



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**POLİETİLEN GLİKOL İLE BAĞLANMIŞ POLİMETAKRİLİK ASİT
P(MAA-g-EG) HİDROJELLERİNDEN HAZIRLANMIŞ İNCELTİLMİŞ
PARTİKÜLLERE KÜÇÜK MOLEKÜL AĞIRLIKLIL İLAÇLARIN
BAĞLANMASI, IN VITRO VE IN VIVO ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ
124048

124048

Uzm. Ecz. OYA SİPAHİGİL

DOKTORA TEZİ

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMANLAR

1. Tez danışmanı: Prof. Dr. Ayla GÜRSOY
2. Tez danışmanı: Prof. Dr. Nicholas A. PEPPAS

İSTANBUL- 2003

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımın her aşamasında yakın ilgisini, yardımlarını, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen danışman hocam *Prof. Dr. Ayla Gürsoy'a*, Purdue Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümünde çalışma fırsatı sağlayan 2. tez danışman hocam *Prof. Dr. Nicholas Peppas'a*, gösterdikleri her türlü yakın ilgi ve yardımlarından dolayı yüksek lisans danışman hocam *Prof. Dr. Betül Dortunç'a* sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Histopatoloji çalışmamda yardımlarından dolayı *Prof. Dr. Fulya Çakalağaoğlu'na*, transmisyon elektron mikroskopundaki yardımlarından dolayı *Prof. Dr. İmer Okar'a*, doku kesitlerinin alınmasında *Biyolog Emine Şalva* ve *Biyolog Naziye Özkan'a* teşekkür ederim.

Çalışmamda kullandığım maddelerin temininde gösterdikleri ilgiden dolayı İlsan İltaş A.Ş., Fako İlaçları, Koçak İlaç ve Deva İlaç'a, ayrıca FTIR analizleri için olanak sağlayan Mustafa Nevzat İlaç Sanayi A.Ş., DSC analizleri için olanak sağlayan Sanovel İlaç Sanayi A.Ş.'ne ve *Dr. Samiye Fıçıcioğlu'na*, DSC analizlerinde bilgilerinden faydalandığım *Doç. Dr. Mehmet Eroğlu'na* teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca manevi desteklerini eksik etmeyen aileme ve çalışma arkadaşlarıma fedakarlıklarından dolayı teşekkürü borç bilirim.

Uzm. Ecz. Oya Sipahigil

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	1
SUMMARY.....	2
GİRİŞ.....	3
I. TEORİK KISIM.....	4
1. HİDROJELLER HAKKINDA GENEL BİLGİLER.....	4
1.1. Hidrojellerin Tanımı ve Yapısı.....	4
1.2. Hidrojellerin Fiziksel, Kimyasal, Toksikolojik ve Histopatolojik Özellikleri..	4
1.2.1. Hidrojellerin Şişme Özelliğini Etkileyen Faktörler.....	4
1.2.2. Şişmenin Dinamiği.....	5
1.2.3. Mekanik Özellikler.....	5
1.2.4. Sitotoksosite ve in vivo toksisite.....	6
1.2.5. Histopatoloji.....	6
1.2.5.1. Hücre ara bağlantıları (tight junctions).....	7
1.3. Çevresel Faktörlere Cevap Veren Hidrojeller.....	11
1.3.1. pH'ya Hassas Hidrojeller.....	11
1.3.2. Sıcaklığa Hassas Hidrojeller.....	13
1.3.3. Diğer Çevresel Faktörlere Hassas Hidrojeller.....	15
1.4. Tıpta Kullanılan Hidrojeller ve Uygulama Alanları.....	18
1.4.1. Peroral İlaç Uygulanması.....	20
1.4.1.1.Oral Kaviteye İlaç Uygulanması.....	20
1.4.1.2.Gastrointestinal Sisteme İlaç Uygulanması.....	22
1.4.2. Rektal Yolla İlaç Uygulanması.....	26
1.4.3. Oküler Yolla İlaç Uygulanması.....	26
1.4.4. Transdermal Yolla İlaç Uygulanması.....	27
1.4.5. Subkutan Yolla İlaç Uygulanması.....	28
1.4.6. Enjeksiyon Yoluyla İlaç Uygulanması.....	29
1.5. Hidrojellerle Yapılan Çeşitli Çalışmalar.....	31
2. P(MAA-g-EG) HİDROJELLERİ.....	38

3. DİLTİAZEM HİDROKLORÜR HAKKINDA GENEL BİLGİLER.....	40
3.1. Diltiazem Hidroklorürün Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri.....	40
3.2. Diltiazem Hidroklorürün Teşhisi.....	41
3.3. Diltiazem Hidroklorürün Miktar Tayini.....	41
3.4. Diltiazem Hidroklorürün Farmakokinetiği.....	41
3.5. Diltiazem Hidroklorürün Farmakolojisi.....	41
3.6. Diltiazem Hidroklorür ile İlgili Farmasötik Teknoloji Aanında Yapılan Çalışmalar.....	42
3.7. Diltiazem Hidroklorürün Türkiye'deki Preparatları.....	43
4. DİKLOFENAK SODYUM HAKKINDA GENEL BİLGİLER.....	44
4.1. Diklofenak sodyumun Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri.....	44
4.2. Diklofenak sodyumun Teşhisi.....	45
4.3. Diklofenak sodyumun Miktar Tayini.....	45
4.4. Diklofenak sodyumun Farmakokinetiği.....	45
4.5. Diklofenak sodyumun Farmakolojisi.....	46
4.6. Diklofenak sodyum ile İlgili Farmasötik Teknoloji Aanında Yapılan Çalışmalar.....	46
4.7. Diklofenak sodyumun Türkiye'deki Preparatları.....	47
5. SİPROFLOKSAZİN HİDROKLORÜR HAKKINDA GENEL BİLGİLER.....	48
5.1. Siprofloksazin hidroklorürün Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri.....	48
5.2. Siprofloksazin hidroklorürün Teşhisi.....	49
5.3. Siprofloksazin hidroklorürün Miktar Tayini.....	49
5.4. Siprofloksazin hidroklorürün Farmakokinetiği.....	49
5.5. Siprofloksazin hidroklorürün Farmakolojisi.....	49
5.6. Siprofloksazin hidroklorür ile İlgili Farmasötik Teknoloji Aanında Yapılan Çalışmalar.....	50
5.7. Siprofloksazin hidroklorürün Türkiye'deki Preparatları.....	52
6. İZONİAZİD HAKKINDA GENEL BİLGİLER.....	54
6.1. İzoniazidin Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri.....	54
6.2. İzoniazidin Teşhisi.....	55
6.3. İzoniazidin Miktar Tayini.....	55
6.4. İzoniazidin Farmakokinetiği.....	55

6.5. İzoniazidin Farmakolojisi.....	55
6.6. İzoniazid ile İlgili Farmasötik Teknoloji Alanında Yapılan Çalışmalar.....	56
6.7.İzoniazidin Türkiye'deki Preparatları.....	56

II. DENEYSEL KISIM.....	57
A. GEREÇ.....	57
1. Kullanılan Maddeler.....	57
2. Kullanılan Aletler.....	58
3. Kullanılan Bilgisayar Programları.....	59
4. Etik Kurul Onayı.....	59
B. YÖNTEMLER.....	60
1. ETKİN MADDELERDE YAPILAN TEŞHİS VE TAYİNLER.....	60
1.1. Diltiazem hidroklorürde Yapılan Teşhis ve Tayinler.....	60
1.1.1. Diltiazem hidroklorürün Infrared Spektrumu.....	60
1.1.2. Diltiazem hidroklorürün Termal Analizi.....	60
1.1.3. Diltiazem hidroklorürün Ultraviole Spektrumu.....	60
1.1.4. Diltiazem hidroklorürün Miktar Tayini için Standart Eğrisi.....	60
1.1.5. Diltiazem hidroklorürün Çözünürlük Tayini.....	61
1.2. Diklofenak sodyumda Yapılan Teşhis ve Tayinler.....	61
1.2.1. Diklofenak sodyumun Infrared Spektrumu.....	61
1.2.2. Diklofenak sodyumun Termal Analizi.....	61
1.2.3. Diklofenak sodyumun Ultraviole Spektrumu.....	62
1.2.4. Diklofenak sodyumun Miktar Tayini için Standart Eğrisi.....	62
1.2.5. Diklofenak sodyumun Çözünürlük Tayini.....	62
1.3. Siprofloksazin hidroklorürde Yapılan Teşhis ve Tayinler.....	62
1.3.1. Siprofloksazin hidroklorürün Infrared Spektrumu.....	63
1.3.2. Siprofloksazin hidroklorürün Termal Analizi.....	63
1.3.3. Siprofloksazin hidroklorürün Ultraviole Spektrumu.....	63
1.3.4. Siprofloksazin hidroklorürün Miktar Tayini için Standart Eğrisi.....	63
1.3.5. Siprofloksazin hidroklorürün Çözünürlük Tayini.....	64

1.4. İzoniazidde Yapılan Teşhis ve Tayinler.....	64
1.4.1. İzoniazidin Infrared Spektrumu.....	64
1.4.2. İzoniazidin Termal Analizi.....	64
1.4.3. İzoniazidin Ultraviyole Spektrumu.....	64
1.4.4. İzoniazidin Miktar Tayini için Standart Eğrisi.....	65
1.4.5. İzoniazidin Çözünürlük Tayini.....	65
2. P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNİN HAZIRLANMASI.....	65
3. P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNDE YAPILAN ANALİZ VE TAYİNLER.....	66
3.1. P(MAA-g-EG) Partiküllerinin Infrared Spektrumu.....	66
3.2. P(MAA-g-EG) Partiküllerinin Termal Analizi.....	66
4. P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNE ETKİN MADDELERİN YÜKLENMESİ VE MİKTAR TAYİNİ.....	67
4.1. P(MAA-g-EG) Partiküllerine Diltiazem hidroklorürün Yüklenmesi ve Miktar Tayini.....	67
4.2. P(MAA-g-EG) Partiküllerine Diklofenak sodyumun Yüklenmesi ve Miktar Tayini.....	67
4.3. P(MAA-g-EG) Partiküllerine Siprofloksazin hidroklorürün Yüklenmesi ve Miktar Tayini.....	68
4.4. P(MAA-g-EG) Partiküllerine İzoniazidin Yüklenmesi ve Miktar Tayini.....	68
5. ETKİN MADDE YÜKLÜ P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNDEN IN VITRO SALIM ÇALIŞMALARI.....	69
5.1. Diltiazem hidroklorür Yüklü P(MAA-g-EG) Partiküllerinden in Vitro İlaç Salım Çalışmaları.....	69
5.2. Diklofenak sodyum Yüklü P(MAA-g-EG) Partiküllerinden in Vitro İlaç Salım Çalışmaları.....	69
5.3. Siprofloksazin hidroklorür Yüklü P(MAA-g-EG) Partiküllerinden in Vitro İlaç Salım Çalışmaları.....	69
5.4. İzoniazid Yüklü P(MAA-g-EG) Partiküllerinden in Vitro İlaç Salım Çalışmaları.....	70

6. P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNDEN ETKİN MADDELERİN SALIM HIZINA AİT KİNETİK PARAMETRELER.....	70
7. ANALİTİK YÖNTEM VALİDASYONU.....	70
7.1. Doğruluk.....	71
7.2. Kesinlik.....	71
7.2.1. Gün içi kesinlik.....	71
7.2.2. Günlerarası kesinlik.....	71
7.3. Tutarlılık.....	71
7.4. Doğrusallık.....	72
7.5. Duyarlılık.....	72
7.6. Seçicilik.....	73
7.7. Stabilité.....	73
8. STABİLİTE ÇALIŞMALARI.....	73
9. HİSTOPATOLOJİK ÇALIŞMALAR.....	74
9.1. Işık Mikroskobu ile Yapılan İncelemeler.....	74
9.2. Elektron Mikroskobu ile Yapılan İncelemeler.....	74

B. BULGULAR

1.1. ETKİN MADDELERDE YAPILAN TEŞHİS VE TAYİNLERE AİT BULGULAR.....	76
1.1. Diltiazem hidroklorürde Yapılan Teşhis ve Tayinlere ait Bulgular.....	76
1.1.1.Diltiazem hidroklorürün Infrared Spektrumuna ait bulgular..	76
1.1.2.Diltiazem hidroklorürün Termal Analizine Ait Bulgular.....	76
1.1.3.Diltiazem hidroklorürün Ultraviole Spektrumuna Ait Bulgular.....	76
1.1.4.Diltiazem hidroklorürün Miktar Tayinine Ait Bulgular.....	79
1.1.5.Diltiazem hidroklorürün Çözünürlük Tayinine Ait Bulgular.	79
1.2. Diklofenak sodyumda Yapılan Teşhis ve Tayinlere ait Bulgular.....	81

1.2.1. Diklofenak sodyumun Infrared Spektrumuna ait bulgular....	81
1.2.2. Diklofenak sodyumun Termal Analizine Ait Bulgular.....	81
1.2.3. Diklofenak sodyumun Ultraviole Spektrumuna Ait Bulgular.....	83
1.2.4. Diklofenak sodyumun Miktar Tayinine Ait Bulgular.....	83
1.2.5. Diklofenak sodyumun Çözünürlük Tayinine Ait Bulgular..	86
1.3. Siprofloksazin hidroklorürde Yapılan Teşhis ve Tayinlere Ait Bulgular.....	86
1.3.1. Siprofloksazin hidroklorürün Infrared Spektrumu Ait Bulgular.....	86
1.3.2. Siprofloksazin hidroklorürün Termal Analizi Ait Bulgular..	86
1.3.3. Siprofloksazin hidroklorürün Ultraviole Spektrumu Ait Bulgular.....	86
1.3.4. Siprofloksazin hidroklorürün Miktar Tayinine Ait Bulgular.....	87
1.3.5. Siprofloksazin hidroklorürün Çözünürlük Tayinine Ait Bulgular.....	87
1.4. İzoniazidde Yapılan Teşhis ve Tayinler Ait Bulgular.....	91
1.4.1. İzoniazidin Infrared Spektrumu Ait Bulgular.....	91
1.4.2. İzoniazidin Termal Analizine Ait Bulgular.....	91
1.4.3. İzoniazidin Ultraviole Spektrumuna Ait Bulgular.....	91
1.4.4. İzoniazidin Miktar Tayinine Ait Bulgular.....	91
1.4.5. İzoniazidin Çözünürlük Tayinine Ait Bulgular.....	95
2. P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNDE YAPILAN ANALİZ VE TAYİNLERE AİT BULGULAR.....	95
2.1.P(MAA-g-EG) Partiküllerinin Infrared Spektrumuna Ait Bulgular.....	95
2.2.P(MAA-g-EG) Partiküllerinin Termal Analizine Ait Bulgular....	96
3.P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNDEN ETKİN MADDELERİN MİKTAR TAYİNİNE AİT BULGULAR.....	96
3.1.P(MAA-g-EG) Partiküllerinden Diltiazem hidroklorürün Miktar Tayinine Ait Bulgular.....	96

