



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**NARKOTİK ANTAGONİST BİR ETKİN MADDEİNİN  
UZATILMIŞ SALIM YAPAN ENJEKTE EDİLEBİLİR  
İN SİTU İMPLANT FORMÜLASYONLARININ  
TASARIMI VE İN VİTRO KARAKTERİZASYONU**

**Sevgi TEKTAŞ**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Nilüfer YÜKSEL**

**ANKARA  
2022**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NARKOTİK ANTAGONİST BİR ETKİN MADDEİNİN  
UZATILMIŞ SALIM YAPAN ENJEKTE EDİLEBİLİR  
İN SİTU İMPLANT FORMÜLASYONLARININ  
TASARIMI VE İN VİTRO KARAKTERİZASYONU**

**Sevgi TEKTAŞ**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Nilüfer YÜKSEL**

**ANKARA  
2022**

## ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Narkotik Antagonist Bir Etkin Maddenin Uzatılmış Salım Yapan Enjekte Edilebilir İn Situ İmplant Formülasyonlarının Tasarımı ve İn Vitro Karakterizasyonu” başlıklı tez, bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Sevgi TEKTAŞ

17.06.2022

İmza

## KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalında

Sevgi TEKTAŞ tarafından hazırlanan ‘‘Narkotik Antagonist Bir Etkin Maddenin Uzatılmış Salım Yapan Enjekte Edilebilir İn Situ İmplant Formülasyonlarının Tasarımı ve İn Vitro Karakterizasyonu’’ adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/ OY ÇOKLUĞU ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 17.06.2022

İmza

Prof. Dr. Nurten Özdemir

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

İmza

Prof. Dr. Nilüfer YÜKSEL

Ankara Üniversitesi

İmza

Prof. Dr. İsmail Tuncer DEĞİM

Biruni Üniversitesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Prof. Dr. Fügen AKTAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

# İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	ix
Simgeler ve Kısaltmalar	x
Şekiller	xii
Çizelgeler	xv
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. İmplantların Tarihi	5
1.2. İmplantların Taşınması Gereken Özellikler	6
1.3. İmplantların Avantajları	6
1.4. İmplantların Dezavantajları	7
1.5. İmplantasyon Teknikleri	7
1.6. Uygulama Bölgeleri	8
1.7. İmplant Tipleri	9
1.7.1. Pasif İmplantlar	10
1.7.1.1. Biyolojik Olarak Parçalanamayan Polimerlerden Oluşan İmplantlar	11
1.7.1.2. Biyolojik Olarak Parçalanabilen Polimerlerden Oluşan İmplantlar	12
1.7.2. Dinamik İmplantlar	13
1.7.2.1. Ozmotik Pompalar	14
1.7.2.2. İnfüzyon Pompaları	14
1.7.3. Elektromekanik Sistemler	15
1.8. İn situ Oluşan İmplantlar	15
1.8.1. İn situ Oluşan İmplantların Sınıflandırılması	17
1.8.1.1. Termoplastik Pastalar	17
1.8.1.2. İn situ Çapraz Bağlanan Sistemler	18
1.8.1.3. Organojeller	20
1.8.1.4. İn situ Presipitasyon	21
1.8.2. İmplantlardan Etkin Madde Salımı	26
1.8.3. Ticari Olarak Piyasada Bulunan İn Situ Oluşan Jel Preparatları	28
1.9. Naltrekson	29
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>48</b>
2.1. Kullanılan Aletler ve Malzemeler	48
2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	49
2.3. Çalışmalarda Kullanılan Ortamların Bileşimi ve Hazırlanması	50
2.4. Naltreksonun Miktar Tayini Yöntemlerinin Geliştirilmesi	51
2.4.1. Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Salım Ortamında HPLC Analizi	51
2.4.2. Naltreksonun HPLC ile pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında Standart Doğrularının Hazırlanması	51

2.4.3.	Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında ve Etanol İçinde UV Spektrofotometre ile Analizi	52
2.4.4.	Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında ve Etanol İçinde UV Spektrofotometri ile Standart Doğrularının Hazırlanması	52
2.5.	Benzil Alkolün Miktar Tayini Yöntemlerinin Geliştirilmesi	52
2.5.1.	Benzil Alkolün pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında HPLC Analizi	52
2.5.2.	Benzil Alkolün HPLC ile pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında Standart Doğrularının Hazırlanması	53
2.6.	Laktik Asidin Miktar Tayini Yöntemlerinin Geliştirilmesi	53
2.6.1.	Laktik Asidin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında HPLC Analizi	53
2.6.2.	Laktik Asidin HPLC ile pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında Standart Doğrularının Hazırlanması	53
2.7.	Miktar Tayini Yöntemlerinin Analitik Validasyonları	54
2.8.	Naltrekson ve D,L-Polilaktik asidin (PDLLA) Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi	58
2.8.1.	Diferansiyel Termal Analiz (DTA) ve Termogravimetrik (TGA) Analiz	58
2.8.2.	Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre (FT-IR) ile Analiz	59
2.9.	Naltreksonun Formülasyonlarda Kullanılacak Çözücüler İçinde Çözünürlüğünün Belirlenmesi	59
2.10.	İn Situ Oluşan Jel Formülasyonlarının Geliştirilmesi	60
2.10.1.	Sıcaklık Değişimine Bağlı Olarak Jel Oluşumu İçin Hazırlanan Formülasyonlar	61
2.10.2.	Çözücü Göçü ile İn Situ Jel Oluşumu İçin Hazırlanan Formülasyonlar	61
2.11.	İn Situ Jel Oluşumu İçin Hazırlanan Formülasyonların İn Vitro Karakterizasyonu	66
2.11.1.	Naltreksonun Polimer Çözeltileri İçinde Çözünme Süresi	66
2.11.2.	İn vitro Etkin Madde Salım Çalışmaları	67
2.11.3.	Salım Kinetiklerinin Belirlenmesi	68
2.12.	Başlangıç Hızlı Salımın Azaltılması İçin Çalışmalar	69
2.12.1.	Polimer Kombinasyonları	70
2.12.2.	Hidrofobik Çözücü/Çözücü Kombinasyonları	71
2.12.3.	Yardımcı Maddelerin Kullanımı	72
2.13.	Sonuç Formülasyonunun Seçilmesi	73
2.13.1.	F12-2 Formülasyonunun İn Vitro Karakterizasyon Çalışmaları	74
2.13.1.1.	Naltrekson ve Polimer Etkileşimlerinin Diferansiyel Termal Analiz (DTA)	74
2.13.1.1.	F12-2 Formülasyonunun Viskozite Tayini	74
2.13.1.3.	Enjekte Edilebilirlik	74

2.13.1.4.	F12-2 Formülasyonunun Morfolojisinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntülenmesi	75
2.13.1.5.	İn vitro Salım Çalışmaları	76
2.13.1.6.	Çözücü Göçünün İncelenmesi	76
2.13.1.7.	Degradasyon Çalışmaları	76
2.13.1.8.	Stabilite	76
<b>3.</b>	<b>BULGULAR</b>	<b>78</b>
3.1.	Naltreksonun Miktar Tayini Yöntemlerinin Geliştirilmesi	78
3.1.1.	Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamındaki HPLC Analizi	78
3.1.2.	Naltreksonun HPLC ile pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında Standart Doğrularının Hazırlanması	79
3.1.3.	Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında ve Etanol İçinde UV Spektrofotometre ile Analizi	80
3.1.4.	Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ve Etanol Ortamında UV Spektrofotometri Standart Doğrularının Hazırlanması	81
3.2.	Benzil Alkolün Miktar Tayini Yöntemlerinin Geliştirilmesi	82
3.2.1.	Benzil Alkolün pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında HPLC Analizi	82
3.2.2.	Benzil Alkolün HPLC ile pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında Standart Doğrularının Hazırlanması	83
3.3.	Laktik Asit için Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesi	84
3.3.1.	Laktik Asidin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında HPLC Analizi	84
3.3.2.	Laktik Asidin HPLC ile pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında Standart Doğrularının Hazırlanması	85
3.4.	Miktar Tayini Yöntemlerinin Analitik Validasyonları	86
3.5.	Naltrekson ve PDLLA'nın Fizikokimyasal Özelliklerine Ait Bulgular	93
3.5.1.	DTA ve TGA Bulguları	93
3.5.2.	FT-IR ile Analiz Bulguları	94
3.6.	Naltreksonun Formülasyonlarda Kullanılacak Çözücüler İçinde Çözünürlüğünün Belirlenmesi	95
3.7.	İn Situ Jel Oluşturan Formülasyonların Geliştirilmesi	96
3.7.1.	Sıcaklık Değişimi ile Jelleşen Sistemler	96
3.7.2.	Çözücü Göçü ile İn Situ Jel Oluşumu İçin Hazırlanan Formülasyonlar	96
3.7.3.	Salım Kinetiklerinin Belirlenmesi	101
3.8.	Başlangıç Hızlı Salımın Azaltılması İçin Çalışmalar	103
3.8.1.	Polimer Kombinasyonları	103
3.8.2.	Hidrofobik Çözücü/Çözücü Kombinasyonları	104
3.8.3.	Yardımcı Maddelerin Kullanımı	105
3.9.	Sonuç Formülasyonunun Seçilmesi	106

3.10.	Sonuç Formülasyonun İn Vitro Karakterizasyon Çalışmaları	107
3.10.1.	Naltrekson ve Polimer Etkileşimlerinin DTA ve FT-IR ile İncelenmesi	107
3.10.2.	Seçilen Formülasyonun Viskozite Tayini	109
3.10.3.	Enjekte Edilebilirlik	109
3.10.4.	Seçilen Formülasyonun Morfolojisinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntülenmesi	109
3.10.5.	İn vitro Salım Çalışmaları	110
3.10.6.	Çözücü Göçünün İncelenmesi	111
3.10.7.	Degradasyon Çalışmaları	112
3.10.8.	Stabilite	112
<b>4.</b>	<b>TARTIŞMA</b>	115
4.1.	Naltreksonun Miktar Tayini Yöntemlerinin Geliştirilmesine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	115
4.1.1.	Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında HPLC Analizi	115
4.1.2.	Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında ve Etanol içinde UV Spektrofotometri ile Analizi	115
4.1.3.	Benzil Alkolün pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında HPLC Analizi	116
4.1.4.	Laktin Asidin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında HPLC Analizi	116
4.2.	Miktar Tayini Yöntemlerinin Analitik Validasyonlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi	117
4.3.	Etkin Madde ve Polimer Etkileşimlerinin Diferansiyel Termal Analiz (DTA) ve Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) ile İncelenmesine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	120
4.4.	Naltreksonun Formülasyonlarda Kullanılacak Çözücüler İçinde Çözünürlüğünün Belirlenmesine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	121
4.5.	İn Situ Oluşan Jel Formülasyonlarının Geliştirilmesine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	122
4.5.1.	Sıcaklık Değişimine Bağlı Olarak Jel Oluşumu İçin Hazırlanan Formülasyonlar	122
4.5.2.	Çözücü Göçü ile İn Situ Jel Oluşumu İçin Hazırlanan Formülasyonlar	123
4.6.	İn situ Oluşan Jellerin İn Vitro Karakterizasyonuna İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	127
4.6.1.	Naltreksonun Polimer Çözeltileri İçinde Çözünme Süresi	127
4.6.2.	Salım Kinetiği Bulgularının Değerlendirilmesi	127
4.7.	Başlangıç Hızlı Salımın Azaltılması İçin Yapılan Çalışmalar İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	129
4.8.	Sonuç Formülasyonun Seçilmesi ve İn vitro Karakterizasyonuna İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	132
4.8.1.	Naltrekson ve Polimer Etkileşimlerinin Diferansiyel Termal Analiz (DTA) ve Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi (FT-IR) ile İncelenmesi	133

4.8.2.	Seçilen Formülasyonun Viskozite Tayini ve Enjekte Edilebilirliği	133
4.8.3.	Seçilen Formülasyonun Morfolojisinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntülenmesi	134
4.8.4.	İn vitro Salım Çalışmaları	135
4.8.5.	Çözücü Göçünün İncelenmesi	136
4.8.6.	Degradasyon Çalışmaları	136
4.8.7.	Stabilite Bulgularının Değerlendirilmesi	137
<b>5.</b>	<b>SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>139</b>
	<b>ÖZET</b>	<b>142</b>
	<b>SUMMARY</b>	<b>143</b>
	<b>KAYNAKLAR</b>	<b>144</b>
	<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>158</b>



## ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında opioid ve alkol bağımlıları için ilaç alma sorumluluğunun yüklenmediği ve bir ay süresince sabit bir etkin plazma konsantrasyonunun sağlanabildiği bir dozaj formu geliştirme amacıyla çalışmalar yürütülmüştür. Bu amaçla subkütan enjeksiyon yoluyla uygulanan in situ oluşan jel formülasyonları geliştirilmiştir.

Yüksek lisans eğitimim süresince engin bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle bana yol gösteren, her zaman anlayışlı olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, projemin bilimsel çerçeve ve etik içinde tamamlanmasını sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nilüfer YÜKSEL'e,

Çalışmalarım süresince bilimsel deneyimlerini, bilgilerini ve ilgilerini benimle paylaşan, yol gösteren Prof. Dr. Nurten ÖZDEMİR ve Uzm. Ecz. Tuğrul Mert SERİM'e,

Süreç boyunca yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen hocalarım Doç. Dr. Zerrin SEZGİN BAYINDIR, Dr. Öğr. Üyesi Özge İNAL, Doç. Dr. Gülin AMASYA, Dr. Öğr. Üyesi Berrin KÜÇÜKTÜRKMEN, Dr. Ecz. Aslıhan Hilal ALGAN, Dr. Ecz. Umut Can ÖZ, Dr. Ecz. Özge EŞİM'e,

Tez çalışmamızda gereken kimyasal madde ve malzemenin temininde sağladıkları destek nedeniyle İSTEM İLAÇ KOZMETİK MEDİKAL TIBBİ CİHAZ SAVUNMA SANAYİ İTHALAT İHRACAT VE TİC. LTD. ŞTİ.'ne,

Desteklerini, sevgilerini ve gnenlerini her zaman hissettiren, her kararmda ve yaptığım her işte yanımda olan canım annem ve babam Fatma-Harun TEKTAŞ'a ve kardeşlerim Ezgi-Tuana TEKTAŞ'a çok teőekkür ederim.



## SİMGELER VE KISALTMALAR

%BSS	% Bağlı standart sapma
a/a	Ağırlık/ağırlık
a/h	Ağırlık/hacim
AIC	Akaike bilgi ölçütü
C	Konsantrasyon
C <sub>max</sub>	Maksimum terapötik konsantrasyon
dk	Dakika
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DTA	Diferansil termal analiz
EMA	European Medicine Agency
FDA	Food and Drug Administration
FT-IR	Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi
GABA	Gama aminobütirik asit
HCl	Hidroklorür
IR	Kızılötesi
K	Kısım
M	Molar
M <sub>n</sub>	Sayıca ortalama molekül ağırlığı
MS	Kütle Spektrometri
MSC	Model seçim kriteri
M <sub>w</sub>	Ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı
NMP	N-metil pirolidon
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
OSS	Ortalama standart sapma
P	Partisyon katsayısı
PBS	Fosfat tamponlu salin
PCL	Poli(ε-kaprolakton)
PDLLA	Poli(D, L-laktik asit)
PEG250DME	Poli(etilen glikol) dimetil eter (M <sub>n</sub> = 250)

PLGA	Poli(D, L-laktid- <i>ko</i> -glikolid)
PLGA-PEG-PLGA	Poli (D, L-laktid- <i>ko</i> -glikolid)- <i>blok</i> -poli(etilen glikol)- <i>blok</i> -poli(D,L-laktid- <i>ko</i> -glikolid)
$r^2$	Determinasyon katsayısı
s	Saat
s.c.	Subkütan
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SH	Standart hata
SS	Standart sapma
$t_{1/2}$	Yarılanma ömrü
TGA	Termogravimetrik Analiz
$T_{max}$	Maksimum konsantrasyona ulaşılan zaman noktası
UV	Ultraviyole

## ŞEKİLLER

Şekil 1.1	Amerika Birleşik Devletleri'nde 1999-2019 yılları arasında gerçekleşen aşırı doz opioid kullanımı sonucu gerçekleşen ölüm sayısı	2
Şekil 1.2	Yüksek riskli opioid kullanımının yaygınlığına ilişkin ulusal oran	3
Şekil 1.3	Avrupa ve Türkiye'de bağımlılık kaynaklı ölümlerin yaş dağılımı karşılaştırması	3
Şekil 1.4	FDA onaylı veya klinik deneme aşamasındaki implantların uygulama bölgeleri	8
Şekil 1.5	Matriks ve depo formunda implantların salım profilleri	11
Şekil 1.6	Polimer degradasyonunun şematik gösterimi	13
Şekil 1.7	Ozmotik pompadan etkin madde salımı. a) yarı geçirgen zardan yüksek tuz konsantrasyonunun olduğu ozmotik mekanizmaya ortamdan sıvı geçişi ve pistonun hareketiyle etkin maddenin açılan delikten çıkışı, b) yarı geçirgen bir membran ile sarılmış yüksek ozmojen tabakasının çevrelediği katı etkin madde deposundan etkin maddenin çözünerek delikten ortama salınması, c) Mesane kanseri tedavisi için kullanılan katı gemisitabin yüklü intravezikal GemRIS™ implant	14
Şekil 1.8	İn situ implant oluşumu mekanizmaları	17
Şekil 1.9	Polimer (PLGA) matriksi için etkin madde salımına yol açan fiziko-kimyasal mekanizmaların şematik gösterimi	28
Şekil 1.10	GABAerjik ve dopaminerjik nöronlar arasındaki etkileşimin şematik gösterimi; (a) uyuşturucu madde ve antagonist olmaması durumu, (b) sadece uyuşturucu madde olması durumu, (c) hem uyuşturucu hem de antagonist olması durumu	33
Şekil 1.11	Naltreksonun dünyada bulunan ruhsatlı preparatları. A) Vivitrol®, B) Prodetoxone®	34
Şekil 1.12	Naltreksonun 6-β-naltreksol'e metabolizasyonu	36
Şekil 1.13	A) Uygulanan dozun total plazma hacminde mevcut yüzde miktarı; B) Uygulanan dozun üriner yolla atılan yüzde miktarı	42
Şekil 2.1	F12-2 formülasyonunun salım ortamına enjeksiyonu sonucu oluşan yapı	67
Şekil 2.2	Farklı ölçeklerde hazırlanan F12-2 (5-7,5-10 g) formülasyonu	73
Şekil 2.3	Yapı analiz cihazı ile enjektörde edilebilirliğin ölçülmesi	75
Şekil 2.4	Etkin maddenin formülasyondan ekstraksiyon yöntemi	77
Şekil 2.5	Laktik asidin formülasyondan ekstraksiyon yöntemi	77
Şekil 3.1	Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) salım ortamında spektrumu	78
Şekil 3.2	Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında kromatogramı	78

<b>Şekil 3.3</b>	Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında HPLC ile belirlenen standart doğrusu ve denklemi	79
<b>Şekil 3.4</b>	Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında UV spektrumu	80
<b>Şekil 3.5</b>	Naltreksonun etanol içinde UV spektrumu	80
<b>Şekil 3.6</b>	Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında UV spektrofotometri ile belirlenen standart doğrusu ve doğru denklemi	81
<b>Şekil 3.7</b>	Naltreksonun etanol ortamında UV spektrofotometri ile belirlenen standart doğrusu ve denklemi	81
<b>Şekil 3.8</b>	Benzil alkolün farklı konsantrasyonları için pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında spektrumları	82
<b>Şekil 3.9</b>	Benzil alkolün pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında kromatogramı	82
<b>Şekil 3.10</b>	Benzil alkolün pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında HPLC ile belirlenen standart doğrusu ve denklemi	83
<b>Şekil 3.11</b>	Laktik asidin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında spektrumu	84
<b>Şekil 3.12</b>	Laktik asidin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında kromatogramı	84
<b>Şekil 3.13</b>	Laktik asidin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında HPLC ile belirlenen standart doğrusu ve denklemi	85
<b>Şekil 3.14</b>	Naltrekson ve benzil alkolün, belirlenen analiz şartlarında kromatogramları	86
<b>Şekil 3.15</b>	Benzil alkol, naltrekson ve laktik asidin, laktik asit için belirlenen analiz şartlarında kromatogramı	86
<b>Şekil 3.16</b>	Naltreksonun 37°C sıcaklıkta pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında konsantrasyon değişimi	92
<b>Şekil 3.17</b>	Naltreksonun DTA ve TGA termogramları	93
<b>Şekil 3.18</b>	PDLLA'nın DTA ve TGA termogramları	93
<b>Şekil 3.19</b>	<b>a)</b> Naltreksonun FT-IR spektrumu; <b>b)</b> Naltrekson'un literatürde yer alan FT-IR spektrumu	94
<b>Şekil 3.20</b>	<b>a)</b> PDLLA'nın FT-IR spektrumu; <b>b)</b> PDLLA'nın literatürde yer alan FT-IR spektrumu	94
<b>Şekil 3.21</b>	Naltreksonun farklı çözücüler içindeki çözünürlük değerleri	95
<b>Şekil 3.22</b>	Polimer oranına karar vermek için hazırlanan formülasyonların 14 gün ve ilk 24 saat süresince etkin madde salım profilleri (n=1)	97
<b>Şekil 3.23</b>	Naltreksonun çözüdüğü formülasyonlardan etkin madde salım profilleri (n=3)	98
<b>Şekil 3.24</b>	F10-1—F10-6 formülasyonlarından etkin madde salım profilleri (n=3)	99
<b>Şekil 3.25</b>	F12-1—F12-6 formülasyonlarından etkin madde salım profilleri (n=3)	99

<b>Şekil 3.26</b>	Farklı polimerler kullanılarak tasarlanan formülasyonların etkin madde salım profilleri (n=3)	100
<b>Şekil 3.27</b>	Geliştirilen tüm formülasyonlar için etkin maddenin polimer çözeltisinde çözünme süresi	101
<b>Şekil 3.28</b>	F10-1—F10-6 ve F12-1—F12-6 formülasyonlarının 4s ve 24 s'lik salım bulguları	103
<b>Şekil 3.29</b>	PLGA 85:15 (n=3) ve PCL (n=1) polimerleri ile PDLLA polimerinin kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonlardan etkin madde salım profilleri	104
<b>Şekil 3.30</b>	Benzil alkol, etil benzoat ve benzil benzoat kombinasyonunu içeren formülasyonlardan etkin madde salım profilleri (n=3)	105
<b>Şekil 3.31</b>	Stearik asit, PEG4000 ve hidroksi propil selüloz içeren formülasyonlardan etkin madde salım profilleri (n=1)	106
<b>Şekil 3.32</b>	Üç farklı ölçekte hazırlanan F12-2 formülasyonuna ait viskozite grafiği	107
<b>Şekil 3.33</b>	F12-2 formülasyonuna ait termogramın etkin madde ve PDLLA termogramı ile karşılaştırması	108
<b>Şekil 3.34</b>	(a) F12-2 formülasyonu, (b) Naltrekson ve PDLLA'nın fiziksel karışımı, (c) PDLLA ve (d) naltreksonun FT-IR spektrumları.	108
<b>Şekil 3.35</b>	Boş polimer çözeltisi ve F12-2 formülasyonuna ait viskozite grafikleri	109
<b>Şekil 3.36</b>	F12-2 formülasyonuna ait SEM görüntüleri; a) 2. gün, b) 7. gün, c) 14. gün, d) 21. gün, e) 28. gün, f) 35. gün	110
<b>Şekil 3.37</b>	F12-2 formülasyonundan etkin madde salım profili ve hedef salım profili (n=3)	111
<b>Şekil 3.38</b>	Benzil alkolün çıkış profili (n=3)	111
<b>Şekil 3.39</b>	PDLLA'nın in vitro salım hızı ortamında degradasyon profili (n=3)	112
<b>Şekil 3.40</b>	F12-2 formülasyonunun stabilite deneyinde 0, 30, 60 ve 90. günlere ait viskozite değerleri	113
<b>Şekil 3.41</b>	Stabilite çalışmaları sonucu 0, 30, 60 ve 90. günlerde tespit edilen etkin madde ve PDLLA miktarı	113
<b>Şekil 3.42</b>	F12-2 formülasyonunun $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 'deki 0, 30, 60 ve 90. günlere ait termogramı	114
<b>Şekil 3.43</b>	F12-2 formülasyonunun $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 'deki 0, 30, 60 ve 90. günlere ait termogramı	114

## ÇİZELGELER

<b>Çizelge 1.1</b>	Biyolojik olarak parçalanır ve biyolojik olarak parçalanır olmayan polimerlere örnekler	27
<b>Çizelge 1.2</b>	İn situ oluşan jellerde sıklıkla kullanılan polimerler ve özellikleri	39
<b>Çizelge 1.3</b>	İn situ oluşan jellerin hazırlanmasında sıklıkla kullanılan çözücüler ve özellikleri	40
<b>Çizelge 1.4</b>	Ticari olarak piyasada bulunan in situ oluşan jel preparatları	41
<b>Çizelge 1.5</b>	Dünyada yer alan diğer preparatlar	
<b>Çizelge 1.6</b>	Naltreksonun farmakokinetik özellikleri	52
<b>Çizelge 2.1</b>	Farklı yöntemlerle ve farklı ortamlarda yapılan analitik çalışmaların validasyonları için uygulama koşulları	72
<b>Çizelge 2.2</b>	Formülasyon bileşenleri	76
<b>Çizelge 2.3</b>	PLGA-PEG-PLGA kopolimeri içeren formülasyonlar	76
<b>Çizelge 2.4</b>	Çözücü göçü ile in situ jel oluşumu için kullanılan polimerler	77
<b>Çizelge 2.5</b>	Formülasyon bileşimleri ve oranları	78
<b>Çizelge 2.6</b>	F10 formülasyonunun farklı seviyelerde polimer ve çözücü miktarları ile geliştirilmiş tasarımı	79
<b>Çizelge 2.7</b>	F10-1 – F10-6 formülasyonlarının bileşim ve oranları	79
<b>Çizelge 2.8</b>	F12 formülasyonunun farklı seviyelerde polimer ve çözücü miktarları ile geliştirilmiş tasarımı	80
<b>Çizelge 2.9</b>	F12-1 – F12-6 formülasyonlarının bileşim ve oranları	80
<b>Çizelge 2.10</b>	Farklı polimerler ile formülasyon tasarımı	81
<b>Çizelge 2.11</b>	Farklı polimer kombinasyonları kullanılarak tasarlanan formülasyonlar	85
<b>Çizelge 2.12</b>	Farklı çözücü-çözücü kombinasyonları içeren formülasyonlar	86
<b>Çizelge 2.13</b>	Yardımcı maddelerin kullanımı ile hazırlanan formülasyonlar	87
<b>Çizelge 2.14</b>	F12-2 formülasyonunun bileşimi	87
<b>Çizelge 3.1</b>	Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında HPLC ile tayini için geliştirilen yöntemin koşulları	94
<b>Çizelge 3.2</b>	Benzil alkolün pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında HPLC ile tayini için geliştirilen yöntemin koşulları	98
<b>Çizelge 3.3</b>	Laktik asitin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında HPLC ile tayini için geliştirilen yöntemin koşulları	100
<b>Çizelge 3.4</b>	Naltrekson, benzil alkol ve laktik asidin UV spektrofotometri ve HPLC ile miktar tayini için geliştirilen analitik yöntemlerin doğruluk ve aralığı ile standart doğrulara ait istatistiksel bulgular	102

<b>Çizelge 3.5</b>	Naltrekson, benzil alkol ve laktik asidin UV spektrofotometri ve HPLC ile miktar tayini için geliştirilen analitik yöntemlerin doğruluğuna ilişkin bulgular	103
<b>Çizelge 3.6</b>	Naltrekson, benzil alkol ve laktik asidin UV spektrofotometri ve HPLC ile miktar tayini için geliştirilen analitik yöntemlerin kesinliğine ilişkin bulgular	104
<b>Çizelge 3.7</b>	Geliştirilen HPLC yöntemlerinin teşhis ve tayin sınırları	104
<b>Çizelge 3.8</b>	Geliştirilen UV spektrofotometre yöntemlerinin teşhis ve tayin sınırları	105
<b>Çizelge 3.9</b>	HPLC yöntemi için sistem uygunluk testinin sonuçları	106
<b>Çizelge 3.10</b>	F1-F12 formülasyonlarına ait karakterizasyon bulguları	111
<b>Çizelge 3.11</b>	F10-1—F10-6 formülasyonlarına ait karakterizasyon bulguları	113
<b>Çizelge 3.12</b>	F12-1—F12-6 formülasyonlarına ait karakterizasyon bulguları	113
<b>Çizelge 3.13</b>	Farklı polimerler kullanılarak tasarlanan formülasyonlara ait karakterizasyon bulguları	115
<b>Çizelge 3.14</b>	F10-1—F10-6 ve F12-1—F12-6 formülasyonlarına ait kinetik model bulguları	116
<b>Çizelge 3.15</b>	PDLLA'nın farklı polimerler ile kombinasyonlarını içeren formülasyonlar	119
<b>Çizelge 3.16</b>	Farklı çözücüleri içeren formülasyonlara ait bulgular	120
<b>Çizelge 3.17</b>	Stearik asit, PEG4000 ve hidroksi propil selüloz içeren formülasyonlara ait bulgular	121
<b>Çizelge 3.18</b>	Etkin maddenin stabilite çalışmaları sonucu 0, 30, 60 ve 90. günlere ait viskozite, enjekte edilebilirlik, etkin madde ve laktik asit miktarı bulguları	127

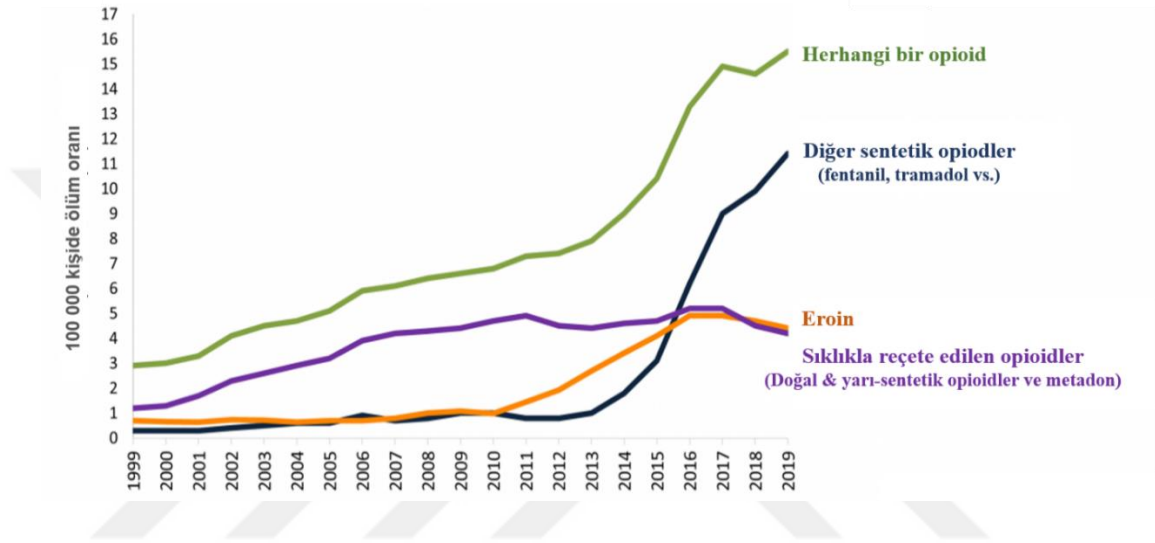
# 1. GİRİŞ

Bağımlılık, olumsuz sonuçlarına rağmen ruh halini değiştiren maddelerin/davranışların sürekli kullanımı olarak tanımlanmaktadır (Angres ve Bettinardi–Angres, 2008).

Opioidler bilinen en güçlü analjezik grubu olup relaksasyon ve öforiyi indüklemektedir. Bu nedenle morfin, eroin ve reçeteli opioid grubu etkin maddeleri içeren ilaçlar yüksek oranda kötüye kullanım potansiyeline sahiptir. Bağımlılığın temelinde ise artan insan bağışıklık yetmezliği virüsü (HIV) riski, ölüm, suç, işsizlik ve insanlar arası problemler gibi çok sayıda sağlık problemleri ve sosyal problemler yatmaktadır. Çok hızlı bir şekilde gerçekleşen tolerans neticesinde kontrolsüz kullanım başlamakta ve bunu yoksunluk semptomlarını azaltmak için daha fazla kullanımın takip etmesiyle opioid bağımlılığı ortaya çıkmaktadır. Tolerans geliştikçe öforik hisler kaybolurken disfori gelişmekte, yoksunluk sendromu ise devam etmektedir. Bu sebeple opioid bağımlılığı "kronik, nükseden bir hastalık" olarak tasvir edilmektedir (Veilleux ve ark., 2010; Wang ve ark., 2019).

Opioid ve alkol bağımlılığı ciddi bir sağlık sorunudur. Dünya çapında yaklaşık 275 milyon kişi, yani 15-64 yaş arası küresel nüfusun yaklaşık yüzde 5,6'sı 2016'da en az bir kere uyuşturucu madde kullanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre sadece 2015 yılında uyuşturucu kullanımının bir sonucu olarak yaklaşık 450 000 kişi ölmüş, bu ölümlerden 167 750'si doğrudan uyuşturucu kullanım bozuklukları (çoğunlukla aşırı doz) ile ilişkiliyken opioidler, bu ölümlerin %76'sı ile ilişkilendirilmiştir (United Nations Office on Drugs and Crime, 2018). Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi'ne (CDC) göre ise Amerika'da 1999 yılından bugüne yaklaşık olarak 841 000 kişi ölmüş bu ölümlerin %70,6'sının opioid kaynaklı olduğu belirtilmiştir. 1999 yılından 2019 yılına kadar opioid kaynaklı ölümler altı kat artmıştır. Sadece 2019 yılında 49 860 kişi aşırı doz opioid kullanımı nedeniyle ölmüştür ve bu sayı Şekil 1.1'de de görüldüğü üzere giderek artmaktadır (Center for Disease Control and Prevention, 2022). Amerika

Sağlık ve İnsan Hizmetleri Bakanlığı 2017 yılında acil durum ilan etmiş ve tedavi gören kişi sayısında 2017'den 2019'a %142; 1997'den 2011 yılına kadar ise % 900'lük bir artış olmuştur (Degenhardt ve ark., 2013; Kolodny ve ark., 2015; World Drug Report, 2018; United States Department of Health and Human Services, 2022) Tedavide temel amaç, genellikle yoksunluk sendromu ve takibinde tekrar kullanma isteğini hafifletmek/bastırmaktır.

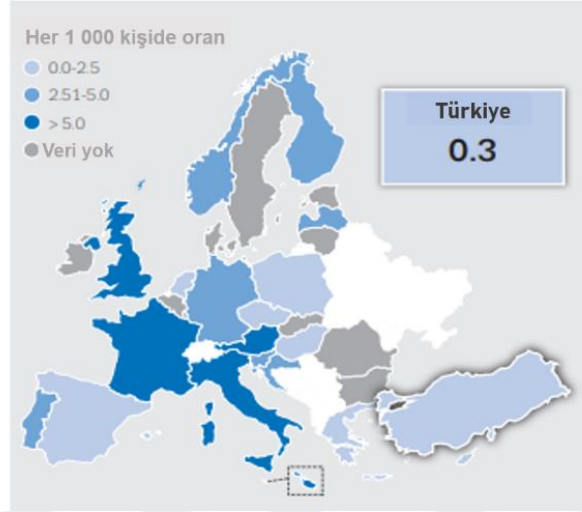


**Şekil 1.1.** Amerika Birleşik Devletleri'nde 1999-2019 yılları arasında gerçekleşen aşırı doz opioid kullanımı sonucu gerçekleşen ölüm sayısı (Center for Disease Control and Prevention, 2022).

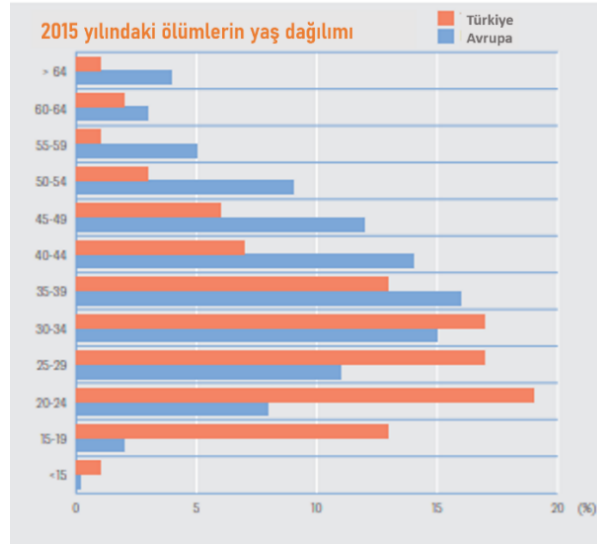
Alkolizm genetik, psikososyal ve çevresel faktörler tarafından ortaya çıkışı ve gelişimi etkilenen kronik bir hastalıktır (American Psychological Association, 2022). Sürekli veya periyodik olarak içme üzerinde kontrol bozukluğu, alkolle meşgul olma, olumsuz sonuçlara rağmen alkol kullanımı ve en önemlisi inkâr olmak üzere düşünce çarpıklıkları ile karakterizedir (Angres ve Bettinardi–Angres, 2008). Alkol bağımlılığı küresel bir sorun olup kanser, diyabet, nöropsikiyatrik hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar ve karaciğer hastalıkları olmak üzere birçok problemin kaynağını oluşturmaktadır (Rehm, 2011). 2018 yılı Amerika Ulusal Uyuşturucu Kullanımı ve Sağlık Araştırması, 12 yaş ve üstü yaklaşık 14,8 milyon kişinin alkol kullanım bozukluğu olduğunu bildirmiştir (National Survey of Drug Use and Health, 2018)

European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction'ın (EMCDDA) (2017) yayınladığı rapora göre Türkiye'de 12 733 yüksek riskli opioid bağımlısı

bulunmakta ve bu sayı her geçen yıl artmaktadır. Diğer uyuşturucu türlerine kıyasla kullanım oranı daha az görünmekle birlikte, bağımlılık nedeniyle gerçekleşen ölümlerin %54'ünden sorumlu olması sebebiyle riskin çok daha fazla olduğu görülmektedir. Dünya ülkeleri ile kıyaslandığında ise riskin daha az olduğu bilinmekle birlikte erken yaşta ölüm oranının daha yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 1.2; Şekil 1.3).



**Şekil 1.2.** Yüksek riskli opioid kullanımının yaygınlığına ilişkin ulusal oran (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, 2017).



**Şekil 1.3.** Avrupa ve Türkiye de bağımlılık kaynaklı ölümlerin yaş dağılımı karşılaştırması (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, 2017).

Opioid ve alkol bağımlılığının tedavisinde opioid antagonistleri (naltrekson, nalokson, nalbupin, nalmeferin, nalorfin vs.) geniş bir yer tutmaktadır. Opioid antagonistleri,  $\mu$ ,  $\kappa$  ve  $\delta$  opioid reseptör bölgelerinde etkili olan psikoaktif maddelerin ve alkolün etkilerini bu reseptörlere yarışmalı bağlanarak bloke etmektedir (Oswald ve Wand, 2004; Veilleux ve ark., 2010; Wang ve ark., 2019). Bu grupta yer alan naltreksonun alkol bağımlılığı için kullanımı 1994; opioid bağımlılığı için kullanımı ise 1984 yılında FDA tarafından onaylanmıştır. Piyasada oral ve kontrollü salım sağlayan formları bulunmaktadır (Hser ve ark., 2015; Johnson, 2007, 2010; Volkow ve ark., 2019).

Kapsamlı ilk geçiş etkisi nedeniyle bu grup etkin maddelerin biyoyararlanımı düşüktür ve oral yolla kullanımlarında plazma konsantrasyonunda dalgalanmalar meydana gelmektedir. Ayrıca oral yolla kullanılan opioid antagonist tabletleri tedaviyi erken bırakma oranlarının yüksek olması ile ilişkilendirilmiştir (Hulse ve ark., 2009). Örneğin bir çalışmada hastaların % 37'sinin günlük oral formu 12 haftada ve % 80'den fazlasının ise 6 ayda bıraktığı gösterilmiştir. Bu çalışmalarda gösterildiği gibi uyuncu tedavi etkinliği için kritiktir (Nanaki ve ark., 2020). Dolayısıyla implantlar ve depo enjeksiyonlar şeklinde formlar daha etkili bir tedavi sağlamaktadır (Leighty ve Ansara, 2019; Lobmaier ve ark., 2010; Lobmaier ve ark., 2011; Syed ve Keating, 2013). Tüm bu nedenlerle karaciğere geçişin önlendiği, sabit bir plazma konsantrasyonunun sağlanabildiği ve hastalara ilaç alma sorumluluğunun yüklenmediği bir dozaj formunun geliştirilmesi büyük avantaj sağlayacaktır.

Bir ilacın uzatılmış salım yapacak şekilde tasarlanması, içindeki etkin maddenin terapötik etkinliğini artırmada faydalı olmaktadır. Klasik dozaj formlarının tekrarlı oral, transdermal, pulmoner, rektal veya parenteral uygulamaları sonrasında etkin maddenin kan konsantrasyonunda inişli-çıkışlı bir profil gözlenmektedir. Neticede ise maksimum etkin kan konsantrasyonunun aşılması veya minimum etkin kan konsantrasyonunun altına düşülmesi gibi sonuçlarla karşılaşılabilir. Dolayısıyla istenmeyen yan etki görülme sıklığı artmakta ve hasta uyuncu azalmaktadır. Bir diğer problem ise kan beyin bariyeri, lenfatik sistem, gastrointestinal sistem, ilk geçiş etkisi vs. gibi biyolojik engellerdir.

Tüm bu dezavantajları ve engelleri ortadan kaldırmak üzere tasarlanan implantlar sayesinde etkin madde daha az doz ve sıklıkta, lokal veya sistemik etki için verilebilmekte ve bu nedenle implantlar ön plana çıkmaktadır. İmplantlar bir etkin madde matrisi ve bir polimerden oluşan sistemlerdir (USP 43, 2020). İmplant formülasyonları ve formları pekçok farklı şekilde tasarlanabilmektedir. Bunlar içinde in situ oluşan jel sistemleri, daha az invaziv bir yöntemle uygulanabilmeleri nedeniyle tercih edilen sistemlerdir. Bu çalışmada, çözücü göçü ile çökme ve sıcaklık değişimi ile jelleşme olmak üzere iki farklı oluşum mekanizmasına sahip in situ oluşan ve uzun süre kontrollü salım sağlayan jel formülasyonlarının geliştirilmesi hedeflenmiştir.

### **1.1. İmplantların Tarihi**

Geçmişte sabit plazma konsantrasyonunu sağlamak adına ilaçlar etkin maddenin farmakokinetiğine bağlı olarak infüzyon yolu ile verilmiştir. Fakat bu tür bir tedavi sürekli monitörizasyon gerektirdiğinden çok pratik bulunmamakla birlikte hasta uyuncu da düşük kalmıştır (Dash ve Cudworth, 1998; Greatbatch ve Holmes, 1991).

Bu sorunları çözmek için yapılan çalışmalar implantların ortaya çıkışının başlangıcı olmuştur. 1930'lu yıllarda hidrofobik steroid pelletlerin implantasyonu sonucunda uzatılmış salımın hem hayvanlarda hem insanlarda sağlanabildiği görülmüştür (Blackshear, 1979; Wright ve Burgess, 2012). İmplante edilebilir sistemlerin en basit şekli olan bu implantlar aseptik koşullar altında tek zımbalı tablet makineleri ile üretilmiştir. Yani temelde etkin madde pelletlerinin belirli basınç altında sıkıştırılması ile birlikte salımın implantın yüzey alanı ve etkin maddenin ortam sıvısında çözünürlüğüne bağlı olarak gerçekleşmesi söz konusudur. Sonuçta ise veteriner ilaç olarak kullanım sıklıkları insanlarda kullanımından daha fazla olmuş ve ilerleyen süreçte verimi artırmak üzere kullanılan standart bir uygulama haline gelmiştir. (Blackshear, 1979; Danckwerts ve Fassihi, 1991).

1960'lı yıllarda araştırmacılar, silikon kauçuğun uzatılmış etkin madde salımı için kullanımını araştırmıştır. Silikon kauçuk kapsüller köpeklerin kalp kası içine

yerleştirilmiş ve farklı sınıflardaki düşük molekül ağırlıklı etkin maddelerin kontrollü salımına olanak verdiği görülmüştür (Blackshear, 1979; Chappel, 2021). Tüm bu çalışmaları takiben birçok çalışma yapılmış ve neticesinde biyolojik olarak stabil, biyolojik olarak uyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir birçok farklı taşıyıcı ile farklı gruplardan farklı molekül ağırlıklarına sahip etkin maddeler için farklı implantasyon teknikleri ve bölgeleri keşfedilmiştir (Kleiner ve ark., 2014).

## 1.2. İmplantların Taşınması Gereken Özellikler

İdeal bir implantın taşınması gereken özellikler şu şekildedir (Rajgor ve ark., 2011):

- Kimyasal olarak inert olma,
- Biyolojik olarak uyumluluk,
- Biyolojik, kimyasal, fiziksel ve mekanik stabilite,
- Sterilize edilebilme,
- İlaç uygulama sıklığını azaltma,
- Kontrollü etkin madde salımı sağlama,
- Sağlık profesyonelleri tarafından kolayca uygulanabilme veya çıkarılabilme.

## 1.3. İmplantların Avantajları

Klasik dozaj formlarının dezavantajlarını gidermek üzere geliştirilen implantların avantajları şu şekildedir (Aj ve ark., 2012; Danckwerts ve Fassihi, 1991; Martín del Valle ve ark., 2009; Rajgor ve ark., 2011):

- Lokal etki sağlanabilmesi,
- Tedavi etkinliğinin artması,
- Dozun azaltılması ve dolayısıyla yan etki görülme olasılığının azalması,
- İlaç alma sıklığının azalması ile birlikte hasta uyuncunun artması,
- Kontrollü salım,

- Aralıklı salım (intermittent release)
- Hızla metabolize olan veya yarı ömürleri kısa olan etkin maddelerin verilebilmesi,
- Alerji veya yan etki durumlarında hemen çıkarılabilmesi,
- Göreceli olarak daha düşük maliyet.

#### **1.4. İmplantların Dezavantajları**

İmplantların genel dezavantajları şu şekildedir (Aj ve ark., 2012; Danckwerts ve Fassihi, 1991; Kleiner ve ark., 2014; Rajgor ve ark., 2011):

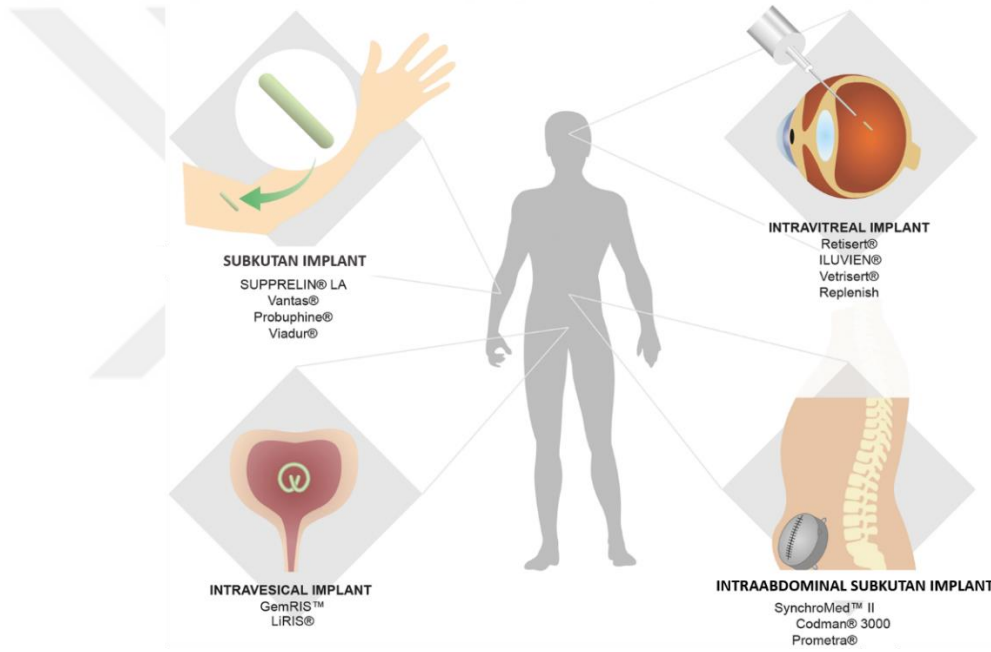
- Kullanılan malzemelerin veya parçalanma ürünlerinin toksik veya biyolojik olarak uyumsuz olabilmesi,
- Yerleştirmek veya çıkarmak için cerrahi bir işlem gerektirebilmesi,
- Potent etkin maddeler için kullanılması,
- İmplantın bir cihaz olması halinde cihazın bozulabilmesi ve sızıntı veya değişken etkin madde salımı oluşturabilmesi,
- İmplant varlığı dolayısıyla kişide ağrı, rahatsızlık hissi olabilmesi ve hasta uyuncunun azalabilmesi.

#### **1.5. İmplantasyon Teknikleri**

İmplantlar mikropartikül, in situ oluşan implant, enjekte edilebilen jel, pellet, kapsül, tablet veya minyatür mekanik bir cihaz olmalarına göre farklı teknikler ile uygulanmaktadır. Örneğin mikropartiküller, in situ oluşan implantlar ve jeller bir enjektör yardımı ile cilt altına uygulanabilirken, diğer gruplarda lokal veya genel anestezi altında invaziv bir işlem ile implantın cilt altına yerleştirilmesi gerekmektedir (Danckwerts ve Fassihi, 1991; Mäder, 2022).

## 1.6. Uygulama Bölgeleri

İmplantlardan sistemik bir etki oluşturulmak isteniyorsa cilt altı (s.c.) ve kas içi (i.m.) dokusu ideal uygulama bölgeleridir. Bu bölgelerdeki etkin madde absorpsiyonunu yavaşlatan yüksek yağ oranı, minimum invazyon, enflamasyon görülme olasılığının azlığı ve iyi hemoperfüzyon başlıca avantajlarıdır. Lokal bir etki için ise implantlar intravajinal, intravasküler, intratekal, intraoküler, intravitreal, intravezikal, intrakranial ve peritoneal bölgelere yerleştirilebilmektedir (Şekil 1.4) (Kumar ve Pillai, 2018; Pons-Faudoa ve ark., 2019).



**Şekil 1.4.** FDA onaylı veya klinik deneme aşamasındaki implantların uygulama bölgeleri (Pons-Faudoa ve ark., 2019).

Deri genel olarak epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere üç kısma ayrılmaktadır. Hipodermis yani subkütan doku; gevşek bir yağ dokusu (adiposit), kolajen demetleri, damarlar ve sinirlerden oluşmaktadır (Bonmarin ve Le Gal, 2016; Raskin, 2015, s:34). Vücudun bazı bölgelerinde çok ince (göz kapağı < 1 mm); bazı bölgelerinde çok kalın (karın ve uyluk da birkaç cm) olabilmektedir. Farmasötik dozaj formları için özellikle biyoyararlanımın düşük olduğu ve etki süresinin uzun olmasının istendiği durumlarda ön plana çıkmaktadır. Dozaj formu subkütan dokuya enjekte edildikten sonra etkin madde molekülünün önce interstisyel boşluğa ardından

damarlara geçmesi için bir süre gerekmektedir. Bu absorpsiyon sürecini ise etkin maddenin molekül ağırlığı, elektrostatik yük, hidrofobisite gibi fizikokimyasal faktörler veya etkin maddenin endojen bileşenlerle etkileşimi, kan akışı ve doku hidrasyonu gibi fizyolojik faktörler etkilemektedir.

Subkütan yolla uygulamanın diğer parenteral uygulama yollarına göre acının daha az olması, enfeksiyon riskinin daha az olması/olması halinde lokal olarak görülmesi ve enjeksiyon sıklığının az olması gibi çeşitli avantajları bulunmaktadır. Uyunc için en belirleyici unsur acıdır. Etkin madde, enjektör iğnesinin yapısı, enjeksiyon tekniği, bölgesi (karın, uyluk vs.), hızı, osmolalite (300-600 mOsm/kg), viskozite, pH, kullanılan maddeler ve enjeksiyon hacmi acının oluşumu ve derecesi için belirleyici unsurlardır. Özellikle günümüze değin yüksek hacimlerdeki enjeksiyonun ekstraselüler matriksin kısıtlamaları nedeniyle acı hissini arttırdığı, enjeksiyon bölgesinden sızıntı ve şişme gibi oluşumlara neden olabileceği bildirilmiştir. Bu nedenle subkütan enjeksiyon hacmi genellikle 1,5 mL ile sınırlandırılmıştır (Usach ve ark., 2019). Fakat bu durumu destekleyici nitelikte bir klinik çalışma veya kanıt yoktur. Bu nedenle özellikle son yıllarda enjeksiyon hacminin 3-3,5 mL sınırına kadar tolere edilebileceğini destekler nitelikte çalışmalar yayınlanmakla birlikte; daha yüksek bir hacmin verilebilmesi için de girişimler yapılmaktadır (Collins ve ark., 2020; Mathaes ve ark., 2016).

## **1.7. İmplant Tipleri**

Geçmişten günümüze implantların sınıflandırılması oldukça zor olmuştur. Çünkü birden fazla kategoriye girebilecek istisnalar olabilmektedir. Bu nedenle farklı araştırmacılar farklı türlerde sınıflandırmalar yapmış olmakla birlikte genel bir derleme yapıldığında aşağıdaki gibi bir sınıflandırma söz konusu olabilmektedir:

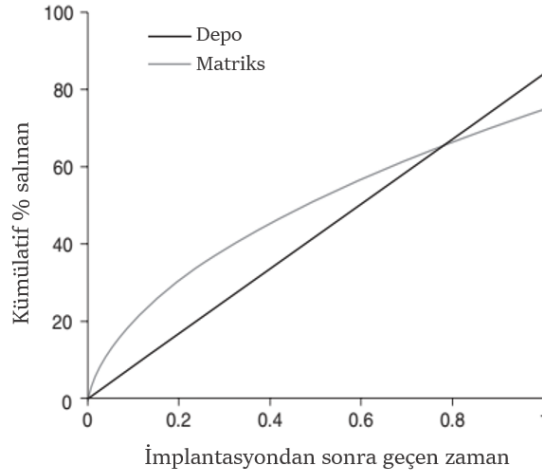
- 1) Pasif implantlar
  - Biyolojik olarak parçalanabilir olmayan polimerik implantlar
  - Biyolojik olarak parçalanabilen polimerik implantlar
- 2) Dinamik implantlar

- Ozmotik pompalar
  - İnfüzyon pompaları
- 3) Elektromekanik implantlar

### **1.7.1. Pasif İmplantlar**

Bu grup implantlarda etkin madde salımı difüzyon gibi pasif bir süreç neticesinde gerçekleştiği için bu adı almıştır. Salımı kontrol etmek amacıyla ise biyolojik olarak parçalanabilen veya biyolojik olarak parçalanabilir olmayan polimerler kullanılmakta ve temel olarak matriks (monolitik) ve rezervuar/depo (polimer membran) sistemler olarak ikiye ayrılmaktadır. Salım profili polimer tipi, molekül ağırlığı, konsantrasyonu ve etkin maddenin fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak değişebilmektedir.

