştir.

Tablo 4-5: Stabilité bulguları

Ölçüm Zamanı (saat)	Teorik Konsantrasyon (µg/mL)	Hesaplanan konsantrasyon (µg/mL)
1	10	9,99
2	10	9,97
4	10	9,97
6	10	10,01
24	10	10,16
48	10	10,05
Ortalama		10,02
SD (±)		0,07
RSD (%)		0,72

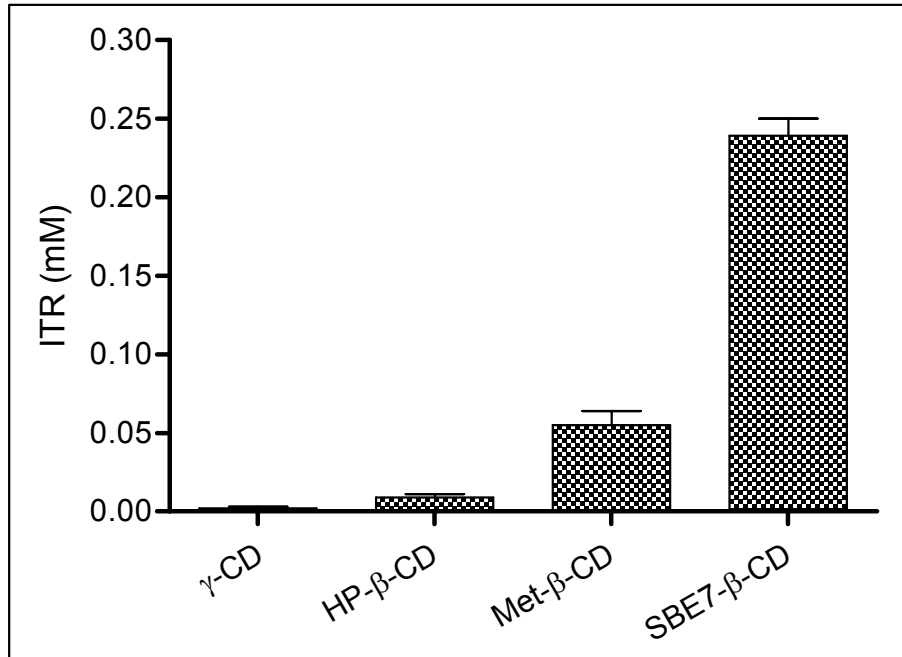
4.2. İtrakonazol:Siklodekstrin İçerik Komplekslerinin Hazırlanmasına Ait Bulgular

4.2.1. İçerik Komplekslerini Hazırlama Metodunun Optimizasyonuna Ait Bulgular

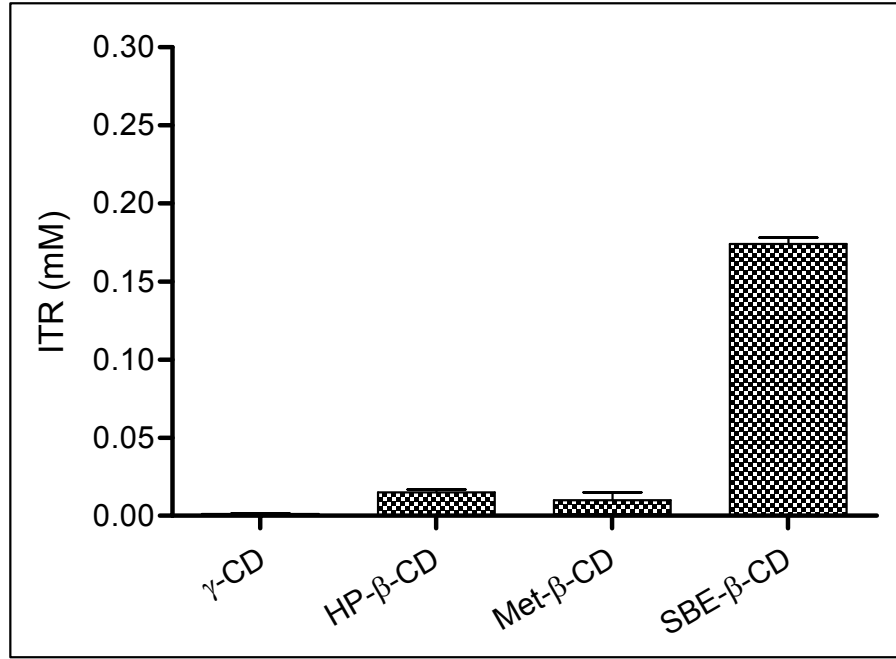
Yöntem 3.2.1.'de anlatıldığı şekilde çalışılarak, kompleksleşme ortamının pH sının ve yardımcı çözücü ilavesinin itrakonazol ile siklodekstrinlerin kompleksleşmesine etkisini gösteren bulgular Tablo 4-6, Şekil 4-2, 4-3 ve 4-4'de; farklı pH değerlerinin ITR:SBE7-β-CD kompleksinin oluşumuna etkisini gösteren bulgular ise Tablo 4-7 ve Şekil 4-5 de verilmiştir.

Tablo 4-6: İtrakonazolün siklodekstrinler ile kompleksleşme verimine pH ve yardımcı çözücülerin etkisi (n=3)

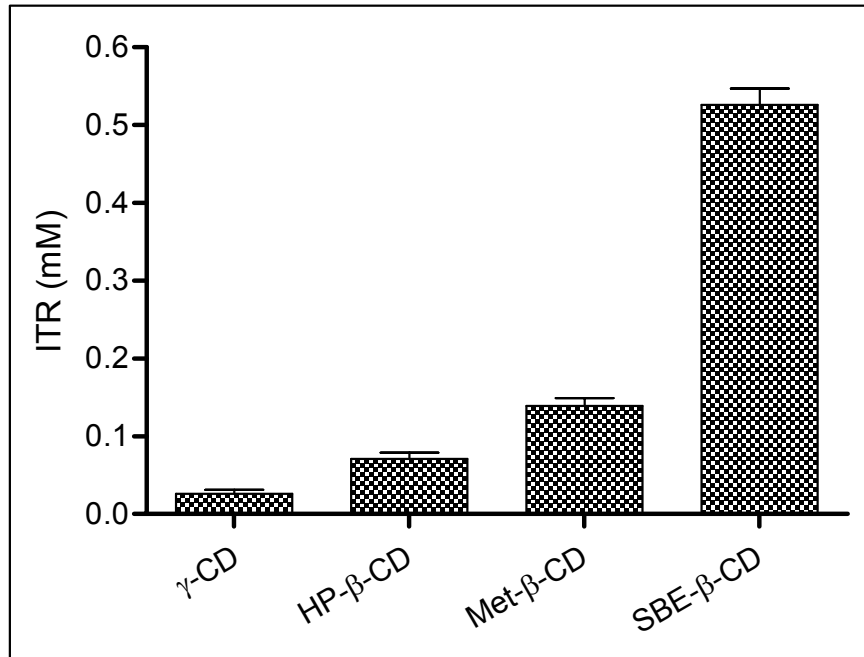
Siklodekstrin tipi	Kompleksleşme verimi (%)			
	Yardımcı çözücüsüz		Asetonitril	Metanol
	Distile su	pH1,5	pH1,5	pH1,5
SBE7-β-CD	-	0,65 ± 0,02	1,40 ± 0,03	0,470 ± 0,040
HP-β-CD	0,004 ± 0,002	0,04 ± 0,02	0,31 ± 0,02	0,060 ± 0,020
Met-β-CD	0,016 ± 0,008	0,25 ± 0,01	0,63 ± 0,03	0,050 ± 0,020
γ-CD	-	0,011 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,005 ± 0,003



Şekil 4-2: 12mM siklodekstrin içeren pH 1,5 sulu çözelti içerisinde kompleksleşen itrakonazolün milimolar miktarı



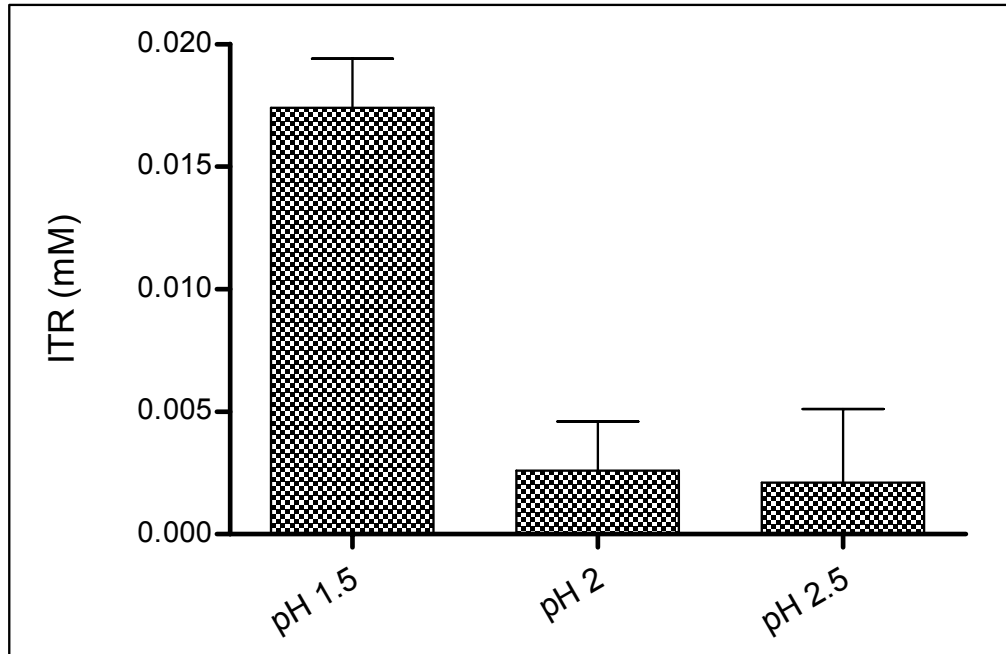
Şekil 4-3: 12mM siklodekstrin içeren pH 1,5 sulu çözelti:metanol (9:1 h/h) karışımı içerisinde kompleksleşen itrakonazolün milimolar miktarı



Şekil 4-4: 12mM siklodekstrin içeren pH 1,5 sulu çözelti:asetonitril (9:1 h/h) karışımı içerisinde kompleksleşen itrakonazolün milimolar miktarı

Tablo 4-7: İtrakonazolün SBE7-β-CD ile kompleksleşme verimine pH'nın etkisi (n=3)

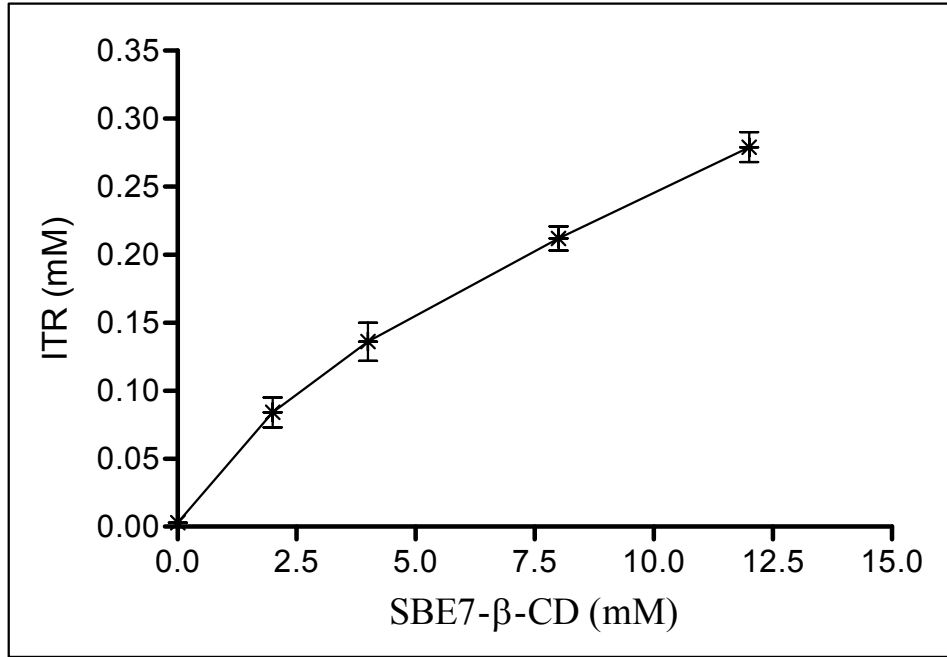
pH	Kompleksleşme verimi (%)
2,5	0,15 ± 0,02
2	0,18 ± 0,02
1,5	1,40 ± 0,03



Şekil 4-5: İtrakonazolün SBE7-β-CD ile kompleksleşmesine farklı pH değerlerinin etkisi

4.2.2. Faz Çözünürlük Çalışmalarına Ait Bulgular

Yöntem 3.2.2 de anlatıldığı şekilde faz çözünürlük çalışmaları yapıldı. Faz çözünürlük diyagramı Şekil 4-6'da gösterilmiştir. Etkin maddenin çözünürlük, stabilite sabiti ve diyagram tipi ise Tablo 4-8'de verilmiştir.



Şekil 4-6: İtrakonazolün pH 1,5 sulu çözelti:asetonitril (9:1 h/h) içerisinde SBE7-β-CD ile oluşturduğu komplekse (ITR:SBE7-β-CD) ait faz çözünürlük diyagramı

Tablo 4-8: SBE7-β-CD ile yapılan faz çözünürlük çalışmaları sonucu elde edilen etkin maddeye ait çözünürlük değeri, stabilite sabiti ve diyagram tipi

Çözünürlük (S_0) (M)	3.735×10^{-9}
Stabilite Sabiti (M^{-1})	9166
Faz Çözünürlük Diyagram Tipi	A_L

4.3. İçerik Kompleksleri Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular

4.3.1. Antifungal Duyarlılık Testlerine Ait Bulgular

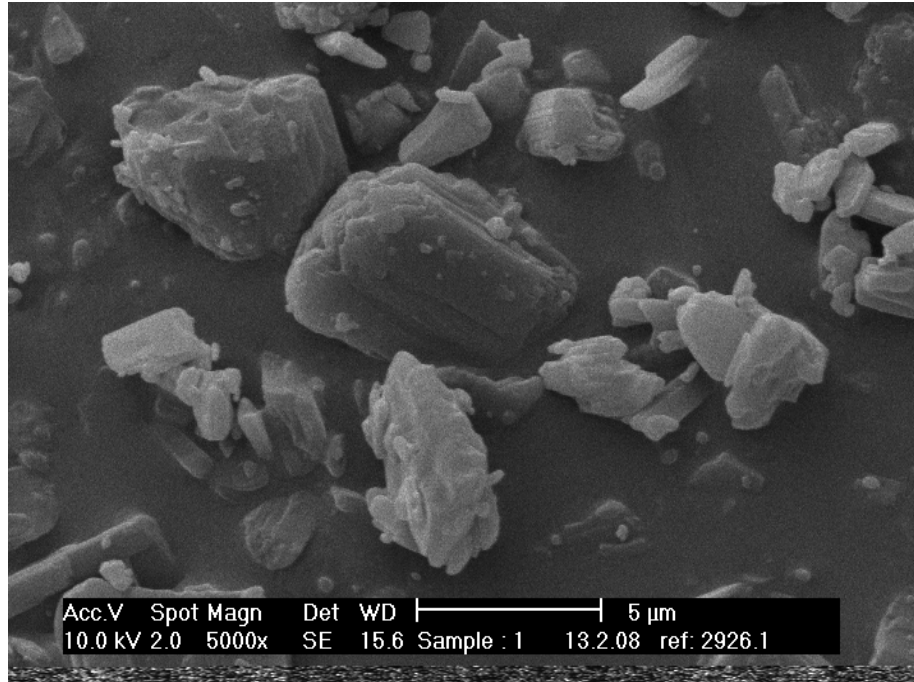
Yöntem 3.3.1. de anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilen itrakonazole, siklodekstrinlere ve komplekslere ait minimum inhibisyon konsantrasyonları Tablo 4-9'da gösterilmiştir.

Tablo 4-9: İtrakonazol, siklodekstrin ve komplekslere ait minimum inhibisyon konsantrasyonları (MIC)

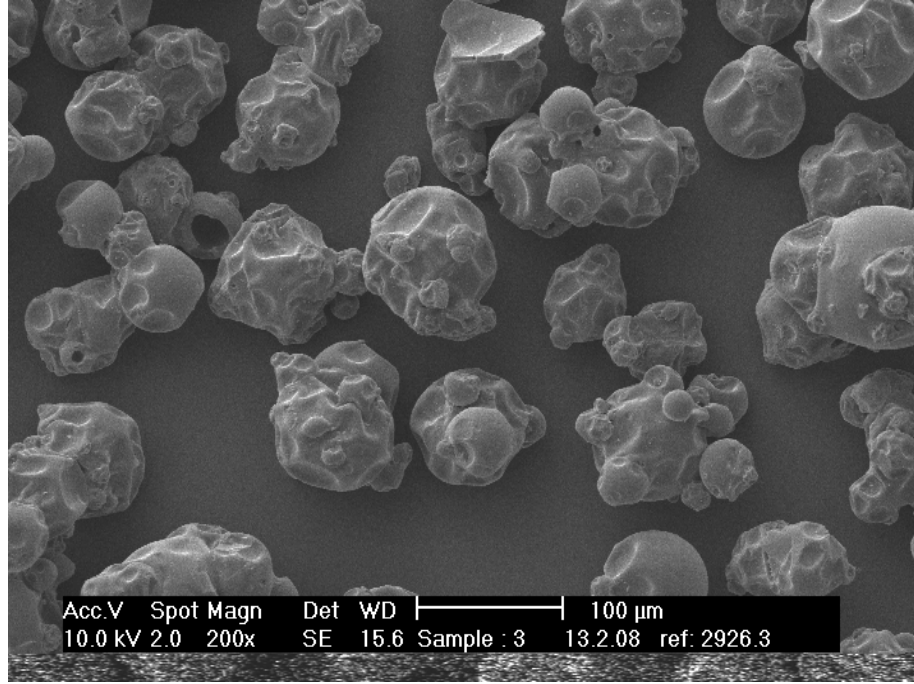
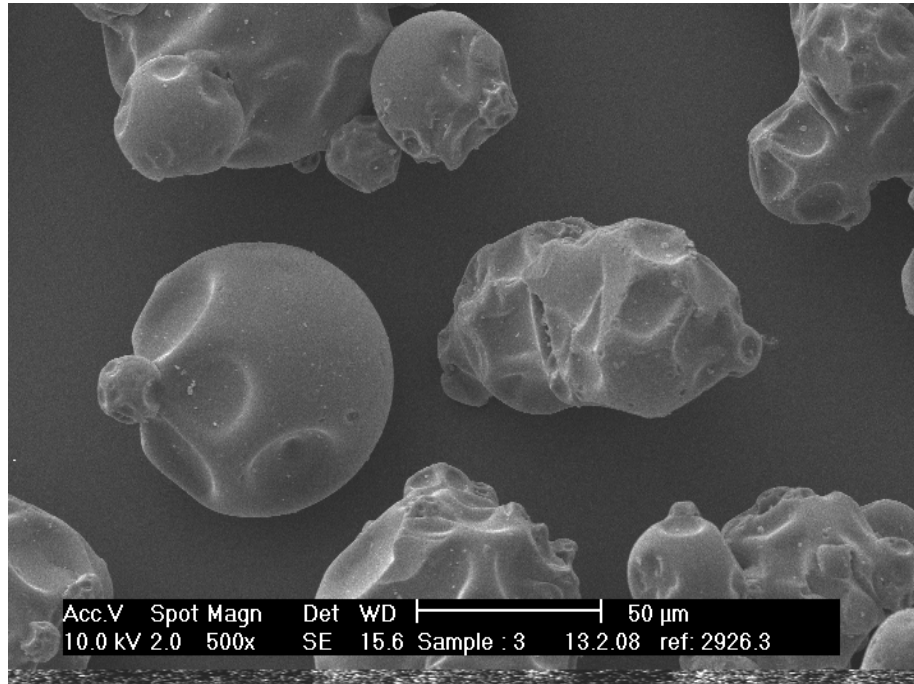
Numune	MIC (µg/mL)
ITR (DMSO içinde)	< 0,250
ITR:γ-CD	2
ITR:SBE7-β-CD	1
ITR:HP-β-CD	8
ITR:Met-β-CD	8
γ-CD	> 32
SBE7-β-CD	> 32
HP-β-CD	> 32
Met-β-CD	> 32

4.3.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizine Ait Bulgular

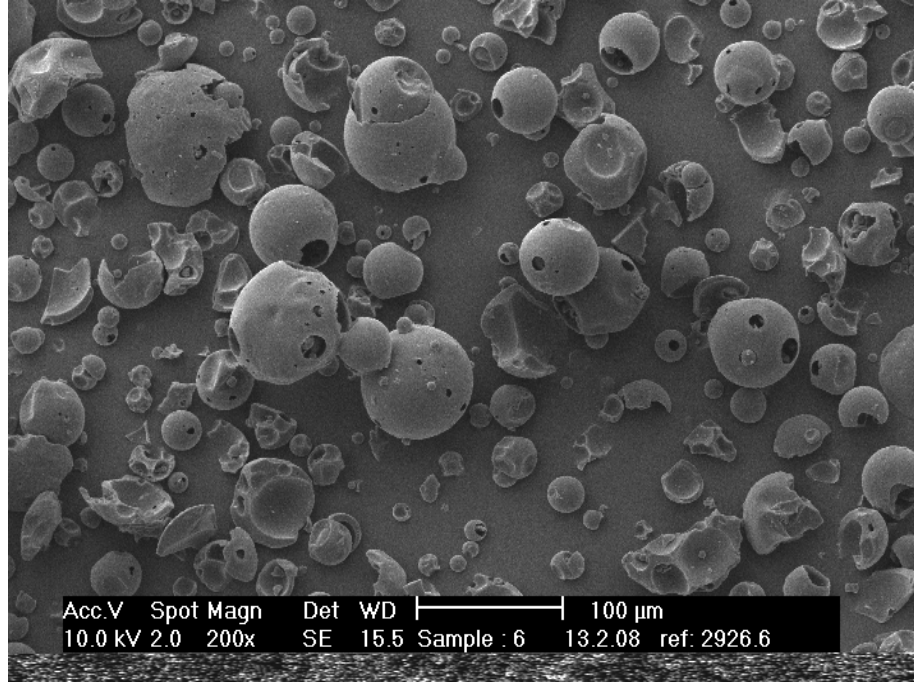
Etkin maddenin, siklodekstrinlerin ve elde edilen komplekslerin yüzey morfolojileri Yöntem 3.3.2. de anlatıldığı şekilde incelenmiş ve değişik büyütmelelerdeki taramalı elektron mikroskobu fotoğrafları Şekil 4-7 - 4-15’de gösterilmiştir.