3.2.P(MAA-g-EG) Partiküllerinden Diklofenak sodyumun Miktar Tayinine Ait Bulgular.....	96
3.3.P(MAA-g-EG) Partiküllerinden Siprofloksazin hidroklorürün Miktar Tayinine Ait Bulgular.....	96
3.4.P(MAA-g-EG) Partiküllerinden İzoniazidin Miktar Tayinine Ait Bulgular.....	98
4.ETKİN MADDE YÜKLÜ P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNDEN IN VITRO SALIM ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR.....	98
4.1. Diltiazem hidroklorür Yüklü P(MAA-g-EG) Partiküllerinden in Vitro İlaç Salım Çalışmalarına Ait Bulgular.....	98
4.2.Diklofenak sodyum Yüklü P(MAA-g-EG) Partiküllerinden in Vitro İlaç Salım Çalışmalarına Ait Bulgular.....	99
4.3.Siprofloksazin hidroklorür Yüklü P(MAA-g-EG) Partiküllerinden in Vitro İlaç Salım Çalışmalarına Ait Bulgular.....	99
4.4.İzoniazid Yüklü P(MAA-g-EG) Partiküllerinden in Vitro İlaç Salım Çalışmalarına Ait Bulgular.....	99
5. P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNDEN ETKİN MADDELERİN SALIM HIZINA AİT KİNETİK PARAMETRELER.....	101
6.ANALİTİK YÖNTEM VALİDASYONUNA AİT BULGULAR.....	102
6.1.Doğruluk.....	102
6.1.1. Diltiazem hidroklorür için Doğruluk.....	102
6.1.2. Diklofenak sodyum için Doğruluk.....	103
6.1.3. Siprofloksazin hidroklorür için Doğruluk.....	104
6.1.4. İzoniazid için Doğruluk.....	106
6.2.Kesinlik.....	107
6.2.1. Diltiazem hidroklorür için kesinlik.....	107
6.2.2. Diklofenak sodyum için kesinlik.....	108
6.2.3. Siprofloksazin hidroklorür için kesinlik.....	110
6.2.4. İzoniazid için kesinlik.....	111
6.3.Doğrusallık.....	112
6.3.1. Diltiazem hidroklorür için doğrusallık.....	112
6.3.2. Diklofenak sodyum için doğrusallık.....	113

6.3.3. Sipprofloksazin hidroklorür için doğrusallık.....	113
6.3.4. İzoniazid için doğrusallık.....	114
6.4.Duyarlılık.....	115
6.5.Seçicilik.....	116
6.6.Stabilite.....	117
7. STABİLİTE ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR.....	119
7.1. Diltiazem hidroklorürün Stabilite Çalışmalarına Ait Bulgular...	119
7.2.Diklofenak sodyumun Stabilite Çalışmalarına Ait Bulgular.....	121
7.3.Sipprofloksazin hidroklorürün Stabilite Çalışmalarına Ait Bulgular.....	123
7.4.İzoniazidin Stabilite Çalışmalarına Ait Bulgular.....	125
7.5. Etkin Madde Yüklü P(MAA-g-EG)'ün Stabilite Çalışmalarına Ait Bulgular.....	128
8.HİSTOPATOLOJİ ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR.....	133
8.1.Işık Mikroskobu ile Yapılan İncelemelere Ait Bulgular.....	133
8.2.Elektron Mikroskobu ile Yapılan İncelemelere Ait Bulgular.....	138
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	143
REFERANSLAR.....	154
ÖZGEÇMİŞİM.....	168

ÖZET

POLİETİLEN GLİKOL İLE BAĞLANMIŞ POLİMETAKRİLİK AİT P(MAA-g-EG) HİDROJELLERİNDEN HAZIRLANMIŞ İNCELTİLMİŞ PARTİKÜLLERE KÜÇÜK MOLEKÜL AĞIRLIKLİ İLAÇLARIN BAĞLANMASI, IN VITRO VE IN VIVO ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Poli(metakrilik asit-g-etilen glükol) partikülleri serbest radikal çözelti polimerizasyonu ile hazırlandı. Farklı iyonik özelliğe sahip dört adet küçük molekül ağırlıklı etkin madde (diltiazem HCl, diklofenak Na, siprofloksazin HCl, izoniazid) ayrı ayrı partiküllere yüklendikten sonra partiküllerin in vitro ve in vivo özellikleri değerlendirildi.

Etkin maddelerin partiküllerdeki % tutulma oranları, partiküllerden pH 7.4 ve kademeli pH değerlerinde (pH 1.2, 5.8, 6.8, 7.4) salım özellikleri incelendi. İzoniazid, diltiazem HCl, diklofenak Na ve siprofloksazin HCl sırasıyla P(MAA-g-EG) partiküllerinde % 52.27 ± 1.51 , % 44.72 ± 4.27 , % 23.23 ± 2.80 , % 13.40 ± 1.39 oranlarında tutulmuştur. pH 7.4 fosfat tamponunda yapılan in vitro kontrollü salım çalışmaları 10 saat sonunda, diltiazem HCl'ün % 69.47 ± 1.00 'i, diklofenak Na'un % 66.74 ± 3.11 'i, siprofloksazin HCl'ün % 85.77 ± 7.64 'ü, izoniazid'in ise % 82.27 ± 2.40 'ı P(MAA-g-EG) partiküllerinden açığa çıkmıştır. Ayrıca saf ilaçlar, saf partikül ve ilaç yüklü partiküllerin hızlandırılmış stabilite koşullarındaki ($40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ve % 75 ± 5 RH) stabiliteleri araştırıldı. Stabilitenin önce ve sonrasına ait FTIR ve DSC analizleri yapıldı.

Saf ilaçlar, saf partikül ve ilaç yüklü partiküller oral yoldan sonda yardımıyla Wistar sıçanlarına verildikten 2, 10 ve 20 saat sonra gastrointestinal sistemde doku hasarının olup olmadığının belirlenmesi amacıyla ışık mikroskobu ile histopatolojik olarak değerlendirilmesi yapıldı. Ayrıca transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak sıçan barsak epitel hücrelerindeki ara bağlantılarına olan etkileri morfolojik olarak araştırıldı.

SUMMARY

IN VITRO AND IN VIVO EVALUATION OF SMALL MOLECULAR WEIGHT DRUG LOADED CRUSHED PARTICLES PREPARED FROM POLY(METHACRYLIC ACID) GRAFTED WITH POLY(ETHYLENE GLYCOL)

Particles of poly(methacrylic acid-g-ethylene glycol) were prepared by free-radical solution polymerization. Four small molecular weight drugs with different ionic properties (diltiazem HCl, diclofenac Na, ciprofloxacin HCl and isoniasid) were loaded into particles separately and their in vitro and in vivo behaviour were evaluated.

The incorporation efficiency % of the drugs in particles and their in vitro release profiles in pH 7.4 and in gradual pH (pH 1.2, 5.8, 6.8, 7.4) were studied. The incorporation efficiency of diltiazem HCl, diclofenac Na, ciprofloxacin HCl and isoniasid were found 52.27 ± 1.51 %, 44.72 ± 4.27 %, 23.23 ± 2.80 %, 13.40 ± 1.39 % respectively. 69.47 ± 1.00 % of diltiazem HCl, 66.74 ± 3.11 % of diclofenac Na, 85.77 ± 7.64 % of ciprofloxacin HCl and 82.27 ± 2.40 % of isoniasid were released from P(MAA-g-EG) particles at the end of 10 hours in pH 7.4. In addition, pure drugs, pure particles and drug loaded particles were investigated for their stability in accelerated stability conditions ($40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ ve $75\% \pm 5\%$ RH). FTIR and DSC analysis were performed before and after the stability studies.

Free particles, drug loaded particles and each drug were orally administered to Wistar rats with a gavage and histopathological examinations were made with a light microscope in order to investigate any cell or tissue damage in gastrointestinal tract. In addition, the effects of these materials on the tight junctions of the rat intestinal epithelium were investigated using transmission electron microscopy (TEM).

GİRİŞ

pH'ya hassas özellik gösteren poli (metakrilik asit-g-etilen glikol) [P(MAA-g-EG)] partikülleri peptit ve proteinlerin oral yoldan uygulanması açısından uygun adaylardır. Sistem mideden barsağa doğru ilerlerken pH artışı sebebiyle hidrojelin ağ yapısında değişiklik meydana gelerek taşıdığı protein açığa çıkmaktadır (84). Bu partiküllerin diğer bir önemli özelliği de yapılarında bulunan karboksil grubu ile kalsiyuma bağlanarak hücre ara bağlantılarının açılmasına ve salınan ilacın hücreler arasından kolayca geçişine sebep olmasıdır (21).

Bu tez çalışmasında, [P(MAA-g-EG)] partikülleri pH 7.4'te (yükleme ortamının pH'sı) anyonik özellik gösterdiğinden dolayı farklı iyonik özelliklere sahip küçük molekül ağırlıklı ilaçlar (katyonik özellikte diltiazem HCl, anyonik özellikte diklofenak Na, nötr siprofloksazin HCl ve katyonik özellik gösteren izoniazid) seçilmiş ve partiküllere ayrı ayrı yüklenmiştir. İlaç yüklü partiküllerin in vitro ve in vivo davranışları değerlendirilmiştir.

TEORİK KISIM

1. HİDROJELLER HAKKINDA GENEL BİLGİLER

1.1. Hidrojellerin Tanımı ve Yapısı

Hidrojeller hidrofilik, üç boyutlu ağ yapısında ve yüksek miktarlarda su veya biyolojik sıvı emme kapasitesine sahip polimerlerdir. Bu özelliklerinden dolayı büyük çapta biyolojik dokuya benzemektedirler (1-5). Yapılarındaki kimyasal veya fiziksel çapraz bağlardan dolayı çözünmeme özelliği gösterirler.

Hidrojeller yapılarındaki gruba göre nötral, anyonik ve katyonik olmak üzere üçe ayrılırlar. Anyonik hidrojellerde ağ yapısının pK_a değerinin üstündeki pH değerlerinde yapıdaki asılı gruplar iyonize olmakta ve hidrojel ozmotik şişme kuvvetinin etkisi ile şişme özelliği göstermektedir. Katyonik hidrojellerde ise ağ yapısının pK_a değerinin altındaki pH değerlerinde yapıdaki asılı gruplar iyonize olarak hidrojinin şişme özelliği göstermesine sebep olmaktadır.

Hidrojeller, ağ yapısının morfolojisine göre amorf, yarı kristalin, hidrojen bağlı yapılar, süper moleküler yapılar ve hidrokolloidal agregatlar olarak ayrıca ağ yapılarının özelliğine göre makroporlu, mikroporlu ve porsuz olmak üzere sınıflandırılırlar (3).

1.2. Hidrojellerin Fiziksel, Kimyasal, Toksikolojik ve Histopatolojik Özellikleri

1.2.1. Hidrojellerin Şişme Özelliğini Etkileyen Faktörler

Çapraz bağlama oranı hidrojellerin şişme özelliğini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Çapraz bağlama oranı, çapraz bağlama ajanının mol sayısının

polimerin tekrarlayan ünitelerinin mol sayısına oranıdır. Hidrojelin yapısına ilave edilen çapraz bağlama ajanı miktarı artırıldıkça çapraz bağlama oranı artmaktadır. Yüksek oranda çapraz bağlı hidrojenlerin daha düşük çapraz bağ oranına sahip hidrojenlere göre daha sıkı bir yapısı vardır ve daha az şişme özelliği gösterir. Çapraz bağlama polimer zincirinin hareketliliğini engelleyerek şişme oranının azalmasına sebep olur (1).

Polimerin kimyasal yapısı da hidrojenlerin şişme oranını etkilemektedir. Hidrofilik grup içeren hidrojenler hidrofobik grup içerenlere göre daha yüksek oranlarda şişme özelliği gösterirler. Hidrofobik grupların suyun varlığında kompleks bir yapıya dönüşmeleri ile su molekülüne maruz kalmaları minimum seviyeye düşer. Bunun sonucunda hidrofobik grup içeren hidrojenler hidrofilik grup içerenlere göre çok düşük oranlarda şişme özelliği göstermektedirler (1).

1.2.2. Şişmenin Dinamiği

Hidrojenlerin şişme kinetiği difüzyon kontrollü (Fickian) ve gevşeme kontrollü (non-Fickian) şişme olarak sınıflandırılmaktadır. Polimer zincirlerinin gevşemesinden daha hızlı olarak su hidrojele difüze olduğu durumlarda şişme kinetiği difüzyon kontrollü olmaktadır. Şişmenin dinamiğini ifade eden bir matematik analizi Peppas ve Colombo tarafından verilmiştir (7).

1.2.3.Mekanik Özellikler

Farmasötik uygulamalar açısından hidrojenlerin mekanik özellikleri çok önemlidir. Sistem biyolojik olarak parçalanabilen bir sistem olmadığı sürece uygulamanın süresi boyunca ilaç taşıyan sistemin bütünlüğünü koruması FDA onayını alma açısından çok önemlidir. Protein gibi hassas bir terapötik ajanı korumak amacıyla geliştirilen ilaç taşıyıcı bir sistem, sistemden proteini açığa çıkarana kadar bütünlüğünü korumalıdır.

Hidrojele istenilen mekanik özelliği vermek amacıyla çapraz bağlama derecelerinde değişiklik yapılmaktadır. Sistemin çapraz bağlama derecesinin artırılması ile daha güçlü hidrojeller elde edilir fakat aynı zamanda yapının daha kırılgan olmasına sebep olur. Güçlü ve elastik hidrojeller elde etmek için optimum bir çapraz bağlama derecesi vardır. Hidrojele istenilen mekanik özellikleri vermek amacıyla ayrıca kopolimerizasyon da yapılmaktadır. Hidrojen bağlarını artıracak bir komonomer ilavesi hidrojinin gücünü artıracaktır (1).

1.2.4. Sitotoksikite ve in-vivo toksisite

Sitotoksikite testleri olarak da bilinen hücre kültür metodları hidrojellerin toksisitesini değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır. Öz difüzyonu, direkt temas ve agar difüzyonu hidrojellerin toksisitesini değerlendirmek amacıyla sıklıkla kullanılan yöntemlerdir. Hidrojellerde görülen toksisite problemleri uygulama sırasında açığa çıkan reaksiyona girmemiş monomerler, oligomerler ve başlatıcı maddelerden kaynaklanmaktadır. Bu sebepten dolayı hidrojellerin temel yapısını oluşturan monomerlerin toksisitesinin bilinmesi çok önemlidir. Toksikite problemini gidermek amacıyla çeşitli çözümler geliştirilmiştir. Yüksek dönüşüm elde etmek amacıyla polimerizasyon kinetiğinin modifikasyonu ve elde edilen hidrojin aşırı yıkanması toksisite problemini gidermek amacıyla geliştirilen çözümlerdendir (1). Ayrıca başlatıcı kullanmadan γ -radyasyon yöntemi ile hidrojellerin hazırlanması da toksisite problemlerinin giderilmesi için bir yol olabilmektedir (8, 9).