Matriks sistemlerde etkin madde homojen bir şekilde polimer içinde disperse edilmekte, depo sistemlerde ise çekirdekte etkin madde ve çevresinde onu kaplayan polimer yapısında bir membran bulunmaktadır. Depo sistemlerde etkin madde difüzyonu polimerik membran ile kontrol edilmektedir ve sıfır dereceye uyan bir salım profili görülmektedir (Şekil 1.5). Membranda bir hasar durumunda ani bir etkin madde boşalımı söz konusu olabilmektedir. Matriks sistemlerde ise başlangıç ani/hızlı salımı takiben birinci derece kinetiğe uygun olarak (şişme veya polimer degradasyonu yoksa) dengeli etkin madde salımı gerçekleşmektedir. Tasarlanan ilacın gerekliliğine göre iki sistemden uygun olan seçilmektedir (Solorio ve ark., 2014; Utomo ve ark., 2022).



**Şekil 1.5.** Matriks ve depo formunda implantların salım profilleri (Solorio ve ark., 2014).

### 1.7.1.1. Biyolojik Olarak Parçalanamayan Polimerlerden Oluşan İmplantlar

Yukarıda da değinildiği üzere matriks veya rezervuar tipi sistemler olarak ikiye ayrılmaktadır. Polimer olarak genellikle silikonlar (Norplant®, Jadelle®), üretanlar, akrilatlar gibi polimerler veya poli(etilen-ko-vinil asetat) (Ocusert®, Implanon®) gibi kopolimerler kullanılmaktadır (Çizelge 1.1). Büyük oranda biyolojik olarak uyumlu olmalarına rağmen implantasyon bölgesinde enflamasyon veya doku hasarı oluşturma riskleri de bulunmaktadır. Bu tip implantlar sabit bir şekle sahiptir ve vücuda yerleştirildikten sonra parçalanmamaktadır. Dolayısıyla etkin madde salımı tamamlandıktan sonra vücuttan uzaklaştırılması gerekmektedir ki bu da ayrı bir risk ve dezavantajdır (Kumar ve Pillai, 2018; Solorio ve ark., 2014).

Bu grup implantlarda etkin madde salımını etkileyen dört faktör bulunmaktadır:

- i. Polimer membran veya matriksin por büyüklüğü
- ii. Porlar arası bağlantı ve eğri büğrülüğü
- iii. Etkin maddenin dağılımı ve ortamda çözünürlüğü
- iv. Etkin maddenin polimere afinitesi

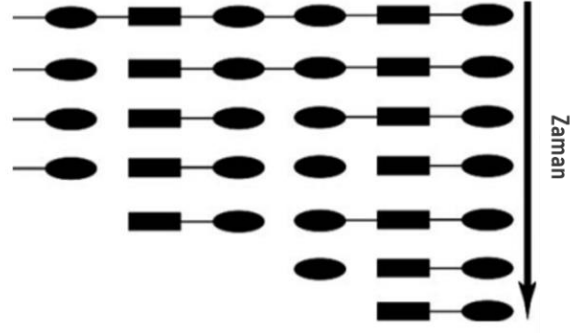
Günümüzde hala kullanılmalarına rağmen eğilim biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerin kullanılmasına ve geliştirilmesine yöneliktir (Solorio ve ark., 2014).

**Çizelge 1.1.** Biyolojik olarak parçalanır ve biyolojik olarak parçalanmayan polimerlere örnekler (Gonatillake ve Adhikari, 2016; Martín del Valle ve ark., 2009).

Biyolojik olarak parçalanabilen polimerler		Biyolojik olarak parçalanmayan polimerler
Poli(laktik asit)	Polifosfazen	Poli(ethilen tereftalat)
Poli(dioksanon)	Poli(siyanoakrilat)	Polisiloksan
Poli(imino karbonat)	Poli( $\beta$ -hidroksibütirat)	Poli(dimetil siloksan)
Poli(amino asit)	Polidihidropiran	Polistiren
Poli(glikolik asit),	Poli(orto ester)	Poli(etilen)
Poli(hidroksi bütirat)	Poliasetal	Poli(propilen)
Poli( $\epsilon$ -kaprolakton)	Poli(anhidrit)	Poli(metil metakrilat)
Polifosfat		Poli(eter eter keton)
Polifosfonat		Poliüretan

### 1.7.1.2. Biyolojik Olarak Parçalanabilen Polimerlerden Oluşan İmplantlar

Biyolojik olarak parçalanmayan sistemlerin dezavantajlarına karşılık olarak geliştirilmişlerdir. Bu implantların en büyük avantajı, kullanılan polimerlerin fizyolojik ortamda bir süre sonra ortam sıvısı, enzimler, pH gibi internal faktörler veya UV ışını,  $\gamma$ -radyasyonu ve mekanik hasar gibi eksternal faktörler katalizörlüğünde erozyona uğrayıp parçalanması ve vücuttan atılmasıdır (Şekil 1.6). Erozyon polimerin degradasyon kinetiği, hidrofobisite ve camsı geçiş sıcaklığına bağlı olarak sadece yüzeyde ya da kütlede tamamında gerçekleşebilmektedir. Polimer olarak en çok poli(laktik asit) (PLA) (Atridox®), poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) (Eligard®), poli(kaprolakton) (PCL) (Capronor®) gibi FDA onaylı laktik ve glikolik asitin alifatik esterleri, poli(ortoester), poli(anhidrit) ve poli(fosfoester)'ler kullanılmaktadır (Çizelge 1.1). Bu polimerlerin oldukça uzun bir araştırılma ve kullanım geçmişi olup, biyoyumlulukları kanıtlanmıştır.



Şekil 1.6. Polimer degradasyonunun şematik gösterimi (Solorio ve ark., 2014).

Bu grup implantların en büyük dezavantajları ise hazırlanış aşamalarının karmaşık ve pahalı olması ve kullanılan polimerlerin istenen özelliklere sahip şekilde ticari olarak bulunmasının zorluğudur. Formülasyon gelişimi sırasında arzu edilen molekül ağırlığı, degradasyon süresi, kinetiği veya kopolimer bileşimine ulaşmak oldukça güç olmaktadır. Tüm bu parametreleri optimize etmek, istenen ideal salım profilini elde etmek için önemlidir. Bu nedenle araştırmacılar istedikleri özelliklere sahip polimerleri kendileri sentezleme yoluna gitmektedir.

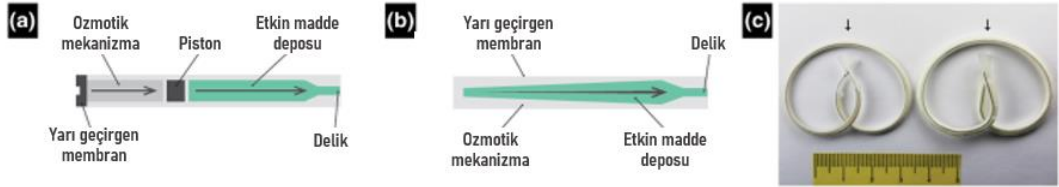
Piyasada birçok biyolojik olarak parçalanır polimerik implant bulunmaktadır. Bunlara örnek olarak Gliadel<sup>®</sup>, Zoladex<sup>®</sup> ve Profact<sup>®</sup> örnek olarak verilebilir (Kumar ve Pillai, 2018; Solorio ve ark., 2014).

### 1.7.2. Dinamik İmplantlar

Bu sistemlerde etkin madde salımı konsantrasyon farkı ile değil basınç farkı gibi bir enerji ile stimüle edilen bir proses ile gerçekleşmektedir. Farklı kaynaklarda implante edilebilir pompalar olarak da geçmektedir. Salınan etkin madde dozu ve hızı pasif implantlara göre daha iyi kontrol edilebilmekte, dolayısıyla tahmin ve tekrar edilebilir sonuçlar elde edilmektedir. Fakat hazırlanışları daha kompleks ve pahalıdır (Utomo ve ark., 2022).

### 1.7.2.1. Ozmotik Pompalar

Etkin madde salımı ozmotik basınç ile stimüle edilen sistemlerdir. Genellikle katı veya sıvı formda etkin madde içeren bir depo (1) ve depodan hareketli bir pistonla ayrılan ozmojen (inorganik tuzlar, karbohidratlar) / depoyu çevreleyen ozmotik tabaka (2) olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Etkin madde deposu mikron boyutundaki delikler vasıtasıyla direkt olarak dış ortama bağlıyken, ozmoz mekanizmasını sağlayan kısım yarı geçirgen bir membran (örn; selüloz türevleri) ile dış ortamdan ayrılmaktadır. Ozmoz mekanizmasının gerçekleşmesini sağlayan kompartman yüksek oranda ozmolit içermekte bu nedenle implant vücuda implante edildikten sonra interstisyel sıvıdan su bu kompartmana geçmekte ve hidrostatik basınç oluşturmaktadır. İkinci kompartmana sıvı geçişi ile birlikte geçen sıvının miktarı kadar etkin madde çözeltisi delik çapına bağlı olarak sabit bir hızda rezervuardan dışarı doğru itilmekte ve ortama sıfır derece kinetikle salınmaktadır (Şekil 1.7) (Chappel, 2021; Keraliya ve ark., 2012; Malaterre ve ark., 2009; Pons-Faudoa ve ark., 2019; Verma ve ark., 2002).



**Şekil 1.7.** Ozmotik pompadan etkin madde salımı. a) yarı geçirgen zardan yüksek tuz konsantrasyonunun olduğu ozmotik mekanizmaya ortamdan sıvı geçişi ve pistonun hareketiyle etkin maddenin açılan delikten çıkışı, b) yarı geçirgen bir membran ile sarılmış yüksek ozmojen tabakasının çevrelediği katı etkin madde deposundan etkin maddenin çözünerek delikten ortama salınması, c) Mesane kanseri tedavisi için kullanılan katı gemsitabin yüklü intravezikal GemRIS™ implant (Pons-Faudoa ve ark., 2019).

### 1.7.2.2. İnfüzyon Pompaları

Ozmotik pompalara yüklenebilecek etkin madde miktarının sınırlı olması araştırmacıları infüzyon pompalarına yönlendirmiştir. İnfüzyon pompaları, vücut sıcaklığında sıvı hale geçen itici gazların etkin madde deposu üzerinde bir basınç oluşturması ve akabinde etkin maddenin bir açıklık yardımıyla salınması temeli üzerine tasarlanmıştır. Vücut sıcaklığının sabit olması neticesinde salım sıfır derece

kinetikle gerçekleşmekte; salınan etkin madde miktarı açıklığın genişliğine, etkin madde miktarı ve konsantrasyonuna bağlı olarak ayarlanabilmektedir. Bu dozaj formuna örnek olarak Codman<sup>®</sup>, Prometra<sup>®</sup> ve Infusaid<sup>®</sup> verilebilmektedir (Kumar ve Pillai, 2018; Pons-Faudoa ve ark., 2019; Rajgor ve ark., 2011).

### **1.7.3. Elektromekanik Sistemler**

Elektromekanik sistemler hassas dozlamaya olanak sağlamaları açısından öne çıkan sistemler olup mikro- veya nano-boyutta tasarlanabilmektedir. Genellikle bu sistemlerde kanül vücut içinde olurken; pompa, etkin madde deposu ve salımın kontrol edildiği kumanda vücut dışında olmaktadır. Böylece etkin madde deposu tekrar doldurulabilmekte ve hastanın komutlarıyla birlikte etkin maddenin uzun süreler salınması sağlanabilmektedir. Tasarımları dolayısıyla hem çok yüksek hem de çok düşük dozlarda etkin madde salımına ve çeşitliliğe olanak sağlamaktadır. Fakat teknolojilerinin karmaşık, pahalı olması, elektronik bir sistem olması nedeniyle sistemin bozulabilmesi, implantasyon işleminin karmaşık ve zor olması başlıca dezavantajlarıdır. Synchromed<sup>®</sup> bu sisteme bir örnektir (Kleiner ve ark., 2014; Kumar ve Pillai, 2018; Pons-Faudoa ve ark., 2019).

### **1.8. İn situ Oluşan İmplantlar**

Parenteral ilaç taşıyıcı sistemler, esnek uygulama sağlayacak şekilde tasarlanabilmeleri nedeniyle hatırı sayılır ilgiyi üzerine çekmiştir. Süspansiyonlar, emülsiyonlar, lipozomlar, implantlar, mikropartiküller ve nanopartiküller çeşitli parenteral dozaj formlarıdır (Wright ve Burgess, 2012). Bu sistemlerden özellikle implantlar ve mikroküreler kontrollü salım sistemleri olarak piyasada öne çıkmıştır. Fakat önceden oluşturulmuş implantlar özel bir uygulama cihazı ve yöntemi veya cerrahi bir işlem ile uygulanmakta ve bu durum da hastalar için rahatsızlığa neden olabilmekte ve uyuncu azaltmaktadır. Bunun yanısıra teknolojileri gereği üretim maliyetleri çok fazla olabilmektedir.

Sonuçta invaziv bir işlem gerekmeden ağrısız, kolay bir uygulama ve düşük maliyetli basit bir üretim amaçlanarak in situ oluşan implantlar geliştirilmiştir. İn situ oluşan implantlar biyolojik olarak parçalanır polimerlerden üretilen, vücuda bir enjektör yoluyla verilen ve kimyasal veya fiziksel bir uyarana neticesinde fizyolojik ortamda yarı katı/katı bir depo (veya viskoz bir kütle) oluşturan, uzun süre boyunca lokal veya sistemik etki sağlayabilen sistemlerdir.

İN situ oluşan implantların kökeni 1980'li yıllara kadar dayanmaktadır. İlk olarak Southern Research Institute, periodontal hastalıkların tedavisi için enjekte edilebilir bir depo formülasyonu geliştirilmiştir. Daha sonra ATRIX Laboratuvarları FDA tarafından da onaylanan, löprolid asetat içeren Eligard® isimli ilacı geliştirmiştir. İlerleyen süreçte ALZA Corporation çözücü olarak benzil alkol ve benzil benzoatın kullanıldığı, ATRIX'e oldukça benzer bir teknoloji geliştirmiştir. AP PHARMA ise polimer olarak poliortoesterleri kullanmış ve enjekte edilebilir termoplastik pastaları geliştirmiştir. Süreçte en çığır açıcı gelişme ise MacroMed sayesinde gerçekleşmiştir. Sıcaklık değişimi ile jelleşme özelliği gösteren, poli(laktid-ko-glikolid) (PLGA) (A) ve poli(etilen glikol) (PEG) (B) bloklarından oluşan ABA ve BAB tipi triblok kopolimerleri bilim dünyasına sunmuşlardır (Packhaeuser ve ark., 2004).

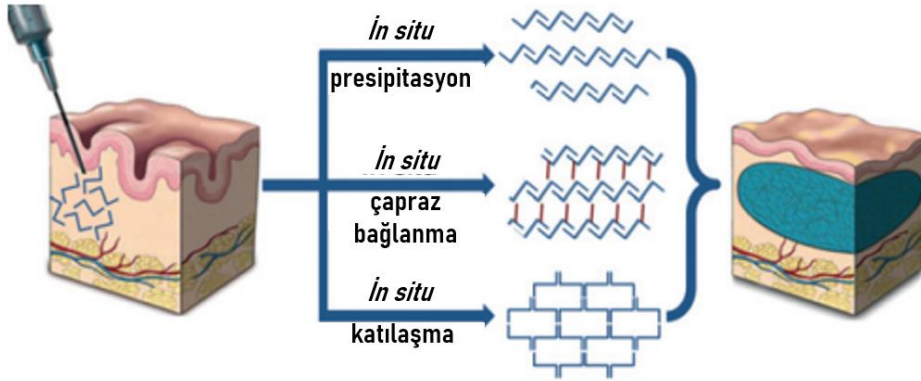
Keşfinden bugüne hızlı bir gelişim gösteren in situ oluşan jellerin taşınması gereken bir takım özellikler bulunmaktadır (Kempe ve Mäder, 2012):

- Enjekte edilebilirlik için uygun viskozite,
- Etkin madde yüklemeye kolaylık,
- Formülasyonda kullanılan tüm maddelerin biyolojik olarak uyumlu ve parçalanır olması,
- Parçalanma ürünlerinin toksik olmaması,
- Stabilitate,
- Düşük "başlangıç salım",
- Tutarlı bir salım profili.

### 1.8.1. İn situ Oluşan İmplantların Sınıflandırılması

İn vivo katılaşma mekanizmasına göre implantlar dört kategoriye ayrılmıştır (Şekil 1.8) (Agarwal ve Rupenthal, 2013; Hatefi ve Amsden, 2002):

- a) Termoplastik pastalar
- b) İn situ çapraz bağlanan sistemler
  - Termosetler
  - Foto çapraz bağlanma
  - İyonik etkileşme ile oluşan jeller
- c) İn situ katılaşan organojeller
- d) İn situ presipitasyon/çökme ile oluşan sistemler
  - Çözücü göçü ile çökme
  - Sıcaklık değişimi ile jelleşme
  - pH değişimi ile jelleşme



Şekil 1.8. İn situ implant oluşumu mekanizmaları (Agarwal ve Rupenthal, 2013).

#### 1.8.1.1. Termoplastik Pastalar

Kullanılan polimerin erime noktası veya camsı geçiş sıcaklığı üzerinde bir sıcaklıkta eritilmesi, etkin maddenin viskoz bir sıvı gibi görünen eriyik polimerde organik çözücü kullanmadan disperse edilmesi ve vücuda enjekte edilmesini takiben, fizyolojik ortam sıcaklığında çok viskoz bir depo oluşturan sistemlerdir. İdeal olarak

bu polimerlerin erime noktası/camsı geçiş sıcaklığı 25-65°C; intrinsik viskozitesi (25°C’de) ise 0,05-0,8 dl/g arasında olmalıdır. Viskozitenin minimum değerden düşük olması halinde salımın geciktirilemediği, maksimum değerden yüksek olması halinde ise enjekte edilemediği ifade edilmiştir.

Biyolojik olarak parçalanır termoplastik pastalar poli(laktik asit) (PLA), poli(glikolik asit) (PGA), poli(kaprolakton) (PCL), PLGA (Kesch ve ark., 2020), poli(orto ester) (POE) ve bu polimerlerin PEG (Jackson ve ark., 2004) ile kopolimerleri kullanılarak hazırlanabilmektedir (Kempe ve Mäder, 2012; Packhaeuser ve ark., 2004). Ancak bu polimerlerin erime noktası veya camsı geçiş sıcaklığı 60-65°C’den yüksek olabilmekte ve dolayısıyla enjeksiyon sıcaklığı da fazla olmaktadır. Bu durumda enjeksiyonlar ağırlı olmakta ve enjeksiyon bölgesinde nekroz ya da cep oluşumu gözlenmektedir. Bu durum da etkin maddenin salım kinetiğini ve profilini etkilemektedir. Düşük erime noktası/camsı geçiş sıcaklığı ve molekül ağırlığına sahip POE’ler bu problemlere çözüm olarak geliştirilen polimerlerdir. Fakat kullanımları hâlâ FDA tarafından onaylanmış değildir (Agarwal ve Rupenthal, 2013; Einmahl ve ark., 2001; Kempe ve Mäder, 2012).

### **1.8.1.2. İn situ Çapraz Bağlanan Sistemler**

Polimer zincirlerinin in situ olarak çapraz bağlanması çeşitli mekanizmalarla oluşabilmektedir. Bu mekanizmalar, başlatıcı olarak ısı (termosetler) veya foton (foto çapraz bağlanma) enerjisi ile serbest radikal reaksiyonu ve polimer anyonları ile katyonlar arasındaki iyonik etkileşimler olarak sınıflandırılabilir. Bu sistemler teorik olarak özellikle protein ve peptidler gibi hidrofilik makromoleküllerin salımı için avantajlı bulunmuştur. Fakat serbest radikal reaksiyonunun fizyolojik ortamda gerçekleşmesi, hem doku hem de etkin madde için olumsuz bir faktördür. Bu nedenle özellikle etkin maddeyi farklı yöntemlerle/önlemlerle korumak gerekmektedir (Packhaeuser ve ark., 2004).

## **Termosetler**

Termosetler oluşturuldukları anda akabilme ve enjekte edilebilme özelliğine sahipken ısıtıldıklarında final őrklini almaktadır. Kimyasal olarak çapraz bağlanma ısı uygulaması ile başlatılmakta ve sonuçta kovalent bağlar oluşmaktadır. Sistem tekrar ısıtıldığında ise polimer degrade olmaktadır (Chitkara ve ark., 2006).

Termosetlerin in vivo uygulamaları için gereken koşullar oldukça katıdır. Fizyolojik olarak kabul edilebilir dar bir sıcaklık aralığının olması, toksik olmayan monomerler, başlatıcılar ve çözücülerin kullanılması, reaksiyonun ekzotermik doğası gereği açığa çıkan sıcaklığın kabul edilebilir olması, oksijen ve nem açısından zengin bölgelere uygulanması ve üretim ile uygulamanın hızlı olması gibi birçok gereklilik bulunmaktadır. Tüm gerekliliklere ilave olarak birçok dezavantajı bulunmaktadır: İmplant final őrklini alana değin geçen sürede gerçekleşen “başlangıç hızlı salım (burst effect)”, bunun sonucunda görülebilen yan etki ve toksisite, reaksiyon sonucu serbest radikallerin oluşabilmesi ve açığa çıkan sıcaklık sonucu doku hasarı görülmeleri olarak özetlenebilmektedir. Tüm bu gereklilikler ve dezavantajlardan dolayı yapılan çalışmalar kısıtlı kalmış ve bilim dünyası tarafından ilgi görmemiştir (Hatefi ve Amsden, 2002).

## **Foto apraz Bağlanma**

Bu sistemlerde formülasyon dokuya çözelti veya pasta formunda yerleştirilmekte ve en az iki ifte bađa sahip monomerlere, ışığa duyarlı başlatıcılara ve ultraviyole (UV) veya görünür ışığa ihtiyaç duyulmaktadır. Işın uygulaması genel olarak fiber optik kablolar vasıtasıyla yapılmakta ve polimerizasyon hızlı bir őrklde gerçekleşmektedir. Işının yoğunluğu, başlatıcı seçimi ve polimerin sahip olduğu aktif ifte bağ sayısı çapraz bağlanma derecesini önemli derecede etkilemektedir. Uygulama kolaylığı ve avantajları sayesinde özellikle diş hekimliği, doku mühendisliği ve eczacılık alanlarında uygulamaları üzerine denemeler yapılmaktadır (Agarwal ve Rupenthal, 2013; Hatefi ve Amsden, 2002; Kempe ve Mäder, 2012).

Prensipite, ışık ile indüklenen polimerizasyon reaksiyonlarında reaktif türlerin oluşması büyük bir olasılıktır. Çevre dokuya olası olumsuz yan etkileri en aza indirmek ve biyoaktif bileşenleri korumak için düşük foto-başlatıcı konsantrasyonları ve düşük yoğunluklu UV ışığı kullanılmalıdır. Bununla birlikte ışığa maruz kalma süresi mümkün olduğunca kısa olmalıdır (Fedorovich ve ark., 2009).

Klinik uygulamalarındaki en açık dezavantajı, UV'nin düşük penetrasyon derinliği ve reaktif oksijen türlerinin oluşumudur. Enjeksiyonun derinliği, çapraz bağlama etkinliğini ve dolayısıyla transdermal ışık uygulamasından sonra jel oluşumunun tekrarlanabilirliğini güçlü bir şekilde etkilemektedir. Sonuç olarak, UV ışınları ile oluşturulan in situ jellerin kullanımı temelde diş hekimliği uygulamaları ile sınırlı kalmıştır (Kempe ve Mäder, 2012).

### **İyonik Etkileşme ile Oluşan Jeller**

Bu grupta yer alan polimerler ortamdaki iyonlar ile etkileşime girerek jel oluşturmaktadır. Aljinatlar kalsiyum, baryum, çinko gibi iki değerlikli katyonların, kitozan ise anyonik moleküllerin varlığında polimerik zincirler arasında oluşan iyonik köprüler aracılığıyla jelleşmektedir (Distler ve ark., 2020; Ghanian ve ark., 2018; Potiwiput ve ark., 2020). Fakat bu sistemlerin en büyük dezavantajı fizyolojik ortamda jelleşmeyi sağlayacak iyon konsantrasyonunun olmaması ve mekanik stabiliteilerinin azlığıdır. Yalnızca gözdeki kalsiyum konsantrasyonu aljinatların jelleşmesini indüklemek için yeterlidir. Bu nedenle kullanımları oftalmik uygulamalar ile sınırlı kalmıştır (Hatefi ve Amsden, 2002; Kempe ve Mäder, 2012).

### **1.8.1.3. Organojeller**

Organojeller veya yağlı jeller suda şişen ve çeşitli liyotropik sıvı kristaller oluşturan amfifilik monogliseritlerden oluşmaktadır. Bu sıvı kristal yapı oldukça viskoz olup jel benzeri özellik göstermektedir ve viskozitesi oldukça yüksektir.

Monogliseritler, amfifilik yapıları neticesinde hem hidrofilik hem hidrofobik etkin maddelerin taşınması için kullanılabilirlerdir. Oluşan sıvı kristal fazın yapısı monogliseridin yapısal özelliklerine, sıcaklığa, etkin maddeye ve sistemdeki su miktarına göre değişmektedir. Gliserol monooleat, gliserol monopalmistostearat ve gliserol monolinoleat kullanılan monogliseritlere örnektir (Ahmed ve ark., 2010; Algin ve Baykara, 2005; Chountoules ve ark., 2022; Hatefi ve Amsden, 2002).

#### **1.8.1.4. İn situ Presipitasyon**

İN situ polimer presipitasyonu, çözücü göçü, sıcaklık değişimi veya pH değişimi mekanizmalarına bağlı olarak gerçekleşmektedir.

#### **Sıcaklık Değişimi ile Jelleşme**

Termal olarak indüklenen jel sistemleri ise sıcaklık arttığında sol-jel geçişine uğramakta ve biyolojik olarak en uyumlu sistem olarak görülmektedir. Sıcaklığa duyarlı polimerler, fizyolojik koşullarda jelleşebilmeleri için organik çözücüler, kopolimerizasyon ajanları veya harici olarak uygulanan indükleyiciler gerektirmedikleri için özellikle avantajlıdır. Sıcaklığa bağlı faz geçişleri, hidrojen bağları veya hidrofobik etkiler gibi belirli moleküler etkileşimlerin sıcaklıkla değişimi ile kontrol edilmektedir (Kempe ve Mäder, 2012; Ko ve ark., 2013).

Sıcaklık ile jelleşen polimerlere örnek olarak, poliakrilatlar, poliesterler, kitozan ve türevleri, polifosfazenler, Pluronic® ve Pluronic® türevleri, poli(trimetilen karbonat) ve polipeptitler verilebilmektedir. Hidrofilik blok olarak yaygın bir şekilde PEG kullanılmaktadır. Sadece kompozisyon varyasyonları değil, aynı zamanda bahsedilen polimerlerin topolojik varyasyonları da dahil olmak üzere diblok, triblok (ABA tipi veya BAB tipi) (da Silva ve ark., 2022; Sharma ve ark., 2021), çoklu blok, graft ve yıldız şeklindeki kopolimer sistemleri, sıcaklıkla jelleşen sistemlerin çeşitli biyofonksiyonel özelliklerinin temelini oluşturmaktadır. Bu polimerlerin hidrofilik

(PEG) ve hidrofobik (PCL/PLGA/PLA) segmentlerinin oranı, blok uzunluğu, hidrofobisite (PCL > PLA > PLGA), polidispersite ve hidrofobik bloğun stereo/üç boyutlu düzeni (amorf/yarı kristal) etkin madde salımında kritik faktörlerdir. Bu polimerlerin biyomedikal uygulamalarda kullanılabilmesi için geçiş sıcaklıklarının 10-40°C aralığında olması gerekmektedir. Ayrıca jelleşme gösterebilmeleri için konsantrasyonlarının %15'in üzerine olması gerekmektedir.

Hidrofobik bloğun molekül ağırlığı arttıkça ve hidrofilik bloğun ise azaldıkça sol - jel geçişi daha düşük konsantrasyonlarda ve düşük sıcaklıklarda meydana gelmektedir. Termojelasyon mekanizması ise her sistem için farklıdır (Ko ve ark., 2013; Moon ve ark., 2012; Packhaeuser ve ark., 2004).

### **pH Değişimi ile Jelleşme**

İyonize olabilen fonksiyonel gruplar içeren polimerlerin çevre pH'sındaki değişimle viskoelastik bir jel oluşturması mekanizmasına dayanmaktadır. Biyolojik olarak uyumlu ve parçalanır bir polimer olan kitozan pH<6 olan sulu çözeltilerde çözünebilirken, pH>6 olması durumunda çökmektedir. Poli(metakrilik asit) ve PEG, pH<5,8'de suda çözünmeyen kompleksler oluşturmaktadır. Çapraz bağlanma oranı düşük olan bu jeller düşük mekanik stabiliteye sahiptir (Kempe ve Mäder, 2012; Wu ve ark., 2011).

### **Çözücü Göçü ile Göçme**

Bu yöntem ATRIX Laboratuvarları tarafından geliştirilerek Atrigel teknolojisi olarak adlandırılmıştır (Packhaeuser ve ark., 2004). Çözücü göçü ile çöken sistemlerde biyolojik olarak parçalanır hidrofobik bir polimer ve etkin madde biyolojik olarak uyumlu organik bir çözücü içinde çözülmekte veya süspande edilmekte, sonuçta enjekte edilebilir bir preparat elde edilmektedir. Formülasyon fizyolojik ortama enjekte edildikten sonra, çözücü çevredeki sulu ortama yayılırken, su ise polimer

matriks içine yayılmaktadır. Bu durum neticesinde, faz ayrışması ve akabinde polimer çökmesi gerçekleşerek enjeksiyon bölgesinde katı bir depo oluşmaktadır. Etkin madde oluşan matriks içine hapsolmakta ve yüzeyden difüzyon ve takiben degradasyon mekanizması ile salınmaktadır. Polihidroksiasitler, polianhidritler, poliortoesterler gibi hidrofobik biyolojik olarak parçalanabilen polimerler taşıyıcı olarak kullanılabilir. Bu sistemlerin hazırlanmasında PLA, PLGA ve PCL, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmaları, uzun klinik kullanım geçmişleri ve mekanik güçleri nedeniyle tercih edilmektedir (Çizelge 1.2) (Hatefi ve Amsden, 2002; Kempe ve Mäder, 2012; Singh ve ark., 2018).

Bu polimerlerden PLA ulaşmanın kolay olması ve maliyetinin düşük olmasıyla öne çıkmaktadır. Laktik asitin D ve L stereoizomeri olması neticesinde PDLA, PLLA veya PDLLA şeklinde üretilebilmektedir. PDLA ve PLLA kristal yapıya sahipken PDLLA amorf yapıdadır ve camsı geçiş sıcaklığı 55-175°C arasında değişmektedir. Bu polimerlerde PLLA ve PDLLA daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Su, etanol, metanol ve alifatik hidrokarbonlarda çözünmezken benzen, kloroform, benzil alkol ve asetonitril gibi çözücülerde rahatlıkla çözünmektedir. Temel degradasyon mekanizması iskelettteki ester bağlarının hidrolizine dayanmaktadır. Degradasyon sonucunda laktik asit ve laktik asit oligomerleri elde edilmektedir. Degradasyonu hızı kiraliteye (PDLLA>PDLA>PLLA), polimer zincirinin ucundaki fonksiyonel gruba (COOH>COOR), pH'ya ve sıcaklığa göre değişmektedir (Stewart ve ark., 2018).

PLGA ise PLA ve PGA'nın kopolimerize edilmesi ile elde edilen biyolojik olarak uyumlu ve parçalanır bir polimerdir. Oksijene ve suya karşı yarı geçirgen olması neticesinde fizyolojik ortamda 1-6 ay içinde parçalanabilmektedir. İmplantlar için oldukça avantajlı polimerlerdir. Çünkü molekül ağırlığı ve laktid/glikolid oranının fiziksel özellikleri (özellikle kristalinite) üzerinde etkisi büyüktür. PLA oranının daha yüksek olduğu polimerler daha hidrofobiktir, kristalinite derecesi daha yüksektir ve degradasyon daha yavaştır. Parçalanma ürünleri ise laktik ve glikolik asittir. Camsı geçiş sıcaklığı 37°C'nin üzerindedir. Aseton, etil asetat ve tetrahidrofuran gibi çözücülerde kolaylıkla çözünmektedir (Singh ve ark., 2018; Stewart ve ark., 2018).

**Çizelge 1.2.** İn situ oluşan jellerde sıklıkla kullanılan polimerler ve özellikleri (Singh ve ark., 2018).

Polimer	Erime noktası (°C)	Camsı geçiş sıcaklığı (°C)	Degradasyon süresi (ay)	Degradasyon mekanizması & degradasyon ürünü
PGA	225-230	35-40	6-12	Hidroliz & Glikolik asit (GA)
PLA	173-178	60-65	>24	Hidroliz & l-LA
PDLLA	Amorf	55-60	12-16	Hidroliz & d,l-LA
PLGA (85/15)	Amorf	45-55	1-6	Hidroliz & d,l-LA & GA
PCL	58-63	-55-60	>24	Hidroliz & Kaproik asit
PLGA (50/50)	Amorf	45-50	1-3	Hidroliz & d,l-LA & GA

Formülasyon bileşimi, formu ve miktarına göre kullanılabilen çözücülere ise N-metil piroolidon (NMP) (Shiadeh ve ark., 2022; Srichan ve Phaechemud, 2017), dimetilsülfoksit (DMSO) (Li ve ark., 2021; Mahadlek ve ark., 2022), propilen glikol (Bhattacharai ve ark., 2021), aseton, tetrahidrofuran (THF), etil asetat, benzil benzoat (Chen ve Singh, 2005), etil benzoat, triasetin (Liu ve Venkatraman, 2012), benzil alkol (Chen ve Singh, 2005), glikofurol (Eliaz ve ark., 2000), poli(etilen glikol) dimetil eter (PEGDME) (Mirzaei ve ark., 2020; Schoenhammer ve ark., 2009), 2-piroolidon ve düşük molekül ağırlıklı PEG (PEG400) (Bhattacharai ve ark., 2021) örnek verilebilmektedir (Çizelge 1.3) (Hatefi ve Amsden, 2002; Kempe ve Mäder, 2012). Polariteleri ve viskoziteleri seçimleri için belirleyicidir. Bu çözücülerin, özellikle kullanılan miktarlarda toksik olmaması en önemli parametredir. Örneğin NMP ve DMSO önceden GRAS-genel olarak güvenli kabul edilen maddeler listesinde yer alırken son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda bu listeden çıkarılmıştır.

**Çizelge 1.3.** İn situ oluşan jellerin hazırlanmasında sıklıkla kullanılan çözücüler ve özellikleri (Thakur ve ark., 2014).

Çözücü	Tipi	Suda çözünürlük	Dielektrik sabiti	Erime noktası (°C)	Kaynama noktası (°C)
NMP	Hidrofilik	Tamamen karışabilir	32,2	-24	202
DMSO	Hidrofilik	Tamamen karışabilir	45	16-19	189
Triasetin	Hidrofobik	58 mg/L (20 °C)	7,01	3	258-260
Benzil alkol	Hidrofilik	33 g/L (20 °C)	13	-16 — -13	203-205
Etil benzoat	Hidrofobik	Sınırlı çözünürlük	6,02	-34	212
Benzil benzoat	Hidrofobik	25 mg/L	4,8	17-20	323-324
PEG250DME	Hidrofilik	Tamamen karışabilir	-	-23	241
PEG400	Hidrofilik	Tamamen karışabilir	12,5	4-8	>200

Her dozaj formunun olduğu gibi bu sistemlerin de dezavantajları bulunmaktadır. Karşılaşılan sorunlardan biri, özellikle vücuda enjekte edildikten sonraki ilk birkaç saat içinde gerçekleşen "başlangıç hızlı salım"dır. Bu sistem sıvı olarak uygulandığından, enjeksiyondan sonra katı implant oluşumu için bir süre geçmektedir. Bu süreç içerisinde başlangıç hızlı salım etkisi ile salınan etkin madde miktarının fazla olması veya maksimum terapötik konsantrasyonu geçmesi durumunda ciddi yan etki, sistemik toksisite ve doku irritasyonu görülebilmektedir. Bu nedenle, bu sistemin kullanımı yalnızca terapötik indeksi geniş olan etkin maddelerle sınırlandırılmıştır.

Başlangıç başlangıç hızlı salımı kontrol etmede altı faktörün etkili olduğu bulunmuştur:

- Polimer konsantrasyonu (El-Say ve ark., 2016),
- Polimerin molekül ağırlığı (Astaneh ve ark., 2009),
- Polimerin hidrofobisitesi,
- Çözücü (Camargo ve ark., 2013; Madhu ve ark., 2009),
- Etkin maddenin yapısı,
- Yardımcı maddeler (Bakhshi ve ark., 2006; DesNoyer ve McHugh, 2003; Dong ve ark., 2011; Kamali ve ark., 2018; Talasaz ve ark., 2008; Tang ve Singh, 2008).

Bu parametrelerin tümü, polimerin çökme hızını ve etkin madde salım hızını etkilemektedir. Polimer konsantrasyonu, molekül ağırlığı ve hidrofobisitesi arttıkça başlangıç hızlı salım azalmaktadır. Çözücü seçimi ise oldukça karmaşıktır. Temelde çözücü ne kadar hidrofobikse jel oluşumu o kadar gecikmekte ve başlangıç hızlı salım daha az olmaktadır. Fakat polimer ile olan etkileşimi de dikkate alınmalıdır. Etkin maddenin molekül ağırlığı ve hidrofobisitesi bir başka belirleyici noktadır. Hazırlanan polimer çözeltisinde çözünüp çözünmemesi ve afinitesi salım profilini etkilemektedir. Yardımcı maddelerin kullanılmasındaki temel amaç ise ortamı daha hidrofobik yapmaktır.

### **1.8.2. İmplantlardan Etkin Madde Salımı**

Etkili bir uzatılmış salım sistemi tasarlamak için etkin madde salım mekanizması ve salım hızı üzerine etkili fiziko-kimyasal etkileşimleri anlamak olmazsa olmazdır. Literatüre bakıldığında salım mekanizması terimi ile etkin madde moleküllerinin taşınma/yer değiştirme mekanizması veya etkin madde molekülünün taşınma/yer değiştirme hızını etkileyen süreçler ifade edilmektedir. Fakat bu tez için salım mekanizması ile kastedilen etkin madde moleküllerinin taşınma/yer değiştirme mekanizmasıdır.

Uzatılmış salım sistemlerinde etkin madde salımı temel olarak dört mekanizma ile gerçekleşmektedir (Mäder, 2022):

- Difüzyon
- Polimer şişmesi
- Degradasyon/erozyon
- Ozmoz

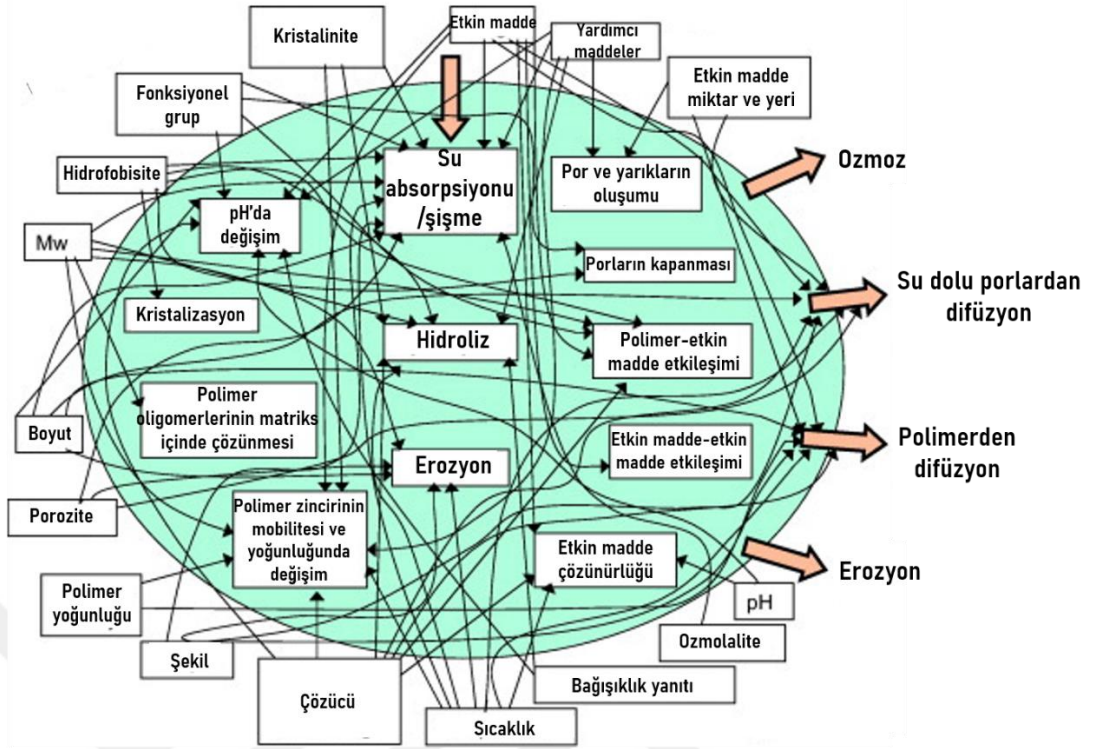
Bir polimerin kullanıldığı uzatılmış salım sistemlerinde difüzyon, salıma hakim olan mekanizmaların ilki olarak kabul edilmektedir. Difüzyon su ile dolan porlardan veya polimer boyunca gerçekleşebilmektedir. Dolayısıyla porozite, porların eğri-büğürlüğü, etkin maddenin difüzyon katsayısı, polimerin fiziksel formu,

hidrofobisitesi ve molekül ağırlığı gibi faktörlere bağlıdır. Erozyon ve şişme, düşük molekül ağırlıklı görece daha hidrofilik biyolojik olarak parçalanabilir polimerlerde porların oluşumuna neden olabilmekte ve difüzyonun su dolu porlardan gerçekleşmesini sağlayabilmektedir. Polimer boyunca difüzyon ise polimer zincirlerinin daha esnek olması sebebiyle düşük molekül ağırlıklı polimerlerde daha sık görülmektedir.

Bir başka salım mekanizması olan ozmoz ise ozmotik basınç ile suyun absorpsiyonu sonrası etkin maddenin konveksiyonu ile gerçekleşmektedir. Temel gereklilik ise bir denge sürecinden sonra suyun içeri ve dışarı geçişinin eşit olmasıdır.

Degradasyon mekanizmasında etkin maddenin taşınması/yer değiştirmesi söz konusu değildir. Parçalanmış polimer ile birlikte polimer matriks içine homojen olarak dağılmış etkin maddenin ortama salındığı varsayılmaktadır. Degradasyon sonucu oligomer/monomerlerin uzaklaşması sonucu yüzeyde gerçekleşen erozyon yüzeye yakın etkin madde moleküllerinin yer değiştirmeden salınmasını mümkün kılabilir. Fakat hidrasyon erozyondan çok daha hızlı gerçekleştiği için su absorpsiyonu sonrası oluşan porlardan etkin maddenin difüze olması daha büyük bir olasılıktır. Literatür verileri değerlendirildiğinde degradasyonun etkin madde salımı için baskın mekanizma olduğu çok az veri vardır.

Bütüncül bir yaklaşımla bakıldığında etkin madde salımında birden çok mekanizmanın rol aldığı söylenebilmektedir (Şekil 1.9). Salım profili ise salım mekanizmalarının değerlendirilmesi için bir temel oluşturmaktadır. Tek fazlı bir salım profili (özellikle sıfır derece) tercih edilmekle birlikte sık rastlanan bir profil değildir. Yaygın olarak polimerik sistemlerde iki fazlı, üç fazlı bir salım profili gözlenmektedir. Özellikle spesifik olarak in situ oluşan jellerde birinci aşamada başlangıç jelleşme başlangıcında başlangıç hızlı salım (difüzyon), ikinci aşamada polimer boyunca difüzyon, üçüncü aşamada ise polimer degradasyonu rol oynamaktadır. Bu mekanizmaların doğru tespiti için ise matematiksel modeller salım verileri için uygulanmakta ve baskın mekanizma belirlenmektedir (Fredenberg ve ark., 2011; Kumar ve ark., 2018).



**Şekil 1.9.** Polimer (PLGA) matrisi için etkin madde salımına yol açan fiziko-kimyasal mekanizmaların şematik gösterimi (Fredenberg ve ark., 2011).

### 1.8.3. Ticari Olarak Piyasada Bulunan İn Situ Oluşan Jel Preparatları

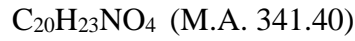
Piyasada bulunan üç in situ oluşan jel preparatı olan Sublocade<sup>®</sup>, Perseris<sup>®</sup>, Eligard<sup>™</sup> ve Atridox<sup>™</sup>, Atrigel<sup>™</sup> teknolojisi ile üretilmiş olup çözücü göçü ile jelleşme mekanizmasına sahiptir (Çizelge 1.4). Sublocade<sup>®</sup>, Perseris<sup>®</sup>, Eligard<sup>™</sup> ilaçlarında polimer olarak farklı laktid:glükolid oranlarına sahip PLGA; Atridox<sup>™</sup> ilacında ise PLA kullanılmıştır. Çözücü olarak ise tümünde de NMP tercih edilmiştir (Atridox, 2011; Eligard, 2016; Wang ve Burgess, 2021). Sonuçta yukarıda yer alan tüm sistemler içerisinde çözücü göçü ile jel oluşumunun klinik uygulamaya en uygun sistem olarak öne çıktığı görülmektedir.

**Çizelge 1.4.** Ticari olarak piyasada bulunan in situ oluşan jel preparatları (Wang ve Burgess, 2021).

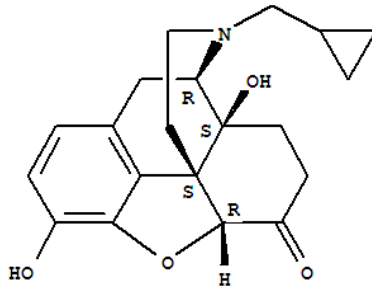
Ürün / Onay yılı	Toz form	Sıvı form	İğne (Gauge)	Etki süresi
<b>Atridox® 1988</b>	50 mg doksisisiklin hiklat	450 mg (%63,3 NMP içinde %36,7 PLA)	23	7 gün
<b>Eligard® 2002</b>	7,5 mg löprolid asetat	0,25 mL: 82,5 mg PLGA (L/G 50:50), 160 mg NMP	20	1 ay
	22,5 mg löprolid asetat	0,375 mL: 158,6 mg PLGA (L/G 75:25), 193,9 mg NMP	20	3 ay
	30 mg löprolid asetat	0,5 mL: 211,5 mg PLGA (L/G 75:25), 258,5 mg NMP	20	4 ay
	45 mg löprolid asetat	0,375 mL: 165 mg PLGA (L/G 85:15), 165 mg NMP	18	6 ay
<b>Sublocade® 2017</b>	-	0,5 mL: 100 mg buprenorfin, 178 mg PLGA (L/G 50:50), 278 mg NMP	19	1 ay
		1,5 mg buprenorfin, 533 mg PLGA (L/G 50:50), 833 mg NMP		
<b>Perseris® 2018</b>	90 mg risperidon	0,6 mL: 228 mg PLGA (L/G 80:20), 282 mg NMP	18	1 ay
	120 mg risperidon	0,8 mL: 304 mg PLGA (L/G 80:20), 376 mg NMP		

## 1.9. Naltrekson

### Kapalı Formülü



### Açık Formülü



## Kimyasal Okunuşu

(5 $\alpha$ )-17-(Siklopropilmetil)-3,14-dihidroksi-4,5-epoksimorfinan-6-on.

## Fizikokimyasal Özellikleri

Naltrekson 4 stereomerkeze sahiptir (1S,5R,13R,17S); birkaç diastereoizomeri mevcuttur (ChemSpider). Kullanılan sentez yöntemi, spesifik rotasyonu -222° ila -202° olan istenen diastereoizomerin oluşmasını sağlamaktadır (Dongbang ve ark., 2019; Seneca DMF;). Naltrekson beyaz – hafif kahverengi bir tozdur; erime noktası 168-170°C, logP<sub>oktanol/su</sub> değeri 1,90 ve pKa değeri 8,38'dir. Diklorometanda serbest çözünür; etanol ve asetonda çözünür; dietilelerde az çözünür; toluende güç çözünür ve suda pratik olarak çözünmez (Moffat ve ark., 2011; Seneca DMF).

## Miktar Tayini Yöntemleri

Naltrekson ve metaboliti olan 6 $\beta$ -nalteksol'ün miktar tayininde aşağıda sıralanan yöntemler kullanılmaktadır:

- Gaz kromatografisi: Elektron yakalama dedektörlü (GC-ECD) (Burse ve ark., 1977)
- Gaz kromatografisi – Kütle spektrometrisi (GC-MS) (Moffat ve ark., 2011; Toennes ve ark., 2004)
- Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) (Moffat ve ark., 2011; Liu ve ark., 2006; USP 31, 2008)
- Ultra viyole (UV) spektrofotometrisi (Liu ve ark., 2006)
- İnce tabaka kromatografisi (TLC) (Wall ve ark., 1981)
- Sıvı kromatografisi – Kütle spektrometrisi (LC-MS) (Brünen ve ark., 2010)

Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında yukarıda verilen yöntemlerden özellikle HPLC, GC-MS ve LC-MS'in naltreksonun miktar tayininde sıklıkla

kullanıldığı, tercih edildiği görülmektedir. Bu durumun birinci sebebi ise yöntemlerin daha hassas olmasıdır. İn vitro deneylerde naltreksonun miktar tayininde özellikle UV spektrofotometrisi ve HPLC; in vivo deneylerde ise genellikle GC-MS ve LC-MS kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalara bakıldığında HPLC ile miktar tayininde teşhis sınırının 1,2 ng/ml, tayin sınırının ise 2 ng/mL; LC-MS ile teşhis sınırının 0,2 ng/mL, tayin sınırının 0,5 ng/mL; GC-MS ile tayin sınırının 0,1 ng/mL olduğu görülmektedir (Brünen ve ark., 2010; Toennes ve ark., 2004). Bu durum da biyolojik numunelerde naltrekson tayininde çok daha hassas olan GC-MS ve LC-MS'in tercih edilme nedenini ortaya koymaktadır.

### Tanıma Yöntemleri

Etkin maddenin saflığı ve yapısı, elementel analiz ve spektral yöntemleri içeren çeşitli analitik yöntemlerle incelenmektedir. Bu yöntemlere proton ve karbon nükleer magnetik rezonans ( $^1\text{H}$  NMR ve  $^{13}\text{C}$  NMR), MS (Moffat ve ark., 2011), UV (Moffat ve ark., 2011) ve infrared (IR) (Moffat ve ark., 2011; USP 31, 2008) spektrofotometrileri örnek verilebilir.

### Farmakolojik özellikleri

#### *Endikasyonları*

Naltrekson, alkol ve opioid bağımlılığının psikososyal desteği de içeren çok yönlü tedavisinin bir parçasıdır. Naltrekson, daha önce opioid bağımlısı olan, detoksifiye bireylerde opioidsiz olma durumunun idamesine yardımcı olmak üzere, dışarıdan alınan opioidlerin farmakolojik etkilerinin blokajının sağlanmasında endikedir. Bu bireylerde tekrarlama/yeniden başlama eğiliminin düzeyi üzerine yararlı etkisi açık bir şekilde gösteren veriler bulunmamaktadır (Ethylex, 2007; Johnson, 2007; Revia, 2013; Vivitrol, 2010; World Health Organization, 2009)

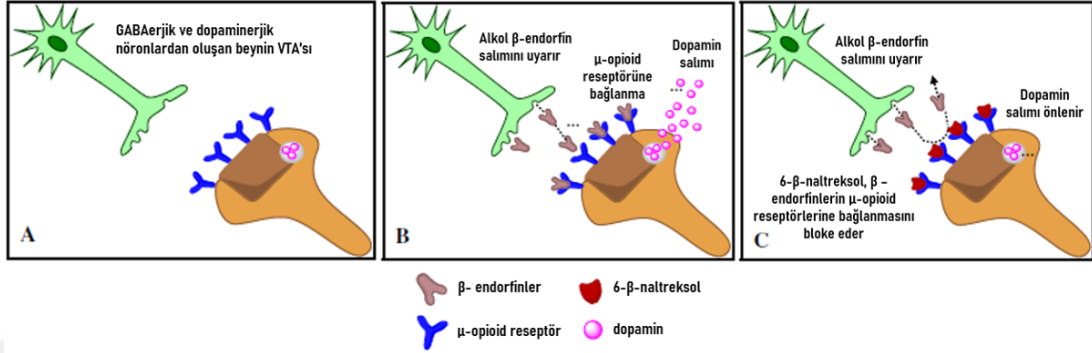
Naltreksonun ultra hızlı opioid detoksifikasyonu; kolestatik karaciğer hastalığı, sistemik veya dermatolojik hastalık nedenleriyle oluşan kaşıntı tedavisi; üremik kaşıntı için; tütün ve sigara bırakılması için psikososyal girişimlere yardımcı olarak etiket dışı kullanımlarına ilişkin çalışmalar mevcuttur (Prescribers' Digital Reference, 2021)

### *Etki mekanizması*

Naltrekson, santral sinir sisteminde bulunan mü ( $\mu$ ), kappa ( $\kappa$ ) ve delta ( $\delta$ ) reseptörlerinin kompetitif bir antagonistidir. Naltreksonun opioid denenmemiş hayvanlar ve insanlarda agonist etkileri minimumdur ya da hiç etki göstermemektedir. Naltrekson, eroin ve morfin gibi opioid agonistlerin etkilerini güçlü şekilde antagonize etmektedir. Naltrekson, nalmorfinden 17 kat ve naloksondan iki kat daha potenttir. Çalışmalar bağımlılık oluşturan maddelerin başlıca hedefinin mezolimbik dopamin sistemi olduğunu göstermektedir. Bu sistem beynin ödül merkezi olarak bilinen ventral tegmental alanından (VTA) kaynaklanmaktadır (Şekil 1.9). VTA'nın projeksiyon nöronlarının çoğu dopamin üreten nöronlardır. Opioidler, GABAerjik nöronların dopamin salgılanması üzerindeki inhibitör kontrollerini bloke ederek beyin ödül mekanizmasını aktif hale getirmekte ve uyuşturucu alma davranışı ve yoksunluğu indüklemektedir (Goonoo ve ark., 2014).

Alkolizmde etki mekanizmasının, endojen opioid sistemi içerdiği ve naltreksonun endojen opioidlerin bu reseptörlere bağlanmasını önleyerek  $\beta$ -endorfinler ve enkefalinler gibi endojen opioidlerin etkilerini bloke edebileceği ve böylece pozitif veya ödüllendirici yolları azaltabileceği belirtilmektedir (Şekil 1.10). Naltrekson kullanımı, tolerans ve bağımlılıkla ilişkili olmadığından kullanımın bırakılması sonrasında yoksunluk sendromuna neden olmamaktadır. Ayrıca naltrekson iğrendirici/tiksinti verici bir tedavi değildir ve naltrekson alırken opioid veya alkol içilmesi, disülfiram benzeri reaksiyon oluşturmamaktadır. Genel opioid konsantrasyonlarında, naltrekson, güçlü reseptör afinitesi nedeniyle, opioid agonistin reseptöre bağlanmasını önlemektedir. Bununla birlikte, opioid konsantrasyonları aşırı

derecede yüksek olduğunda, bu opioid naltrekson ile yer değiştirebilmekte ve solunum depresyonu ve/veya ölüm olasılığı ortaya çıkmaktadır (Prescribers' Digital Referense, 2021; Revia, 2013).