**A****B**

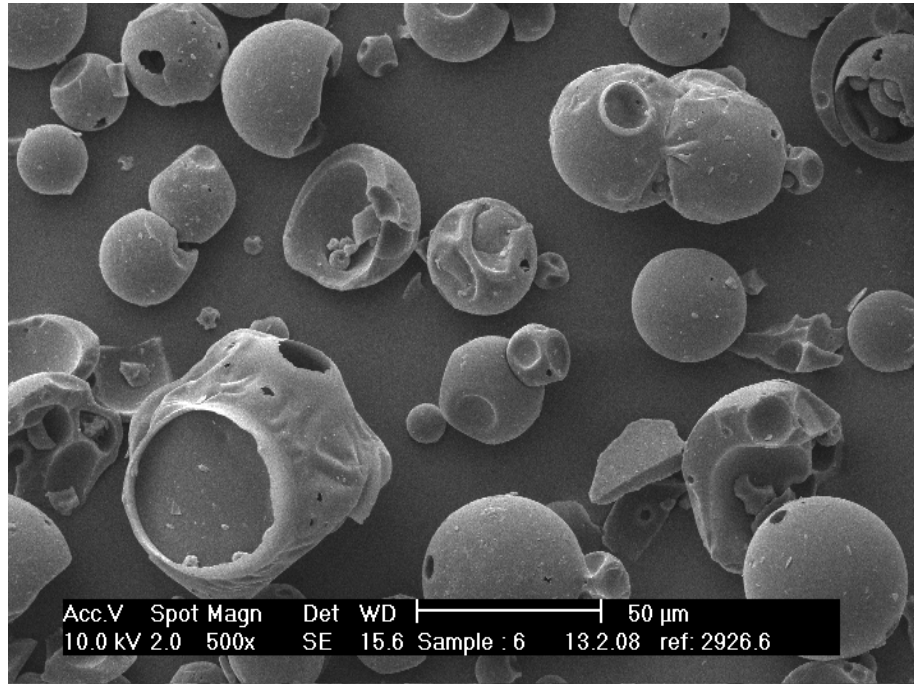
Şekil 4-7: İtrakonazolün taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme A) X2000, B) X5000

**A****B**

Şekil 4-8: SBE7-β-CD nin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme A) X200, B) X500



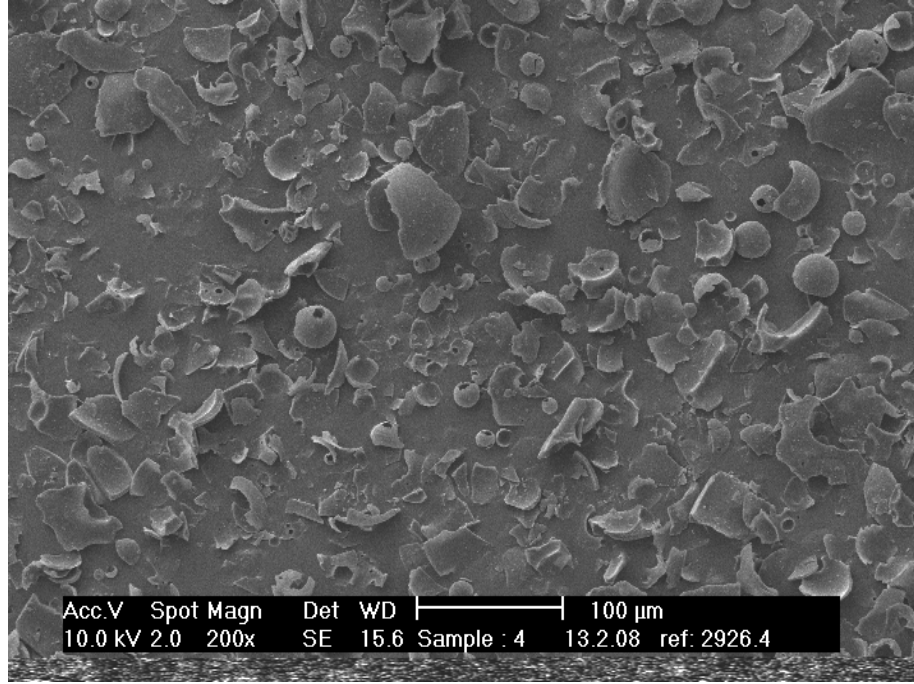
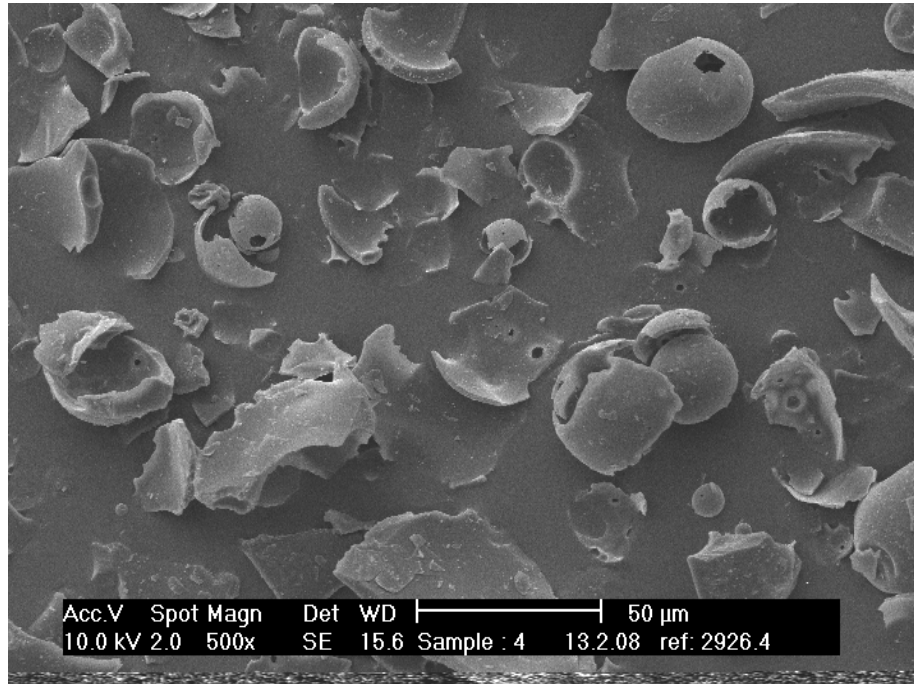
A



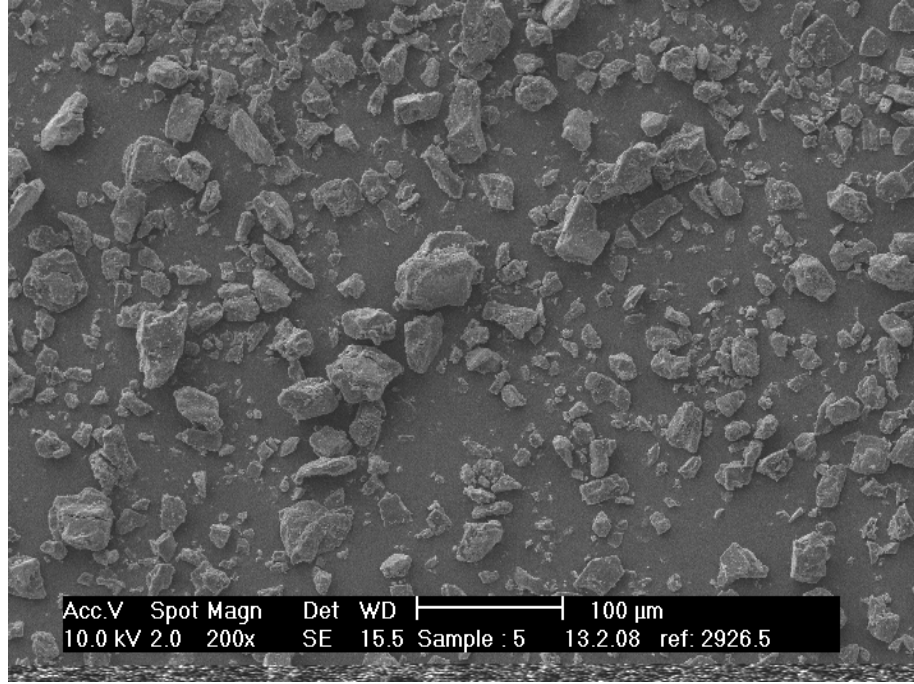
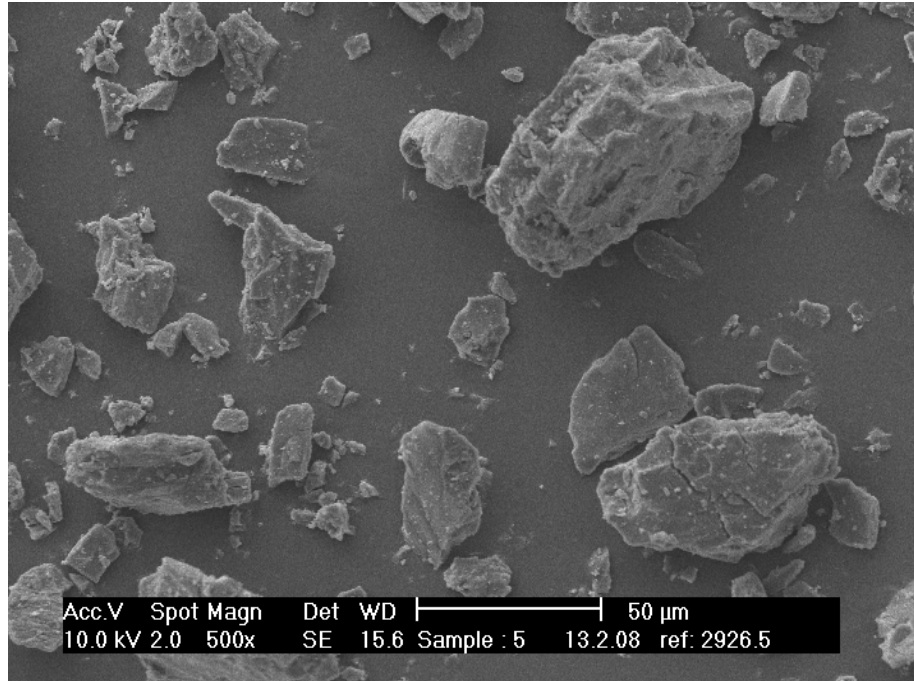
B

Şekil 4-9: HP-β-CD nin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme

A) X200, B) X500

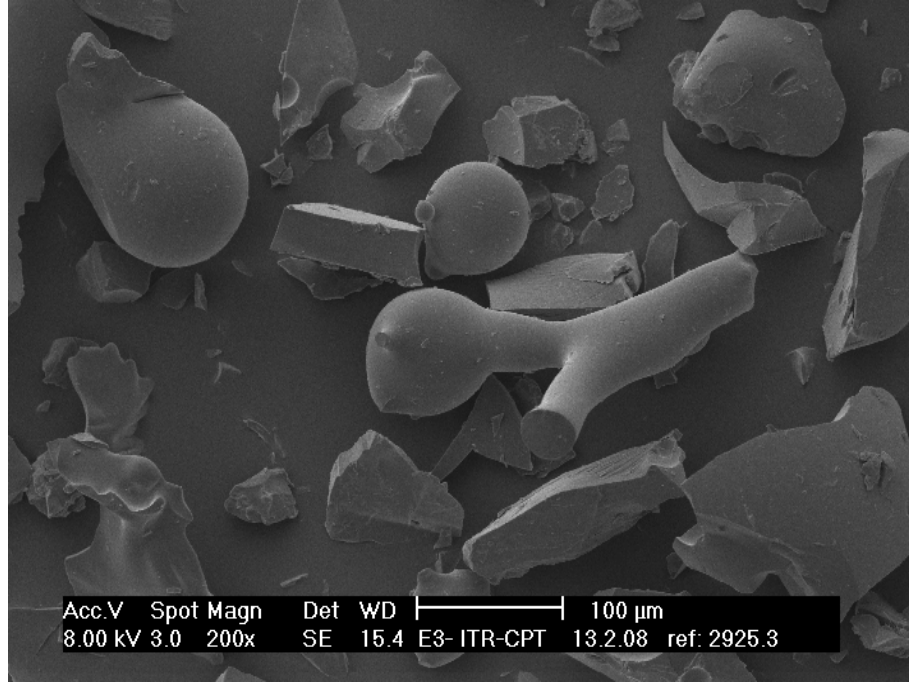
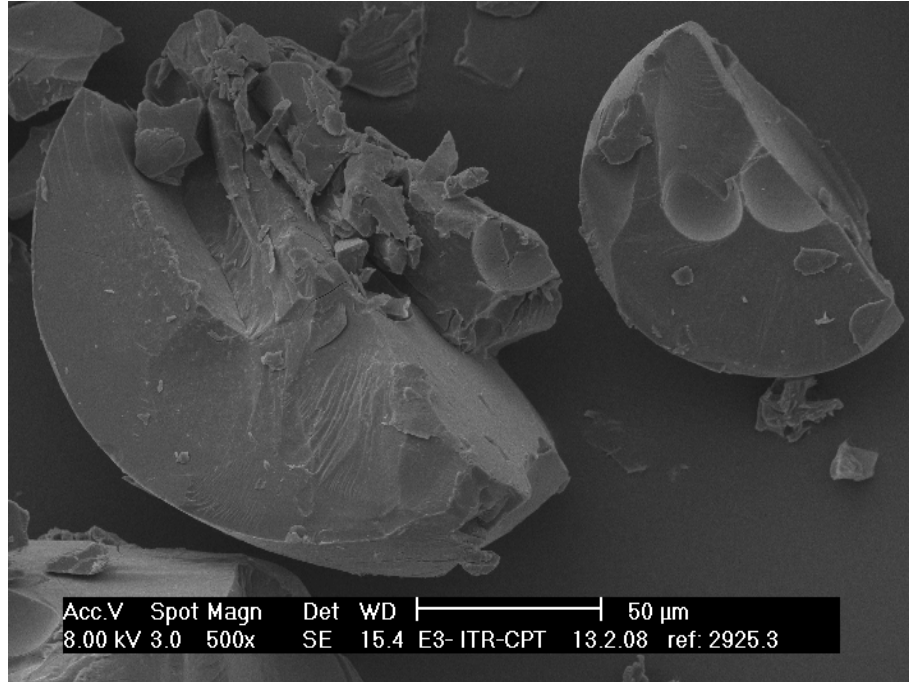
**A****B**

Şekil 4-10: Met-β-CD nin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme A) X200, B) X500

**A****B**

Şekil 4-11: γ -CD nin taramalı elektron mikroskobundaki görüntüsü; Büyütme

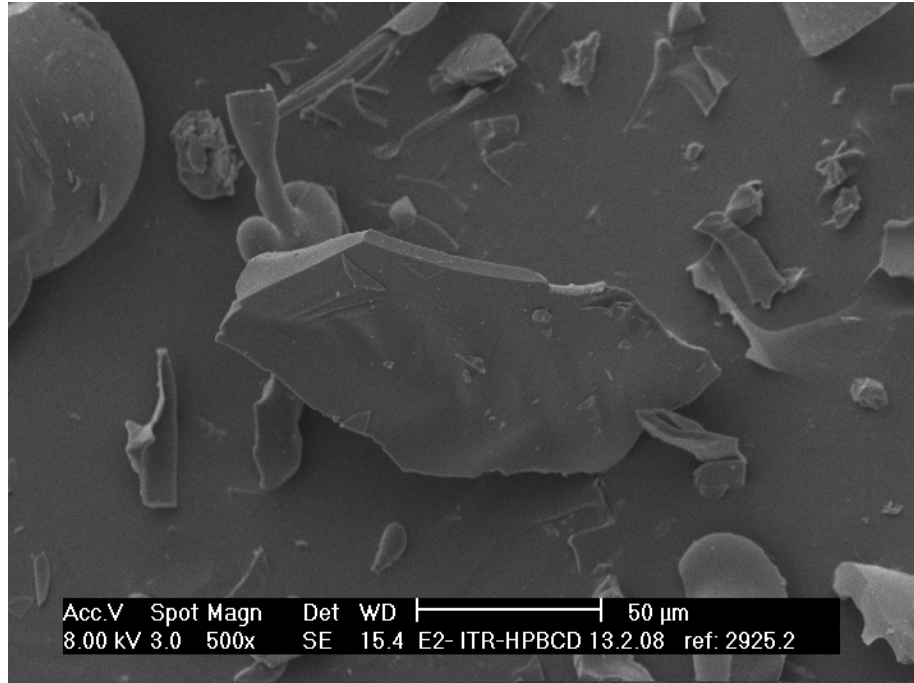
A) X200, B) X500

**A****B**

Şekil 4-12: ITR:SBE-β-CD nin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme A) X200, B) X500

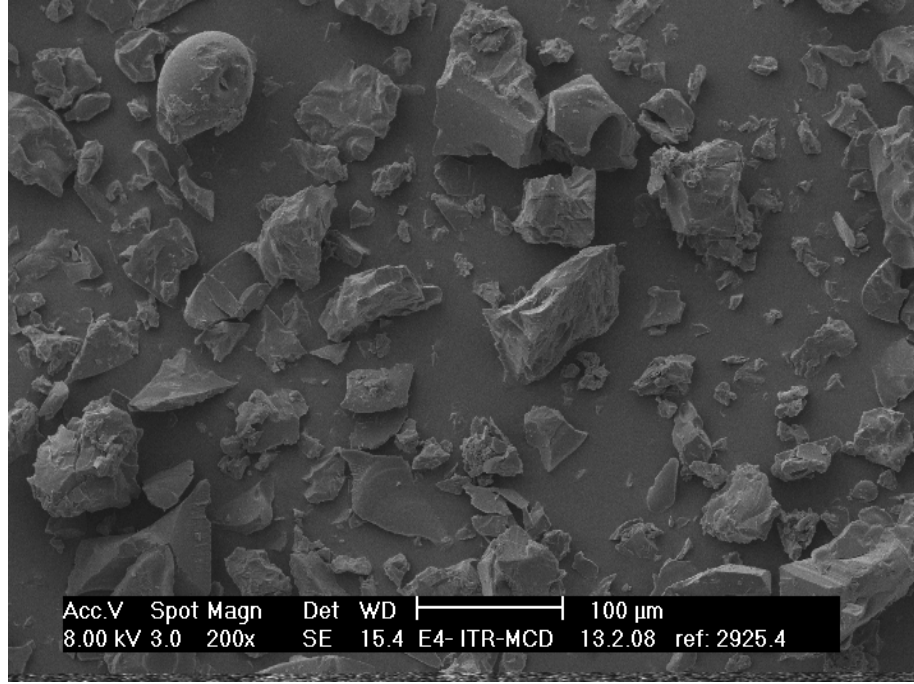
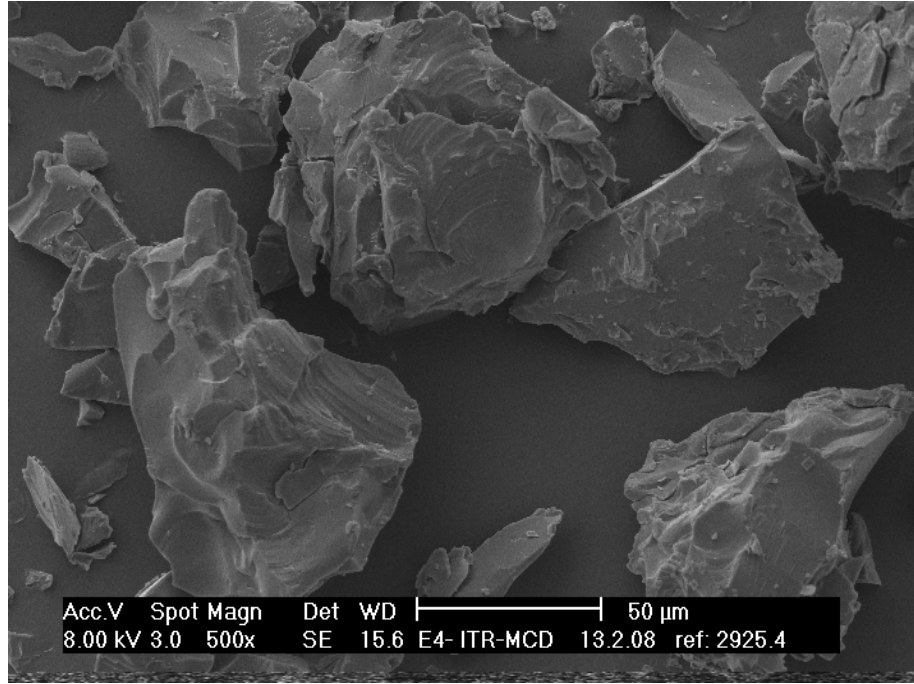


A

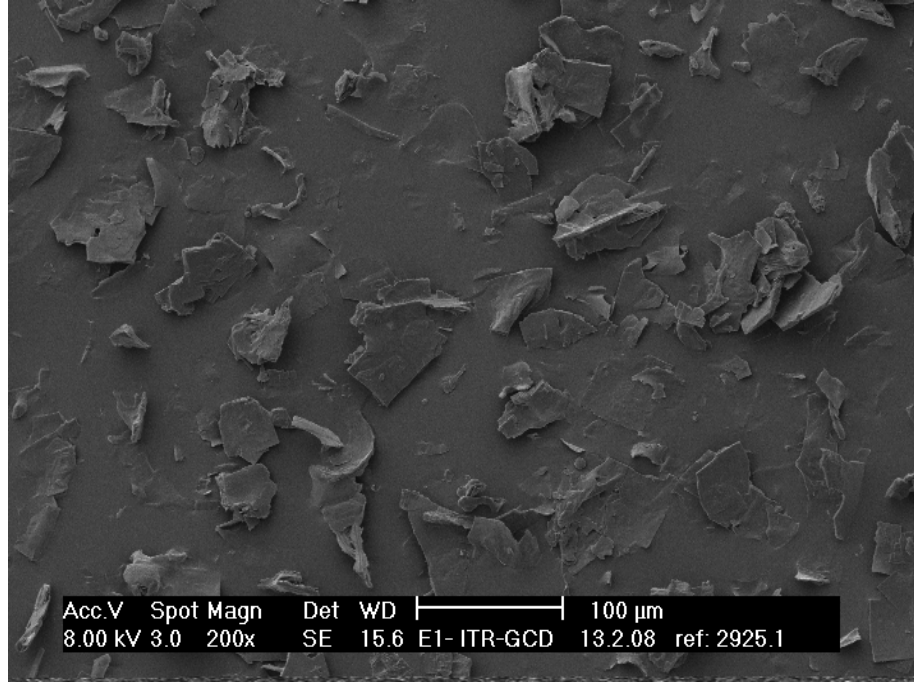


B

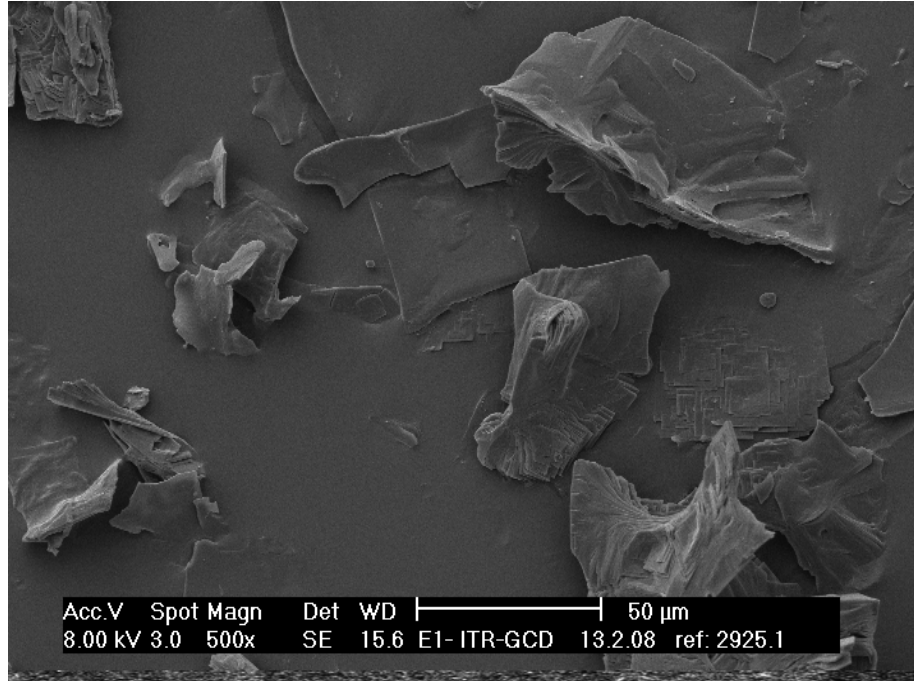
Şekil 4-13: ITR:HP-β-CD nin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme A) X200, B) X500

**A****B**

Şekil 4-14: ITR:MET-β-CD nin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme A) X200, B) X500



A

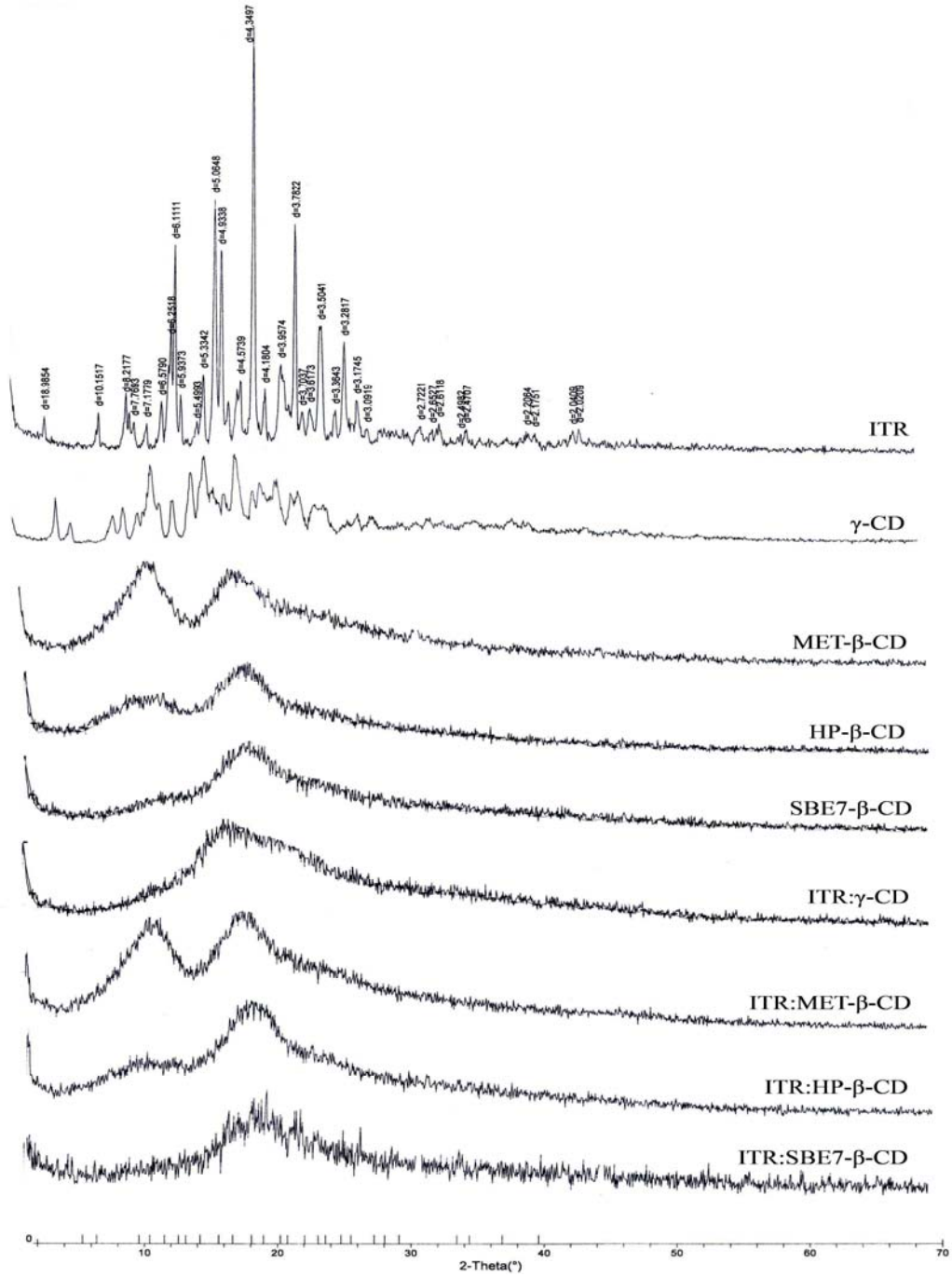


B

Şekil 4-15: ITR: γ -CD nin taramalı elektron mikroskopundaki görüntüsü; Büyütme A) X200, B) X500

4.3.3. Toz X-Işını Kırınım (PXRD) Analizine Ait Bulgular

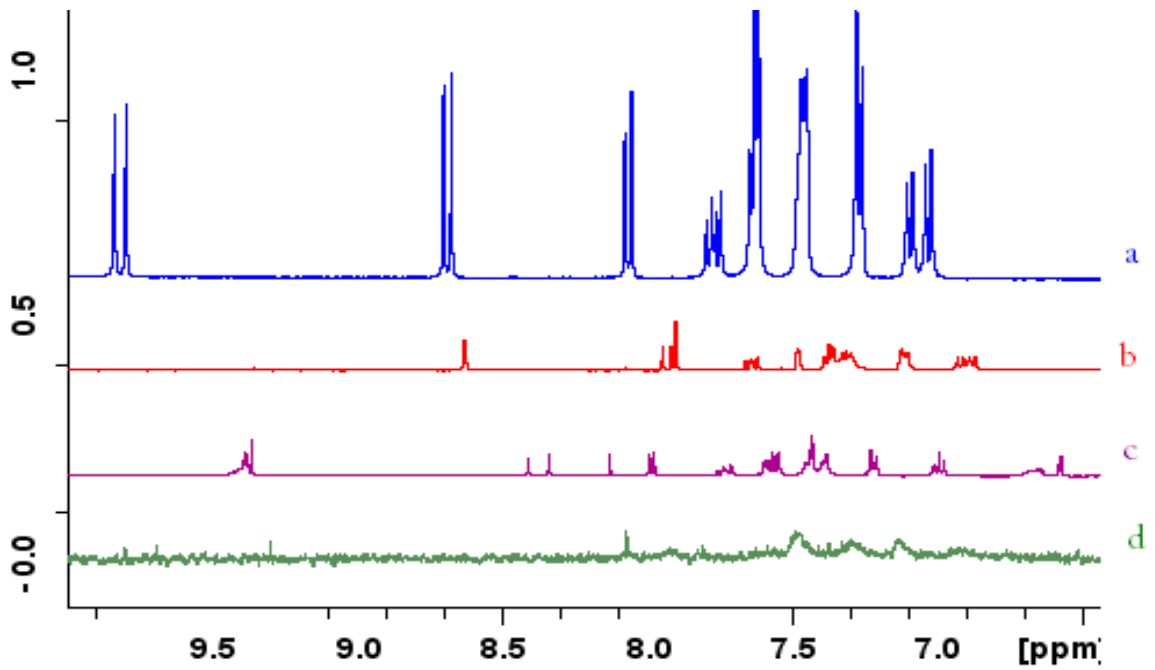
Yöntem 3.3.3.'de anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilmiş, itrakonazol, siklodekstrinler ve komplekslere ait X-ışını kırınım grafikleri Şekil 4-16'da gösterilmiştir.