1.2.5. Histopatoloji

Sitotoksikite çalışmalarının dışında hidrojin histopatolojik özellikleri de değerlendirilmiştir. γ -radyasyon ile elde edilen poli[N-(2-hidroksi etil)-DL-aspartamid] (PHEA) oral yoldan sıçanlara verilmiş, 24 saat sonra mide ve duodenumlarında büyük ölçüde bir lezyon olmadığı belirlenmiştir (10).

Deneysel olarak kolonik enflamasyon oluşturulmuş sıçanlara oral yoldan enflamatuar barsak hastalığında kullanılan budesonid (BDS) yüklü Eudragit S

mikropartikülleri verilmiştir. Sonuç olarak mukoza ve submukozada yüksek sayıda nötrofiller tespit edilmiştir (11).

Bioaktif moleküllerin uzun süreli ve kontrollü salımını sağlamak amacıyla gluteralehit ile çapraz bağlı α,β -poliasparthidrazid'in (PAHy) yeni mikromatriksleri hazırlanmıştır. Hazırlanan yeni sistem taramalı elektron mikroskopisi ve X-ray ile analiz edilerek yapısı aydınlatılmaya çalışılmıştır. Ayrıca sıçanlara oral yoldan ve subkutan implantasyon yolu ile verilerek biyolojik olarak geçimlilikleri incelenmiştir. Sonuç olarak bu sistemin sulu ortamlarda önemli derecede şişme özelliği göstermekte olduğu ayrıca yapılan histolojik analizler sonucunda PAHy hidrojellerinin inert olmasından dolayı oral ve implantasyon yolu ile kullanılabilecekleri belirtilmiştir (12).

1.2.5.1. Hücre Ara Bağlantıları (tight junctions)

Hücre ara bağlantıları bitişik epitel hücrelerinin yan yüzeylerini çevreleyen dar kemerlerdir ve bu bağlantılar çeşitli proteinlerden oluşmuştur. Barsak hücre ara bağlantıları oldukça dinamik bölgeler olup, hücre içi ve hücre dışından gelen çeşitli uyarılarla permeabiliteleri değişmektedir. Ca^{++} , protein kinaz C, G proteinleri, fosfolipaz A₂ ve C gibi çeşitli moleküller hücre ara bağlantılarının fonksiyonlarının ayarlanmasına yarayan çeşitli uyarıcı moleküllerdir. Ayrıca bakteri toksinleri, sitokinler, hormonlar ve çeşitli ilaçlar permeabilitesini değiştirebilmektedir (13).

Hücre ara bağlantıları barsak mukozası, renal tübüllerin duvarları ve koroid pleksusda bulunan epitel hücrelerinin apikal kısımlarını çevrelemektedirler. Bu kemerler hücreler arasındaki boşluğu hemen hemen ortadan kaldıracak şekilde bağlantı kısımlarına sıkıca bağlanmışlardır (14). Hücre ara bağlantıları epitelde iki önemli göreve sahiptir. Bunlardan bir tanesi epitel tabakaların hücreleri arasındaki yonlar da dahil olmak üzere moleküllerin geçişine engel olmaları, ikincisi ise lipidlerin ve plazma proteinlerinin serbest difüzyonuna engel olarak plazma proteinin apikal ve bazolateral kısımlarını ayırmalarıdır (15). Böylelikle makromoleküllerin ve polar bileşiklerin hücrelerin arasından veya etrafından

geçişinde (paraselular geçiş) önemli bir engel teşkil etmektedirler. Hücre ara bağlantılarının yapısı ve permeabilitesi siklik AMP (cAMP), hücre içi kalsiyum konsantrasyonu ve geçici mukoza ozmotik yükü gibi çeşitli fizyolojik faktörlerle değişmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalar sonucunda penetrasyon artırıcı maddelerin olası mekanizmalarından birinin epitel membranlarda bulunan hücre ara bağlantılarının genişlemesi olduğu belirtilmiştir (16).

Epitel hücrelerinin arasındaki hücre bağlantılarında ve mukus yapısında çapraz bağlama ajanı olarak kalsiyum iyonlarının önemli bir görevi vardır. Epitel yüzeyinde bulunan kalsiyum ile kompleks oluşturularak barsak hücrelerinden endojen kalsiyumun uzaklaştırılması sonucunda hücre ara bağlantıları genişleyerek açılmaktadır. Bu etkileşim membran bütünlüğünde değişikliğe ve paraselular absorpsiyonun artmasına sebep olmaktadır.

Yapılan çeşitli çalışmalar sonucunda EGTA (etilen glikol tetraasetik asit), EDTA (etilen diamin tetraasetat), poli (akrilik asit) mikropartikülleri ve P(MAA-g-EG) partikülleri gibi çeşitli kalsiyum bağlama özelliğine sahip ajanların hücre ara bağlantılarını açma özelliğine sahip olduğu belirtilmiştir (17-21).

İnsan kolorektal karsinomasından elde edilen Caco-2 hücreleri, barsak epitelinden geçişte hücre ara bağlantılarının açık veya kapalı durumda olmasının değişik lipid özelliğe sahip ilaçların pasif difüzyonuna olan etkisini araştırmak amacıyla model olarak kullanılmıştır. EGTA yardımıyla hücre dışındaki kalsiyum iyonları bağlanmış ve hücre ara bağlantıları açılmıştır. β -blokör ajanlarının model ilaç olarak kullanıldığı bu çalışmada paraselular yolun hidrofilik ilaçların transportunda etkili olduğu, ancak transelular yoldan geçiş özelliğine sahip lipofilik ilaçlar için ise sınırlı derecede etkili veya hiç öneminin olmadığı belirtilmiştir (17).

Hücre dışı kalsiyum ve magnezyumun EDTA ile bağlanma işleminin epitel hücrelerinin apikal, bazolateral veya her iki bölgesine de uygulanmasının etkilerini araştırmak amacıyla Caco-2 hücreleri ve hidrofilik model bileşik olarak dekstran kullanılmıştır. Sonuç olarak EDTA hücre yüzeyinin bazolateral kısmına uygulandığı

durumlarda en fazla etkili olduğu belirlenmiş, apikal bölgeye uygulanması durumunda ise hemen hemen hiç etkili olmadığı görülmüştür (18).

EDTA, sodyum kaprat ve karnitin Caco-2 hücrelerinde absorpsiyon artırma mekanizmaları araştırılmıştır. Sonuç olarak EDTA hücre dışı kalsiyum ile bağlanarak paraselüler yolda genişlemeye sebep olduğu, sodyum kaprat aktin mikofilamentinin kontraksiyonu ile karnitin ise hücre içi kalsiyum seviyesinin artmasına sebep olacak şekilde apikal membran ile etkileşime girerek paraselüler absorpsiyonu artırdıkları belirtilmiştir (19).

Poli (akrilik asit) mikropartiküllerinin (PA-MP) konfokal lazer taramalı mikroskopu kullanılarak Caco-2 hücrelerindeki transport yollarını ve barier fonksiyonlarını ne şekilde etkilediği araştırılmıştır. Partiküller, hücreler arası boşlukları genişleterek, buna bağlı olarak transepitel elektrik rezistansını azaltarak hücre ara bağlantılarını etkilemektedirler. Inkübasyon ortamına PA-MP'nin ilavesinden sonra polimer kalsiyum iyonları ile bağlanarak hücre dışındaki serbest kalsiyum konsantrasyonunu azaltmaktadır (20).

P(MAA-g-EG) partikülleri yapılarında bulunan karboksil grubu ile kalsiyuma bağlanarak hücre ara bağlantılarının açılmasına sebep olmakta ve böylelikle ilaçların absorpsiyonunu artırmaktadır. Bu konu ile ilgili in vitro ve Caco-2 hücrelerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır (21, 22, 25).

Attenuated total reflectance fourier transform infrared spektroskopisi (ATR-FTIR) ile yapılan inceleme sonucunda P(MAA-g-EG)'ün iyonizasyonuna bağlı olarak pH 5.0 ve pH 6.5'te alınan spektrumlarında kalsiyum ile bağlanmayı kanıtlayacak şekilde karboksilik asitin tuzuna ait pik görülmüştür (25). Ayrıca P(MAA-g-EG) hidrojelleri kalsiyum klorür çözeltisine ilave edilerek 2 saat boyunca 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Polimere bağlı kalsiyumun miktarı başlangıçtaki toplam kalsiyum miktarından serbest kalsiyum miktarını çıkartarak bulunmuş ve ölçümler atomik absorpsiyon spektrometrisi ile yapılmıştır. Metakrilik asit/etilen glikol oranının yükseldikçe kalsiyuma bağlanma oranının arttığı belirlenmiştir (22).

P(MAA-g-EG) nanokürelerinin epitel hücrelerine olan fizikokimyasal davranışları ve sitotoksik etkileri Caco-2 hücreleri kullanılarak incelenmiştir. Kolorimetrik hücre proliferasyon miktar tayini ve canlı hücre sayma yöntemi ile yapılan sitotoksikite deneyleri sonucunda P(MAA-g-EG) nanokürelerinin düşük sitotoksik etki gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca epitel hücreleri ile nanokürelerin direkt temasta bulunması sonucunda yapılan transepitel elektriksel rezistans ölçümleri hücre bütünlüğünde değişiklikler olduğunu belirlemiştir. Bu hidrojellerin kalsiyum ile bağlanma kapasiteleri hücre ara bağlantılarını açmalarına ve paraselüler yoldan geçiş yapan moleküllerin transportunu artırmalarına sebep olmaktadır (21).

Kalsiyuma bağlanarak hücre dışı kalsiyum konsantrasyonunda azalma meydana gelmesi dışında daha farklı mekanizmalarla da hücre ara bağlantıları açılarak paraselüler geçişin artması sağlanmaktadır. Rasgele metillendirilmiş β -siklodekstrinler, katyonik kitozan ve kitozan türevleri gibi çeşitli makromoleküler penetrasyon artırıcı ajanlar ile çalışılmıştır (16, 23, 24). Sıçanlara nazal yoldan rasgele metillendirilmiş β -siklodekstrinler uygulanmış ve konfokal lazer taramalı mikroskop (CLSM) ile nazal epitel hücre iskeletindeki değişiklikler belirlenmiştir. Ayrıca taramalı elektron mikroskobu (TEM) ile sıçan nazal epitelindeki hücre ara bağlantıları incelenmiştir. Sonuç olarak rasgele metillendirilmiş β -siklodekstrinlerin nazal epitel hücre iskeletinde değişiklikler meydana getirmediği fakat etki mekanizması kesin olmamakla beraber geçici olarak mukozal permeabilitede değişiklikler meydana getirerek hücre ara bağlantılarını açtığı belirtilmiştir (23). Kitozan ve kitozan türevlerinin hücre ara bağlantılarını açma mekanizmaları tam olarak bilinmemekle beraber katyonik özelliklerinden dolayı epitel hücrelerin yüzeyindeki glikoproteinlerin anyonik bileşikleri (sialik asit) ile etkileşerek hücre ara bağlantılarını açtıkları belirtilmiştir (16, 24).

Mekanizması bilinmemekle beraber, sodyum dodesil sülfat gibi çeşitli yüzey etkin maddelerin de hücre ara bağlantılarını açarak ilaçların ve peptit yapılı

maddelerin insan barsak epitelinden geçişinde absorpsiyonlarını artırdığı belirtilmiştir (26).

1.3. ÇEVRESEL FAKTÖRLERE CEVAP VEREN HİDROJELLER

1.3.1 pH'ya Hassas Hidrojeller

pH'ya bağımlı olarak şişme gösteren hidrojeller iyonik ağ yapılarının özelliğinden dolayı şişme gösterirler. Bu ağ yapılar asit veya baz özellikte asılı grup içerirler.

Reaksiyon başlatıcı olarak azobisisobutironitril ve çapraz bağlayıcı olarak N'-N''-metilenbisakrilamit kullanılarak poli [NVP-AA]-PEG hidrojelleri serbest radikal polimerizasyonu ile sentezlenmiştir. Sentezlenen hidrojeller FTIR (fourier transform infrared infrared), TGA (thermal gravimetric analysis), DSC (differansial scanning calorimetry) ve OPM (optical microscopy) ile incelenmiştir. Biyolojik olarak geçimli ve biyolojik ortamda parçalanabilen, pH'ya hassas poli [NVP-AA]-PEG hidrojelleri ile yapılan şişme ölçümleri sonucunda bu hidrojellerin ortam pH değeri arttıkça şişme özelliklerinde artış görülmüştür. Suni mide vasatında yapılan in vitro salım çalışması sonucunda kanser tedavisinde kullanılan 5-flourourasil yüklü poli [NVP-AA]-PEG hidrojellerinden başlangıçta ilacın % 43'ü ani olarak 2 saatte ve daha sonra salım yavaşlayarak ilacın yaklaşık % 65'inin ise 4 günde salım yaptığı görülmüştür. Yüksek miktarlarda şişme özelliğine sahip poli [NVP-AA]-PEG hidrojelleri mide boşalmasını engelleyecek şekilde şişerek midede lokalize ilaç uygulanması için gelecek vaatetmektedir (27).

Mide ortamında antibiyotik salımı için pH'ya hassas kitozan/polivinil prolidon (PVP) polimeri geliştirilmiştir. Hidrojeller yarı geçirgen bir ağ oluşturacak şekilde kitozan ve PVP'nin gluteraldehit ile çapraz bağlanması sonucunda sentezlenmiştir. Hidrojelin yüzey özellikleri, ıslanabilirliği, pH'ya bağlı olarak şişme özellikleri incelenmiştir. Amoksisilin yüklü hidrojeller dondurarak kurutulduktan sonra pH 1.0'de 3 saatin sonunda amoksisilinin % 73'ünün salındığı belirlenmiştir. Sonuç

olarak dondurarak kurutulmuş bu hidrojel asit ortamda antibiyotik salımı için etkili adaylar olduğu belirtilmiştir (28).

Poliakrilik asit (PAA): poli(etilen oksit)'den oluşan polimer ağı (IPN) pH'ya hassas hidrojel olarak kullanılmıştır. Kompleksin stabilitesi PAA'e ait karboksil gruplarının iyonize olmasından dolayı yüksek pH değerlerinde azalmaktadır. Böylelikle çözeltinin pH değerinin azalması ve artması sonucunda IPN'de geri dönüşebilir şişme ve büzüşme olmaktadır. IPN kontrollü boyut aralıklarındaki granüllerden oluşmaktadır ve bu granüller geniş fizikokimyasal özelliklere sahip salisilamit (SAM), nikotinamit (NAM), prednizolon (PDN), klonidin HCl (CHC) ile yüklenmiştir. İlaç tipi, granüllerdeki ilaç yükü, granül boyut aralığı ve çözünme ortamının ilaç salımı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Suni mide vasatında PAA noniyonize durumda olmasından dolayı matriksin şişme derecesi çok düşüktür. Bu durumda ilaç ani bir salım göstermekte daha sonra ise salımda hızlı bir düşüş olmaktadır. Mide vasatı barsak vasatı ile değiştirildiği zaman PAA iyonize olmaktadır ve matriksin şişme derecesi hızlanarak salım hızı ikinci bir maksimuma ulaşmaktadır. SAM, NAM ve PDN'nin salım hızları genel olarak birbirine benzemekte fakat katyonik özellikte olan CHC iyonize olan PAA ile belirgin bir etkileşme göstererek barsak vasatındaki salımı sınırlandırılmıştır (29).