**Şekil 1.10.** GABAerjik ve dopaminerjik nöronlar arasındaki etkileşimin şematik gösterimi; (a) uyuşturucu madde ve antagonist olmaması durumu, (b) sadece uyuşturucu madde olması durumu, (c) hem uyuşturucu hem de antagonist olması durumu (Goonoo ve ark., 2014).

### *Doz ve uygulama yolu*

Naltrekson HCl tuzu olarak oral yolla 50 mg dozda uygulanmak üzere tabletleri (Depade<sup>®</sup>, Revia<sup>®</sup> ve Ethylex<sup>®</sup>) ve naltrekson baz olarak i.m. yolla 380 mg dozda uygulanmak üzere sürekli salım sağlayan mikroküreleri (Vivitrol<sup>®</sup>) ruhsatlandırılmış olarak bulunmaktadır. Türkiye’de sadece Ethylex<sup>®</sup> tablet formu mevcuttur. İlaçların uygulanmasından önce 7-10 gün süresince hastaların opioid kullanmamış olmaları gerekmektedir. Oral yolla verilşte doz, günde bir kez 50 mg veya bir haftada üç bölünmüş doz halinde 350 mg’dır; sürekli salım sağlayan i.m. mikroküre süspansiyonu ise ayda bir veya her 4 haftada bir uygulanmaktadır (Şekil 1.11 (A)). Bunların dışında TİTCK, FDA ve EMA’da ruhsatlı olmayan, steril implantasyon tabletleri mevcuttur (Çizelge 1.5). Prodetoxon<sup>®</sup> Rusya’da ruhsatlı olarak bulunmaktadır, s.c. uygulama için bir implantasyon tableti içeren steril hazır enjektör şeklindedir; 1000 mg naltrekson HCl, 10 mg triamsinolon asetat ve yardımcı madde olarak magnezyum stearat içermektedir (Şekil 1.11 (B)) (Drugs and Alcohol Addiction Treatment, 2021). Bu ilaç TEB vasıtasıyla reçete karşılığında yurtdışından temin edilmektedir.



Şekil 1.11. Naltreksonun dünyada bulunan ruhsatlı preparatları. A) Vivitrol®, B) Prodetoxone®.

Çizelge 1.5. Dünyada yer alan diğer preparatlar (Drugs and Alcohol Addiction Treatment, 2021).

Formülasyon	Ruhsat	Firma	Marka	Doz	Doz rejimi
Tablet	Tüm dünyada	Çeşitli sayıda	Çeşitli markalar	50 mg	12 haftaya kadar günde bir 50 mg
Enjekte edilebilir depo form	Ruhsatlı (ABD)	Alkermes (ABD)	Vivitrol	380 mg	Ayda bir enjeksiyon
İmplant	Ruhsatlı (Rusya)	Fidelity Capital (Rusya)	Prodetoxone	1000 mg	3 aylık
	Ruhsatlı (Özbekistan, İngiltere, Hindistan, Kenya, Rusya)	Rusan Pharma (Hindistan)	Addrex implant	765 mg	3 aylık
	Ruhsatsız	Go Medical Industries (Avustralya)	O'Neill Implants	1500 mg	2 aylık
	Ruhsatsız	Civil Life (Çin)	Chinese Implants	1850 mg	-

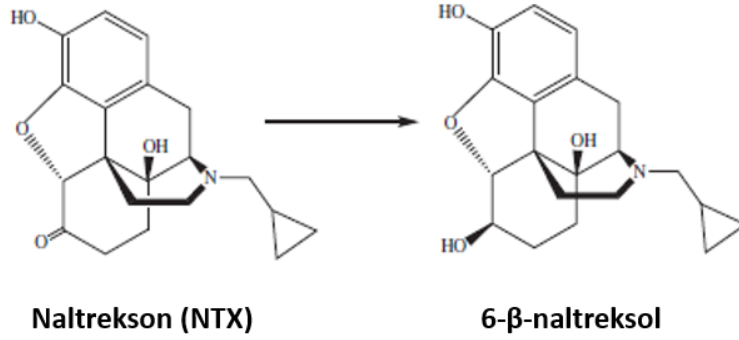
İlaçların kullanımında opioid yoksunluk sendromuna benzer semptomlar, kusma, mide bulantısı, kas seğirmeleri, eklem ve kas ağrıları, baş ağrısı, uyuma güçlüğü, anksiyete, sinirlilik, düşük enerji, abdominal ağrı/kramplar, kilo kaybı, ağız kuruması, libido azalması gibi advers etkiler kaydedilmiştir (>%10 görülme sıklığı). Enjeksiyonla uygulamada ise uygulama yerinde ağrı, sertleşme, kızarıklık, kaşıntı, şişme gibi advers reaksiyonlar da kaydedilmiştir. Naltrekson aşırı dozlarda (300 mg/gün) karaciğer hasarına neden olabileceğinden, akut hepatit veya karaciğer

yetmezliğinde kontrendikedir ve aktif karaciğer hastalığı olanlarda kullanımında hepatotoksik potansiyelin dikkatlice değerlendirilmesi gerekmektedir (Ethylex, 2007; Revia, 2013; Vivitrol, 2010). Bununla birlikte enjeksiyonla uygulanan sürekli salım ilacının kullanımında advers etkilerin şiddetinin daha düşük olduğu ve bu durumun etken maddenin kan konsantrasyonunun oral yolla verilise göre daha düşük olmasından kaynaklandığı belirtilmektedir (1-5 ng/mL - i.m. ve 10-30 ng/mL - oral) (Goonoo ve ark., 2014). Naltrekson tedavisi, bir yoksunluk sendromu olmaksızın kesilebilir; opioid agonist ile idame tedavisine başlanması, ciddi bir önlem gerektirmektedir, çünkü opioidlere tolerans çok düşük olacaktır. Aynı şekilde hastanın tekrar eroin kullanma niyeti ile ilacı kesmesi durumunda, eroin dozunu belirlemeleri güç olmaktadır. İlk 12 saat içinde eroinin daha önce kullanılan aynı dozu bloke edilebilmekte veya ölümcül olabilmektedir (World Health Organization, 2009). Kronik tedavide tolerans, fiziksel bağımlılık veya toksisite gözlenmemiştir (Willette ve Barnett, 1981).

#### Farmakokinetik Özellikleri

Naltrekson oral yolla veriliste gastrointestinal (GI) sistemden hızlı ve tam olarak absorbe edilmektedir (% 96), ancak ilk geçiş etkisine uğramakta ve karaciğerde metabolize edilmektedir. Bu nedenle etkin maddenin oral biyoyararlanımı % 5-60'tır. Naltreksonun, daha zayıf antagonist olmasına rağmen, uzun süreli etkisine katkıda bulunan aktif bir metaboliti, 6 $\beta$ -naltreksol'dür; naltreksondan ~12-50 kat daha düşük potense sahiptir (Şekil 1.12). Ancak naltrekson % 95 gibi yüksek miktarda ilk geçiş etkisine maruz kaldığından, 6 $\beta$ -naltreksol'ün plazma konsantrasyonları önemli derecede yüksektir (Johnson ve ark., 2010). Her iki madde de glukuronik asit ile konjuge edilmektedir. Bir oral dozun yaklaşık olarak % 40'ı 24 saat içinde idrardan atılmaktadır. Bunun % 8'i asıl olarak konjuge naltrekson, % 26'sı yine çoğunlukla konjuge 6- $\beta$ -naltreksol ve % 4'ü serbest 2-hidroksi-3-metoksi-6 $\beta$ -naltreksol'dur. Yaklaşık olarak dozun % 2'si, başlıca 6 $\beta$ -naltreksol olarak, 24 saat içinde feçeste elimine edilmektedir (Moffat ve ark., 2011; Prescribers' Digital Referense, 2021; Revia, 2013;). Sağlıklı erkek bireylerde (n=24) yapılan çalışmalara göre, 50-200 mg

doz aralığında, hem naltrekson hem de 6 $\beta$ -naltreksol için maksimum konsantrasyonlar ve eğri altındaki alanlar, doz ile orantılı iken eliminasyon yarı ömürleri ve maksimum konsantrasyona ulaşma süreleri dozdan bağımsızdır (Revia, 2013).



**Şekil 1.12.** Naltreksonun 6- $\beta$ -naltreksol'e metabolizasyonu.

Bir kerede 380 mg dozda i.m. yolla uygulanan sürekli salım sağlayan formülasyon ile naltreksonun günlük 50 mg dozda oral yolla uygulanan formülasyonu karşılaştırıldığında, total naltrekson maruziyeti oral yolla verilişte 3-4 kat daha yüksektir. İlk enjeksiyonu takibeden dozlama aralığında denge durumuna ulaşılmaktadır. Bu yolla uygulamada hepatik ilk geçiş etkisi olmaması nedeniyle, önemli derecede düşük miktarda 6- $\beta$ -naltreksol oluşmaktadır. Naltrekson ve metabolitlerinin eliminasyonu, başlıca idrar yoluyla gerçekleşmektedir; değişmeden atılan naltrekson miktarı minimumdur.

Aşağıdaki tabloda literatürlerden derlenen farmakokinetik parametreler verilmektedir (Çizelge 1.6).

Çizelge 1.6. Naltreksonun farmakokinetik özellikleri.

	Değer	Birim	Doz ve veriliş yolu		Açıklama	Referans
<b>Absorpsiyon hız sabiti</b>						
<b>C<sub>max</sub></b>	0,01-0,06	mg/L	100 mg	p.o.		(Moffat ve ark., 2011)
	0,08-0,13	mg/L	100 mg	p.o.	6β-naltreksol	(Moffat ve ark., 2011)
	43,6	ng/mL	100 mg	p.o.		(Gonzalez ve Brogden, 1988; Verebey ve ark., 1976 Willette ve Barnett, 1981)
	87,2	ng/mL	100 mg	p.o.	6β-naltreksol	(Verebey ve ark., 1976)
	8,6	ng/mL	50 mg	p.o.		(Revia, 2013)
	99,3	ng/mL	50 mg	p.o.	6β-naltreksol;	“
	9,3	ng/mL	50 mg	p.o.		(Krieter ve ark., 2019)
	4,1	ng/mL	2 mg	i.m.		“
	5,4	ng/mL	4 mg	i.n.		“
	15,7	ng/mL	4 mg	i.n.	Maltopiranozid ilaveli	“
	28,0	ng/mL	380 mg	i.m.	Her 28 günde bir olmak üzere 4 doz Vivitrol® uygulaması yapılmıştır.	(Syed ve Keating, 2013)
	34,2	ng/mL	380 mg	i.m.	6β-naltreksol	“
<b>T<sub>max</sub></b>	1-2	s	100 mg	p.o.		(Moffat ve ark., 2011)
	1-4	s	100 mg	p.o.	6β-naltreksol	(Moffat ve ark., 2011)
	1	s	100 mg	p.o.		(Gonzalez ve Brogden, 1988; Verebey ve ark., 1976)
	2	s	100 mg	p.o.	6β-naltreksol	(Verebey ve ark., 1976)
	1	s	50 mg	p.o.		(Revia, 2013)
	1	s	50 mg	p.o.	6β-naltreksol;	“
	0,5	s	50 mg	p.o.		(Krieter ve ark., 2019)
	0,3	s	2 mg	i.m.		“
	0,5	s	4 mg	i.n.		“
	0,2	s	4 mg	i.n.	Maltopiranozid ilaveli	“
	48	s	380 mg	i.m.	Her 28 günde bir olmak üzere 4 doz Vivitrol® uygulaması yapılmıştır.	(Syed ve Keating, 2013)
	72	s	380 mg	i.m.	6β-naltreksol	“

**Çizelge 1.6. Devam.** Naltreksonun farmakokinetik özellikleri.

<b>Biyoyararlanım</b>	% 5-40		50 mg	p.o.		(Revia, 2013)
	% 5-60					(Gonzalez ve Brogden, 1988)
<b>Dağılma hacmi</b>	1350	L	1 mg	i.v.		(Revia, 2013)
	16,1	L/Kg	100 mg	p.o.	Önceden opioid bağımlı bireyler	(Gonzalez ve Brogden, 1988)
	14,2	L/Kg	100 mg	p.o. (18 gün)	Önceden opioid bağımlı bireyler	(Gonzalez ve Brogden, 1988)
	20	L/Kg	-	-		(Moffat ve ark., 2011)
<b>Plazma proteinine bağlanma</b>	% 21-28					(Murrin, 2007; Prescribers' Digital Reference, 2021)
	% 20					(Gonzalez ve Brogden, 1988; Moffat ve ark., 2011)
	% 21				İn vitro test – insan plazması	(Revia, 2013)
<b>t<sub>1/2</sub></b>	1,1-3,9	s	-	p.o.	Bifazik eliminasyon (başlangıç)	(Murrin, 2007)
	9,7-10,3	s	-	p.o.	Bifazik eliminasyon (terminal)	“
	2,3-3,1	s	-	p.o.	6β-naltreksol; bifazik eliminasyon (başlangıç)	“
	11,4-16,8	s	-	p.o.	6β-naltreksol; bifazik eliminasyon (terminal)	“
	3,9-10,3	s	-	p.o.	Bifazik eliminasyon (başlangıç)	(Moffat ve ark., 2011)
	96	s	-	p.o.	Bifazik eliminasyon (terminal)	(Willette ve Barnett, 1981, s: 150)
	10 ~	s	-	p.o.		(Moffat ve ark., 2011)
	12	s	-	p.o.	6β-naltreksol	(Moffat ve ark., 2011)
	3	s	-	i.v.		(Moffat ve ark., 2011)
	1,1-10,3	s	-	p.o.		
	4	s	50 mg	p.o.		(Revia, 2013)
	12,9	s	50 mg	p.o.	6β-naltreksol;	(Revia, 2013)
	6,4	s	50 mg	p.o.		(Krieter ve ark., 2019)
	2,0	s	2 mg	i.m.		“
	2,5	s	4 mg	i.n.		“
	2,2	s	4 mg	i.n.	Maltopiranozid ilaveli	“
	113,5	s	380 mg	i.m.	Her 28 günde bir olmak üzere 4 doz Vivitrol® uygulaması yapılmıştır.	(Syed ve Keating, 2013)
123,1	s	380 mg	i.m.	6-β-naltreksol	“	

**Çizelge 1.6. Devam.** Naltreksonun farmakokinetik özellikleri.

Klirens						
	67-137	mL/dk	100 mg	p.o.	Plazma klirensi	(Murrin, 2007)
	283-318	mL/dk	100 mg	p.o.	6-β-naltreksol; plazma klirensi	“
	117	mL/dk	-	i.v.	Renal klirens	“
	89	mL/dk	-	p.o.	Renal klirens	“
	70	mL/dk/Kg	-	-	Sistemik klirens	(Moffat ve ark., 2011)
	92	mL/dk	1 mg	i.v.	Renal klirens	(Willette ve Barnett, 1981, s:129)
	360	mL/dk	1 mg	i.v.	6-β-naltreksol; renal klirens	“
	1567	mL/dk	-	p.o.	Sistemik klirens	(Gonzalez ve Brogden, 1988)
	30-127	mL/dk	50 mg	p.o.	Renal klirens	(Revia, 2013)
	230-369	mL/dk	50 mg	p.o.	6-β-naltreksol; renal klirens	“
	3500	mL/dk	1 mg	i.v.	Sistemik klirens	“

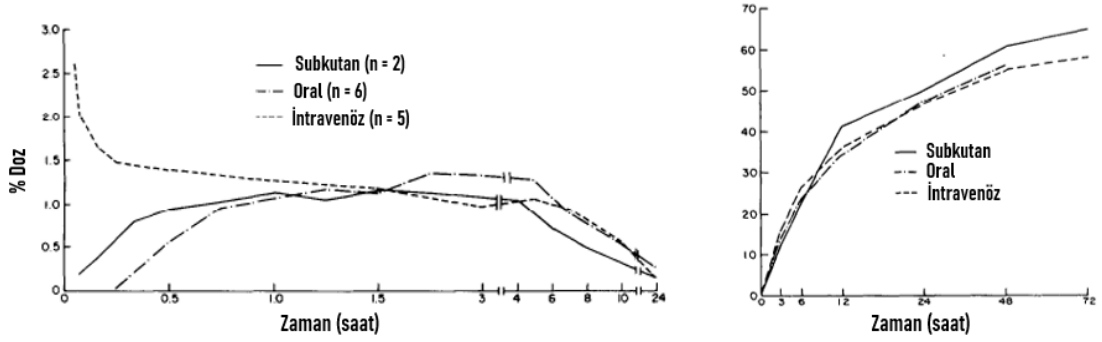
*s:saat; p.o.: peroral; i.v.: intravenöz; i.m.: intramüsküler; i.n.: intranazal;*

Naltreksonun oral yolla 50 ve 100 mg dozlarda alınması durumunda,  $C_{max}$  değeri 8,6 – 60 ng/mL arasında ve doza bağlı olarak yükselmektedir. 6 $\beta$ -naltreksolün  $C_{max}$  değeri ise 80-130 ng/ml aralığındadır; doza bağımlı değişkenlik ana madde kadar belirgin değildir.  $T_{max}$  süreleri, sırasıyla, 1-2 s ve 1-4 s'tir. Naltreksonun dağılma hacmi i.v. verilişte 1350 L'dir; önceden bağımlı bireylerde oral yolla kullanımda dağılma hacimleri 994 – 1400 L'dir. Bu yüksek dağılma hacmi, etkin maddenin bazik karakteri ve lipofilik karakteri nedeniyle ektravasküler dokularda yüksek derecede dağılımı ve adipoz dokuda tutulmasının bir sonucudur (Benet ve Zia-Amirhosseini, 1995). Oral yolla verilişte naltreksonun ve aktif metabolitinin önce kısa bir yarı ömür ve sonra ikinci ve daha uzun bir yarı ömür (terminal) gösterdiği kaydedilmiştir (Tablo 1.6). Bu durum enterohepatik resirkülasyonu öne sürmektedir (Gonzalez ve Brogden, 1988; Vree ve Van Der Ven André, 1999). Naltrekson ve 6 $\beta$ -naltreksolün muhtemelen vücut dokularına ilk dağılım ve ardından sistemik dolaşıma yeniden dağılımın sonucu olarak, plazma konsantrasyonlarının da oral uygulamayı takiben üç fazlı bir şekilde düştüğü bildirilmiştir (PubChem, 2022). Naltreksonun i.v. verilişte sistemik klirensi 3.5 L/dk'dır ve karaciğer kan akış hızının (1,35 L/dk) üstünde olması naltreksonun yüksek derecede (% 98 üzerinde) metabolize edildiğini ve etkin maddenin ekstrahepatik metabolizma yerlerinin de olduğunu düşündürmektedir (Revia, 2013). Oral yolla verilişte sistemik klirensi (total vücut klirensi) 67-137 mL/dk ve renal klirensi 30-127 mL/dk arasında değişmektedir. Renal klirensi, referans olarak inülinin klirensi (125-130 mL/dk) ile karşılaştırıldığında etkin maddenin kısmen reabsorbe olduğunu göstermektedir; 6- $\beta$ -naltreksol ise aktif sekresyon ile böbreklerden atılmaktadır (Shargel ve ark., 1999; Goonoo ve ark., 2014; Verebey ve ark., 1976). Plazma proteinine bağlanma oranı, klinik olarak önemli olmayan düşük düzeydedir (% 20-28) (Çizelge 1.6).

Verebey and Mule (Willette ve Barnett, 1981) 100 mg oral doz verilişinden bir saat sonra pik plazma naltrekson düzeylerinde 15-64 ng/mL arasında değişen belirgin bireysel varyasyonlar gözlemlendiğini rapor etmiştir. Dozdan bağımsız olarak, etkin madde verilişinden 12-24 saat sonra yoğun metabolizma ve etkin dağılımın sonucu olarak etkin madde plazma düzeyleri 2-9 ng/mL gibi düşük düzeylere inmiştir. Etkin madde 800 mg/gün gibi yüksek bir oral dozda verildiğinde ortalama 9 ng/mL plazma

düzeyine ulaşılmış; tedavi kesildikten 2 hafta sonra ise, etkin maddenin vücuttan hızlı ve etkin bir şekilde elimine edildiğini gösteren önceki bulguları doğrulayacak şekilde, naltrekson ve metabolitleri plazmadan tamamiyle uzaklaşmıştır. En düşük etkin naltrekson plazma düzeyinin 2 ng/mL olduğu belirtilmiştir. Bu düzey i.v. 25 mg eroinin etkilerinin ortalama % 86,5'ini bloke etmiştir. Diğer bir literatürde ise minimum plazma düzeyi olarak 1 ng/mL kaydedilmiştir. Naltrekson büyük ölçüde aldo-ketoreduktaz ailesindeki enzimler (AKR1C1, 1C2 and 1C4) ve en etkin olarak da AKR1C4 ile metabolize edilmektedir. Bu enzimin bir polimorfizminin bireylerarası değişkenlikten sorumlu olduğuna inanılmaktadır (Goonoo ve ark., 2014).

Bir çalışmada naltreksonun biyoyararlanımını değerlendirmek üzere radyoaktif işaretlenmiş naltrekson sağlıklı erkek bireylere 50 mg oral, 1 mg i.v. ve 5 mg s.c. miktarda uygulanmıştır. Değerler bireylerin ağırlıklarından belirlenen teorik total plazma hacminde ölçülen başlangıca göre yüzde radyoaktivite olarak belirlenmiştir. Oral ve s.c. uygulamayı takiben bir saatte maksimum plazma düzeylerine ulaşılmıştır. Etkin maddenin s.c. enjeksiyonundan sonra daha hızlı absorbe edildiği gözlenmiştir. Naltrekson verilisinden bir saat sonra gözlenen plazma radyoaktivite düzeyleri her üç yolla verilis için benzer bir gidişat göstermiştir ki bu da oral ve s.c. verilis sonrasında etkin maddenin iyi bir biyoyararlanıma sahip olduğunu vurgulamaktadır (Şekil 1.13 A). Farklı yollarla veriliste etkin maddenin üriner atılım profilleri de birbirine benzemektedir. Bu sonuç naltrekson ve/veya metabolitlerinin renal klirensinin sabit ve verilis yolundan bağımsız olduğunu göstermektedir (Şekil 1.13 B).



**Şekil 1.13.** A) Uygulanan dozun total plazma hacminde mevcut yüzde miktarı; B) Uygulanan dozun üriner yolla atılan yüzde miktarı.

Naltreksonun farmakokinetik özellikleri, sağlıklı bireylerde i.n. uygulama sonrasında incelenmiştir. Aşırı doz opioid alındığında semptomların, hızlı bir etki başlangıcı ile tersine döndürülmesi için naltrekson HCl içeren nazal sprey uygulaması tasarlanmıştır. İntranazal absorpsiyonu artırmak için dodesil maltopiranozid'in yararlılığı da incelenmiştir.  $C_{max}$  ve  $T_{max}$  değerleri, FDA'de ruhsatlı olan i.n. 4 mg - nalokson spreylere karşılaştırılabilir bulunmuştur. Formülasyona absorpsiyon artırıcı ilavesi,  $C_{max}$  değerini 3 kat artırmış ve  $T_{max}$  değeri 0,5 saatten 0,17 saate azalmıştır (Çizelge 1.6). 6 $\beta$ -naltreksolün oral verilişte 90,7 ng/mL olan  $C_{max}$  değeri, i.n. verilişte 3,0 ve 3,3 ng/mL ve i.m. verilişte 1,5 ng/ml olmuştur. Ancak oral yolla verilişte göre i.n. verilişte plazma yarı ömrü (~2,5 s -2,2 s) kısa olduğu için, bu yolun hayat kurtarma için yararlılığının sınırlı olabileceği; ancak hızlı etki başlangıcı nedeniyle alkol kullanımı hastalığının tedavisi için gerektiğinde doz uygulamasını içeren, diğer endikasyonlarda yararlı olabileceği belirtilmiştir (Krieter ve ark., 2019).

#### Naltrekson'un Sürekli Salım için Dozu ve Preparatlardan Salım Hızının Belirlenmesi

Oral yolla alınan naltreksonun opioid ve alkol bağımlılığının tedavisi için teorik olarak güçlü potansiyeline rağmen klinik deneyimler hayal kırıklığı oluşturmaktadır; çünkü tedavinin yarı bırakılma olasılığı yüksektir ve ilacın alınması için hasta uyuncu zayıftır (Jarvis ve ark., 2018). Oral yolla kullanım hasta üzerinde, ilacı alıp almama konusunda bir sorumluluk yüklemekte ve çoğu kez hastalar ilacın kullanım sıklığına uymamaktadır. Bunun sonucu olarak, yoğun klinik müdahalelere rağmen,

hasta tedaviyi kesebilmekte ve opioid kullanımına yeniden başlayabilmektedir. Bir diğer nokta, oral verilişte etkin maddenin karaciğerde ilk geçiş etkisine uğraması ve bu nedenle biyoyararlanımının düşük olmasıdır. Ayrıca plazma etkin madde düzeyleri, yan etkilerden de kısmen sorumlu olabilecek şekilde, iniş-çıkışlar şeklinde düzgün olmayan bir profil vermektedir. Bu nedenlerle naltrekson idame tedavisi için sürekli salım yapan naltrekson preparatlarının enjeksiyon veya cerrahi müdahale ile vücuda uygulanması alternatif bir yol olmuştur (Goonoo ve ark., 2014; Kunoe ve ark., 2009; Roozen ve ark., 2007). Mevcut durumda naltreksonun sürekli salımı için iki teknoloji vardır: i.m enjeksiyon için mikroküre süspansiyonu ve cerrahi işlemle s.c. uygulanan implant pellet ve tabletler. Bu teknolojiler klasik dozaj formlarına göre, artan etkinlik, azalan toksisite, artan hasta uyuncu ve uygunluğu gibi avantajlar sağlamaktadır.

Çok sayıda naltrekson içeren s.c. implant bulunmakla birlikte resmi onaylı olanları azdır. Ruhsatlı oldukları ülkeler dışında kullanımları, ülkelerin sağlık kuruluşlarının iznine bağlı olarak getirilmektedir. Prodetoxone® Rusya'da onaylıdır; 1000 mg naltrekson HCl, 10 mg triamsinolon asetonit ve magnezyum stearat içermektedir. Naltrekson HCl içeren implant tabletler yaklaşık olarak 2 cm yükseklikte ve 1 cm çapta basılmış ve alt karın alanında cilt altında oluşturulan kesiye yerleştirmek için uygun bir steril enjektör içine yerleştirilmiştir. Bu implantasyon tabletleri üç ay süre ile etkin madde salımı sağlamaktadır. Farmakokinetik çalışmalar, belirgin bireylerarası varyasyona rağmen 30-60 gün süreyle terapötik olarak önemli etkin madde kan düzeylerine (20 ng/mL) ulaşabildiğini göstermiştir (Goonoo ve ark., 2014; E. Krupitsky ve ark., 2019). Addtrex® 765 Implant, Gürcistan ve Özbekistan'da onaylıdır; İngiltere'de izinli olarak sağlanabilmektedir. Bu ilaç, toplam 765 mg baz etkin madde içeren iki steril tablet ve yanısıra steril enjektör içermektedir ve yine 12 hafta veya 3 ay etki süresine sahiptir. Naltrekson implantların 1-2 ng/mL olarak terapötik etki düzeylerini belirtilen süreler boyunca sağladığı kaydedilmiştir (Drugs and Alcohol Addiction Treatment, 2021). Bu ilaçlar dışında Avustralya ve Çin'de biyolojik olarak parçalanabilir polimerlerle hazırlanan implantlar da bulunmaktadır. Bunlarda da uzun süreli olarak 1-2 ng/mL etkin madde kan düzeyleri sağlanmıştır (Goonoo ve ark., 2014). Go Medical Industries'in (Avustralya) O'Neill Implants isimli implantlarının vücutta 8-10 mg/gün hızda yavaş naltrekson salımı sağladığı ve 180-

240 gün arasında opiyatların etkilerini efektif bir şekilde bloke ettiği gösterilmiştir. Bazı implantlar bölünmüş dozları içeren 100-200 mg ağırlığında pelletler şeklindedir. Tek bir tablet olarak implantların hazırlanması özel ekipman gerektirirken bunların tablet makinalarında istenilen büyüklükte basılmaları mümkündür. Civil Life Scientific Company'nin (Çin) implantları herbiri 185 mg naltrekson içeren 10 pellet şeklindedir; bu pelletler ise naltreksonun PDLLA ile hazırlanan mikrokürelerinin basılması ile oluşturulmuştur. Pelletlerden in vitro salım hızının, başlangıç miktara göre 3,7- 14,8 mg/gün olmak üzere, kalan kütlenin % 0,2 - % 0,8 aralığında değiştiği belirtilmiştir. Bu implantların s.c. uygulamasından sonra 48 hastadan alınan kan örnekleri, naltreksonun 6 ay süre ile 1 ng/mL üzerinde bir düzeyde bulunduğunu göstermiştir (Colquhoun, 2013).

Diğer bir çalışmada naltreksonun eroin-bağımlı hastalarda (n=50) 3,3 g naltrekson implantının daha önce hastalara uygulanan (n=10) 1,1 g ve (n=24) 2,2 g implanta ilişkin bulgularla karşılaştırmalı olarak sağladıkları terapötik konsantrasyon ( $\geq 2$  ng/ml) sürelerinin tayin edilmesi amaçlanmıştır. Çünkü naltreksonun klinik yararlanımı için pek çok çalışmada kan konsantrasyonunun 1-2 ng/mL aralığında olması belirtilirken, bir kısım araştırmacının % 100 tedavi sağlanması için 10-30 ng/mL aralığını ileri sürdükleri belirtilmiştir. Araştırmada 1 ng/mL üzerinde naltrekson düzeyinin devam etme süresi izlenmiştir, çünkü kazaen aşırı dozajına karşı profilaktik bir düzey sağlayabileceği ve opioidlerin pozitif sübjektif etkilerinin bazılarını bloke edebileceği belirtilmiştir. İmplant uygulamasından sonra hastalar yaklaşık olarak bir yıl süre ile izlenmiştir. Buna göre 3,3 g implant uygulamasında naltrekson kan düzeyi 145 gün süre ile 2 ng/mL, 214 gün süre ile 1 ng/mL üzerinde kalmıştır. Terapötik konsantrasyon için süre, 1,1 g dozlu implant ile elde edilen (95 gün) süreden önemli derecede uzun bulunurken 2,2 g dozlu implanttan elde edilen (136 gün) süreden önemli derecede farklı bulunmamıştır (Ngo ve ark., 2008).

Uzun süre etkili biyolojik olarak parçalanabilir polimerik mikroküre süspansiyonu formunda olan Vivitrol'ün i.m. enjeksiyonundan sonra, naltrekson plazma konsantrasyonu-zaman profili, enjeksiyondan yaklaşık olarak 2 saat sonra görülen geçici bir başlangıç pik ve sonra yaklaşık olarak 2-3 gün sonra sonra

gözlenen ikinci bir pik ile karakterize edilmektedir. Sağlıklı bireylere her 28 günde bir uygulanan 4 doz Vivitrol ile elde edilen farmakokinetik parametreler şöyledir: Sırasıyla naltrekson ve 6- $\beta$ -naltreksol için  $C_{max}$  değerleri 28,0 ve 34,2 ng/mL;  $t_{max}$  değerleri 2,0 ve 3,0 gün; eliminasyon yarı ömürleri,  $t_{1/2}$  4,73 ve 5,13 gün olmuştur. Oral yolla 28 gün süre ile günde bir kez uygulanan 50 mg naltrekson dozu ile karşılaştırıldığında AUC değeri yaklaşık olarak 4 kat fazla olmuştur (160'a karşılık 41 ng.gün/mL) (Syed ve Keating, 2013). Dozlamadan sonraki yaklaşık 14. günden itibaren konsantrasyonlar, bir aydan uzun bir süre boyunca ölçülebilen düzeylerle birlikte, yavaşça azalmakta ve 35 günden fazla süre ile 1 ng/mL üzerinde kalmaktadır (Syed ve Keating, 2013; Vivitrol, 2010). Mikrokürelerden naltrekson salımı, difüzyon ve polimer degradasyonu ile kontrollü olarak gerçekleşmektedir. İn vitro koşullarda etkin madde salımı, in vivo gözlenen salım davranışına göre üç ayrı faz olarak tanımlanabilmektedir: Enjeksiyondan sonraki 24 saat içinde yüzeyden başlangıç etkin madde salımı, ilk hafta esnasında ortaya çıkan bir hidrasyon fazı ve 2-4 hafta süresince gözlenen ve hemen hemen sabit hızda sürekli etkin madde salımı. Vivitrol'den gözlenen ortalama plazma konsantrasyonu, 380 mg doz düzeyinde 35 günden günden daha uzun bir süre boyunca 1 ng/ml üzerinde olmuştur (Krupitsky ve Blokhina, 2010).

Hem s.c. ve hem de i.m. uygulamada, günlük oral dozlamayı ve ilk geçiş etkisini elimine etmek üzere 1-6 ay süresince uzatılmış naltrekson salımına ulaşılması etkinlik olarak avantajlı olmakla birlikte bu uygulamalarla ilgili bazı kısıtlamalar bulunmaktadır. İmplantların s.c. uygulaması için bir cerrahi işlem gerekmesi yanısıra uygulama yerinde enflamasyon, fibrozis ve yabancı maddeye doku reaksiyonu gibi yan etkiler söz konusu olabilmektedir. Mikrokürelerin i.m. uygulamasında ise enjeksiyon yerinde duyarlılık, sertleşme, enflamasyon, ağrı, anjiyoödem gibi yan etkiler gözlenebilmektedir. Ayrıca enjeksiyonu güçleştirecek şekilde mikroküre agregasyonu ve iğne tıkanması gibi durumlar da kaydedilmiştir (Roozen ve ark., 2007).

Bu bilgiler ışığında uzun süreli etkin madde salımı sağlama yanısıra uygulama ile ilgili kısıtlamaları önleyebilecek/azaltabilecek bir in situ jel sisteminin

hazırlanması tasarlanmıştır. Bu jel sistemi yapısal olarak tabletler şeklindeki implantlar ve mikrokürelerden farklı olduğu için etkin madde salım tarzı – mekanizması da farklılık gösterecektir. Bir çözelti formunda olan bu sistem enjeksiyonu takiben jelleşmeden önce, bir bariyer olmadığı için yüksek bir başlangıç hızlı salım oluşturmaktadır. Takiben etkin madde salımı yavaşlamaktadır. Başlangıç hızlı salım naltreksonun mikrokürelerinde de gözlenmekle birlikte in situ jelleşen sistemlere göre daha düşük olmaktadır. İn situ jelleşen sistemlerden başlangıçtaki bu hızlı salımın bir ilk doz ve başlangıç etki oluşturma açısından uygunluğu belirtilmektedir (Park ve ark., 2019). Çalışmamız kapsamında geliştirilecek 28 gün süreli uzatılmış salım sağlması tasarlanan in situ jel formülasyonlarından etkin madde salım profilini belirlemek üzere naltreksonun Çizelge 1.6'daki farmakokinetik parametrelerinden hareketle, bir doz tasarımı yapılmıştır (Robinson ve Eriksen, 1970; Kaynar-Özdemir ve Ağabeyoğlu, 1987). Naltreksonun s.c. tablet implantı (1,0-1,1 g / 90 gün; 311 - 342 mg / 28 gün) ve i.m. mikroküre (380 mg / 28 gün) dozları gözönünde bulundurulmuştur. Hesaplamalar için kullanılan farmakokinetik parametreler aşağıda verilmektedir:

$$C_{max} = 43,6 \text{ ng/mL}$$

$$V_d = 1350 \text{ L}$$

$$t_{1/2} = 96 \text{ s}$$

$$h = 672 \text{ s (etkin madde salım süresi)}$$

İlk doz,  $D_i$ ; eliminasyon hız sabiti,  $K_{el}$ ; sıfır derece etkin madde salım hız sabiti,  $k_{r0}$ ; sürdürme dozu,  $D_m$ ; toplam doz,  $D_t$  ve dozlama aralığı,  $\tau$  aşağıdaki eşitliklerle hesaplanmıştır:

$$D_i = C_{max} * V_D = 43,6 * 1350 * 1000 = 58,860 \times 10^7 \text{ ng} \approx 59 \text{ mg}$$

$$K_{el} = \frac{0,693}{t_{\frac{1}{2}}} = \frac{0,693}{96} = 7,219 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$$

$$k_{r0} = K_{el} * D_i = 7,219 \times 10^{-3} \times 59 = 0,426 \text{ mg/s}$$

$$D_m = k_{ro} x h = 0,426 x 672 = 286,272 \approx 286 \text{ mg}$$

$$D_t = D_i + D_m = 59 + 286 = 345 \text{ mg}$$

Farklı formülasyonların karşılaştırılması için  $D_i$  ve  $k_r^o$  değerleri yüzde a/a olarak hesaplanmıştır. Buna göre formülasyonların geliştirilmesinde dikkate alınacak, ilk doz ve sıfır derece salım hız sabitleri aşağıdaki şekilde belirlenmiştir.

$$D_i = \frac{(59 * 100)}{345} = 17,101 \text{ mg}$$

$$k_{ro} = 7,219 x 10^{-3} x 17,101 = 0,123 \text{ mg/s}$$

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Kullanılan Aletler

3 Pozisyonlu Isıtıcı Manyetik Karıştırıcı	Stuart SB 162-3 (İngiltere)
C18 ters faz HPLC kolonu	Supelco (250 mm x 4,6 mm x 5 µm) (ABD)
Cam malzemeler	İsolab (Almanya), Pyrex (ABD)
Çalkalayıcı su banyosu	GFL 1083 (Almanya)
Diferansiyel Termal Analiz (DTA)	DTG-60H Shimadzu (Japonya)
Enjektör (2 mL, 5 mL)	SetMedikal (Türkiye)
Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrometresi (FT-IR)	Agilent Cary 630 (ABD)
Hassas terazi	Sartorius BL 210 S (Almanya)
HPLC vial	İsolab (Almanya)
İnsülin iğnesi	AYSET /Türkiye)
Liyofilizatör	Chriss Alpha 1-2 LD plus (İngiltere)
Mikropipet uçları (20-200 µL ve 100-1000 µL)	İsolab (Almanya)
Mikropipetler (20-200 µL ve 100-1000 µL)	İsolab (Almanya)
Paket programlar	SPSS 13 (ABD)
pHmetre	Mettler Toledo (ABD)
Polivinilidenflorür enjektör filtresi (0,45 µm ve 0,22 µm)	İsolab (Almanya)
Selüloz asetat enjektör filtresi (0,45 µm ve 0,22 µm)	İsolab (Almanya)
Selüloz asetat membran filtre (0,45 µm)	İsolab (Almanya)
Steril polivinilidenflorür enjektör filtresi (0,22 µm)	İsolab (Almanya)
Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	FEI Quanta FED 400 (ABD)
Tekstür Analiz Cihazı	TA-Xt Plus Stable Micro Systems (İngiltere)
Terazi	Radwag (Polonya)
Terazi	Scaltec (ABD)
Ters faz HPLC kolonu	Phenomenex (250 x 4,60 mm x 4 µm) (ABD)
Ultrasonik banyo	Ultrasonic LC 30 (Almanya)
UV spektrofotometre	Agilent Cary 60 (ABD)
Viskozimetre	Brookfield DV-I (ABD)
Vortex	Heidolph reax-top (Almanya)
Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	Agilent 1100 (ABD)

## 2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Asetonitril	İsolab (Almanya)
Benzil alkol	Sigma Aldrich (Almanya)
Benzil benzoat	Sigma Aldrich (Almanya)
Diamonyum fosfat	Sigma Aldrich (Almanya)
Dimetil sülfoksit	İsolab (Almanya)
Disodyum hidrogen fosfat.2H <sub>2</sub> O	İsolab (Almanya)
Etanol	Merck (Almanya)
Etil benzoat	Sigma Aldrich (Almanya)
Etil heptanoat	Sigma Aldrich (Almanya)
L-laktik asit	Riedel-de Haen (Almanya)
N-Metil pirolidon	Sigma Aldrich (Almanya)
orto-Fosforik asit %85	İsolab (Almanya)
PEG4000	Sigma Aldrich (Almanya)
Poli(D, L laktid) (M <sub>n</sub> 18 000 – 28 000), ester uçlu (Resomer <sup>®</sup> R 203 S)	Sigma Aldrich (Almanya)
Poli(D, L-laktid- <i>ko</i> -glikolid) 50:50 (M <sub>n</sub> 38 000 – 54 000), ester uçlu (Resomer <sup>®</sup> RG 504)	Sigma Aldrich (Almanya)
Poli(D, L-laktid- <i>ko</i> -glikolid) 85:15 (M <sub>w</sub> 190 000 – 240 000), alkil eter uçlu (Resomer <sup>®</sup> RG 858 S)	Sigma Aldrich (Almanya)
Poli (D, L-laktid- <i>ko</i> -glikolid)- <i>blok</i> -poli(etilen glikol)- <i>blok</i> - poli(D,L-laktid- <i>ko</i> -glikolid) (PLGA-PEG-PLGA) (M <sub>n</sub> 6000-15 000)	Sigma Aldrich (Almanya)
Poli(etilen glikol) dimetil eter (M <sub>n</sub> = 250)	Sigma Aldrich (Almanya)
Poli(ε-kaprolakton) (M <sub>n</sub> 80 000)	Sigma Aldrich (Almanya)
Polietilen glikol 400 (PEG400)	Sigma Aldrich (Almanya)
Polietilen glikol 4000	Sigma Aldrich (Almanya)
Potasyum dihidrojen fosfat	Sigma Aldrich (Almanya)
Sodyum azid	Sigma Aldrich (Almanya)
Sodyum dodesil sülfat	Sigma Aldrich (Almanya)
Sodyum Hidroksit (1 M)	Norateks
Sodyum klorür	MolyChem (Hindistan)
Stearik asit	Sigma Aldrich (Almanya)
Triasetin	Fluka (ABD)
Tween 20	İsolab (Almanya)

### 2.3. Çalışmalarda Kullanılan Ortamların Bileşimi ve Hazırlanması

Çalışmalarda aşağıda bileşimleri verilen ortamlar kullanılmıştır.

Etkin Madde Salım Ortamı Olarak Kullanılan pH 7,4 Fosfat Tamponlu Salin Çözeltisi (PBS) (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid)

Disodyum hidrojen fosfat.2H <sub>2</sub> O.....	2,98 g
Potasyum dihidrojen fosfat.....	0,19 g
Sodyum klorür.....	8,00 g
Sodyum azid*.....	%0,02 a/h
Tween 20*.....	%0,02 a/h
Distile su.....y.m.....	1000 mL

\*İşaretili maddeler naltrekson salım testi için EP8 de yer alan pH 7,4 PBS tamponuna eklenmiştir.

*Hazırlanışı:* 2,98 g disodyum hidrojen fosfat dihidrat, 0,19 g potasyum dihidrojen fosfat, 8 g sodyum klorür ve %0,02 sodyum azid distile suda çözülür. Daha sonra Tween 20 eklenir ve bir süre karıştırılır. Gerekli olması halinde orto-fosforik asit ile pH ayarlanır ve hacim distile su ile 1000 mL'ye tamamlanır (Food and Drug Administration, 2011; EP 8, 2016).

Etkin Madde Miktar Tayini için pH 2,1 Diamonyum Fosfat Tamponu

Diamonyum fosfat.....	1,321 g
Sodyum dodesil sülfat.....	11,534 g
Distile su.....y.m.....	2000 mL

*Hazırlanışı:* 1,321 g diamonyum fosfat ve 11,534 g sodyum dodesil sülfat distile suda çözülür. Orto-fosforik asit ile pH ayarlandıktan sonra hacim distile su ile 2000 mL'ye tamamlanır. HPLC analizleri için kullanılmadan önce 0,45 µm por çaplı

selüloz asetat membrandan süzülerek 20 dk süresince degaze edilir (Ventura ve ark., 1988).

Laktik Asit Tayini için 20 mM pH 2,0 Potasyum Fosfat Tamponu

Potasyum dihidrojen fosfat..... 2,72 g  
Distile su.....y.m..... 1000 mL

*Hazırlanışı:* 2,72 g potasyum dihidrojen fosfat suda çözülür. pH'sı orto-fosforik asit ile ayarlandıktan sonra distile su ile 1000 mL'ye tamamlanır. HPLC analizleri için kullanılmadan önce 0,45 µm'lik selüloz asetat (CA) membrandan süzülerek 20 dakika süresince degaze edilir (Phenomenex (a), 2022; Phenomenex (b), 2022).

## **2.4. Naltreksonun Miktar Tayini Yöntemlerinin Geliştirilmesi**

### **2.4.1. Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Salım Ortamında HPLC Analizi**

Naltreksonun PBS ile 100 µg/mL konsantrasyonda çözeltisi hazırlanmış ve 200-400 nm arasında spektrumu alınarak maksimum absorbans verdiği dalga boyu belirlenmiştir. Tamponda yer alan tuzlar ile etkin madde pikini ayırabilmek ve keskin bir pik elde edebilmek için mobil faz oranları, akış hızı, kolon sıcaklığı ve enjeksiyon hacmi gibi parametreler optimize edilmiştir.

### **2.4.2. Naltreksonun HPLC ile pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında Standart Doğrularının Hazırlanması**

Naltreksonun PBS'de 100 µg/mL konsantrasyona sahip stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözelti seyreltilerek farklı konsantrasyonlara sahip bir seri

çözelti (1-100 µg/mL) 3 paralel olacak şekilde hazırlanmış ve belirlenen dalga boyunda analizler yapılmıştır. Konsantrasyonlara (x eksen) karşı alan değerleri (y eksen) grafiğe geçirilerek standart doğruları ve standart doğru denklemleri elde edilmiştir.

#### **2.4.3. Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında ve Etanol İçinde UV Spektrofotometre ile Analizi**

Naltreksonun PBS ortamı ve etanol içinde 100 µg/mL konsantrasyonda çözeltileri hazırlanarak UV spektrofotometrede 200-400 nm arasında spektrumu alınmış ve maksimum absobans gösterdiği dalga boyu ( $\lambda_{max}$ ) tespit edilmiştir.

#### **2.4.4. Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında ve Etanol İçinde UV Sektrofotometri ile Standart Doğrularının Hazırlanması**

Naltreksonun PBS ortamı ve etanolde 2 mg/mL konsantrasyona sahip stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözelti seyreltilerek farklı konsantrasyonlara sahip bir seri çözelti (40-240 µg/mL) 3 paralel olacak şekilde hazırlanmış ve belirlenen  $\lambda_{max}$ 'da analizler yapılmıştır. Konsantrasyona (x eksen) karşı alan değerleri (y eksen) grafiğe geçirilerek standart doğru ve standart doğru denklemleri elde edilmiştir.

### **2.5. Benzil Alkolün Miktar Tayini Yöntemlerinin Geliştirilmesi**

#### **2.5.1. Benzil Alkolün pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında HPLC Analizi**

Benzil alkolün PBS ile 100 µg/mL konsantrasyonda çözeltisi hazırlanmış ve 200-400 nm arasında spektrumu alınarak maksimum absorbans verdiği dalga boyu

( $\lambda_{\max}$ ) belirlenmiştir. Tamponda yer alan tuzlar, etkin madde ve benzil alkol pikini ayırabilmek ve keskin bir pik elde edebilmek için mobil faz oranları, akış hızı, kolon sıcaklığı ve enjeksiyon hacmi gibi parametreler optimize edilmiştir.

### **2.5.2. Benzil Alkolün HPLC ile pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında Standart Doğrularının Hazırlanması**

Benzil alkolün PBS'te 500  $\mu\text{g/mL}$  konsantrasyona sahip stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok seyreltilerek farklı konsantrasyonlara sahip bir seri dilüe çözelti (1-90  $\mu\text{g/mL}$ ) üç paralel olacak şekilde hazırlanmış ve belirlenen  $\lambda_{\max}$ 'da analizler yapılmıştır. Konsantrasyonlara (x eksen) karşı alan değerleri (y eksen) grafiğe geçirilerek standart doğruları ve standart doğru denklemleri elde edilmiştir.

## **2.6. Laktik Asitin Miktar Tayini Yöntemlerinin Geliştirilmesi**

### **2.6.1. Laktik Asitin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında HPLC Analizi**

Laktik asitin PBS ile belirli konsantrasyonda çözeltisi hazırlanmış ve 200-400 nm arasında spektrumu alınarak maksimum absorbans verdiği dalga boyu belirlenmiştir. Tamponda yer alan tuzlar, etkin madde, benzil alkol ve laktik asit pikini ayırabilmek ve keskin bir pik elde edebilmek için mobil faz oranları, akış hızı, kolon sıcaklığı ve enjeksiyon hacmi gibi parametreler optimize edilmiştir.

### **2.6.2. Laktik Asitin HPLC ile pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında Standart Doğrularının Hazırlanması**

Laktik asitin PBS'te 2 mg/mL konsantrasyona sahip stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok 1 M sodyum hidroksit (NaOH) ile muamele edildikten sonra PBS ile

seyreltilerek farklı konsantrasyonlara sahip bir seri dilüe çözeltileri (10-600 µg/mL) 3 paralel olacak şekilde hazırlanmış ve belirlenen dalga boyunda analizler yapılmıştır. Konsantrasyonlara (x eksen) karşı alan değerleri (y eksen) grafiğe geçirilerek standart doğruları ve standart doğru denklemleri elde edilmiştir.

## 2.7. Miktar Tayini Yöntemlerinin Analitik Validasyonları

Analitik validasyon parametreleri olarak seçicilik, doğrusallık ve aralığı, doğruluk ve geri elde, kesinlik (tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik), teşhis sınırı (LOD), tayin sınırı (LOQ) ve sistem uygunluğu incelenmiştir (Borman ve Elder, 2017; Center for Drug Evaluation and Research, 1994; Drugs ve ark., 2009; Food and Drug Administration, 2003; International Council of Harmonization, 1995; International Council of Harmonization, 2022).

### Seçicilik

Naltrekson, benzil alkol ve laktik asidin HPLC ile miktar tayini sırasında, analiz edilecek numunede bulunan diğer maddelerden kesin bir şekilde ayrıldığı teyit edilmesidir. Bu amaçla numunede bulunan diğer maddeler ve tayin edilecek maddenin (naltrekson, benzil alkol veya laktik asit) farklı konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmış ve uygun dalga boyunda analizleri yapılmıştır.

### Doğrusallık ve Aralığı

Doğrusallık, uygulanan analitik işlem sonucu elde edilen yanıtlar (absorbans, pik alanı vs.) ile tayin edilecek madde konsantrasyonunun orantılı bir davranışı olduğunu kanıtlamak üzere yapılan bir çalışmadır. Bu doğrusal davranışın devam ettiği konsantrasyon skalası ise “aralık”tır.

Tayin edilecek maddenin doğrusallık ve aralığını tespit etmek amacıyla bu maddenin belirli konsantrasyonda bir stok çözeltisi hazırlanmış ve uygun tampon ile seyreltilerek farklı konsantrasyonlarda seri çözeltileri hazırlanmıştır (Çizelge 2.1). Bu çözeltilerin spektrumları, kromatogramları alınarak absorbans ve alan değerleri okunmuş; bilinen konsantrasyonlar x ekseninde, absorbans-alan değerleri ise y ekseninde olacak şekilde grafiğe geçirilerek SPSS istatistik programı ile standart doğruları elde edilmiştir.

### Doğruluk ve Geri Elde

Pratik değerlerin teorik değerlere yakınlığının bir ölçüsüdür. Bu amaçla tayin edilecek maddenin doğrusallık ve aralığı kanıtlanmış; düşük, orta ve yüksek konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmış, hazırlanan çözeltiler 5 kere okunmuştur (Çizelge 2.1). Standart doğru denkleminde hareketle hesaplanan konsantrasyon verilerinden % geri elde, standart sapma (SS) ve % bağıl standart sapma (% BSS) hesaplanmıştır.

### Kesinlik

Kesinlik aynı örnekten elde edilen sonuçlar arasındaki yakınlığı ifade etmektedir. Tekrarlanabilirlik, ara kesinlik ve tekrar elde edilebilirlik olmak üzere üç aşamada değerlendirilmektedir.

### *Tekrarlanabilirlik*

Kısa zaman aralıklarında aynı işlem ve ortam koşulları altındaki kesinliği ifade etmektedir. Etken maddenin belirli konsantrasyondaki stok çözeltisinden hareketle HPLC için 20 µg/ml, spektrofotometri için 160 µg/ml konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmış ve 10 kere okunmuştur. Elde edilen absorbans/alan değerleri standart

doğru denklemde yerine koyularak konsantrasyon ve buradan hareketle standart sapma (SS) ile % bağıl standart sapma (%BSS) hesaplanmıştır.

### Ara Kesinlik

Farklı günler, farklı analistler, farklı cihaz gibi faktörleri incelemek üzere yapılmaktadır. Bu amaçla tayin edilecek maddenin belirli konsantrasyonda çözeltisi orijinal analist ve ikinci bir analist tarafından hazırlanarak okunmuştur. Elde edilen absorbans-alan değerleri standart doğru denklemde yerine konularak konsantrasyon ve buradan hareketle SS ile %BSS hesaplanmıştır.

**Çizelge 2.1.** Farklı yöntemlerle ve farklı ortamlarda yapılan analitik çalışmaların validasyonları için uygulama koşulları.

	Stok çözelti	Doğrusallık ve Aralığı	Doğruluk	Kesinlik	
		Konsantrasyon aralığı	Konsantrasyon	Tekrarlanabilirlik	Ara Kesinlik
		n= 3	5'er ölçüm	10 ölçüm	5 ölçüm
<b>HPLC</b>					
<b>Benzil alkol</b> (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	500 µg/ml	1 - 90 µg/ml	10 µg/ml 30 µg/ml 90 µg/ml	60 µg/ml	5 µg/ml
<b>Laktik asit</b> (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	2 mg/ml	10 - 600 µg/ml	50 µg/ml 150 µg/ml 450 µg/ml	100 µg/ml	300 µg/ml
<b>Naltrekson</b> (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	100 µg/mL	1 - 100 µg/ml	10 µg/ml 40 µg/ml 100 µg/ml	20 µg/ml	80 µg/ml
<b>Spektrofotometri</b>					
<b>Naltrekson</b> (pH 7,4 PBS(%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	2 mg/ml	40 - 240 µg/ml	40 µg/ml 120 µg/ml 240 µg/ml	160 µg/ml	80 µg/ml
<b>Naltrekson</b> (etanol)	1 mg/ml	40 - 240 µg/ml	40 µg/ml 120 µg/ml 240 µg/ml	160 µg/ml	80 µg/ml

## Teşhis ve Tayin Sınırı

### *Teşhis Sınırı (LOD)*

Örnekteki maddenin teşhis edilebilen ancak kantitatif olarak tayin edilemeyen en küçük miktardır ve HPLC’de sinyal/gürültü oranı, doğrusallık ve aralığında yer alan en küçük konsantrasyona ait okuma değerlerinin standart sapması veya kalibrasyon doğrularının kesişim değerlerinin standart sapması/standart doğrunun eğimi şeklinde Eşitlik 1’deki gibi hesaplanmaktadır.

$$LOD = 3,3 * (SS/m)$$

Eşitlik 1

SS: Cevabın standart sapması

m: Kalibrasyon doğrusunun eğimi veya 3 paralel kalibrasyon doğrusunun ortalama eğimi

### *Tayin Sınırı (LOQ)*

Tayin edilecek maddenin belirlenen koşullar altında uygun kesinlik ve doğrulukla nicel olarak hesaplanabilen en küçük konsantrasyonudur ve HPLC’de sinyal/gürültü oranı, doğrusallık ve aralığında yer alan en küçük konsantrasyona ait okuma değerlerinin standart sapması veya kalibrasyon doğrularının kesişim değerlerinin standart sapması/standart doğrunun eğimi şeklinde Eşitlik 2’deki gibi hesaplanmaktadır.

$$LOQ = 10 * (SS/m)$$

Eşitlik 2

SS: Cevabın standart sapması

m: Kalibrasyon doğrusunun eğimi veya 3 paralel kalibrasyon doğrusunun ortalama eğimi

## Sistem Uygunluk Testi

Uygun doğruluk ve kesinlik parametrelerine ulaşmak uygun bir sistem ile mümkün olmaktadır. Bu amaçla seçilen sistemin kantitatif analiz için uygun olup olmadığı test edilmektedir. Test için naltreksonun için 60 µg/ml, benzil alkolün 10 µg/ml ve laktik asidin 25 µg/ml konsantrasyonlarındaki çözeltiler beş kere art arda okutulmuş ve %BSS, simetri faktörü ve teorik plaka sayısına bakılmıştır.