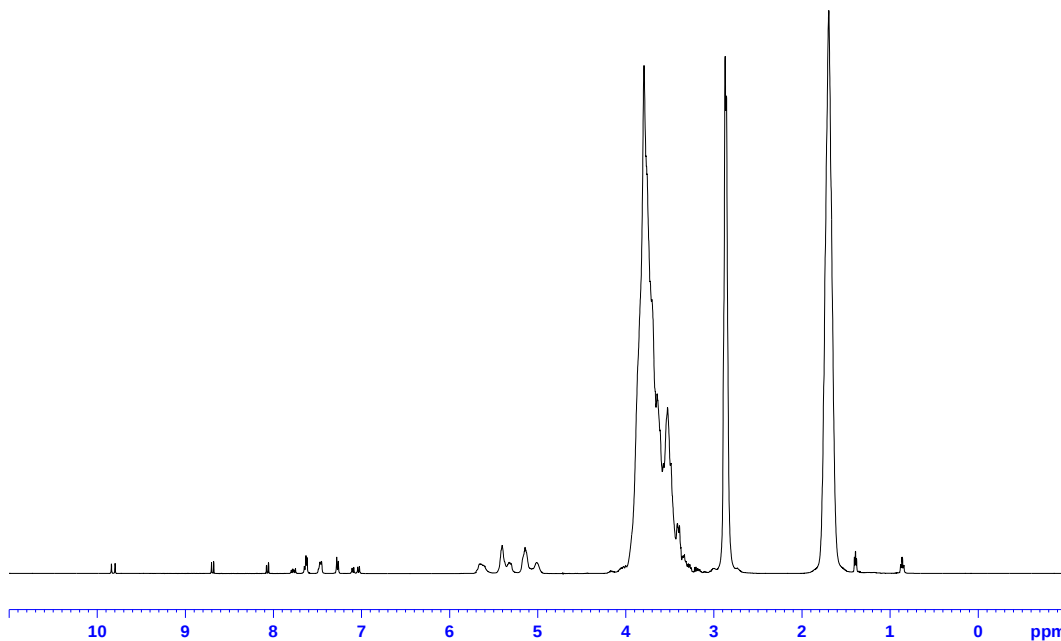
Şekil 4-16: İtrakonazol, siklodekstrinler ve komplekslere ait X ışını kırınım desenleri

4.3.4. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Analizine Ait Bulgular

NMR çalışmaları Yöntem 3.3.4.'de anlatıldığı şekilde yapıldı. Analiz sonuçları Şekil 4-17'de görülmektedir. İtrakonazolün düşük çözünürlüğü nedeniyle döteryum oksit (D_2O) içerisinde 1D 1H NMR spektrumu elde edilememiştir. İtrakonazolün en belirgin spektrumu SBE7- β -CD varlığında elde edilmiştir (Şekil 4-18). ITR iki farklı konumdan SBE7- β -CD'e bağlanabilmektedir ve bu nedenle ITR:SBE7- β -CD kompleksinin NOESY spektrumu diyagonal çapraz piklerin ve etkileşim bölgelerinin eksikliğinden dolayı açık bir şekilde saptanamamıştır. Komplekslerdeki itrakonazolün siklodekstrinlere molar oranları ve D_2O içerisinde alınan NMR spektrumlarındaki siklodekstrinlere ait piklerin eğri altında kalan alanları, itrakonazole ait 14 adet aromatik hidrojen atomuna ait piklerin alanları ile karşılaştırılmıştır (Tablo 4-10).



Şekil 4-17: a) SBE7- β -CD, b) HP- β -CD, c) Met- β -CD ve d) γ -CD varlığında itrakonazolün 1D 1H NMR spektrumunun aromatik bölgesinin örtüşme grafiği (a, b ve c ile karşılaştırıldığında d 4 kat büyütülmüştür)



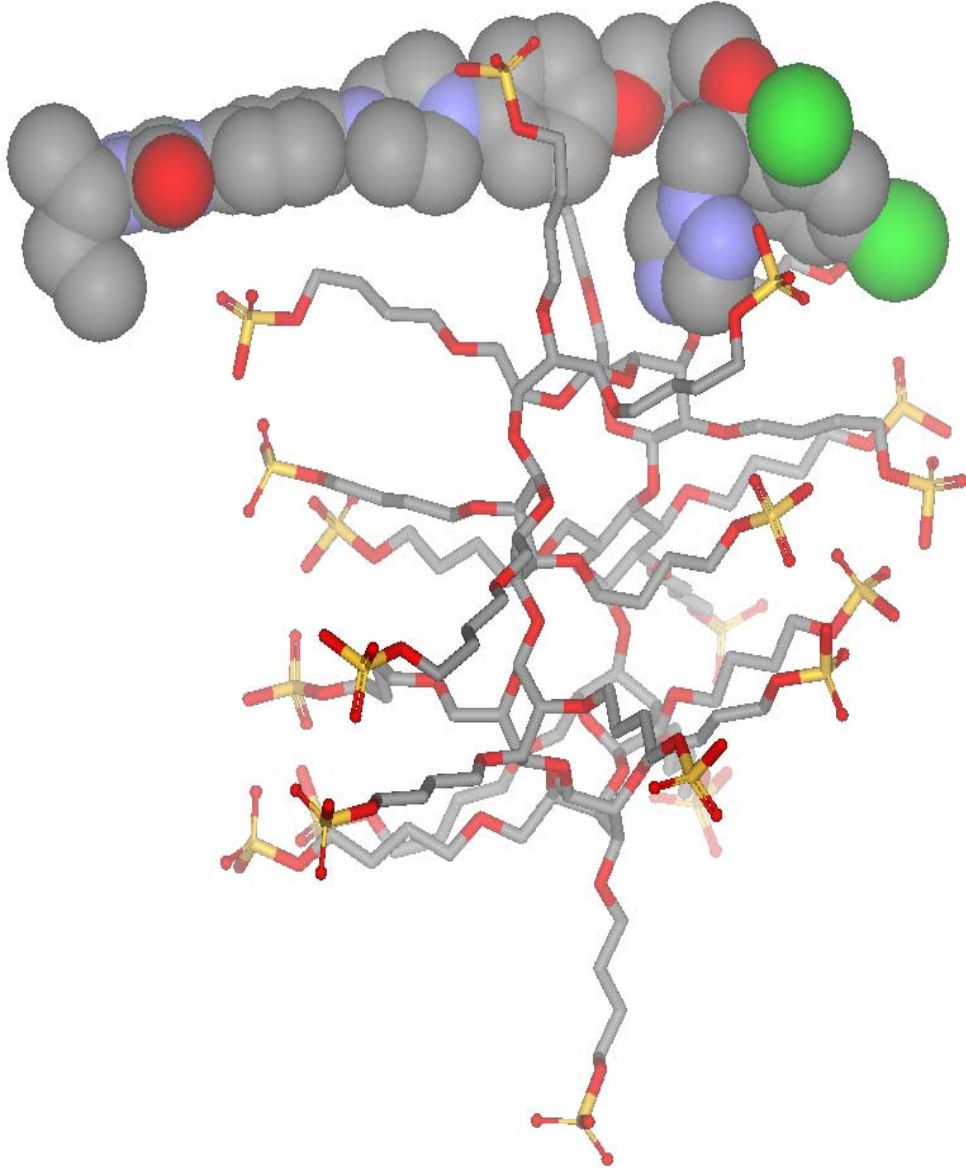
Şekil 4-18: ITR:SBE7-β-CD kompleksinin D₂O içerisinde 298 K sıcaklığında alınmış 1D ¹H NMR spektrumu

Tablo 4-10: Komplekslerdeki itrakonazolün siklodekstrinlere molar oranları. D₂O içerisinde alınan NMR spektrumlarındaki siklodekstrinlere ait piklerin eğri altında kalan alanları itrakonazole ait 14 adet aromatik hidrojen atomlarına ait piklerin alanları ile karşılaştırılmıştır

Kompleks	Siklodekstrinlere ait piklerinin alanları	İtrakonazole ait aromatik piklerin alanları	İtrakonazol alanı (¹ H)	Molar oranı
ITR:γ-CD	56	0,038	0,002	1:0,002
ITR:Met-β-CD	49	0,109	0,008	1:0,008
ITR:HP-β-CD	175	0,377	0,027	1:0,027
ITR:SBE7-β-CD	217	2,654	0,189	1:0,189

4.3.5. Moleküler Modelleme Bulguları

Moleküler modelleme çalışmaları Yöntem 3.3.5. de anlatıldığı üzere yapılmıştır. ITR:SBE7-β-CD kompleksinin moleküler modeli Şekil 4-19’da verilmiştir.



Şekil 4-19: MCMM metodu, MMFFs etki alanı ve GB/SA kurtarma modeli kullanılarak konformasyonel tarama ile hazırlanmış, ITR:SBE7- β -CD kompleksine ait en düşük enerji konformasyonu. Model, SBE7- β -CD nin sodyum atomlarının eksikliğinde hidroksillenmiş fosfat grupları ile elde edildi.

4.4. Mukoadezif Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular

4.4.1. Fiziksel Kontrollere Ait Bulgular

4.4.1.1. Ağırlık Sapması

Yöntem 3.5.1.1. de anlatıldığı şekilde tabletlere yapılan ağırlık sapması tayinine ait bulgular Tablo 4-11'de verilmiştir.

Tablo 4-11: İtrakonazol içeren tabletlerde yapılan ağırlık sapması tayinine ait bulgular (n=10)

Formülasyon	Ortalama Ağırlık (g)	SD ($\pm$)	RSD (%)
X1	0,196	0,001	0,052
X2	0,198	0,001	0,078
X3	0,195	0,001	0,151
X4	0,197	0,001	0,064
X5	0,199	0,001	0,155
X6	0,200	0,001	0,109
C	0,197	0,001	0,124
H1	0,197	0,001	0,082
H2	0,198	0,001	0,052
H3	0,200	0,001	0,052
H4	0,199	0,001	0,066
H5	0,200	0,001	0,066
H6	0,200	0,001	0,067

4.4.1.2. Çap ve yükseklik

Yöntem 3.5.1.2. de anlatıldığı şekilde itrakonazol içeren tabletlerde yapılan çap ve yükseklik tayinine ait bulgular Tablo 4-12'de verilmiştir.

Tablo 4-12: İtrakonazol içeren tabletlerde yapılan çap ve yükseklik tayinine ait (n=10)

Formülasyon	Tablet Çapı			Tablet Yüksekliği		
	Ortalama (mm)	SD (±)	RSD (%)	Ortalama (mm)	SD (±)	RSD (%)
X1	7,853	0,012	0,159	2,733	0,012	0,457
X2	7,840	0,000	0,000	2,756	0,009	0,350
X3	7,836	0,005	0,065	2,764	0,005	0,186
X4	7,840	0,000	0,000	2,761	0,008	0,317
X5	7,855	0,007	0,090	2,775	0,010	0,389
X6	7,869	0,011	0,152	2,785	0,010	0,387
C	7,815	0,007	0,090	2,805	0,010	0,385
H1	7,900	0,008	0,103	3,060	0,016	0,533
H2	7,903	0,004	0,061	3,067	0,012	0,408
H3	7,910	0,008	0,103	2,927	0,012	0,427
H4	7,873	0,004	0,061	2,964	0,017	0,577
H5	7,887	0,004	0,061	2,941	0,014	0,492
H6	7,897	0,004	0,061	2,857	0,012	0,438

4.4.1.3. Ufalanabilirlik

Yöntem 3.5.1.3. de anlatıldığı şekilde çalışılarak itrakonazol içeren yapılan ufalanabilirlik tayinine ait bulgular Tablo 4-13 de verilmiştir.

Tablo 4-13: Tabletlerde ufalanabilirlik tayinine ait bulgular (n=20)

Formülasyon Kodu	Ufalanabilirlik (%)
X1	0,03
X2	0,08
X3	0,16
X4	0,16
X5	0,04
X6	0,06
C	0,06
H1	0,00
H2	0,03
H3	0,08
H4	0,08
H5	0,08
H6	0,11

4.4.1.4. Sertlik

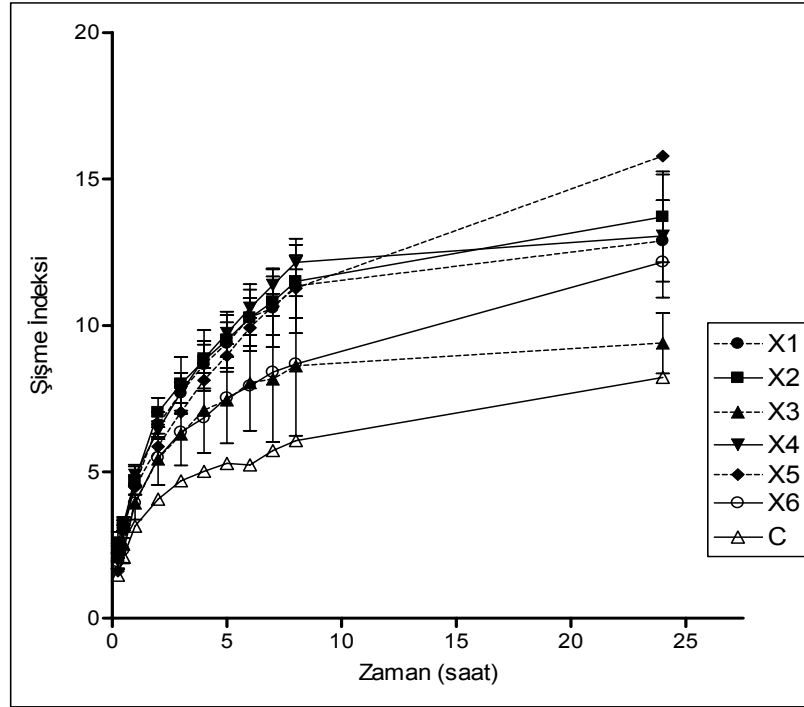
Yöntem 3.5.1.4. de anlatıldığı şekilde itrakonazol içeren tabletlerde yapılan sertlik tayinine ait bulgular Tablo 4-14'de verilmiştir.

Tablo 4-14: Tabletlerde yapılan sertlik tayinine ait bulgular (n=10)

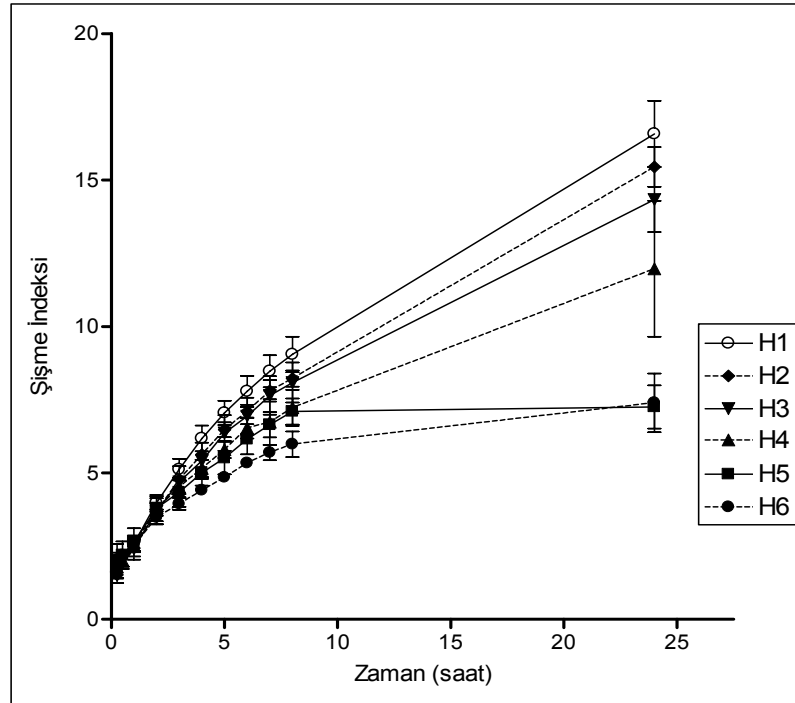
Formülasyon	Sertlik (N)	SD ($\pm$)	RSD (%)
X1	248	3,15	1,26
X2	265	4,35	1,64
X3	250	4,60	1,64
X4	270	4,38	1,62
X5	302	5,19	1,71
X6	295	4,08	1,38
C	248	3,30	1,33
H1	168	2,49	1,47
H2	196	2,41	1,22
H3	343	6,35	1,84
H4	364	6,57	1,80
H5	357	7,01	1,96
H6	360	6,63	1,83

4.4.2. Tablet Formülasyonlarının Şişme İndeksine ait Bulgular

Şişme indeksi çalışmaları Yöntem 3.5.2. de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Ksantan zambkı ve Carbopol®934P ile hazırlanmış mukoadezif tabletlere (C ve X serisi) ait şişme indeksi bulguları Şekil 4-20'de, HPMC ve Carbopol®934P ile hazırlanmış mukoadezif tabletlere (H serisi) ait şişme indeksi bulguları Şekil 4-21'de verilmiştir.



Şekil 4-20: Ksantan zamkı ve Carbopol®934P ile hazırlanmış mukoadezif tabletlere (C ve X serisi) ait şişme indeksi sonuçları



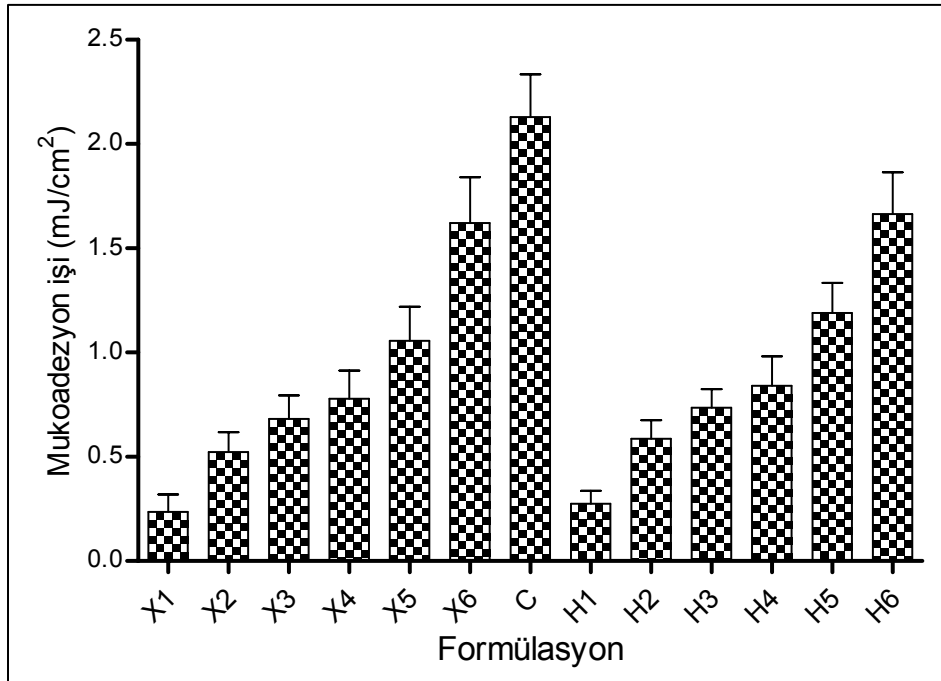
Şekil 4-21: HPMC ve Carbopol®934P ile hazırlanmış mukoadezif tabletlere (H serisi) ait şişme indeksi sonuçlar

4.4.3. Mukoadezyon Çalışmalarına Ait Bulgular

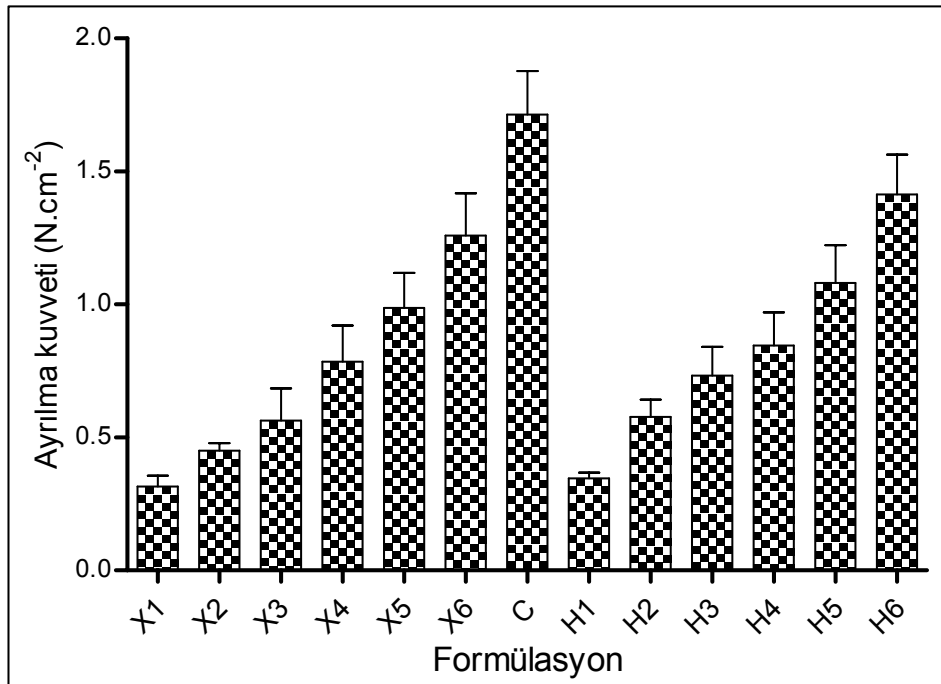
Mukoadezyon çalışmaları Yöntem 3.5.3. de anlatıldığı üzere gerçekleştirildi. Vajinal tabletlere ait mukoadezyon işi ve ayrılma kuvveti bulguları Tablo 4-15'de, mukoadezyon işi grafiği Şekil 4-22'de, tabletlerin vajinal mukozadan ayrılma kuvvetini gösteren grafik ise Şekil 4-23'de verilmiştir. ITR:SBE7- β -CD kompleksini içeren Carbopol®934P ile hazırlanmış tablet formülasyonuna (C formülasyonu) ait mukoadezyon testi kuvvet-mesafe eğrisi Şekil 4-24'de verilmiştir.