Nikotinamit (NAM) ve pH'ya hassas hidrojel olan polikarbofil (PCP) içeren silikon mikrokürelerinin pH kontrollü olarak ilaç salım mekanizmaları değerlendirilmiştir. Osmotik olarak aktif partiküller halinde NAM ile yüklenmiş PCP silikon mikrokürelerde dispers edilmiştir. Osmotik olarak aktif partiküller küçük boyutlarından dolayı silikon polimeri kırma yetenekleri sınırlı olmakta ve şişme sonucunda bağlanma meydana gelmektedir. Bunun sonucunda ise hidrojin pH hassasiyeti ilacın açığa çıkmasında önemli olmamaktadır. Sonuç olarak pH'ya bağımlı salım özelliği için daha büyük boyutlarda dispers edilmiş hidrojel partiküllere ihtiyaç olduğu belirtilmiştir (30).

1.3.2. Sıcaklığa Hassas Hidrojeller

Sıcaklığa hassas hidrojeller ortam sıvısının sıcaklığını değiştirerek şişme veya büzülme özelliği gösterirler.

Poly(N-izopropil-akrilamit) polimeri (PNIPAAm) 32°C'nin altındaki sıcaklıklarda suda çözünmekte ve sıcaklık 32°C'nin üstünde iken çökmektedir. Bu çökme sıcaklığına düşük kritik çökme sıcaklığı (LCST) denilmektedir. Eğer NIPAAm monomeri akrilamit gibi hidrofilik bir monomer ile kopolimerizasyonu yapılırsa LCST artmakta ve hatta kaybolabilmektedir. Eğer NIPAAm monomeri n-butil akrilamit gibi daha hidrofobik bir monomer ile kopolimerize edilirse LCST azalmaktadır. Ayrıca bu polimere bölgeye spesifik olacak şekilde protein konjugasyonu yapılmaktadır. Sıcaklığın artırılmasıyla meydana gelen çökme sonucunda PNIPAAm-protein biokonjugatından protein açığa çıkmaktadır (31).

Farklı hidrofobisitelere sahip iki farklı ilacın (ketoprofen ve spiranolakton) yeni sentezlenen PEG-PLGA-PEG üçlü kopolimer sisteminden in vitro salım çalışmaları yapılmıştır. Biyolojik olarak parçalanabilen, enjeksiyonluk, sıcaklığa hassas (oda sıcaklığında akışkan, vücut sıcaklığında jel halinde) bu sistemin çekirdek-kabuk yapısı gözönüne alındığında iki ilaç farklı şekillerde salım özelliği göstermiştir. Hidrofil özelliğe sahip bir model ilaç olan ketoprofen sistemden 1. derece kinetik profiline uygun olarak 2 haftadan fazla bir zamanda salınmıştır. Salım hızı 5 gün sonra pratik olarak sıfıra düşmüştür. Hidrofob özelliğe sahip bir model ilaç olarak kullanılan spiranolakton ise 2 ayı geçen bir zamanda S şeklinde bir salım profili göstermektedir. Öncelikle difüzyon daha sonra difüzyon/degradasyon mekanizması gerçekleşmiştir (32).

Yaklaşık 100 µm çapında, sıcaklığa hassas olarak ilaç salan mikrokapsüller havada süspande ederek kaplama metoduna göre (Wurster yöntemi) hazırlanmıştır. Suda çözünen model ilaç olarak karbazokrom sodyum sülfonat kullanılmıştır. Mikrokapsülün çekirdek kısmında kalsiyum karbonat ve etrafında ilaç tabaka halinde bulunmaktadır. Çekirdek kısmın etrafını sıcaklığa hassas kaplama tabakası

çevrelemektedir. Bu tabakada nanometre büyüklüğünde sıcaklığa hassas hidrojel­ler içeren etil selüloz matriksi bulunmaktadır. Sıcaklığa hassas hidrojel partiküller yeni olarak sentezlenmiş poli(N-izopropilakrilamit (NIPAAm)) ile lateks bileşiginden oluşmaktadır. In vitro olarak yapılan ilaç salım çalışmaları sonucunda jelin tamamen büzülme için gerekli sıcaklık değeri­nin üzerindeki sıcaklıklarda (32°C) ilacın salım hızının belirgin olarak arttığı belirlenmiştir. Bu sonuç jellerin büzülmesi sonucunda kaplama tabakasında boşluklar oluşarak ilacın açığa çıktığı şeklinde yorumlanmıştır. Ayrıca sıcaklığa bağlı olarak ilaç salımının kaplama tabakasında bulunan bileşik lateks partiküllerinin miktarına bağlı olduğu belirtilmiştir (33).

Polietilen glikol, 1,2,6-hekzanetriol (çapraz bağlayıcı), hekzametilen diizosiyanat (zincir genişletici) kullanılarak sıcaklığa hassas polimer ağ yapıları sentezlenmiştir. Çapraz bağlayıcı ajanın miktarını ve polimerin molar kü­tle­si­ni değiştirerek değişik çapraz bağ yoğunluklarına sahip PEG ağ yapıları elde edilmiştir. Hazırlanan bu sistemlerin sıcaklık değişimine göre şişme özellikleri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak şişme özelliğinin, hidrojin hazırlanması esnasında kullanılan çapraz bağlama yöntemine ve ortam sıcaklığına bağlı olarak değişmekte olduğu belirtilmiştir. Ayrıca model ilaç olarak kullanılan asebutolol orta derecede çapraz bağlı hidro­jelden hızlı bir şekilde, yüksek derecede çapraz bağlı hidro­jellerden ise gecikmeli olarak difüze olmaktadır. İlacın salım kinetiğinin kontrol edilmesi ve modülasyonu için, çapraz bağ yoğunluğunun ve ortam sıcaklığının değiştirilmesi ile mümkün olabileceği belirtilmiştir (34).

Amfifilik çoklu blok kopolimerleri kullanılarak yapılan biomateryal dizaynı, şişme, sıcaklığa hassas şişme, mekanik özellikler, çözünürlük ve gradasyon hızının istenilen özelliklere göre belirlenmesi için etkileyici bir yaklaşımdır. Kullanılan hidrofobik bloğun yapısı, polimerin kompozisyonu, molekül ağırlığı ve sıcaklık geçmiş­i bu özellikleri etkilemektedir. Polietilen oksit (PEO) ve poli(ε-kaprolakton) veya poli(L-laktik asit) (PLLA) içeren çoklu blok kopolimerleri birleştirme reaksiyonu ile sentezlenmiş ve sıcaklığa hassas olarak şişme özelliği gösterdiği belirlenmiştir. Basik fibroblast büyüme faktörü ile yüklenmiş PEO/PLLA çoklu blok

kopolimerleri yara iyileştirmek amacıyla sıçanlara uygulandığında kontrol grubuna ve basik fibroblast büyüme faktörü içermeyen aynı yara kaplayıcısı uygulanmış gruba göre hızla yara iyileştirdiği saptanmıştır (35).

PH ve sıcaklığa karşı hassas PNIPAAm ve poliakrilik asit'den oluşan polimerik boncuklar hazırlanmış ve bu sisteme kalsitonin yüklenmiştir. Bu polimer düşük kritik çözelti sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda çözünür durumda iken bu değerin üzerindeki sıcaklıklarda çökmektedir. Geliştirilen bu sistemle kalsitoninin oral yoldan verilmesinin mümkün olabileceği belirtilmiştir (36).

1.3.3. Diğer Çevresel Faktörlere Hassas Hidrojeller

PH ve sıcaklığın dışında ilacın depodan açığa çıkmasında ışık (6), ultrason (37, 38), manyetik alan, elektrik akımı (39) gibi fiziksel faktörler, kimyasal faktörler (40, 41) ve bazı biyolojik bileşikler (42, 43) etkili olmaktadır.

Işığa hassas 4 kollu PEG (molekül ağırlığı yaklaşık 20000) (>300 nm) dalga boylu ışığa maruz kalması ile PEG-hidrojel membranları hazırlanmıştır. [Dallanmış PEG gliserol kondensasyonu ile türetilmiş poliollerin etoksilasyonu ile sentezlenmekte ve 4 kol içermektedir]. PEG molekülüne ışığa hassas PEG-CA makromerlerini oluşturmak amacıyla sinamiliden asetat grupları ilave edilmiştir. Bunun sonucunda yüksek oranda çapraz bağlı ağ yapıya sahip hidrojeller oluşturulmuştur. UV ışık membranın por büyüklüğünü ve buna bağlı olarak proteinlerin sistemden çıkışını kontrol etmede kullanılmaktadır. UV ışığa maruz kalma süresi arttıkça hidrojeldaki çapraz bağ oranı artacak ve şişme derecesi azalacaktır. Bunların sonucunda UV ışığa maruz kalma süresi arttıkça proteinlerin permeasyon hızı azalacaktır (6).

Ultrason yardımı ile parçalanmayan polimerik kontrollü ilaç salan sistemlerden kütle transport artışı incelenmiştir. Polimerin morfolojisi bozulmadan

sistemden ultrason yardımı ile ilaç salımının konveksiyon yardımı ile olduğu belirtilmiştir (37).

Elektrik akımı uygulanarak elektrik ile değiştirilebilen ilaç sistemlerinin hazırlanması amacıyla üç çeşit anyonik jelin (agaroz, agaroz-karbomer 934P ve agaroz-ksantan zamkı) in vitro özellikleri çalışılmıştır. Elektrik akımı ve jel içeriğinin ilaç salımında etkili faktörler olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak elektroporasyon ve iyontoforez yardımı ile bu hidrojellerin transdermal ilaç uygulanmasında kullanılabileceği belirtilmiştir (38).

Çeşitli terapötik moleküllerin tetikleyici salım ile belirli bir bölgeye hedeflendirilmesi amacıyla çevresel faktörlere cevap verebilen yeni ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Bu sistemler düzenli sekresyon gösteren biyolojik sistemlerde hormon sekresyonunu kontrol eden özel sekresyon hücrelerinde bulunan salgılayıcı granülün hücre dışı regülörlerin (örn. Histamin) etkisiyle hızlı şişme sonucunda tetikleyici mekanizma ile içeriğindeki proteinleri hücre dışına salım mekanizmasını taklit edecek şekilde sentezlenmiştir. Metilenbisakrilamit (MBAM), metakrilik asit (MAA) ve 4-nitrofenil-metakrilat (NPMA) monomerleri kullanılarak sentezlenen mikrojellere kemoterapötik ajan olarak doksorubisin yüklendikten sonra lipit tabaka ile kaplanmıştır. Doksorubisinin mikrojellerden açığa çıkması lipit çözen surfaktanlar ve elektroporasyon ile gerçekleşmiştir. Mikropipet manipulasyon tekniği ile mikrojel düşük pH'dan yüksek pH değerine (pH 3.2-7.4) tranfer edildiğinde pH artışı ile mikrojin şişme özelliklerinde artış görülmüştür. Lipit tabakası ile kaplı ilaç yüklü mikrojin şişme ve salım özellikleri 3 aşamada gerçekleşmiştir. Proton çıkışı ve sodyum iyonunun girişine izin verecek şekilde membran permeabilitesi elektroporasyon, membran dissolüsyonu veya diğer permeabiliteyi sağlayacak yöntemler ile gerçekleşmiştir. Daha sonra, bu değişim işlemi süresince mikrojel şişmeye başlar ve başka iyonların da membrandan transportu gerçekleşir. Mikrojinin şişmesi ile membran parçalanır ve büyük kaplanmamış mikrojel haline gelir. En son aşama olarak da hidrojel içindeki ilaç tetiklenmiş ani bir salım ile sisteme sodyum iyonlarının girmesi ve ilacın açığa çıkmasına sebep olur. (39).

N,N-metilenbisakrilamit ile çapraz bağlanmış sodyum poli(akrilat/akrilik) asit hidrojenleri hazırlanmış ve şişme/büzülme dinamikleri değerlendirilmiştir. Hidrojel, bakır sülfat çözeltisine daldırıldıktan sonra jel partikülün boyutunda meydana gelen farklılıklar ve metal iyonlarının ağ yapının içine penetrasyonu optik mikroskop ile izlenmiştir. Öncelikle jel su absorbe ederek şişmekte daha sonra parçalanarak hemen hemen kuru durumuna geri dönmektedir. Asit ortama yerleştirildiğine büzülmüş jelden bakır iyonlarının zamana karşı salımı optik mikroskop ile çalışılmıştır. Ayrıca asit konsantrasyonunun iyon salımına ve jelin partikül büyüklüğündeki değişikliklere olan etkisi yorumlanmıştır. Sonuç olarak hidrojin yüzeyindeki kimyasal reaksiyonu kontrol ederek farklı yapılarda ve özelliklerde tabakalara sahip ağ yapısında bir hidrojel elde edilmiştir. Hazırlanan bu sistemin ilaç salım mekanizmalarının modellenmesinde ve ayrıca atık suların giderilmesinde kullanılabileceği belirtilmiştir (40).

Aktivitesi kalsiyum ile ayarlanan α -amilaz içeren nişasta-selüloz matriks sistemi ile hazırlanmıştır. Aktif olmayan formda α -amilaz, nişasta içeren matriks içine yerleştirilmiş ve matriks kalsiyuma cevap vererek α -amilaz'ın aktif hale geçmesine sebep olmuştur. Kalsiyum konsantrasyonuna bağlı olarak matrikse yerleştirilen model ilaçların salımının gerçekleştiği belirtilmiştir (41).

Antikor ile çapraz bağlı PAAm ve ilgili antijeni ile çapraz bağlı PAAm içeren Akrilamit (Aam) hidrojeni antijene cevap veren bir hidrojel olarak çalışılmıştır. Polimer ağ yapısında zincir içi antijen-antikor bağlanmasına bağlı olarak, serbest antijenin olmadığı durumlarda hidrojel büzülme özelliği göstermekte, serbest antijenin varlığında ise zincir içi bağın disosiyasyonu ile şişme özelliği göstermektedir. Bu hidrojin kullanımı ile immün sistemle ilgili ölçümlerin kullanılması amacıyla bir ölçüm aletinin geliştirilebileceği belirtilmiştir (42).

Antibiyotiklerin kontrollü olarak salımı amacıyla yeni ilaç sistemleri geliştirilmiştir. Yeni geliştirilen trombine hassas peptit bağlayıcı ile PVA hidrojenlerine gentamisin yüklenmiştir. In vitro olarak ilaç salım özelliklerine ayrıca

in vivo olarak bakteroidal etkisine bakılmıştır. Sonuç olarak yeni geliştirilen bu sistemin *Staphylococcus aureus* ile enfekte olmuş yaraların tedavisinde kullanılabileceği belirtilmiştir (43).