## Stabilite Çalışması

Etkin maddenin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) içinde 50 µg/ml konsantrasyonda çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti, etkin maddenin uzun süreli salım testi sırasında salım ortamında stabilitesini belirlemek için 37°C sıcaklığa ayarlanmış bir etüv içine konularak 35 gün (hazırlanan formülasyonun bir ay süresince salım yapması istenmektedir) süre ile bekletilmiştir; 1, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48 ve 72. saatler ile 7, 14, 21, 28 ve 35. günlerde numune alınarak HPLC ile miktar tayini yapılmıştır.

## **2.8. Naltrekson ve D,L-Polilaktik asidin (PDLLA) Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi**

### **2.8.1. Diferansiyel Termal Analiz (DTA) ve Termogravimetrik (TGA) Analiz**

Etkin madde ve polimerin termal davranışını incelemek ve kristal formunu belirlemek için DTA ve TGA cihazı kullanılmıştır. Yaklaşık olarak 5 mg ağırlığında naltrekson ve PDLLA alüminyum kapsüller içine konmuş ve preslendikten sonra cihaza içine yerleştirilmiştir. Örneklerin DTA ve TGA termogramları, boş hazırlanan alüminyum kapsüller referans olmak üzere 10°C/dk tarama hızı ile 20-400°C aralığında, 1,5 bar azot gazı altında alınmıştır.

## 2.8.2. Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre (FT-IR) ile Analiz

Toz halde naltrekson ve PDLLA bir agat havanda KBr ile karıştırılmış ve sonra hidrolik preste 10 000 kg/cm<sup>2</sup> ton basınç altında 5 dk tutularak ince pelletler halinde basılmıştır. Fiziksel karışımları ise etkin madde ve PDLLA'nın kaba karışımı şeklinde hazırlanmıştır. Bu pelletler, toz naltrekson ve PDLLA ayrı olarak FT-IR spektrofotometresine yerleştirilerek 4000-650 cm<sup>-1</sup> dalga boyu aralığında, çözünürlük 4 cm<sup>-1</sup> olacak şekilde FT-IR spektrumları alınmıştır.

## 2.9. Naltreksonun Formülasyonlarda Kullanılacak Çözücüler İçinde Çözünürlüğünün Belirlenmesi

Formülasyon tasarımına başlamadan önce naltreksonun formülasyonlarda kullanılması planlanan farklı çözücülerdeki çözünürlüğü tayin edilmiştir. Bu çözücüler, PEG250DME, DMSO, PEG400, etil heptanoat, NMP, benzil alkol, %0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid içeren ve içermeyen PBS 7,4'tür. Bu amaçla çalkalayıcı su banyosu kullanılmıştır; etkin maddenin aşırı miktarı şilifli erlenlere koyulmuş; ortam hacmi 50 mL, çalkalama hızı 75 rpm, ortam sıcaklığı ise 37±1°C olarak ayarlanmıştır. Numune almak için zaman noktaları olarak 6, 24 ve 48. saatler belirlenmiş, konsantrasyonun dengeye gelmemiş olması durumunda takip eden her 24 saatte numune alınmaya devam edilmiştir. Ortam hacmini sabit tutmak için alınan numune hacmi kadar hacimde çözücü ortama ilave edilmiştir. Alınan numuneler çözücünün türüne göre 0,45 µm por çaplı selüloz asetat (CA) veya polivinilidendiflorür (PVDF) filtreden süzölmüş; pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) veya etanolden uygun olan ortam ile seyreltilerek UV spektrofotometrede belirlenen  $\lambda_{max}$  değerlerinde okunmuş ve konsantrasyonları hesaplanmıştır (World Health Organization, 2017).

## 2.10. İn Situ Oluşan Jel Formülasyonlarının Geliştirilmesi

İn situ jel oluşumunun çözücü göçü ve sıcaklık değişimine bağlı olarak polimer çökmesi şeklinde iki yöntemle gerçekleştirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla Çizelge 2.2’de yer alan polimerler ve çözücüler farklı oranlarda ve bileşimlerde kullanılarak formülasyonlar hazırlanmıştır. Formülasyon hazırlanırken önce polimer çözücü içinde çözülmüş ve tam olarak çözünmenin sağlanması için bir gece buzdolabında 4°C’de bekletilmiştir. Polimerin içinde çözüleceği çözücü miktarı, hazırlanacak çözeltinin s.c. uygulanması planlandığından uygulanabilecek maksimum miktarı (~ 3 mL) gözönünde tutularak belirlenmiştir.

Çizelge 2.2. Formülasyon bileşenleri.

<b>Etkin Madde</b>	Naltrekson
<b>Polimerler</b>	Poli(D,L-laktid-ko-glikolid)-blok-poli(etilen glikol)-blok- poli(D,L-laktid-ko-glikolid) (PLGA-PEG-PLGA) ( $M_n$ 6000-15 000)
	Poli(D,L laktid) ( $M_n$ 18 000 – 28 000), ester uçlu (Resomer® R 203 S)
	Poli(D,L-laktid-ko-glikolid) 50:50 ( $M_n$ 38 000 – 54 000), ester uçlu (Resomer® RG 504)
	Poli(D,L-laktid-ko-glikolid) 85:15 ( $M_w$ 190 000 – 240 000), alkil eter uçlu (Resomer® RG 858 S)
	Poli(ε-kaprolakton) ( $M_n$ 80 000)
<b>Çözücüler</b>	Dimetil Sülfoksit
	N-Metil piroolidon
	Poli(etilen glikol) dimetil eter ( $M_n = 250$ )
	Polietilen glikol 400
	Benzil alkol
	Etil heptanoat
	pH 7,4 PBS
<b>Yardımcı maddeler</b>	Benzil benzoat
	Etil benzoat
	Triasetin
	Stearik asit
	PEG4000
	Hidroksipropil selüloz ( $M_w = 100 000$ )

### 2.10.1. Sıcaklık Değişimine Bağlı Olarak Jel Oluşumu İçin Hazırlanan Formülasyonlar

Bu amaçla literatürlerde suda çözünebilir olduğu ve sıcaklıkla jelleştiği belirtilen triblok kopolimer PLGA-PEG-PLGA ile çalışılmıştır. Çizelge 2.3'te verilen bileşimde formülasyonların hazırlanması için triblok kopolimer 4°C'de karıştırılarak pH 7,4 PBS içine ilave edilmiş ve 4°C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Ancak kopolimer çözünmemiştir. Bu nedenle formülasyonlarda çözücü olarak organik solvanlar kullanılmış ve F15-1—F15-3 formülasyonları hazırlanmıştır.

Çizelge 2.3. PLGA-PEG-PLGA kopolimeri içeren formülasyonlar.

	F15-1	F15-2	F15-3
Naltrekson	%10	%10	%10
PLGA-PEG-PLGA	%20	%30	%40
pH 7,4 PBS	%70	%60	%50

### *Sol-jel Geçiş Sıcaklığının Tespiti*

Sıcaklık değişimi ile jelleşme yöntemi için kullanılacak olan PLGA-PEG-PLGA'nın sol-jel geçiş sıcaklığının tespiti için ters çevirme yöntemi kullanılmıştır. Hazırlanan jel formülasyonu kapaklı viallere konulmuş ve düşük sıcaklıktaki su banyosuna yerleştirilmiştir. Sıcaklık 1°C/dk hızda 15°C'den başlayarak arttırılmış, sol-jel geçişinin olup olmadığı vialler ters çevrilerek göz ile tespit edilmiştir. Jel oluşumunun gerçekleştiği sıcaklık geçiş sıcaklığı olarak kabul edilmiştir. Bu deney hem etkin madde içermeyen jellerde hem de etkin madde içeren jellerde yapılmıştır (Gong ve ark., 2009; Huynh ve ark., 2008; Khodaverdi ve ark., 2012).

### 2.10.2. Çözücü Göçü ile İn Situ Jel Oluşumu İçin Hazırlanan Formülasyonlar

Polimer çözeltileri oda sıcaklığına geldikten sonra kullanımdan hemen önce etkin madde polimer çözeltisine eklenerek vorteks ile homojenize edilmiştir. Hedeflenen dozaj formu bir çözelti oluşturmak olduğundan çalışmada amacımız maksimum 380 mg naltreksonun çözüldüğü bileşimi bulmak olmuştur. İlk

formülasyonlar poli(D,L-laktid) polimeri kullanılarak hazırlanmıştır (Çizelge 2.4). Formülasyonların hazırlanması sırasında etkin maddenin polimer çözeltisi içinde çözünme durumu ve süresi ile başlangıç hızlı salım düzeyi değerlendirilen başlıca parametreler olmuştur (Çizelge 2.5).

**Çizelge 2.4.** Çözücü göçü ile in situ jel oluşumu için kullanılan polimerler.

Polimerler	Poli(D,L laktid) (PDLLA)
	Poli(D,L-laktid- <i>ko</i> -glikolid) (50:50) (PLGA (50:50))
	Poli(D,L-laktid- <i>ko</i> -glikolid) (85:15) (PLGA (85:15))
	Poli( $\epsilon$ -kaprolakton) (PCL)

Çizelge 2.5. Formülasyon bileşimleri ve oranları.

		F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	
	<b>Naltrekson</b>	6,33x10 <sup>-2</sup> g	6,33x10 <sup>-2</sup> g	6,33x10 <sup>-2</sup> g	6,33x10 <sup>-2</sup> g	6,33x10 <sup>-2</sup> g	6,33x10 <sup>-2</sup> g	6,33x10 <sup>-2</sup> g	6,33x10 <sup>-2</sup> g	6,33x10 <sup>-2</sup> g	6,33x10 <sup>-2</sup> g	6,33x10 <sup>-2</sup> g	6,33x10 <sup>-2</sup> g	
<b>Polimer çözeltisi (% a/a)</b>	<b>Polimer (PDLLA)</b>	%22,5	%22,6	%22,7	%40	%40	%40	%22,9	%22,9	%22,9	%21,9	%21,05	%24,69	
	<b>NMP</b>	%54,24	%51,85	%50,26	%60	%50	%40	%77,1	-	-	-	%27,84	-	
	<b>DMSO</b>	-	-	-	-	-	-	-	%77,1	-	-	-	-	
	<b>PEG250DME</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	%77,1	%50,49	-	-	
	<b>Benzil Alkol</b>	%23,25	%23,22	%23,19	-	%10	%20	-	-	-	-	%27,61	%51,12	%75,31
	<b>Etil Heptanoat</b>	-	%2,23	%3,87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<b>Total polimer çözeltisi kütlesi</b>	0,5 g	0,5 g	0,5 g	0,5 g	0,5 g	0,5 g	0,5 g	0,437 g	0,437 g	0,437 g	0,666 g	1,203 g	0,270 g
	<b>Total formülasyon kütlesi</b>	0,563 g	0,563 g	0,563 g	0,563 g	0,563 g	0,563 g	0,500 g	0,500 g	0,500 g	0,729 g	1,266 g	0,333 g	

Naltrekson'un polimer çözeltisi içinde çözündüğü ve çözünme süresinin bağıl olarak kısa olduğu formülasyonlar tespit edilmiş ve bu formülasyonlarda yer alan bileşenlerin oranları Çizelge 2.6 ve Çizelge 2.8'de yer alan plan dahilinde değiştirilerek başlangıç hızlı salımın daha az olduğu, gerekli dozun 35 günde tamamen salınmasının hedeflendiği yeni formülasyonlar geliştirilmiştir (Çizelge 2.7; Çizelge 2.9).

**Çizelge 2.6.** F10 formülasyonunun farklı seviyelerde polimer ve çözücü miktarları ile geliştirilmiş tasarımı.

	Polimer miktarı	Benzil alkol ve PEG250DME miktarı
Seviye	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>
Düşük	1,20 K	8,23 K
Orta	1,75 K	8,80 K
Yüksek	2,30 K	9,40 K

**Çizelge 2.7.** F10-1 – F10-6 formülasyonlarının bileşimleri ve oranları.

	F10-1	F10-2	F10-3	F10-4	F10-5	F10-6
<b>K</b>						
Naltrekson	1	1	1	1	1	1
Polimer (PDLLA)	1,2	1,75	1,2	1,75	2,3	1,2
PEG250DME	5,32	5,32	5,69	5,69	5,32	6,08
Benzil alkol	2,91	2,91	3,11	3,11	2,91	3,32
<b>% a/a</b>						
Naltrekson	9,60	9,12	9,09	8,81	8,67	8,62
Polimer (PDLLA)	11,50	15,94	10,91	15,42	19,95	10,35
PEG250DME	51	48,45	51,73	50,13	46,14	52,41
Benzil alkol	27,9	26,50	28,27	27,40	25,24	28,62
<b>g</b>						
Naltrekson	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380
Polimer (PDLLA)	0,455	0,664	0,456	0,665	0,874	0,456
PEG250DME	2,019	2,019	2,160	2,160	2,020	2,310
Benzil alkol	1,104	1,104	1,180	1,180	1,110	1,260
<b>Toplam jel kütlesi (g)</b>	<b>3,960</b>	<b>4,170</b>	<b>4,180</b>	<b>4,310</b>	<b>4,380</b>	<b>4,410</b>

**Çizelge 2.8.** F12 formülasyonunun farklı seviyelerde polimer ve çözücü miktarları ile geliştirilmiş tasarımı.

	<b>Polimer miktarı</b>	<b>Benzil alkol miktarı</b>
<b>Seviye</b>	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>
<b>Düşük</b>	0,5 K	3,2 K
<b>Orta</b>	0,75 K	3,6 K
<b>Yüksek</b>	1,05 K	4 K

**Çizelge 2.9.** F12-1 – F12-6 formülasyonlarının bileşim ve oranları.

	<b>F12-1</b>	<b>F12-2</b>	<b>F12-3</b>	<b>F12-4</b>	<b>F12-5</b>	<b>F12-6</b>
<b>K</b>						
<b>Naltrekson</b>	1	1	1	1	1	1
<b>Polimer (PDLLA)</b>	0,5	0,75	0,5	0,75	1,05	0,5
<b>Benzil alkol</b>	3,2	3,2	3,6	3,6	3,2	4
<b>% a/a</b>						
<b>Naltrekson</b>	21,28	20,20	19,61	18,69	19,05	18,18
<b>Polimer (PDLLA)</b>	10,64	15,15	9,80	14,02	20	9,09
<b>Benzil alkol</b>	68,065	64,64	70,59	67,28	60,96	72,73
<b>g</b>						
<b>Naltrekson</b>	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380
<b>Polimer (PDLLA)</b>	0,190	0,285	0,190	0,285	0,399	0,190
<b>Benzil alkol</b>	1,216	1,216	1,368	1,368	1,216	1,520
<b>Toplam jel kütlesi (g)</b>	1,786	1,881	1,938	2,033	1,995	2,090

Değerlendirmeler sonucunda seçilen F10-6, F12-2 ve F12-4 formülasyonlarında polimer türü değiştirilerek formülasyonlardan etkin madde salımı üzerine farklı polimerlerin etkisinin gözlenmesi amaçlanmıştır (Çizelge 2.10).

**Çizelge 2.10.** Farklı polimerler ile formülasyon tasarımı.

	PLGA 85:15			PLGA 50:50			PLGA-PEG-PLGA		
	F13-2	F13-4	F13-6	F14-2	F14-4	F14-6	F15-2	F15-4	F15-6
<b>K</b>									
Naltrekson	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Polimer	0,75	0,75	1,2	0,5	0,75	1,2	0,75	0,75	1,2
Benzil alkol	3,2	3,6	3,32	3,2	3,2	3,32	3,2	3,6	3,32
PEG250DME	-	-	6,08	-	-	6,08	-	-	6,08
<b>% a/a</b>									
Naltrekson	20,20	18,69	8,62	21,28	20,20	8,62	20,20	18,69	8,62
Polimer	15,15	14,02	10,35	10,64	15,15	10,35	15,15	14,02	10,35
Benzil alkol	64,64	67,28	28,62	68,07	64,64	28,62	64,64	67,28	28,62
PEG250DME	-	-	52,41	-	-	52,41	-	-	52,41
<b>g</b>									
Naltrekson	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380
Polimer	0,285	0,285	0,456	0,190	0,285	0,456	0,285	0,285	0,456
Benzil alkol	1,216	1,368	1,260	1,216	1,216	1,260	1,216	1,368	1,260
PEG250DME	-	-	2,31	-	-	2,310	-	-	2,310
Toplam jel kütlesi (g)	1,881	2,033	4,410	1,786	1,881	4,410	1,881	2,033	4,410

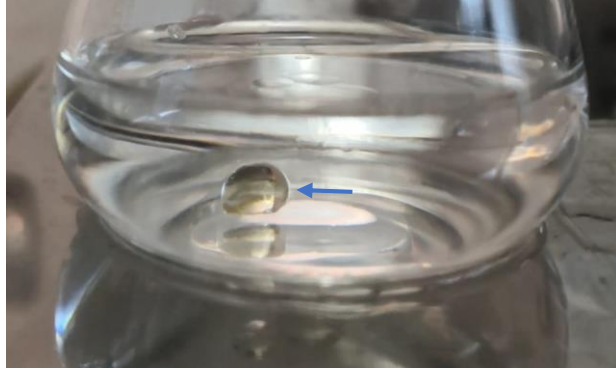
## 2.11. İn Situ Jel Oluşumu İçin Hazırlanan Formülasyonların İn Vitro Karakterizasyonu

### 2.11.1. Naltreksonun Polimer Çözeltileri İçinde Çözünme Süresi

Tasarlanan formülasyonlarda polimer çözeltileri içinde Naltrekson'un vorteks ile karıştırılarak çözünme süresi tayin edilmiştir. Etkin maddenin dozaj formunun klinik kullanımından hemen önce polimer çözeltisinde çözülmesi planlandığından çözünme süresinin mümkün olduğunca kısa olması hedeflenmiştir. Bu nedenle 10 dk'nın altında etkin madde çözünme süresine sahip formülasyonlar ön plana alınmıştır.

### 2.11.2. İn vitro Etkin Madde Salım Çalışmaları

Zamana bağlı olarak etkin madde salım miktarının tespiti için statik yöntem tercih edilmiş, bu amaçla çalkalayıcı su banyosu kullanılmıştır. 20 mL pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 + %0,02 sodyum azid ) şilifli erlenlere ilave edilmiş, çalkalayıcı su banyosu sıcaklığı 37°C; çalkalama hızı ise 35 rpm olarak ayarlanmıştır. 10 mg etkin madde içeren miktarda jel enjektör ile salım ortamına enjekte edilmiştir (Şekil 2.1). Numune alma noktaları 1, 2 ,4, 8, 12, 24, 36, 48 ve 72. saat, 7, 14, 21, 28 ve 35. günler olarak ayarlanmış, sink koşulu sağlamak için numune hacmi 4 mL olarak belirlenmiştir. Her numune alınışından sonra salım ortamına, alınan numune miktarı kadar ve aynı sıcaklıktaki taze salım ortamı ilave edilmiştir. Ayrıca etkin madde stabilite verilerine göre 7 günde bir ortam tamamen değiştirilmiştir. Alınan numuneler 45 µm'lik selüloz asetat filtreden süzülüş, UV spektrofotometrede  $\lambda_{\max} = 281,5$  nm'de ve HPLC'de  $\lambda_{\max} = 204$  nm'de etkin madde miktarı tespit edilmiştir (n=3). Final formülasyona karar verilene değin yapılan tüm salım çalışmalarında analizler UV spektrofotometri ile yapılmıştır. Sonuç formülasyona karar verildikten sonra, final formülasyona ait salım verileri ve benzil alkol göçü HPLC ile incelenmiştir.



Şekil 2.1. F12-2 formülasyonunun salım ortamına enjeksiyonu sonucu oluşan yapı.

Salım çalışmaları süresince her formülasyon için deney süresi farklı olmuştur. Hedeflenen deney süresi 35 gün olmakla birlikte formülasyonların geliştirilmesi sırasında değerlendirme kriteri özellikle başlangıç hızlı salım olmuştur. Bunun yanısıra salım hızı değerlendirilmiştir. Başlangıç salımın doz hesabı kısmında belirlenen 17,101 mg'dan farklı olması ve salım hızının 0,123 mg/s değerinden çok

düşük veya çok yüksek olması formülasyonların seçiminde gözönüne alınan faktörler olmuştur.

### 2.11.3. Salım Kinetiklerinin Belirlenmesi

İn vitro etkin madde salım çalışmalarından elde edilen veriler ile F10-1—F10-6 ile F12-1—F12-6 formülasyonlarının 0. derece kinetik, 1. derece kinetik, Weibull, Korsmayer-peppas ve Higuchi kinetiklerine uygunlukları formülasyonların başlangıç hızlı salım verilerinin ve salım hızının doz hesabına (345 mg ve %17,101 ilk doz) ve salım hızına (0,123 mg/s) en uygun profili tespit etmek amacıyla ampirik yöntem temel alınarak test edilmiştir. Bu kinetiklere ait matematiksel eşitlikler aşağıda verilmiştir:

Sıfır derece kinetik:

$$Q_t = Q_0 + K_0 t \quad \text{Eşitlik 3}$$

$Q_t$  : t anında çözünmeden kalan etkin madde miktarı (% a/a)

$Q_0$  : Başlangıçtaki etkin madde miktarı (% a/a)

$K$  : Çözünme hız sabiti (mg/s)

$t$  : Zaman (s)

Birinci derece kinetik

$$\log Q_t = \log Q_0 + \frac{k_1 t}{2,303} \quad \text{Eşitlik 4}$$

$Q_t$  : t anında çözünmeden kalan etkin madde miktarı (% a/a)

$Q_0$  : Başlangıçtaki etkin madde miktarı (% a/a)

$k_1$  : Çözünme hız sabiti ( $s^{-1}$ )

$t$  : zaman (s)

Weibull:

$$\varphi(\tau) = 1 - \exp[-(\tau - \tau_d)\beta] \quad \text{Eşitlik 5}$$

$\Phi$  : Çözünen etkin madde yüzdesi (% a/a)

T : Zaman (s)

$\beta$  : Şekil faktörü

$\tau_d$  : Etkin maddenin %63,2'sinin çözünmesi için geçen süre (s)

Korsmayer-peppas: n, difüzyonal / salım katsayısının tayin edilmesi için , etkin madde salımının %60'ına kadar olan verilerin değerlendirilmesi gerekmektedir.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_m t^n \quad \text{Eşitlik 6}$$

$M_t$  : t anında çıkan etkin madde miktarı (mg)

$M_\infty$  : Toplam etkin madde miktarı (mg)

$M_t/M_\infty$  : Salınan etkin madde fraksiyonu

K : Salım yapan sistemin yapısal ve geometrik özelliklerini birleştiren sabit

n : Difüzyonal sabit

Higuchi:

$$Q_t = K_H \sqrt{t} \quad \text{Eşitlik 7}$$

t : Zaman (s)

$K_H$  : Salım hız sabiti (mg/zaman<sup>-1/2</sup>)

$Q_t$  : t anında salınan etkin madde miktarı

## 2.12. Başlangıç Hızlı Salımın Azaltılması İçin Çalışmalar

Çözücü göçüne bağlı olarak in situ jelleşen formülasyonlar içinde F12-2 ve F10-6 formülasyonlarında başlangıç hızlı salımı azaltmak üzere polimer kombinasyonları,

daha hidrofobik çözücüler ve çeşitli yardımcı maddeler denenmiştir. Hazırlanan yeni formülasyonlarda etkin maddenin çözünme durumu ve çözünme süresi belirleyici unsur olup çözünme hızı bulguları ile başlangıç hızlı salıma olan etkileri değerlendirilmiştir.

### **2.12.1. Polimer Kombinasyonları**

Formülasyonlarda yer alan PDLLA ile kombine olarak PLGA'nın (85:15) molekül ağırlığının daha yüksek olması; PCL'nin ise hem daha hidrofobik olması hem de molekül ağırlığının daha yüksek olması nedeniyle kullanılması kararlaştırılmıştır. Bu amaçla tasarlanan formüllasyonlar Çizelge 2.11'de verilmiştir. Hazırlanan formülasyonlardan etkin maddenin çözündüğü, enjekte edilebilir bulunan formülasyonlar için salım deneyleri yapılmıştır.

**Çizelge 2.11.** Farklı polimer kombinasyonları kullanılarak tasarlanan formülasyonlar.

	PLGA 85:15 : PLA (25:75)	PLGA 85:15 : PLA (50:50)	PLGA 85:15 : PLA (100:0)	PLGA 85:15 : PLA (25:75)	PLA:PCL (75:25)	PLA:PCL (50:50)	PLA:PCL (0:100)
	F12-2-P1	F12-2-P2	F12-2-P3	F10-6-P1	F12-2-P4	F12-2-P5	F12-2-P6
	<b>K</b>						
Naltrekson	1	1	1	1	1	1	1
PDLLA	0,560	0,375	-	0,900	-	0,375	-
PCL	-	-	-	-	0,750	0,375	0,75
PLGA 85:15	0,190	0,375	0,750	0,300	-	-	-
Benzil alkol	3,200	3,200	3,200	3,320	3,200	3,200	3,200
PEG250DME	-	-	-	6,080	-	-	-
	<b>% a/a</b>						
Naltrekson	20,20	20,20	20,20	8,62	20,20	20,20	20,20
PDLLA	11,36	7,575	-	10,35	11,36	7,58	-
PCL	-	-	-	-	3,79	7,58	15,15
PLGA 85:15	3,79	7,575	-	-	-	-	-
Benzil alkol	64,64	64,64	64,64	28,62	64,64	64,64	64,64
PEG250DME	-	-	-	52,41	-	-	-
	<b>g</b>						
Naltrekson	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380
PDLLA	0,214	0,425	-	0,342	0,214	0,143	-
PCL	-	-	-	-	0,071	0,143	0,285
PLGA 85:15	0,071	0,425	0,285	0,114	-	-	-
Benzil alkol	1,216	1,216	1,216	1,260	1,216	1,216	1,216
PEG250DME	-	-	-	2,310	-	-	-
<b>Total jel kütlesi</b>	1,881 g	1,881 g	1,881 g	4,41 g	1,881 g	1,881 g	1,881 g

### 2.12.2. Hidrofobik Çözücü/Çözücü Kombinasyonları

F12-2 formülasyonunda yer alan benzil alkolden daha hidrofobik çözücü/çözücü kombinasyonlarını içeren (triasetin, benzil benzoat, etil benzoat) formülasyonlar hazırlanmıştır (Çizelge 2.12). Formülasyonlar için belirleyici husus etkin maddenin çözünmesi ve çözünme süresi olmakla birlikte uygun bulunan formülasyonlarda salım deneyleri yapılmıştır.

**Çizelge 2.12.** Farklı çözücü-çözücü kombinasyonları içeren formülasyonlar.

	Triasetin	Benzil Benzoat (BB)	Etil Benzoat (EB)	BA:BB (50:50)	BA:EB (50:50)
	F12-2-Ç1	F12-2-Ç2	F12-2-Ç3	F12-2-Ç4	F12-2-Ç5
	<b>K</b>				
Naltrekson	1	1	1	1	1
Polimer (PDLLA)	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Çözücü	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2
	<b>% a/a</b>				
Naltrekson	20,20	20,20	20,20	20,20	20,20
Polimer (PDLLA)	15,15	15,15	15,15	15,15	15,15
Çözücü	64,64	64,64	64,64	64,64	64,64
	<b>g</b>				
Naltrekson	0,380	0,380	0,380	0,380	0,380
Polimer (PDLLA)	0,285	0,285	0,285	0,285	0,285
Çözücü	1,216	1,216	1,216	1,216	1,216
Toplam jel kütlesi (g)	1,881 g	1,881 g	1,881 g	1,881 g	1,881 g

*K:Kısım*

### 2.12.3. Yardımcı Maddelerin Kullanımı

F12-2 formülasyonunda başlangıç hızlı salımın azaltılması için %2 (a/a) oranında stearik asit, PEG4000 ve hidroksi propil selüloz (HPC,  $M_w$  100 000) kullanılmıştır. Hazırlanan formülasyonlarda etkin maddenin başlangıç hızlı salımı değerlendirilmiştir (Çizelge 2.13).

**Çizelge 2.13.** Yardımcı maddelerin kullanımı ile hazırlanan formülasyonlar.

	Stearik asit	PEG4000	HPC
% a/a	F12-2-Y1	F12-2-Y2	F12-2-Y3
Naltrekson	20,20	20,20	20,20
PDLLA	15,15	15,15	15,15
Benzil alkol	62,64	62,64	62,64
Yardımcı madde	2	2	2

### 2.13. Sonuç Formülasyonunun Seçilmesi

Farklı polimerler ve farklı çözücü/çözücü karışımları kullanılarak hazırlanan in situ oluşan jel formülasyonlarından 380 mg naltreksonun polimer çözeltisinde tamamen çözünebildiği, çözünme süresinin en kısa olduğu, total jel kütlelerinin s.c. enjeksiyon hacmi sınırları içinde olduğu, viskozitesi enjekte edilebilirlik için uygun olan, salım hızı deneyleri sonucu bir ay süresince salımın gerçekleştiği ve kinetik modelleri çalışmamızda yaptığımız doz tasarımına göre belirlenen başlangıç hızlı salım miktarı ve salım hızına göre değerlendirilen formülasyonlar içinde sonuç formülasyon olarak F12-2 seçilmiştir. Bu formülasyonun bileşimi şöyledir (Çizelge 2.14):

Çizelge 2.14. F12-2 formülasyonunun bileşimi.

<b>Naltrekson</b>	% 20,20 (a/a)
<b>PDLLA</b>	% 15,15 (a/a)
<b>Benzil alkol</b>	% 64,64 (a/a)

Seçilen F12-2 formülasyonunun tekrarlanabilirliğinin incelenmesi için farklı ölçeklerde (5-7,5-10 g) (4,48-6,73-8,97 mL) üç seri halinde üretilmiş, formülün enjekte edilebilirlik ve viskozite bulguları değerlendirildikten sonra formüller birleştirilerek in vitro karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Farklı ölçeklerde hazırlanan F12-2 (10-7,5-5 g) formülasyonu.

### **2.13.1. F12-2 Formülasyonunun İn Vitro Karakterizasyon Çalışmaları**

#### **2.13.1.1. Naltrekson ve Polimer Etkileşimlerinin Diferansiyel Termal Analiz (DTA)**

F12-2 formülasyonunun Bölüm 2.8.1 ve 2.8.2’de anlatıldığı şekilde DTA ve FT-IR analizleri yapılmıştır. Formülasyonun bulguları, saf etkin madde, polimer ve iki maddenin fiziksel karışımlarının bulguları ile karşılaştırılarak polimer:etkin madde arası etkileşimler değerlendirilmiştir.

#### **2.13.1.2. F12-2 Formülasyonunun Viskozite Tayini**

F12-2 formülasyonunun viskozitesini ölçmek için Brookfield DVII Dijital Viskozimetre (Scintech Ins., VA, ABD) kullanılmıştır. Viskozite tayini oda sıcaklığında S14 probu ile 2,5 g (2,24 mL) formülasyon üzerinden yapılmıştır. Milin dönü hızı 5, 10, 20, 50 ve 100 rpm olarak ayarlanmış, her hızda on saniye beklenmiş ve maksimum hıza ulaştıktan sonra aynı şekilde hız düşürülmüştür. Doğru ve stabil bir ölçüm yapılabilmesi için tork’un %10’un üzerinde olmasına dikkat edilmiştir. Bu değerler kullanılarak yukarı ve aşağı eğriler şeklinde reogramlar oluşturulmuştur (Bağcı ve ark., 2020).

#### **2.13.1.3. Enjektör Edilebilirlik**

Bu amaçla yapı analiz cihazı (TA-XT Plus, Stable Micro Systems, Birleşik Krallık) ve TPA probu kullanılmıştır. Ön test hızı 5 mm/s; test hızı 1 mm/s; son test hızı 10 mm/s; tetikleme kuvveti ise 0,05 N olarak ayarlanmıştır. Enjektör olarak 21 gauge iğne uçlu 2 ml'lik enjektör kullanılmıştır (Şekil 2.3)(Xin ve ark., 2014).



Şekil 2.3. Yapı analiz cihazı ile enjekte edilebilirliğin ölçülmesi.

#### 2.13.1.4. F12-2 Formülasyonunun Morfolojisinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntülenmesi

F12-2 formülasyonu in vitro salım ortamı olan pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid)'e çalkalayıcı su banyosunda 37 °C sıcaklıkta enjekte edilmiş, formülasyonda yer alan benzil alkol 48 saat sonra uzaklaştıktan sonra jeller 24 saat süresince liyofilize edilmiştir. Numuneler plaka üzerine çift taraflı bant ile yapıştırılmış ve üzeri altın ile kaplanmıştır (10 dk süresince 30 mA). SEM ile 20 mA'de yüzeyi ve dikey kesit morfolojisi tayin edilmiştir (Kamali ve ark., 2018; Phaechamud ve ark., 2017; Qin ve ark., 2012).

Aynı işlemler F12-2 formülasyonunun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) salım ortamındaki 7, 14, 21, 28 ve 35. günleri içinde yapılmış ve ilerleyen zamanla birlikte jelin morfolojisinde meydana gelen değişimler gözlenmiştir.

#### **2.13.1.5. İn vitro Salım Çalışmaları**

Etkin maddenin F12-2 formülasyonundan salım hızı Bölüm 2.10.2.3'te belirtildiği şekilde incelenmiştir.

#### **2.13.1.6. Çözücü Göçünün İncelenmesi**

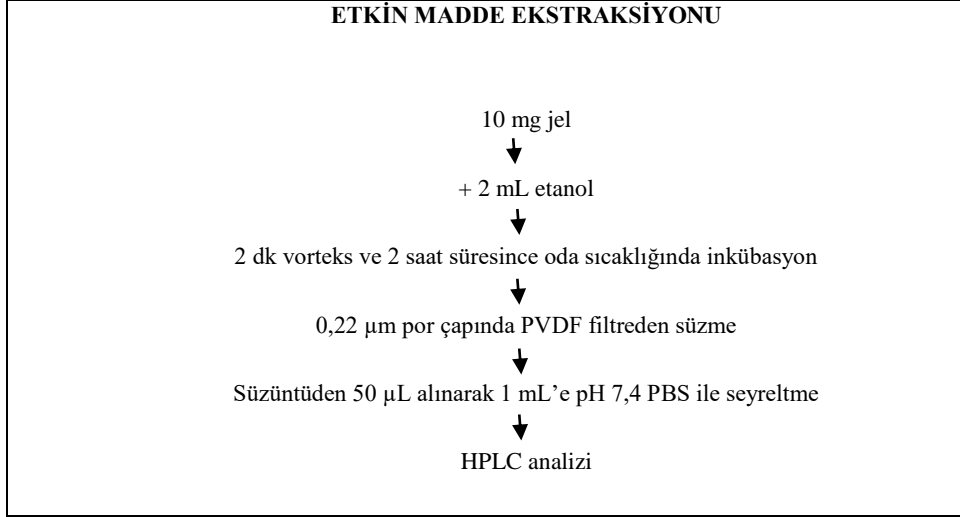
F12-2 formülasyonunun salım hızı deneyi ile aynı zaman noktalarındaki numunelerinde benzil alkol miktarı geliştirilen HPLC yöntemi ile tayin edilmiştir.

#### **2.13.1.7. Degradasyon Çalışmaları**

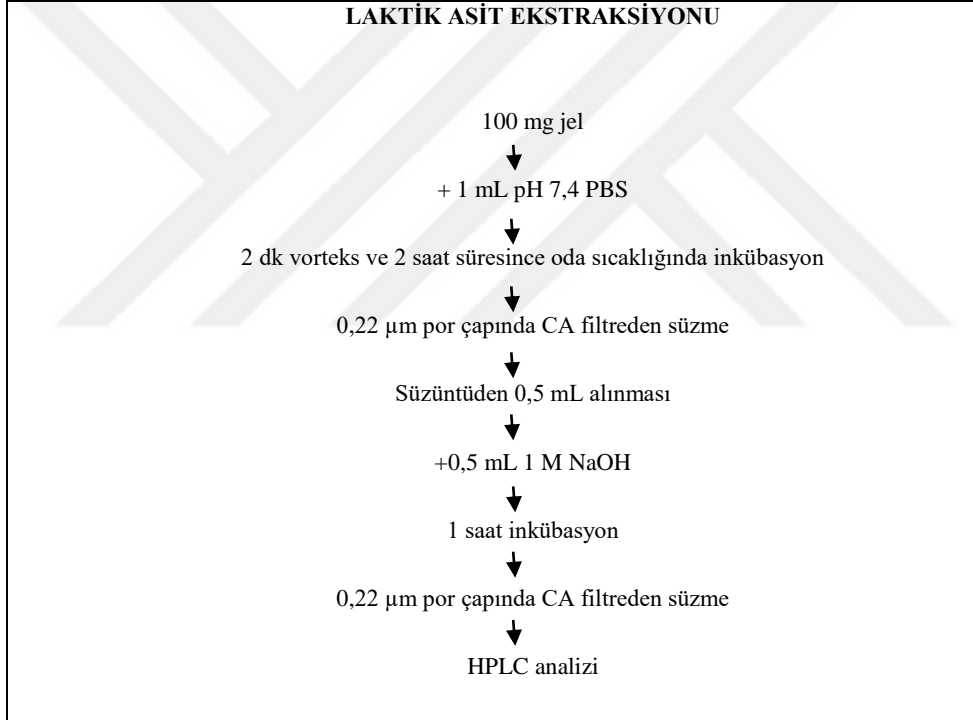
İn vitro degradasyon çalışmaları 37°C'de gerçekleştirilmiştir. F12-2 formülasyonunun salım hızı numunelerindeki laktik asit miktarı, geliştirilen HPLC yöntemi ile tayin edilmiştir. Salım ortamındaki laktik asit miktarı ağırlıkça hesaplanmış, ağırlıkça miktarı bilinen polimere karşı laktik asit miktarının oranı belirlenmiştir (Kamali ve ark., 2018; Phaechamud ve ark., 2017).

#### **2.13.1.8. Stabilite**

Saklama sıcaklığının F12-2 formülasyonunun fiziksel ve kimyasal özelliklerine etkilerini incelemek üzere stabilite çalışmaları yapılmıştır. Final formülasyon bir flakona doldurulmuş (n=3); buzdolabında ( $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ) ve derin dondurucuda ( $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) stabilitesi incelenmiştir. Formülasyondan 1, 2 ve 3. aylarda numune alınarak viskozite, enjekte edilebilirlik, FT-IR, DTA, etkin madde ve laktik asit miktar tayini analizleri yapılmıştır (International Council for Harmonization, 2003; Xin ve ark., 2014). Etkin madde ve laktik asit formülasyondan ekstrakte edilmiş ve HPLC ile tayin edilmiştir. Ek olarak naltrekson içermeyen polimer çözeltisi için  $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$  ve  $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 'de 3 ay sonunda laktik asit miktar tayini yapılmıştır. (Şekil 2.4 ve Şekil 2.5).



**Şekil 2.4.** Etkin maddenin formülasyondan ekstraksiyon yöntemi.



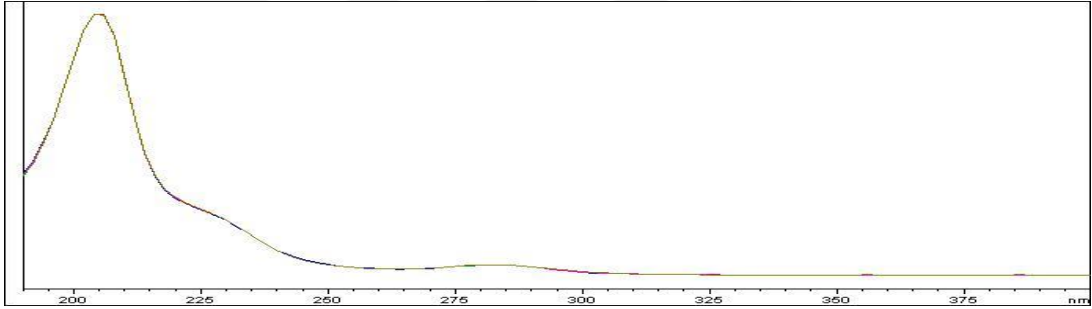
**Şekil 2.5.** Laktik asidin formülasyondan ekstraksiyon yöntemi.

### 3. BULGULAR

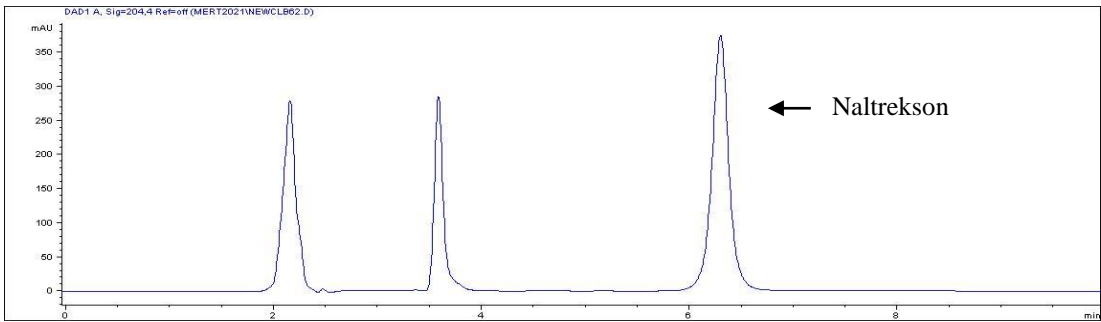
#### 3.1. Naltreksonun Miktar Tayini Yöntemlerinin Geliştirilmesi

##### 3.1.1. Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Salım Ortamında HPLC Analizi

Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında hazırlanan çözeltisinin 204 nm'de maksimum absorbands verdiği görülmüştür (Şekil 3.1). HPLC'de okumalar 204 nm'de yapılmış ve tampon tuzları ile etkin madde piklerinin ayrıldığı bir yöntem (Şekil 3.2) (Çizelge 3.1) geliştirilmiştir.



Şekil 3.1. Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) salım ortamında spektrumu.



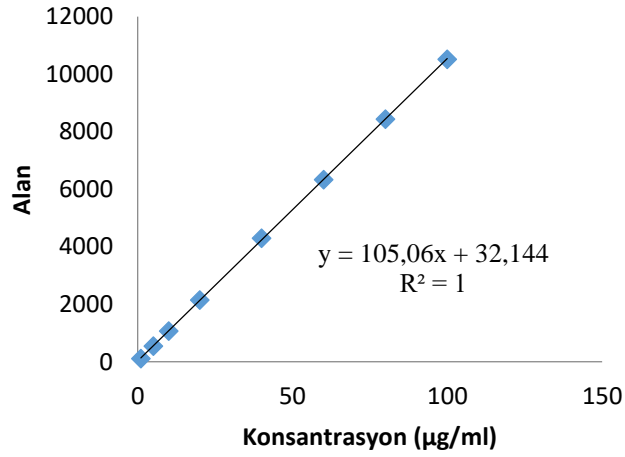
Şekil 3.2. Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında kromatogramı.

**Çizelge 3.1.** Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında HPLC ile tayini için geliştirilen yöntemin koşulları.

<b>Cihaz</b>	Agilent 1100 HPLC
<b>Mobil faz</b>	pH 2,1 Diamonyum fosfat tamponu : asetonitril (50:50 h/h)
<b>Akış hızı</b>	1 ml/dk
<b>Kolon</b>	LiChrosorb RP C-18, 5 µm (250 x 4,6 mm)
<b>Dedektör</b>	Diode array dedector (DAD)
<b>λ<sub>max</sub></b>	204 nm
<b>Sıcaklık</b>	35°C
<b>Enjeksiyon hacmi</b>	20 µl
<b>Altkonma zamanı</b>	6,1 dk

### 3.1.2. Naltreksonun HPLC ile pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında Standart Doğrularının Hazırlanması

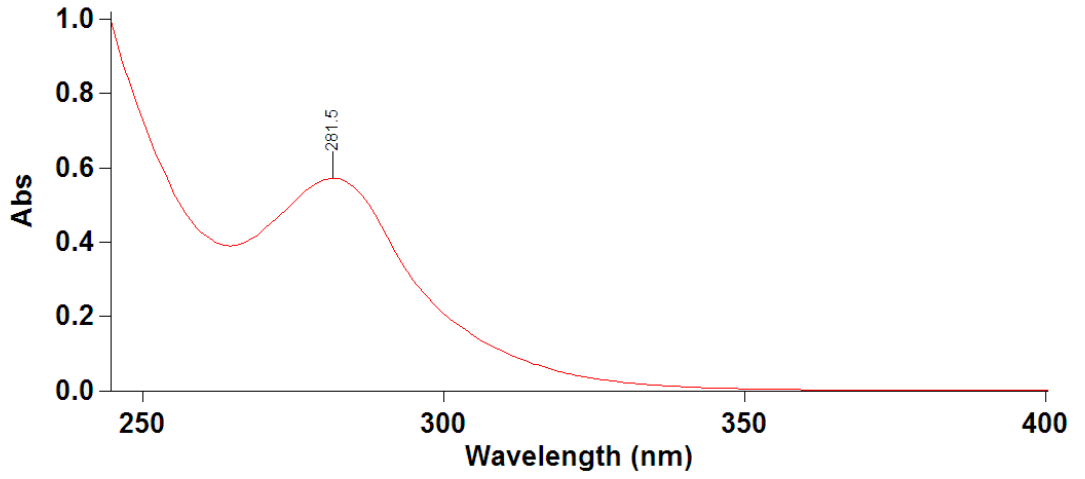
Naltreksonun 1-100 µg/mL konsantrasyon aralığındaki çözeltilerinin HPLC’de okunmaları ile hazırlanan standart doğrusu ve hesaplanan doğru denklemi Şekil 3.3’te verilmiştir.



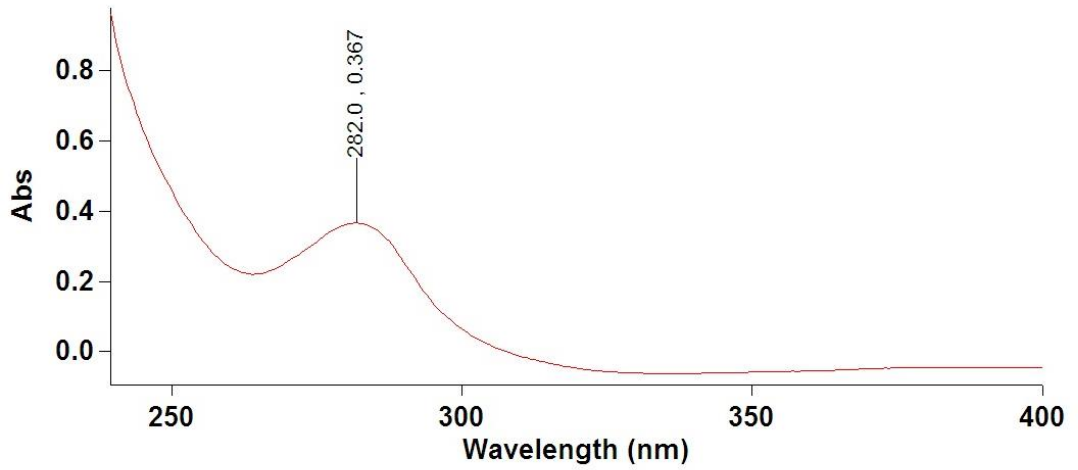
**Şekil 3.3.** Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında HPLC ile belirlenen standart doğrusu ve denklemi.

### 3.1.3. Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında ve Etanol İçinde UV Spektrofotometre ile Analizi

Naltreksonun pH 7,4 PBS ortamında hazırlanan çözeltisinin 204 ve 281,5 nm’de absorbans verdiği görülmüştür. Fakat 204 nm dalga boyunda 0-1 aralığında absorbans elde edebilmek için çok düşük konsantrasyonlar gerekmiştir. Bu nedenle okumalar için  $\lambda_{\max}$  olarak 281,5 nm seçilmiştir (Şekil 3.4). Etanol içinde ise  $\lambda_{\max}$  olarak 282 nm tespit edilmiştir (Şekil 3.5).



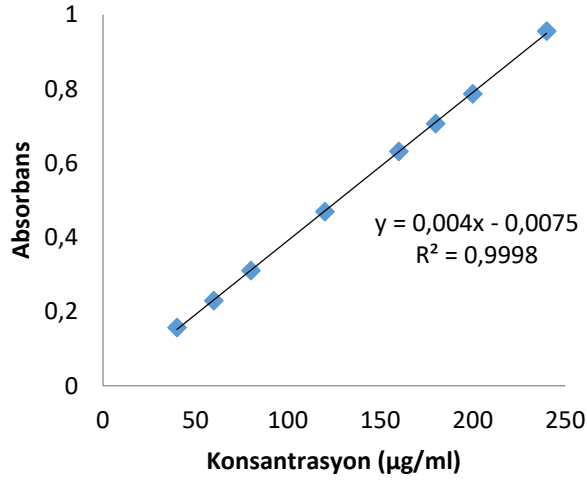
Şekil 3.4. Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında UV spektrumu.



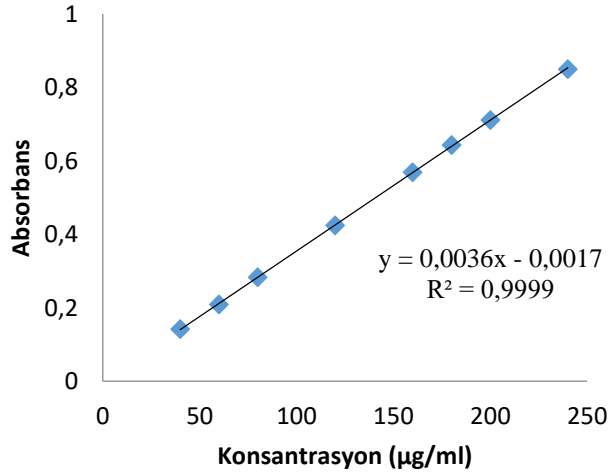
Şekil 3.5. Naltreksonun etanol içinde UV spektrumu.

### 3.1.4. Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ve Etanol Ortamında UV Spektrofotometri ile Standart Doğrularının Hazırlanması

Naltreksonun pH 7,4 PBS ortamında ve etanol içinde 40-240 µg/mL konsantrasyon aralığındaki çözeltilerinin standart doğruları ve doğru denklemleri Şekil 3.6 ve Şekil 3.7’de verilmiştir.



Şekil 3.6. Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında UV spektrofotometri ile belirlenen standart doğrusu ve doğru denklemi.

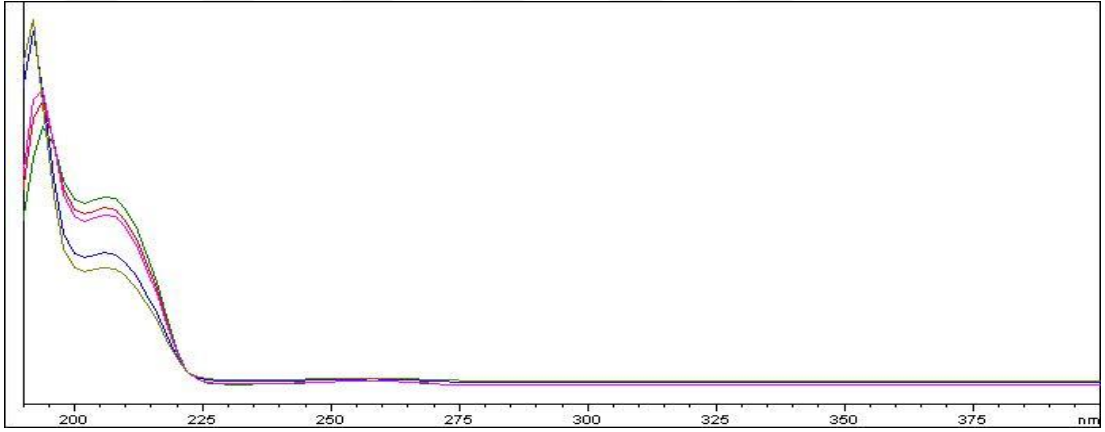


Şekil 3.7. Naltreksonun etanol ortamında UV spektrofotometri ile belirlenen standart doğrusu ve denklemi.

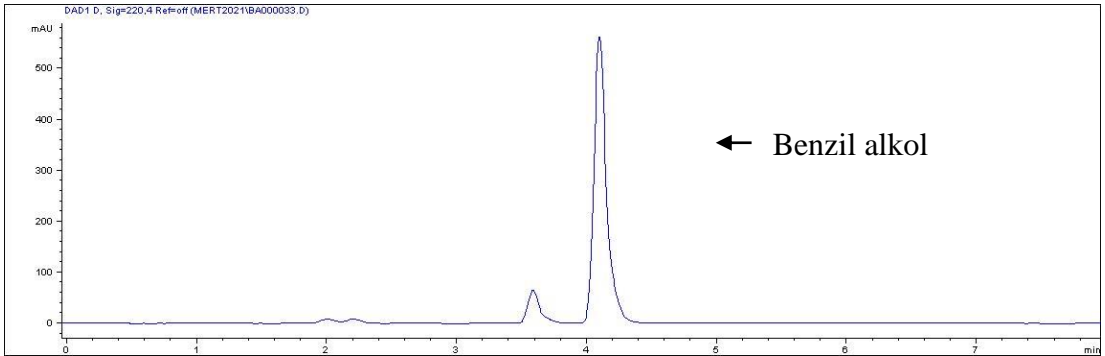
## 3.2. Benzil Alkolün Miktar Tayini Yöntemlerinin Geliştirilmesi

### 3.2.1. Benzil Alkolün pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında HPLC Analizi

Benzil alkolün pH 7,4 PBS ortamında hazırlanan çözeltisinin HPLC’de alınan spektrumu Şekil 3.8’de; kromatogramı ise Şekil 3.9’da verilmiştir. Čudina ve ark. (2005) yaptığı çalışmadan yola çıkarak ortamda bulunan diğer maddelerle girişimin olmadığı  $\lambda_{max}$  220 nm analiz için seçilmiştir ve piklerin ayrılabilirdiği bir yöntem geliştirilmiştir (Çizelge 3.2).