Tablo 4-15: Formülasyonlara ait mucoadezyon işi ve ayrılma kuvveti bulguları (n=3)

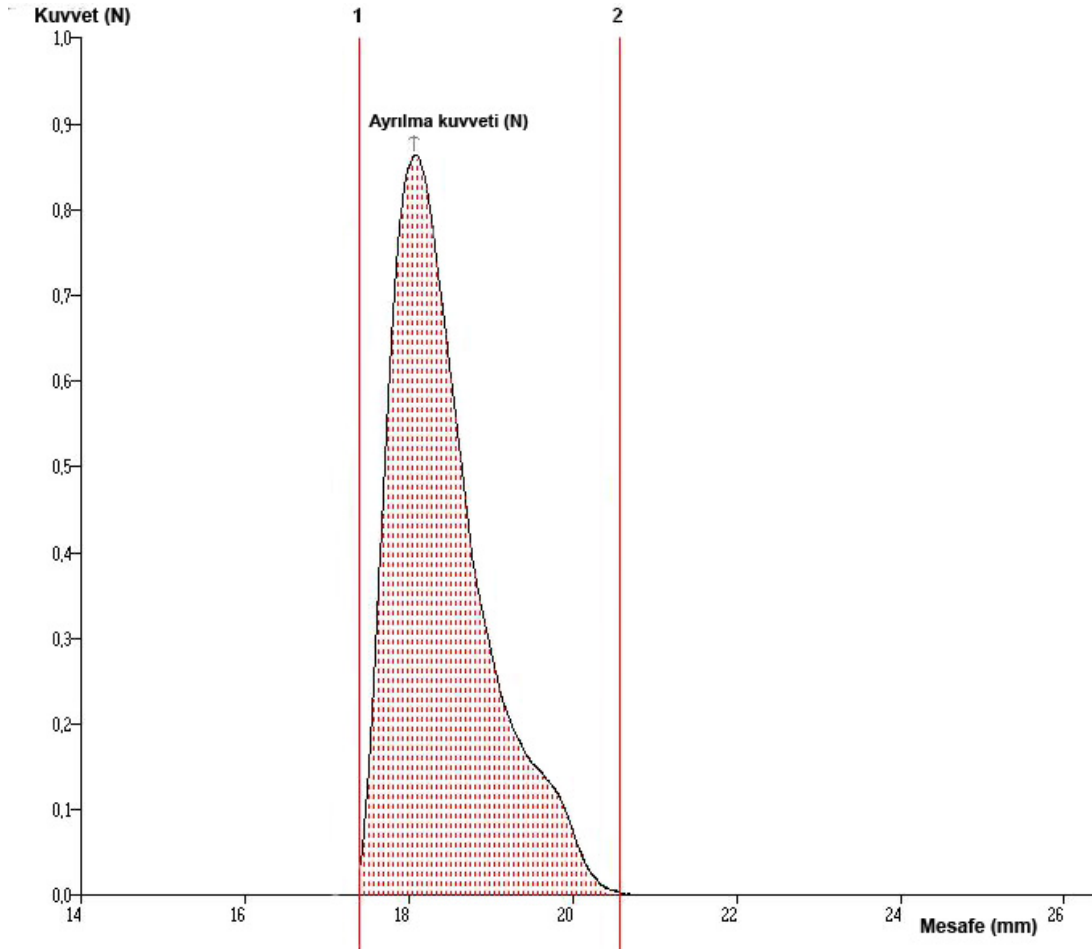
Formülasyon	Mukoadezyon işi (mJ/cm ²)	Ayrılma kuvveti (N/cm ²)
X1	0,235±0,085	0,316±0,040
X2	0,523±0,096	0,450±0,028
X3	0,681±0,113	0,563±0,121
X4	0,778±0,136	0,784±0,136
X5	1,057±0,163	0,987±0,132
X6	1,622±0,218	1,258±0,160
C	2,130±0,204	1,714±0,163
H1	0,275±0,062	0,346±0,022
H2	0,587±0,088	0,577±0,065
H3	0,736±0,128	0,732±0,108
H4	0,840±0,142	0,846±0,124
H5	1,190±0,144	1,081±0,142
H6	1,664±0,201	1,413±0,151



4-22: Texture analiz cihazı ile yapılan mukoadezyon testi sonucunda elde edilen ve tabletlerin vajinal mukozaya yapışma kaabiliyetini gösteren mukoadezyon işi sonuçları



4-23: Texture analiz cihazı ile yapılan mukoadezyon testi sonucunda elde edilen ve vajinal mukoza ile 30 s boyunca temas eden tabletlerin mukozadan ayrılma kuvvetine ait sonuçlar



4-24: ITR:SBE7-β-CD kompleksini içeren Carbopol®934P ile hazırlanmış (C formülasyonu) tablet formülasyonuna ait mukoadezyon testi kuvvet-mesafe eğrisi

4.4.4. Tablet Formülasyonlarından *İn vitro* Etkin Madde Salım Hızı Çalışmalarına Ait Bulgular

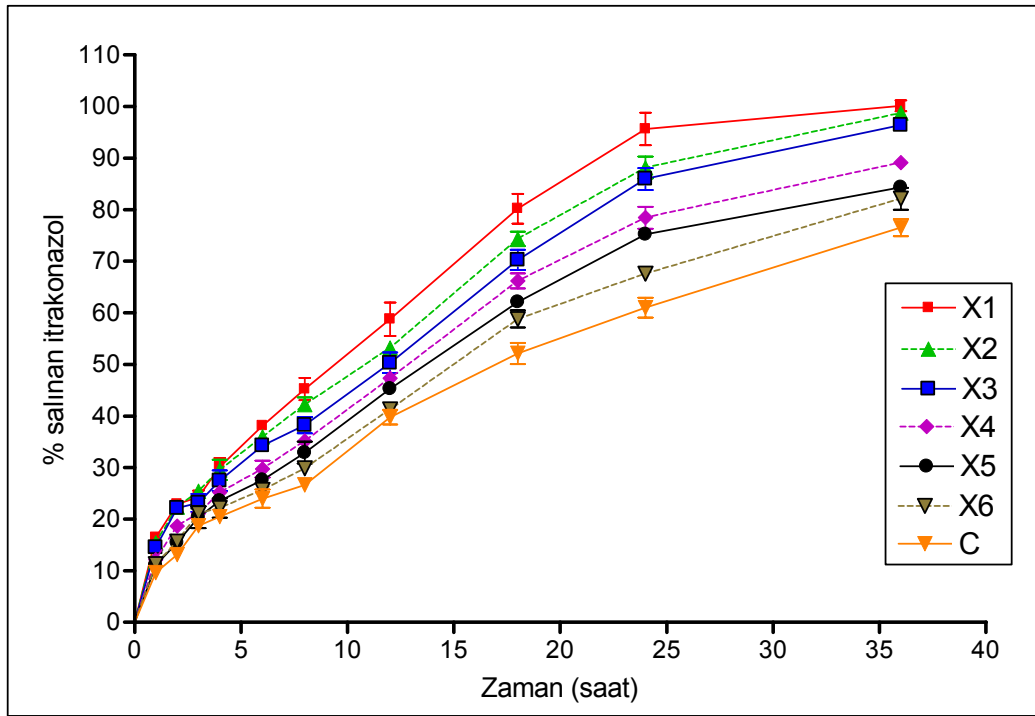
İn vitro etkin madde salım çalışmaları Yöntem 3.5.4.'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Ksantan zámkı ve Carbopol®934P ile hazırlanmış mukoadezif tabletlerden (C ve X serisi) zamana bağılı yüzde salınan itrakonazol miktarları Tablo 4-16'da, HPMC ve Carbopol®934P ile hazırlanmış mukoadezif tabletlerden (C ve H serisi) zamana bağılı yüzde salınan itrakonazol miktarları ise Tablo 4-17'de verilmiştir. Ayrıca İtrakonazolün C ve X serisi formülasyonlardan zamana bağılı salım grafiğı Şekil 4-25'de, H serisi tabletlerden zamana bağılı salım grafiğı ise Şekil 4-26'da verilmiştir.

Tablo 4-16: Ksantan zamkı ve Carbopol®934 ile hazırlanmış mukoadezif tabletlerden zamana bağlı salınan yüzde itrakonazol miktarları

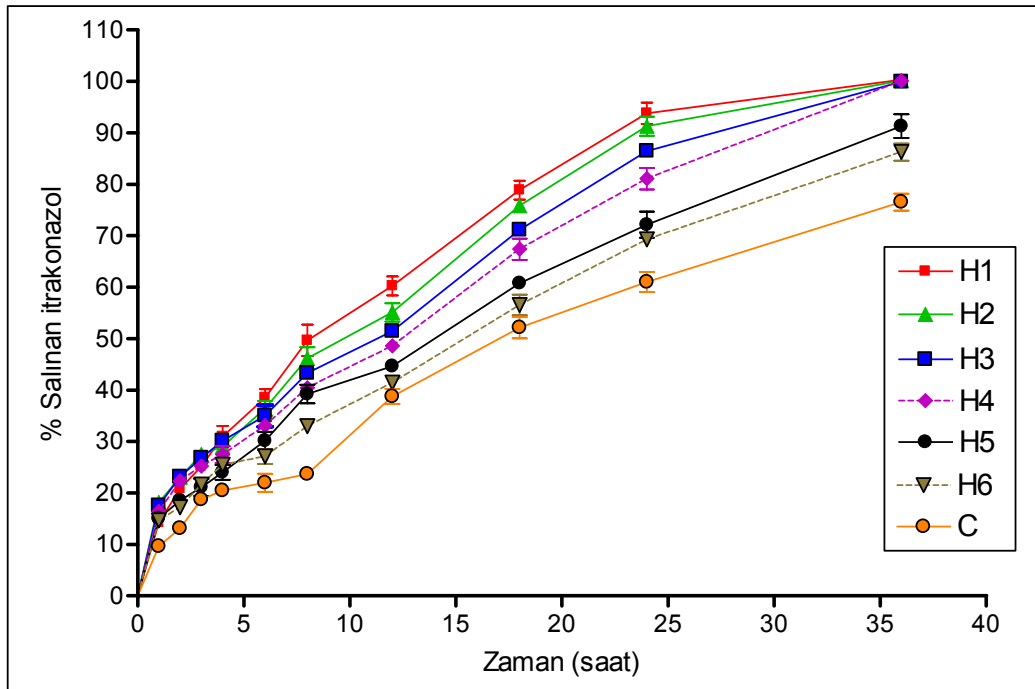
Zaman (saat)	% Salınan itrakonazol													
	X1		X2		X3		X4		X5		X6		C	
	Ort (%)	SD (±)	Ort (%)	SD (±)	Ort (%)	SD (±)	Ort (%)	SD (±)	Ort (%)	SD (±)	Ort (%)	SD (±)	Ort (%)	SD (±)
1	16,45	0,92	15,43	0,56	14,52	0,45	12,13	0,76	11,11	0,45	11,28	0,34	9,65	0,56
2	22,91	0,89	22,34	0,78	22,13	0,87	18,67	0,29	15,45	1,26	15,63	1,23	13,13	1,23
3	24,32	1,24	25,43	0,59	23,15	1,76	21,12	0,78	20,36	2,13	21,08	0,96	18,75	1,25
4	30,16	1,65	29,56	1,98	27,45	1,98	23,21	1,21	21,55	1,09	22,14	1,87	20,45	0,94
6	34,12	0,98	32,14	1,05	31,23	0,94	28,72	1,65	26,59	1,06	24,63	0,96	21,98	1,76
8	38,79	2,16	36,43	1,35	35,11	1,56	30,14	0,95	28,90	2,15	26,87	0,68	23,67	0,78
12	58,76	3,21	53,21	0,98	50,29	2,01	46,32	1,31	44,27	1,23	41,23	1,21	38,75	1,43
18	80,20	2,89	74,35	1,39	70,28	1,95	66,19	1,45	62,13	0,84	58,80	1,65	52,12	2,08
24	95,65	3,13	88,15	2,14	85,97	2,12	78,45	2,13	75,21	1,31	67,58	0,89	60,98	1,93
36	100,13	1,05	98,71	1,01	96,43	0,86	89,13	0,68	84,34	1,26	82,13	2,13	76,54	1,66

Tablo 4-17: HPMC ve Carbopol®934 ile hazırlanmış mukoadezif tabletlerden zamana bağlı salınan yüzde itrakonazol miktarları

Zaman (saat)	% Salınan itrakonazol											
	H1		H2		H3		H4		H5		H6	
	Ort (%)	SD (±)	Ort (%)	SD (±)	Ort (%)	SD (±)	Ort (%)	SD (±)	Ort (%)	SD (±)	Ort (%)	SD (±)
1	14,22	0,62	18,12	0,48	17,54	0,23	16,42	0,42	15,08	0,87	14,65	0,23
2	20,84	0,65	23,09	0,96	23,17	0,43	22,34	0,97	18,54	0,95	17,22	0,67
3	25,16	0,96	27,54	0,98	26,81	1,36	25,23	1,12	21,09	1,65	21,63	1,21
4	30,94	2,12	29,01	1,09	30,13	1,32	27,46	1,65	24,02	1,43	25,47	1,09
6	38,51	1,65	36,43	1,43	35,01	2,12	33,12	0,96	30,13	1,76	27,11	1,43
8	49,65	3,05	46,16	2,12	43,28	1,21	40,42	0,96	39,22	1,82	33,00	0,67
12	60,23	1,87	55,09	1,76	51,42	0,96	48,59	1,12	44,65	0,69	41,41	0,88
18	78,86	1,84	75,85	0,95	71,13	1,08	67,38	2,05	60,79	1,12	56,53	2,02
24	93,78	2,12	91,26	1,86	86,42	1,29	81,09	2,09	72,13	2,54	69,24	1,21
36	100,33	0,21	100,11	0,67	99,87	0,25	100,05	0,49	91,29	2,31	86,25	1,65



4-25: Ksantan zmkı ve Carbopol®934 ile hazırlanmış mukoadezif tabletlerden zamana bağı yüzde salınan itraconazol miktarları



4-26: HPMC ve Carbopol®934 ile hazırlanmış mukoadezif tabletlerden zamana bağı yüzde salınan itraconazol miktarları

4.4.5. Tabletlerden *İn Vitro* Etkin Madde Salımına Ait Verilerin Kinetik Yönden Değerlendirilmesine Ait Bulgular

Mukoadezif tablet formülasyonlarından *in vitro* ilaç salım çalışmaları ile elde edilen bulguların 0. derece, 1. derece, Higuchi, Hixon Crowel kinetik modellerine uyumu araştırılmış ve herbir kinetik modele ait r^2 değerleri Tablo 4-18 de verilmiştir.

Tablo 4-18: *İn vitro* salım çalışmalarından elde edilen bulguların farklı kinetik modeller kullanılarak değerlendirilmesi

Formulation	0. derece r^2	1. derece r^2	Higuchi r^2	Hixon Crowel r^2
X1	0,9943	0,9187	0,9837	0,9742
X2	0,9531	0,9397	0,9931	0,9868
X3	0,9597	0,9678	0,9829	0,9926
X4	0,9566	0,9928	0,9855	0,9925
X5	0,9539	0,9920	0,9854	0,9870
X6	0,9714	0,9941	0,9844	0,9950
C	0,9757	0,9964	0,9889	0,9966
H1	0,9819	0,9504	0,9953	0,9884
H2	0,9947	0,9461	0,9799	0,9809
H3	0,9696	0,8234	0,9871	0,9642
H4	0,9956	0,9749	0,9780	0,9901
H5	0,9825	0,9641	0,9890	0,9925
H6	0,9876	0,9794	0,9822	0,9952

5. TARTIŞMA

İtrakonazol suda çözünmeyen, hidrofobik özellikte, geniş spektrumlu imidazol türevi antifungal bir maddedir. Etki mekanizması, fungal sitokrom P450-katalaz reaksiyonlarını inhibe ederek lanosterolün, mantarların büyümesinde aktif rol oynayan ergosterole dönüşümünü engellemesi olarak açıklanmaktadır (De Beule ve Van Gestel 2001). Kadınlarda oldukça sık görülen ve %75'inin hayatlarında en az bir kere karşılaştığı bir enfeksiyon olan vajinal kandidiyazis tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Spacek ve Buchta 2005). Formülasyonları oral ve intravenöz yolla kullanılmaktadır ve oral yolla kullanıldığında dispepsi, bulantı, karın ağrısı, baş ağrısı, karaciğer enzimlerinde yükselme, menstrüel düzensizlikler, ürtiker, anjiyoödem gibi allerjik reaksiyonlar görülmektedir. Zayıf nefrotoksik etkisi vardır ve renal yetmezliği olan hastalarda biyoyararlanımı düşüktür. Bazen hepatik transaminaz ve alkalen fosfatazın plazma düzeyini yükseltebilir. Yüksek doz verilen hastalarda adrenal supresyon ve periferik nöropati gibi endokrin etkiler rapor edilmiştir (Haria ve ark. 1996). Sudaki zayıf çözünürlüğü itrakonazolün etkin kullanımını azaltmaktadır.

Siklodekstrinler, hidrofobik bir iç boşluğa ve hidrofilik bir dış yüzeye sahip, 6-8 arası dektroz birimi içeren siklooligosakkarit yapısında maddelerdir. İçerdikleri dektroz birimi sayısına göre isimlendirilirler. α -, β - ve γ -siklodekstrinler sırasıyla 6, 7 ve 8 dektroz birimi içerir (Stella ve Rajewski 1997). Siklodekstrinlerin kompleks oluşturma kabiliyetini artırmak ve ana moleküllerin (α -, β - ve γ -siklodekstrin) çözünürlüğünü artırarak toksisitelerini düşürmek için, koninin dışında sıralanmış hidroksil grupları kimyasal olarak modifiye edilmektedir. Günümüzde, Farmasötik değeri yüksek ve toksik olmayan hidroksipropil- β -siklodekstrin (HP- β -CD), metil- β -siklodekstrin (Met- β -CD) ve sulfobutileter-7- β -siklodekstrin (SBE7- β -CD) gibi siklodekstrin türevleri sentezlenmiştir. Siklodekstrinler bu özel konfigürasyonları sayesinde pek çok lipofilik molekül ile kompleks oluşturma yeteneğine sahiptir. Kompleks oluşumu ile ilaç moleküllerinin kimyasal stabilitesi, çözünürlüğü ve buna bağlı olarak biyoyararlanımı arttırılabilmekte, toksisitesi ise düşürülebilmektedir (Gould ve Scott 2005).

Biyoadazyon, sentetik veya doğal polimerlerin biyolojik dokuya belli bir süre bağlanma yeteneğidir. Diğer bir tanımla biyoadazyon, en az biri biyolojik kaynaklı olan iki yüzeyin yüzeylerarası kuvvetlerinin etkisiyle belirli bir süre temas etmeleri durumudur. Söz konusu doku mukus ise mukoadezyon tanımı kullanılır (Mizina 2001, Salamat-Miller ve Chittchang 2005). Mukoadezif sistemlerin ilacın biyoyararlanımını desteklemek ve geliştirmek için uygulama bölgesine kolayca lokalize olması, dozaj formunun uygulama bölgesine tutunma süresini uzatması, karaciğerden ilk geçiş etkisini ortadan kaldırması, ilacın gastrointestinal yan etkilerinden vücudu koruması, ilacın gastrointestinal yoldaki asit hidrolizine uğramadan uygulanmasını sağlaması gibi üstünlükleri vardır (Shojaei ve ark. 2001; Chowdary ve Rao 2004; Salamat-Miller ve Chittchang 2005).

Çalışmamızda itrakonazolün sudaki çözünürlüğünü artırarak tedavi dozunu düşürmek, ilacın oral kullanımına bağlı oluşan yan etkilerini azaltmak, böbrek üzerine toksisitesini ortadan kaldırmak ve böbrek yetmezliğinde dahi biyoyararlanımını sağlamak için ilacın siklodekstrinler ile içerik komplekslerinin hazırlanması ve hazırlanan bu ilaç:siklodekstrin komplekleri ile vajinal bölgeye lokal olarak uygulanacak, ilacın uygulama bölgesinde uzun süre salımını sağlayacak mukoadezif tablet formülasyonlarının geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda öncelikle itrakonazolün miktar tayini için kullanılan HPLC yönteminin validasyonu yapılarak, yöntemin doğrusalılığı, kesinliği (gün içi kesinlik ve günler arası kesinlik), doğruluğu, seçiciliği, teşhis limiti, miktar tayini limiti ve stabilitesi araştırılmıştır (*ICH Tripartite Guideline 1995*). Doğrusallık çalışmasında elde edilen standart eğrinin (Şekil 4-1) determinasyon katsayısının yüksek olması ($r^2=0,9998$) ve her konsantrasyonda elde edilen pik alanlarına ait relatif standart sapma değerlerinin (Tablo 4-1) % 2 nin altında olması sebebiyle doğru denkleminin miktar tayininde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Gün içi kesinlik (Tablo 4-2) ve günler arası kesinlik (Tablo 4-3) için yapılan çalışmalarda elde edilen relatif standart sapma değerleri % 2 den küçük bulunarak yöntemin kesinliği ispat edilmiştir. Yöntemin doğruluğu için yapılan çalışmada elde edilen geri kazanma değerlerinin (% 99,0-100,2) istenen sınırlar (% 100 ± 2) içinde olduğu saptanmıştır (Tablo 4-4). Yöntemin seçiciliği için yapılan çalışmalarda, içerik komplekslerinin hazırlanmasında kullanılan

siklodekstrinlerin (HP- β -CD, Met- β -CD, γ -CD, SBE7- β -CD) ve tablet formülasyonuna giren yardımcı maddelerin (Ksantan zımkı, HPMC, Carbopol®934P), itrakonazolün pik verdiği alanda girişim yapmadığı ve miktar tayinini etkilemeyecekleri saptanmıştır. Miktar tayini yönteminin teşhis limiti 0,025 μ g/mL ve miktar tayini limiti 0,075 μ g/mL olarak bulunmuştur. *İn vitro* çözünme hızı deneyleri sırasında ortamdan alınan örnekler miktar tayini yönteminde kullanılan çözücüler ile seyreltildikten sonra belli bir süre analiz için bekletilebilmektedir. Bu nedenle itrakonazolün analiz bitimine kadar çözücü içerisinde stabil kalması oldukça önem taşımaktadır. Bu amaçla itrakonazolün HPLC yönteminde kullanılan çözücülerdeki stabilitesi 48 saat boyunca incelenmiştir. Elde edilen miktar tayini sonuçlarının relatif standart sapma değeri % 2 nin altında olması ile maddenin çözücü içinde 48 saat boyunca stabil olarak kaldığı saptanmıştır (Tablo 4-5).

Ön formülasyon çalışmalarında itrakonazol-siklodekstrin içerik komplekslerini hazırlamak için kompleksleşme ortamı olarak öncelikle distile su kullanıldı. Ancak 7 gün sonunda elde edilen kompleksleşme verimi siklodekstrin tipine bağlı olarak % 0,00 – 0,016 (a/a) arasında bulundu (Tablo 4-6). İtrakonazol, suda ıslanabilirliği çok düşük olan zayıf bazik karakterde bir ilaçtır (Peeters ve ark. 2002). Nötral pH'daki çözünürlüğü ise 1 ng/mL nin altındadır (Peeters ve ark. 2002). Aşırı düşük çözünürlüğü nedeniyle itrakonazolün nötral pH'daki distile su içerisinde siklodekstrinler ile içerik kompleksi oluşturamadığı düşünöldü ve itrakonazolün siklodekstrinler ile içerik komplekslerini hazırlama yönteminin optimizasyonu yapıldı.

Bu amaçla pH'nın kompleksleşme verimine etkisi araştırıldı. pH kontrolü ve içerik kompleksleşmesi iyonize olabilen ilaçların formülasyonlarında çözünürlüğü artırıcı teknikler olarak sıklıkla kullanılan yöntemlerdir (Martin 1993). İyonize olabilen ilaçların çözünürlüğünün çözünürlük ortamının pH'sından etkilendiği bilinmektedir. İtrakonazol, yapısında iyonize olabilen dört farklı nitrojen grubu içermektedir (Martin 1993). Ortam pH'sına bağlı olarak itrakonazolün çözelti içerisinde protonlanmış şekli ile protonlanmamış şekli denge halindedir ve zayıf bazik karakterinden dolayı düşük pH'larda çözünürlüğü artış göstermektedir (pH 1,0 deki çözünürlüğü 4 μ g/mL) (Peeters ve ark. 2002). Bu nedenle içerik komplekslerinin pH 1,5 de hazırlanması kararlaştırıldı.

pH 1,5 de tüm siklodekstrinler ile içerik kompleksi elde edilebildi. Ancak kompleksleşme veriminin düşük olması (% 0,011-0,65 a/a) nedeniyle kompleksleşme ortamına su ile karışabilen çözücülerin ilave edilmesi kararlaştırıldı (Tablo 4-6).

Etkin maddelerin çözünürlüğünün artırılmasında yardımcı çözücü ve kompleksleşme yöntemlerinin birlikte kullanılmasının çözünürlüğü olumlu yönde etkilediği birçok çalışmada gösterilmiştir (Zung ve ark. 1991; Pitha ve Hoshino 1992; Loftsson ve ark. 1993; Reer ve Muller 1993; Kelloff ve ark. 1996). Zung ve ark. (1991) yardımcı çözücü olarak kullanılan alkollerin, piren'in kompleksleşmesini ve çözünürlüğünü artırdığını göstermiştir. Piren: β -CD ve piren: γ -CD in alkol-su karışımındaki kompleksleşme sabitinin sadece su içerisindekiğine göre çok daha yüksek olduğu bulunmuştur. Yardımcı çözücünün boşluk düzenleyici molekül olarak davrandığı ve böylece ilaç molekülünün CD'nin boşluğuna daha iyi yerleştiği düşünülmektedir (Zung ve ark.1991). Kısmen veya tamamen suyla karışan organik çözücüler su moleküllerinin birbirleri arasındaki güçlü etkileşimini azaltır ve böylece suyun polar olmayan çözüneni baskılamasını azaltmış olurlar (Yalkowsky 1999). Bu amaçla içerik kompleksleri pH 1,5 sulu çözelti:metanol (9:1 h/h) ve pH 1.5 sulu çözelti:asetonitril (9:1 h/h) karışımlarında hazırlandı. Yardımcı çözücü olarak metanol kullanıldığında kompleksleşme veriminde anlamlı bir değişiklik görülmezken ($p>0,05$) (Tablo 4-6 ve Şekil 4-3), % 10 oranında asetonitril kullanımının kompleksleşmeyi anlamlı derecede artırdığı ($p<0,05$) gözlenmiştir (Tablo 4-6 ve Şekil 4-4).