1.4. TIPTA KULLANILAN HİDROJELLER VE UYGULAMA ALANLARI

Kanla uyumlu hidrojeller :	Poli(vinil alkol) [PVA] Poliakrilamit [PAAm] Poli(N- vinil pirolidon) [PNVP] Poli(hidroksietil metakrilat) [PHEMA] Poli(etilen oksit) [PEO] Poli(etilen glikol) [PEG] Poli(etilen glikol) monometil eter [PEGME] Selüloz
Kontakt lensler :	Poli(hidroksietil metakrilat) [PHEMA] NVP kopolimeri Metakrilik asit [MAA] kopolimeri Butil metakrilat [BMA] kopolimeri Metil metakrilat [MMA] kopolimeri 3-metoksi-2-hidroksipropilmetakrilat [MHPM]
Suni tendonlar :	PHEMA/poli(etilen tereftalat) [PTFE]
Diğer uygulama alanları :	
Suni böbrek :	selüloz asetat
Plazmaferezis için membran :	PVA ve selüloz asetat
Suni karaciğer :	PNVP, PHEMA, selüloz asetat
Suni deri :	PVA ve PHEMA
Meme plastisi :	HEMA, MMA ve NVP terpolimerleri
Maksillofasial rekonstrüksiyonu :	PHEMA, P(HEMA-co-MMA)

Ses kirişı rekonstrüksiyonu : PVA
Cinsel organ rekonstrüksiyonu : P(HEMA-b-siloksan)
Oftalmik uygulamalar : PVA, poli(akrilik asit) [PAA],
poli(gliseril metakrilat)
Eklem kıkırdağı : PVA, HEMA, MMA

Kontrollü İlaç Salımı

Biyolojik olarak parçalanabilen hidrojeller:

Poli(glikolik asit) [PGA], poli(laktik asit), PLA-PGA, PLA-PEG, kitozan, dekstran, dekstran-PEG, polisiyanoakrilatlar, fumarik asit-PEG, sebakik asit/1,3-bis(p-karboksifenoksi) propan [P (CPP-SA)]

Biyolojik olarak parçalanamayan hidrojeller :

Nötral : PHEMA, PVA, PNVP, poli(etilen-co-vinil asetat) [PEVAc]

pH'ya hassas hidrojeller : Poli(akrilamit) [PAAm], poli(akrilik asit) [PAA], PMAA, poli(dietilaminoetil metakrilat) [PDEAEMA], poli(dimetilaminoetil metakrilat) [PDMAEMA]

Kompleksleşebilen hidrojeller : Poli(metakrilik asit) ile bağlanmış poli(etilen glikol) [P(MAA-g-EG)], poli(akrilik asit) ile bağlanmış poli(etilen glikol) [P(PAA-g-EG)]

Sıcaklığa hassas hidrojeller : Poli(N-izopropil akrilamit) [PNIPAAm]

pH/sıcaklığa hassas hidrojeller : PNIPAAm/PAA, PNIPAAm/PMAA

Kontrollü salım amacıyla kontraseptifler, antiaritmikler, peptit, proteinler, kanser ilaçları, antikoagulanlar, antikorlar gibi çeşitli ilaç ve biyolojik materyali kullanılmıştır. Bu tablo hidrojellerin bütün kopolimerlerini içermemektedir (44).

Dişçilik alanında kron, köprü, ortodontik uygulamalar, suni diş yapımında polidimetakrilatlar gibi çapraz bağlı polimerler kullanılmaktadır. Periodontal hastalıkların tedavisinde tetrasiklin içeren etilen vinilasetat veya başka bir polimer, dişin etrafına sarılarak, tetrasiklinin kontrollü olarak salımını sağlamıştır (45).

Hidrojel temel alınarak oluşturulan ilaç salım sistemleri oral, rektal, oküler ve subkutan olarak uygulanabilmektedir.

1.4.1. Peroral ilaç uygulanması

Hidrojellerin tedavide kullanımında peroral yol en fazla kullanılan yollardan biridir. Oral kaviteye ve gastrointestinal sisteme uygulanması olarak iki şekilde incelenebilir (1).

1.4.1.1. Oral Kaviteye İlaç Uygulanması

Hidrojel ve absorpsiyon artırıcılarının in vivo ve in vitro olarak östradiolün bukkal permeasyonuna kombine etkisi araştırılmıştır. Hamster yanak kesesi içindeki bukkal mukoza *stratum corneum*'a sahip olmasından dolayı insan oral mukozası verisine benzerlik gösterebildiğinden in vivo çalışmalarda hamster yanak kesesi bukkal mukozası kullanılmıştır. Bukkal mukozadan absorpsiyon ise Franz hücresi ile ölçülmüştür. Etanol ve propilen glikol içeren hidrojellerde gliserilmonolaurat (LAU), l-mentol (MEN) ve sodyum kaprat (CAP) absorpsiyon artırıcı olarak kullanılmıştır. Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar sonucunda LAU ve etanol karışımının östradiol içeren hidrojellerin bukkal mukozaya uygulanmasında kullanışlı ve güvenli olduğu belirlenmiştir (46).

Bukkal yoldan ilaç uygulanması için yumuşak ve yavaş parçalanma özelliğine sahip hidrojeller hazırlamak amacıyla öncelikle çapraz bağlı bir kitozan olan glikol kitozan elde edilmiş, daha sonra hidrofobik palmitoil gruplar eklenerek palmitoil glikol kitozan (GCP11) hazırlanmıştır. Kitozan temel alınarak hazırlanmış jellerden farklı olarak bu jel alkali pH'da ağırlığının 20 katı, nötral ve asit pH'larda ise

ağırlığının 10 katı kadar hidrate olmaktadır. Model bir bileşik olarak rodamin B yüklendikten sonra çeşitli ortamlarda salım özelliklerine bakılmıştır. Asit pH'da GCP11'in az erozyona uğramasına rağmen asit ortamdaki az çözünürlüğüne bağlı olarak rodamin B'nin salımı azalmıştır. Rodamin B'nin salımı sadece çevresel pH değerlerinin değişimi ile değil ayrıca jele çözünen tuzların ilavesi ile de kontrol edilebilmektedir. Rodamin B fosfat tampon çözeltisinde çözündürüldükten sonra jele yüklenmesi sonucunda, salım esnasında jel içindeki tuzun açığa çıkmasına, dolayısıyla jelin şişme özelliğinin azalmasına ve rodamin salımının yavaşlamasına sebep olmaktadır. Sonuç olarak model bileşik rodamin B'nin salımının kontrol edilebilmesinden dolayı bukkal boşluğa ve bukkal mukozaya uygun olduğu belirtilmiştir (47).

Propranolol'un bukkal yoldan uygulanması amacıyla geliştirilmiş olan Carbopol (CP) hidrojellerinin adezyon kapasitesi germe testi ile değerlendirilmiştir. Polimerin molekül ağırlığı ve çapraz bağlama derecesi gibi adezyon özelliklerini etkileyen faktörler çalışılmıştır. Ölçümler sonucunda her iki parametrenin artması durumunda hidrojin adezyon özelliğinin azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca suyun adezyona etkisini belirlemek amacıyla farklı hidrasyon ortamlarında yapılmıştır. Ölçüm sonuçları ortamda sınırlı miktarda su bulunduğu durumda hidrojin adezyon kapasitesinin belirgin miktarlarda artış gösterdiği belirlenmiştir. Son olarak carbopol hidrojelere propranolol HCl yüklenmiştir. Polimer ve ilaç arasında oluşan kompleks sonucunda meydana gelen elastikiyet, ortamda sınırlı miktarlarda su bulunduğu durumlarda adezyonun artmasına sebep olmuştur. Buna rağmen ortamda sınırlı miktarlarda su bulunmadığı durumda carbopol-propranolol HCl kompleksinin çökmesi adezyonda hafif bir azalmaya sebep olmuştur (48).

Sistemik yoldan ilaç uygulanması amacıyla nifedipin ve propranolol hidroklorür içeren iki tabakalı bukkal tabletler hazırlanmıştır. Tükürük yolu ile ilaç kaybını engellemek ve mukozaya direkt tek yönlü olarak ilaç salımını sağlamak amacıyla iki tabakalı tabletlerin tasarımı yapılmıştır. Tablette bulunan tabakalardan biri etil selüloz içerecek şekilde diğeri ise ilaç içeren, mukoadhesif özelliğe sahip polikarbofil ve kitozandan meydana gelmiştir. Tablet önemli bir özelliği de sulu

ortamla penetrasyonu sonucunda katyonik kitozan ve anyonik polikarbofil arasında kendiliğinden çapraz bağlama reaksiyonunun meydana gelmesidir. Çapraz bağlamanın sonucu olarak tabletlerden kontrollü bir şekilde ilaç salımı olmakta ve uygun bir adezyon gerçekleşmektedir (49).

1.4.1.2. Gastrointestinal Sisteme İlaç Uygulanması

Konvansiyonel hidrojelilerin şişme özelliğini geliştirmek amacıyla süper porlu hidrojel (SPH) geliştirilmiştir. Yüksek oranlarda ve hızlı şişme özelliği gösteren poli(akrilamit-ko-3-sülfopropil akrilat) P(AM-co-SPAK) SPH'in mekanik güçlerini artırmak amacıyla yapıya Ac-Di-Sol (Crosscarmallose Na) katılmıştır. Hazırlanan SPH'in midede tutulma özelliklerini araştırmak amacıyla aç ve tok köpeklerde in vivo çalışmalar yapılmıştır. SPH 000 no'lu sert jelatin kapsüle yerleştirilerek oral yoldan köpeklere uygulanmıştır. Deney öncesinde 36 saat aç bırakılan köpeklerde SPH 2-3 saat midede kalmış daha sonra kapsül parçalanarak mideden boşalmıştır. Köpekler 36 saat aç bırakılıp 1 kez yemek verildikten sonra ise SPH'in midede 24 saat kaldığı belirlenmiştir. Sonuç olarak yüksek oranlarda ve hızlı şişme özelliğine sahip, güçlü mekanik özellik gösteren süper porlu hidrojel midede uzun süreli tutulmasını gerektiren durumlarda diğer kontrollü ilaç salım sistemleri ile beraber kullanılabildiği belirtilmiştir. Örneğin osmotik tablet, mikropartiküler sistem gibi bir oral dozaj formunun kaplanması ve ilaç rezervuarını içinde içerecek şekilde kapsül şeklinde hazırlanabilir. Midede şişerek tutulan bu sistem mideye veya ince bağırsağın üst kısımlarına hedeflendirilecek ilaçlar için idealdir. İlaç kullanımının dışında diğer alanlarda da kullanılabilir. Örneğin midede şişmesi sonucu gıda alımını azaltması sebebiyle diyet kontrol ajanı olarak, ameliyat sırasında kanın ortamdan uzaklaştırılması, yaralı bölgelerin tedavisinde kullanılabilir ayrıca toksik maddelerin dökülmesi durumunda SPH ile kolayca absorblanabilir (50).

Oral ilaç uygulanması ve özellikle ince bağırsağın üst kısımlarına lokalize olarak ilaç uygulaması için guar zampkının şişme özelliklerini azaltmak amacıyla trisodyum trimetafosfat (STMP) ile çapraz bağlanmıştır. Çapraz bağ miktarına bağlı olarak çapraz bağlı guar zampkının doğal guar zampkına oranla gastrointesinal sistem

sıvılarındaki şişme oranı 4-10 kat arasında azalmıştır. Katyonik bir boya olan metilen mavisinin negatif yüklü katı yüzeylere karşı olan afinitesi göz önüne alınarak yapılan sodyum klorür çözeltisindeki metilen mavisinin adsorbsiyon ve şişme çalışmaları sonucunda hidrojelın ağ yapısında büzölme olması çapraz bağlama işlemi sonucunda guar zımkının non-iyonik özelliğini kaybederek negatif yüklendiğini göstermektedir. Ağ yoğunluğunun ölçüm sonuçları kullanılan STMP miktarı ve çapraz bağ yoğunluğu arasında lineer bir ilişki olduğu belirlemiştir. Sonuç olarak STMP ile çapraz bağlanmış guar zımkı kontrollü ve azaltılmış şişme özelliklerine sahip hidrojellerin hazırlanmasında kullanılabileceğini ve ayrıca çapraz bağlamaya rağmen ürünler doğal guar zımkında olduğu gibi kolonda parçalanıyorsa bu durumda bu ürünler kolona spesifik ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılabilecekleri belirtilmiştir (51).

Kolona spesifik ilaç uygulanması amacıyla STMP ile çapraz bağlanmış, az şişme özelliğine sahip guar zımkına hidrokortizon yüklenilerek enzimli (α -galaktozidaz, β -mannanaz) ve enzimsiz ortamda salımı incelenmiş ve fare çekumlarında polimer parçalanmasının ölçümleri yapılmıştır. In vitro salım çalışmaları sonucunda pH 6.4'de enzimsiz ortamda 6 saat sonunda ilacın % 20'si açığa çıkmakta iken dissolüsyon vasatına α -galaktozidaz, β -mannanaz enzimlerinin ilavesi ile ilacın % 80'inin açığa çıktığı belirlenmiştir. 8 gün farelere guar zımkı uygulanmasının fare çekumundaki α -galaktozidaz aktivitesini 4 kat artırdığı ayrıca guar zımkı hidrojelinin çapraz bağlayıcı konsantrasyonunda yapılan değişikliğe rağmen enzim parçalanmasının özelliklerinde değişiklik meydana gelmediği belirlenmiştir. Sonuç olarak STMP ile çapraz bağlı guar zımkı hidrojelleri oral yoldan uygulanarak kolona spesifik ilaç uygulanması için uygun bir sistem olduğu belirtilmiştir (52).

Skleroglukanın polikarboksillenmiş türevleri ve 1,6-heksandibromit arasındaki çapraz bağ reaksiyonu ile yeni hidrojeller elde edilmiştir. Model ilaç olarak teofilin yüklü bu hidrojellerde su alımı, difüzyon deneyleri yapılmıştır ve geciktirilmiş etki göstermesi amacıyla tabletleri hazırlanmıştır. Düşük derecede çapraz bağlı hidrojelın su alımı ortamın iyon gücünden etkilenmektedir. Üç kompartmanlı

difüzyon hücrelerinde yapılan difüzyon çalışmaları, ortamda sodyum klorürün bulunması durumunda skleroglukanın yapısındaki karboksil gruplarının sodyum ile reaksiyona girmesi sonucunda ilacın daha hızlı difüze olduğu belirlenmiştir. Çapraz bağlı polimerde yapılan difüzyon çalışmaları sonucunda ise ortamdaki sodyum klorürden etkilenmediği görülmüştür. 37°C’de suda yapılan teofilin içeren tabletlerin in vitro salım sonuçlarında sadece skleroglukan ve yardımcı madde ile hazırlanan tabletlerden teofilinin tamamı 2 saatte, çapraz bağlı polimer ile hazırlanmış tabletlerden ise teofilinin tamamı 24 saatte açığa çıkmıştır. Bu sonuç çapraz bağın salım hızını etkili bir şekilde düşürdüğünü ortaya koymuştur. Bu çalışma çapraz bağlı skleroglukanın yeni türevlerinin oral yoldan ilaçların geciktirilmiş salımı amacıyla uygulanmasında kullanılabileceğini göstermektedir. (53).