Şekil 3.8. Benzil alkolün farklı konsantrasyonları için pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında spektrumları.



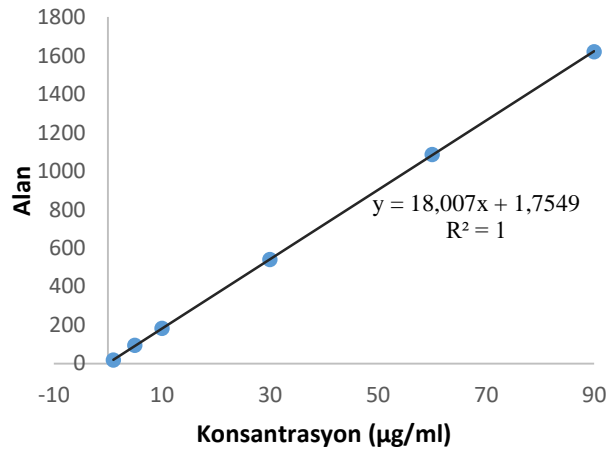
Şekil 3.9. Benzil alkolün pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında kromatogramı.

**Çizelge 3.2.** Benzil alkolün pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında HPLC ile tayini için geliştirilen yöntemin koşulları.

<b>Cihaz</b>	Agilent 1100 HPLC
<b>Mobil faz</b>	pH 2,1 Diamonyum fosfat tamponu : asetonitril (50:50 h/h)
<b>Akış hızı</b>	1 ml/dk
<b>Kolon</b>	LiChrosorb RP C-18 5 µm (250 x 4,6 mm)
<b>Dedektör</b>	Diode array dedector (DAD)
<b>λ<sub>max</sub></b>	220 nm
<b>Sıcaklık</b>	35°C
<b>Enjeksiyon hacmi</b>	20 µl
<b>Altkonma zamanı</b>	4,1 dk

### 3.2.2. Benzil Alkolün HPLC ile pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında Standart Doğrularının Hazırlanması

Benzil alkolün 1-90 µg/mL konsantrasyon aralığındaki çözeltilerinin HPLC’de okumaları sonucunda elde edilen standart doğrusu ve doğru denklemi Şekil 3.10’da verilmiştir.

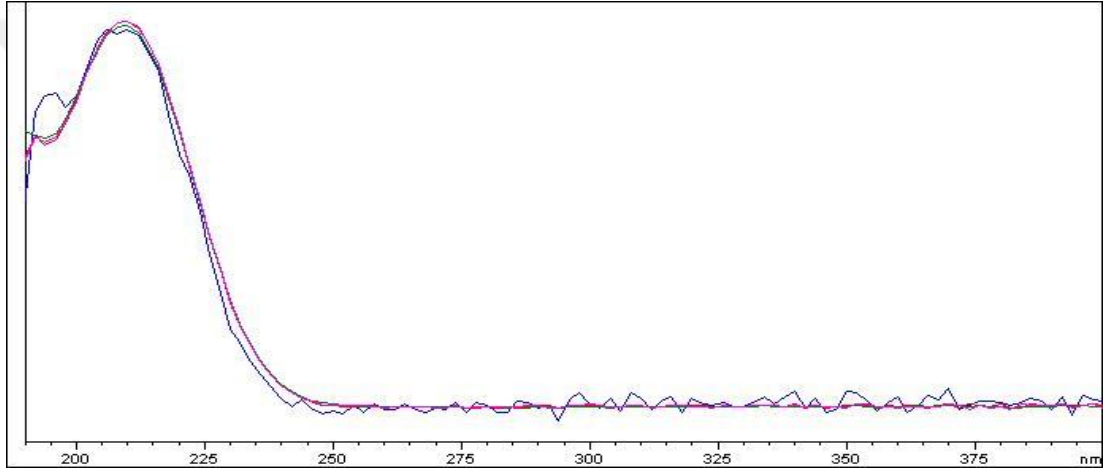


**Şekil 3.10.** Benzil alkolün pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında HPLC ile belirlenen standart doğrusu ve denklemi.

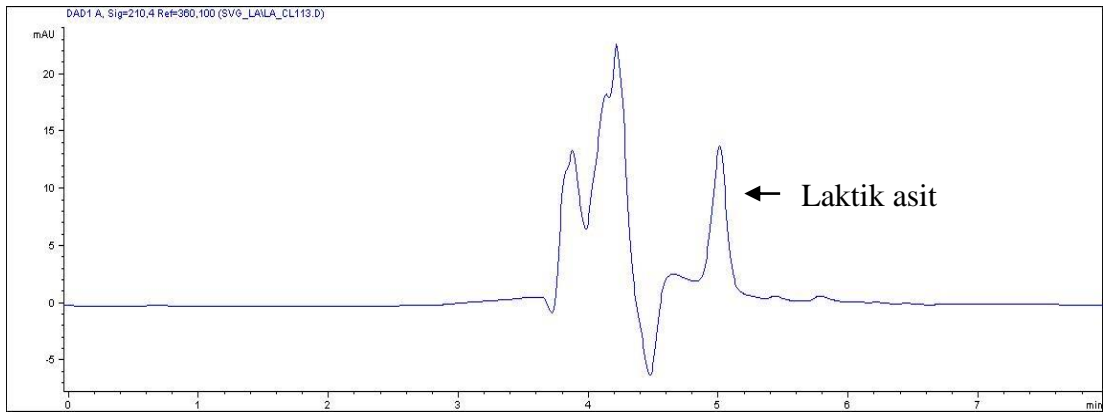
### 3.3. Laktik Asit için Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesi

#### 3.3.1. Laktik Asidin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında HPLC Analizi

Laktik asitin pH 7,4 PBS ortamında hazırlanan çözeltisinin HPLC’de alınan spektrumu Şekil 3.11’de; kromatogramı ise Şekil 3.12’de verilmiştir. Analiz için  $\lambda_{\max}$  210 nm belirlenmiş ve piklerin ayrılabilirdiği bir yöntem geliştirilmiştir (Çizelge 3.3).



Şekil 3.11. Laktik asidin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında spektrumu.



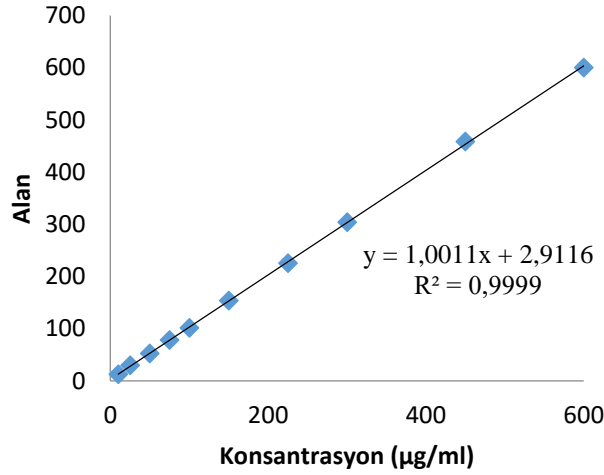
Şekil 3.12. Laktik asidin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında kromatogramı.

**Çizelge 3.3.** Laktik asidin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında HPLC ile tayini için geliştirilen yöntemin koşulları.

<b>Cihaz</b>	Agilent 1100 HPLC
<b>Mobil faz</b>	20 mM pH 2,0 monopotasyum dihidrojen fosfat (%100)
<b>Akış hızı</b>	0,7 ml/dk
<b>Kolon</b>	Synergi RP C-18 4 µm (250 x 4,6 mm)
<b>Dedektör</b>	Diode array dedector (DAD)
<b>λ<sub>max</sub></b>	210 nm
<b>Sıcaklık</b>	25°C
<b>Enjeksiyon hacmi</b>	20 µl
<b>Altkonma zamanı</b>	5,1 dk

### 3.3.2. Laktik Asidin HPLC ile pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında Standart Doğrularının Hazırlanması

Laktik asidin 10-600 µg/mL konsantrasyon aralığındaki çözeltilerinin HPLC’de okumaları sonucunda elde edilen standart doğrusu ve doğru denklemi Şekil 3.13’te verilmiştir.

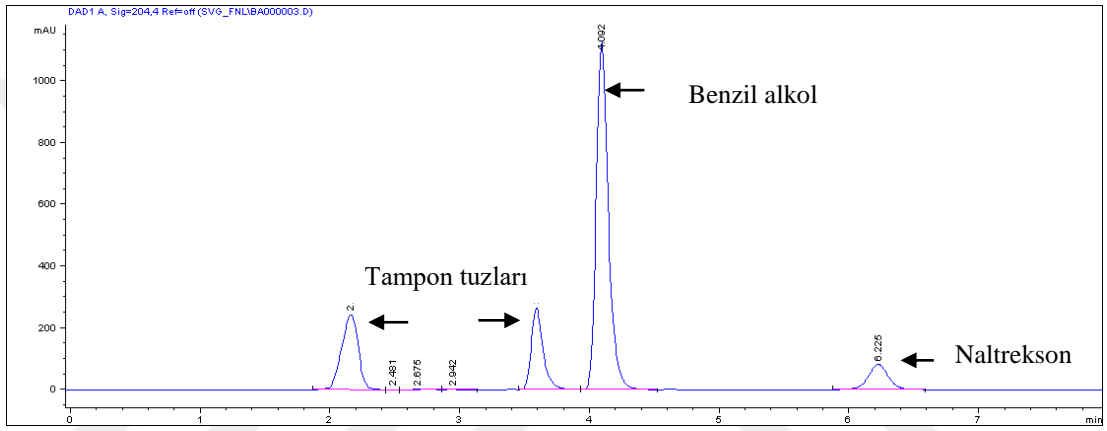


**Şekil 3.13.** Laktik asidin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında HPLC ile belirlenen standart doğrusu ve denklemi.

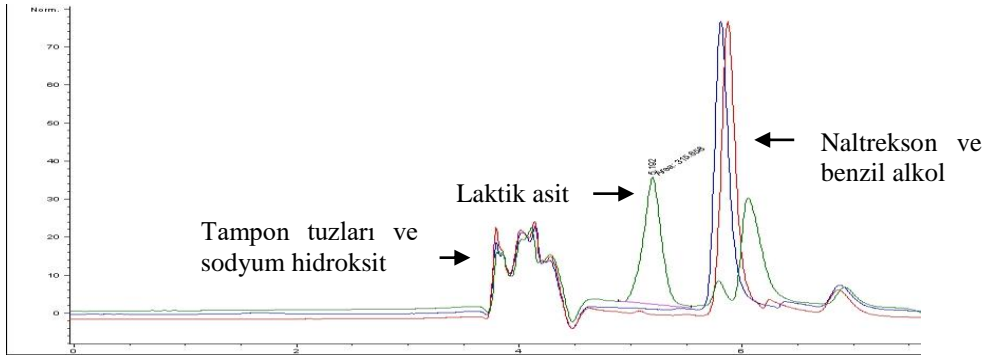
### 3.4. Miktar Tayini Yöntemlerinin Analitik Validasyonları

#### Seçicilik

Naltrekson, benzil alkol ve laktik asidin HPLC ile analizi için seçilen yöntemin seçici olduğu, diğer maddeler ile girişim yapmadığı tespit edilmiştir (Şekil 3.14 ve Şekil 3.15).



Şekil 3.14. Naltrekson ve benzil alkolün, belirlenen analiz şartlarında kromatogramı.



Şekil 3.15. Benzil alkol, naltrekson ve laktik asidin, laktik asit için belirlenen analiz şartlarında kromatogramı.

## Doğrusallık ve Aralığı

Naltreksonun UV spektrofotometrik tayini için etanol içinde ve pH 7,4 PBS ortamında; HPLC ile miktar tayini için pH 7,4 PBS ortamında; benzil alkolün pH 7,4 PBS ortamında ve laktik asitin pH 7,4 PBS ortamında hazırlanan standart doğrularına ait doğrusallık ve aralığı bulguları Çizelge 3.4’de yer almaktadır.

**Çizelge 3.4.** Naltrekson, benzil alkol ve laktik asidin UV spektrofotometri ve HPLC ile miktar tayini için geliştirilen analitik yöntemlerin doğrusallık ve aralığı ile standart doğrulara ait istatistiksel bulgular.

Madde ve Ortam	UV Spektrofotometri		HPLC		
	Naltrekson (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	Naltrekson (Etanol)	Naltrekson (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	Benzil Alkol (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	Laktik asit (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))
Doğrusallık ve Aralığı	40-240 µg/ml	40-240 µg/ml	1-100 µg/ml	1-90 µg/ml	1-600 µg/ml
Eğim	$4 \times 10^{-3}$	$3,6 \times 10^{-3}$	105,060	18,007	1,001
Eğimin %95 Güven Aralığı	Alt Sınır: $3,9 \times 10^{-3}$	Alt Sınır: $3,5 \times 10^{-3}$	Alt Sınır: 104,335	Alt Sınır: 17,901	Alt Sınır: 0,991
	Üst Sınır: $4 \times 10^{-3}$	Üst Sınır: $3,6 \times 10^{-3}$	Üst Sınır: 105,784	Üst Sınır: 18,112	Üst Sınır: 1,011
Eğimin Önemlilik Değeri	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Kesişim	$-7,5 \times 10^{-3}$	$-1,7 \times 10^{-3}$	32,145	1,755	2,911
Kesişimin %95 Güven Aralığı	Alt Sınır: $-15,7 \times 10^{-3}$	Alt Sınır: $-6,4 \times 10^{-3}$	Alt Sınır: -5,944	Alt Sınır: -3,106	Alt Sınır: 0,278
	Üst Sınır: $0,7 \times 10^{-3}$	Üst Sınır: $3,1 \times 10^{-3}$	Üst Sınır: 70,235	Üst Sınır: 6,615	Üst Sınır: 5,544
Determinasyon Katsayısı	0,9998	0,9999	1	1	0,9999

## Doğruluk

Naltrekson, benzil alkol ve laktik asidin farklı ortamlarda, üç farklı konsantrasyonda, 5 paralel olarak HPLC ve UV spektrofotometri ile yapılan miktar tayinlerinin doğruluğuna ait bulgular ve istatistiksel parametreler Çizelge 3.5’te verilmiştir.

**Çizelge 3.5.** Naltrekson, benzil alkol ve laktik asidin UV spektrofotometri ve HPLC ile miktar tayini için geliştirilen analitik yöntemlerin doğruluğuna ilişkin bulgular.

Doğruluk					
5'er kere ölçüm					
Spektrofotometri					
Madde ve Ortam	Konsantrasyon	Ortalama (µg/ml)	% Geri Elde	SS	%BSS
Naltrekson (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	40 µg/ml	41,500	103,738	0,466	0,450
	120 µg/ml	119,350	99,454	0,587	0,590
	240 µg/ml	234,180	97,575	0,218	0,223
Naltrekson (Etanol)	40 µg/ml	39,117	97,792	0,584	0,597
	120 µg/ml	118,856	99,046	0,262	0,264
	240 µg/ml	237,839	99,099	0,154	0,155
HPLC					
Naltrekson (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	10 µg/ml	9,801	98,006	0,273	0,278
	40 µg/ml	39,993	99,981	0,252	0,252
	100 µg/ml	99,898	99,898	0,171	0,171
Benzil alkol (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	10 µg/ml	9,680	96,799	0,353	0,364
	30 µg/ml	29,970	99,899	0,197	0,197
	90 µg/ml	88,965	98,850	0,108	0,109
Laktik asit (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	50 µg/ml	49,750	99,499	1,858	1,867
	150 µg/ml	150,996	100,664	1,891	1,878
	450 µg/ml	460,698	102,377	0,519	0,507

### Kesinlik

Kesinliğin saptanması için tekrarlanabilirlik ve iki farklı günde iki farklı analist tarafından yapılan ara kesinlik değerlendirilmiştir. Bu amaçla yapılan çalışmalara ait bulgular Çizelge 3.6'da verilmiştir.

**Çizelge 3.6.** Naltrekson, benzil alkol ve laktik asidin UV spektrofotometri ve HPLC ile miktar tayini için geliştirilen analitik yöntemlerin kesinliğine ilişkin bulgular.

Kesinlik							
Spektrofotometri							
Tekrarlanabilirlik				Ara Kesinlik			
Konsantrasyon (10 ölçüm)				Konsantrasyon (5 ölçüm)		Orijinal Analist	2. Analist
Naltrekson (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	160 µg/ml	Ort (µg/ml)	157,225	80 µg/ml	Ort (µg/ml)	79,425	80,585
		SS	1,016		SS	0,256	0,873
		%BSS	0,646		%BSS	0,322	1,083
Naltrekson (Etanol)	160 µg/ml	Ort (µg/ml)	157,733	80 µg/ml	Ort (µg/ml)	79,361	80,444
		SS	0,649		SS	0,111	0,172
		%BSS	0,411		%BSS	0,140	0,214
HPLC							
Naltrekson (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	20 µg/ml	Ort (µg/ml)	20,285	80 µg/ml	Ort (µg/ml)	80,052	80,173
		SS	0,037		SS	0,081	0,159
		%BSS	0,182		%BSS	0,101	0,199
Benzil alkol (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	60 µg/ml	Ort (µg/ml)	58,992	5 µg/ml	Ort (µg/ml)	4,982	4,893
		SS	0,219		SS	0,025	0,022
		%BSS	0,371		%BSS	0,506	0,455
Laktik asit (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	100 µg/ml	Ort (µg/ml)	105,183	300 µg/ml	Ort (µg/ml)	304,496	275,509
		SS	2,083		SS	2,267	0,872
		%BSS	1,981		%BSS	0,745	0,317

### Teşhis ve Tayin Sınırları

Naltrekson, benzil alkol ve laktik asidin çalışmada kullanılan pH 7,4 PBS ortamı ve etanol içinde 3 paralel kalibrasyonundan hareketle hesaplanan teşhis ve tayin sınırı değerleri Çizelge 3.7 ve Çizelge 3.8’de verilmiştir.

**Çizelge 3.7.** Geliştirilen HPLC yöntemlerinin teşhis ve tayin sınırları.

<b>HPLC</b>			
<b>En düşük konsantrasyon</b>			
<b>Naltrekson (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))</b>			
	1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel
	Kalibrasyon eşitliği:	Kalibrasyon eşitliği:	Kalibrasyon eşitliği:
	$105,39x + 18,911$	$y = 104,63x + 46,804$	$y = 105,06x + 32,144$
<b>1</b>	111,100	113,500	113,400
<b>2</b>	111,500	113,900	114,800
<b>3</b>	112,700	112,200	113,700
<b>SS</b>	0,833	0,889	0,737
<b>OSS</b>	0,820		
<b>LOD (µg/ml)</b>	0,026		
<b>LOQ (µg/ml)</b>	0,078		
<b>Laktik asit (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))</b>			
	1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel
	Kalibrasyon eşitliği:	Kalibrasyon eşitliği:	Kalibrasyon eşitliği:
	$y = 1,0011x + 2,9116$	$y = 0,9164x + 4,335$	$y = 0,9708x + 10,352$
<b>1</b>	13,030	12,380	12,430
<b>2</b>	12,110	11,340	13,260
<b>3</b>	12,070	11,420	11,910
<b>SS</b>	0,543	0,579	0,681
<b>OSS</b>	0,601		
<b>LOD (µg/ml)</b>	1,981		
<b>LOQ (µg/ml)</b>	6,002		
<b>Benzil alkol (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))</b>			
	1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel
	Kalibrasyon eşitliği:	Kalibrasyon eşitliği:	Kalibrasyon eşitliği:
	$17,523x + 8,8643$	$y = 18,007x + 1,7549$	$17,6617x + 4,1565$
<b>1</b>	19,023	17,000	17,090
<b>2</b>	18,580	16,940	18,000
<b>3</b>	18,950	17,040	17,900
<b>SS</b>	0,238	0,050	0,499
<b>OSS</b>	0,262		
<b>LOD (µg/ml)</b>	0,048		
<b>LOQ (µg/ml)</b>	0,146		

**Çizelge 3.8.** Geliştirilen UV spektrofotometre yöntemlerinin teşhis ve tayin sınırları.

<b>UV spektrofotometri</b>			
<b>Naltrekson (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))</b>			
	1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel
	Kalibrasyon eşitliği:	Kalibrasyon eşitliği:	Kalibrasyon eşitliği:
	$y = 0,0038x + 2,4 \times 10^{-3}$	$y = 0,0039x - 1,4 \times 10^{-3}$	$y = 0,0039x + 0,8 \times 10^{-3}$
<b>1</b>	0,156	0,151	0,155
<b>2</b>	0,157	0,153	0,155
<b>3</b>	0,158	0,152	0,157
<b>SS</b>	0,001	0,001	0,001
<b>OSS</b>	0,001		
<b>LOD (µg/ml)</b>	1,003		
<b>LOQ (µg/ml)</b>	3,038		
<b>Naltrekson (etanol)</b>			
	1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel
	Kalibrasyon eşitliği:	Kalibrasyon eşitliği:	Kalibrasyon eşitliği:
	$y = 0,0036x - 1,5 \times 10^{-3}$	$y = 0,0038x - 6 \times 10^{-3}$	$y = 0,0038x - 0,7 \times 10^{-3}$
<b>1</b>	0,138	0,134	0,142
<b>2</b>	0,137	0,151	0,155
<b>3</b>	0,137	0,149	0,152
<b>SS</b>	0,001	0,009	0,007
<b>OSS</b>	0,006		
<b>LOD (µg/ml)</b>	4,874		
<b>LOQ (µg/ml)</b>	14,770		

OSS: Ortalama standart sapma

LOD: Teşhis sınırı

LOQ: Tayin sınırı

### Sistem Uygunluk Testi

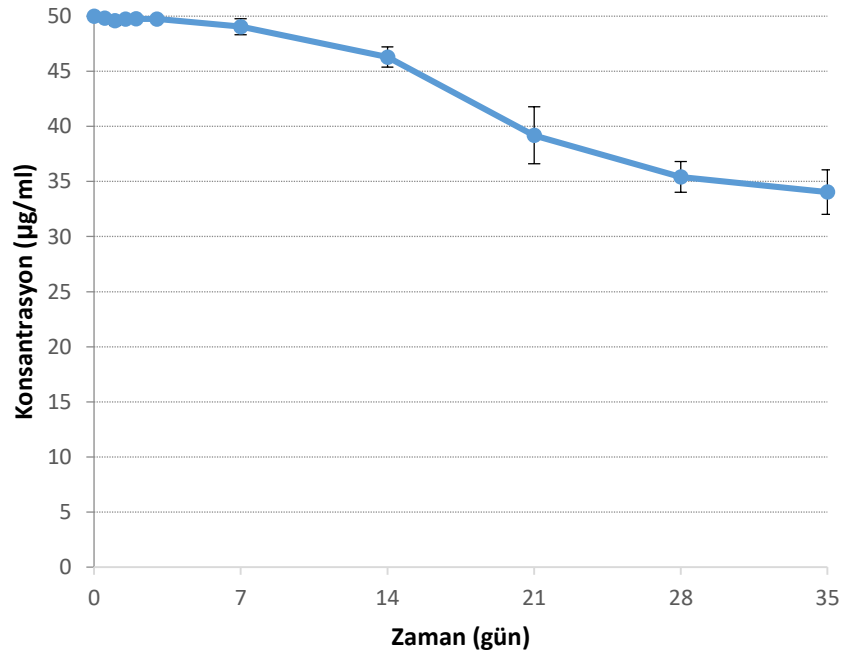
Naltrekson için 60 µg/ml, benzil alkol için 10 µg/ml ve laktik asit için 25 µg/ml konsantrasyonlarında beş kere ardışık olarak sisteme enjekte edilen çözeltilerin %BSS, simetri faktörü ve teorik plaka sayısı Çizelge 3.9’de verilmiştir.

**Çizelge 3.9.** HPLC yöntemi için sistem uygunluk testinin sonuçları.

	<b>Kabul Kriteri</b>	<b>Naltrekson</b> (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	<b>Benzil alkol</b> (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))	<b>Laktik asit</b> (pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid))
<b>Enjeksiyon tekrarlanabilirliği</b>	%BSS < %1	0,346	0,437	2,796
<b>Simetri faktörü</b>	$T \leq 2$	0,996	0,746	0,578
<b>Teorik plaka sayısı</b>	> 2000	7360,8	10771,2	2679,8

### Stabilite Çalışması

Naltrekson'un 37°C sıcaklıkta pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında hazırlanan çözeltisine ait stabilite bulguları (konsantrasyon) Şekil 3.16'te verilmiştir. Naltreksonun konsantrasyonu 35. gün sonunda  $34 \pm 2$  µg/ml'ye düşmüş ve %32 düzeyinde azalmıştır.

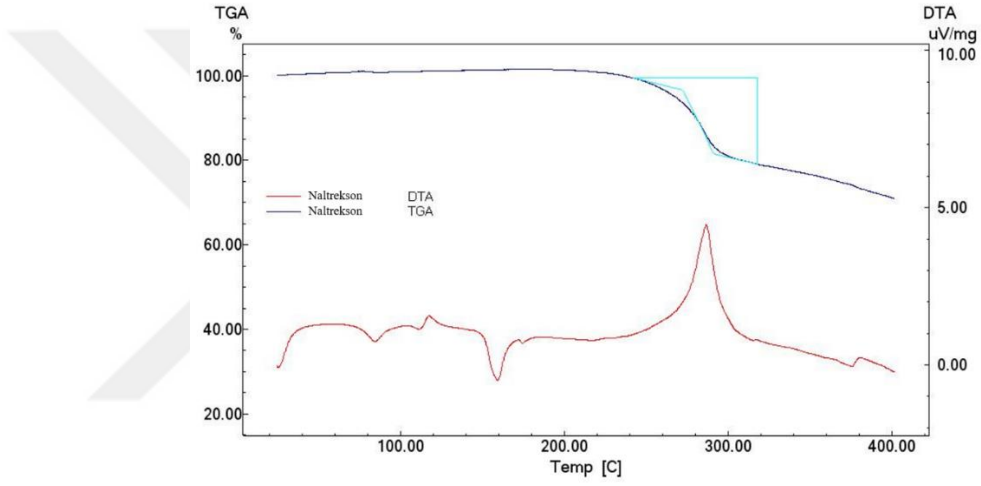


**Şekil 3.16.** Naltreksonun 37°C sıcaklıkta pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında konsantrasyon değişimi.

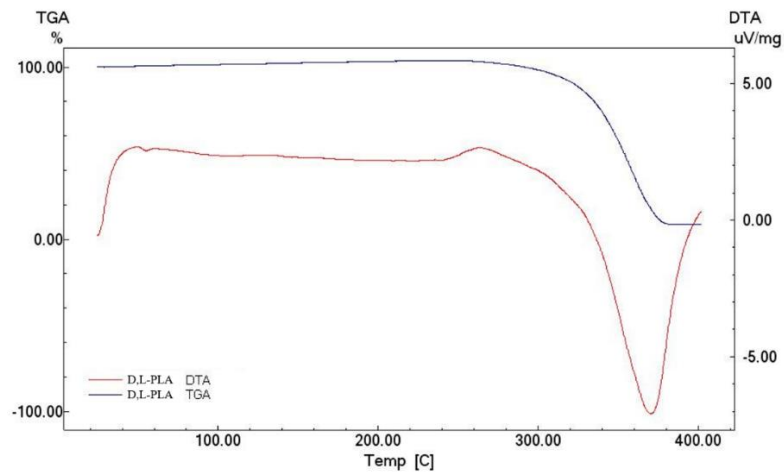
### 3.5. Naltrekson ve PDLLA'nın Fizikokimyasal Özelliklerine Ait Bulgular

#### 3.5.1. DTA ve TGA Bulguları

Naltrekson ve PDLLA'ya ait DTA ve TGA termogramları Şekil 3.17 ve Şekil 3.18'de verilmiştir. Şekil 3.15'te naltreksonun erime noktası 159,41°C olarak tespit edilmiştir. Şekil 3.18'de PDLLA'nın camsı geçiş sıcaklığı,  $T_g$ , 54,82°C olarak gözlenmiştir.



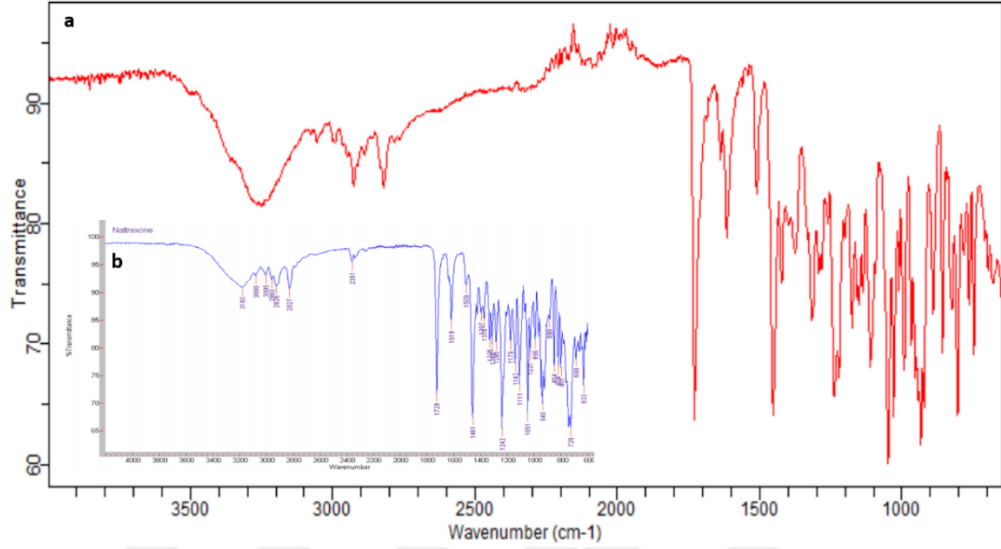
Şekil 3.17. Naltreksonun DTA ve TGA termogramları.



Şekil 3.18. PDLLA'nın DTA ve TGA termogramları.

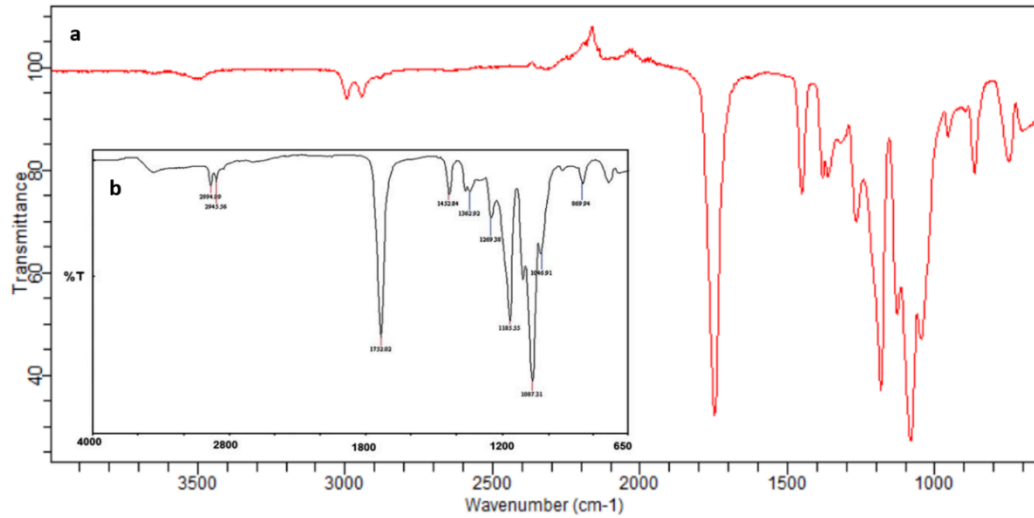
### 3.5.2. FT-IR ile Analiz Bulguları

Etkin maddenin FT-IR spektrumu Şekil 3.19 (a)'da ve literatürde yer alan spektrumu Şekil 3.19 (b)'de görülmektedir (Kok ve Scammells, 2012).



Şekil 3.19. a) Naltreksonun FT-IR spektrumu; b) Naltreksonun literatürde yer alan FT-IR spektrumu.

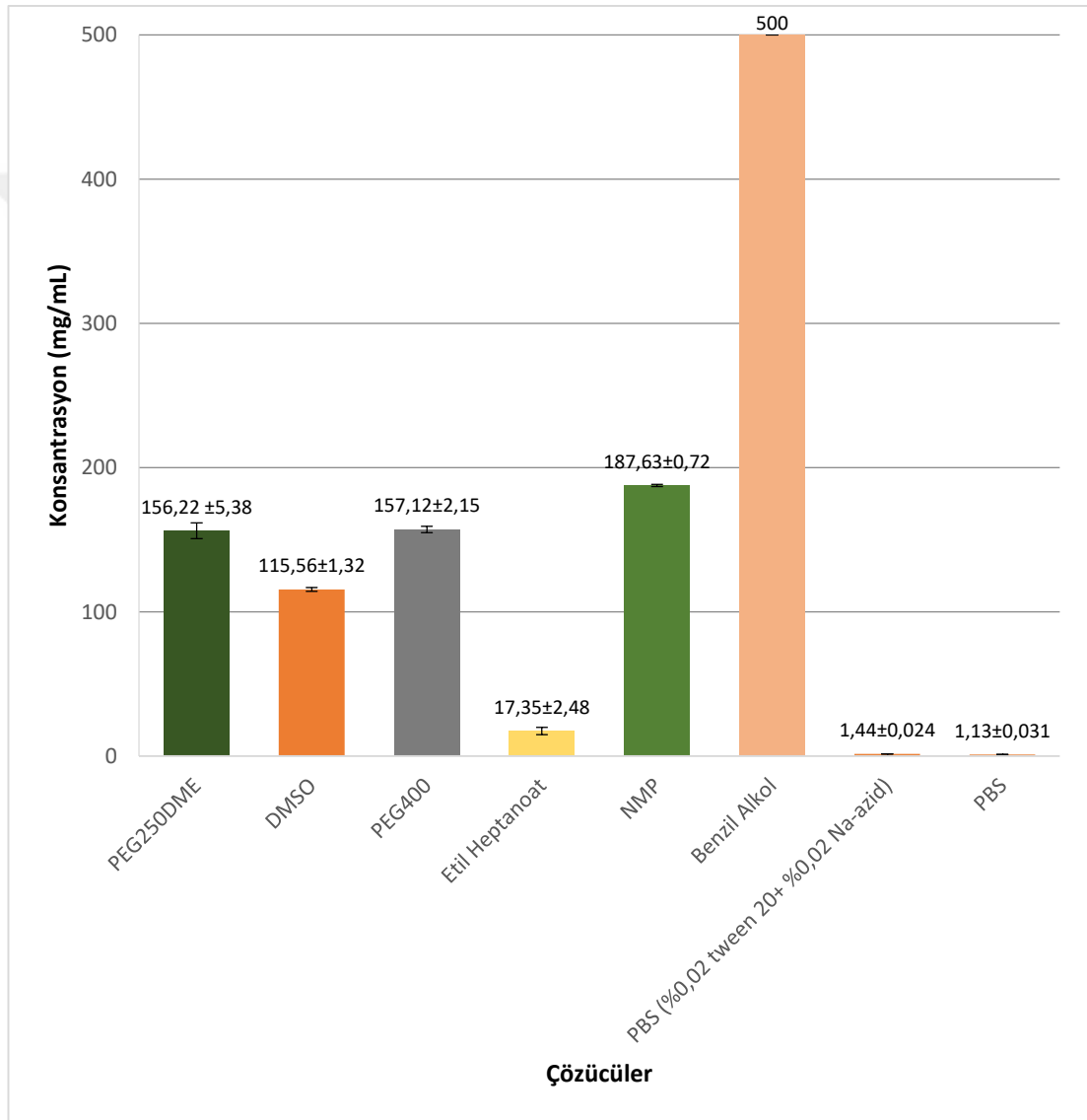
PDLLA'nın FT-IR spektrumu Şekil 3.20 (a)'da ve literatürde yer alan spektrumu Şekil 3.20 (b)'de görülmektedir (Omay ve Güvenilir, 2013).



Şekil 3.20. a) PDLLA'nın FT-IR spektrumu; b) PDLLA'nın literatürde yer alan FT-IR spektrumu.

### 3.6. Naltreksonun Formülasyonlarda Kullanılacak Çözücüler İçinde Çözünürlüğünün Belirlenmesi

Naltreksonun formülasyon çalışmalarında kullanılması planlanan çözücüler içinde tayin edilen çözünürlüğüne ilişkin grafik ve tespit edilen değerler Şekil 3.21’de verilmiştir.



Şekil 3.21. Naltreksonun farklı çözücüler içindeki çözünürlük değerleri.

### **3.7. İn Situ Jel Oluşturan Formülasyonların Geliştirilmesi**

#### **3.7.1. Sıcaklık Değişimi ile Jelleşen Sistemler**

PLGA-PEG-PLGA triblok kopolimerin suda / tamponda çözüldükten sonra jelleşme mekanizmasının literatürde sıcaklık değişimi olarak verilmesine rağmen bu kopolimer pH 7,4 PBS ortamında çözülememiştir (F15-1—F15-3). Bu nedenle çözücü göçü mekanizması ile çöken jellerde kullanılan çözücüler ve bileşimler denenmeye karar verilmiştir (Çizelge 2.10). Polimerin diğer organik çözücülerde çözüldüğü tespit edilmiş ve jelleşme sıcaklığı tespit edilmek istenmiştir. Fakat Bölüm 2.10.1’de belirtildiği şekilde yapılan deney sonucunda polimerin 15-50°C sıcaklık aralığında jelleşmediği görülmüştür. Hazırlanan polimer çözeltileri suya damlatıldığında ise bir jelleşme olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle çözücü göçü mekanizması ile jelleşen sistemlere dâhil edilerek değerlendirilmiştir (F15-4—F15-6, Çizelge 2.10).

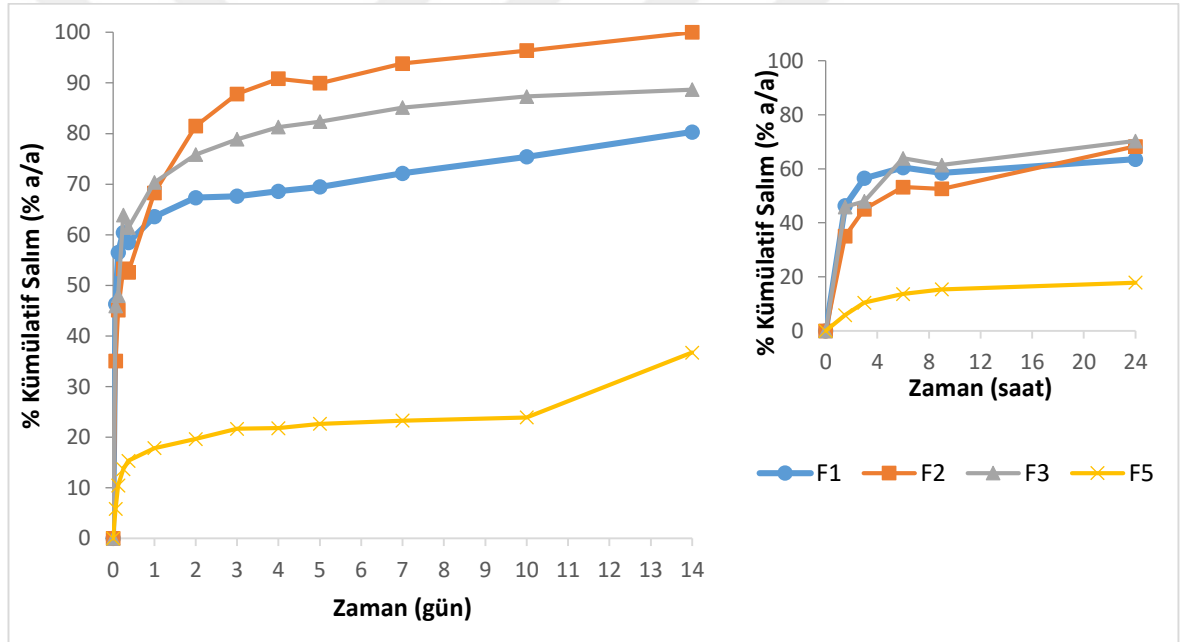
#### **3.7.2. Çözücü Göçü ile İn Situ Jel Oluşumu İçin Hazırlanan Formülasyonlar**

İn situ oluşan jel formülasyonları ve karakterizasyonları Bölüm 2.10.2’de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Etkin maddenin polimer çözeltisi içinde çözünme durumu, çözünme süresi ve başlangıç hızlı salım miktarları Çizelge 3.10’da görülmektedir. Bu formülasyonlar arasından etkin maddenin farklı oranlarda çözüldüğü; polimer oranının farklı ve başlangıç hızlı salımı kontrol etmek için koyulan etil heptanoatın farklı miktarlarda olmasına göre seçilen formülasyonlardan etkin madde salım profilleri Şekil 3.22’de verilmiştir.

Çizelge 3.10. F1-F12 formülasyonlarına ait karakterizasyon bulguları.

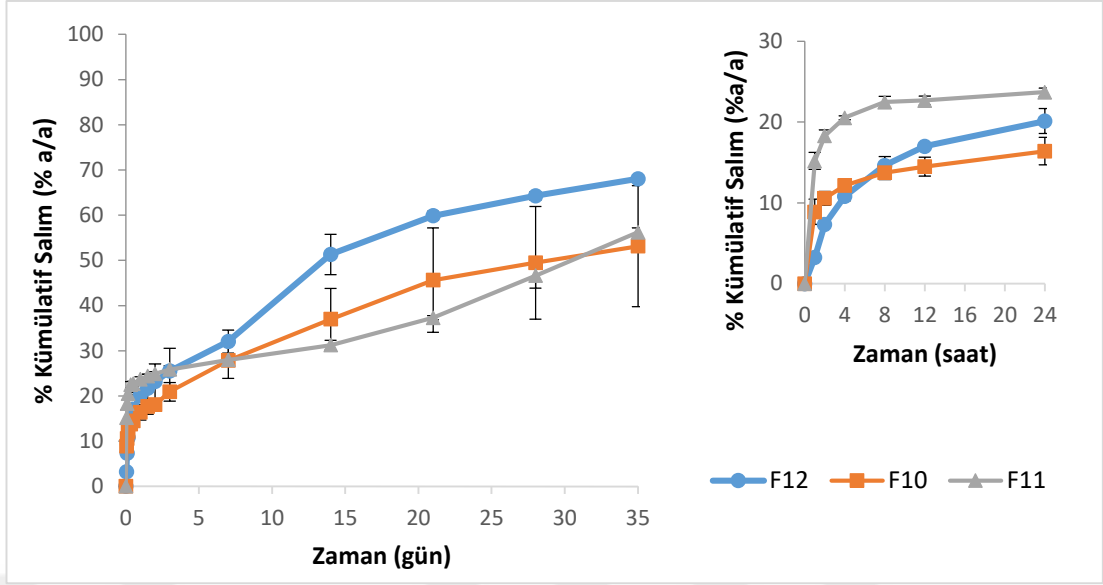
	Çözünen Naltrekson miktarı	Naltrekson çözünme süresi	% Başlangıç hızlı salım ± SH (4 s)	% Başlangıç hızlı salım ± SH (24 s)
F1	%10,46	-	%56,51	%63,56
F2	%8,15	-	%45,09	%68,28
F3	%12,88	-	%47,98	%70,33
F4	-	-	-	-
F5	%44,91	-	%10,46	%17,82
F6	-	-	-	-
F7	%81,67	-	-	-
F8	%54,65	-	-	-
F9	%76,46	-	-	-
F10	%100	10 dk	%12,16±0,065	%16,4±1,2
F11	%100	2 dk	%20,53±0,18	%23,7±0,37
F12	%100	50 dk	%10,81±0,38	%20,13±1,09

\* Standart hata (SH) değerleri olmayan veriler, tek seri olarak çalışılmıştır.



Şekil 3.22. Polimer oranına karar vermek için hazırlanan formülasyonların 14 gün ve ilk 24 saat süresince etkin madde salım profilleri (n=1).

Polimer oranına karar verildikten sonra F7-F12 formülasyonları denenmiştir. Bu formülasyonlar arasından naltreksonun çözüldüğü F10, F11 ve F12 formülasyonlarına ait salım bulguları Şekil 3.23'te görülmektedir.



Şekil 3.23. Naltreksonun çözündüğü formülasyonlardan etkin madde salım profilleri (n=3).

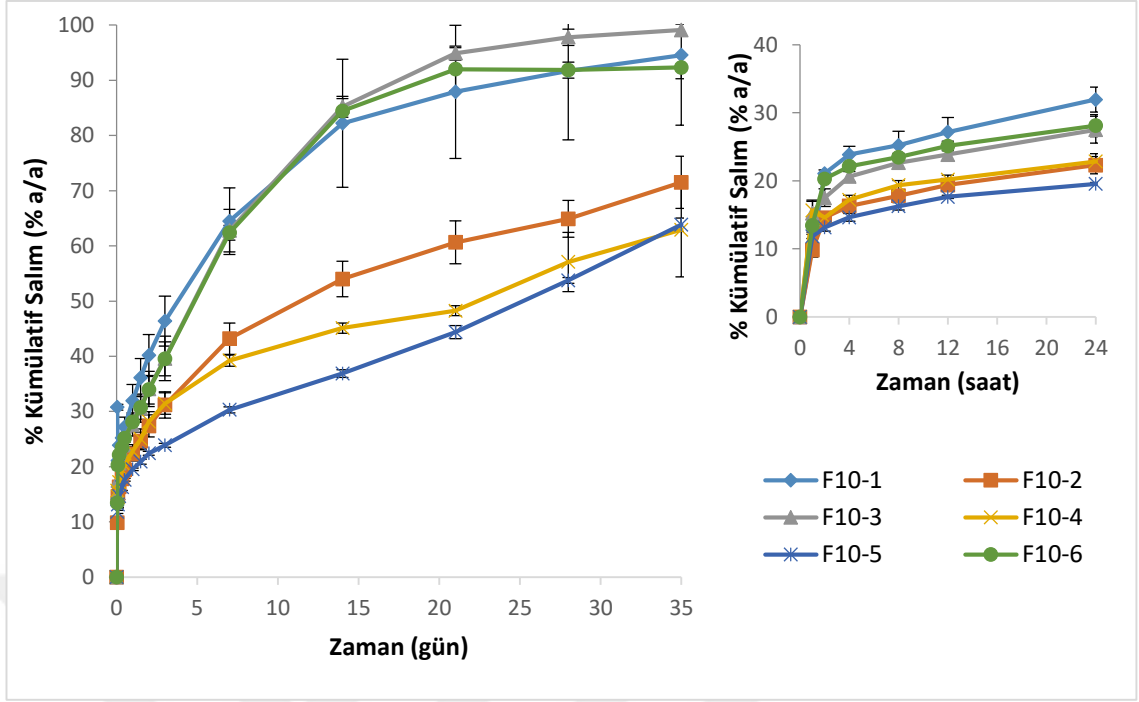
Seçilen F10 ve F12 formülasyonlarının farklı oranları denenmiş ve bu formülasyonlara ait bulgular Çizelge 3.11, Çizelge 3.12 ve Şekil 3.24 ile Şekil 3.25’de verilmiştir.

Çizelge 3.11. F10-1—F10-6 formülasyonlarına ait karakterizasyon bulguları.

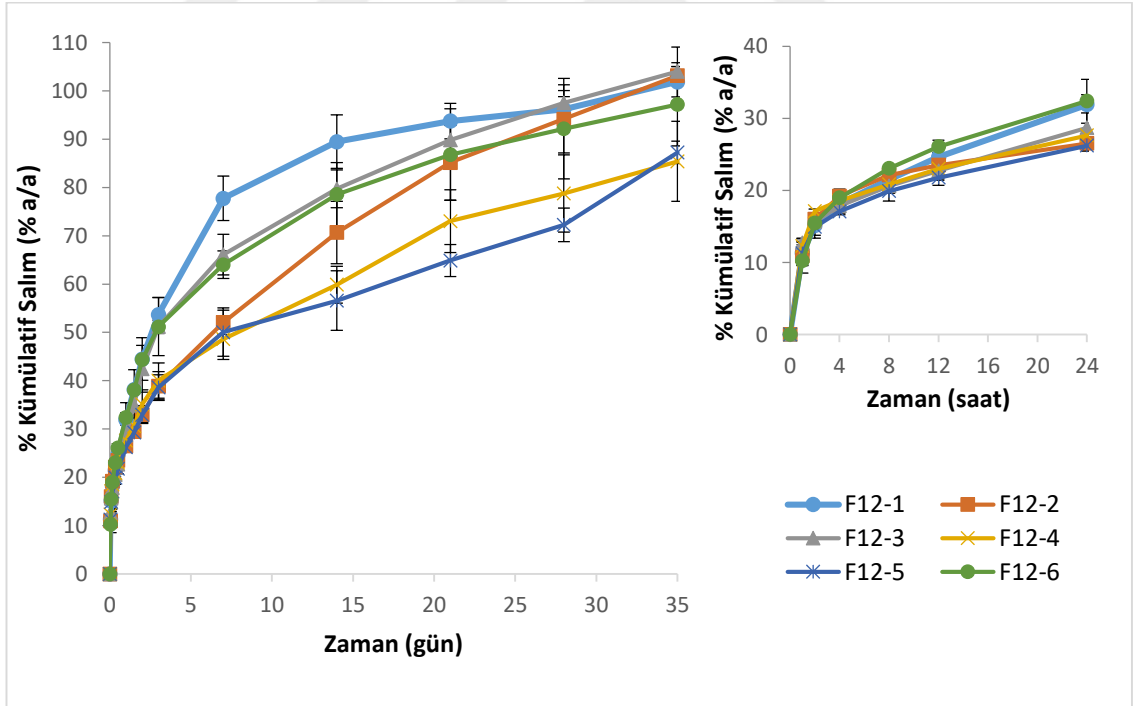
	F10-1	F10-2	F10-3	F10-4	F10-5	F10-6
Naltrekson Çözünme Süresi	4,5 dk	7,5 dk	7 dk	7,5 dk	12 dk	3 dk
% Başlangıç hızlı salım ± SH (4 s)	23,85±2,03	16,32±0,58	20,63±0,72	17,22±0,66	14,63±0,58	22,15±0,13
% Başlangıç hızlı salım ± SH (24 s)	31,96±2,92	22,31±1,28	27,52±1,96	22,84±1,17	19,55±0,23	28,11±1,62

Çizelge 3.12. F12-1—F12-6 formülasyonlarına ait karakterizasyon bulguları.

F12	F12-1	F12-2	F12-3	F12-4	F12-5	F12-6
Naltrekson Çözünme Süresi	6 dk	8 dk	5 dk	7 dk	>50 dk	2 dk
% Başlangıç hızlı salım ± SH (4 s)	18,19±1,27	19,23±0,9	17,86±0,56	18,56±1,65	17,10±0,47	18,99±0,89
% Başlangıç hızlı salım ± SH (24 s)	31,92±3,5	26,53±0,94	28,72±2,06	27,66±1,70	26,24±0,77	32,42±0,89



Şekil 3.24. F10-1—F10-6 formülasyonlarından etkin madde salım profilleri (n=3).



Şekil 3.25. F12-1—F12-6 formülasyonlarından etkin madde salım profilleri (n=3).

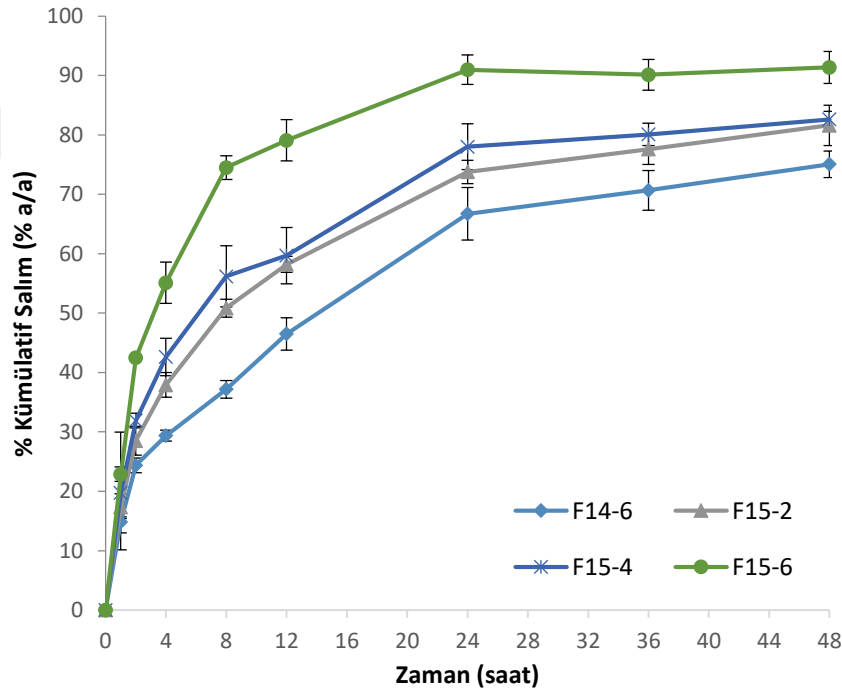
Belirlenen başlangıç salım ve salım hızı değerlerine yakın etkin madde salımı gerçekleşen F12-2, F12-4 ve F10-6 formülasyonları için polimer türü (PDLLA)

değiştirilmiş ve yeni tasarlanan bu formülasyonlardan etkin maddenin polimer çözeltisi içinde çözünmüş olduğu formülasyonlara ait bulgular Çizelge 3.13'te ve salım profilleri Şekil 3.26 ve Şekil 3.27'de verilmiştir.

**Çizelge 3.13.** Farklı polimerler kullanılarak tasarlanan formülasyonlara ait karakterizasyon bulguları.

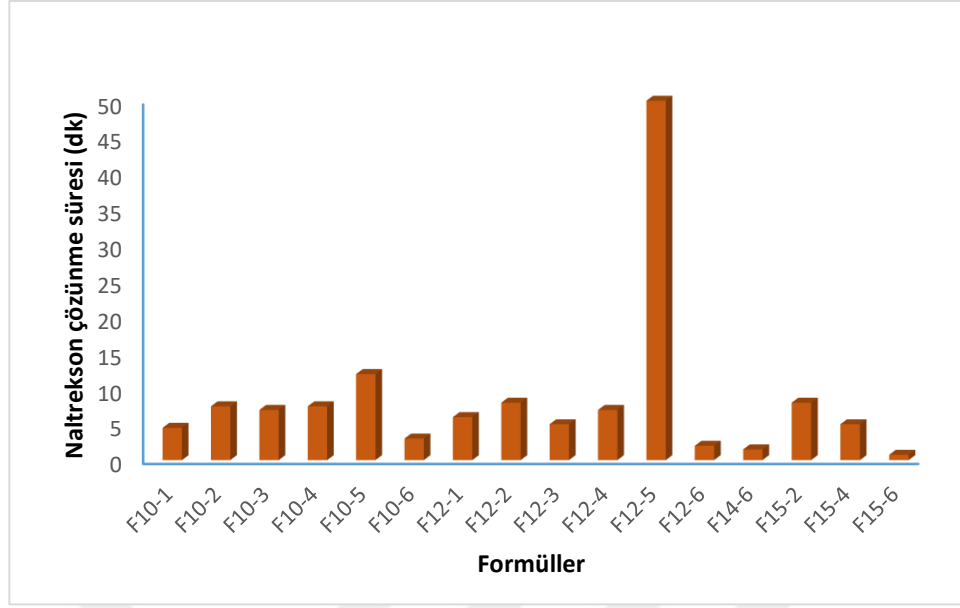
	PLGA 85:15			PLGA 50:50			PLGA-PEG-PLGA		
	F13-2	F13-4	F13-6	F14-2*	F14-4*	F14-6	F15-2	F15-4	F15-6
<b>Naltrekson Çözünme Süresi</b>	Çözünmedi	Çözünmedi	Çözünmedi	-	-	1,5 dk	8 dk	5 dk	45 sn
<b>% Başlangıç hızlı salım ± SH (4 s)</b>	-	-	-	-	-	29,38±0,93	27,55±2,06	42,61±3,15	55,11±3,45
<b>% Başlangıç hızlı salım ± SH (24 s)</b>	-	-	-	-	-	66,73±4,43	55,06±1,97	78,01±3,87	90,97±2,50

\*Polimer çözünmemiştir.