Ancak bu denemelere rağmen SBE7- β -CD ile hazırlanan kompleksler dışındaki diğer siklodekstrinler ile hazırlananların kompleksleşme verimi % 1,0 in altında kalmıştır. Bu nedenle pH 1,5 sulu çözelti:asetonitril (9:1 h/h) karışımı içerisinde hazırlanan ITR:SBE7- β -CD kompleksine pH nın etkisi araştırılmış ve kompleksler pH 2,0 sulu çözelti:asetonitril (9:1 h/h) ve pH 2,5 sulu çözelti:asetonitril (9:1 h/h) karışımlarında da hazırlanmıştır. Ancak pH daki hafif yükselmeler dahi kompleks oluşumunu anlamlı derecede düşürmüştür ($p<0,05$). pH 1,5 daki kompleksleşme verimi pH 2 ve pH 2,5 da hazırlananlara göre ortalama 8-9 kat daha yüksek bulunmuştur (Tablo 4-7 ve Şekil 4-5).

Faz çözünürlük çalışmaları ev sahibi molekülün çözündürülebilme yeteneğinin bilinmesi ve çözünürlük eğrisinin analizi ile stabilite sabitinin tespiti için sudaki çözünürlüğü düşük olan ilaçların siklodekstrinlerle içerik kompleksleşmesinin araştırılması açısından faydalıdır (Higuchi ve Kristiansen 1970). İtrakonazolün SBE7- β -CD dışındaki diğer siklodekstrinler ile düşük kompleksleşmesi nedeniyle, faz çözünürlük çalışmaları en yüksek kompleksleşme veriminin elde edildiği pH 1,5 sulu çözelti:asetonitril (9:1 h/h) ortamında SBE7- β -CD kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Faz çözünürlük çalışmaları sonucu elde edilen grafik Şekil 4-6 da verilmiştir. Grafiğe göre ortamda itrakonazol miktarının artışına bağlı olarak çözünen etkin madde miktarı lineer olarak artış göstermiştir. Buda bize faz diyagramının A_L tipi olduğunu göstermektedir. Faz çözünürlük çalışmaları sonucunda stabilite sabitinin de 9166 M^{-1} olduğu hesaplanmıştır (Tablo 4-8).

İtrakonazolün zayıf çözünürlüğü tedavide yaygın kullanımını engellemektedir. Ancak ilaçların çözünürlüğünün artırılması ve toksisitesinin azaltılması amacıyla yapılan çalışmalar aynı zamanda ilaçların biyolojik aktivitelerini olumlu veya olumsuz yönde etkilemektedir. Örneğin suda çözünürlüğü zayıf bir antifungal olan natamisin'in polisakkaritler ile kompleksleri hazırlanmış ve çözünürlüğü önemli derecede artırılmıştır. Ancak sudaki çözünürlüğünün artmasına rağmen antifungal aktivitesi 3 kat azalmıştır (Korteweg ve ark. 1963). Siklodekstrinler genellikle ilaçların hem biyoyaralanımını hem de biyolojik etkinliğini artırmakta ve terapötik dozu azaltmaktadır. SBE7- β -CD ve HP- β -CD, anyonik yapıdaki fenitoinin oral yolla absorpsiyonunu anlamlı bir şekilde artırmıştır (Savolainen 1998). Natamisin'in γ -CD ile hazırlanan kompleksinin *Candida spp.* ye duyarlılığı incelenmiş ve yapısında % 1,6 a/a natamisin içeren kompleksin saf etkin madde ile aynı minimum inhibisyon konsantrasyonuna sahip olduğu bildirilmiştir (Cevher ve ark. 2008). İtrakonazol-siklodekstrin komplekslerinin antifungal duyarlılık testleri *Candida albicans* (ATCC 90028) standart suşları kullanılarak besiyeri mikro seyreltme metodu ile yapılmıştır. Duyarlılık testleri sonucunda elde edilen itrakonazol, siklodekstrin ve komplekslere ait minimum inhibisyon konsantrasyonları Tablo 4-9'da verilmiştir. Sudaki çözünürlüğünün çok az olması nedeniyle duyarlılık testinde itrakonazolün dimetil sülfoksit içindeki çözeltisi kullanılmıştır. Siklodekstrinler ve kompleksler ise su

içerisinde çözündürülerek teste tabi tutulmuştur. İtrakonazolün *C. Albicans* a karşı minimum inhibisyon konsantrasyonu 0,250 µg/mL nin altında bulunurken, kompleksleşme verimi % 0,12 a/a olan ITR:γ-CD ve % 1,4 a/a olan ITR:SBE7-β-CD komplekslerinin ki sırasıyla 2,0 µg/mL ve 1.0 µg/mL olarak bulunmuştur. Yine düşük kompleksleşmeye sahip ITR:HP-β-CD ve ITR:Met-β-CD komplekslerinin minimum inhibisyon konantrasyonları 8,0 µg/mL olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar bize başta SBE7-β-CD olmak üzere siklodekstrinlerin itrakonazolün terapötik dozunu azalttığını göstermiştir.

Komplekslerin yapısal özelliklerini incelemek amacıyla taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile fotoğrafları çekilmiştir. İtrakonazol, siklodekstrinler ve içerik komplekslerine ait SEM fotoğrafları Şekil 4-7 – 4-15 te verilmiştir. γ-CD hariç çalışmamızda kullanılan tüm siklodekstrinler püskürterek kurutma yöntemi ile hazırlanmış amorf yapıda tozlardır. γ-CD ise kristal formundadır. x200 ve x500 büyütme ile alınan komplekslere ait fotoğraflar incelendiğinde, tüm komplekslerin düzgün olmayan katmanlı amorf yapıya sahip oldukları görülmektedir. Ayrıca komplekslerde itrakonazole ait herhangi bir kristal yapıya rastlanmamıştır. Çalışmamızda kompleksler dondurarak kurtulduğu için yapısal ve boyut olarak orijinal siklodekstrinlerden farklıdır. Dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen ilaç siklodekstrin komplekslerinin morfolojileri püskürterek kurutma işlemi (Hodi ve ark. 1991; Mura ve ark. 2001) gibi çoğu küresel şekilli eş boyutlu partiküllerin oluşumuna olanak sağlamamaktadır.

İtrakonazol-siklodekstrin komplekslerinin yapısal özelliklerini incelemek için toz X-ışını kırınım analizi yapılmıştır. Analiz sonucu elde edilen kırınım desenleri Şekil 4-16'da verilmiştir. İtrakonazole ait kırınım deseni incelendiğinde, kristal yapıya ait keskin karakteristik pikler görülmektedir. Ayrıca γ-CD de bazı spesifik pikleri içeren kristal formundadır. Diğer siklodekstrinler ise tamamen amorf yapıda olup kristal yapıya özgü her hangi bir pike sahip değildir. Komplekslerin kırınım desenleri incelendiğinde, tümünün amorf yapıda oldukları ve hazırlandıkları siklodekstrinler ile benzer kırınım desenine sahip oldukları görülmektedir. Tek fark ise γ-CD kristal yapı gösterirken ITR:γ-CD kompleksi ise tamamen amorf karakterdedir.

İçerik komplekslerinde, itrakonazol ile siklodekstrinler arasında olası etkileşimleri saptamak ve kompleks oluşumunu ispatlamak amacıyla nükleer manyetik rezonans analizi yapılmıştır. İtrakonazolün D₂O içerisindeki çözünürlüğü aşırı düşük olduğu için 1D ¹H NMR spektrumu alınamamıştır. Komplekslere ait 1D ¹H NMR spektrumları ise Şekil 4-17 ve 4-18 de gösterilmiştir. İtrakonazol piklerinin görüldüğü en ideal spektrum, kompleksleşme veriminin en yüksek olduğu ITR:SBE7-β-CD ile elde edilmiştir (Şekil 4-18). Spektrum incelendiğinde itrakonazolün aromatik halkasındaki hidrojen atomlarına ait pikler 7 ve 10 ppm arasında, iki adet metil grubuna ait pikler ise 0.86 ve 1.39 ppm de bulunmuştur. Spektrumdaki diğer pikler ise SBE7-β-CD e ait piklerdir. Bunlar; 5,8-6,8 ppm arasındaki anomerik hidrojenlere ait pikler, 3,2-4,0 ppm arasında şeker hidrojenlerine ait pikler ve 1,7- 2,8 ppm arasında hidroksipropil gruplarına ait piklerdir. İtrakonazole ait aromatik pikler incelenecek olursa; triazol grubuna ait hidrojen atomları bölünmüş pikler halinde 8,7 ve 9,8 ppm de bulunmuştur ve bu da bize kompleks içindeki halkanın 2 farklı konformasyonunu gösterir. İtrakonazol molekülünün ortasındaki aromatik halkanın hidrojen atomları eşit değildir ve 7,1 ve 7,6 ppm de iki set dubletler halinde bulunmaktadır (Şekil 4-18).

İtrakonazol-siklodekstrin komplekslerinin hazırlanması için en ideal siklodekstrinin SBE7-β-CD olduğu saptanmıştır. Diğer itrakonazol-siklodekstrin komplekslerinin NMR spektrumları da bunu doğrulamaktadır (Şekil 4-17). Komplekslerin içerisindeki itrakonazole ait spektrumların aromatik bölgeleri, siklodekstrinlere ait piklerin toplamına (4 kez büyütülen ITR:γ-CD hariç) normalize edilmiş ve pikler altındaki alan itrakonazol ve siklodekstrinler arasındaki moleküler oranı hesaplamak için kullanılmıştır (Tablo 4-10). Buda bize SBE7-β-CD nin itrakonazolü diğer siklodekstrinlere göre 7 ila 95 kat daha fazla çözme kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. 1D ¹H NMR spektrumundaki aromatik piklerin dağılımı bize, itrakonazolün farklı çevresel özellik gösterdiğini ve bundan dolayı da değişik siklodekstrinlerle farklı etkileşimlere girdiğini göstermektedir. Tahmin edildiği gibi, itrakonazol SBE7-β-CD ye iki farklı yönden bağlanabilmektedir. Bundan dolayı ITR:SBE7-β-CD kompleksinin NOESY spektrumunda diyagonal çapraz pikler görülememiş ve etkileşim alanları da açıkça tayin edilememiştir.

İtrakonazolün siklodekstrinler ile kompleks oluşumu 3 boyutlu moleküler modelleme çalışmaları ile ispatlanmıştır. Moleküler modelleme hesaplamaları Macromodel 9.11 kullanılarak (Mohamadi ve ark. 1990) MMFFs güç alanında (Cramer and Truhlar 1995) yapılmıştır. Kompleks modellemesi konformasyonel tarama ve bükümsel örnekleme (MCMM) kullanılarak yapılmıştır. SBE7- β -CD nin başlangıç modeline karşı itrakonazol 4 farklı başlangıç pozisyonlarına konumlandırılmıştır. 6 ayrı konformasyonel tarama yapılarak ITR:SBE7- β -CD kompleksinin en düşük enerji konformasyonu seçilmiştir. Elde edilen bulgular sonucunda itrakonazolün SBE7- β -CD in sadece hidrofobik boşluğundan yararlanmadığı görülmüştür. İtrakonazolün ortasındaki aromatik halka, hem siklodekstrin halkasının ortasındaki boşlukta hemde alkil zincirleri arasında konumlanmıştır (Şekil 4-19). Bunun sebebi ise siklodekstrin yan zincirlerinin büyüklüğü ve ilaç molekülünün boyutu olabilir.

Kompleksler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda en yüksek kompleksleşme verimi SBE7- β -CD ile hazırlanan komplekslerde elde edilmiş ve vajinal mukoadezif tablet formülasyonlarının hazırlanmasında etkin madde olarak ITR:SBE7- β -CD kompleksi kullanılmıştır.

ITR:SBE7- β -CD kompleksini içeren vajinal tablet formülasyonları farklı oranlarda ksantan zamkı, HPMC ve Carbopol®934P kullanılarak hazırlanmıştır. Tabletlerde yapılan ağırlık sapması tayini sonucunda, ortalama tablet ağırlığının 0,195-0,200 g arasında değiştiği görülmüştür (Tablo 4-11). Ortalama tablet çapı 7.8-7.9 mm arasında ve ortalama tablet yüksekliği 2,7-3,0 mm arasında bulunmuştur (Tablo 4-12). Friabilite testi sonucunda tablet formülasyonlarından hiç birinin ufalanabilirliği % 0.16'yı aşmamıştır (Tablo 4-13). HPMC ve Carbopol®934P ile hazırlanan formülasyonların (H1-6) sertlik değerleri 168-360 N arasında değişirken, formülasyonlardaki HPMC oranının artışına bağlı olarak tablet sertliği azalmıştır ($p<0,05$) (Tablo 4-14). Ksantan zamkı ve Carbopol®934P ile hazırlanan tabletlerde (X1-6) ise polimer oranlarındaki değişiklik tablet sertliğini değiştirmemiştir (248-302 N) ($p>0,05$) (Tablo 4-14). Tablet spesifikasyonu için gerekli olan fiziksel kontroller (ağırlık sapması, sertlik, friabilite, yükseklik-çap kontrolü) farmakope verilerine göre değerlendirildiğinde tüm formülasyonların standartlara uygun olduğu saptanmıştır.

Kullanılan polimerin fizyolojik ortamda su tutma hızı biyoadezyon özelliklerinin yorumlanmasında önem taşımaktadır (Tur ve Ching 1998). Fabregas ve Garcia (1995) şişme hızı ve *in vitro* biyoadezyon gücü arasında bir ilişki bulmuştur. Polimerin şişmesi mukozal alanla en yüksek oranda teması sağlamak için adezif yüzeyi artırabilir ve polimerin mukus tabakası içerisine penetrasyonuna neden olabilir. Böylece de mukozal yüzey ile biyoadezyonun gerçekleşmesi mümkün olabilir (Jug ve BecirevicLacan 2004). Ancak, bazı çalışmalar şişme ve mukoadesyon arasında direk bir bağlantı gösterebilirken bazıları ise gösterememektedir (Peppas ve Bury 1985; Baloglu ve ark. 2003; Nafee ve ark. 2004). Polimerin şişme durumu formülasyonun biyoadezyon davranışına katkıda bulunabilir (Bottenberg ve ark. 1991). Ancak şişme özelliğindeki artışın daha güçlü biyoadezif bağ oluşumuna katkıda bulunacağı görüşü çok da doğru değildir. Polimerin su absorpsiyonuna bağlı olarak artan şişme derecesi adezif gücünü de artırır ancak aşırı su absorpsiyonu adezif güç de beklenmedik bir düşüşe sebep olur (Peppas ve Bury 1985, Huntsberger 1989). Yani aşırı şişme biyoadezif polimerlerde istenmeyen bir durumdur. Vajinal ortamın pH'sı 4,5-5,5 olarak bildirilmiştir (Chang ve ark. 2002). Bu nedenle şişme çalışmaları pH 5 laktat tamponunda gerçekleştirilmiştir. Şişme çalışmalarından elde edilen şişme indeksi sonuçları Şekil 4-20 ve 4-21 de verilmiştir. İlk 15 dakikada Carbopol®934P ile hazırlanan formülasyon C en az şişme gösterirken (şişme indeksi: $1,41 \pm 0,09$), en yüksek şişme (şişme indeksi: $2,5 \pm 0,16$) sadece ksantan zamkı ile hazırlanan formülasyon (X1) ile elde edilmiştir. 8. ve 24. saatlerde ise, hem HPMC hemde ksantan zamkı içeren formülasyonlarda, tablet içeriğindeki anyonik polimer (Carbopol®934P) miktarının artışına bağlı olarak daha düşük şişme indeksi değerleri elde edilmiştir ($p < 0,05$). Aynı oranda Carbopol®934P içeren HPMC formülasyonları (H2-6) ile ksantan zamkı formülasyonlarının (X2-6) şişme indeksleri arasında ise anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Şekil 4-20 ve 4-21). HPMC suda şişen ve şişme hızı pH ya bağımlı olmayan nötral bir polimerdir. Ksantan zamkı ve Carbopol®934P ise anyonik polimerlerdir. Ksantan zamkı yapısında hidroksil grupları içerdiğinden zayıf anyonik özellik gösterir. Şişme özellikleri ise nötral polimerler ile benzerlik gösterir. Carbopol®934P ise yüksek miktarda çapraz bağlı bir polimerdir ve şişme indeksinin nötral polimerlerden daha düşük olduğu literatürde de kayıtlıdır (Sharma ve ark. 2006). Carbopol®934P nin karboksil grupları pH 5 in altında

noniyonize haldedir ve bu pH'da ve altında su absorpsiyonu zayıftır (Noveon Pharmaceutical Bulletin 16). Çalışmamızda elde edilen şişme tayinlerinin sonuçları literatür bilgisi ile uyum sağlamaktadır.

Tablet formülasyonlarının vajinal mukoza üzerindeki yapışma gücünü tayin etmek amacıyla mukoadezyon testi yapılmıştır. Mukoadezyon testi sonucunda elde edilen mukoadezyon işi ve ayrılma kuvveti değerleri Tablo 4-15'de verilmiştir. Formülasyonların hazırlanmasında kullanılan polimerlerin tabletlerin mukoadezyonlarını anlamlı bir şekilde değiştirdiği gözlenmiştir. Formülasyonlardaki Carbopol®934P nin artışına bağlı olarak tabletlerin hem mukoadezyon işinin hem de ayrılma kuvvetinin arttığı tespit edilmiştir. En yüksek mukooadezyon işi ($2,130 \pm 0,204 \text{ mJ/cm}^2$) ve ayrılma kuvveti ($1,714 \pm 0,163 \text{ N/cm}^2$) değerleri sadece Carbopol®934P içeren tablet formülasyonunda (C) elde edilmiştir. Tabletlerin mukoadezyon işi ve ayrılma kuvveti, formülasyonlardaki ksantan zankı ve HPMC oranı arttıkça anlamlı derecede azalma göstermiştir ($p < 0,05$). Polimer olarak sadece ksantan zankı içeren X1 formülasyonu için mukoadezyon işi değeri $0,235 \pm 0,085 \text{ mJ/cm}^2$, ayrılma kuvveti değeri ise $0,316 \pm 0,040 \text{ N/cm}^2$ iken; en düşük miktarda ksantan zankı içeren X6 tableti için bu değerler sırasıyla $1,622 \pm 0,218 \text{ mJ/cm}^2$, $1,258 \pm 0,160 \text{ N/cm}^2$ olarak bulunmuştur ($p < 0,05$). Aynı şekilde en yüksek oranda HPMC içeren H1 tableti için biyoadezyon işi ve ayrılma kuvveti sırasıyla $0,275 \pm 0,062 \text{ mJ/cm}^2$ ve $0,346 \pm 0,022 \text{ N/cm}^2$ iken; en az oranda HPMC içeren H6 tableti için bu değerler sırasıyla $1,664 \pm 0,201 \text{ mJ/cm}^2$ ve $1,413 \pm 0,151 \text{ N/cm}^2$ olarak bulunmuştur ($p < 0,05$). En yüksek Carbopol®934P:HPMC (H6) ve Carbopol®934P:ksantan zankı (X6) oranlarına sahip formülasyonların biyoadezyon işi değerleri sadece HPMC (H1) ve ksantan zankı (X1) içeren tabletlerinkinden sırasıyla 6,0 ve 6,9 kat yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Aynı şekilde, H6 ve X6 tabletlerini vajinal mukozadan ayırmak için gereken ayrılma kuvveti değerleri H1 ve X1 formülasyonlarından sırasıyla 4,0 ve 3,9 kat fazla bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çalışmamızda mukoadesif tabletlerin şişmeleri ve mukoadezyonları arasında bir bağıntı gözlenmemiştir. HPMC ve ksantan zankının Carbopol®934P ye göre daha zayıf mukoadezyon göstermesinin nedeni, bu tip polimerlerin mukus glukoproteinleri ile hidrojen bağı oluşturabilme kabiliyetine sahip karboksil gruplarını içermemesinden kaynaklanabilir (Mortazavi ve Smart 1994). Carbopol®934P gibi kuvvetli

polianyonların HPMC ve ksantan zmkı gibi noniyonik veya zayıf anyonik polimerlere kıyasla mukusa daha güçlü bağlandığı bulunmuştur (Noveon Pharmaceutical Bulletin 16; Ranga Rao ve Buri 1989). Yüksek pH değerlerinde, Carbopol®934P nin karboksilik asit grupları büyük oranda iyonize olur, buda Carbopol®934P nin şişme kapasitesini artırır, ancak hidrojen bağı oluşturmasını ve mukoadazyonu azaltır. pH 5 ve daha düşük pH değerlerinde ise Carbopol®934P elektrostatik olarak yüklenemez ve karboksilik asit gruplarının %90 ı noniyonize haldedir ve buna bağlı olarak düşük şişme ve yüksek mukoadazyon gösterir (Cevher ve ark. 2008).

Itrakonazolün farklı mukoadezif tabletlerden zamana bağlı salımı Tablo 4-16 ve 4-17 de verilmiştir. Tabletlerin, polimer tipine göre dissolüsyon ortamında su tutma davranışlarındaki farklılıklara bağlı olarak ilaç salımında da farklılıklar gözlenmiştir. Mukoadezif tabletlerin şişme indeksinin düşmesi ile tabletten ilaç salımı da düşüş göstermiştir. İçeriğinde polimer olarak sadece ksantan zmkı (X1) ve HPMC (H1) bulunan formülasyonlar yüksek şişme indekslerine bağlı olarak, tek başına Carbopol®934P (C) içeren formülasyondan daha hızlı ilaç salımı göstermiştir ($p<0,05$) (Şekil 4-25 ve 4-26). Formülasyonlardaki Carbopol®934P miktarının artışı ile, tabletlerden ilaç salım hızı düşmüştür ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Aynı miktar HPMC (H1-6) ve ksantan zmkı (X1-6) içeren formülasyonlar karşılaştırıldığında, formülasyonlardan ilaç salım hızları arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığı gözlenmiştir ($p>0,05$). 8 saat sonunda X1 formülasyonundan itrakonazolün % 38,79 u salınırken X2, X3, X4, X5 ve X6 formülasyonlarından sırasıyla % 36,43, % 35,11, % 30,14, % 28,90 ve % 26,87 ilaç salımı gerçekleşmiştir (Şekil 4-25). HPMC içeren formülasyonlarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. 8 saatin sonunda H1, H2, H3, H4, H5 ve H6 tabletlerinden sırasıyla % 49,65, % 46,16, % 43,28, % 40,42, % 39,22 ve % 33,00 oranlarında itrakonazol salınmıştır (Şekil 4-26). 36 saatin sonunda ise ksantan zmkı içeren X1, X2, X3, X4, X5 ve X6 formülasyonlardan sırasıyla % 100,13, % 98,71, % 96,43, % 89,13, % 84,34 ve % 82,13 (Şekil 4-25); HPMC içeren H1, H2, H3, H4, H5 ve H6 formülasyonlardan ise sırasıyla % 100,33, % 100,11, % 99,87, % 100,05, % 91,29 ve % 86,25 oranında itrakonazol salınmıştır (Şekil 4-26).

Bioadezif tablet formülasyonlarından etkin maddenin, pH 5 çözünürlük ortamındaki salım hızlarına ait kinetik parametrelerin incelenmesi sonucunda Tablo 4-18’de verilmiş r^2 değerleri elde edilmiştir. Polimer olarak sadece ksantan zmkı içeren X1 formülasyonu O.derece kinetik modeline uyarken, formülasyondaki Carbopol®934P miktarının artışı ile (X2-6) kinetik model Higuchi ve Hixon Crowel’e uyum göstermiştir. Polimer olarak sadece HPMC içeren H1 formülasyonu ise Higuchi kinetik modeline uyarken, formülasyondaki Carbopol®934P miktarının artışı ile (H2-6) kinetik model O. derece ve Hixon Crowel kinetik modellerine uyum göstermiştir. Sadece Carbopol®934P içeren formülasyondan (C) etkin madde salımı ise Hixon Crowel’e uyum göstermiştir.