Oral sistemler için kullanılan hidrojeller gastrointestinal sistemin çeşitli bölgelerinden geçerken şişmelidirler. Gerekli su ve lokal bölgenin durumları ile beraber farklı bölgelerdeki bulunma zamanı şişmenin hız ve büyüklüğünü etkilemektedir. Hidroksipropilmetilselüloz, karboksimetilselüloz sodyum tuzu, Carbopol 974P™ ve Noveon AA1™ (polikarbofil)’in kanül takılmış köpeklerde açlık ve tokluk hallerinde gastrointestinal sistemin duodenum ve ileum bölgelerindeki şişme özellikleri incelenmiştir. Çalışılan bütün hidrojellerde açlık ve tokluk halinden ayrıca sekresyondan etkilenmeyerek şişmenin duodenumda ileuma göre çok daha fazla olduğu belirlenmiştir. İleum ve duodenumda şişmenin hızının ve büyüklüğünün farklı olmasının sebebi iki bölgede bulunan mukusun miktarının ve kalınlığının farklı olmasına bağlı olabileceği belirtilmiştir (54).

Antienflamatuar bir ilaç olan suprofen glutraldehit veya γ ışınları ile çapraz bağlı α,β -poliasparthidrazid (PAHy) ve α,β -poli(N-hidroksietil)-DL-aspartamit (PHEA)’e yüklenmiştir. Sulu ortamda yapılan şişme testleri sonucunda hazırlanan hidrojellerin şişme derecelerinin pH değerlerinden etkilendiğini göstermiştir. In vitro salım testleri fosfat tamponda (pH 7.4) ve suni gastrointestinal sıvılarda yapılmıştır. Ayrıca hazırlanan hidrojellerin, suprofen ile oluşan ışığa hassasiyet işlemini azaltma yeteneğini değerlendirmek için hemoliz testleri yapılmıştır. In vitro

salım testleri sonucunda suprofenin gastrointestinal sıvılarda sürekli salım gösterdiği ayrıca hemoliz testleri sonucunda da suprofen ile oluşan ışığa hassasiyet prosesinin ilacın PAHy ve PHEA'ye yüklenerek başarılı bir şekilde sınırlandırıldığı belirtilmiştir (55).

Nonsteroidal anti-enflamatuar bir ilaç olan 4-bifenil asetik asit (BPAA)'in α,β -poli(N-hidroksietil)-DL-aspartamit (PHEA) hidrojellerinden pH 4 ve 7.4'deki ilaç salımı belirlenmiştir. Salım miktarı, yüklü hidrojellerden biyolojik membran modeli olarak seçilen dimiristoilfosfotidilkolin (DMPC) lipozomlarına ilaç transferi ölçülerek belirlenmiştir. Her iki ortamda da ilacın 6 saatte yaklaşık % 80'i açığa çıkmıştır. Sonuç olarak PHEA hidrojellerinin suda çözünen ilaçların yavaş salımı ve biyolojik membranlar tarafından alımı için uygun sistemler olduğu bildirilmiştir (56).

Kolona ilaç hedeflendirmek amacıyla taşıyıcı sistem olarak inülin hidrojelleri hazırlanmıştır. Metakrillenmiş inulinin (MA-IN) sentezi ve tanımı yapılarak hidrojel oluşumu tarif edilmiştir. MA-IN'in sulu çözeltilerinin serbest radikal polimerizasyonu ile hidrojeller elde edilmiştir. Polimerizasyon sırasında üç boyutlu ağ yapısı oluşturacak şekilde vinil grupları moleküller arası ve molekül içi kovalan çapraz bağlara dönüştürülmüştür. Sonuç olarak MA-IN'in sulu çözeltilerinden serbest radikal polimerizasyonu yöntemi ile başarılı bir şekilde inülin hidrojellerinin hazırlandığı belirtilmiştir (57).

1.4.2. Rektal Yolla İlaç Uygulanması

Rektal yolla ilaç uygulanması amacıyla termal jelleşme özelliğine sahip ksiloglukan jelleri ile çalışılmıştır. Ksiloglukan jeli 22 ve 27°C arasında çözelti-jel dönüşümü göstermektedir. Böylelikle vücut sıcaklığında jel halde, oda sıcaklığında ise sıvı halde bulunmaktadır. Indometazin içeren ksiloglukan jelleri in vivo olarak rektal yoldan tavşanlara uygulanmış ve sonuçlar ticari indometazin supozituarları ile karşılaştırıldığında, biyoyararlanımda bir azalma olmadan zamana karşı ilaç plazma konsantrasyonunun kontrol edilebildiği belirlenmiştir (58).

Buprenorfin hidroklorürün (BN-HCl) rektal yolla verilmesi amacıyla ksantan zamkı ve keçi boynuzu zamkından rektal jeller hazırlanmıştır. Tavşanlarla yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen biyoyararlanım sonuçları diyaliz tüpünden elde edilen in vitro salım sonuçları ile karşılaştırıldığında iyi bir korelasyon olduğu belirlenmiştir. Tavşan rektumuna uygulandıktan sonra yapılan histopatoloji çalışmalarının sonucunda ise rektal mukozada iritasyon meydana gelmediği tespit edilmiştir. Sonuç olarak ksantan zamkı ve keçi boynuzu zamkı ile hazırlanan BN-HCl jelleri hızlı absorpsiyon ve azaltılmış yan etkilerinden dolayı rektal uygulama için uygun formüller olduğu belirtilmiştir (59).

1.4.3. Oküler Yolla İlaç Uygulanması

Farklı oranlarda mannuronik asit: gluronik asit içeren aljinatların jelleşme özellikleri ve suni göz yaşı sıvısındaki çözelti konsantrasyonları üzerinde çalışılmıştır. Ayrıca hazırlanan bu sistemin pilokarpin nitratin göz içi basıncını düşürmedeki etkileri değerlendirilmiştir. % 65'den yüksek oranlarda gluronik asit içeren aljinatın göz yaşı sıvısında bulunan proteinleri ve iki değerlikli katyonları içeren suni gözyaşı sıvısına ilavesi ile jelleşme olmuştur. Aljinat, proteinler ile kompleks yaparak ve iki değerlikli katyonlarla çapraz bağlanarak jelleştiği belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlar aljinatın pilokarpinin gözde uzatılmış etkisi dolayısıyla mükemmel bir ilaç taşıyıcı sistem olduğu belirtilmiştir. Aljinat göz damlaları için ideal bir yardımcı madde olmakla beraber mükemmel bir göz

toleransı sağlamaktadır. Göz yaşı sıvısında jel oluşturduğu konsantrasyonu serbest akıcılık gösterdiğinden dolayı uygulanması kolaydır. Bu özelliğinden dolayı diğer polimerlere göre üstünlüğü vardır (60).

Kauçuk/hidrojel bileşiklerinden oftalmik insertler hazırlanmıştır. Mukoadesif özellik sağlamak amacıyla poli(akrilik asit) veya poli(metakrilik asit) polimer ağları insert'ün yüzeyine çapraz bağlanarak yerleştirilmiştir. Çapraz bağlı insertlerin göz retansiyonunun çapraz bağısız olanlara göre belirgin bir şekilde yüksek olduğu belirlenmiştir. Tavşanlar kullanılarak yapılan in vivo çalışma sonucunda oksitetrasiklinin insertlerin bir kaç gün süre ile uzatılmış etkili olarak salım yaptığı belirtilmiştir (61).

1.4.4. Transdermal Yolla İlaç Uygulanması

Nikotin bağlı olan iyon değiştirici reçineler içeren agar jelleri hazırlanmış ve bu jellerden nikotinin salım hızına etki eden faktörler incelenmiştir. Ölçümler Franz hücresi kullanılarak suni ve insan deri membranından geçişe bakılarak yapılmıştır. Nikotinle yer değiştirmeye uygun olan iyonlar nikotinin salım hızını artırmaktadır. Sonuç olarak insan deri bariyerinden elde edilen sonuçlar nikotinin agar/reçine taşıyıcı kompleksindeki reçineye bağlanmasının pasif transdermal cihazlar için uygun olmadığı belirtilmiştir (62). Bu çalışmadan sonra iyon değiştirici reçine içeren agar jelleri kullanılarak iontoforetik olarak nikotinin in vitro membran transportu gerçekleştirilmiştir. Reçinenin büyüklüğü, polimerin çapraz bağ derecesi, ilacın bağlı olduğu ortam, ilacın konsantrasyonu ve akımın büyüklüğü değerlendirilmiştir. İontoforez sırasında ilacı saklama kapasitesi, ilacın salım hızı ve taşıyıcının pH'sının kontrolü bakımından hazırlanan heterojen taşıyıcı sistemin basit hidrojel sistemlere göre avantajları olduğu belirtilmiştir (63).

1.4.5. Subkutan Yolla İlaç Uygulanması

Akrilamit (A) ve monoetil itakonat'ın (MEI) üç farklı kopolimeri hazırlanmıştır. Poli(akrilamit-ko-monoetil itakonat; A/MEI) hidrojelleri, 90A/10MEI, 75A/25MEI ve 60A/40MEI'ne yüklenen sitarabin (ara-C)'nin salım özellikleri incelenmiştir. Şişme değeri, difüzyon katsayısı ve şişme için aktivasyon değerleri belirlenmiştir. Bu kopolimerlerin uygulanabilirliğini değerlendirmek amacıyla 75A/35MEI jeli subkutan olarak sıçanlara implante edilmiş ve ilacın plazma konsantrasyonu yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile saptanmıştır. Ara-C'nin plazmadaki konsantrasyonu ilk basamaklarda (2-8 saat) sabit kalmış ve 32 saat sonra hiç ilaç tespit edilmemiştir. Bu uygulama yolu ilacın intraperitoneal enjeksiyonu ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak ara-C başarılı bir şekilde hidrojellere yüklenmiştir ve plazma konsantrasyonu terapötik değerleri uzun süre sabit tutabilmektedir (64).

Jellan ve skleroglukan polisakkaritlerinin bir aktivatör [1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-karbodiimide] (EDC) yardımıyla çapraz bağlanması sonucunda yeni bir çapraz bağlı hidrojel elde edilmiştir. Model ilaç olarak teofilin yüklenmiş çapraz bağlı polisakkaritin (jellan/skleroglukan: 85/15) 3 kompartmanlı difüzyon hücrelerinde yapılan difüzyon çalışmaları sonucunda teofilinin sudaki difüzyonunun pH 7.4'dekine göre daha yavaş olduğu görülmüştür. Bunun sebebi difüzyon ortamlarının pH farkına bağlı olarak çapraz bağlı polisakkaritin yapısındaki COOH⁻ gruplarının farklı oranlarda iyonize olmasına, tampon çözeltinin iyon gücünün molekülün polaritesini etkilemesine ve COOH⁻ gruplarının ilaçla bağlanmasını engellemesine bağlanılabilir. Teofilinin çapraz bağlı polisakkarit (jellan/skleroglukan: 85/15) ile hazırlanan tabletlerden in vitro salımı sadece skleroglukan ile hazırlanan tabletlerden salımına göre daha hızlı olduğu görülmüştür. Salımı yavaşlatmak amacıyla Ca²⁺ varlığında çapraz bağlı polisakkaritler (jellan/skleroglukan: 85/15) hazırlanılarak daha fazla jel gücü elde edilmiştir. Yüksek jel gücüne sahip bu polisakkaritten hazırlanan tablet teofilin salımını belirgin bir şekilde azaltarak yaklaşık % 30'unun 24 saatte açığa çıkmasına

sebepe olmuştur. Salımın bu şekilde yavaşlaması sonucunda sentezlenen yeni ilaç taşıyıcı sistemin implant uygulamaları veya tarımda pestisit ve herbisidlerin uygulanması gibi spesifik alanlarda kullanılabilineceği belirtilmektedir (65).

Kemik rejenerasyon aktivitesini artırmak amacıyla biyolojik olarak parçalanabilen hidrojelde büyüme faktörünün sürekli salımı gerçekleştirilmiştir. Büyüme faktörü izoelektrik noktası $pI=5.0$ olan asitik jelatine adsorbe edilmiştir. ^{125}I ile etiketli büyüme faktörünü içeren asitik jelatin hidrojelleri farelere subkutan olarak implante edilmiş ve büyüme faktörü içeren jelatin hidrojellerinin kemik rejenerasyonuna sebep olmalarının yapılarındaki su içeriğine bağlı olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak büyüme faktörü içeren jelatin hidrojellerinin kemik rejenerasyonuna sebep olmaları için büyüme faktörünün salım zaman profili ile kemik oluşumunda denge olmasının gerekli olduğu saptanmıştır (66).

Biyolojik olarak parçalanabilen bir hidrojel elde etmek amacıyla akrilat grubuna sahip PEG makromeri ile poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) ve PEG makromeri içeren yarı geçirgen polimer ağları (SIPNs) sentezlenmiştir. Klonazepamın implant sisteminin hazırlanabilirliğini değerlendirmek amacıyla bu sistemden klonazepamın in vitro ve in vivo salımı incelenmiştir. Düşük oranlarda ilaç tutulması, PEG polimerinin düşük oranlarda sentez işlemine ilave edilmesi, PEG'in yüksek molekül ağırlığı, klonazepamın SPIN'dan yüksek oranlarda salımına sebep olmuştur. Düşük oranlarda PEG içeriği ve klonazepamın sudaki çözünürlüğünün düşük olması bu matrikslerden ilacın uzun dönemde (250 gün boyunca) sabit bir salım yapmasına sebep olmuştur. Pelletlerin implantasyonundan 45 gün sonra implante edilen bölgenin dokusunda hafif derecede hücreler arası ödem ve damar kanallarında hafif dilatasyon olduğu görülmüştür (67).