**Şekil 3.26.** Farklı polimerler kullanılarak tasarlanan formülasyonlardan etkin madde salım profilleri (n=3).

Formülasyonların geliştirilmesinde etkin maddenin polimer çözeltisi içinde çözünme süreleri Şekil 3.27'de verilmiştir.



Şekil 3.27. Geliştirilen tüm formülasyonlar için etkin maddenin polimer çözeltisinde çözünme süresi.

### 3.7.3. Salım Kinetiklerinin Belirlenmesi

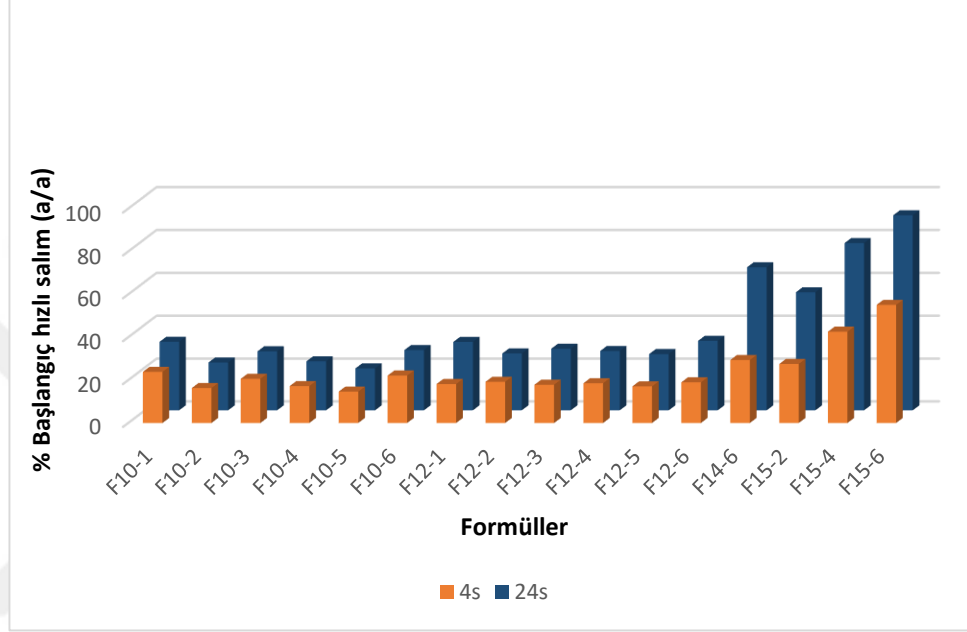
F10-1—F10-6 ve F12-1—F12-6 formülasyonlarından salım kinetiklerine ait bulgular Çizelge 3.14’de verilmiştir.

Çizelge 3.14. F10-1—F10-6 ve F12-1—F12-6 formülasyonlarına ait kinetik model bulguları.

	Sıfır derece				Birinci derece				Weibull					Peppas					Higuchi			
	r <sup>2</sup>	k <sub>0</sub>	MSC	AIC	r <sup>2</sup>	k <sub>1</sub>	MSC	AIC	r <sup>2</sup>	τ <sub>d</sub>	β	MSC	AIC	r <sup>2</sup>	n	k	MSC	AIC	r <sup>2</sup>	k	MSC	AIC
<b>F12-1</b>	0,791	0,128	28,989	142,594	0,969	0,005	10,675	112,622	0,974	94,219	0,524	4,527	87,773	0,989	0,341	11,213	6,469	98,486	0,938	3,379	13,449	119,552
<b>F12-2</b>	0,941	0,120	20,650	132,417	0,986	0,004	12,142	116,487	0,925	203,733	0,436	8,354	106,157	0,979	0,316	11,216	5,818	95,301	0,998	3,214	7,600	102,430
<b>F12-3</b>	0,860	0,125	25,432	138,667	0,978	0,005	11,037	113,624	0,950	121,397	0,488	5,619	94,261	0,988	0,329	11,448	2,559	70,663	0,977	3,340	10,552	112,275
<b>F12-4</b>	0,910	0,083	21,235	133,255	0,986	0,002	15,208	123,241	0,963	321,657	0,376	4,472	87,411	0,989	0,279	12,221	2,634	71,526	0,992	2,525	9,919	110,420
<b>F12-5</b>	0,908	0,080	20,046	131,527	0,951	0,002	15,295	123,411	0,964	389,682	0,378	4,537	87,841	0,993	0,287	11,175	3,107	76,484	0,983	2,437	9,434	108,914
<b>F12-6</b>	0,833	0,098	26,700	140,125	0,985	0,004	13,834	120,400	0,982	119,474	0,484	3,223	77,580	0,993	0,325	11,726	3,001	75,442	0,963	3,070	12,375	117,057
<b>F10-1</b>	0,861	0,092	29,099	132,289	0,983	0,003	17,109	117,418	0,827	121,147	0,371	8,716	99,414	0,858	0,241	20,749	0,881	63,592	0,971	2,898	15,246	114,190
<b>F10-2</b>	0,903	0,070	18,460	119,547	0,964	0,001	14,705	113,179	0,961	768,423	0,354	3,555	74,303	0,976	0,290	10,292	2,552	54,113	0,991	2,136	8,476	97,750
<b>F10-3</b>	0,879	0,109	25,291	128,362	0,999	0,005	11,210	105,581	0,866	105,279	0,491	9,392	101,505	0,947	0,316	14,070	5,128	57,488	0,975	3,339	10,503	103,755
<b>F10-4</b>	0,912	0,054	18,650	119,833	0,957	0,001	16,775	116,866	0,950	1212,405	0,267	3,365	72,761	0,964	0,221	12,685	3,008	69,627	0,988	1,643	10,423	103,543
<b>F10-5</b>	0,974	0,057	14,420	112,631	0,982	0,001	13,053	109,842	0,921	3432,385	0,267	5,494	86,492	0,942	0,227	10,169	5,172	84,801	0,981	1,653	7,668	94,948
<b>F10-6</b>	0,851	0,100	26,139	129,285	0,931	0,003	13,085	109,910	0,889	140,924	0,452	8,116	97,417	0,946	0,305	11,774	4,849	56,370	0,960	3,092	11,998	107,482

### 3.8. Başlangıç Hızlı Salımın Azaltılması İçin Çalışmalar

Şekil 3.28’de hazırlanan tüm formülasyonların başlangıç hızlı salım değerleri verilmektedir.



Şekil 3.28. F10-1—F10-6 ve F12-1—F12-6 formülasyonlarının 4 s ve 24 s’lik salım bulguları.

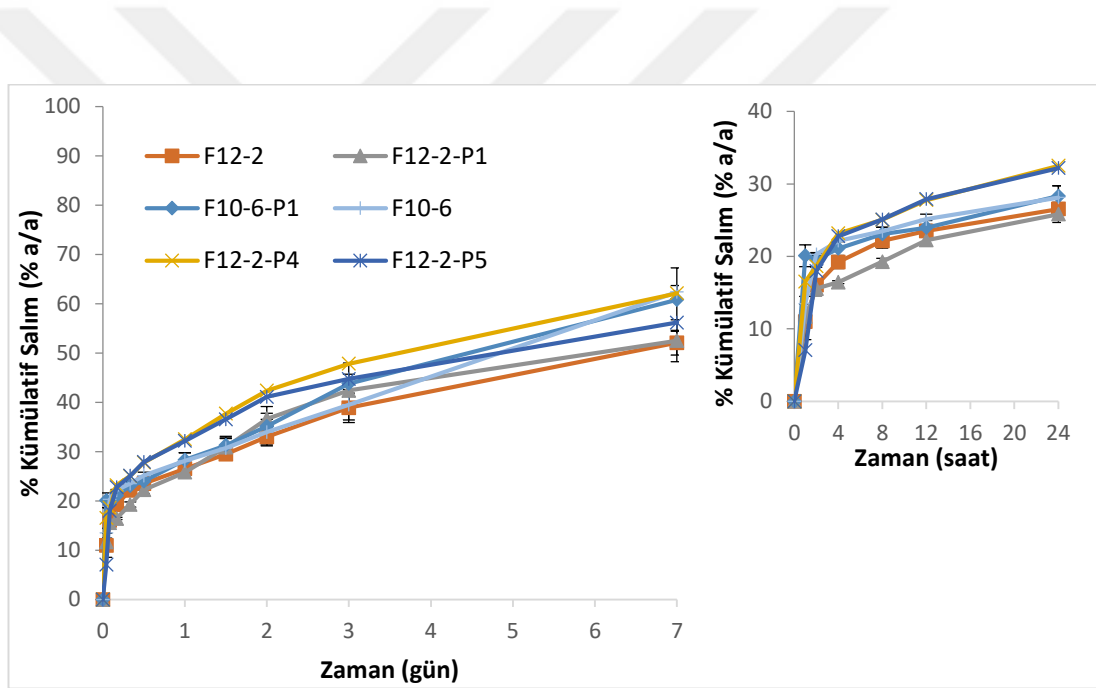
Bu değerleri daha fazla düşürebilmek için yapılan çalışmaların sonuçları aşağıdaki bölümlerde verilmektedir.

#### 3.8.1. Polimer Kombinasyonları

Çeşitli polimer kombinasyonları denemelerinin sonuçları Çizelge 3.15, Şekil 3.29 ve Şekil 3.30’de verilmiştir. Bu formülasyonların hazırlanmasında etkin maddenin polimer çözeltisinde çözünme süresi, F10-6 ve F12-2’ye göre önemli derecede uzamış ve bazı formülasyonlarda ise çözünme sağlanamamıştır.

**Çizelge 3.15.** PDLLA'nın farklı polimerler ile kombinasyonlarını içeren formülasyonlar.

	PLGA 85:15 : PLA (25:75)	PLGA 85:15 : PLA (50:50)	PLGA 85:15 : PLA (100:0)	PLGA 85:15 : PLA (25:75)	PLA:PCL (75:25)	PLA:PCL (50:50)	PLA:PCL (0:100)
	F12-2-P1	F12-2-P2	F12-2-P3	F10-6-P1	F12-2-P4	F12-2-P5	F12-2-P6
Naltrekson Çözünme Süresi	53 dk	Çözünmedi	Çözünmedi	20 dk	12 saat	12 saat	Çözünmedi
% Başlangıç hızlı salım ± SH (4s)	16,44±0,21	-	-	21,10±1,11	23,18	22,77	-
% Başlangıç hızlı salım ± SH (24s)	25,81±1,12	-	-	28,32±1,44	32,49	32,18	-



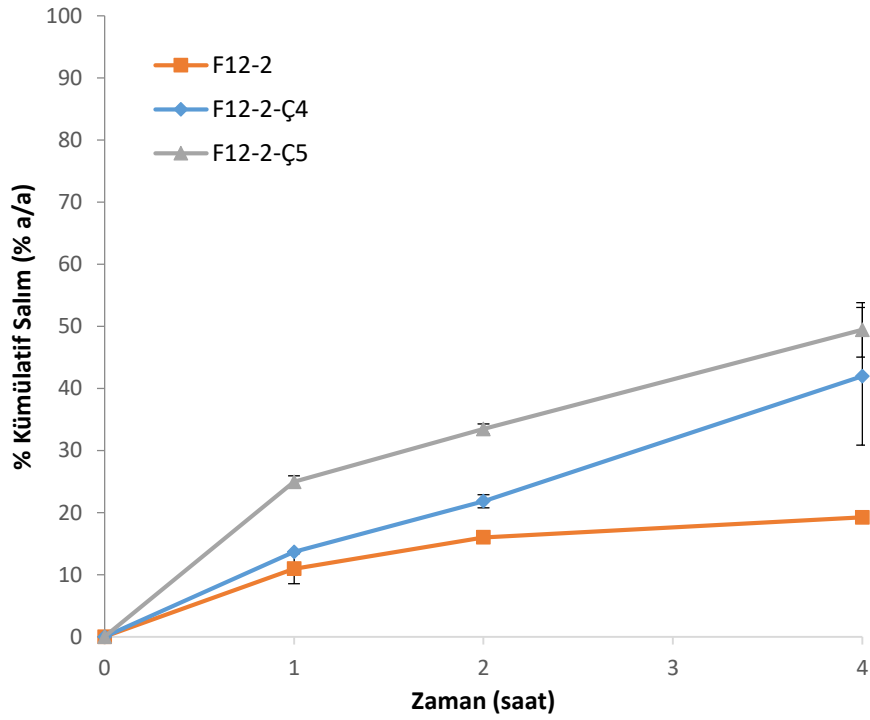
**Şekil 3.29.** PLGA 85:15 (n=3) ve PCL (n=1) polimerleri ile PDLLA polimerinin kombinasyonu ile hazırlanan formülasyonlardan etkin madde salım profilleri.

### 3.8.2. Hidrofobik Çözücü/Çözücü Kombinasyonları

F12-2 formülasyonunda benzil alkol yerine triasetin, benzil benzoat (BB) ve etil benzoatın (EB) kullanılarak hazırlandığı formülasyonlara ait bulgular Çizelge 3.16'da ve etkin madde salım profilleri Şekil 3.30'da verilmiştir. Hazırlanan formülasyonlardan etkin maddenin %42-%50'si ilk 4 saatte salınmıştır.

Çizelge 3.16. Farklı çözücülerini içeren formülasyonlara ait bulgular.

Çözücü	Triasetin	Benzil Benzoat (BB)	Etil Benzoat (EB)	BA:BB (50:50)	BA:EB (50:50)
	F12-2-Ç1	F12-2-Ç2	F12-2-Ç3	F12-2-Ç4	F12-2-Ç5
Naltrekson Çözünme Süresi	Çözünmedi	Çözünmedi	Çözünmedi	13 dk	5 dk
% Başlangıç hızlı salım ± SH (4 s)	-	-	-	41,97±11,09	49,45±4,38
% Başlangıç hızlı salım ± SH (24 s)	-	-	-	-	-



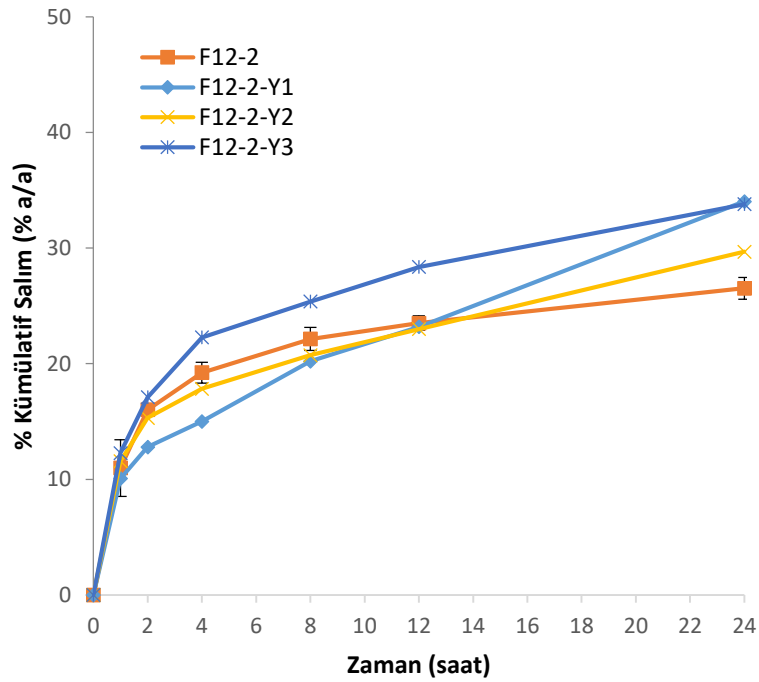
Şekil 3.30. Benzil alkol, etil benzoat ve benzil benzoat kombinasyonunu içeren formülasyonlardan etkin madde salım profilleri (n=3).

### 3.8.3. Yardımcı Maddelerin Kullanımı

Başlangıç hızlı salımın azaltılması için stearik asit, PEG4000 ve HPC'nin kullanıldığı formülasyonlara ait sonuçlar Çizelge 3.17 ve Şekil 3.31'de verilmiştir.

**Çizelge 3.17.** Stearik asit, PEG4000 ve hidroksi propil selüloz içeren formülasyonlara ait bulgular.

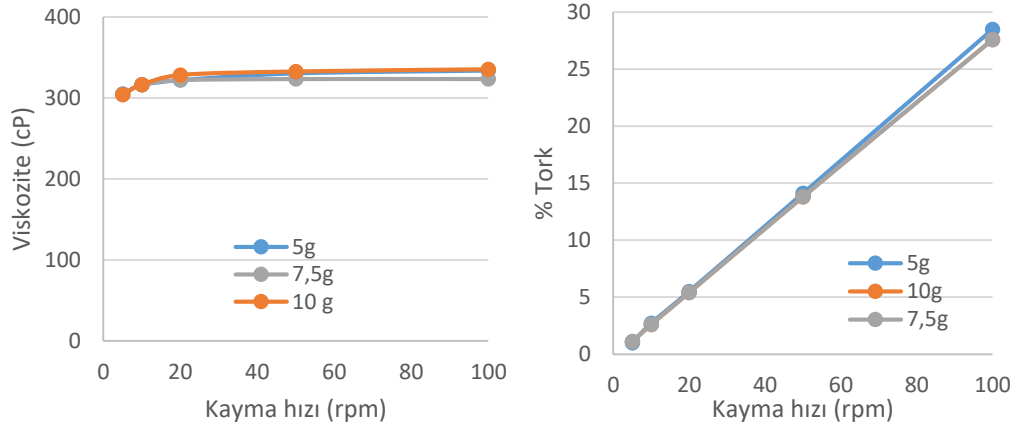
	Stearik asit	PEG4000	Hidroksi propil selüloz
	F12-2-Y1	F12-2-Y2	F12-2-Y3
Naltrekson Çözünme Süresi	16 dk	35 dk	90 dk
% Başlangıç hızlı salım (4s)	15,01	17,84	22,27
% Başlangıç hızlı salım (24s)	34,03	29,67	33,80



**Şekil 3.31.** Stearik asit, PEG4000 ve hidroksi propil selüloz içeren formülasyonlardan etkin madde salım profilleri (n=1).

### 3.9. Sonuç Formülasyonun Seçilmesi

Bulguları verilen formülasyon çalışmaları neticesinde F12-2 formülasyonu sonuç formülasyon olarak seçilmiştir. Akabinde tekrarlanabilirlik çalışmaları sonucu üç farklı ölçekte üretim yapılmış ve viskozite ile enjekte edilebilirlik bulguları değerlendirilmiştir (Şekil 3.32).



**Şekil 3.32.** Üç farklı ölçekte hazırlanan F12-2 formülasyonuna ait viskozite grafiği.

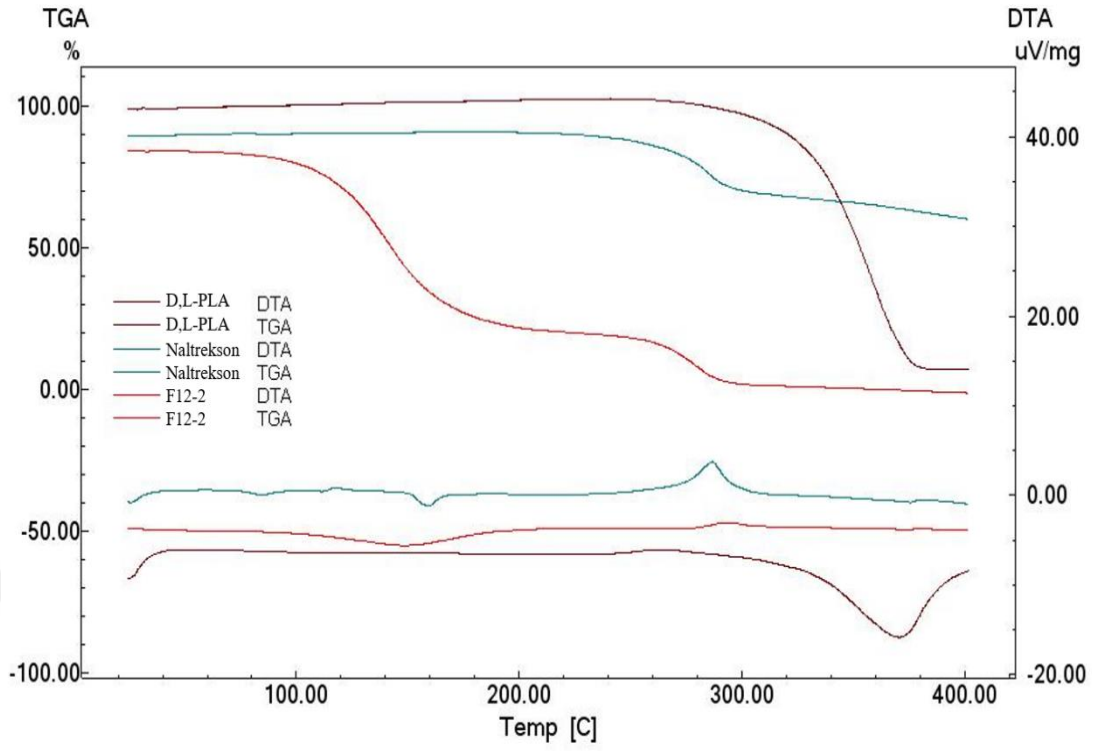
Enjekte edilebilirlik çalışmaları neticesinde 5g'lık formülasyonun enjekte edilebilirliği için 16,26 N; 7,5g'lık formülasyonun enjekte edilebilirliği için 15,71 N; 10 g'lık formülasyonun enjekte edilebilirliği için 16,37 N'luk bir kuvvet gerektiği tespit edilmiştir.

Bulunan sonuçlar arasında önemli bir fark görülmediğinden formülasyonlar birleştirilerek F12-2 formülasyonu için FT-IR, DTA analizleri, SEM görüntüleme ve etkin madde salım testi yapılmıştır.

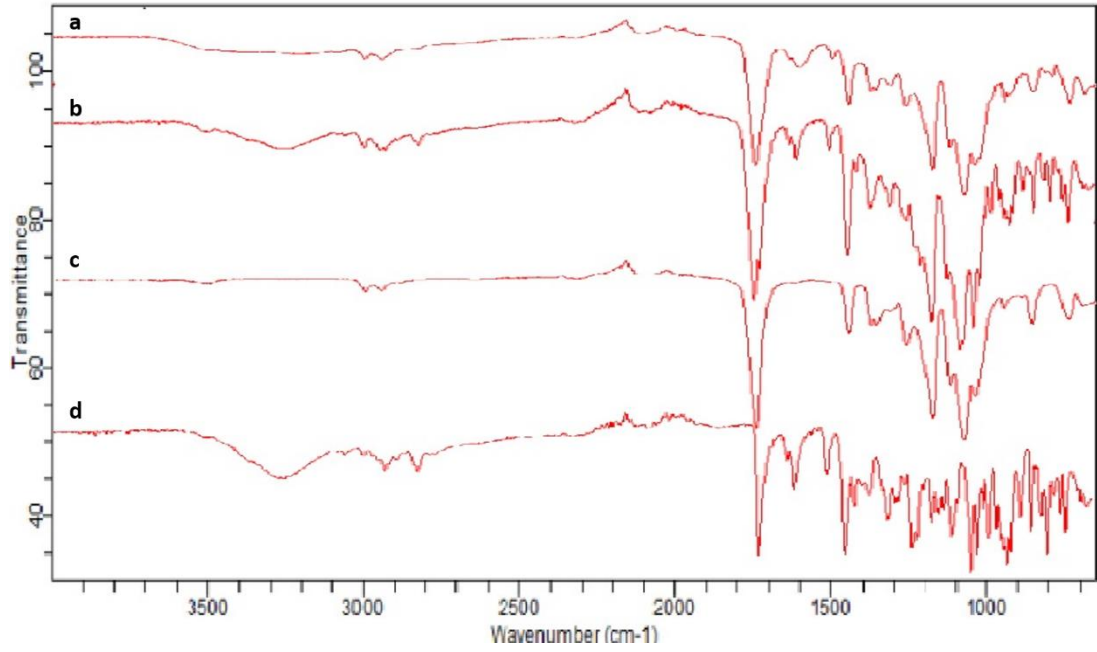
### 3.10. Sonuç Formülasyonun İn Vitro Karakterizasyon Çalışmaları

#### 3.10.1. Naltrekson ve Polimer Etkileşimlerinin DTA ve FT-IR ile İncelenmesi

F12-2 formülasyonu, fiziksel karışımı ve formülasyon bileşenlerinin DTA termogramları Şekil 3.33'te; FT-IR spektrumları Şekil 3.34'te verilmiştir.



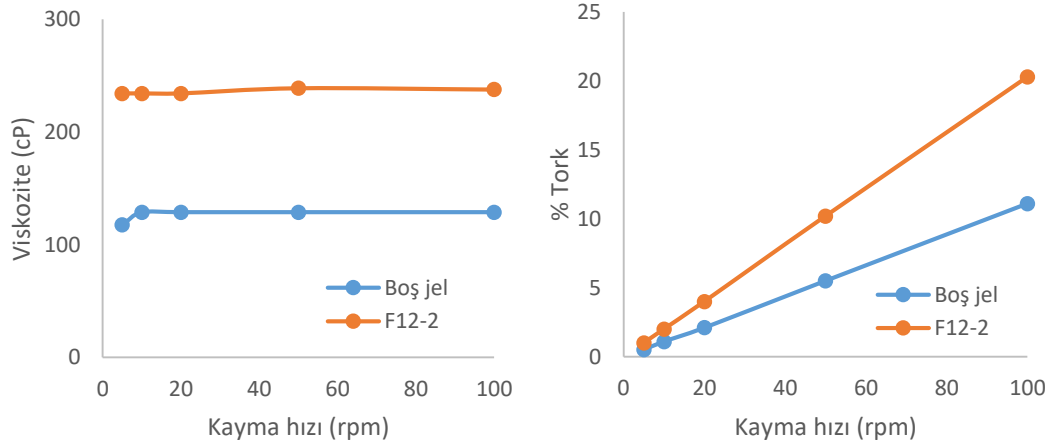
Şekil 3.33. F12-2 formülasyonuna ait termogramın etkin madde ve PDLA termogramı ile karşılaştırması.



Şekil 3.34. (a) F12-2 formülasyonu, (b) Naltrekson ve PDLA'nın fiziksel karışımı, (c) PDLA ve (d) naltreksonun FT-IR spektrumları.

### 3.10.2. Seçilen Formülasyonun Viskozite Tayini

F12-2 formülasyonuna ve naltrekson içermeyen boş polimer çözeltisine ait viskozite bulguları Şekil 3.35’de verilmiştir.



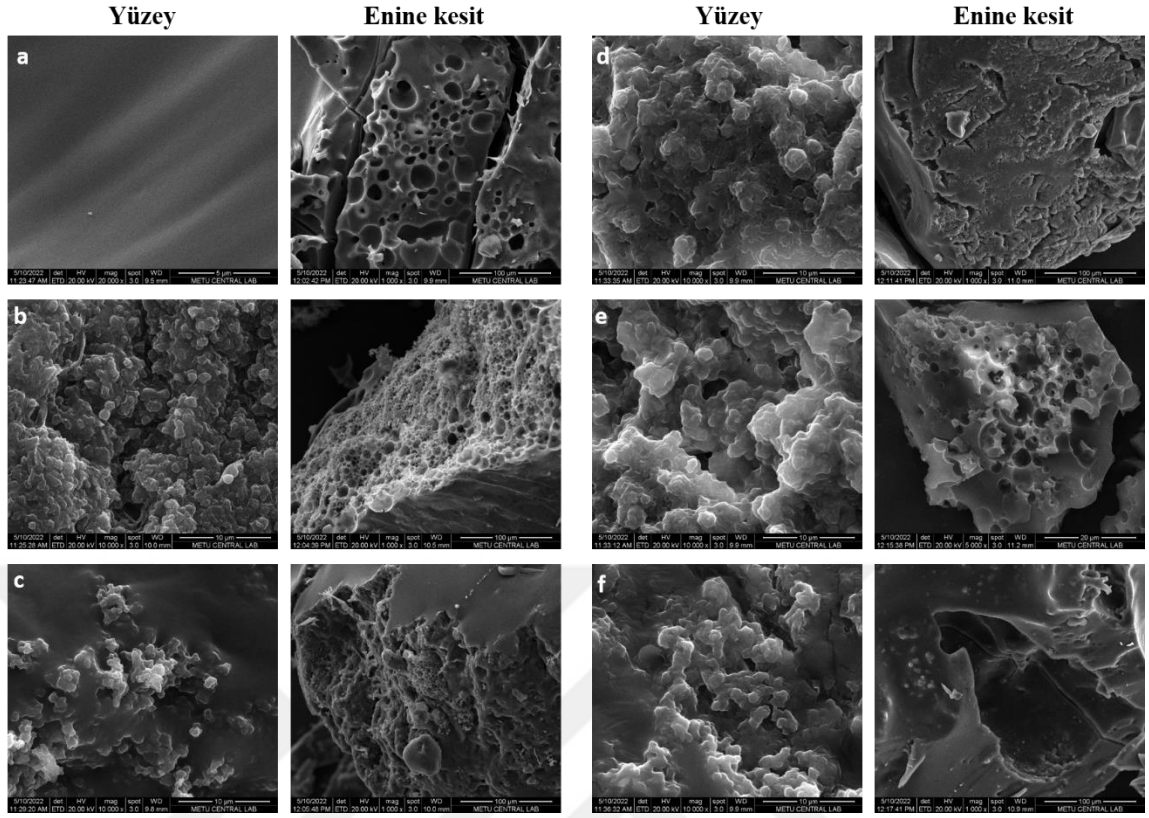
Şekil 3.35. Boş polimer çözeltisi ve F12-2 formülasyonuna ait viskozite grafikleri.

### 3.10.3. Enjekte Edilebilirlik

Yapılan çalışma neticesinde F12-2 formülasyonuna ait enjekte edilebilirlik kuvveti  $13,7 \pm 0,45$  N olarak bulunmuştur.

### 3.10.4. Seçilen Formülasyonun Morfolojisinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntülenmesi

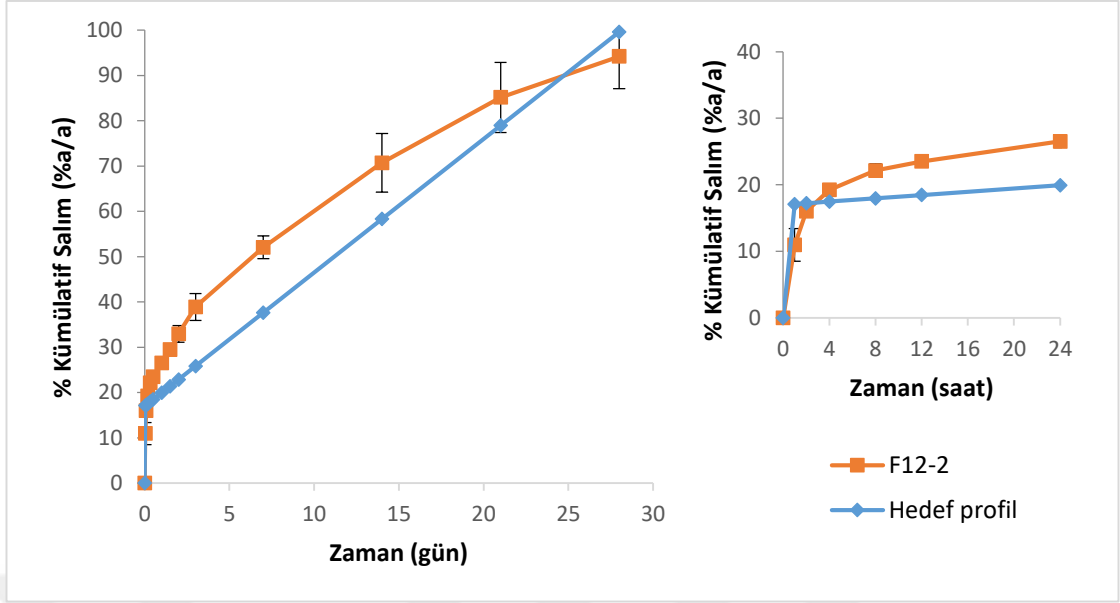
F12-2 formülasyonunun, etkin madde salım testi sırasında oluşan jelinden 35 gün içinde farklı zaman noktalarında alınan numunelerinin liyofilize edildikten sonra alınan SEM görüntüleri Şekil 3.36’da verilmiştir.



**Şekil 3.36.** F12-2 formülasyonuna ait SEM görüntüleri; a) 2. Gün, b) 7. Gün, c) 14. Gün, d) 21. Gün, e) 28. Gün, f) 35. Gün.

### 3.10.5. İn Vitro Salım Tayini

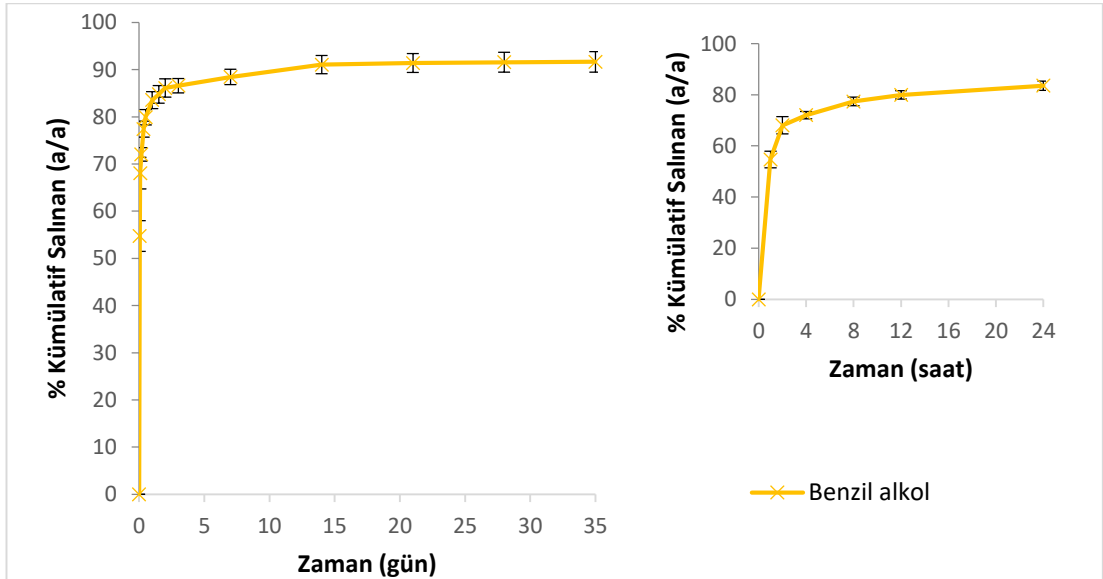
F12-2 formülasyonundan etkin madde salım çalışması Bölüm 2.11.2.'de anlatıldığı şekilde yapılmış ve salım profili ile ideal salım profili Şekil 3.37'de verilmiştir.



Şekil 3.37. F12-2 formülasyonundan etkin madde salım profili ve hedef salım profili (n=3).

### 3.10.6. Çözücü Göçünün İncelenmesi

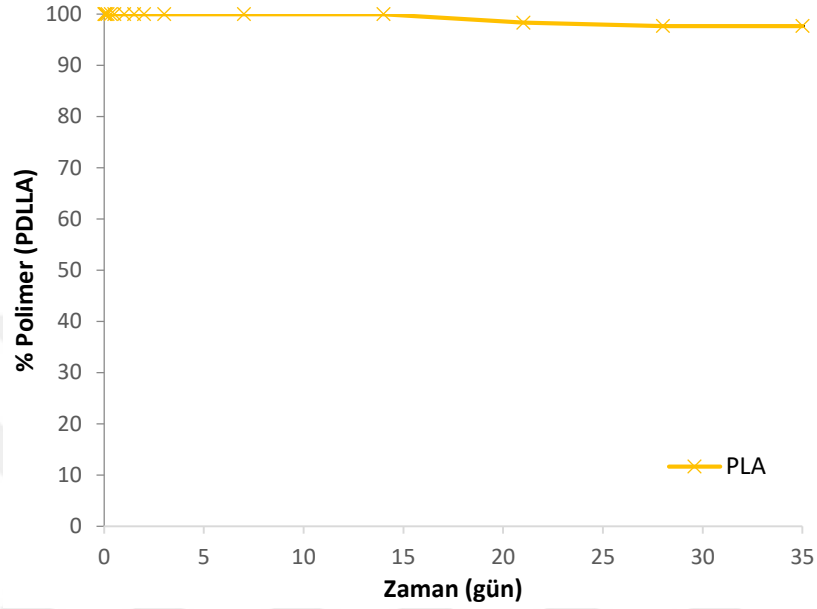
F12-2 formülasyonundan etkin madde salım süresi içinde benzil alkolün çıkış profili Şekil 3.38'de verilmiştir



Şekil 3.38. Benzil alkolün çıkış profili (n=3).

### 3.10.7. Degradasyon Çalışmaları

Yapılan analizler neticesinde F12-2 formülasyonunda 35. gün sonunda %2,32 oranında polimer degradasyonunun gerçekleştiği tespit edilmiştir (Şekil 3.39).



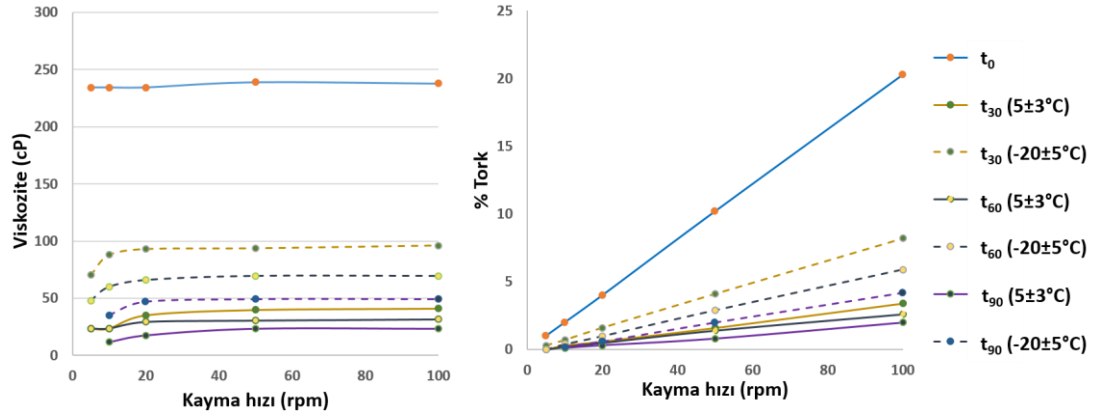
Şekil 3.39. PDLA'nın in vitro salım ortamında degradasyon profili (n=3).

### 3.10.8. Stabilite

F12-2 formülasyonuna ait stabilite çalışmaları sonucu elde edilen viskozite, enjekte edilebilirlik, etkin madde ve laktik asit miktarına ait bulgular Çizelge 3.18, Şekil 3.40 ve Şekil 3.41'de verilmiştir.

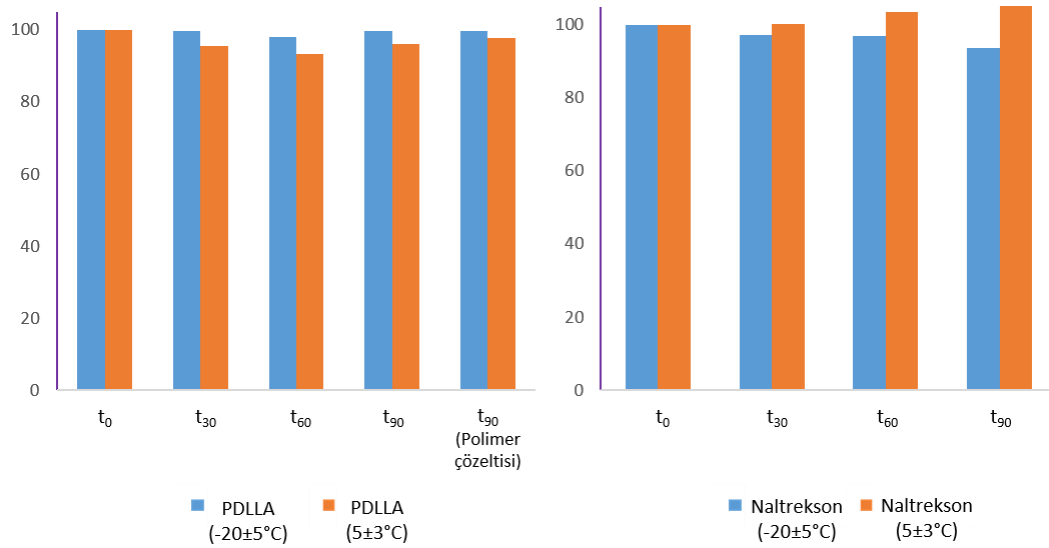
**Çizelge 3.18.** Etkin maddenin stabilite çalışmaları sonucu 0, 30, 60 ve 90. günlere ait viskozite, enjekte edilebilirlik, etkin madde ve laktik asit miktarı bulguları.

	Viskozite (50 rpm) (cP)	Enjekte edilebilirlik $\pm$ SH (N)	Etkin Madde Miktarı (% a/a)	Degrade Olan Polimer Miktarı (% a/a)
$t_0$	239	13,7 $\pm$ 0,45	100	0
$t_{30}$ (5 $\pm$ 3°C)	39,8	3,38 $\pm$ 0,19	100,133	4,596
$t_{30}$ (-20 $\pm$ 5 °C)	93,7	7,34 $\pm$ 0,25	97,303	0,336
$t_{60}$ (5 $\pm$ 3°C)	30,5	2,73 $\pm$ 0,07	103,473	6,694
$t_{60}$ (-20 $\pm$ 5 °C)	69,6	5,81 $\pm$ 0,15	96,961	2,098
$t_{90}$ (5 $\pm$ 3°C)	23,4	2,17 $\pm$ 0,11	105,064	4,087
$t_{90}$ (-20 $\pm$ 5 °C)	49,2	4,03 $\pm$ 0,10	93,559	0,4126



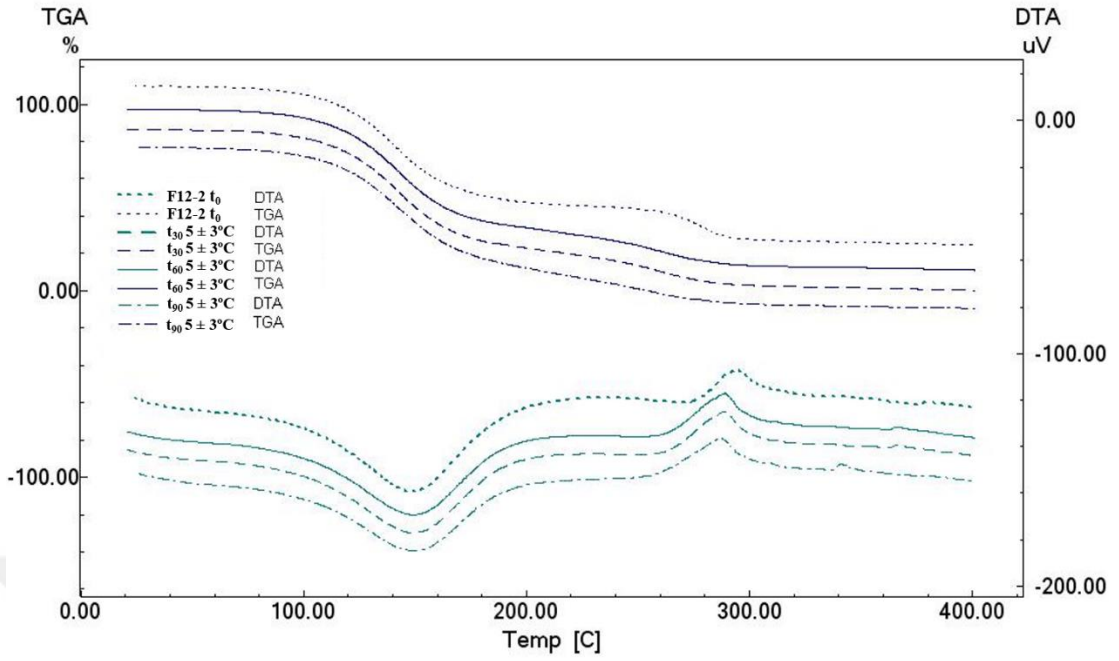
Şekil 3.40. F12-2 formülasyonunun stabilite deneyinde 0, 30, 60 ve 90. günlere ait viskozite değerleri.

F12-2 formülasyonuna ait stabilite çalışmaları sonucu tespit edilen kalan polimer ve naltrekson miktarları Şekil 3.41’de verilmiştir.

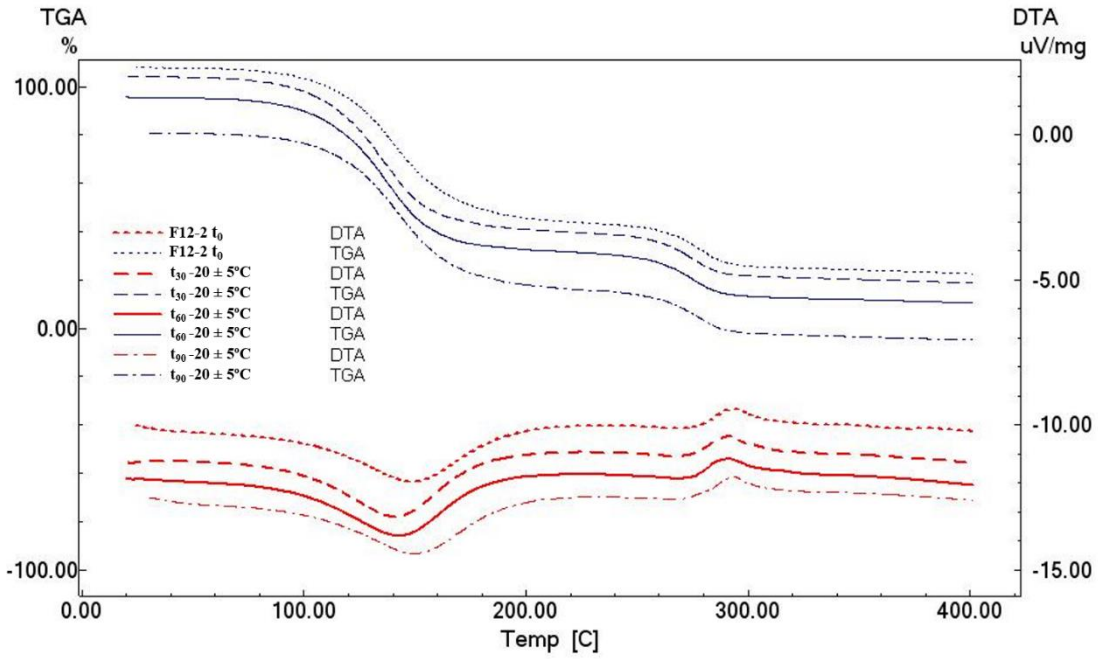


Şekil 3.41. Stabilite çalışmaları sonucu 0, 30, 60 ve 90. günlerde tespit edilen etkin madde ve PDLLA miktarı.

F12-2 formülasyonunun 0, 30, 60 ve 90. günlere ait DTA termogramı Şekil 3.42 ve Şekil 3.43’te verilmiştir.



Şekil 3.42. F12-2 formülasyonunun  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 'deki 0, 30, 60 ve 90. günlere ait termogramı.



Şekil 3.43. F12-2 formülasyonunun  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 'deki 0, 30, 60 ve 90. günlere ait termogramı.

## 4. TARTIŞMA

### 4.1. Naltreksonun Miktar Tayini Yöntemlerinin Geliştirilmesine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

#### 4.1.1. Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında HPLC Analizi

Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) tamponu içinde UV spektrumu alındığında Şekil 3.1’de görüldüğü üzere 204 nm dalga boyunda maksimum absorbands verdiği görülmüş ve bu sonuçlar literatür verileriyle uyumlu bulunmuştur (Kambia ve ark., 2000). HPLC’de okumalar 204 nm’de yapılmış, 6,1 dk alıkonma zamanı ile birlikte etkin madde piki tampon maddelerinden kaynaklanan diğer piklerden net olarak ayrılmıştır (Şekil 3.2).

HPLC için Çizelge 3.1’de ifade edilen yöntem ile naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) tamponu içinde hazırlanan bir seri çözeltilisine ait kalibrasyon bulguları sonucunda elde edilen determinasyon katsayısı değerinin 1,000 olması, seçilen konsantrasyon aralığında yapılan okumaların doğru sonuç verdiğini göstermektedir.

#### 4.1.2. Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında ve Etanol içinde UV Spektrofotometri ile Analizi

Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında hazırlanan çözeltilisinin UV spektrumu alındığında 204 ve 281,5 nm’de absorbands verdiği görülmüştür. Fakat 204 nm dalga boyunda 0-1 aralığında absorbands elde edebilmek için çok düşük konsantrasyonlar gerekmiştir. Bu nedenle okumalar için 281,5 nm dalga boyu olarak seçilmiştir (Şekil 3.4). Etanol de ise 282 nm’de

maksimum absorbans verdiği tespit edilmiştir (şekil 3.5). Bu  $\lambda_{\max}$  değerleri literatür verileri ile uyuşmaktadır (şekil 3.5) (Moffat ve ark., 2011; Yaghoubnezhadzanganeh ve Burgaz, 2019).

Naltreksonun pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) tamponu ve etanol içinde hazırlanan bir seri çözeltisi ile yapılan kalibrasyon çalışmaları neticesinde  $r^2$  değerinin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamı için 0,9998; etanol için 0,9999 olarak bulunması bu konsantrasyon aralığında yapılan okumaların doğru sonuç verdiğini göstermiştir.

#### **4.1.3. Benzil Alkolün pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında HPLC Analizi**

Formülasyonlarda çözücü olarak yer alan benzil alkolün, içinde yer aldığı formülasyonun sol-jel dönüşümü sırasında etkin madde salım ortamına geçişinin belirlenmesi amacıyla bir miktar tayini yöntemi geliştirilmiştir. Benzil alkolün pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında HPLC analizi için tamponda yer alan diğer maddelerle girişim yapmadığı 220 nm dalga boyu seçilmiştir (şekil 3.8 ve 3.9).

pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında hazırlanan bir seri çözeltisinin Çizelge 3.2'de belirtilen koşullar altında yapılan kalibrasyon çalışmaları neticesinde  $r^2$  değerinin 1,000 olarak bulunması bu konsantrasyon aralığında yapılan okumaların doğru sonuç verdiğini göstermiştir.

#### **4.1.4. Laktin Asidin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) Ortamında HPLC Analizi**

Laktik asidin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında hazırlanan çözeltisinin UV spektrumu alındığında 210 nm'de maksimum absorbans

verdiği görülmüştür (Şekil 3.11). Laktik asidin bu dalga boyunda elde edilen kromatogramı Şekil 3.12’de görülmektedir. Yöntemde 1 M NaOH kullanılması nedeniyle pik simetrisi biraz bozulmuştur, ancak miktar tayini ile ilgili bir problem oluşmamıştır. Laktik asidin pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) tamponu içinde hazırlanan bir seri çözeltisi kullanılarak Çizelge 3.3’te koşulları verilen yöntem ile yapılan kalibrasyon çalışmaları neticesinde  $r^2$  değerinin 0,9999 olarak bulunması bu konsantrasyon aralığında yapılan okumaların doğru sonuç verdiğini göstermiştir (Şekil 3.13).

Laktik asit tayini için yöntem geliştirilmesinin amacı, formülasyonlardan etkin salımı sırasında PDLLA polimerinin degradasyon oranının tespit edilmesidir. Fakat polimer degrade olurken sadece laktik asit monomeri oluşmamakta; oligomerleri de oluşmaktadır (Matsuda ve ark., 2005). Bu nedenle oligomerleri parçalamak amacıyla numuneler Şekil 2.5’te görüldüğü gibi 1 M NaOH ile muamele edilmektedir (Grizic ve Lamprecht, 2018). Bu nedenle miktar tayini için yöntem geliştirilirken de 1 M NaOH kullanılmıştır (Bölüm 2.6.2).

#### **4.2. Miktar Tayini Yöntemlerinin Analitik Validasyonlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Geliştirilen analitik yöntemlerin validasyonu için seçicilik, doğrusallık ve aralığı, doğruluk ve geri elde, kesinlik (tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik), teşhis sınırı (LOD), tayin sınırı (LOQ) ve HPLC yöntemi için sistem uygunluğu incelenmiştir. Bu validasyon parametrelerinin değerlendirilmesi için kabul kriterleri, resmi kılavuzlar ve literatürler vasıtasıyla belirlenmiştir (Borman ve Elder, 2017; Center for Drug Evaluation and Research, 1994; Drugs ve ark., 2009; Food ve Administration, 2003; International Council of Harmonization, 1995; International Council of Harmonization, 2022).

Naltrekson, benzil alkol ve laktik asidin HPLC ile miktar tayini sırasında, analiz edilecek numunede bulunan diğer maddelerden kesin bir şekilde ayrıldığıнын teyit

edilmesi için yapılan seçicilik çalışmaları neticesinde Şekil 3.14 ve Şekil 3.15'te görüldüğü üzere naltrekson, benzil alkol ve laktik asidin ortamda yer alan diğer maddelerle girişim yapmadığı, piklerin net bir şekilde ayrılabilirdiği görülmüştür.

Etkin maddenin pH 7,4 PBS ortamında ve etanol içinde UV spektrofotometrik yöntem ve pH 7,4 PBS ortamında HPLC ile doğrusallık ve aralığının tespiti için minimum 5 nokta üzerinde olmak üzere 8 farklı konsantrasyonda bir seri çözelti hazırlanarak 3'er kez okumaları yapılmıştır (International Council for Harmonization, 1996). Çizelge 2.1'de belirtilen analitik validasyon uygulama koşullarında etkin maddeye ait standart doğrusallık ve aralığı ile istatistiksel Çizelge 3.4'te verilmiştir. Elde edilen standart doğru denklemlerinin eğimleri istatistiksel olarak önemli ve kesişimlerinin ise sıfırdan farklı olmadığı bulunmuştur. Benzil alkol ve laktik asit için ise sırası ile 6 ve 10 farklı konsantrasyonda hazırlanan çözeltiler HPLC yöntemi ile okunmuş (Çizelge 2.1) ve doğrusallık ve aralığına ilişkin bulgular Çizelge 3.4'te verilmiştir. Bu maddeler için belirlenen doğru denklemlerinin eğim değerleri istatistiksel olarak önemli, kesişim değeri benzil alkol için sıfırdan farksız; ancak laktik için sıfırdan farklı olduğu bulunmuştur. Tüm standart doğru denklemleri için  $r^2$  değerlerinin 0,9990'ın üzerinde olması çalışılan konsantrasyon aralığında okunan değerlerin doğrusal ve güvenilir olduğunu göstermektedir (Food and Drug Administration, 2019).