Sonuç olarak, sudaki çözünürlüğü çok düşük olan itrakonazolün sudaki çözünürlüğünü ve kullanıma bağlı yan etkilerini azaltmak amacıyla farklı siklodekstrinler ile içerik kompleksleri hazırlanmıştır. İtrakonazolün en yüksek oranda SBE7- β -CD ile kompleksleştigi, oluşan kompleksin amorf karakterde olduğu saptanmıştır. Kompleksin biyolojik etkinliğini saptamak amacıyla *C. Albicans* suşlarına karşı duyarlılık testi yapılmış ve ITR:SBE7- β -CD nin diğer komplekslerden daha düşük minimum inhibisyon konsantrasyonuna sahip olduğu (1.0 μ g/mL) bulunmuştur. NMR çalışmaları ve moleküler modelleme ile kompleksin yapısal özellikleri tayin edilmiş ve itrakonazolün ortasındaki aromatik halkanın SBE7- β -CD nin hem hidrofobik boşluğunda hem de alkil zincirleri arasında konumlandığı ispatlanmıştır. En yüksek kompleksleşme verimine sahip olan ITR:SBE7- β -CD, vajinal mukoadezif tablet formülasyonlarının hazırlanmasında kullanılmıştır. Mukoadezif tabletlerin hazırlanmasında polimer olarak ksantan zmkı, HPMC ve Carbopol®934P tek başlarına veya karışım halinde kullanılmıştır. Tabletlerin fiziksel özellikleri, şişme hızları, vajinal dokuya mukoadesyon kabiliyetleri incelenmiş ve tabletlerden *in vitro* etkin madde salım çalışmaları yapılmıştır. Yapısında polimer olarak sadece Carbopol®934P içeren C formülasyonu en düşük şişme hızına sahip iken diğer tüm formülasyonlardan daha yüksek mukoadesyon göstermiştir. Aynı zaman da içeriğindeki ilacın %76.54 ünü 36 saat içinde yavaş olarak salan C formülasyonu hazırlanan diğer formülasyonlar ile kıyaslandığında, ITR:SBE7- β -CD nin vajinal uygulanması için en ideal formülasyon olarak tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Abrams, L.S. ve Weintraub, H.S. (1983). Disposition radioactivity following intravaginal administration of 3H-miconazole nitrate. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **147**, 970–971.
2. Acartürk, F. (1993). Siklodekstrinlerin ilaçların fiziksel ve kimyasal stabilitesine etkisi. I. Kati haldeki stabiliteye etkisi, *FABAD, J. Pharm. Sci.*, **18**, 77-85
3. Acartürk, F. (2002). Vajinal ve Rektal Sistemler. İçinde A. Gürsoy (Ed). *Kontrollü Salım Sistemleri*. İstanbul: Elma Bilgisayar Basım Ve Ambalaj San. Tic. Ltd. Şti.
4. Ahuja, A., Khar, R.K. ve Ali., J. (1997). Mucoadhesive drug delivery systems, *Drug Dev. Ind. Pharm.* **23**, 489– 515.
5. Allen A. (1978). The structure of gastrointestinal mucous glycoproteins and the viscous and gel-forming properties of mucus. *Brit. Med. Bull.* **34**, 28-33
6. Ammar, H.O. ve El-Nahhas, S.A. (1995). Improvement of some pharmaceutical properties of drugs by cyclodextrin complexation.2. Colchicine. *Pharmazie*, **50** (4), 269–272.
7. Andersen F. M. ve Bundgaard, H. (1984). Inclusion complexation of metronidazole benzoate with β -cyclodextrin and its depression of anhydrate-hydrate transition in aqueous suspensions. *Int. J. Pharm.*, **19**(2), 189-197.
8. Badawy, S.I.F., Ghorab, M.M. ve Adeyeye, C. (1995). Study of the complexation between danazol and hydrophilic cyclodextrin derivatives. *Pharm. Res.*, **12** (9), 204.
9. Bailey, E.M., Krakovsky, D.J. ve Rybak, M.J. (1990). The triazole antifungal agents: a review of itraconazole and fluconazole. *Pharmacotherapy*, **10**(2), 146-153
10. Balcı, O. ve Çapar, M. (2005). Vajinal Enfeksiyonlar. **2**(5), 14-20
11. Baloglu, E., Ozyazici, M., Hizarcioglu, S.Y. ve Karavana, H.A. (2003). An in vitro investigation for vaginal bioadhesive formulations: Bioadhesive properties and swelling states of polymer mixtures. *Farmaco*, **58**, 391–396

12. Barone, J.A., Koh, J.G., Bierman, R. H., Colaizzi, J.L., Swanson, K.A., Gaffar, M. C. ve ark. (1993). Food interaction and steady-state pharmacokinetics of itraconazole capsules in healthy male volunteers. *Antimicrob Agents Chemother.*, **37(4)**, 778-784
13. Bakers, O., Uijtendaal, E. V., Beijnen, J. H., Bult, A. ve Underberg, W. J. M. (1991). Cyclodextrins in the pharmaceutical field. *Drug Dev. Incf. Pharm.*, **17 (11)**, 1503-1549
14. Bellringer, M.E., Smith, T.G., Read, R., Gopinath, C. ve Oliver, P. (1995). β -Cyclodextrin: 52-week toxicity studies in the rat and dog, *Food Chem.Toxicol.* **33(5)**, 367–376.
15. Bender, M.L. ve Komiyama, M. (1978). *Cyclodextrin Chemistry*; Berlin; Springer- Verlag.
16. Bergh, P.A. (1988). Vaginal Changes with Aging. İçinde J.L. Bren (Ed.). *The Gynecologist And The Older Patient* . Maryland: Apsen Publishers; 299-331.
17. Bernkop-Schnurch, A. ve Pasta, M. (1998). Intestinal peptide and protein delivery: Novel bioadhesive drug-carrier matrix shielding from enzymatic attack. *J. Pharm. Sci.*, **87(4)**, 430-434.
18. Bernkop-Schnürch A. (2000). Chitosan and its derivatives: potential excipients for peroral peptide delivery systems. *Int J Pharm.* **194**, 1-13.
19. Bernkop-Schnürch, A. ve Steininger, S. (2000). Synthesis and characterisation of mucoadhesive thiolated polymers. *Int J Pharm.* **194**, 239-247.
20. Bernkop-Schnürch, A., Schwarz, V. ve Steininger, S. (1999). Polymers with thiol groups: a new generation of mucoadhesive polymers. *Pharm Res.*, **16(6)**, 876-881.
21. Bernkop-Schnürch, A., Zarti, H. ve Walker, G.F. (2001). Thiolation of polycarbophil enhances its inhibition of intestinal brush border membrane bound aminopeptidase. *J. Pharm. Sci.*, **90(11)**, 1907-1914.
22. Betlach, C. J., Gonzalez, M. A., Mc Kiernan, B. C, Neff- Davis ve C, Bodor, N. (1993). Oral Pharmacokinetics of carbamazepia in dogs from commercial tablets and a cyclodextrin complex. *J. Pharm. Sci.*, **82(10)**, 1058-1060.

23. Billa, N., Yuen, K.H., Khader, M.A. ve Omar, A. (2000). Gamma scintigraphic study of the gastrointestinal transit and in vivo dissolution of a controlled release diclofenac sodium formulation in xanthan gum matrices. *Int. J. Pharm.*, **201**, 109–120.
24. Boelaert, J., Schurgers, M., Matthys, E., Daneels, R., van Peer, A., De Beule, K. ve ark. (1988). Itraconazole pharmacokinetics in patients with renal dysfunction *Antimicrob Agents Chemother.* **32(10)**, 1595-1597
25. Bonucci, E., Ballanti, P., Ramires, R., Richardson, J. ve Benedetti, L. (1995). Prevention of ovariectomy osteopenia in rats after vaginal administration of hyaff 11 microspheres containing salmon calcitonin. *Calcif. Tissue Int.*, **56**, 274–279.
26. Bottenberg, P., Cleymaet, R., De Muynck, C., Remon, J.P., Coomans, D., Michotte, Y. ve ark. (1991). Development and testing of bioadhesive, fluoride-containing slow-release tablets for oral use. *J. Pharm. Pharmacol.*, **43**, 457-464
27. Bouckaert, S., Temmerman, M., Voorspoels, J. Van Kets, H., Remon, J.P. ve Dhont, M. (1995). Preliminary efficacy study of a bioadhesive vaginal metronidazole tablet in the treatment of bacterial vaginosis, *J. Pharm. Pharmacol.*, **47**, 970– 971.
28. Bourlais, C.L., Acar, L. ve Zia, H. (1998). Ophthalmic drug delivery systems. *Prog Retin Eye Res.*, **17**, 33-58.
29. Brewster, M. E. ve Loftsson, T. (2007). Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Adv Drug Deliver Rev*, **59**: 645–666
30. Brewster, M.E., Mackie, C., Lampo, A., Noppe, M. ve Loftsson, T. (2007)The use of solubilizing excipients and approaches to generate toxicology vehicles for contemporary drug pipelines. İçinde P. Augustijns ve M.E. Brewster (Eds.), *Solvent systems and their selection in pharmaceuticals and biopharmaceuticals*. New York: American Association of Pharmaceutical Scientists and Springer; 221-256.
31. British Pharmacopeia (2002). Version 6.0, Index System Simulation Ltd., Data Crown Copyright.

32. Brown, J., Hooper, G., Kenyon, C.J., Haines, S., Burt, J., Humphries, J.M. ve ark. (1997). Spreading and retention of vaginal formulations in post-menopausal women as assessed by gamma-scintigraphy. *Pharm. Res.*, **14**, 1073– 1708.
33. Bumphrey, G. (1986). ‘Extremely useful’ new suspending agent. *Pharm. J.*, **237**, 665.
34. Butler, BC. ve Beakley, J.W. (1960). Bacterial Flora in Vaginitis. *Am J Obstet Gynecol*, **79**, 432-440.
35. Calvo, P., Vila-Jato, J.L. ve Alonso, M.J. (1997). Evaluation of cationic polymer-coated nanocapsules as ocular drug carriers. *Int. J. Pharm.*, **153**, 41–50
36. Caswell, M. ve Kane, M. (2002). Comparison of the moisturization efficacy of two vaginal moisturizers: pectin versus polycarbophil Technologies. *J. Cosmet. Sci.* **53**, 81– 87
37. Cedars, M.I. ve Judd, H.L. (1987). Non-oral routes of estrogen administration. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.*, **14**, 269–298.
38. Ceschel, G.C., Maffei, P., Lombardi Borgia, S., Ronchi, C. ve Rossi, S. (2001). Development of a mucoadhesive dosage form for vaginal administration. *Drug Dev Ind Pharm*, **27**, 541–547
39. Ceulemans, J., Vinckier, I. ve Ludwig, A. (2002). The use of xanthan gum in an ophthalmic liquid dosage form: rheological characterization of the interaction with mucin. *J. Pharm. Sci.* **91**(4), 1117–1127.
40. Cevher, E., Sensoy, D., Zloh, M. Ve Mulazımoğlu, L. (2008). Preparation and Characterisation of Natamycin: γ -Cyclodextrin Inclusion Complex and its Evaluation in Vaginal Mucoadhesive Formulations. *Int. J Pharm Sci.* **97**; 4319-4335
41. Cevher, E., Taha, M.A.M., Orlu, M. ve Araman, A. (2008). Evaluation of mechanical and mucoadhesive properties of clomiphene citrate gel formulations containing carbomers and their thiolated derivatives. *Drug Deliv*, **15**, 57–67
42. Challa, R., Alka, A., Javed, A. ve Khar, R.K. (2005). Cyclodextrins in drug delivery: An updated review. *AAPS Pharm Sci Tech*, **6**, 329–357

43. Chang, J.Y., Oh, Y.K., Kong, H.S., Kim, E.J., Jang, D.D., Nam, K.T. ve ark. (2002). Prolonged antifungal effects of clotrimazole containing mucoadhesive thermosensitive gels on vaginitis. *J Control Rel.*, **82**, 39–50
44. Chien, Y.W. ve Lee, C.H (2007a). Drug Delivery-Vaginal Route. In: Swarbrick, J.(Ed). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Third Edition. New York; USA. Pharmaceutech, Inc., Pinehurst, Nort Carolina and Informa Healthcare ; 1339-1361.
45. Chien, Y.W. ve Lee, C.H. (2007b). Drug Delivery-Vaginal Route. In: Swarbrick, J.(Ed). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. Third Edition. North Carolina; USA. Pharmaceutech, Inc., Pinehurst, Nort Carolina and Informa Healthcare ; 961-985.
46. Ching, H.S., Park, H., Kelly, P. ve Robinson, J.R.(1985). Bioadhesive polymers as platforms for oral controlled drug delivery II: synthesis and evaluation of some swelling, water-insoluble bioadhesive polymers. *J Pharm Sci.*, **74(4)**, 399-405.
47. Chollet, J.K., Jozwiakowski, M.J. ve Phares, K.R. (1999). Development of a topically active imiquimod formulation. *Pharm. Dev. Technol.*, **4(1)**, 35–43.
48. Choudhury, S. ve Mitra, A. K. (1993). Kinetics of Aspirin Hydrolysis and Stabilization in the Presence of 2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin *Pharm Res.*, **10**, 156-159.
49. Chowdary, K.P.R. ve Rao, Y.S. (2004). Mucoadhesive microspheres for controlled drug delivery. *Biol. Pharm. Bull.* **27**, 1717-1724.
50. Cociglio, M., Hillaire-Buys, D. ve Alric, R. (1997). Prevalidation statistical design to assess analytical methods Example of a quick liquid chromatographic assay of itraconazole in Serum. *J Chromatogr B*, **698**, 225-233
51. Como, J.A. ve Dismukes, W.E. (1994). Oral azole drugs as systemic antifungal therapy. *N. Engl. J. Med.*, **330**, 263-272
52. Coos Verhoef, J. ve Merkus, F.W.H.M. (1994). Nasal absorption enhancement: relevance to nasal drug delivery. İcinde De Boerag (Ed.). *Drug absorption*

enhancement: concepts, possibilities, limitations and trends. Chur: Harwood Academic Publishers; 119-153.

53. Cramer, C.J. ve Truhlar, D.G. (1995). Continuum solution model: classical and quantum mechanical implementations. İçinde K.B. Lipkowitz, D.B. Boyd(Ed.). *Reviews in computational chemistry*. Vol. 6. New York: VCH; 1–72.
54. Cramer, F. ve Hettler, K. (1967). Inclusion compounds of cyciodextrins, *Die Naturwissenschaften*, **54**, 625-632
55. Cromwell, C. W., Bystrom, K. ve Eftink, M. R. (1985). Cyclodextrin Adamontane-carboxylate inclusion complexes of the variation in cavity size. *J. Phys. Chem.*, **89**, 326-332.
56. Cwiertnia, B., Hladon, T. ve Stobiecki, M. (1999). Stability of diclofenac sodium in the inclusion complex with β -cyclodextrin in the solid state. *J. Pharm. Pharmacol.*, **51 (11)**, 1213–1218.
57. Çalış, S., Şumnu, M. ve Hıncal, A.A. (1994). Vajinal yolla kullanılan topik ilaç şekilleri, formülasyonları, uygulamaları ve kontrolleri. *FABAD, J Pharm Sci.* **19**, 85-89
58. Çalış, S. (1994). Topical vaginal dosage forms, their formulations, applications and controls. *Farm. Bilimer. Derg.* **19**, 85–95.
59. Çelebi N. (1988). Biyoadhesif kontrollü salım sistemleri. *FABAD, J Pharm Sci.* **13**, 450-461.
60. Çelebi, N. (1987). Siklodekstrinler I, özellikleri, hazırlama yöntemleri ve klatrat bileşikleri, *FABAD, J. Pharm. Sci*, **12**,5-1.
61. Davies, N. M., Fair, S. J., Hadgraft, J. ve Kellaway, I. W. (1991).Evaluation of Mucoadhesive Polymers in Ocular Drug Delivery. I. Viscous Solutions *Pharm. Res.* **8(8)**, 1039-1043
62. De Beule, K. ve Van Gestel. J. (2001). Pharmacology of Itraconazole. *Drugs.* **61**; Suppl 1, 27-37.
63. Despande, A.A., Rhodes, C.T. ve Danish, M. (1992). Intravaginal drug delivery. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **18**, 1225-1279.

64. Dhopeswarkar, V. ve Zatz, J.L. (1993). Evaluation of xanthan gum in the preparation of sustained release matrix tablets. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **19**, 999–1017.
65. Dodou, D., Breedveld, P. ve Wieringa, P. A. (2005). Mucoadhesives in the gastrointestinal tract: revisiting the literature for novel applications. *Eur J Pharm Biopharm*, **60**, 1–16.
66. Doenicke, A., Roizen, M.F., Nebauer, A.E., Kugler, A., Hoernecke, R. ve Beger-Hintzen, H. (1994). A comparison of two formulations for etomidate, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -Cyclodextrin) and propylene glycol. *Anesth. Analg. (NY)*, **79 (5)**, 933–939.
67. Dollo, G., Le Corre, P., Chollet, M., Chevanne, F., Bertault, M., Burgot, J.L. ve ark. (1999). Improvement in solubility and dissolution rate of 1,2-dithiole-3-thiones upon complexation with β -cyclodextrin and its hydroxypropyl and sulfobutyl ether-7 derivatives. *J. Pharm. Sci.* **88**, 889–895.
68. Doorne, H. V. (1993). Interactions between cydodextrins and ophthalmic drugs. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **39**, 133-139.
69. Dordunoo, S.K. ve Burt, H.M. (1996). Solubility and stability of taxol: effects of buffers and cyclodextrins, *Int. J. Pharm.*, **133 (1-2)**, 191-201.
70. DuBouchet, L., McGregor, J.A., Ismail, M. ve McCormack, W.M. (1998). A pilot study of metronidazole vaginal gel versus oral metronidazole for the treatment of trichomonas vaginalis vaginitis. *Sex. Transm. Dis.* **25**, 176– 179.
71. Duchene D. ve Ponchel G.(1989). Bioadhesion a new pharmacotechnical for improving therapeutic efficiency. *S.T.P Pharma.* **5(12)**, 830-838.
72. Duchene D. ve Wouessidjewe D. (1990). Pharmaceutical uses of cyclodextrin and derivatives. *Drug Dev. Ind.Pharm.*, **16 (17)**, 2487-2499
73. Duchene D., Touchard, F. ve Peppas N.A.(1988). Pharmaceutical and medical aspects of bioadhesive systems for drug administration. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* **14**, 283-318

74. Duchene ve Ponchel G. (1992). Principle and investigation of the bioadhesion mechanism of solid dosage forms. *Biomaterials*, **13**, 709–714.
75. Duchene, D., Ponchel, G. ve Wouessidjewe, D. (1998). New developments in improvement of drug solubility and availability by Cydodextrins; 9* *Int. Symp., Santiago de Compostela, İspanya: Kluwer Academic Pub.*; 239-245.
76. Duchene, D., Wouessidjewe, D. ve Poelman, M.C. (1991). İçinde D. Duchene (Ed) *New Trends in Cyclodextrins and Derivatives*. Paris: Edition de Sante; 447.
77. Duchene, D., Ponchel, G., Wouessidjewe, D., Lejoyeux, F. ve Peppas, N.A. (1988). Methodes d'evaluation de la bioadhesion et facteurs influants. *STP Pharma*. **4**, 688-697.
78. Dunmire, E.N. ve Katz, D.F. (1997). Alteration of human sperm kinematics in cervical mucus due to nonoxynol-9. *Contraception*, **55**, 209– 217.
79. Ekiert, R.J. ve Krzek, J. (2009). Determination Of Azole Antifungal Medicines Using Zero-Order and Derivative UV Spectrophotometry *Acta Pol Pharm*, **66** (1), 19-24
80. El-Kamel, A., Sokar, M., Naggar, V. ve Gamal, S.A. (2002a). Chitosan and sodium alginate-based bioadhesive vaginal tablets. *AAPS PharmSci*. **4**(4), 1-7.
81. El-Kamel, A., Sokar, M., Naggar, V. ve Gamal, S.S.D.O.P. (2002b). Bioadhesive controlled release metronidazole vaginal tablets. *Acta Pharmaceut*. **52**, 171–179.
82. El-Nimr, A.E., (1983). A fluorescence quenching technique for determination of drug-lysozyme interactions. *Pharm Acta Helv*. **58**(12), 348-52.
83. European Pharmacopeia (2002). 4.ed. Council of Europea, Strasbourg.
84. Fabregas, J.L. ve Garcia, N. (1995). In-vitro studies on bucoadhesive tablet formulations of hydrocortisone hemisuccinate. *Drug Dev Ind Pharm* **21**, 1689–1696
85. Fenyvesi, E., Antal, B., Zsardon, B. ve Szejtli, J. (1984). Cydodextrin polymer, a new disintegrating agent. *Pharmazie*, **39**, 473-475.

86. Frank, D. W., Gray, J. E. ve Weaver, R. N.(1976) Cyclodextrin nephrosis in the rat.*Am. J. Pathol.*, **83**, 367-382.
87. Frömming, K.H. ve Szejtli J. (1994). *Cyclodextrins In Pharmacy*. Dordrecht: Kluwer Academic Publ.
88. Funasaki, N., Kawaguchi, R., Ishikawa, S., Hada, S., Neya, S. ve Katsu, T. (1999). Quantitative estimation of the bitter taste intensity of oxyphenonium bromide reduced by cyclodextrins from electromotive force measurements. *Anal. Chem.*, **71 (9)**, 1733–1736.
89. Funasaki, N., Uemura, Y., Hada, S. ve Neya, S. (1996). Reduction of the bitter taste intensity of propantheline bromide by cyclodextrins as predicted by surface tension measurements. *J. Phys. Chem*, **100 (40)**, 16,298–16,301
90. Genta, I., Conti, B. ve Perugini, P. (1997). Bioadhesive microspheres for ophthalmic administration of acyclovir. *J. Pharm. Pharmacol.*, **48**, 737-742.
91. Gerloczy, A., Hoshino, T. ve Pitha, J. (1994). Safety of oral cyclodextrins: effects of (hydroxypropyl) cyclodextrins, cyclodextrin sulfates and cationic cyclodextrins on steroid balance in rats. *J. Pharm. Sci.*, **83 (2)**, 193–196.
92. Ghelardi, E., Tavanti, A., Lupetti, A., Celandroni, F., Boldrini, E., Campa, M. ve ark. (1998). Control of *Candida albicans* murine vaginitis by topical administration of polycarbophileconazole complex, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**, 2434–2436.
93. Glomot, F., Benkerrou, L., Duchêne, D. ve Poelman, M.C. (1988). Improvement in availability and stability of a dermocorticoid by inclusion in β -cyclodextrin. *Int. J. Pharm.*, **46**, 49-55.
94. Gordon-Wright, A.P. ve Elder, M.G. (1979). The systemic absorption from the vagina of prostaglandin E2 administered for the induction of labour, *Prostaglandins*. **18**, 153–160.
95. Gorecka, B. A., Sanzgiri, Y. D., Bindra, D. S. ve Stella, V. J. (1995) Effect of SBE4- β -CD, a sulfobutyl ether β -cyclodextrin, on the stability and solubility of

- O*⁶-benzylguanine (NSC-637037) in aqueous solutions. *Int. J. Pharm.*, **125**, 55-61.
96. Gould, S. ve Scott, R.C. (2005). 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD): a toxicology review. *Food Chem. Toxicol.*, **43**, 1451–1459.
 97. Grant, S.M. ve Clissold, S.P. (1989). Itraconazole. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in superficial and systemic mycoses. *Drugs*, **37**, 310-344
 98. Gubbins, P.O., Gurley B.J. ve Bowman, J. (1998). Rapid and sensitive high performance liquid chromatographic method for the determination of itraconazole and its hydroxy-metabolite in human serum. *J Pharmaceut Biomed*, **16(6)**,1005-1012
 99. Gurtler F., Kaltsatos, V. ve Boisrame, B.(1995). Ocular availability of gentamycin in small animals after topical administration of a conventional eye drop solution and novel long acting bioadhesive ophthalmic drug insert. *Pharmacol Res.* 12, 1791-1795.
 100. Guyot, M. ve Fawaz, F. (1993) Intravaginal pharmaceutical dosage forms: present and future choices. Part 1. Classic products. *J. Pharm. Belg.* 48, 393–406.
 101. Gürsoy A (Ed). (2002). *Kontrollü Salım Sistemleri*. İstanbul: Elma Bilgisayar Basım Ve Ambalaj San. Tic. Ltd. Şti.
 102. Han, K., Park, J.S., Chung, Y.B., Jeong, N.J.P., Park, H.B. ve Robinson, J.R. (1995). Development of luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) delivery systems for vaginal mucosal route, *Arch. Pharm. Res.* **18**, 325– 331.
 103. Hardin, T.C., Graybill, J.R., Fetchick, R., Woestenborghs, R., Rinaldi, M.G. ve Kuhn, J.G. (1988). Pharmacokinetics of itraconazole following oral administration to normal volunteers. *Antimicrob Agents Chemother*, **32(9)**, 1310-1313

104. Haria, M., Bryson, H.M. ve Goa, K.L. (1996) Itraconazole. A reappraisal of its pharmacological properties and therapeutic use in the management of superficial fungal infections. *Drugs*, **51(4)**, 585-620
105. Hasçıçek, C., Gönül, N. ve Erk, N. 2002 Mucoadhesive microspheres containing gentamicin sulfate for nasal administration: preparation and in vitro characterization *Il Farmaco*, **58 (1)**, 11-16.
106. Hashimoto, H. (1991). Chap. 3, Preparation, Structure, Property and Application of Branched Cyclodextrins. İçinde D. Duchene (Ed.), *New Trends in Cyclodextrins and Derivatives*. Paris: de Sante; 97-156.
107. Heykants, J., Van Peer, A., Van de Velde, V., Van Rooy, P., Meuldermans, W., Lavrijsen, K. ve ark.(1989). The Clinical Pharmacokinetics of Itraconazole: An Overview. *Mycoses*, **32(1)**, 67-87
108. Higuchi ,T. ve Connors, K.A. (1965). Phase Solubility Techniques. *Adv. Anal. Chem. Instr.*, **4**, 117-150
109. Higuchi, T. (1963) Mechanisms of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *J. Pharm. Sci.*, **52**, 1145-1149
110. Higuchi, T. ve Kristiansen, H. (1970). Binding specifity between small organic solutes in aqueous solution: Classification of some solutes into two groups according to binding tendencies, *J. Pharm Sci.*, **59**, 1601-1608
111. Hirai, S. (1994). Formulation studies of cefotiam hexetil hydrochloride:effect of α -cyclodextrin as dissolution enhancer. İçinde Osa, T., (Ed.), *Proceedings of 7th International Symposium on Cyclodextrins*. Tokyo: Komiyama Printing Co. Ltd.; 39–44.
112. Hirayama, F. ve Uekama, K. (1999). Cyclodextrin-Based Controlled Drug Release System. *Adv Drug Deliver Rev*; **36**: 125–141
113. Hirayama, F., Kurihara, M. ve Uekama, K. (1984). Improving the aqueous stability of prostaglandin E2 and prostaglandin A2 by inclusion complexation with methylated-bcyclodextrins. *Chem. Pharm. Bull.*, **32(10)**, 4237–4240.