1.4.6. Enjeksiyon Yoluyla İlaç Uygulanması

Emülgatör içermeyen emülsiyon hazırlama tekniği ve dondurup-eritme tekniğini birarada kullanarak protein içeren enjeksiyonluk PVA hidrojel nanopartikülleri hazırlanmıştır. Yüksek miktarlarda emülgatör ve çapraz

bağlayıcının hidrojelde yüklü ilaç ve özellikle protein üzerinde yan etki meydana getirmesini engellemek amacıyla çapraz bağlayıcı ve emülgatör kullanılmayan bir teknik geliştirilmiştir. Hazırlanan PVA hidrojel nanopartiküllerinde şekil, büyüklük ve büyüklük dağılımı, protein yükleme kapasitesi, şişme derecesi, in vitro salım özellikleri ve protein stabilitesi araştırılmıştır. Taramalı elektron mikroskobu ile incelenmesi sonucunda PVA hidrojel nanopartiküllerinin şekillerinin hemen hemen küresel olduğu görülmüştür. Küreselliğin mükemmel olmaması nanopartiküllerin oluşum sonrası vakum filtrasyonun tabi tutulmasına ve yüzeyinin pürüzlü oluşu kuruma esnasında suyun buharlaşması ile nanopartiküllerin büzüşmesine bağlanılmaktadır. 675.5 ± 42.7 nm partikül büyüklüğüne sahip nanopartiküllerde model ilaç olarak kullanılan bovine serum albuminin (BSA) % 96.2 ± 3.8 oranında tutulduğu saptanmıştır. Ayrıca yüksek sıcaklıklarda nanopartiküllerde polimer zincir segmentleri daha yüksek termal enerjiye sahip olmakta ve daha hızlı hareket etmektedirler, buna bağlı olarak kristalinitenin bozulmasına, hidrojen bağlarının iyonize olmasına aynı zamanda çapraz bağ yoğunluğunun azalmasına sebep olmaktadır. Böylelikle PVA hidrojel nanopartiküllerinin yüksek sıcaklıklarda şişme derecesi artmaktadır. 37°C ve 24°C 'de yapılan salım çalışmaları sonucunda BSA'nın yüksek sıcaklıklarda difüzyon katsayısının artması ve PVA hidrojel nanopartiküllerinin yüksek oranlarda şişme özelliği göstermesinden dolayı 37°C 'de BSA'nın 24°C 'ye göre daha hızlı açığa çıkmaktadır. 1 kez dondurma-eritme siklusundan geçirilen BSA yüklü PVA hidrojel nanopartiküllerinden BSA'nın salımı 3 kez dondurulup eritilenlere göre daha hızlı olmuştur. Bu sonuç dondurma-eritme siklus sayısının PVA hidrojel nanopartiküllerinin çapraz bağ yoğunluğunu artırdığını göstermektedir. BSA'nın ani salım göstermeksizin yaklaşık 30 saatte difüzyon kontrollü mekanizma ile açığa çıkması molekülün tamamının nanopartikülün içinde tutulduğunu göstermektedir. Yapılan stabilite çalışmaları, hazırlama esnasında düşük sıcaklık (-20°C) ve organik sıvılara (aseton, silikon yağı) rağmen BSA'nın nanopartiküllerde stabil bir şekilde tutulduğunu göstermektedir. Yapılan tüm bu çalışmalar sonucunda emülgatör içermeyen emülsiyon tekniği ve dondurma-eritme tekniği ile hazırlanan enjeksiyonluk PVA hidrojel nanopartikül sisteminin protein/ peptidler için uygun bir sistem olduğu belirtilmiştir (68).

Intraarterial depolardan ilaç salımında arterial yapı önemli bir rol oynamaktadır. Tamamıyla yapışık hidrojel depolardan arterial ortama makromoleküler ilaçların transportunda iç elasik tabaka difüzyona büyük bir engel teşkil etmektedir. Polietilen glikol diakrilat (PEG-DA) kullanılarak yüzeylerarası fotopolimerizasyon tekniği ile iki tabakalı hidrojel depo hazırlanmıştır. Bu hidrojel deponun ilaç içeren kısmı yüksek permeabiliteye sahip tamamıyla yapışık tabaka, diğer kısım ise düşük permeabiliteye sahip luminal tabakadan meydana gelmiştir. Bu luminal tabakanın proteinin arterial ortama salımını artırıp artırmadığı ex vivo olarak sıçan karotis arterinde değerlendirilmiştir. Sonuç olarak luminal tabakanın düşük permeabilitesi model proteinin arterial ortama salımında 72 saate varan gecikmelere sebep olmuştur. Böylece iç elastik tabakanın permeabilite engeli lüminalle temas halde olan hidrojel tabaka ile uyum halinde olarak ilacın kandan arter duvarına geçişini kontrol etmektedir (69).

1.5.HİDROJELLERLE YAPILAN ÇEŞİTLİ ÇALIŞMALAR

Bioaktif makromoleküllerin hidrojellere yüklenmesini artırmak amacıyla sulu iki fazlı ekstraksiyon yöntemi esas alınarak basit ve etkili bir teknik geliştirilmiştir. Lineer dekstran ve sodyum hidroksitin divinil sülfon ile çapraz bağlanması sonucunda dekstran hidrojelleri sentezlenmiştir. Model protein olarak ovalbumin ve α -amilaz sentezlenen dekstran hidrojellerine yüklenmiş ve salım özellikleri araştırılmıştır. Tamponlanmış protein çözeltisine PEG 10000 ve tuz (KCl, KBr, KI) katılması ile model proteinlerin hidrojellere yüklenen miktarında artış görülmüştür. Hidrojellerden ovalbuminin açığa çıkmasında ani salım olmaması ve proteinin difüzyon kontrollü olarak salımı, hidrojinin yüzeyine adsorbe olmayıp proteinin hidrojele absorbe olduğunu göstermektedir. Ayrıca α -amilazın salımdan sonra etüvde 65°C'de 24 saat boyunca kurutulması sonucunda halen aktif olduğu görülmüştür. Sonuç olarak sulu iki fazlı ekstraksiyon yöntemi ile makromoleküllerin hidrojel yüzeyine adsorbsiyon yerine hidrojinin içine absorbe olması hem tutulma miktarını artırmakta hem de biyoaktif makromoleküllerin denatürasyonunu

engelleyerek tetikleyici ve geciktirilmiş salım yapan uygun bir sistem hazırlanmasını sağlamıştır (70).

Uzun süreli protein uygulanması amacıyla polilaktik koglikolik asit-polivinil alkol (PLGA-PVA) mikroküreleri hazırlanmıştır. Model protein olarak kullanılan bovine serum albumin (BSA) öncelikle PVA hidrojel nanopartikülüne yüklenmiş daha sonra BSA yüklü bu nanopartiküller faz ayırma tekniği ile PLGA mikrokürelerine yüklenmiştir. PLGA-PVA mikrokürelerinin şekilleri, büyüklük ve büyüklük dağılımları, BSA tutulması, in vitro salımı ve BSA stabilitesi incelenmiştir. BSA içeren PLGA-PVA mikrokürelerinin porsuz bir yüzeye ve küresel bir şekle sahip olduğu taramalı elektron mikroskobu ile belirlenmiştir. Ortalama partikül büyüklüğü 180 µm olan PLGA-PVA mikrokürelerinde % 82.31 ± 10.91 oranında tutulan BSA'nın pH 7.4 fosfat tamponunda yapılan salım çalışması sonucunda 2 ayda açığa çıktığı belirtilmiştir. Yapılan stabilite çalışmaları ise BSA'nın mikrokürelerde stabilitesi bozulmadan kaldığını göstermiştir. PVA'nın hidrofilliği ve PLGA'nın hidrofobluğunun biraraya geldiği PLGA-PVA mikrokürelerinde hidrofilik özellik gösteren protein molekülleri hidrofil nanopartikülerinin içinde olmasıyla stabilite sorunlarının engellendiği, ayrıca fizyolojik ortamda PLGA'nın hidrofob özelliği ile yavaş bir biyolojik parçalanma ile uzun süreli salım özelliğinin görüldüğü belirtilmiştir (71).

Enzimatik olarak parçalanabilen hidrojellere alternatif olarak kimyasal olarak parçalanabilen hidrojeller geliştirilmiştir. Bu hidrojeller hidroksietil metakrilat ile dekstranın polimerizasyonu (dex-HEMA) ile elde edilmiştir. Sentezlenen bu hidrojellerin (makroskopik hidrojeller ve mikroküreler) çapraz bağlarında bulunan karbonat esterleri hidrolize hassas özellik göstermektedirler. Dex-HEMA hidrojellerindeki karbonat esterleri pH 4'ün altında asit katalizasyonu ile pH 4'ün üstünde ise baz katalizasyonu ile hidroliz olmaktadır. Hidrojinin su içeriği ve substitüsyon derecesinde değişiklik yapılarak fizyolojik ortamlarda (pH 7.0 ve 37°C) dex-HEMA hidrojellerine istenilen zamanlarda parçalanma özelliği (birkaç günden birkaç aya kadar) verilebilmiştir. Model protein olarak IgG yüklü makroskopik dex-HEMA hidrojellerinde pH 4.0'de yapılan in vitro salım çalışması sonucunda

proteinin 30 günde % 8'den daha az miktarlarda açığa çıktığı bildirilmiştir. Bu sonuç hidrojel matrikste proteinin hemen hemen tamamının tutulduğunu ve belirgin bir degradasyonun olmadığını ortaya koymaktadır. Aynı salım çalışması artan pH değerlerinde (pH 6.0, 7.0, 8.0) yapıldığında ise degradasyona bağlı olarak daha kısa sürelerde daha yüksek miktarlarda proteinin açığa çıktığını göstermektedir. Mikrokürelerde yapılan in vitro salım sonuçları ise (pH 4.0, 7.0, 8.0) çok düşük bir ani salım ile benzer sonuçlar göstermektedir. Sonuç olarak makroskopik dekstran hidrojellerinin ve mikrokürelerinin proteinlerin kontrollü olarak salımında uygun sistemler olduğu belirtilmiştir (72).

Hiyaluronik asit adipik dihidrazit (HA-ADH) ve makromoleküler bir çapraz bağlayıcı olan Poli(etilenglikol)-propiyondialdehit (PEG-dialt) kullanılarak hızlı jelleşme ve şişme özelliklerine sahip potansiyel ilaç taşıyıcı sistemler olan hiyaluronik asit (HA) hidrojelleri hazırlanmıştır. Yeni geliştirilen bu hidrojellerde SEM, DSC analizleri yapılmış, şişme ve in vitro salım özellikleri incelenmiştir. Kurutulmuş ve hidrate durumdaki hidrojelde yapılan SEM analizleri sonucunda, hidrojin kurutulmuş durumda yoğun bir yapıya sahip olduğunu, hidrate durumda ise şişmiş hidrojin yüksek porlu bir yapıya sahip olduğu görülmüştür. HA hidrojelleri ve bileşiklerinin (HA, HA-ADH ve PEG-dialt) DSC ile belirlenen termal analizleri sonucunda HA-ADH ve PEG-dialt'in çapraz bağlanması ile bileşiklerinden farklı mikroyapıya sahip yeni bir materyalin üretildiği saptanmıştır. Hiyaluronidaz (Hase) enzimi ile yapılan in vitro degradasyon çalışmaları HA hidrojellerinin enzimatik olarak parçalanabildiğini göstermiştir. Değişik hidrofobisiteye sahip anti-enflamatuar ilaçların HA hidrojellerine yüklendikten sonra fosfat tampon çözeltisinde yapılan in vitro salım çalışmaları ilacın hidrofobisitesi arttıkça salım hızında azalma olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak hidrofobisitesi yüksek olan ilaçların geciktirilmiş salım özelliği göstererek lokal ağrı, enfeksiyon ve enflamasyonun giderilmesiyle beraber yara iyileştirilmesinde kullanılabilirliği belirtilmiştir (73).

Polivinilasetal dietilaminoasetat'ın (AEA) pH ve sıcaklığın etkisi sonucunda hidrojel oluşumu ve ilaç salımı incelenmiştir. pH 4.0'de AEA çözeltisi içeren diyaliz

tübü 37°C'deki pH 7.4 fosfat tamponuna daldırıldığında tübün içinde AEA hidrojel oluşmuş ve ilaç salımı yavaşlamıştır. 25°C'de saklanmış klorfeniramin maleat yüklü hidrojelden 6 saatte ilacın % 60'ı, 37°C'de saklanmış klorfeniramin maleat yüklü hidrojelden ise 6 saatte ilacın yaklaşık % 10'u açığa çıkmıştır. Ayrıca dinamik ışık saçılımı ile yapılan ölçümler sonucunda da hidrojel formasyonunda sıcaklığın etkili olduğu belirlenmiştir. Taramalı elektron mikroskopisi ile yapılan gözlemler sonucunda AEA çözeltisinin pH 4.0'de düşük viskoziteye sahipken, pH 7.4'de hidrojel oluşumunun meydana geldiği saptanmıştır. Böylelikle oluşan bu hidrojel fizyolojik membranlara uygulanarak kontrollü ilaç salımı için potansiyel bir kullanıma sahip olmaktadır (74).

Jelatin suda çözünen karbodiimit (EDC) ve N-dihidroksisüksinimit (NHS) ile değişik derecelerde çapraz bağlanmıştır. Antibakteriyal proteinler için model protein olan lizozim Dacron'a yerleştirilmiş jelatin jellere yüklenmiş veya işlem görmemiş ve gaz plazma ile işlem görmüş Dacron'a adsorbe ettirilmiştir. Hazırlanan bu sistem kalp kapakçığının değişimi sonucunda ciddi bir komplikasyon olan protez kapak endokarditinde antibakteriyal protein tedavisi olarak kullanılması amaçlanmıştır. Lizozim yüklü örnekler sıçanlara subkutan olarak yerleştirildikten sonra lizozimin in vivo olarak salımı ölçülmüştür. Dacron'un içine jelatinin yerleştirilmesi lizozimin yükleme kapasitesini tek başına Dacron'a yerleştirilmesi ile karşılaştırıldığında artırmıştır. Jelatin jellerinin çapraz bağlama dansitesi arttıkça lizozim alımı azalmıştır. Başlangıçta ani bir salımdan sonra in vivo olarak 30 saatte lizozim sürekli salım yapmıştır. Terapötik seviyede antibakteriyal proteinin doku seviyesini sabit tutmak amacıyla hazırlanan bu sistemden lizozimin sürekli olarak salım göstermesinin önemli olduğu belirtilmiştir (75).

Biyolojik olarak parçalanabilen amilopektin hidrojelinde bazik fibroblast büyüme faktörünü (bFGF) hareketsiz hale getirmek amacıyla metal şelat oluşturma yöntemi uygulanmıştır. Çapraz bağlama işleminden sonra dietilentriaminpentaasetikasit (DTPA) amilopektin ile reaksiyona girmiş ve Cu^{2+} şelasyon metali olarak kullanılmıştır. Bu hidrojellerden bFGF'nin in vitro ve in vivo olarak salım profiline Cu^{2+} 'ın etkisi incelenmiştir. Tamponlanmış çözeltiden

bFGF'in önemsiz miktarlarda salım yaptığı, ayrıca çözeltideki iyonik gücün artırılması da bFGF'nin salım özelliğini etkilemediği belirtilmiştir. Sonuç olarak biyolojik olarak aktif bFGF Cu^{2+} ile şelasyon yoluyla DTPA ile reaksiyona girmiş amilopektin hidrojellerine stabil bir şekilde yüklenebilmektedir. Hidrojelin biyolojik olarak parçalanması sonucunda uzun süreli neovaskularizasyona sebep olarak bFGF salınmaktadır (76).