UV spektrofotometri ve HPLC ile yapılan doğruluk ve geri elde çalışmaları Bölüm 2.7 Çizelge 2.1'de belirtildiği şekilde yapılmış ve bulgular Çizelge 3.5'te verilmiştir. Geri elde değerleri için kabul kriteri %97-%103'tür (Food and Drug Administration, 2003). Bağlı standart sapma değerinin ise <%2 olması gerekmektedir. Elde edilen bulgular bu kabul sınırları içinde olduğundan yöntemler doğru olarak kabul edilmiştir.

Kesinliğin saptanması için yapılan tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik çalışmaları neticesinde elde edilen bulgular Çizelge 3.6'da verilmiştir. Tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik için BSS < %2 olması gerekmektedir (Center for Drug Evaluation and

Research, 1994; Food ve Administration, 2003). Buna göre sonuçlar literatürlerde yer alan kabul sınırları içindedir.

Spektrofotometre ve HPLC yöntemleri için elde edilen teşhis ve tayin sınırı bulguları Çizelge 3.7 ve Çizelge 3.8’de verilmiştir. Bulgulara göre HPLC yöntemi ile daha düşük konsantrasyonların tespit edilebildiği görülmüştür. Ayrıca kalibrasyon için seçilen konsantrasyon aralıklarının da LOQ değerlerinden yüksek olduğu, dolayısıyla kantitatif olarak ölçülebildiği teyit edilmiştir.

HPLC için yapılan sistem uygunluk testi kabul kriterleri %BSS < %1; simetri faktörü (T)  $\leq 2$  ve teorik plaka sayısı > 2000 olarak belirtilmiştir (Center for Drug Evaluation and Research, 1994). Yapılan çalışmalar neticesinde sistem uygunluğuna ait elde edilen bulgular Çizelge 3.9’da verilmiştir. Buna göre sistem analiz için uygun bulunmuştur. (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid)

#### Naltreksonun Salım Ortamında Stabilitesi

Naltrekson bazın pH ve sıcaklığa bağlı oksidatif degradasyona uğradığı, yüksek pH ve sıcaklık değerlerinde bu degradasyon hızının arttığı bilinmektedir (Andhariya ve ark., 2017). Bu nedenle naltreksonun in vitro salım hızı çalışmaları sırasında degradasyona uğrayabilme olasılığı nedeniyle “FDA Dissolution Methods”ta naltrekson enjekte edilebilir süspansiyon için belirtilen salım ortamı, pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamı içinde 37 °C’de stabilitesi incelenmiştir. Böylece uzun süreli salım hızı çalışmalarında ortamın değiştirilme sıklığını belirlenmesi hedeflenmiştir.

Yapılan deney sonucunda naltreksonun 7. günden itibaren degradasyonunun hızlandığı gözlenmiştir: 7 günde naltreksonun ortamda belirlenen miktarı %98,08 olmuştur (Şekil 3.16). Andhariya ve ark.’da (2017) pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamında 37 °C’de benzer bir çalışma yürütmüş ve yaptığımız çalışmayı destekler nitelikte naltreksonun 7 gün süresince stabil olduğunu bulmuştur.

Naltreksonun formülasyonlarından uzun süreli salım çalışmalarında, ortamın her 7 günde bir tamamen değiştirilmesine karar verilmiştir.

### **4.3. Etkin Madde ve Polimer Etkileşimlerinin Diferansiyel Termal Analiz (DTA) ve Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi (FT-IR) ile İncelenmesine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi**

Naltrekson ve PDLLA'nın termal analizleri DTA ve TGA ile incelenmiştir. DTA, sıcaklık değişimine bağlı olarak endotermik veya ekzotermik olayların bilgisini (erime, kristallenme, süblimasyon, bozunma, T<sub>g</sub> gibi) ve TGA ise sıcaklık değişimine bağlı olarak meydana gelen olaylar sırasında ortaya çıkan ağırlık değişimi bilgilerini sağlamaktadır.

Naltrekson termogramında 84,47 °C'de bir endotermik dehidrasyon piki, 117,50 °C'de elde edilmesi sırasında kullanılan solvanla ilişkili olarak desolvasyon geçişi ve 159,41 °C'de endotermik pik olarak erime noktası piki göstermektedir (Şekil 3.17) (Alkermes, 2014). Termogramda 286,68 °C'de bir ekzotermik dekompozisyon piki gözlenmiştir. Etkin maddenin dekompozisyonu sırasında ağırlık kaybı % 20,325 olarak ölçülmüştür. Genel olarak dekompozisyon pikleri endotermiktir. Bu şekilde, bir ağırlık kaybı ile birlikte ekzotermik pik gözlenmesinin, örneklerin ısıtılma hızı, örnek miktarı ve atmosferik koşullardan güçlü şekilde etkilenmesinin sonucu olabileceği belirtilmiştir (Khan ve ark., 2001).

Poli(laktik asit) alifatik poliesterler grubuna ait bir polimerdir ve Poli(L-laktik asit), poli(D-laktik asit) ve poli(D, L-laktik asit) olmak üzere üç tipi bulunmaktadır. Poli(D-LA ve L-LA) yarı kristal yapıda ve daha hidrofobik iken PDLLA amorf yapıdadır. 50-60 °C arasında bir camsı geçiş sıcaklığına (T<sub>g</sub>) ve 130-135 °C arasında bir katı-erimiş madde geçişine sahiptir. PDLLA, 200 °C üzerindeki sıcaklıklarda hidroliz, laktid reformasyonu, oksidatif ana zincir kopması ve moleküller arası transesterifikasyon reaksiyonları ile termal bozunmaya uğramaktadır (Garlotta, 2001). Polimerin termogramında 54,82 °C'de bir omuz şeklinde T<sub>g</sub> gözlenmiştir. Polimerin

endotermik dekompozisyon piki 370,45°C’de gözlenmiştir. Bu dekompozisyon 300 °C sonrasında % 94,363 kütle kaybı ile birlikte oluşmuştur (Şekil 3.18) (Ainali ve ark., 2021).

Şekil 3.19 naltrekson bazın IR spektrumunu göstermektedir. Naltreksonun 1729, 1615, 1451, 1317 ve 1239  $\text{cm}^{-1}$ ’de karakteristik pikleri görülmektedir. 1729  $\text{cm}^{-1}$ ’de görülen yüksek yoğunluktaki pik doymuş siklik alifatik keton grubunun C=O bağının güçlü gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır. C=C-O-H grubunun C=C bağının gerilme bandı 1615  $\text{cm}^{-1}$ ’de pik vermektedir. Aromatik halkanın C=C gerilimi 1451  $\text{cm}^{-1}$ ’de, O-H bükülme titreşimi 1317  $\text{cm}^{-1}$ ’de, C-O-C asimetrik gerilme piki ise 1239  $\text{cm}^{-1}$ ’de görülmektedir (Abdelkader ve ark., 2014; Nanaki ve ark.,).

PDLLA’nın FT-IR spektrumunda 2994 ve 2944  $\text{cm}^{-1}$ ’de görülen ilk pikler  $\text{CH}_3$  grubundaki C-H bağlarının gerilim titreşimlerini ifade etmektedir (Şekil 3.20). 1746  $\text{cm}^{-1}$ ’de karbonil grubunun (C=O) güçlü bir absorpsiyon piki; 1451  $\text{cm}^{-1}$ ’de  $\text{CH}_3$  grubunun asimetrik deformasyonu; 1381  $\text{cm}^{-1}$ ’de  $\text{CH}_3$  grubunun simetrik deformasyonu; 1267  $\text{cm}^{-1}$ ’de ester grubunun (-CO-O-) gerilme titreşimine ait pikler görülmektedir (Pereira ve ark.,2014; Zhou ve ark., 2007).

#### **4.4. Naltreksonun Formülasyonlarda Kullanılacak Çözücüler İçinde Çözünürlüğünün Belirlenmesi İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi**

Bir ilacın s.c. enjeksiyonla verilisinde ilacın hacmi maksimum 3 mL olabilmektedir. Tez çalışmamızda naltreksonun çözelti formunda s.c. formülasyonunun hazırlanması planlanmıştır. Buna göre etkin maddenin bir kerede uygulanacak dozunun s.c. veriliş için uygun hacimde bir çözücü içinde çözünbilmesinin sağlanabilmesi gerekmektedir.

Naltreksonun  $\log P_{\text{oktanol/su}}$  değeri 1,90’dır ve hidrofilik bir madde değildir. Bu nedenle suda pratik olarak çözünmemekte, ama dielektrik sabiti suyun dielektrik sabitinden ( $\epsilon=80$ ) düşük olan çözücülerde çözünbilmektedir (Şekil 3.21). Etkin

maddenin en yüksek çözünürlüğü benzil alkolde elde edilmiştir ( $C_s > 500$  mg/mL,  $\epsilon = 13$ ). Bununla birlikte etkin madde diğer çözücüler içerisinde de  $DMSO < PEG250DME < PEG400 < NMP$  sırasında olmak üzere  $C_s \geq 115,56$  mg/mL düzeyinde çözünürlük göstermiştir. Formülasyonların geliştirilmesinde bu çözücüler tek tek veya kombine halde kullanılmıştır.

#### **4.5. İn Situ Oluşan Jel Formülasyonlarının Geliştirilmesine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi**

##### **4.5.1. Sıcaklık Değişimine Bağlı Olarak Jel Oluşumu İçin Hazırlanan Formülasyonlar**

PLGA-PEG-PLGA kopolimeri sıcaklıkla in situ jel oluşumu için kullanılan başlıca triblok kopolimerdir. PLGA-PEG-PLGA 2-15°C arasından sol halde bulunmaktadır. Dilüe seyreltik çözeltilerinde hidrofobik iç çekirdeğe sahip miselleri oluşturduğu belirtilmektedir (Wang ve ark., 2017; Ghahremankhani ve ark., 2008; Mohajeri ve ark., 2016). Çalışmamızda tek bir tip PLGA-PEG-PLGA kopolimeri kullanılmıştır. Ancak bu kopolimerle suda çözelti halinde karışabilen ve sıcaklık artırıldığında sol-jel geçişi gösteren bir formülasyon oluşturulamamıştır. Sıcaklığa duyarlı jel oluşumu için organik çözücüler de önerilmektedir (Khodaverdi ve ark., 2012). Çalışmamızda Çizelge 2.10'da verilen F15-2—F15-4—F15-6 formülasyonları organik çözücü ile hazırlanmıştır. Kopolimerin organik çözücülerde çözünmesini takiben sol-jel geçiş sıcaklığı Bölüm 2.10.1.'de belirtildiği şekilde incelendiğinde polimerin çözeltilsinin 15-50°C sıcaklık aralığında katı/yarı katı bir form oluşturmadığı görülmüştür. Ancak bu formülasyonlar sulu ortama enjekte edildiğinde, çözücü göçüne bağlı olarak jelleşme olduğu görülmüştür. Bu formülasyonla çözücü göçü ile in situ jel oluşumu için hazırlanan formülasyonlar olarak değerlendirilmiştir.

Sıcaklığa duyarlılıkta anahtar faktör, hidrofilik/lipofilik dengedir. Bu denge ise blok uzunluğu, PLGA ve PEG blokların molar-kütle dispersitesi, LA ve GA

segmentlerinin oranı ve sırası, kopolimerlerin son grupları ve stereokimyasal yapıları gibi pekçok moleküler ve yapısal faktörle etkilenebilmektedir. Örneğin aynı PLGA ve PEG blok uzunluklarına sahip olan ancak LA ve GA sıraları değişik triblok kopolimerlerde jelleşme sıcaklığı, hidrofobisite ve misel oluşumunun farklılaştığı gözlenmiştir. Kopolimerde PEG bloğunun zincir uzunluklarının artışı hidrofilikliğini artırmaktadır ve sadece uygun uzunluk ve molekül ağırlığı dispersitesinde PEG içeren kopolimerler sıcaklığa duyarlı olarak jel-sol ve sol-jel geçişi göstermişlerdir (Wang ve ark., 2017). Dolayısıyla PLGA-PEG-PLGA triblok kopolimerleri ile sıcaklığa duyarlı jel formülasyonlarının geliştirilmesi için kopolimerin farklı tipleri ile detaylı çalışmaların yürütülmesi gerekmektedir. Bu çalışmada in situ oluşan jel sisteminde kullanılacak etkin madde miktarı da oldukça yüksektir (345-380 mg) ve bu durum da sıcaklığa bağlı jelleşen sistemlerin formülasyonlarını güçleştirmektedir.

#### **4.5.2. Çözücü Göçü ile İn Situ Jel Oluşumu İçin Hazırlanan Formülasyonlar**

Çalışmamızda naltreksonun enjekte edilebilir bir çözelti tarzında formülasyonunun hazırlanması hedeflenmiştir. Bu nedenle hazırlanan tüm formülasyonda etkin maddenin çözünebilir olması başlıca kriter olmuştur. Ayrıca etkin maddenin polimer çözeltisi içinde çözünme süresi de değerlendirilmiştir. Bunun nedeni ise formülasyonun polimer çözeltisi ve toz halde etkin madde olarak iki ayrı ambalajda sunulma olasılığı için kullanımdan hemen önce karıştırılmaları durumunda 1-2 dk içinde etkin maddenin tamamen çözünmesinin sağlanabilir olup olmadığını görmektir. Böyle bir sunum, tek bir ambalaj içinde formülasyonun saklama stabilitesi açısından bir problem olması durumuna karşı bir önlem olarak düşünülebilecektir. Diğer önemli bir nokta s.c. uygulama hacimidir. Bu nedenle kullanılan çözücünün miktarı da diğer bir kriter olmuştur. İlk olarak in situ jel oluşturulan sistemlerde kullanılan polimer oranları gözönüne alınarak ve etkin maddenin çözücülerdeki çözünürlük bulgularından (Şekil 3.19) hareketle PDLLA polimeri kullanılarak Çizelge 2.5'te bileşimleri verilen formülasyonlar hazırlanmıştır (Chen ve Singh, 2005; Kamali ve ark., 2018; Lee ve ark., 2010; Mohajeri ve ark., 2016). Bölüm 2.11.1'de belirtildiği şekilde ilk adım olarak polimer-çözücü çözeltileri hazırlanmıştır. İn situ

oluşan jel sistemlerinde en fazla kullanılan çözücü NMP'dir (Çizelge 1.4). NMP genel olarak hem polimerler hem de etkin maddeler için iyi bir çözücüdür. Naltreksonun çözünürlüğünün en yüksek olduğu çözücü benzil alkol olmasına rağmen öncelikle NMP ve yanısıra yardımcı çözücü olarak benzil alkol ve benzilalkol + etil heptanoat (başlangıç hızlı salımı azaltmak için) kullanılmıştır. Çözücü karışımlarının kullanılmasında amaç lipofilik olan naltreksonun çözünmesi için çözücü polaritesinin düşürülmesidir. Hazırlanan polimer çözeltileri üzerine etkin madde ilave edilmiştir. Formülasyonlar F1, F2, F3'te eklenen miktarda etkin madde denenilen metotlarla, teorik olarak çözünmesi beklenen çözücü miktarlarında kısmen çözülmüştür. Çözünen etkin madde miktarını tespit etmek için Şekil 2.4'de belirtilen ekstraksiyon metodu uygulanmış ve HPLC ile miktar tayini yapılmıştır. Yapılan analiz sonucunda F1, F2 ve F3 formülasyonları için çözünen etkin madde miktarı sırasıyla %10,46, %8,15 ve %12,88 olarak bulunmuştur. F1 formülasyonunda 4 saat sonunda etkin maddenin %56,51'i, 14 gün sonunda %85'i; F2 formülasyonunda 4 saat sonunda %45,09'u, 14 gün sonunda %100'ü; F3 formülasyonunda 4 saat sonunda %47,98'i, 14 gün sonunda %88,68'i salınmıştır (Çizelge 3.10; Şekil 3.22). Farklı yüzdelerde etil heptanoat içeren bu üç formülasyonun salım profilleri incelendiğinde ise başlangıç hızlı salım ile etil heptanoat konsantrasyonu arasında bir ilişki kurulamamış; etil heptanoat başlangıç hızlı salımı kontrol etme de faydalı bulunmamıştır.

Bu nedenle polimer oranı maksimumda (%40) tutularak NMP ve benzil alkol oranları değiştirildiğinde polimer ve etkin maddenin hangi oranlarda çözünebileceği görülmek istenmiştir. Bu amaçla F4, F5 ve F6 formülasyonları geliştirilmiştir (Çizelge 2.5). Prob sonikatörle aynı sürelerde karıştırıldığında F4 ve F6 formülasyonlarında etkin madde çözünmemiştir. F5 formülasyonunda da etkin madde F1-F3 formülasyonlarına göre daha yüksek oranda çözünmesine rağmen tam bir çözünme sağlanamamıştır (%44,91). Bu formülasyonda 4 s sonunda başlangıç hızlı salım %10,46 düzeyinde ve düşük olmakla birlikte etkin madde salımı yavaş seyrederek 14 gün sonunda %32,71 olmuştur (Çizelge 3.10; Şekil 3.22). Ayrıca polimer yüzdesinin daha yüksek olması nedeniyle enjekte edilebilirliğinin ve enjektöre çekilebilirliğinin daha güç olduğu görülmüştür. Tüm bu bulgular ve F1, F2, F3 ve F5 formülasyonlarından etkin madde salım bulguları değerlendirilerek polimer

yüzdesinin uygunluğu tespit edilmeye çalışılmıştır. Sonuçta %20 (a/a) konsantrasyonla devam edilmesine karar verilmiştir.

Biyolojik olarak uyumlu olan ve sıklıkla tercih edilen farklı çözücülerin ayrı ayrı kullanımının naltreksonun çözünürlüğü üzerine etkisini incelemek için çözücü olarak sırasıyla NMP, DMSO ve PEG250DME kullanılarak F7, F8 ve F9 formülasyonları geliştirilmiştir. Etkin maddenin polimer çözeltilerinde tamamının çözünmediği görüldükten sonra bu formülasyonlarda çözünen naltrekson miktarı yine Şekil 2.4.'de yer alan ekstraksiyon yöntemi ile bulunmuştur. Çözünen naltrekson miktarı F7 ve F9 formülasyonlarında daha fazla olduğundan bu formülasyonlara titrasyon yöntemi ile yardımcı çözücü olarak benzil alkol ilave edilmiştir (F10 ve F11). Bu formülasyonlara ek olarak tam doz etkin madde içeren (345-380 mg) formülasyonu subkütan veriliş için uygun hacim sınırları içinde tutmak için sadece çözünürlüğün en yüksek olduğu benzil alkol içeren bir formülasyon hazırlanmaya karar verilmiş ve F12 formülasyonu oluşturulmuştur (Çizelge 2.5). Bu formülasyonlardan etkin maddenin polimer çözeltisi içinde çözünme süresi ve formülasyonlardan salım bulguları elde edilmiştir (Şekil 3.23). F10, F11 ve F12 formülasyonlarında etkin maddenin hazırlama sırasında polimer çözeltisinde çözünme süresi sırasıyla, 10 dk, 2 dk ve 50 dk olmuştur. F10 formülasyonunda 4 saat sonunda etkin maddenin %12,16'ü, 28 gün sonunda %49,48'i; F11 formülasyonunda 4 saat sonunda %20,53'ü, 28 gün sonunda %46,62'si ve F12 formülasyonunda 4 saat sonunda %10,81'i, 28 gün sonunda %64,29'u salınmıştır (Çizelge 3.10). Salım profilleri değerlendirildiğinde en yüksek başlangıç hızlı salımın F11 formülasyonunda olduğu görülmüştür. Bu durum NMP'nin benzil alkol ve PEG250DME'e göre daha hidrofilik olması nedeniyle beklenen bir sonuç olmuştur. Ayrıca çözünme hızı deneyleri sırasında F11 formülasyonunun salım ortamına enjeksiyonunu takiben zamanla bütünleşik yapısını koruyamayarak parçalandığı görülmüştür. Sonuçta tam doz içeren total jel kütlesi (F10=4,38 g; F11=7,65 g; F12=2 g) ve başlangıç hızlı salım bulguları değerlendirilerek F10 ve F12 formülasyonları ile devam edilmesine karar verilmiştir. F10 formülasyonunun jel oluşum özellikleri gözlemlendiğinde çözünme hızı ortamında bütünleşik yapısını koruduğu fakat şeklinin küresel değil, yarım ay şeklinde olduğu; F12'nin ise küresele en yakın şekle sahip jel oluşturan formülasyon olduğu görülmüştür (Şekil 2.1).

Seçilen F10 ve F12 formülasyonlarında etkin maddenin sırasıyla 28. günde %49,48 ve %64,29; 35 gün sonunda %53 ve %68'inin salındığı görülmüştür (Şekil 3.23). Bu nedenle bu formülasyonlarda polimer oranının azaltılarak yeni bir tasarıma gidilmesi kararlaştırılmış ve Çizelge 2.7 ve Çizelge 2.9 da verilen plan dahilinde F10-1 -- F10-6 ile F12-1 – F12-6 formülasyonları geliştirilmiştir. Bu formülasyonlarda polimer miktarının düşük düzeyde olduğu F10-1, F10-3 ve F10-6 formülasyonlar için etkin maddenin polimer çözeltisinde çözünme süresi kısa (sırasıyla 4,5-7-3 dk) ve salım miktarları daha yüksek olmuştur (Çizelge 3.11; Şekil 3.24). F12-1—F12-6 formülasyonlarından etkin madde salımında ise polimer düzeyinin etkisi F10 formülasyonlarındaki kadar belirgin olmamıştır. Ancak etkin maddenin polimer çözeltisinde çözünme süresi, en yüksek polimer düzeyinin olduğu F12-5 formülasyonunda en yüksek, >50dk olmuştur (Çizelge 3.12; Şekil 3.25). Etkin madde çözünme süresi, 28 gün sonunda salınan miktar, salım profili, “başlangıç hızlı salım” ve salım kinetikleri değerlendirildiğinde, bu formülasyonlar içinden F10-6, F12-2 ve F12-4 formülasyonları en uygun formülasyonlar olarak görünmektedir.

Belirlenen bu formülasyonlardan farklı biyolojik olarak parçalanabilir polimerler olan PLGA (85:15), PLGA (50:50) ve triblok kopolimer, PLGA-PEG-PLGA ile formülasyonlar oluşturulmuştur (Çizelge 2.10). PLGA 85:15'in kullanıldığı formülasyonlarda (F13-2, F13-4, F13-6) viskozitenin yüksek olmasından ötürü etkin maddenin; PLGA 50:50'nin kullanıldığı F14-2 ve F14-4 formülasyonlarında hem etkin maddenin hem de polimerin çözünmemesi nedeniyle bu formülasyonlardan etkin madde salım çalışması yapılamamıştır (Çizelge 3.13). PLGA 50:50 polimerinin F14-2 ve F14-4 formülasyonlarında kullanılan benzil alkolde çözünmemesi literatür bulguları de göz önünde bulundurulduğunda beklenen bir sonuç olmuştur (Park ve ark., 2019; Shively ve ark., 1995). Sonuçta PLGA 50:50 içeren F14-6, triblok kopolimer içeren F15-2, F15-4, F15-6 formülasyonlarından etkin madde salımı incelenmiş; salım profilleri değerlendirildiğinde 4 s ve 24 s sonra F14-6 formülasyonunda etkin maddenin sırasıyla %29,38 ve %66,73'ü; F15-2 formülasyonunda %27,55 ve %55,06'sı; F15-4 formülasyonunda %42,61 ve %78,01'i ve F15-6 formülasyonunda %55,11 ve %90,97'si salınmıştır (Çizelge 3.13; Şekil 3.26). Salım profilleri değerlendirildiğinde başlangıç hızlı salımın PDLLA içeren

orijinal formülasyonlardan daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum triblok polimerin daha hidrofilik, molekül ağırlığının daha düşük, kopolimerdeki PEG oranının daha yüksek (%70) olmasına; PLGA 50:50 içeren F10-6 formülasyonunda ise PLGA'nın PDLLA'ya kıyasla daha hidrofilik olmasına bağlanmıştır.

#### **4.6. İn situ Oluşan Jellerin İn Vitro Karakterizasyonuna İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi**

##### **4.6.1. Naltreksonun Polimer Çözeltileri İçinde Çözünme Süresi**

Etkin maddenin tamamen çözüldüğü formülasyonlar olan F10-1—F10-6 ve F12-1 – F12-6 kodlu formülasyonlarda ve F15-2, F15-4 ve F15-6 kodlu formülasyonlarda etkin maddenin polimer çözeltisinde çözünme süreleri, Şekil 3.27'de topluca gösterilmiştir. Bu şekilde görüldüğü gibi formülasyonların hazırlanmasında etkin maddenin polimer çözeltileri içindeki çözünme süresini etkileyen başlıca faktör çözücü tipi ve sonra polimer konsantrasyonu olmuştur. Örneğin polimer konsantrasyonunun % a/a olarak sırasıyla 10,64 -15,15 - 9,80 - 14,02 - 20 - 9,09 olan F12-1– F12-6 formülasyonlarında en yüksek çözünme süresi F12-5 formülasyonunda ve en düşük çözünme süresi F12-6 formülasyonunda olmuştur. F10 -1–F10-6 formülasyonlarında çözücü olarak PEG250DME + benzil alkol kullanılırken daha düşük çözünme süresi gösteren F12-1– F12-6 formülasyonlarında sadece benzil alkol kullanılmıştır.

##### **4.6.2. Salım Kinetiği Bulgularının Değerlendirilmesi**

Biyolojik olarak aşınan/parçalanmış polimerlerde etkin madde salımının matematiksel olarak modellenmesi için ampirik model ve mekanik model olmak üzere iki yaklaşım söz konusudur. Mekanik modelde salım sırasında gerçekleşen kütle transportu, parçalanmaya ilişkin reaksiyonlar gibi tüm olaylar göz önüne alınmakta, etkin madde salımına ilişkin tüm gerçek olayları tanımlanmaktadır. Ampirik modelde

ise salımı etkileyen ve oluşturan degradasyon, difüzyon, permeasyon gibi mekanizmalar hariç tutularak sadece sonuçlar değerlendirilmektedir. Bu çalışmada matematiksel modellemeler ampirik model üzerinden uygulanmıştır (Bruschi, 2015; Yuksel ve ark., 2011).

Etkin maddenin tamamen çözündüğü formülasyonlar olan F10-1—F10-6 ve F12-1 – F12-6 kodlu formülasyonlardan etkin madde salımının kinetik değerlendirmesine ilişkin bulgular Çizelge 3.14’te verilmiştir. Çizelge 3.14’te ifade edilen matematiksel modeller DDSolver programı kullanılarak hesaplanmıştır (Zhang ve ark., 2010; Yuksel ve ark., 2011). Sonuçlar determinasyon katsayısı ( $r^2$ ), Akaike bilgi ölçütü (AIC) ve model seçim ölçütü (MSC) kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Hız sabitleri ( $k$ ),  $n$  ve  $\tau_d$  değerleri model parametreleri olarak değerlendirilmiştir. AIC, model seçiminde kullanılan bir yöntemdir. Uygulanan yöntemle gözlenen ve hesaplanan değerler arasındaki ortalama farkların karelerinin toplamını ifade etmektedir. AIC değerinin daha düşük olması modelin daha uygun olduğunu göstermektedir. MSC ise model seçiminde kullanılan bir diğer kriterdir. MSC değerinin 2 veya 3’ün üzerinde olması modelin uygunluğu hakkında bilgi vermektedir. Değerlendirme en yüksek  $r^2$ , MSC ve AIC değerleri üzerinden yapılmıştır (Bayındır ve ark., 2019; Ergin ve ark., 2021).

Yapılan doz hesabı neticesinde bulunan sıfır derece salım hız sabiti 0,123 mg/s olarak bulunmuştur. Tüm formülasyonlar için de F12-2 formülasyonunun sıfır derece hız sabitinin 0,120;  $r^2$  değerinin 0,9409; MSC değerinin 20,650 ve AIC değerinin 132,417 ile yapılan doz hesabı neticesinde bulunan sonuca uyum sağladığı görülmüştür. Formülasyonun diğer kinetik modellere uyumu incelendiğinde ise en iyi Higuchi modeline uyumu ( $r^2= 0,9979$ ; MSC=7,600; AIC=102,430) ve bu da etkin madde salımının difüzyon kontrollü bir şekilde gerçekleştiğini göstermiştir (Çizelge 3.14). Peppas modelinde bulunan 0,45’ten küçük salım eksponenti,  $n$  değerleri de bu sonucu doğrulamaktadır.

İn situ jelleşen sistemlerden etkin madde salımı temel olarak üç mekanizma ile gerçekleşmektedir: (1) çözücünün ortamla hızlıca karışabilmesi nedeniyle aynı

zamanda gözlenen ve konveksiyonla gerçekleşen etkin maddenin başlangıç hızlı salımı, (2) jel kitlesinin hemen yüzeyinde çözücü uzaklaşması ile oluşan membran / kabuktan ve iç kısımda jelleşme devam ederken etkin maddenin ortama difüzyonu ve son olarak polimer degradasyonunun katkısı ile hızlı salım (Parent ve ark., 2013). Hazırlanan formülasyonlardan etkin madde salım profilleri incelendiğinde ilk iki mekanizma gözlenebilmektedir. Ancak degradasyon katkılı salım aşaması belirgin değildir. Formülasyonlarda bu başlangıç hızlı salımın önlenmesi ve/veya azaltılması için ilave çalışmalar yapılmıştır. Bunun için F12-2 ve F10-6 formülasyonlarının bileşiminde değişiklikler yapılmıştır ve bulgular aşağıda değerlendirilmektedir.

#### **4.7. Başlangıç Hızlı Salımın Azaltılması İçin Yapılan Çalışmalar İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi**

Şekil 3.28’de PDLLA (F12 -1 – F12-6 ve F10-1 – F10-6), PLGA 50:50 (F14-6) ve PLGA-PEG-PLGA (F15-4, F15-6) ile hazırlanan formülasyonlardan etkin maddenin ilk 4 ve 24 saatteki salım yüzdeleri verilmiştir. Bu grafik incelendiğinde polimerlerin hidrofilitelerinin artmasına bağlı olarak başlangıç salım yüzdeleri artmıştır. Bu değerleri azaltmak için F12-2 ve F10-6 formülasyonlarında çeşitli yardımcı maddelerin ilavesi ile formülasyon modifikasyonu yapılmıştır (Bölüm 2.12).

F12-2 formülasyonu için yapılan çözünme hızı çalışmaları neticesinde 35 gün süresince etkin madde salımı hedefine ulaşılsa da 24 saat sonunda %26,5 oranında bir başlangıç hızlı salım görülmüştür (Şekil 3.25). İn situ oluşan jellerde, suyla karışabilir çözücünün jelleşme öncesinde hızlı difüzyonu nedeniyle bu durum kaçınılmazdır. Bu başlangıç hızlı salım profilinin ticari olarak piyasada bulunan in situ jelleşen ilaçlarda da mevcut olduğu; bunun yanı sıra uzun süre etkili parenteral mikropartiküler sistemlerde de bu durumun gözlemlendiği ve bu nedenle kanda 100-1000 kat fazla etkin madde konsantrasyonunun ölçülebildiği kaydedilmiştir. Buna rağmen bu hızlı salımın başlangıç etki oluşması açısından uygun olduğu, ancak potent ve çok pahalı etkin maddeler için bunun gerekli olmadığı belirtilmektedir (Park ve ark., 2019). Bir grup araştırmacı başlangıç hızlı salımın zararlı ve engellenmesi gereken bir durum

olduğunu savunurken; bir grup ise terapötik konsantrasyona ulaşmada faydalı olduğunu savunmaktadır (Agrawal ve ark., 2022; Huang ve Brazel, 2001; da Silva ve ark., 2016; Wang ve ark., 2002). Başlangıç hızlı salımın üzerine temel olarak polimerin molekül ağırlığı, konsantrasyonu, ester veya asit uçlu olması, monomer oranı ve kristalinitenin etkisi bulunmaktadır (Parent ve ark., 2013; Thakur ve ark., 2014). Bu çalışmada da bu parametrelerin etkisi incelenmiştir.

Naltreksonun sıçanlar için subkütan LD50 değeri 1930 mg/kg; fareler için 550-590 mg/kg; köpekler için ise 200 mg/kg'dır (PubChem, 2022). Dolayısıyla çalıştığımız doz için (345-380 mg) toksik bir etkinin görülmeyeceği anlaşılmaktadır. Fakat in vivo olarak 28 gün süresince terapötik konsantrasyonunun sağlanabileceğinden emin olmak için başlangıç hızlı salımı azaltmak ve sıfır dereceye daha yakın bir profil elde edilmek istenmiştir. Bu amaçla ilk olarak PDLLA ile farklı polimerlerin kombinasyonları incelenmiştir (Çizelge 2.11). Temel amaç etkin maddenin makul sürede çözünmediği optimum viskoziteyi ve polimer oranını koruyarak molekül ağırlığını, hidrofobisiteyi ve viskoziteyi arttırmak olmuştur.

PDLLA'nın PLGA (85:15) ile sırasıyla 75:25, 50:50 ve 0:100 oranları F12-2 formülasyonundaki oranlar dahilinde denenmiştir (Çizelge 2.11). PDLLA:PLGA oranının 75:25 olduğu F12-2-P1 formülasyonunda organoleptik olarak viskozitenin arttığı tespit edilmiş; dolayısıyla etkin madde çözünme süresi uzayarak 53 dakikaya çıkmıştır. Salım profili incelendiğinde ise 24 saate etkin maddenin %28,32'si salınmış, başlangıç hızlı salımda bir düşüş gözlenmemiştir. F12-2-P2 ve F12-2-P3 formülasyonlarında ise polimer çözeltilerinin oldukça viskoz olduğu ve etkin maddenin çözünmediği görülmüştür. Etkin maddenin ıslanabilirliğinin oldukça zayıf olduğu göz önünde bulundurulduğunda beklenen bir sonuç olmuştur. PDLLA:PLGA (85:15) oranının 75:25 olduğu F10-6-P1 formülasyonunda ise yine viskozitenin ve bağlantılı olarak etkin madde çözünme süresinin (20 dk) arttığı, 24 saatlik başlangıç hızlı salımın %25,81 ile F12-2 formülasyonunda farklı olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 3.29). Bu formülasyonların çözünme hızı profilleri orijinal F12-2 ve F10-6 formülasyonlarının profilleri ile karşılaştırıldığında profillerin benzer olduğu görülmüştür.

PDLLA'nın PCL ile sırasıyla 75:25, 50:50 ve 0:100 oranları F12-2-P4, F12-2-P5 ve F12-2-P6 formülasyonlarında uygulanmıştır (Çizelge 2.11). Sadece PCL'nin kullanıldığı F12-2-P6 formülasyonunda viskozitenin çok yüksek olduğu görülmüş ve etkin madde çözünmemiştir. Oranın 75:25 olduğu F12-2-P4 ve 50:50 olduğu F12-2-P5 formülasyonlarında ise etkin madde yaklaşık olarak 12 saatte çözünmüştür. Bu durum ne kadar istenirse de salım profilleri de görülmek istenmiş ve sonuçta F12-2-P4 formülü için 24 saatte %32,49; F12-2-P5 formülasyonu için %32,18 oranında bir başlangıç hızlı salım görülmüş, bu oranların F12-2 formülasyonundan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.29).

Farklı bir yaklaşım olarak daha hidrofobik çözücülerin etkisi incelenmiştir. Farklı çözücülerin bir yardımcı madde gibi kullanımı yeni bir yaklaşım değildir (Astaneh ve ark., 2008; Chern ve Zingerman, 2004; Luk ve ark., 2007). Bu amaçla F12-2 formülasyonunda benzil alkol yerine triasetin, benzil benzoat ve etil benzoat kullanılarak yeni formülasyonlar geliştirilmiştir (Çizelge 2.12). F12-2-Ç1, F12-2-Ç2 ve F12-2-Ç3 formülasyonlarında etkin madde çözünmemiştir. Benzil benzoat ve etil benzoat'ın benzil alkol ile 50:50 oranında olduğu F12-2-Ç4 ve F12-2-Ç5 formülasyonları denenmiştir. Benzil benzoat ve etil benzoat, benzil alkolden daha hidrofobik olduğu için çözücü göçünün yavaşlayacağı ve bağlantılı olarak çözücü ile ortama salınan etkin maddenin de azalacağı düşünülmüştür. Sonuçta F12-2 formülasyonunda 4 saatte %19,23 oranında bir salım varken, F12-2-Ç4 formülasyonunda 4 saatte %41,97; F12-2-Ç5 formülasyonunda %49,45 oranında bir başlangıç hızlı salım gerçekleşmiştir (Çizelge 3.16; Şekil 3.30). Fakat durumun beklentiler yönünde gerçekleşemeyeceği literatürlerde kanıtlanmıştır. Örneğin Tang ve Singh'in (2008) yaptığı bir çalışmada aspirinin başlangıç hızlı salımını azaltmak için PLGA/NMP sistemine triasetin eklenmiştir. Fakat başlangıç hızlı salımın %36,9'dan %65'e çıktığı görülmüştür.

Bir sonraki adımda ise farklı yardımcı maddelerin kullanımı değerlendirilmiştir. Temel de amaç viskoziteyi veya hidrofobisiteyi arttırmak veya plastizer etki yaratmak olmuştur. Stearik asit, PEG4000 ve hidroksi propil selüloz F12-2-Y1, F12-2-Y2 ve F12-2-Y3 formülasyonlarında %2 (a/a) oranında kullanılmıştır (Çizelge 2.13) (Dong

ve ark., 2011; Tan ve ark., 2004). Bu üç formülasyon için etkin madde çözünme süresi sırasıyla 16 dk, 35 dk ve 90 dk ile F12-2 formülasyonundan (8 dk) çok daha uzunken; 24 saat sonunda F12-2 formülasyonuna kıyasla salınan etkin madde oranında da bir azalma gözlenmemiştir (sırasıyla %34,03, %29,67 ve %33,80) (Çizelge 3.17; Şekil 3.31). Yardımcı maddeler için istenen etkinin polimer türüne göre değiştiği görülmüştür. Örneğin Tan ve ark. (2004) yaptığı çalışmada PEG4000, PLLA polimerinin kullanıldığı formülasyonunda başlangıç hızlı salımı azaltırken PLLGA 80:20 polimerinin kullanıldığı formülasyonda bir etki göstermemiştir. Yapılan tüm çalışmalar sonucunda istenen etkinin görülüp görülmeyeceğinin net bir şekilde tahmin edilemeyeceği, rol oynayan faktörlerin çok fazla olduğu anlaşılmıştır.

#### **4.8. Sonuç Formülasyonun Seçilmesi ve İn vitro Karakterizasyonuna İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi**

Sonuç formülasyonun seçimi için etkin madde çözünme süresi, salım profili, başlangıç hızlı salım bulguları, salım kinetikleri ve formülasyonların fiziki özellikleri değerlendirilmiştir. Yapılan doz hesabı neticesinde ilk etki için %17,101 (a/a) oranında etkin maddenin salınması gerektiği ve salım hız sabitinin 0,123 mg/s olması gerektiği yapılan doz hesabı ile bulunmuştur. F12-2 formülasyonunda etkin maddenin oda sıcaklığında çözünme süresi 8 dk olmuş; 4 saat sonunda etkin maddenin % 19,23'ü, 28 gün sonunda %92,18'i salınmıştır. Salım hızı bulguları Higuchi kinetiğine uyum göstermekle birlikte sıfır derece kinetik için de iyi bir uyum gözlenmiştir ( $r^2 = 0,941$ ); sıfır derece hız sabiti,  $k_0=0,120$  mg/s olmuştur. Bu parametrelere göre F12-2 formülasyonu sonuç formülasyon olarak seçilmiştir.

Tekrarlanabilirlik çalışması sonunda üç farklı ölçekte tekrar üretilen formülasyonların ayrı olarak enjekte edilebilirlikleri ve viskoziteleri değerlendirilmiştir (Şekil 3.32). Değerlendirilen bu parametreler açısından üç farklı ölçekte üretilen seriler arasında fark olmadığı görülmüştür. Hazırlanan bu seriler birleştirilerek DTA, FT-IR analizleri ve etkin madde salım deneyi yapılmıştır.

#### **4.8.1. Naltrekson ve Polimer Etkileşimlerinin Diferansiyel Termal Analiz (DTA) ve Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ile İncelenmesi**

DTA termogramında F12-2 formülasyonunda sadece naltreksonun erime noktasına karşılık gelen 159,41 °C'de endotermik bir omuz ve buna karşılık TGA termogramında bir ağırlık azalması görülmektedir ve PDLLA'nın termogramlarındaki tipik piklerin olmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.33).

IR spektrumu tek bağ bölgesi (O-H, N-H, C-H) ( $2500-4000\text{ cm}^{-1}$ ), üçlü bağ bölgesi ( $\text{C}\equiv\text{C}$ ,  $\text{C}\equiv\text{N}$ ) ( $2000-2500\text{ cm}^{-1}$ ), çifte bağ bölgesi ( $\text{C}=\text{C}$ ,  $\text{C}=\text{N}$ ,  $\text{C}=\text{O}$ ) ( $1500-2000\text{ cm}^{-1}$ ) ve parmak izi bölgesi ( $600-1500\text{ cm}^{-1}$ ) olmak üzere dört bölüme ayrılmaktadır. Maddeler için belirleyici ve en önemli bölüm parmak izi bölgesidir (Nandiyanto ve ark., 2019). F12-2 formülasyonunun Şekil 3.34'te yer alan FT-IR spektrumu incelendiğinde PDLLA'nın parmak izi bölgesinde yer alan karakteristik pikleri görülmekle birlikte naltreksonun karakteristik piklerinin polimer piklerince örtüldüğü görülmektedir. Fiziksel karışımı incelendiğinde ise özellikle  $600-1100\text{ cm}^{-1}$  arasında etkin madde piklerinin korunduğu;  $1100\text{ cm}^{-1}$  bandından sonra polimer piklerinin baskın olduğu görülmektedir.

#### **4.8.2. Seçilen Formülasyonun Viskozite Tayini ve Enjekte Edilebilirliği**

F12-2 formülasyonu, naltrekson içermeksizin de hazırlanarak karşılaştırmalı olarak viskozite tayini yapılmış ve formülasyonda etkin madde bulunması durumunda viskozitenin arttığı gözlenmiştir (Şekil 3.35). Soni ve Yadav'ın (2014) yaptıkları çalışmada sıcaklık ile jelleşen formülasyonlar için viskozite değerleri 574-754 cP aralığında değişmiştir. F12-2 formülasyonu için viskozite ise 239 cP olarak bulunmuştur. Dolayısıyla formülasyonun enjekte edilebilir ve enjektöre çekilebilir bir aralıkta olduğu görülmüştür.

Farklı kayma hızlarında ölçülen viskozite değerleri azalan ve artan değerler şeklinde grafiğe geçirildiğinde formülasyonun newtonian akış gösterdiği tespit edilmiştir. Yani kayma hızı arttıkça viskozite sabit kalmaktadır. Bu durum polimer çözeltileri için beklenen, tahmin edilebilir ve literatür verileri ile uyumlu bir sonuçtur (Qian ve ark., 2014).

Enjekte edilebilirlik, formülasyonun enjektör iğnesinden geçmesi için gereken kuvvet olarak tanımlanmaktadır. Yapılan çalışmada 21 gauge iğne uçlu enjektörden formülasyonu enjekte etmek için uygulanması gereken kuvvet uygun bulunmuştur. Xin ve ark. (2014) yaptığı çalışmada formülasyonları için enjekte edilebilirlik kuvvetini 21-42 N arasında bulmuştur. Çalışmamızda F12-2 formülasyonu için ölçülen değer (13,7 N) bu değerlerden daha düşük olup formülasyon enjekte edilebilir bulunmuştur.

#### **4.8.3. Seçilen Formülasyonun Morfolojisinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntülenmesi**

SEM fotoğrafları F12-2 formülasyonunun in vitro çözünme hızı deneyinden 2, 7, 14, 21, 28 ve 35. günlerde alınan numunelerinin yüzey ve enine kesit görüntülerini göstermektedir (Şekil 3.36). İn situ oluşan jel formülasyonu pH 7,4 PBS (%0,02 Tween 20 ve %0,02 sodyum azid) ortamına enjekte edildikten sonra benzil alkol hızlı bir şekilde sulu ortama göç etmiştir. Bu da sünger benzeri poröz bir yapının oluşmasına neden olmuştur. Yüzeyin ise in situ implant ilk katılaştığı zaman oldukça pürüzsüz olduğu görülmektedir. Zaman ilerledikçe jel yapısından etkin madde ve çözücünün ortama difüzyonunun sonucu olarak hem yüzeyin porozitesi hem de enine kesitte porların çapı artmıştır (Parent ve ark., 2013).

#### 4.8.4. İn vitro Salım Çalışmaları

İN situ oluşan jellerde etkin madde salımı başlangıç hızlı salım, difüzyon ve polimer degradasyonu nedeniyle salım olmak üzere temel olarak üç aşamada gerçekleşmektedir. Jel formülasyonu sulu ortama enjekte edildikten sonra formülde bulunan çözücü sulu ortama, su ise formülasyon içine difüze olmakta ve böylece polimer çökerek bir matriks yapısı oluşturmaktadır. Formülasyonda suyla karışabilir hidrofilik çözücülerin kullanılması durumunda (hızlı jelleşen sistemler), çözücü sulu ortama hızlı bir şekilde difüze olmakta jel formülasyonunun yüzeyi hızlı bir şekilde katılaştırırken, kabuğun altında polimerce zengin ve zayıf bölgeler oluşmaktadır. Polimerce zayıf bölgeler arasında bir ağ oluşmakta ve etkin madde bu ağdan hızlı bir şekilde dışarı salınmaktadır. Poröz yapı içindeki etkin madde tamamen salındıktan ve polimer tamamen çöktükten sonra, polimer matriks içindeki etkin madde daha düşük bir hızla salınmaktadır. Daha hidrofobik çözücülerin kullanıldığı sistemlerde ise (yavaş jelleşen sistemler) su ile organik çözücü değişimi daha yavaş gerçekleştiğinden, polimerin çökmesi/jel formülasyonunun katılaşması daha uzun sürmekte ve formülasyon viskoz yapısını korumaktadır. Böylece daha az poröz bir yapı gözlenmekte; etkin madde difüzyon hızı azalmaktadır. Tüm bu mekanizmalar ani salımın oluşmasında rol oynamaktadır.

Başlangıç hızlı salımın ardından difüzyon mekanizması rol oynamaktadır. Etkin madde difüzyonu etkin maddenin, polimerin ve matriks morfolojisinin fizikokimyasal özelliklerinin bir fonksiyonudur. Difüzyon etkin maddenin çözünürlüğü, yüklenen miktarı; oluşan matriks yapısının şekli, boyutları, porozite ve eğri bükürlüğüne göre gerçekleşmektedir.

Etkin madde salımında rol oynayan son mekanizma ise degradasyondur. PDLLA basit olarak hidroliz mekanizması ile degrade olmaktadır. Ortamdaki suyun jel formülasyonuna penetrasyonunu takiben tüm matriks boyunca polimer degradasyonu (bulk) başlamaktadır. Böylece matriks boyunca homojen bir şekilde parçalanma ürünleri oluşmakta; parçalanma ürünleri bir süre sonra salım ortamına göç ettiğinde

ise erozyon gerçekleşmektedir. Erozyonla birlikte matriks yapısı içindeki etkin madde ortama salınmaktadır.

F12-2 formülasyonunun salım çalışmaları Bölüm 2.11.2’de belirtildiği şekilde yapılmıştır. Salım profili değerlendirildiğinde in situ oluşan jellerde beklenildiği gibi ve piyasa preparatları Eligard® ve Atridox®’da da görüldüğü üzere ilk 4 saat içinde hızlı bir salım gerçekleşmiştir (Şekil 3.37) (Park ve ark., 2019). Bunun sebebi ise formülasyonda bulunan benzil alkol ile salım ortamındaki suyun yer değiştirmesidir. Benzil alkolde çözünen polimer, benzil alkolün su ile yer değiştirmesi ile birlikte çökmekte; bu süreç içerisinde etkin maddenin bir kısmı benzil alkol ile ortama geçmektedir. Fakat jel tamamen katı bir hal aldıktan sonra salımın yavaşladığı ve etkin madde çıkışının polimer tarafından kontrol edildiği görülmektedir.

#### **4.8.5. Çözücü Göçünün İncelenmesi**

F12-2 formülasyonunda benzil alkol göçü incelendiğinde ilk 2 saatlik süre içerisinde %68’inin; 24 saat içerisinde ise %83,54’ünün salım ortamına geçtiği görülmektedir (Şekil 3.38). İlk 24 saatlik çözücü göçü profili incelendiğinde etkin madde salım profili ile paralellik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durumda etkin madde salımında görülen başlangıç hızlı salımın benzil alkolün ortama geçiş hızı ile orantılı olarak ve konveksiyonla gerçekleştiği söylenebilecektir.

#### **4.8.6. Degradasyon Çalışmaları**

Etkin madde salım ortamından alınan numunelerde laktik asit miktarı ölçülerek polimer degradasyonu belirlenmeye çalışılmıştır. Giunchedi ve ark.’nın (1998) yaptığı çalışmada PDLLA’nın (Mw 28 000) pH 7,4 PBS (%0,05 Tween 80 ve %0,1 sodyum azid) ortamında degradasyonu %2,6 oranında olmuştur. Analizler sonucunda literatür verileriyle uyumlu olarak 35 gün sonunda polimerin %2,32’sinin degrade olduğu bulunmuştur (Şekil 3.39). PDLLA sulu bir ortam ile temas ettiği an degrade olmaya

başlamaktadır. Fakat erozyon çok daha sonra gerçekleşmektedir. Dolayısıyla polimer degrade olsa bile degradasyon ürünü olan oligomer ve monomerlerin salım ortamına geçmemesi nedeniyle sonucun bu şekilde olduğu düşünülmüştür.

#### 4.8.7. Stabilite Bulgularının Değerlendirilmesi

Stabilite çalışmalarında 0, 30, 60 ve 90. günlerde etkin madde ve polimer miktarı, viskozite, enjektelerde edilebilirlik ve DTA analizleri yapılmıştır. Geliştirilen HPLC yöntemleri ile formülasyonda bulunan naltrekson ve PDLLA miktarları ölçüldüğünde naltreksonun 30 gün sonunda  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 'de miktarının %97,30;  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 'de %100 olduğu; PDLLA'nın  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 'de miktarının %99,66,  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 'de %95,40; 60 gün sonunda naltreksonun  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 'de miktarının %96,96;  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 'de %103,47 olduğu; PDLLA'nın  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 'de miktarının %97,90,  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 'de %93,31 ve 90 gün sonunda naltreksonun  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 'de miktarının %93,56;  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 'de %105,06 olduğu; PDLLA'nın  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 'de miktarının %99,59,  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 'de %95,91 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.18; Şekil 3.41). Etkin madde içermeyen polimer çözeltisinde ise PDLLA miktarının  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 'de %99,59,  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 'de %97,69 olduğu bulunmuştur. Sıcaklık arttıkça polimerin degradasyon hızının arttığı bilinmektedir (Camargo ve ark., 2013).  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$  ve  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 'de yürütülen stabilite deneyinde degradasyonun,  $37^{\circ}\text{C}$ 'de in vitro salım ortamında bulunan değerden (%2,32 a/a) daha fazla/yakın bulunması etkin maddeye bağlanmıştır. Nükleofilik yapıdaki maddelerin, polimerlerin ester bağlarının hidrolizini nükleofilik atak ile hızlandırdığı bilinmektedir. Örneğin yapılan bir çalışmada naltrekson içeren mikroküreler yapılmak istenmiş ve önce PLGA'nın çözüldüğü, daha sonra naltreksonun bu polimer çözeltisinin üzerine ilave edilerek çözüldüğü yöntemde polimer  $M_w$ 'nin %20; naltrekson ve PLGA'nın aynı anda ve aynı ortamda çözüldüğü yöntemde %42,25 oranında azaldığı tespit edilmiştir (Hua ve ark., 2021). Dolayısıyla böyle bir etkinin PDLLA üzerinde de olduğu düşünülmektedir. Bir başka belirleyici faktör ise çözücüdür (McKeown ve ark., 2020). Benzil alkol polar protik bir çözücüdür ve  $\text{H}^+$  donörü olması sebebiyle ortamın asiditesini arttırarak PDLLA'daki ester bağının hidrolizine sebep olabileceği düşünülmektedir (Camargo ve ark., 2013). Naltrekson içermeyen polimer çözeltisinde

ise sıcaklık arttıkça degradasyonun arttığı, fakat etkin madde içeren formülasyonlara göre daha düşük bir değerde olduğu görülmüştür.

Yapılan viskozite ve enjekte edilebilirlik çalışmalarında polimer degradasyonu ile doğru orantılı olarak değerlerde bir düşüş gözlenmiştir. DTA ve TGA analizlerinde farklı zamanlarda alınan formülasyon termogramlarının özellikle  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 'de birbirine paralel olduğu, dolayısıyla geçiş sıcaklıklarının değişmediği görülmektedir. Stabilitate çalışmalarının sonuçları geliştirilen bu formülasyonun saklama sıcaklığı olarak  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 'nin daha uygun olduğunu göstermiştir.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Naltrekson, alkol ve opioid bağımlılığının psikososyal desteği de içeren çok yönlü tedavisinin bir parçasıdır. Naltrekson, daha önce opioid bağımlısı olan, detoksifiye bireylerde opioidsiz olma durumunun idamesine yardımcı olmak üzere, dışarıdan alınan opioidlerin farmakolojik etkilerinin blokajının sağlanmasında endikedir. Türkiye ilaç piyasasında bulunan tek ilacı Ethylex isimli oral tablet formudur. Bu tabletler 50 mg dozda naltrekson içermekte ve günde tek doz olarak kullanılmaktadır. Opioid bağımlılığının tedavisinde tedaviyi kesme olasılığına karşı hastalara ilaç alma sorumluluğunun yüklenmediği dozaj formlarının geliştirilmesi gerçekten çok önemlidir. Bu çalışmada, s.c. uygulanabilen ve 28 gün süre ile etkin plazma konsantrasyonunun sağlanabildiği bir dozaj formu geliştirilmiştir. Naltreksonun in situ oluşan jelleşme için bir formülasyonu ülkemizde ve diğer ülkelerde mevcut değildir.

S.c. uygulama için in situ oluşan jeller şeklinde implant formülasyonlarının geliştirilmesi; uygulanacak çözeltinin miktarı, enjekte edilebilirliği, etkin maddenin polimer çözeltisinde çözünmesinin sağlanarak bir çözelti formunun oluşturulması, jelleşme sırasında çözücünün uzaklaşma hızı gibi üstesinden gelinmesi gereken zorluklar içermektedir. Yaptığımız tez çalışmasında bu zorluklar göz önünde bulundurularak aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

- Naltrekson ve PDLLA üzerinde yürütülen IR spektrofotometrisi ve DTA analizlerine göre etkin madde saf haldedir.
- Etkin maddenin miktar tayini için kullanılan analitik yöntemler, doğruluk, kesinlik, teşhis ve tayin alt sınırları gibi validasyon parametrelerini sağlamıştır.
- İn situ oluşan jel formülasyonları çözücü göçüne bağlı çökme mekanizması ile hazırlanabilmiştir.