114. Hirayama, F., Utsuki, T., Uekama, K., Yamasaki, M. ve Harata, K. Prominent inclusion effect of dimethyl- β -cyclodextrin on photoisomerization of the thromboxane synthetase inhibitor (*E*)-4-(1-imidazolymethyl)cinnamic acid (1992). *J. Pharm. Sci.*, **81**, 817-822.
115. Hodi, K., Aigner, Z., Fahr, F. ve Kata, M. (1989). Electron microscopic study of products containing p-cyclodextrin, *Starch/Starke*, **41**, 392-395
116. Hodi, K., Tasic, Lj., Kata, M., Selmeczi, B., Jovanovic, M. ve Djuric, Y. (1991). Morphological study of products containing β -cyclodextrin, *Starch/Starke*, **43**, 186-19
117. Holst, E. ve Brandberg, A. (1990). Treatment of bacterial vaginosis in pregnancy with a lactate gel. *Scand. J. Inf. Dis.* **22**, 625–626.
118. Horiuchi, Y., Hirayama, F. ve Uekama, K. (1990). Slow-release characteristics of diltiazem from ethylated β -cyclodextrin complexes. *J. Pharm. Sci.* **79**, 128–132
119. Hoshino, T., Ishida, K., Irie, T., Uekama, K. ve Ono, T. (1989). An attempt to reduce the photosensitizing potential of chlorpromazine with the simultaneous use of β - and dimethyl- β -cyclodextrins in guinea pigs. *Arch. Dermatol. Res.*, **281**, 60-65.
120. Hoshino, T., Uekama, K. ve Pitha, J. (1993). Increase in temperature enhances solubility of drugs in aqueous solutions of hydroxypropyl cyclodextrins. *Int. J. Pharm.*, **98 (1/3)**, 239–242.
121. Huntsberger, J.R. (1989). Surface energy, wetting and adhesion. *J. Adhesion* **12**; 3-12.
122. Hussain, A. ve Ahsan, F. (2005). The vagina as a route for systemic drug delivery. *J Control Release*, **103**, 301–303.
123. *ICH Tripartite Guideline. Validation of analytical procedures: Methodology (CPMP/ICH/281/95), 1995*
124. Illum L. (1998). Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient.. *Pharm Res.* **15(9)**, 1326-1331.

125. Irie, T. ve Uekama, K. (1997). Pharmaceutical applications of cyclodextrins. III. Toxicological Issues and Safety Evaluation, *J. Pharm. Sci.*, **86**(2), 147-162.
126. Irie, T., Sunada, M., Otagiri, M., Uekama, K., Ohtani, Y. ve Yamada, Y. (1982) Cyclodextrin-induced haemolysis and shape changes of human erythrocytes in vitro. *J. Pharmacobio-Dyn.*, **5**, 741-744.
127. Jain, A.C. ve Adeyeye, M.C., (2001). Hygroscopicity, phase solubility and dissolution of various substituted sulfobutylether- β -cyclodextrins (SBE) and danazol-SBE inclusion complexes. *Int. J. Pharm.* **212**, 177–186.
128. Jain, A.C., Aungst, B.J. ve Adeyeye, M.C., (2002). Development and *in vivo* evaluation of buccal tablets prepared using danazol-sulfobutylether 7 β -cyclodextrin (SBE 7) complexes. *J. Pharm. Sci.* **91**, 1659–1668.
129. Jarho, P., Urtti, A., Pate, D.W., Suhonen, P. ve Järvinen, T. (1996). Increase in aqueous solubility. *Int J Pharm*, **137**, 209–17
130. Jimenez-castallanos R., Zia, H. ve Rhodes C.T. (1993). Mucoadhesive drug delivery systems. *Drug Dev Ind Pharm.***19** (1-2), 143-194.
131. Jug, M. ve BecirevicLacan M. (2004). Influence of hydroxypropyl-bcyclodextrin complexation piroxicam release from buccoadhesive tablets. *Eur J Pharm Sci*, **21**, 251–260
132. Jung, J.Y., Yoo, S.D., Lee, S.H., Kim, K. H., Yoon, D.S. ve Lee, K.H. (1999). Enhanced solubility and dissolution rate of itraconazole by a solid dispersion technique. *Int. J. Pharm.* **187**, 209–218
133. Jung, Y.C., Oh, Y.K. Soo Kong, H., Jung Kim, E., Dong, D.J. ve Ki, T.N. (2002). Prolonged antifungal effects of clotrimazole- containing mucoadhesive thermosensitive gels on vaginitis, *J. Control. Release.* **82**, 39– 50.
134. Karadağ, O. (1998). Siklodekstrinlerin ilaçlarla olusturduğu inklüzyon komplekslerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Ankara: Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,
135. Kast, C.E. ve Bernkop-Schnürch, A. (2001). Thiolated polymers-thiomers: development and in vitro evaluation of chitosan-thioglycolic acid conjugates. *Biomaterials.* **22**, 2345-2352.

136. Kata, M. ve Selmeczi, B. (1987). Increasing the solubility of drugs through cyclodextrin complexation, *J. Incl. Phenom.*, **5**, 39- 43.
137. Kata, M., Bacskey, I., Hodi, K. ve Regdon, G. (1989). Formulation of inclusion complexes containing diazepam and dimethyl- β -cyclodextrin and their pharmaceutical study. *Boll. Chim. Farmaceutica*, **134**, 557-563
138. Kellaway, I.W Smart, J.D. ve Worthington, H.E.C. (1984). An in-vitro investigation of mucosa-adhesive materials for use in controlled drug delivery. *J.Pharm. Pharmacol.* **36**, 295-299.
139. Kellaway, I.W. ve Smart, J.D., (1982). In vitro techniques for measuring mucoadhesion. *J.Pharm. Pharmacol.* **34**, 70.
140. Kelloff, G. J., Boone, C.W., Crowell, J.A., Steele, V.E., Lubet, R. A. ve Doody, L. A. (1996). New agents for cancer chemoprevention. *J. Cell. Biochem.*, **265**, 1-28.
141. Khanvilkar, K., Donovan, M.D. ve Flangan, D.R. (2001). Drug Transfer Through Mucus. *Adv Drug Del Rev* . **48**, 173-193.
142. Kikuchi, M., Hirayama, F. ve Uekama, K. (1987). Improvement of oral and rectal bioavailabilities of carmofur by methylated β -cyclodextrin complexations. *Int. J. Pharm.*, **38**, 191-198.
143. Kim, K.W., Thomas, R.L., Lee, C. ve Park, H.J. (2003). Antimicrobial activity of native chitosan, degraded chitosan, and Ocarboxymethylated chitosan. *J. Food Prot.* **66**, 1495– 1498.
144. Kimura, K., Hirayama, F., Arima, H. ve Uekama, K. (2000). Effects of aging on crystallization, dissolution and absorption characteristics of amorphous tolbutamide-2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex. *Chem. Pharm. Bull.*, **48 (5)**, 646–650.
145. Knuth, K., Amiji, M. ve Robinson, J. (1993). Hydrogel delivery systems for vaginal and oral applications, formulation and biological considerations. *Adv. Drug Delivery Rev.* **11**, 137–167.

- 146.Korteweg, G.C., Szabo, K.L., Rutten, A.M. ve Hoogerheide, J.C. (1963). Some pharmacological properties of Pimaricin and possible clinical application of this antifungal antibiotic. *Antibiot Chemother.*, **11**, 261-72
- 147.Koutsou, G.A., Storey, D.M. ve Bär, A., (1999). Gastrointestinal tolerance of γ -cyclodextrin in humans. *Food Addit. Contam.*, **16**, 313–317
- 148.Kristl, J., Smid-Korbar, J., Strue, E., Schara, M. ve Rupprecht, H. (1993). Hydrocolloids and gels of chitosan as drug carriers. *Int. J. Pharm.* **99**, 13–19.
- 149.Kristmundsdóttir, T., Loftsson, T. ve Holbrook, W.P. (1996). Formulation and clinical evaluation of a hydrocortisone solution for treatment of oral disease. *Int J Pharm*, **139**, 63–68.
- 150.Kublik, H., Bock, T.K., Schreier, H. ve Müller, B.W. (1996). Nasal absorption of 17 β -estradiol from different cyclodextrin inclusion formulations in sheep. *Eur J Pharm Biopharm*, **42**, 320–324.
- 151.Kunisawaa, J., Okudairaa, A. Tsutsumia, Y., Takahashib, I., Nakanishia, T. Kiyonob ve ark. (2001). Characterization of mucoadhesive microspheres for the induction of mucosal and systemic immune responses. *Vaccine*. **19**, 589– 594.
- 152.Lach, J.L. ve Chin, T.F. (1964). Schardinger dextrin interaction IV: Inhibition of hydrolysis by means of molecular complex formation, *J. Pharm. Sci.*, **53**, 924–927.
- 153.Langoth, N., Kalbe, J. ve Bernkop-Schnürch, A. (2003). Development of buccal drug delivery systems based on a thiolated polymer. *Int. J. Pharm.*, **252**, 141-148.
- 154.Larosa, E., Cauwenbergh, G., Cilli, P., Woestenborghs, R. ve Heykants, J. (1986). Itraconazole pharmacokinetics in the female genital tract: plasma and tissue levels in patients undergoing hysterectomy after a single dose of 200 mg itraconazole. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* **23(1-2)**, 85-89.

155. Law, D., Moore, C.B. ve Denning, D.W. (1994). Bioassay for Serum Itraconazole Concentrations Using Hydroxyitraconazole Standards. *Antimicrob Agents Chemother*, **38**(7), 1561-1566
156. Lee, C.H ve Chien, Y.W. (1996). Development and evaluation of a mucoadhesive drug delivery system for dual-controlled delivery Nonoxynol-9. *J. Control. Rel.* **39**, 93-103.
157. Lee, H.J., Kim, S.U. ve Seo, S.H. (1988). Pharmaceutical studies on the drug (III). Enhancement of dissolution and stability of sulfamethoxazole by β -cyclodextrin complexation. *Yakche Hakhoechi*, **18** (4), 181–186.
158. Lee, J.W., Park, J.H. ve Robinson, J.R. (2000). Bioadhesive-based dosage forms: the next generation. *J Pharm Sci.* **89**, 850-866.
159. Leeson, T.S., Leeson, C.R. ve Paparo, A.A (1988). *Text/Atlas of Histology*. 6th Ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company.
160. Legendre, J. Y., Rault, I., Petit A., Luijten, W., Demunyk, I., Horvath, S. ve ark. (1995). Effects of β -cyclodextrins on skin: Implications for the transdermal delivery of priedil and a novel cognition enhancing-drug. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **3**, 311-322.
161. Lim, S. G., Sawyerr , A. M., Hudson, M., Sercombe , J. ve Pounder, R. E. (2007). Short report: the absorption of fluconazole and itraconazole under conditions of low intragastric acidity. *Aliment. Pharmacol. Ther.* ,**7**(3), 317-321
162. Lin, G. ve Xu, S. (1992). A new method of encapsulating volatile oils in chinese medicinal herbs with β -cyclodextrin. *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, **17** (5), 283–285.
163. Linares, M.S. ve Langhi, M. R. (2003). Effects of hydroxypropyl- β -cyclodextrin on the chemical stability of naphthoquinone in aqueous solution. *Pharmazie*, **58** (1), 32-37.
164. Liu, L. ve Guo, Q.X. (2002). The Driving Forces in the Inclusion Complexation of Cyclodextrins. *J Incl Phenom Macro*, **42**, 1-14

- 165.Lockwood, S.F., O'Malley, S. ve Mosher, G.L., (2003). Improved aqueous solubility of crystalline astaxanthin (3,3-dihydroxy- β , β -carotene-4,4-dione) by captisol® (sulfobutyl ether - β -cyclodextrin). *J. Pharm. Sci.*, **92**, 922–926.
- 166.Loftsson T. ve Duchêne D. (2007). Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *Int J Pharm*; **329**: 1–11
- 167.Loftsson, T. (1995). Effects of cyclodextrins on the chemical stability of drugs in aqueous solutions. *Drug Stab.*, **1 (1)**, 22–33.
- 168.Loftsson, T. (1999). Pharmaceutical applications of B-cyclodextrin. *Pharm. Tech. Eur.*, **11(10)**, 20-32.
169. Loftsson, T. ve Brewster, M.E. (1996). Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *J. Pharm. Sci.*, **85(10)**, 1017–1025.
- 170.Loftsson, T. ve Jarvinen, T. (1999). Cyclodextrins in ophthalmic drug delivery. *Adv. Drug Del. Rev.*, **36 (1)**, 59–79.
- 171.Loftsson, T. ve Johannesson, H. R. (1994). The influence of cyclodextrins on the stability of cephalotin and aztreonam in aqueous solutions. *Pharmazie*, **49**, 292-293.
- 172.Loftsson, T. ve Stefánsson, E. (1997). Effect of cyclodextrins on topical drug delivery to the eye. *Drug Devel Ind Pharm*, **23**, 473–481.
- 173.Loftsson, T., Jarho, P., Másson, M. ve Järvinen, T. (2005). Cyclodextrins in drug delivery; *Expert Opin. Drug Deliv.* **2**; 335-351
- 174.Loftsson, T., Masson, M. ve Sigurjonsdottir, J.F. (1999). Methods to enhance the complexation efficiency of cyclodextrins. *Stp Pharma Sciences*, **9 (3)**, 237–242.
- 175.Loftsson, T., Olafsdottir, B., Frioriksdottir, H. ve Jonsdottir, S. (1993). Cyclodextrin complexation of NSAIDs: physicochemical characteristics. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **1**, 95-101.
- 176.Loftsson, T., Ólafsdóttir, B.J., Fridriksdóttir, H. ve Jónsdóttir S. (1993). Cyclodextrin complexation of NSAIDs: physicochemical characteristics. *Eur J Pharm Sci*; **1**, 95–101.

177. Lorenzo-Lamosa, M.L., Remunan-Lopez, C., Vila-Jato, J.L. ve Alonso, M.J. (1998). Design of microencapsulated chitosan microspheres for colonic drug delivery. *J. Control Rel.* **52**, 109–118.
178. Lu, M.F., Woodward, L. ve Borodkin, S. (1991). Xanthan gum and alginate based controlled release theophylline formulations. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **17**, 1987–2004.
179. Lueßen, H.L., Rentel, C.O., Kotzé, A. F., Lehr, C.M., de Boer, A.G., Verhoef J.C. ve ark. (1997). Mucoadhesive polymers in peroral peptide drug delivery. IV. Polycarbophil and chitosan are potent enhancers of peptide transport across intestinal mucosae in vitro. *J. Control. Rel.* **45(1)**, 15-23.
180. Lueßen, H.L., de Leeuw, B.J., Langemeyer, M.W.E., de Boer, A.B., Verhoef, J.C. ve Junginger, H.E. (1996). Mucoadhesive polymers in peroral peptide drug delivery: VI. Carbomer and chitosan improve the intestinal absorption of the peptide drug buserelin in vivo. *Pharm. Res.* **13**, 1668–1672.
181. Lueßen, H.L., Lehr, C.M., Rentel, C.O., Noach, A.B.J., de Boer, A.G., Verhoef, J.C. ve ark. (1994). Bioadhesive polymers for peroral delivery of peptide drugs. *J Control Rel.* **29**, 329-338.
182. Ma, D.Q., Rajewski, R.A., Vander Velde, D. ve Stella, V.J. (2000). Comparative effects of (SBE)(7m)- β -Cd and Hp- β -Cd on the stability of two anti-neoplastic agents, melphalan and carmustine. *J. Pharm. Sci.*, **89(2)**, 275–287.
183. Machida, Y., Masuda, H., Fujiyama, N., Ito, S., Iwata, M. ve Nagai, T. (1979). Preparation and phase II clinical examination of topical dosage form for treatment of carcinoma coli containing bleomycin with hydroxypropyl cellulose. *Chem. Pharm. Bull.* **27**, 93–100.
184. Magnusdottir, A., Masson, M. ve Loftsson, T. (2002). Cyclodextrins. *J. Incl. Phenom. Macro. Chem.*, **44**, 213-218

- 185.Mao, H.Q., Roy, K., Walsh, S.M., August, J.T. ve Leong, K.W. (1996). DNA–chitosan nanospheres for gene delivery. *Proc. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* **23**, 401–402
- 186.Mao, H.Q., Truong-Le, V., August, J.T. ve Leong, K.W. (1997). DNA–chitosan nanospheres: derivatization and storage stability. *Proc. Intl. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* **24**, 671–672.
- 187.Marshall, J.J. ve Miwa, I. (1981). Kinetic difference between hydrolyses of gamma-cyclodextrin by human salivary and pancreatic alpha-amylases. *Biochim. Biophys. Acta*, **661**, 142-147.
- 188.Marshall, J.J. ve Miwa, I. (1981). Kinetic difference between hydrolyses of γ -cyclodextrin by human salivary and pancreatic α -amylases. *Biochim Biophys Acta*. **661(1)**, 142-147
- 189.Martin Del Vale, E.M. (2004). Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry* **39**: 1033–1046
- 190.Martin, A. (1993). *Physical Pharmacy*, 4th ed. Philadelphia, PA,; Lea & Febiger; 233-234.
- 191.Martin, A. (1993). *Physical Pharmacy*. Ed. 4. London: Lea&Febiger pp 46-49
- 192.Martindale: The Complete Drug Reference, 35th Edition, The Pharm. Pres, London, 2007
- 193.Marvola, M., Rajaniemi, M., Marttila, E., Vahervuo, K. ve Sotmann, A. (1983). Effect of dosage form and formulation factors on the adherence of drugs to the esophagus. *J Pharm Sci.* **72**, 1034-1036.
- 194.Marvola, M., Vahervuo, K., Sotmann, A., Marttila, E. ve Rajaniemi, M. (1982). Developments of a method for study of the tendency of drug products to adhere to the esophagus. *J Pharm Sci.* **71**, 975-977.
- 195.Mathiowitz, E. ve Chickering, D.E. (1999). Definitions, mechanisms and theories of bioadhesion. İçinde E. Mathiowitz, D.E. Chickering, ve C.-M

- .Lehr (Eds.). *Bioadhesive Drug Delivery Systems: Fundamentals, Novel Approaches and Development*. New York: Marcel Decker; 1–10.
- 196.Matsuda, H. ve Arima, H., (1999). Cyclodextrins in transdermal and rectal delivery. *Adv Drug Deliver Rev*; **36**: 81–99
- 197.Menard, F.A., Dedhiya, M.G. ve Rhodes, C.T. (1990). Physicochemical aspects of the complexation of some drugs with cyclodextrins. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **16 (1)**, 91–113.
- 198.Mielcarek, J. (1996). Photochemical stability of the inclusion complexes of nicardipine with α -, γ -cyclodextrin, methyl- β -cyclodextrin, and hydroxypropyl- β -cyclodextrin in the solid state and in solution. *Pharmazie*, **51 (7)**, 477–479.
- 199.Mikos, A.G. ve Peppas, N.A. (1990). Bioadhesive analysis of controlled release systems IV. An experimental method for testing the adhesion of microparticles with mucus. *J Control Rel.* **12**, 31-37.
- 200.Mizina, P.G. (2001). Bioadhesion: Methods of determination. *Pharm Chem J*, **35**, 27-29.
- 201.Mohamadi, F., Richards, N., Guida, W., Liskamp, R., Lipton, M., Caulfield, C. ve ark. (1990). MacroModel—An integrated software system for modeling organic and bioorganic molecules using molecular mechanics. *J Comput Chem*, **11**, 440–467.
- 202.Mortazavi, S.A. ve Smart, J.D. 1994. Factors influencing gel strengthening at the mucoadhesive-mucus interface. *J Pharm Pharmacol*, 48:285–287
203. Moyano, J.R., Arias, M.J., Gines, J.M., Perez, J.I. ve Rabasco, A.M. (1997). Dissolution behavior of oxazepam in presence of cyclodextrins: evaluation of oxazepam- DIMEB binary system. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **23 (4)**, 379–385.
- 204.Mulski, M.J. ve Connors, K.A. (1995). Solvent effects on chemical processes. 9. Energetic contributions to the complexation of 4-nitroaniline with α -cyclodextrin in water and in binary aqueous-organic solvents. *Supramol. Chem.*, **4 (4)**, 271–278.

- 205.Munro, I.C., Newberne, P.M., Young, R.R. ve Bär, A. (2004). Safety assessment of γ -cyclodextrin. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **39**: 3–13.
- 206.Mura, P., Faucci, M. T. ve Bettinetti, G. P. (2001). The influence of polyvinylpyrrolidone on naproxen complexation with hydroxypropyl- β -cyclodextrin, *Eur. J. Pharm. Sci.* **13**, 187-194
- 207.Murata, J-I., Ohya,Y. ve Ouchi,T. (1996). Possibility of application of quaternary chitosan having pendant galactose residues as gene delivery tool. *Carbohydr. Polym.* **29**, 69–74.
- 208.Murata, J-I., Ohya,Y. ve Ouchi,T. (1997). Design of quaternary chitosan conjugate having antennary galactose residues as a gene delivery tool. *Carbohydr. Polym.* **32**, 105–109
- 209.Müller, B.W. ve Brauns, U. (1985). Solubilization of drugs by modified β -cyclodextrins. *Int. J. Pharm.*, **26 (1/2)**, 77-88.
- 210.Nachtigall, L. (1994). Comparative study: Replens versus local estrogen in menopausal women. *Fertil Steril.* **61**, 178-180.
- 211.Nafee, N.A., Ismail, F.A., Boraie, N.A. ve Mortada LM. (2004). Mucoadhesive delivery systems. I. Evaluation of mucoadhesive polymers for buccal tablet formulation. *Drug Dev Ind Pharm*, **30**, 985–993
- 212.Nagarsenker, M.S., Tantry, J.S. ve Shenai, H. (1997). Influence of hydroxypropyl- β -cyclodextrin on the dissolution of ketoprofen and irritation to gastric mucosa after oral administration in rats. *Pharm. Sci.*, **3 (9)**, 443–445.
- 213.Nagase, Y., Hirata, M., Arima, H., Tajiri, S., Nishimoto, Y., Hirayama, F. ve ark. (2002). Protective effect of sulfobutyl ether β -cyclodextrin on DY-9760e-induced hemolysis *in vitro*. *J. Pharm. Sci.* **91**, 2382–2389.
- 214.Nagase, Y., Hirata, M., Wada, K., Arima, H., Hirayama, F., Irie, T. ve ark. (2001). Improvement of some pharmaceutical properties of DY-9760e by sulfobutyl ether- β -cyclodextrin. *Int. J. Pharm.*, **229**, 163–172.
- 215.Nagase,Y., Arima, H.,Wada, K., Sugawara,T., Satoh, H., Hirayama, F. ve ark. (2003). Inhibitory effect of sulfobutyl ether β -cyclodextrin on DY-

- 9760einduced cellular damage: *in vitro* and *in vivo* studies. *J. Pharm. Sci.* **92**, 2466–2474.
216. Nakai, Y., Nakayima, S., Yamamoto, K., Terada, K. ve Konno, T. (1978). Effects of grinding on physical and chemical properties of crystalline medicinals in ground mixtures. *Chem. Pharm. Bull.*, **26(11)**, 3419-3425.
217. Nakai, Y., Yamamoto, K., Terada, K. ve Horibe, H. (1982). Interaction of tri-o-methyl-beta-cyclodextrin with drugs I: Effect of tri-o-methyl-beta-cyclodextrin on the partition coefficients of drugs. *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 1796-1802
218. Ng, T. K. C. , Chan, R. C. Y., Adeyemi-Doro, F. A. B. , Cheung S. W. ve Cheng , A. F. B. (1996). Rapid high performance liquid chromatographic assay for antifungal agents in human sera. *J Antimicrob Chemoth* **37**, 465-472
219. Noveon Pharmaceutical Bulletin 16: Bioadhesion, Noveon Inc., Cleveland, Ohio
220. Ohtani, Y., Irie, T., Uekama, K., Fukunaga, K. ve Pitha, J. (1989). Differential effects of α -, β - and γ -cyclodextrins on human erythrocytes. *Eur. J. Biochem.*, **186**, 17-22.
221. Okada, H. (1991). Vaginal route of peptide and protein delivery. İçinde V.H.L. Lee (Ed.). *Peptide and Protein Drug Delivery*. Marcel Dekker; 633–666.
222. Okada, Y., Matsuda, K., Hara, K., Hamayasu, K., Hashimoto, H. ve Koizumi, K. (1999). Properties and the inclusion behaviour of 6- α -D-galactosyl- and 6- α -D-mannosyl-cyclodextrins. *Chem. Pharm. Bull.*, **47 (11)**: 1564-1568.
223. Otero Espinar, F.J., Anguiano Igea, S., Blanco Mendez, J. ve Vila Jato, J.L. (1991). Reduction in the ulcerogenicity of naproxen by complexation with β -cyclodextrin. *Int. J. Pharm.*, **70 (1/2)**, 35–41.
224. Owen, D.H., Dunmire, E.N., Plenys, A.M. ve Katz, D.F. (1999). Factors influencing nonoxynol-9 permeation and bioactivity in cervical mucus. *J. Control. Release.* **60**, 23– 34.

225. Owen, D.H., Peters, J.J., Lavine, M.L. ve Katz, D.F. (2003). Effect of temperature and pH on contraceptive gel viscosity. *Contraception*. **67**, 57–64.
226. Park, H. ve Robinson, J.R. (1985). Physico-chemical properties of water insoluble polymers important to mucin/epithelial adhesion. *J Control Rel.* **2**, 47-57.
227. Park, J.H., Kim, J.H., Kim, J.I., Kim, S.J., Seo, S.H. ve Lee, K. (1997). Comparison of diclofenac sodium and diclofenac sodium-*b*-cyclodextrin complexation on gastric mucosal injury in rats. *Yakche Hakhoechi*, **27 (1)**, 11–14.
228. Patashnik, S., Rabinovich, L. ve Golomb, G. (1997). Preparation and evaluation of chitosan microspheres containing bisphosphonates. *J. Drug Target.* **4**, 371–380.
229. Patel, L.G. (1984). Propranolol concentrations in plasma after insertion into the vagina. *Br. Med. J.* **287**, 1247–1248.
230. Pavelic, Z., Skalko-Basnet, N. ve Schubert, R. (2001). Liposomal gels for vaginal drug delivery. *Int. J. Pharm.* **219**, 139-149.
231. Peeters, J., Neeskens, P., Tollenaere, J. P. , Van Remoortere, P. ve Brewster, M. E. (2002). Characterization of the interaction of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin with itraconazole at pH 2, 4, and 7. *J. Pharm. Sci.*, 91(6), 1414-1422
232. Peh, K.K. ve Wong C. F. 1999 Polymeric Films As Vehicle For Buccal Delivery: Swelling, Mechanical, and Bioadhesive Properties. *J Pharm Pharm Sci*, **2 (2)**, 53-61
233. Peh, K.K. ve Wong, C.F. (2000). Application of similarity factor in the development of controlled release diltiazem tablet. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **26**, 723–730.
234. Peppas N.A. ve Buri P.A. (1985). Surface, Interfacial and Molecular Aspects of Polimer Bioadhesion on Soft Tissue. *J. Control Rel.* **2**, 257-275.

235. Peppas, N.A. ve Bury, P.A. (1985). Surface interfacial and molecular aspects of polymer bioadhesion on soft tissues. *J Control Release*, **2**, 257–275
236. Peppas, N.A. ve Sahlin, J.J. (1996). Hydrogels as mucoadhesive and bioadhesive materials: a review. *Biomaterials*. **17**, 1553– 1561.
237. Peppas, N.A. (1985). Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers. *Pharm Acta Helv* ,**60**, 110–111
238. Peppas, N., Ponchel, G. ve Duchene, D. (1987). Bioadhesive analysis of controlled-release systems. II: time dependent bioadhesive stress in poly(acrylic acid) containing systems. *J Control Rel* . **5**, 143-149.
239. Pitha, J. ve Hoshino, T. (1992). Effect of ethanol on formation of inclusion complexes of hydroxypropylcyclodextrins with testosterone or with methyl orange. *Int. J. Pharm.*, **80**, 243-251.
240. Pitha, J. ve Hoshino, T. (1992). Effects of ethanol on formation of inclusion complexes of hydroxypropyl cyclodextrins with 692 Complexation: Cyclodextrins testosterone or with methyl orange. *Int. J. Pharm.*, **80 (2/3)**, 243–251.
241. Poirer, J.M. ve Cheymol, G. (1998). Optimisation of itraconazole therapy using target drug concentrations. *Clin Pharmacokinet*, **35**, 461-473
242. Ponchel, G., Touchard, F., Duchene, D. ve Peppas, N.A. (1987). Bioadhesive analysis of controlled-release systems. I: Fracture and interpenetration analysis in poly(acrylic acid)-containing systems. *Journal of controlled release*. **5(2)**, 129-141.
243. Ponchel, G., Touchard, F., Wouessidjewe, D. ve Duchene, D. (1987). Analysis of controlled-release systems III. Bioadhesive and release behavior of metronidazole containing poly(acrylic acid) hydroxypropyl methylcellulose systems. *Int J Pharm*. **38**, 65-70.
244. Qi, Z.H. ve Hedges, A.R. (1995). Use of cyclodextrins for flavors. *ACS Symp. Ser., Flavor Technology*, **610**, 231–243.

245. Rajewski, R.A. (1991). *Development and evaluation of the usefulness and parenteral safety of modified cyclodextrins (Dissertation)* Lawrence Kansas USA, , Diss. Abstr. mt. B **51**, 11.5332.
246. Ranga Rao, K.V. ve Buri, P. (1989). A novel in situ method to test polymers and coated microparticles for bioadhesion. *Int J Pharm*, **52**, 265–270
247. Rathbone, M.J. ve Hadgraft, J. (1991). Absorption of drugs from the human oral cavity. *Int. J. Pharm.* **74**, 9–24.
248. Redenti, E., Szente, L. ve Szejtli, J. (2000). Drug/cyclodextrin/hydroxy acid multicomponent systems, properties and pharmaceutical applications. *J. Pharm. Sci.*, **89** (1), 1–8.
249. Reer, O. ve Muller, B. W. (1993). Investigation of the influence of cosolvents and surfactants on the complexation of dexamethasone with hydroxypropyl- α -cyclodextrin by use of a simplex lattice design. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **39**, 105-111
250. Reer, O. ve Muller, B.W. (1993). The influence of cosolvents and surfactants on the complexation of dexamethasone with hydroxypropyl- β -cyclodextrin investigated with a simplex lattice design. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **39** (3): 105–111.
251. Remuñán-López, C. (1997). *Advances in Chitin Science*. In: Domard, A., Roberts, G.A.F and Vårum, K.M. (Eds.). Elsevier Applied Science; 600–607.
252. Remuñán-López, C., Portero, A. ve Alonso, M.J. (1996) *Advances in Controlled Delivery*. Baltimore: CRS
253. Richardson J.L. ve Illum, L. (1992). The Vaginal Route of Peptide and Protein Drug Delivery. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **8**, 341-346.
254. Richardson, J.L., Farraj, N.F. ve Illum, L. (1992). Enhanced vaginal absorption of insulin in sheep using lysophosphatidylcholine and a bioadhesive microsphere system. *Int. J. Pharm.* **88**, 319–325.

255. Ritger, P.L. ve Peppas, N.A. (1987). A simple equation for description of solute release. II Fickian and anomalous release from swellable devices. *J Control Release*, **5**, 37–42.
256. Robinson, J.R. ve Bologna, W.J. (1994). Vaginal and reproductive system treatments using a bioadhesive polymer. *J. Control Release.*, **28**, 87– 94.
257. Robinson, J.R. ve Park, K. (1984). Bioadhesive Polymers as platforms for oral controlled drug delivery: Method to study bioadhesion. *Int J Pharm.* **19**, 107-127.
258. Rowe, R.C., Sheskey, P.J. ve Owen S.C. (2006). *Handbook of Pharmaceutical Excipients (5. Ed.)*. London, Chicago: Pharmaceutical Press ve American Pharmacists Association
259. Saket, M. (1997). Improvement of solubility and dissolution rate of meclizine hydrochloride utilizing cyclodextrins and non-ionic surfactant solutions containing cosolvents and additives. *ATLME*, **8 (1)**, 33–48.
260. Salamat-Miller, N. ve Chittchang, M. (2005). The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. *Adv Drug Deliver Rev*, **57**, 1666-1691.
261. Saleh, S.I. (1993). β -cyclodextrin as a direct compression excipient compared to conventional ones. *J. Pharm. Belg.*, **48 (5)**, 371- 377
262. Santucci, L., Fiorucci, S., Chiucchiu, S., Sicilia, A., Bufalino, L. ve Morelli, A. (1992). Placebo-controlled comparison of piroxicam- β -cyclodextrin, piroxicam, and indomethacin on gastric potential difference and mucosal injury in humans. *Dig. Dis. Sci.*, **37 (12)**, 1825–1832.
263. Savolainen, J., Jarvinen, K., Matilainen, L. ve Jarvinen, T. (1998). Improved dissolution and bioavailability of phenytoin by sulfobutylether- β -cyclodextrin ((SBE)(7m)- β -Cd) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) complexation. *Int. J. Pharm.*, **165 (1)**, 69–78.
264. Scalia, S., Casolari, A., Laconinoto, A. ve Simeoni, S. (2002). Comparative studies of the influence of cyclodextrins on the stability of sunscreen agent, 2

- ethylhexyl- β -methoxycinnamate. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **30** (4), 1181-1189.
265. Schlenk, H., Sand, D.M. ve Tillotson, J.A. (1955). Stabilization of autoxidizable materials by means of inclusion. *J. Am. Chem. Soc.*, 77, 3587–3590.
266. Sharma, G., Jain, S., Tiwary, A.K. ve Kaur, G. (2006). Once daily bioadhesive vaginal clotrimazole tablet: Design and evaluation. *Acta Pharm*, **56**, 337–345.
267. Shojaei, A.H., Chang, R.K., Guo, X., Burnside, B.A. ve Couch, R.A. (2001). Systemic Drug Delivery Via The Buccal Mucosal Route. *Pharmaceutical Technology*, **6**, 70-81
268. Shojaei, A.H., Chang, R.K., Guo, X., Burnside, B.A. ve Couch, R.A. (2001). Systemic Drug Delivery Via The Buccal Mucosal Route. *Pharmaceutical Technology*, **6**, 70-81
269. Siefert, B. ve Keipert, S. (1997). Influence of α -cyclodextrin and hydroxyalkylated β -cyclodextrin derivatives on the in-vitro corneal uptake and permeation of aqueous pilocarpine hydrochloride solutions. *J Pharm Sci*, **86**(6), 716-720.
270. Sigurjonsdottir, J.F., Loftsson, T. ve Masson, M. (1999). Influence of cyclodextrins on the stability of the peptide salmon calcitonin in aqueous solution. *Int. J. Pharm.*, **186** (2), 205–213.
271. Simunek, F. (1988). Specific Problems of Vajinal Drug Formulation. *Gattefosse*; **81**: 25-31.
272. Singla A.K. ve Chawla M. (2001). Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects an update. *J. Pharm. Pharmacol.*, **53**, 10047-1067.
273. Sinha, V.R. ve Kumria, R. (2002). Binders for colon specific drug delivery: an in vitro evaluation. *Int. J. Pharm.*, **249**(1–2), 23–31.
274. Smith, B. G. ve Brunner, E. K. (2005). The structure of the human vaginal mucosa in relation to the menstrual cycle and to pregnancy. *Am J Anat.*, **54**(1); 27-85

275. Snyder, G.H., Reddy, M.K., Cennerazzo, M.J. ve Field, D. (1983). Use of local electrostatic environments of cysteines to enhance formation of a desired species in a reversible disulfide exchange reaction. *Biochim Biophys Acta*, **749**, 219-226.
276. Soliman, O.A., Kimura, K., Hirayama, F., Uekama, K., El-Sabbagh, H.M., El-Gawad, A.E. ve ark. (1997). Amorphous spirinolactone-hydroxypropylated cyclodextrin complexes with superior dissolution and oral bioavailability. *Int. J. Pharm.*, **149 (1)**, 73–83.
277. Spacek, J. ve Buchta, V. (2005). Itraconazole in the treatment of acute and recurrent vulvovaginal candidosis: comparison of a 1-day and 3-day regimen. *Mycoses*. **48**, 165-171.
278. Stella, V.J., Lee, H.K. ve Thompson, D.O. (1995). The effect of SBE4- β -cyclodextrin on i.m. prednisolone pharmacokinetics and tissue damage in rabbits: comparison to a co-solvent solution and a water-soluble prodrug. *Int. J. Pharm.*, **120 (2)**, 197–204.
279. Stella, V. ve Rajewski, R.A. (1992). Derivatives of Cyclodextrins Exhibiting Enhanced Aqueous Solubility and the Use Thereof. US Patent 5,134,127.
280. Stella, V.J. ve Rajewski, R.A. (1997). Cyclodextrins: Their Future in Drug Formulation and Delivery. *Pharm. Res.*, **14(5)**; 556-567
281. Stolnick, J., Hildebrandt, J.R. ve Prytowsky, H. (1963). The Microbiology of The Female Genital Tract: IV. Cervikal And Ajinal Flora During Pregnancy. *Obstet Gynecol.* **36**, 295-299.
282. Strous, G.J. ve Dekker, J. (1992). Mucin-type glycoproteins. *Crit. Rev. BioBiochem. Mol. Biol.*, **27**, 57–92.
283. Swarbrick J. (2007). *Encyclopedia Of Pharmaceutical Technology (Ed.3)*. New York: Informa Healthcare USA, Inc.
284. Szathmary, S.C., Seiller, K.U., Luchmann, I. ve Huss, H.J. (1990). Pharmacokinetic behaviour and absolute bioavailability of HP- β -CD after increasing doses in volunteers. İçinde Duchene, D. (Ed.), *Minutes of the 5th International Symposium on Cyclodextrins*. Paris: Editions de Sante; 535–540.

- 285.Szejtli, J. (1982). *Cyclodextrins and Their Inclusion Complexes*. Budapest; Akademiai Kiado
- 286.Szejtli, J. (1988). *Cyclodextrin Technology*. Dordrecht-Boston-London: Kluwer Academic Publ.
- 287.Szejtli, J. (1991). Cyclodextrins in drug formulations: Part I. *Pharm. Tech.*; **6**:36-44
- 288.Szejtli, J. (1998). Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry.*Chem. Rev.*, **98**, 1743-1753.
- 289.Szejtli, J., (2004). Past, present, and future of cyclodextrin research. *Pure Appl. Chem.*, **76 (10)**, 1825–1845
- 290.Szente, J. ve Szejtli, J. (1999). Highly soluble cyclodextrin derivatives: chemistry, properties, and trends in development. *Adv Drug Deliver Rev*; **36**: 17–28.
- 291.Şahin, J. (1998). Sulfonamidlerin siklodekstrinler He çözünme hızı ve biyoyararlanımlarının artırılması üzerinde çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- 292.Şenel, S. ve Hıncal, A.A. (1995). Bukkal mukoza ve ilaç uygulamasındaki yeri. *FABAD, J Pharm Sci*. **20**, 139-148.
- 293.Takeuchi, H., Yamamoto, H., Niwa, T., Hino, T. ve Kawashima, Y. (1996). Enteral Absorption of Insulin in Rats from Mucoadhesive Chitosan-Coated Liposomes *Pharm. Res.*, **13**, 896–901.
- 294.Talukdar, M., Van der Mooter, G. ve Augustijus, P. (1998). In vivo evaluation of xanthan gum as a potential excipient for oral controlled-release matrix tablet formulation. *Int. J. Pharm.*, **169**, 105–113.
- 295.Taneri, F. (2004). Bazı antimikrobiyal maddelerin siklodekstrin komplekslerinin hazırlanması ve bunların farmasötik formülasyonlarda kullanımı. Doktora Tezi, İzmir: Ege üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
- 296.Tarımcı, N. ve Çelebi, N. (1988). Studies on cydodextrin polymer, *Pharmazie*, **43**, 323-325.

297. Teshima, D., Otsubo, K., Higuchi, S., Hirayama, F., Uekama, K. ve Aoyama, T. (1989) Effects of Cyclodextrins on Degradations of Emetine and Cephaeline in Aqueous Solution. *Chem. Pharm. Bull.*, **37(6)**, 1591-1594.
298. Thompson, D.O., (1997). Cyclodextrins-enabling excipients: their present and future use in pharmaceuticals. *Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst.* **14**: 1–104.
299. Thuaud, N., Seville, B., Deratani, A., ve Lelievre, G. (1990). Determination by high-performance liquid chromatography of the binding properties of charged β -cyclodextrin derivatives with drugs. *J. Chromatogr.*, **503 (2)**, 453–458.
300. Tomono, K., Gotoh, H., Okamura, M., Horioka, M., Ueda, H. ve Nagai, T. (1991). Effect of β -cyclodextrins on sustained release of nitroglycerin from ointment bases. *Yakuzaigaku*, **51**, 22-28.
301. Toner, J.P. (2000). Vaginal delivery of progesterone in donor oocyte therapy, *Hum. Reprod.* **15**, 166–171
302. Totterman, A.M., Schipper, N.G.M., Thompson, D.O. ve Mannermaa, J.P., (1997). Intestinal safety of water-soluble β -cyclodextrins in paediatric oral solutions of spironolactone: effects on human intestinal epithelial Caco-2 cells. *J. Pharm. Pharmacol.* **49**, 43–48.
303. Toxicological data, BETAW7 M1.8, Wacker-Chemie, München, 1997.
304. Tozak, H., Komoik, J., Tad, C., Maruyam, T., Terab, A., Suzuk, T. ve ark. (1997). Chitosan capsules for colon-specific drug delivery: Improvement of insulin absorption from the rat colon. *J. Pharm. Sci.*, **86(9)**, 1016 – 1021.
305. Tozaki, H., Fujita, T., Odoriba, T., Terabe, A., Okabe, S., Muranishi, S. ve ark. (1999). Validation of a pharmacokinetic model of colon-specific drug delivery and the therapeutic effects of chitosan capsules containing 5-aminosalicylic acid on 2,4,6-trinitrobenzenesulphonic acid-induced colitis in rats. *J. Pharm-Pharmacol.* **51(10)**, 1107-1112.

306. Tsai, T., Wu, J. S., Ho, H. O., Sheu, M. T. (1998). Modification of physical characteristics of microcrystalline cellulose by codrying with α -cyclodextrins, *J. Pharm. Sci.*, **87**(1), 117-122.
307. Tur, K.M. ve Ching, H.S. (1998). Evaluation of possible mechanism(s) of bioadhesion. *Int J Pharm* **160**, 61–74.
308. Ueda, H., Ou, D., Endo, T., Nagase, H. ve Nagai, T. (1997). Evaluation of a sulfobutyl ether β -cyclodextrin as a solubilizing/ stabilizing agent for several drugs. İçinde Symposium on Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins.
309. Uekama, K. (1985). Pharmaceutical applications of methylated cyclodextrins. *Pharm. Int.*, **3**, 61-65.
310. Uekama, K. ve Otagiri, M. (1987). Cyclodextrins in drug carrier systems. *CRC, Crit. Rev. In Ther. Drug Carr Syst.* ; **3**:1-40
311. Uekama, K., Adachi, H., Irie, T., Yano, T. ve Saita, M. (1992). Improved transdermal delivery of prostaglandin E 1 through hairless mouse skin: combined use of carboxymethyl-ethyl- β -cyclodextrin and penetration enhancers. *J Pharm Pharmacol*, **44**, 119–121.
312. Uekama, K., Hieda, Y., Hirayama, F., Arima, H., Sudoh, M., Yagi, A. ve ark. (2001). Stabilizing and solubilizing effects of SBE- β -CD on prostaglandin E₁ analogue, *Pharm. Res.*, **18** (11), 1578-1585.
313. Uekama, K., Hirayama, F. ve Arima, H. (2006). Pharmaceutical Applications Of Cyclodextrins And Their Derivatives. İçinde H. Dodziuk (Ed.). *Cyclodextrins And Their Complexes*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 381-422.
314. Uekama, K., Hirayama, F. ve Irie, T. (1998). Cyclodextrin Drug Carrier Systems. *Chem. Rev.*, **98**, 2045-2076.
315. Uekama, K., Oh, K., Irie, T., Otagiri, M., Nishimiya, Y. ve Nara, T. (1985). Stabilization of isosorbide 5-mononitrate in solid state by β -cyclodextrin complexation. *Int. J. Pharm.*, **25** (3), 339–346.

316. Uekama, K., Oh, K., Otagiri, M., Seo, H. ve Tsuruoka, M. (1983). Improvement of some pharmaceutical properties of clofibrate by cyclodextrin complexation. *Pharm. Acta Helv.*, **58 (12)**, 338–342
317. Uekama, K., Otagiri, M., Sakai, A., Irie, T., Matsuo, N. ve Matsuoka, Y. J. (1985). Improvement in the percutaneous absorption of beclomethasone dipropionate by gamma-cyclodextrin complexation. *Pharm. Pharmacol.*, **37**, 532.
318. Utsuki, T., Hirayama, F. ve Uekama, K. (1993). Different photodimerization behavior of tranilast in α -, β - and γ -cyclodextrin complexes: Cavity-size and stoichiometry dependence. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 109-114.
319. Utsuki, T., Imamura, K., Hirayama, F. ve Uekama, K. (1993). Stoichiometry-dependent changes of solubility and photoreactivity of an antiulcer agent, 2'-carboxymethoxy-4, 4'-bis (3-methyl-2-butenyloxy) chalcone, in cyclodextrin inclusion complexes. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **1**, 81-87.
320. Valenta, C. (2005). The use of mucoadhesive polymers in vaginal delivery. *Adv Drug Del Rev.* **57**, 1692-1712
321. van Dorne, H. (1993). Interaction between cyclodextrins and ophthalmic drugs. *Eur J Pharm Biopharm*, **39**, 133–139.
322. Vanden Bossche, H., Koymans, L. ve Moereels, H. (1995). P450 inhibitors of use in medical treatment: Focus on mechanisms of action. *Pharmacol Therapeut*, **67(1)**, 79-100
323. Varmesh, M. (1988). Vaginal bromocriptine: pharmacology and effect on serum prolactin in normal women. *Obstet. Gynecol.* **72**, 693–698.
324. Vermani, K., Garg, S. ve Zaneveld, L.J. (2002). Assemblies for in vitro measurement of bioadhesive strength and retention characteristics in simulated vaginal environment. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **28(9)**, 1133–1146.
325. Vidgren, P., Vidgren, M. ve Arppe, J. (1992). In vitro evaluation of spraydried mucoadhesive microspheres for nasal administration. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **18(5)**, 581–597.

- 326.Vincieri, F.F., Mulinacci, N., Mazzi, G., Coran, S.A. ve Bambagiotti-Alberti, M. (1988).Stabilization of tinctures with cyclodextrins: a tincture from the fruits of *Oenanthe aquatica* L. *Int. J. Pharm*, **48 (1-3)**, 119-124.
- 327.Vukovich, R.A., Heald, A. ve Darragh, A. (1977). Vaginal absorption of two imidazole anti-fungal agents, econazole and miconazole. *Clin. Pharmacol. Ther.* **21**, 121– 125.
- 328.Wade, A. ve Weller, P. J. (1994). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. The Pharmaceutical Press, 2ndEd. London: American Pharmaceutical Association, , p. 145-148
- 329.Wagner, G. ve Levin, R.J. (1978). Vaginal Fluid. İçinde E.S.E. Hafez ve T.N. Evans (Eds.). *Human Reproductive Medicine: The Human Vagina*. New York: North-Holland Publishing, Elsevier; 121-137.
- 330.Wassen, L., Schon, K., Holmgren, L., Jerborn, M. ve Lycke, N. (1996). Local intravaginal vaccination of the female genital tract. *Scand. J. Immunol.* **44**, 408–414.
331. Weiszfeiler, V. ve Szejtli, J. (1988).Bitterness reduction with β -cyclodextrin. İçinde Huber, O., Szejtli, J., (Eds.); *Proceedings of 4th International Symposium of Cyclodextrins*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers; 359–366.
- 332.Williams, P.L., Warwick, R., Dyson, M. ve Bannister, L.H. (1989). *Gray's Anatomy*, 36th Ed, London: Churchill Livingstone
- 333.Woestenborgh, R., Lorreyne, W. ve Heykants, J. (1987). Determination of itraconazole in plasma and animal tissues by high-performance liquid *J. Chromatogr.*, **413**, Biomed. Appl., 332-337
- 334.Woodley, J. (2001). Bioadhesion, new possibilities for drug administration? *Clin. Pharmacokinet.* **40(2)**, 77-84.
- 335.Woolfson A.D., Malcolm R.K. ve Gallagher, R. (2000). Drug delivery by the intravaginal route. *Crit. Rev. in Ther. Drug Carr Syst.*, **17**, 509-555.

336. Woolfson, A.D., McCafferty, D.F. ve McCarron, P.A. (1995). Bioadhesive patch cervical drug delivery system for the administration of 5-fluorouracil to cervical tissue. *J. Control. Release.*, **35**, 49–58.
337. Wu, J., Ho, H. ve Sheu, M. (2001). Influence of wet granulation and lubrication on the powder and tableting properties of codried product of microcrystalline cellulose with p-cyclodextrin, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **51** (1), 63-69.
338. Yalkowsky, S. H. (1999). *Solubility and Solubilization in Aqueous Media*. Washington, DC: American Chemical Society.
339. Yamamoto, M., Aritomi, H., Irie, T., Hirayama, F. ve Uekama, K. (1991). Biopharmaceutical evaluation of maltosyl- β -cyclodextrin as a parenteral drug carrier. *S.T.P. Pharma Sci.*, *1*, 397-402.
340. Yamamoto, M., Hirayama, F. ve Uekama, K. (1992). Improvement of stability and dissolution of prostaglandin E1 by maltosyl β -cyclodextrin in lyophilized formulation. *Chem. Pharm. Bull.*, **40** (3), 747–751.
341. Yamashita, A., Oshima, S., Matsuo, K., Ito, K., Ito, A. ve Mori, Y. (1991). Pharmacological studies of intravaginally applied dehydroepiandrosterone sulfate. *Folia Pharmacol. Jpn.* **98**, 31–39.
342. Yoshida, A., Yamamoto, M., Irie, T., Hirayama, R. ve Uekama, M. (1989). Some pharmaceutical properties of 3-hydroxypropyl- and 2,3-dihydroxypropyl-p-cyclodextrins and their solubilizing and stabilizing abilities. *Chem. Pharm. Bull.*, **37**:1059-1062.
343. Yu, L. X., Carlin, A.S., Amidon, G. L. ve Hussain, A.S. (2004). Feasibility studies of utilizing disk intrinsic dissolution rate to classify drugs. *Int. J. Pharm.*, **270**; 221–227.
344. Yu-Kyoung, O., Jeong-Sook, P., Ho, Y. ve Chong-Kook, K. (2003). Enhanced mucosal and systemic immune responses to a vaginal vaccine coadministered with RANTES expressing plasmid DNA using in situ-gelling mucoadhesive delivery system. *Vaccine.*, **21**, 1980–1988.

345. Zimmer, A.K., Chetoni, P. ve Saettone, M.F. (1995). Evaluation of pilocarpine- loaded albumin particles as controlled drug delivery systems for the eye. II: Co-administration with bioadhesive and viscous polymers. *J Cont Rel.*, **33**, 31-46.
346. Zuckerman, J.M. ve Tunkel, A.R. (1994). Itraconazole: a new triazole antifungal agent. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **15**, 397-410.
347. Zung, J.B., Pena, A.M., Ndou, T.T. ve Warner, I.M. (1991). Influence of alcohol addition on the γ -CD: pyrene complex. *J. Phys. Chem.*, **95**, 6701-6709.

HAM VERİLER

FORMLAR

ETİK KURUL KARARI

PATENT HAKKI İZNİ

TELİF HAKKI İZİNİ

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	AYŞE	Soyadı	AÇMA
Doğ.Yeri	KDZ. EREĞLİ	Doğ.Tar.	02.01.1984
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	41494595146
Email	ayseacma@istanbul.edu.tr	Tel	05362202420

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	İstanbul Üniversitesi eczacılık Fakültesi	2006
Lise	Beyoğlu Anadolu Lisesi	2002

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
.	Araştırma Görevlisi	İstanbul Üniversitesi	2008-
.	Yardımcı Eczacı	Alemdar Eczanesi	2007-2008

.		-
---	--	---

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Fotoğraf çekmek