- Naltreksonun en iyi çözüldüğü çözücü >500 mg/mL ile benzil alkol olmuştur.
- Formülasyonların geliştirilmesinde PDLLA polimerinin ve benzil alkol çözücüsünün en uygun formülasyon bileşenleri olduğu tespit edilmiştir.
- Formülasyonların geliştirilmesinde en önemli faktörler olan etkin madde:çözücü, polimer:çözücü ve polimer:etkin madde oranları sonuç formülasyonu için sırasıyla 1:3,2, 0,75:3,2 ve 0,75:1 şeklindedir. Bu faktörler formülasyonun hızlı başlangıç salımı, viskozitesi, enjekte edilebilirliği ve etkin maddenin polimer çözeltisinde çözünme süresini etkilemektedir.
- Sonuç formülasyonun ölçek büyütme deneylerinde enjekte edilebilirlik ve viskozite değerleri incelenmiş olup, üç farklı ölçekte hazırlanan formülasyonlar tutarlı sonuç göstermiştir. Formülasyonun etkin madde çözünme süresi 8 dk; 4 saatlik hızlı başlangıç salımı % 19,23±0,9; 28 günlük salımı %97,53; viskozitesi 128,9 cP ve enjekte edilebilirliği 13,7±0,45 N olarak bulunmuştur.
- Yapılan doz hesabı neticesinde sıfır derece salım hız sabiti 0,123 mg/s olarak; ilk dozu oluşturacak miktar %17,101 olmuştur. Sonuç formülasyonun 4 saatlik hızlı başlangıç salım bulgusu (% 19,23±0,9) ile bu sonuca uyum sağlamaktadır. Salım kinetik bulguları incelendiğinde ise sıfır derece salım hız sabitinin (0,120 mg/s) doz hesabı ile bulunan değere uyduğu görülmüş, sıfır derece kinetik model için  $r^2$  değeri 0,9409 olmuştur. Formülasyonun diğer modellere uyumu incelendiğinde tüm modeller için  $r^2$  değerinin yüksek olduğu, fakat en iyi uyumun  $r^2$  0,9979 ile Higuchi modeli olduğu görülmüştür. Yani etkin madde salımı difüzyon ile gerçekleşmiştir. Bu durum Peppas'ın n salım katsayısı ile de desteklenmiştir.
- Formülasyonun salım ortamında degradasyonu incelendiğinde 35 gün sonunda polimer kütlelerinde %2,32 oranında bir azalma tespit edilmiştir.

- SEM görüntüleri incelendiğinde, jel formülasyonunun salım ortamına enjeksiyonunu takiben formülasyondaki organik çözücü uzaklaştıktan sonra süngerimsi bir yapı gösterdiği, salım süresinin sonunda (35 gün) por çapının arttığı görülmüştür.
- Formülasyon stabilitesi  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$  ve  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 'de incelenmiş, sonuçta  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ 'de 90 gün sonunda en düşük etkin madde miktarı %100, polimer miktarı % 93,30 olarak;  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$ 'de en düşük etkin madde miktarı %93,56, polimer miktarı % 97,90 olarak bulunmuştur. Viskozite ise 90 gün sonunda  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$  için 23,4 cP,  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$  için 49,2 cP olmuştur. Formülasyonun saklanması için en uygun koşul  $-20\pm 5^{\circ}\text{C}$  olmuştur.

Bu çalışmaların sonucunda önemli bir sosyal ve adli problem olan opioid ve alkol bağımlılığına karşı 28 gün etkili, çözelti formunda, s.c. uygulamaya uygun bir dozaj formu geliştirilmiştir.

## ÖZET

### **Narkotik Antagonist Bir Etkin Maddenin Uzatılmış Salım Yapan Enjekte Edilebilir İn Situ İmplant Formülasyonlarının Tasarımı ve İn Vitro Karakterizasyonu**

Opioid ve alkol bağımlılığı ciddi bir sağlık sorunudur. Dünya çapında yaklaşık 275 milyon kişi, yani 15-64 yaş arası küresel nüfusun yaklaşık % 5,6'sı en az bir kere uyuşturucu madde kullanmıştır. Opioidler ise uyuşturucu kullanım bozukluklarının dahil olduğu ölümlerin % 76'sını oluşturarak en fazla zarar veren gruptur. Alkol kullanım bozukluklarının bir yıllık yaygınlığının Amerika bölgesinde % 5,2; Avrupa ülkelerinde % 5,5 ve Doğu Avrupa bölgelerinde % 10'un üzerinde olduğu tahmin edilmektedir ve kasıtlı yaralanmaların % 20-30'una; küresel ölümlerin ise % 3,6'sına neden olmaktadır.

Naltrekson,  $\mu$ ,  $\kappa$  ve  $\delta$  opioid reseptör bölgelerinde etkili olan psikoaktif maddelerin ve alkolün etkilerini bu reseptörlere yarışmalı olarak bağlanarak bloke etmektedir. Yoğun ilk geçiş etkisi nedeniyle biyoyararlanımı düşüktür ve oral yolla kullanımında plazma konsantrasyonunda dalgalanmalar meydana gelmektedir. Ayrıca oral yolla kullanılan tabletleri tedaviyi erken bırakma oranlarının yüksek olması ile ilişkilendirilmiştir.

Bu nedenlerle karaciğerden geçişin elimine edildiği, sabit bir plazma konsantrasyonunun sağlanabildiği ve hastalara ilaç alma sorumluluğunun yüklenmediği, invaziv olmayan bir dozaj formu olan in situ oluşan jellerin hazırlanması hedeflenmiştir. Bu amaçla çözücü göçü ile çökme ve sıcaklık değişimi ile jelleşme olmak üzere iki farklı oluşum mekanizmasına sahip ve biyolojik olarak paraçalanabilir polimerler ve biyolojik olarak geçimli çözücüler kullanılarak in situ jel oluşturan formülasyonlar geliştirilmiş ve optimize edilmiştir. Formülasyonlar in vitro testlerle karakterize edilmiş; etkin madde salım mekanizması ve salım hızı uygun bulunan formülasyonda daha ileri tetkikler yapılmıştır. Sonuçta subkütan enjeksiyon hacmi sınırları dahilinde, 28 gün süresince etkin madde salımının sağlandığı, uygun viskozite ve enjekte edilebilirlik değerlerine sahip çözelti formunda bir in situ oluşan bir implant sistem geliştirilmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Bağımlılık, benzil alkol, biyoparçalanır polimer, naltrekson, implant, in situ jel, poli laktik asit, subkutan.

## SUMMARY

### **Design and In Vitro Characterization of Prolonged Release Injectable In Situ Implant Formulations of a Narcotic Antagonist Active Pharmaceutical Ingredient**

Opioid and alcohol addiction is a serious health problem. Approximately 275 million people worldwide, approximately 5.6% of the global population aged 15-64, have used drugs at least once. Opioids remained as the most harming group, accounting for 76 percent of deaths involving drug use disorders. The one-year prevalence of alcohol use disorders is estimated at 5.2% in the America regions; 5.5 % in European countries and over 10 % in Eastern European regions and causes 20-30% of intentional injuries and 3.6% of global deaths.

Naltrexone blocks the effects of psychoactive substances and alcohol acting on  $\mu$ ,  $\kappa$  and  $\delta$  opioid receptor sites by binding competitively to these receptors. Because of the extensive first pass metabolism, the bioavailability of this group of active pharmaceutical substances is low and fluctuations in plasma concentrations occur when used orally. In addition, oral tablets have been associated with high rates of early withdrawal from treatment.

For these reasons, it was aimed to prepare in situ forming gels, which is a non-invasive dosage form, in which the liver is bypassed, a constant plasma concentration can be achieved, and patients are not burdened with taking medication. For this purpose, in situ gel forming formulations with two different formation mechanisms namely solvent removal precipitation, and thermally induced gelation were developed by using biodegradable polymers and biocompatible solvents, and the compositions of the formulations were optimized. The formulations were characterized by in vitro tests and the formulation that was found to be the most suitable regarding the active substance release mechanism and the release rate, was evaluated with further tests. As a result, a formulation in the form of a solution with appropriate viscosity and injectability values, in which the active substance is released for 28 days, within the limits of s.c. injection volume has been developed.

**Keywords:** Addiction, benzyl alcohol, biodegradable polymer, naltrexone, implant, in situ gel, poly lactic acid, subcutaneous.

## KAYNAKLAR

- AGARWAL, P., RUPENTHAL, I. D. (2013). Injectable implants for the sustained release of protein and peptide drugs. *Drug Discovery Today*, **18(7)**: 337-349. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.01.013>
- AGRAWAL, M., PRADHAN, M., SINGHVI, G., PATEL, R., AJAZUDDIN, ALEXANDER, A. (2022). Thermoresponsive in situ gel of curcumin loaded solid lipid nanoparticle: Design, optimization and in vitro characterization. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **71**: 103376. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103376>
- AHMED, A. R., DASHEVSKY, A., BODMEIER, R. (2010). Drug release from and sterilization of in situ cubic phase forming monoglyceride drug delivery systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **75(3)**: 375-380. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2010.04.004>
- AINALI, N. M., TARANI, E., ZAMBOULIS, A., ČREŠNAR, K. P., ZEMLJIČ, L. F., CHRISAFIS, K., ..., BIKIARIS, D. N. (2021). Thermal Stability and Decomposition Mechanism of PLA Nanocomposites with Kraft Lignin and Tannin. *Polymers*, **13(16)**: 2818.
- AJ, M. Z., PATIL, S. K., BAVISKAR, D. T., JAIN, D. K., AUTHOR, C. (2012). *Implantable Drug*
- ALGIN, E., BAYKARA, T. (2005). IN SITU FORMING INJECTABLE BIODEGRADABLE IMPLANT SYSTEMS. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, **34(4)**: 287-313.
- ALKERMES, (2014). Polymorphic Forms of Naltrexone. *United States Patent*.
- AMERICAN PSYCHOLOGICAL ASSOCIATION, (2022). Erişim adresi: <https://www.apa.org/topics/substance-use-abuse-addiction/alcohol-disorders>. Son erişim tarihi: 08.04.2022
- ANDHARIYA, J. V., CHOI, S., WANG, Y., ZOU, Y., BURGESS, D. J., SHEN, J. (2017). Accelerated in vitro release testing method for naltrexone loaded PLGA microspheres. *International journal of pharmaceutics*, **520(1-2)**: 79-85.
- ANGRES, D. H., BETTINARDI-ANGRES, K. (2008). The Disease of Addiction: Origins, Treatment, and Recovery. *Disease-a-Month*, **54(10)**: 696-721. <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2008.07.002>
- ASTANEH, R., ERFAN, M., BARZIN, J., MOBEDI, H., MOGHIMI, H. R. (2008). Effects of ethyl benzoate on performance, morphology, and erosion of PLGA implants formed in situ. *Advances in polymer technology: journal of the polymer processing institute*, **27(1)**: 17-26.
- ASTANEH, R., ERFAN, M., MOGHIMI, H., MOBEDI, H. (2009). Changes in morphology of in situ forming PLGA implant prepared by different polymer molecular weight and its effect on release behavior. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **98(1)**: 135-145. <https://doi.org/10.1002/jps.21415>
- ATRIDOX, (2011). Erişim adresi: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2011/050751s015lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/050751s015lbl.pdf)
- BAGCI, N., BAYINDIR, Z. S., INAL, O., ALTANLAR, N., & YUKSEL, N. (2020). Development and In vitro Evaluation of Nifedipine Gel Formulations for Anorectal Applications. *Current Drug Delivery*, **17(2)**: 126-139.
- BAKSHI, R., VASHEGHANI-FARAHANİ, E., MOBEDI, H., JAMSHIDI, A., KHAKPOUR, M. (2006). The effect of additives on naltrexone hydrochloride release and solvent removal rate

- from an injectable in situ forming PLGA implant. *Polymers for Advanced Technologies*, **17(5)**: 354-359. <https://doi.org/10.1002/pat.717>
- BAYINDIR, Z., YUKSEL, N., ERGIN, A. (2019). Characterization and optimization of colon targeted S-adenosyl-L-methionine loaded chitosan nanoparticles. *Journal of Research in Pharmacy*, **23**: 914-926. <https://doi.org/10.35333/jrp.2019.38>
- BENET, L. Z., ZIA-AMIRHOSSEINI, P. (1995). Basic Principles of Pharmacokinetics. *Toxicologic Pathology*, **23(2)**: 115-123. <https://doi.org/10.1177/019262339502300203>
- BHATTARAI, S., PERUMAL, D., RATHBONE, M. J., BUNT, C. R., ALANY, R. G. (2021). On the Biocompatibility and Teat Retention of In Situ Gelling Intramammary Formulations: Cattle Mastitis Prevention and Treatment. *Pharmaceutics*, **13(10)**: 1732. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13101732>
- BLACKSHEAR, P. J. (1979). Implantable Drug-Delivery Systems. *Scientific American*, **241(6)**: 66-73.
- BONMARIN, M., LE GAL, F. A. (2016). Thermal imaging in dermatology. *Imaging in dermatology*, 437-454.
- BORMAN, P., ELDER, D. (2017). Q2 (R1) validation of analytical procedures. *ICH Quality guidelines*, **5**: 127-166.
- BRUSCHI, M. L. (2015). *Strategies to modify the drug release from pharmaceutical systems*. Woodhead Publishing.
- BRÜNEN, S., KRÜGER, R., FINGER, S., KORF, F., KIEFER, F., WIEDEMANN, K., HIEMKE, C. (2010). Determination of naltrexone and 6 $\beta$ -naltrexol in human blood: comparison of high-performance liquid chromatography with spectrophotometric and tandem-mass-spectrometric detection. *Analytical and bioanalytical chemistry*, **396(3)**: 1249-1257.
- BURCE, G. L., BHAT, H. B., SOKOLOSKI, T. (1977). Quantitative determination of naltrexone and naltrexone prodrugs by electron-capture gas-liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **137(2)**: 323-332. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)81355-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)81355-2)
- CAMARGO, J. A., SAPIN, A., NOUVEL, C., DALOZ, D., LEONARD, M., BONNEAUX, F., SIX, J.L., MAINCENT, P. (2013). Injectable PLA-based *in situ* forming implants for controlled release of Ivermectin a BCS Class II drug: Solvent selection based on physico-chemical characterization. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **39(1)**: 146-155. <https://doi.org/10.3109/03639045.2012.660952>
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2022. Erişim adresi: <https://www.cdc.gov/opioids/data/index.html> Son erişim tarihi: 01.05.2022
- CENTER FOR DRUG EVALUATION AND RESEARCH (CDER), (1994). Validation of Chromatographic Methods, Centre for Drug Evaluation and Research. Erişim adresi: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/UCM134409>.
- CHAPPEL, E. (2021). Implantable drug delivery devices. *Drug Delivery Devices and Therapeutic Systems* (ss. 129-156). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819838-4.00001-8>
- CHEN, S., SINGH, J. (2005). In Vitro Release of Levonorgestrel from Phase Sensitive and Thermosensitive Smart Polymer Delivery Systems. *Pharmaceutical Development and Technology*, **10(2)**: 319-325. <https://doi.org/10.1081/PDT-54479>
- CHEMSPIDER. Erişim adresi: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4514524.html> Son erişim tarihi: 13.08.2021

- CHERN, R. T., ZINGERMAN, J. R. (2004). *Liquid polymeric compositions for controlled release of bioactive substances* (United States Patent Sy US6733767B2). <https://patents.google.com/patent/US6733767B2/en>
- CHITKARA, D., SHIKANOV, A., KUMAR, N., DOMB, A. J. (2006). Biodegradable Injectable In Situ Depot-Forming Drug Delivery Systems. *Macromolecular Bioscience*, **6(12)**: 977-990. <https://doi.org/10.1002/mabi.200600129>
- CHOUNTOULESI, M., PISPAS, S., TSETI, I. K., DEMETZOS, C. (2022). Lyotropic Liquid Crystalline Nanostructures as Drug Delivery Systems and Vaccine Platforms. *Pharmaceuticals*, **15(4)**: 429. <https://doi.org/10.3390/ph15040429>
- COLLINS, D. S., SÁNCHEZ-FÉLIX, M., BADKAR, A. V., MRSNY, R. (2020). Accelerating the development of novel technologies and tools for the subcutaneous delivery of biotherapeutics. *Journal of controlled release*, **321**: 475-482.
- COLQUHOUN, R. M. (2013). Open label trial of naltrexone implants: Measuring blood serum levels of naltrexone. *Substance Abuse: Research and Treatment*, **7**: SART-S10776.
- ČUDINA, O. A., ČOMOR, M. I., JANKOVIĆ, I. A. (2005). Simultaneous determination of bifonazole and benzyl alcohol in pharmaceutical formulations by reverse-phase HPLC. *Chromatographia*, **61(7)**: 415-418.
- DA SILVA, E. P., GUILHERME, M. R., GARCIA, F. P., NAKAMURA, C. V., CARDOZO-FILHO, L., ALONSO, C. G., RUBIRA, A. F., KUNITA, M. H. (2016). Drug release profile and reduction in the in vitro burst release from pectin/HEMA hydrogel nanocomposites crosslinked with titania. *RSC Advances*, **6(23)**: 19060-19068. <https://doi.org/10.1039/C5RA27865A>
- DA SILVA, M. A., HADDOW, P., KIRTON, S. B., MCAULEY, W. J., PORCAR, L., DREISS, C. A., COOK, M. T. (2022). Thermoresponsive Triblock-Copolymers of Polyethylene Oxide and Polymethacrylates: Linking Chemistry, Nanoscale Morphology, and Rheological Properties. *Advanced Functional Materials*, **32(9)**: 2109010. <https://doi.org/10.1002/adfm.202109010>
- DANCKWERTS, M., FASSIHI, A. (1991). Implantable Controlled Release Drug Delivery Systems: A Review. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **17(11)**: 1465-1502. <https://doi.org/10.3109/03639049109026629>
- DASH, A., CUDWORTH, G. (1998). Therapeutic applications of implantable drug delivery systems. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, **40(1)**: 1-12. [https://doi.org/10.1016/S1056-8719\(98\)00027-6](https://doi.org/10.1016/S1056-8719(98)00027-6)
- DEGENHARDT, L., WHITEFORD, H. A., FERRARI, A. J., BAXTER, A. J., CHARLSON, F. J., HALL, W. D., FREEDMAN, G., BURSTEIN, R., JOHNS, N., ENGELL, R. E., FLAXMAN, A., MURRAY, C. J., VOS, T. (2013). Global burden of disease attributable to illicit drug use and dependence: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*, **382(9904)**: 1564-1574. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61530-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61530-5)
- DESNOYER, J. R., MCHUGH, A. J. (2003). The effect of Pluronic on the protein release kinetics of an injectable drug delivery system. *Journal of Controlled Release*, **86(1)**: 15-24. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00293-6](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00293-6)
- DISTLER, T., MCDONALD, K., HEID, S., KARAKAYA, E., DETSCH, R., BOCCACCINI, A. R. (2020). Ionically and Enzymatically Dual Cross-Linked Oxidized Alginate Gelatin Hydrogels with Tunable Stiffness and Degradation Behavior for Tissue Engineering. *ACS Biomaterials Science Engineering*, **6(7)**: 3899-3914. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.0c00677>
- ERGIN, A.D., BAYINDIR, Z. S., OZCELIKAY, A. T., YUKSEL, N. (2021). A novel delivery system for enhancing bioavailability of S-adenosyl-l-methionine: Pectin nanoparticles-in-microparticles and their in vitro - in vivo evaluation'. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **61**, 102096. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102096>

- DONG, S., WANG, S., ZHENG, C., LIANG, W., HUANG, Y. (2011). An in situ-forming, solid lipid/PLGA hybrid implant for long-acting antipsychotics. *Soft Matter*, **7(12)**: 5873-5878. <https://doi.org/10.1039/C1SM05310H>
- DONGBANG, S., PEDERSEN, B., A. ELLMAN, J. (2019). Asymmetric synthesis of (–)-naltrexone. *Chemical Science*, **10(2)**: 535-541. <https://doi.org/10.1039/C8SC03748E>
- DRUGS AND ALCOHOL ADDICTION TREATMENT, (2021). Collective Pharma. Erişim adresi:<https://www.collectivepharma.co.za/documents/NaltrexoneImplantPresentation.pdf> Son erişim tarihi: 27.09.2021
- DRUGS, U. N. O. ON, LABORATORY, C., SECTION, S. (2009). *Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment Used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens: A Commitment to Quality and Continuous Improvement*. United Nations Publications.
- EINMAHL, S., CAPANCIONI, S., SCHWACH-ABDELLAOUI, K., MOELLER, M., BEHAR-COHEN, F., GURNY, R. (2001). Therapeutic applications of viscous and injectable poly(ortho esters). *Advanced Drug Delivery Reviews*, **53(1)**: 45-73. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(01\)00220-4](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(01)00220-4)
- ELIAZ, R. E., WALLACH, D., KOST, J. (2000). *Delivery of Soluble Tumor Necrosis Factor Receptor from In-Situ Forming PLGA Implants: In-Vivo*. 5.
- ELIGARD, 2016. Erişim adresi: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/nda/2016/021343Orig1s033.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2016/021343Orig1s033.pdf)
- EL-SAY, K. M., ALHARBY, Y., EL-HELW, A.-R., HOSNY, K. M., AHMED, T. (2016). Depot injectable atorvastatin biodegradable in situ gel: Development, optimization, in vitro, and in vivo evaluation. *Drug Design, Development and Therapy*, **405**. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S98078>
- ETHYLEX, 2007. Erişim adresi: [http://www.demilac.com.tr/www/demilactr/pdf/Ethylex\\_KUB.pdf](http://www.demilac.com.tr/www/demilactr/pdf/Ethylex_KUB.pdf) Son erişim tarihi: 16.02.2022
- EUROPEAN MONITORING CENTRE FOR DRUGS AND DRUG ADDICTION (EMCDDA), (2017). Erişim adresi: <https://www.emcdda.europa.eu/system/files/publications/4502/TD0116924ENN.pdf> Son erişim tarihi: 10.05.2022
- EUROPEAN PHARMACOPOEIA 8, (2016). BUFFER SOLUTIONS <540>.
- FEDOROVICH, N. E., OUDSHOORN, M. H., VAN GEEMEN, D., HENNINK, W. E., ALBLAS, J., DHERT, W. J. A. (2009). The effect of photopolymerization on stem cells embedded in hydrogels. *Biomaterials*, **30(3)**: 344-353. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.09.037>
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), (2003). Validation and verification guidance for human drug analytical methods (appendix 1). *Document No.: ORA-LAB*, **5(5)**, 17-19.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), (2011). Dissolution Methods. Erişim Adresi: [https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp\\_getalldata.cfm](https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_getalldata.cfm) Son erişim tarihi: 02.05.2022
- FREDENBERG, S., WAHLGREN, M., RESLOW, M., AXELSSON, A. (2011). The mechanisms of drug release in poly(lactic-co-glycolic acid)-based drug delivery systems—A review. *International Journal of Pharmaceutics*, **415(1)**: 34-52. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.05.049>
- GHAHREMANKHANI, A. A., DORKOOSH, F., DINARVAND, R. (2008). PLGA-PEG-PLGA Tri-Block Copolymers as In Situ Gel-Forming Peptide Delivery System: Effect of Formulation

- Properties on Peptide Release. *Pharmaceutical Development and Technology*, **13(1)**: 49-55. <https://doi.org/10.1080/10837450701702842>
- GHANIAN, M. H., MIRZADEH, H., BAHARVAND, H. (2018). In Situ Forming, Cytocompatible, and Self-Recoverable Tough Hydrogels Based on Dual Ionic and Click Cross-Linked Alginate. *Biomacromolecules*, **19(5)**: 1646-1662. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.8b00140>
- GIUNCHEDI, P., CONTI, B., SCALIA, S., CONTE, U. (1998). In vitro degradation study of polyester microspheres by a new HPLC method for monomer release determination. *Journal of Controlled Release*, **56(1)**: 53-62. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(98\)00068-6](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(98)00068-6)
- GONG, C., SHI, S., WU, L., GOU, M., YIN, Q., GUO, Q., DONG, P., ZHANG, F., LUO, F., ZHAO, X., WEI, Y., QIAN, Z. (2009). Biodegradable in situ gel-forming controlled drug delivery system based on thermosensitive PCL-PEG-PCL hydrogel. Part 2: Sol-gel-sol transition and drug delivery behavior. *Acta Biomaterialia*, **5(9)**: 3358-3370. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.05.025>
- GONZALEZ, J. P., BROGDEN, R. N. (1988). Naltrexone: A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Efficacy in the Management of Opioid Dependence. *Drugs*, **35(3)**: 192-213. <https://doi.org/10.2165/00003495-198835030-00002>
- GOONOO, N., BHAW-LUXIMON, A., UJODHA, R., JHUGROO, A., HULSE, G. K., JHURRY, D. (2014). Naltrexone: A review of existing sustained drug delivery systems and emerging nano-based systems. *Journal of Controlled Release*, **183**: 154-166. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.03.046>
- GREATBATCH, W., HOLMES, C. F. (1991). History of implantable devices. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine*, **10(3)**: 38-41. <https://doi.org/10.1109/51.84185>
- GRIZIĆ, D., LAMPRECHT, A. (2018). Microparticle preparation by a propylene carbonate emulsification-extraction method. *International Journal of Pharmaceutics*, **544(1)**: 213-221. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.03.062>
- GUNATILLAKE, P. A., ADHIKARI, R. (2016). Nondegradable synthetic polymers for medical devices and implants. *Biosynthetic Polymers for Medical Applications* (33-62). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-105-4.00002-X>
- HATEFI, A., AMSDEN, B. (2002). Biodegradable injectable in situ forming drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*, **80(1-3)**: 9-28. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00008-1](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00008-1)
- HSER, Y.I., EVANS, E., GRELLA, C., LING, W., ANGLIN, D. (2015). Long-Term Course of Opioid Addiction. *Harvard Review of Psychiatry*, **23(2)**: 76-89. <https://doi.org/10.1097/HRP.0000000000000052>
- HUANG, X., BRAZEL, C. S. (2001). On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*, **73(2)**: 121-136. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(01\)00248-6](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(01)00248-6)
- HULSE, G. K., MORRIS, N., ARNOLD-REED, D., TAIT, R. J. (2009). Improving Clinical Outcomes in Treating Heroin Dependence: Randomized, Controlled Trial of Oral or Implant Naltrexone. *Archives of General Psychiatry*, **66(10)**: 1108. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2009.130>
- HUYNH, D. P., NGUYEN, M. K., PI, B. S., KIM, M. S., CHAE, S. Y., LEE, K. C., KIM, B. S., KIM, S. W., LEE, D. S. (2008). Functionalized injectable hydrogels for controlled insulin delivery. *Biomaterials*, **29(16)**: 2527-2534. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.02.016>
- INTERNATIONAL COUNCIL OF HARMONIZATION Topic Q1A (R2) STABILITY TESTING OF NEW DRUG SUBSTANCES AND PRODUCTS, (2003). Erişim adresi: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q1A%28R2%29%20Guideline.pdf>

- INTERNATIONAL COUNCIL OF HARMONIZATION Topic Q 2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, NOTE FOR GUIDANCE ON VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: TEXT AND METHODOLOGY (CPMP/ICH/381/95), (June/1995).
- INTERNATIONAL COUNCIL OF HARMONIZATION. "Guidance for Industry Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology".  
Erişim adresi: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b_en.pdf)
- JACKSON, J. K., ZHANG, X., LLEWELLEN, S., HUNTER, W. L., BURT, H. M. (2004). The characterization of novel polymeric paste formulations for intratumoral delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, **270(1-2)**: 185-198. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2003.10.010>
- JARVIS, B. P., HOLTYN, A. F., SUBRAMANIAM, S., TOMPKINS, D. A., OGA, E. A., BIGELOW, G. E., SILVERMAN, K. (2018). Extended-release injectable naltrexone for opioid use disorder: A systematic review: Review of XR-NTX for OUD. *Addiction*, **113(7)**: 1188-1209. <https://doi.org/10.1111/add.14180>
- JOHNSON, B. A. (2007). Naltrexone long-acting formulation in the treatment of alcohol dependence. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, **3(5)**: 741-749.
- JOHNSON, B. A. (2010). Medication Treatment of Different Types of Alcoholism. *Am J Psychiatry*, **10**.
- JOHNSON, F. K., STARK, J. G., BIEBERDORF, F. A., STAUFFER, J. (2010). Relative oral bioavailability of morphine and naltrexone derived from crushed morphine sulfate and naltrexone hydrochloride extended-release capsules versus intact product and versus naltrexone solution: A single-dose, randomized-sequence, open-label, three-way crossover trial in healthy volunteers. *Clinical Therapeutics*, **32(6)**: 1149-1164. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2010.05.011>
- KAMALI, H., KHODAVERDI, E., HADIZADEH, F., MOHAJERI, S. A., NAZARI, A., JAFARIAN, A. H. (2019). Comparison of in-situ forming composite using PLGA-PEG-PLGA with in-situ forming implant using PLGA: In-vitro, ex-vivo, and in-vivo evaluation of naltrexone release. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **50**: 188-200. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.01.011>
- KAMALI, H., KHODAVERDI, E., HADIZADEH, F., YAZDIAN-ROBATI, R., HAGHBIN, A., ZOHURI, G. (2018). An in-situ forming implant formulation of naltrexone with minimum initial burst release using mixture of PLGA copolymers and ethyl heptanoate as an additive: In-vitro, ex-vivo, and in-vivo release evaluation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **47**: 95-105. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.06.027>
- KANG, F., SINGH, J. (2005). In vitro release of insulin and biocompatibility of in situ forming gel systems. *International Journal of Pharmaceutics*, **304(1-2)**: 83-90. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.07.024>
- KAYNAR-ÖZDEMİR, N., AĞABEYOĞLU, I. (1987). Sürekli Etkili Preparatlarda DozTasarımı. *FABAD J. Pharm. Sci*, **12(115)**: 125.
- KEMPE, S., MÄDER, K. (2012). In situ forming implants—An attractive formulation principle for parenteral depot formulations. *Journal of Controlled Release*, **161(2)**: 668-679. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.04.016>
- KERALIYA, R. A., PATEL, C., PATEL, P., KERALIYA, V., SONI, T. G., PATEL, R. C., PATEL, M. M. (2012). Osmotic Drug Delivery System as a Part of Modified Release Dosage Form. *ISRN Pharmaceutics*, **2012**, 1-9. <https://doi.org/10.5402/2012/528079>

- KESCH, C., SCHMITT, V., BIDNUR, S., THI, M., BERALDI, E., MOSKALEV, I., YAGO, V., BOWDEN, M., ADOMAT, H., FAZIL, L., JACKSON, J. K., GLEAVE, M. E. (2020). A polymeric paste-drug formulation for intratumoral treatment of prostate cancer. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, **23**(2): 324-332. <https://doi.org/10.1038/s41391-019-0190-x>
- KHAN, N., DOLLIMORE, D., ALEXANDER, K., WILBURN, F. W. (2001). The origin of the exothermic peak in the thermal decomposition of basic magnesium carbonate. *Thermochemica Acta*, **367**: 321-333.
- KHODAVERDI, E., HADIZADEH, F., TEKIE, F. S. M., JALALI, A., MOHAJERI, S. A., GANJI, F. (2012). Preparation and analysis of a sustained drug delivery system by PLGA-PEG-PLGA triblock copolymers. *Polymer Bulletin*, **69**(4): 429-438. <https://doi.org/10.1007/s00289-012-0747-5>
- KLEINER, L. W., WRIGHT, J. C., WANG, Y. (2014). Evolution of implantable and insertable drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*, **181**: 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.02.006>
- KO, D. Y., SHINDE, U. P., YEON, B., JEONG, B. (2013). Recent progress of in situ formed gels for biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, **38**(3): 672-701. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.08.002>
- KOK, G. B., & SCAMMELLS, P. J. (2012). Improved synthesis of 14-hydroxy opioid pharmaceuticals and intermediates. *RSC advances*, **2**(30): 11318-11325.
- KOLODNY, A., COURTWRIGHT, D. T., HWANG, C. S., KREINER, P., EADIE, J. L., CLARK, T. W., ALEXANDER, G. C. (2015). The Prescription Opioid and Heroin Crisis: A Public Health Approach to an Epidemic of Addiction. *Annual Review of Public Health*, **36**(1): 559-574. <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-031914-122957>
- KRIETER, P., GYAW, S., CHIANG, C. N., CRYSTAL, R., SKOLNICK, P. (2019). Enhanced intranasal absorption of naltrexone by dodecyl maltopyranoside: Implications for the treatment of opioid overdose. *The Journal of Clinical Pharmacology*, **59**(7): 947-957.
- KRUPITSKY, E., BLOKHINA, E., ZVARTAU, E., VERBITSKAYA, E., LIOZNOV, D., YAROSLAVTSEVA, T., PALATKIN, V., VETROVA, M., BUSHARA, N., BURAKOV, A. (2019). Slow-release naltrexone implant versus oral naltrexone for improving treatment outcomes in people with HIV who are addicted to opioids: A double-blind, placebo-controlled, randomised trial. *The Lancet HIV*, **6**(4): e221-e229.
- KRUPITSKY, E. M., BLOKHINA, E. A. (2010). Long-acting depot formulations of naltrexone for heroin dependence: A review. *Current Opinion in Psychiatry*, **23**(3): 210-214. <https://doi.org/10.1097/YCO.0b013e3283386578>
- KUMAR, A., PILLAI, J. (2018). Implantable drug delivery systems. *Nanostructures for the Engineering of Cells, Tissues and Organs* (473-511). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813665-2.00013-2>
- KUNOE, N., LOBMAIER, P., VEDERHUS, J. K., HJERKINN, B., HEGSTAD, S., GOSSOP, M., KRISTENSEN, Ø., WAAL, H. (2009). Naltrexone implants after in-patient treatment for opioid dependence: Randomised controlled trial. *British Journal of Psychiatry*, **194**(6): 541-546. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.108.055319>
- LEE, J. Y., KIM, K. S., KANG, Y. M., KIM, E. S., HWANG, S. J., LEE, H. B., MIN, B. H., KIM, J. H., KIM, M. S. (2010). In vivo efficacy of paclitaxel-loaded injectable in situ-forming gel against subcutaneous tumor growth. *International Journal of Pharmaceutics*, **392**(1-2): 51-56. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.03.033>

- LEIGHTY, A. E., ANSARA, E. D. (2019). Treatment outcomes of long-acting injectable naltrexone versus oral naltrexone in alcohol use disorder in veterans. *Mental Health Clinician*, **9(6)**: 392-396. <https://doi.org/10.9740/mhc.2019.11.392>
- LI, Z., MU, H., WENG LARSEN, S., JENSEN, H., ØSTERGAARD, J. (2021). An in vitro gel-based system for characterizing and predicting the long-term performance of PLGA in situ forming implants. *International Journal of Pharmaceutics*, **609**: 121183. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121183>
- LIU, H., VENKATRAMAN, S. S. (2012). Cosolvent Effects on the Drug Release and Depot Swelling in Injectable In situ Depot-Forming Systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **101(5)**: 1783-1793. <https://doi.org/10.1002/jps.23065>
- LIU, Y., BRUCE SUNDERLAND, V., LIU, Y., GEORGE O'NEIL, A. (2006). In Vitro and In Vivo Release of Naltrexone from Biodegradable Depot Systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **32(1)**: 85-94. <https://doi.org/10.1080/03639040500388466>
- LOBMAIER, P., GOSSOP, M., WAAL, H., BRAMNESS, J. (2010). The pharmacological treatment of opioid addiction—A clinical perspective. *European Journal of Clinical Pharmacology*, **66(6)**: 537-545. <https://doi.org/10.1007/s00228-010-0793-6>
- LOBMAIER, P. P., KUNØE, N., GOSSOP, M., WAAL, H. (2011). Naltrexone Depot Formulations for Opioid and Alcohol Dependence: A Systematic Review: Naltrexone Depot Formulations for Opioid and Alcohol Dependence. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, **17(6)**: 629-636. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00194.x>
- LUK, A. S., JUNNARKAR, G. H., CHEN, G. (2007). *Sustained release small molecule drug formulation* (World Intellectual Property Organization Patent Sy WO2007041410A2). <https://patents.google.com/patent/WO2007041410A2/da%20US4325121.pdf>
- MÄDER, K. (2022). Characterization methodologies for long-acting and implantable drug delivery systems. *Long-Acting Drug Delivery Systems* (319-345). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821749-8.00001-X>
- MADHU, M., SHAILA, L., ANWAR, B. J. (2009). Biodegradable injectable implant systems for sustained delivery using poly (lactide-co-glycolide) copolymers. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **1(1)**: 103-107.
- MAHADLEK, J., TUNTARAWONGSA, S., SENARAT, S., PHAECHAMUD, T. (2022). In situ solvent removal-based Eudragit®L/dimethyl sulfoxide forming gel for periodontal pocket drug delivery. *Materials Today: Proceedings*, **52**: 2394-2399. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.10.248>
- MALATERRE, V., OGORKA, J., LOGGIA, N., GURNY, R. (2009). Approach to design push-pull osmotic pumps. *International Journal of Pharmaceutics*, **376(1)**: 56-62. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.04.015>
- MARTIN DEL VALLE, E. M., GALÁN, M. A., CARBONELL, R. G. (2009). Drug Delivery Technologies: The Way Forward in the New Decade. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **48(5)**: 2475-2486. <https://doi.org/10.1021/ie800886m>
- MATHAES, R., KOULOV, A., JOERG, S., MAHLER, H. C. (2016). Subcutaneous injection volume of biopharmaceuticals—pushing the boundaries. *Journal of pharmaceutical sciences*, **105(8)**: 2255-2259.
- MATSUDA, E., ABE, N., TAMAKAWA, H., KANEKO, J., KAMIO, Y. (2005). Gene cloning and molecular characterization of an extracellular poly (L-lactic acid) depolymerase from *Amycolatopsis* sp. Strain K104-1. *Journal of bacteriology*, **187(21)**: 7333-7340.

- MCKEOWN, P., KAMRAN, M., DAVIDSON, M. G., JONES, M. D., ROMÁN-RAMÍREZ, L. A., WOOD, J. (2020). Organocatalysis for versatile polymer degradation. *Green Chemistry*, **22(12)**: 3721-3726.
- MIRZAEI, S., MOBEDI, H., GOURABI, H., SANATI, M. H., KHEZLI, S., OMIDIAN, H., SADRAI, S. (2020). Release of human growth hormone from an in-situ implant modulated by poly(ethylene glycol) dimethyl ether and tris(hydroxymethyl) aminomethane. *Iranian Polymer Journal*, **29(11)**: 1019-1029. <https://doi.org/10.1007/s13726-020-00857-x>
- MOFFAT, A. C., OSSELTON, M. D., WIDDOP, B., WATTS, J. (2011). *Clarke's analysis of drugs and poisons* (Vol. 3). London: Pharmaceutical press.
- MOHAJERI, S. A., YAGHOUBI, S., ABDOLLAHI, E., TEKIE, F. S. M., KAMALI, H., KHODAVERDI, E., HADÍZADEH, F. (2016). In-vivo study of naltrexone hydrochloride release from an in-situ forming PLGA-PEG-PLGA system in the rabbit. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **36**: 156-160. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2016.10.006>
- MOON, H. J., KO, D. Y., PARK, M. H., JOO, M. K., JEONG, B. (2012). Temperature-responsive compounds as in situ gelling biomedical materials. *Chemical Society Reviews*, **41(14)**: 4860. <https://doi.org/10.1039/c2cs35078e>
- MURRIN, L. C. (2007). Naltrexone.
- NANAKI, S., VIZIRIDOU, A., ZAMBOULIS, A., KOSTOGLIOU, M., PAPAGEORGIOU, G. Z., BIKIARIS, D. N. (2020). New Biodegradable Poly (l-lactide)-Block-Poly (propylene adipate) Copolymer Microparticles for Long-Acting Injectables of Naltrexone Drug. *Polymers*, **12(4)**: 852.
- NANDIYANTO, A. B. D., OKTIANI, R., RAGADHITA, R. (2019). How to read and interpret FTIR spectroscopy of organic material. *Indonesian Journal of Science and Technology*, **4(1)**: 97-118.
- NATIONAL SURVEY ON DRUG USE AND HEALTH (NSDUH), (2018). Erişim adresi: <https://www.samhsa.gov/data/release/2018-national-survey-drug-use-and-health-nsduh-releases> Son erişim tarihi: 24.04.2022
- NGO, H. T. T., ARNOLD-REED, D. E., HANSSON, R. C., TAIT, R. J., HULSE, G. K. (2008). Blood naltrexone levels over time following naltrexone implant. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, **32(1)**: 23-28. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2007.06.007>
- OSWALD, L. M., WAND, G. S. (2004). Opioids and alcoholism. *Physiology & Behavior*, **81(2)**: 339-358. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.02.008>
- PACKHAEUSER, C. B., SCHNIEDERS, J., OSTER, C. G., KISSEL, T. (2004). In situ forming parenteral drug delivery systems: An overview. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **58(2)**: 445-455. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2004.03.003>
- PARENT, M., NOUVEL, C., KOERBER, M., SAPIN, A., MAINCENT, P., BOUDIER, A. (2013). PLGA in situ implants formed by phase inversion: Critical physicochemical parameters to modulate drug release. *Journal of Controlled Release*, **172(1)**: 292-304. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.08.024>
- PARK, K., SKIDMORE, S., HADAR, J., GARNER, J., PARK, H., OTTE, A., SOH, B. K., YOON, G., YU, D., YUN, Y., LEE, B. K., JIANG, X., WANG, Y. (2019). Injectable, long-acting PLGA formulations: Analyzing PLGA and understanding microparticle formation. *Journal of Controlled Release*, **304**: 125-134. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.05.003>
- PHAECHAMUD, T., JANTADEE, T., MAHADLEK, J., CHAROENSUKSAI, P., PICHAYAKORN, W. (2017). Characterization of Antimicrobial Agent Loaded Eudragit RS Solvent Exchange-

- Induced In Situ Forming Gels for Periodontitis Treatment. *AAPS PharmSciTech*, **18(2)**: 494-508. <https://doi.org/10.1208/s12249-016-0534-y>
- PHENOMENEX (A), 2022 Erişim adresi: <https://www.phenomenex.com/application/print/14270> Son erişim tarihi: 21.02.2022
- PHENOMENEX (B), 2022 Erişim adresi: <https://www.phenomenex.com/application/print/23345> Son erişim tarihi: 21.02.2022
- PONS-FAUDO, F. P., BALLERINI, A., SAKAMOTO, J., GRATTONI, A. (2019). Advanced implantable drug delivery technologies: Transforming the clinical landscape of therapeutics for chronic diseases. *Biomedical Microdevices*, **21(2)**: 47. <https://doi.org/10.1007/s10544-019-0389-6>
- POTIWIPUT, S., TAN, H., YUAN, G., LI, S., ZHOU, T., LI, J., JIA, Y., XIONG, D., HU, X., LING, Z., CHEN, Y. (2020). Dual-crosslinked alginate/carboxymethyl chitosan hydrogel containing in situ synthesized calcium phosphate particles for drug delivery application. *Materials Chemistry and Physics*, **241**, 122354. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.122354>
- PUBCHEM, 2022. Erişim Adresi: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/hsdb/6750> Son Erişim Tarihi: 04.03.2022
- PRESCRIBERS' DIGITAL REFERENCE, 2021. Erişim adresi: <https://www.pdr.net/drug-summary/Vivitrol-naltrexone-1199> Son erişim tarihi: 28.01.2022
- QIAN, S., WONG, Y. C., & ZUO, Z. (2014). Development, characterization and application of in situ gel systems for intranasal delivery of tacrine. *International journal of pharmaceutics*, **468(1-2)**: 272-282.
- QIN, Y., YUAN, M., LI, L., LI, W., XUE, J. (2012). Formulation and evaluation of *in situ* forming PLA implant containing tinidazole for the treatment of periodontitis. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, **100B(8)**: 2197-2202. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.32788>
- RAJGOR, N., PATEL, M., BHASKAR, V. H. (2011). Implantable Drug Delivery Systems: An Overview. *Surgical Neurology International*, **2(2)**: 91-95. <https://doi.org/10.4103/0975-8453.86297>
- RASKIN, R. E. (2015). Skin and subcutaneous tissue. *Canine and feline cytology: a color atlas and interpretation guide*, 34-90.
- REHM, J. (2011). *The Risks Associated With Alcohol Use and Alcoholism*. **34(2)**: 9.
- REVIA, 2013. Erişim adresi: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2013/018932s017lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/018932s017lbl.pdf)
- ROBINSON, J. R., ERIKSEN, S. P. (1970). Theoretical approach to sustained-release multiple-dose therapy: Noncumulative attainment of desired blood level. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **59(12)**: 1796-1800. <https://doi.org/10.1002/jps.2600591219>
- ROOZEN, H. G., DE WAART, R., VAN DEN BRINK, W. (2007). Efficacy and tolerability of naltrexone in the treatment of alcohol dependence: Oral versus injectable delivery. *European addiction research*, **13(4)**: 201-206.
- SCHOENHAMMER, K., PETERSEN, H., GUETHLEIN, F., GOEPFERICH, A. (2009). Poly(ethyleneglycol) 500 Dimethylether as Novel Solvent for Injectable In Situ Forming Depots. *Pharmaceutical Research*, **26(12)**: 2568-2577. <https://doi.org/10.1007/s11095-009-9969-0>
- SHARGEL, L., ANDREW, B. C., & WU-PONG, S. (1999). *Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics* (Vol. **264**). Stamford: Appleton & Lange.

- SHARMA, D., ATASSI, F., COOK, S., MARDEN, S., WANG, J., XUE, A., WAGNER, D. J., ZHANG, G., YANG, W. (2021). Experimental design, development and evaluation of extended release subcutaneous thermo-responsive in situ gels for small molecules in drug discovery. *Pharmaceutical Development and Technology*, **26(10)**: 1079-1089. <https://doi.org/10.1080/10837450.2021.1985519>
- SHIADEH, S. N. R., KHODAVERDI, E., MALEKI, M. F., EISVAND, F., NAZARI, A., ZARQI, J., HADÍZADEH, F., KAMALÍ, H. (2022). A sustain-release lipid-liquid crystal containing risperidone based on glycerol monooleate, glycerol dioleate, and glycerol trioleate: In-vitro evaluation and pharmacokinetics in rabbits. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **70**: 103257. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103257>
- SHIVELY, M. L., COONTS, B. A., RENNER, W. D., SOUTHARD, J. L., BENNETT, A. T. (1995). Physico-chemical characterization of a polymeric injectable implant delivery system. *Journal of Controlled Release*, **33(2)**: 237-243. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(94\)00097-E](https://doi.org/10.1016/0168-3659(94)00097-E)
- SINGH, T. R. R., LAVERTY, G., DONNELLY, R. (2018). *Hydrogels: Design, Synthesis and Application in Drug Delivery and Regenerative Medicine*. CRC Press.
- SOLORIO, L., CARLSON, A., ZHOU, H., EXNER, A. A. (2014). Implantable Drug Delivery Systems. *Engineering Polymer Systems for Improved Drug Delivery*, 189-225. John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781118747896.ch7>
- SONI, G., YADAV, K. S. (2014). High encapsulation efficiency of poloxamer-based injectable thermoresponsive hydrogels of etoposide. *Pharmaceutical Development and Technology*, **19(6)**: 651-661. <https://doi.org/10.3109/10837450.2013.819014>
- SRICHAN, T., PHAECHAMUD, T. (2017). Designing Solvent Exchange-Induced In Situ Forming Gel from Aqueous Insoluble Polymers as Matrix Base for Periodontitis Treatment. *AAPS PharmSciTech*, **18(1)**: 194-201. <https://doi.org/10.1208/s12249-016-0507-1>
- STEWART, S., DOMÍNGUEZ-ROBLES, J., DONNELLY, R., LARRAÑETA, E. (2018). Implantable Polymeric Drug Delivery Devices: Classification, Manufacture, Materials, and Clinical Applications. *Polymers*, **10(12)**: 1379. <https://doi.org/10.3390/polym10121379>
- SYED, Y. Y., KEATING, G. M. (2013). Extended-Release Intramuscular Naltrexone(VIVITROL®): A Review of Its Use in the Prevention of Relapse to Opioid Dependence in Detoxified Patients. *CNS Drugs*, **27(10)**: 851-861. <https://doi.org/10.1007/s40263-013-0110-x>
- TALASAZ, A. H. H., GHAHREMANKHANI, A. A., MOGHADAM, S. H., MALEKSHAHI, M. R., ATYABÍ, F., DÍNARVAND, R. (2008). In situ gel forming systems of poloxamer 407 and hydroxypropyl cellulose or hydroxypropyl methyl cellulose mixtures for controlled delivery of vancomycin. *Journal of Applied Polymer Science*. **109(4)**: 2369-2374. <https://doi.org/10.1002/app.28163>
- TAN, L. P., VENKATRAMAN, S. S., SUNG, P. F., WANG, X. T. (2004). Effect of plasticization on heparin release from biodegradable matrices. *International Journal of Pharmaceutics*. **283(1)**: 89-96. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.06.022>
- TANG, Y., SINGH, J. (2008). Controlled delivery of aspirin: Effect of aspirin on polymer degradation and in vitro release from PLGA based phase sensitive systems. *International Journal of Pharmaceutics*. **357(1-2)**: 119-125. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.01.053>
- THAKUR, R. R. S., MCMILLAN, H. L., JONES, D. S. (2014). Solvent induced phase inversion-based in situ forming controlled release drug delivery implants. *Journal of Controlled Release*. **176**: 8-23. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.12.020>
- TOENNES, S. W., KAUERT, G. F., GRÜSSER, S. M., JÄKEL, W., PARTECKE, G. (2004). Determination of naltrexone and 6- $\beta$ -naltrexol in human plasma following implantation of

- naltrexone pellets using gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **35(1)**: 169-176. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2004.01.013>
- UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME. (2018). *World drug report 2018*.
- USACH, I., MARTINEZ, R., FESTINI, T., PERIS, J. E. (2019). Subcutaneous injection of drugs: literature review of factors influencing pain sensation at the injection site. *Advances in therapy*. **36(11)**: 2986-2996.
- USP 31, (2008). NALTREXONE <3069>.
- USP 43, (2020). PRODUCTQUALITY TESTS FOR SPECIFIC PARENTERAL DOSAGE FORMS<6408> Implants.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, 2022. Erişim adresi: <https://www.hhs.gov/opioids/about-the-epidemic/opioid-crisis-statistics/index.html> Son erişim tarihi: 11.04.2022
- UTOMO, E., STEWART, S. A., PICCO, C. J., DOMÍNGUEZ-ROBLES, J., LARRAÑETA, E. (2022). Classification, material types, and design approaches of long-acting and implantable drug delivery systems. *Long-Acting Drug Delivery Systems*. 17-59. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821749-8.00012-4>
- VEILLEUX, J. C., COLVIN, P. J., ANDERSON, J., YORK, C., HEINZ, A. J. (2010). A review of opioid dependence treatment: Pharmacological and psychosocial interventions to treat opioid addiction. *Clinical Psychology Review*. **30(2)**: 155-166. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2009.10.006>
- VENTURA, R., DE LA TORRE, R., SEGURA, J. (1988). Analysis of naltrexone urinary metabolites. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **6(6-8)**: 887-893. [https://doi.org/10.1016/0731-7085\(88\)80106-7](https://doi.org/10.1016/0731-7085(88)80106-7)
- VEREBEY, K., VOLAVKA, J., MULE, S. J., RESNICK, R. B. (1976). Naltrexone: disposition, metabolism, and effects after acute and chronic dosing. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. **20(3)**: 315-328.
- VERMA, R. K., KRISHNA, D. M., GARG, S. (2002). Formulation aspects in the development of osmotically controlled oral drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*. **79(1)**: 7-27. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(01\)00550-8](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(01)00550-8)
- VIVITROL, 2010. Erişim adresi: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2010/021897s015lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/021897s015lbl.pdf)
- VOLKOW, N. D., JONES, E. B., EINSTEIN, E. B., WARGO, E. M. (2019). Prevention and Treatment of Opioid Misuse and Addiction: A Review. *JAMA Psychiatry*. **76(2)**: 208. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2018.3126>
- VREE, T. B., VAN DER VEN ANDRÉ, J. A. M. (1999). Clinical Consequences of the Biphasic Elimination Kinetics for the Diuretic Effect of Furosemide and its Acyl Glucuronide in Humans. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **51(3)**: 239-248. <https://doi.org/10.1211/0022357991772402>
- YAGHOUBNEZHADZANGANEH, G., BURGAZ, E. V. (2019). Forced degradation studies of new formulation containing naltrexone. *EMU Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2(2)**: 75-83.
- YUKSEL, N., BAYKARA, M., SHIRINZADE, H., SUZEN, S. (2011). Investigation of triacetin effect on indomethacin release from poly (methyl methacrylate) microspheres: Evaluation of interactions using FT-IR and NMR spectroscopies. *International journal of pharmaceuticals*. **404(1-2)**: 102-109.

- WALL, M. E., BRINE, D. R., PEREZ-REYES, M. A. R. I. O. (1981). Metabolism and disposition of naltrexone in man after oral and intravenous administration. *Drug Metabolism and Disposition*. **9(4)**: 369-375.
- WANG, J., WANG, B. M., SCHWENDEMAN, S. P. (2002). Characterization of the initial burst release of a model peptide from poly(D,L-lactide-co-glycolide) microspheres. *Journal of Controlled Release*. **82(2)**: 289-307. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00137-2](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00137-2)
- WANG, P., CHU, W., ZHUO, X., ZHANG, Y., GOU, J., REN, T., ..., TANG, X. (2017). Modified PLGA-PEG-PLGA thermosensitive hydrogels with suitable thermosensitivity and properties for use in a drug delivery system. *Journal of materials chemistry B*, **5(8)**: 1551-1565.
- WANG, S.C., CHEN, Y.C., LEE, C.H., CHENG, C.M. (2019). Opioid Addiction, Genetic Susceptibility, and Medical Treatments: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, **20(17)**: 4294. <https://doi.org/10.3390/ijms20174294>
- WANG, X., BURGESS, D. J. (2021). Drug release from in situ forming implants and advances in release testing. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 113912. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113912>
- WILLETTE, R. E., BARNETT, G. (1981). *Narcotic antagonists: naltrexone pharmacology and sustained-release preparations* (No. 28). Department of Health and Human Services, Public Health Service, Alcohol, Drug Abuse, and Mental Health Administration, National Institute on Drug Abuse, Division of Research. 140 - 151
- WORLD DRUG REPORT, (2018). United Nations publication, Sales No. E.18.XI.9.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, (2009). Department of Mental Health, Substance Abuse, World Health Organization, International Narcotics Control Board, United Nations Office on Drugs, & Crime. *Guidelines for the psychosocially assisted pharmacological treatment of opioid dependence*.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, (2017). Draft Notes on the Conduct of Solubility Studies.
- WRIGHT, J. C., BURGESS, D. J. (ED.). (2012). *Long Acting Injections and Implants*. Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0554-2>
- WU, H., LIU, Z., PENG, J., LI, L., LI, N., LI, J., PAN, H. (2011). Design and evaluation of baicalin-containing in situ pH-triggered gelling system for sustained ophthalmic drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. **410(1-2)**: 31-40. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.03.007>
- XIN, C., LIHONG, W., QIUYUAN, L., HONGZHUO, L. (2014). Injectable long-term control-released in situ gels of hydrochloric thiothixene for the treatment of schizophrenia: Preparation, in vitro and in vivo evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*. **469(1)**: 23-30. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.04.044>
- ZHANG, Y., HUO, M., ZHOU, J., ZOU, A., LI, W., YAO, C., & XIE, S. (2010). DDSolver: an add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles. *The AAPS journal*. **12(3)**: 263-271.