Proteinlerin kontrollü olarak salımı amacıyla dekstran hidrojellerinin kullanımı değerlendirilmiştir. Glisidil metakrilat ile türevlendirilmiş dekstranın (dex-GMA) sulu çözeltilerinin radikal polimerizasyonu ile dekstran hidrojelleri elde edilmiştir. Protein salımına etki eden faktörler vekstranazın koenkapsülasyonunun salım üzerindeki etkileri çalışılmıştır. Lizozim, albumin ve IgG model proteinler olarak kullanılmıştır. Salım hızı, hidrojelin başlangıçtaki su içeriği ve çapraz bağ yoğunluğuna bağlıdır. Yüksek hidrasyon seviyesine sahip jellerde proteinlerin salımı serbest hacim teorisine göre belirlenmiştir. Hidrojele dekstranazın ilavesi ile parçalanabilen sistemler elde edilmiştir. Jellerin degradasyon hızı jel içindeki dekstranazın konsantrasyonuna ve jellerin çapraz bağ derecesine bağlıdır. Dekstranazın jel içine ilavesi ile ayrıca enkapsüllenmiş proteinin salımı değiştirilebilmiştir. Sonuç olarak hidrojel matriksin vekstranaz konsantrasyonunun uygun bir şekilde seçimi ile proteinlerin geciktirilmiş salım profilleri elde edilebilmiştir (77).

Metotreksat (HGM) ve sisplatin (HGC) içeren kollagen-poli (HEMA) hidrojelleri hazırlanmış ve ilaç içerikleri açısından değerlendirilmiştir. Yüzeyden çapraz bağlı HGM (S-HGM) ile derinden çapraz bağlı HGM'nin (D-HGM) in vitro salım profilleri çalışılmış ve çapraz bağısız HGM (U-HGM) ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak bütün tip hidrojellerden ilaçların kontrollü olarak açığa çıktığı belirlenmiştir. Çapraz bağlı hidrojeller MTX'ı çapraz bağısız hidrojellere göre daha yavaş olarak salım yapmışlardır. Uygulanan iki tip çapraz bağlama sonucunda ise derinden çapraz bağlı hidrojellerin yüzeyden çapraz bağlı hidrojellere göre ilaç salımını daha fazla yavaşlatmıştır (78).

Floresan izotiyosiyanat (FITC) veya polipeptit içeren jelatinin dekstran dialdehitler ile çapraz bağlanması sonucunda hidrojel filmler hazırlanmış ve saklama süresini 4°C’de artırarak salım ve mekanik özellikleri değerlendirilmiştir. Reolojik ve NMR ölçümlerinin sonucunda jelatin hidrojel filmlerin saklama süresinin artırılması ile mekanik özelliklerinin geliştirildiği belirtilmiştir. Mekanik özelliklerin değişmesinden bileşiklerin salım kinetikleri de etkilenmiştir. Hidrojelin saklama zamanı arttıkça FITC-dekstran veya polipeptitlerin hidrojellerden salımı azalmıştır. Ayrıca epidermal büyüme faktörünün (EGF) de çapraz bağlı jelatin hidrojellerinden saklama süresinin artması ile salım miktarında azalma meydana gelmiştir fakat diğer polipeptitler ile karşılaştırıldığında relatif olarak daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak salım özelliklerinin hidrojele yüklenen proteinin yapısal özelliklerine bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir (79).

Molekül ağırlığı 2000 (2K) ile 20000 (20K) arasında ve konsantrasyonu % 10 ile % 30 (a/a) arasında değişen polietilen glikol (PEG) diakrilatın yüzeylerarası fotopolimerizasyonu ile hidrojel membranlar hazırlanmıştır. Vitamin B₁₂, miyoglobine, ovalbumin, albumin ve IgG’nin difüzyon özelliklerine membrandaki PEG diakrilatın molekül ağırlığı ve konsantrasyonunun etkisi araştırılmıştır. PEG 2K, 4K ve 8K diakrilat ile hazırlanmış hidrojellerin miyoglobine (22 kDa) eşit veya daha büyük proteinler için geçirgen olmadığı fakat PEG 20K diakrilat ile hazırlanan hidrojellerin ovalbumine (45 kDa) eşit veya daha büyük proteinler için geçirgen olmadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak PEG diakrilatın molekül ağırlığı ve konsantrasyonunda yapılan değişiklikler ile hidrojin permeabilite özelliklerinde büyük değişiklikler olduğu belirtilmiştir. PEG diakrilat hidrojelleri albumin ve immün cevaba spesifik bileşiklerin (IgG, IgM ve C1q) difüzyonunu engellemekte fakat insülin ve glikozun hızlı bir şekilde permeasyonunu sağlamaktadır (80).

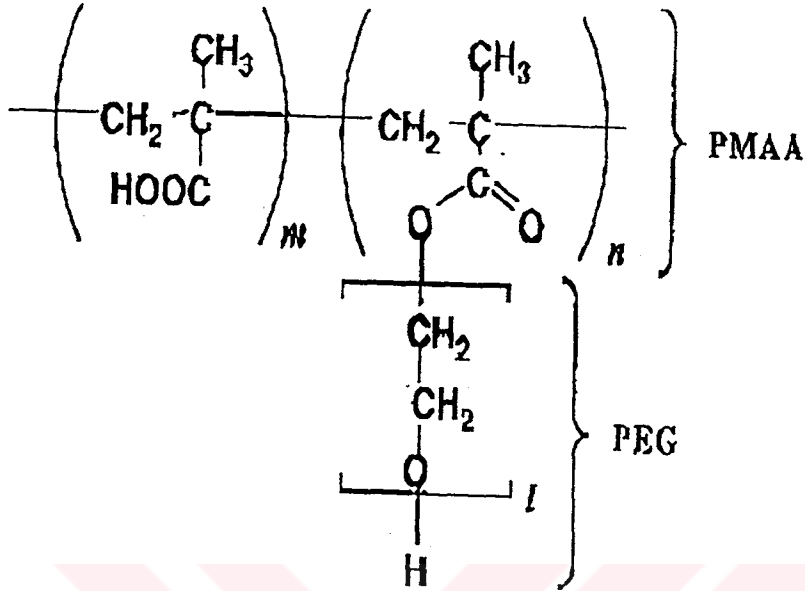
Model protein olarak bovin serum albumin (BSA) dondurma ve eritme işlemi sırasında poli(vinil alkol) (PVA) hidrojel filmlerine yüklenmiş ve salım özelliklerine dondurma ve eritme siklusunun sayısı ve BSA’nin stabilitesinin etkisi incelenmiştir. Sonuç olarak BSA jel yapısına başarılı bir şekilde yüklenmiştir. 3 veya 5 dondurma ve eritme siklusu sonrasında hazırlanan jellerden açığa çıkan BSA profilleri arasında

anlamlı bir fark olmadığı ancak 3 siklus sonrasında hazırlanan jellerden salınan BSA'nın miktar ve hızı daha fazla olmuştur (81).

Carbopol 934 ve Poloxamer 407 (PF 127) olmak üzere iki hidrojelinden metotreksatın (MTX) difüzyon özellikleri incelenmiş ve PEG 1500 ile vazelin içeren merhemlerdeki difüzyon özellikleri ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak hidrojellerde MTX'in akısının merhemlere göre 20 kat daha fazla olduğu belirtilmiştir (82).



2. P(MAA-g-EG) HİDROJELLERİ :



Şekil 1.1. P(MAA-g-EG)'ün Kimyasal Yapısı

pH'ya hassas hidrojeller peptit ve de proteinlerin oral yoldan uygulanması açısından uygun adaylardır. İlk olarak Klier ve ark. tarafından sentezlenen polietilen glikol ile bağlanmış polimetakrilik asit polimerlerinin P(MAA-g-EG) kimyasal yapısı yukarıda görülmektedir. (83). Düşük pH değerlerinde bu hidrojeller büzülmüş durumda iken proteini midenin asit ortamından korumaktadırlar. Sistem mideden bağırsağa ilerlerken pH artışı sebebiyle hidrojelin ağ yapısında şişme meydana gelecek ve de protein açığa çıkacaktır (84).

Kopolimerin yapısı P(MAA-g-EG) hidrojellerinin şişme özelliğini etkilemektedir. Düşük pH'larda; pH 4.6'dan daha düşük pH değerlerinde P(MAA-g-EG) hidrojelleri PEG zincirlerinin eter grupları ile protonlanmış asit grupları arasında meydana gelen hidrojen bağı ile stabilize olmuş interpolimer bir kompleks göstermektedirler. pH 4.6'nın üzerindeki çözeltilerde, asitik özellikli gruplar iyonize olmaya başlarlar. Asılı gruplar iyonize oldukça ağ yapıda bulunan komplekslerin sayısı azalmaktadır. Komplekslerin dissosiyasyonu olmasından dolayı çapraz bağlama derecesinde belirgin bir düşüşe sebep olmaktadır (85).

P(MAA-g-EG) hidrojellerinin kompleks derecesi ortamın pH değerine, kopolimer kompozisyonu ve ana zincire bağlı PEG moleküllerinin molekül ağırlıklarına bağlıdır. Kompleks pH değeri 4.6 veya daha düşük pH değerine sahip çözeltilerde meydana gelmektedir. Hidrojellerde MAA miktarı arttıkça (MAA/EG=4), kompleks derecesi azalmaktadır. Eşit molar orana sahip hidrojellerde (MAA/EG=1) kompleks derecesi en fazla olmaktadır. Ayrıca MAA ana zincirine bağlı uzun PEG gruplarının (molekül ağırlığı 1000) kısa PEG gruplarına göre (molekül ağırlığı 200 ve 400) hidrojellerde daha yüksek miktarlarda kompleksasyon meydana getirdiği gözlemlenmiştir (86). Polimerin ağ yapının ortalama por büyüklüğü ortamın pH değerinden etkilenmektedir. Kompleksin oluştuğu düşük pH değerlerinde ağ yapının por büyüklüğü 70 Å iken pH değerinin artması ile fiziksel çapraz bağların iyonize olması ve polimer zincirin uzaması sonucunda ağ yapının por büyüklüğünde belirgin bir artış meydana gelerek 210 Å olmaktadır (87).

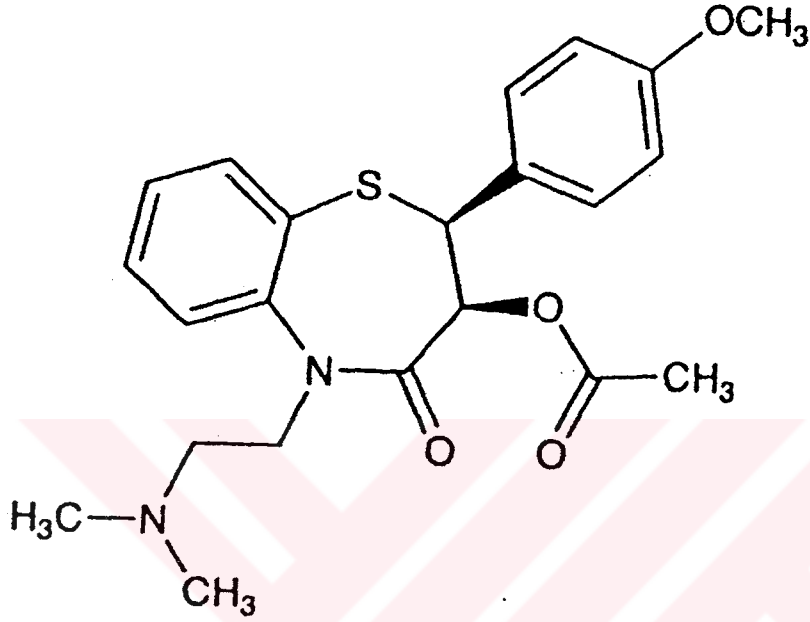
P(MAA-g-EG) hidrojelleri mukoadhezif özellik göstermektedir. PH 3.2 ve 7.4'de yapılan adezyon çalışmaları sonucunda pH 7.4'de adezyonun belirgin bir şekilde pH 3.2'ye göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu şartlarda gözlemlenen mukoadhezifliğin sebebi pH 7.4'de sistemin dekompleks durumda olması sonucunda serbest PEG zincirlerinin bir çapa görevi yaparak mukoadhesif özellik gösterdikleri belirlenmiştir. (88,89)

Bu polimerlerdeki polimetakrilik asidin yapısında bulunan negatif yüklü karboksil grupları ince bağırsağın üst kısımlarındaki epitel hücrelerinin bağlantılarında bulunan kalsiyum ile bağlanarak epitel hücrelerinden absorpsiyonun artmasına sebep olmaktadır (90).

P(MAA-g-EG) kopolimer sistemi serbest radikal çözelti polimerizasyonu ile sentezlenmektedir (86).

3. DILTIAZEM HİDROKLORÜR HAKKINDA GENEL BİLGİLER

3.1. Diltiazem Hidroklorürün Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri



Şekil 1.2. Diltiazem Hidroklorürün Kimyasal yapısı

Açık formülü yukarıda verilen diltiazem HCl için kabul edilen kimyasal isim: (2S-cis)-3-(asetiloksi-5-[2-(dimetilamino)etil]-2,3-dihidro-2-(4-metoksi-fenil)-1,5-benzotiazepin-4(5H)-monohidroklorür'dür.

Kapalı formülü $C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$, molekül ağırlığı 450.98 g/mol'dür.

Diltiazem HCl, beyazdan gri beyaza dönüşen renkte kristal bir tozdur. Kokusuz ve acı bir tadı olan tozdur (91).

Su, metanol ve kloroformda serbestçe çözünür. Absolü etanolde az çözünür. Benzende pratik olarak çözünmez (92).

3.2. Diltiazem hidroklorürün Teşhisi

Diltiazem HCl infrared spektrumu, ultraviyole spektrumu, elemental analiz, iyon seçici elektrotlar ve voltmetrik, amperometrik yöntemlerle elektrokimyasal analiz, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi, kapiller elektroforezi, gaz kromatografisi, kolorimetri ve spesifik rotasyon yöntemleri ile teşhis edilebilmektedir (91).

3.3. Diltiazem Hidroklorürün Miktar Tayini

Diltiazem hidroklorürün miktar tayini için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (91, 93-96), ultraviyole spektrofotometrisi (97-101) kapiller elektroforezi, gaz kromatografisi (91) yöntemleri kullanılmaktadır.

3.4. Diltiazem Hidroklorürün Farmakokinetiği

Diltiazem hidroklorür karaciğerde önemli ölçüde ilk geçiş etkisine uğramaktadır. İnsanlarda faz I metabolik yolları N-dealkilasyon ve N-deasetilasyondur (94). Demetilasyon veasetilasyonun başlıca ürünleri N-demetildiltiazem veasetildiltiazemdir.

Oral yoldan kullanıldıktan sonra yaklaşık % 40 biyoyararlanım göstermektedir (95). Plazma yarılanma ömrü yaklaşık 3-4 saattir (102). Proteinlere % 90 oranında bağlanmaktadır ve plazmadan yüksek klirense sahiptir (98).

3.5. Diltiazem Hidroklorürün Farmakolojisi

Diltiazem HCl benzotiazepin türevi bir kalsiyum antagonistidir. Akut miyokard enfarktüsü geçirmiş kimselerde uzun süre kullanılmasının kardiyoprotektif etki gösterdiği ve kardiyovasküler mortaliteyi azalttığı

bulunmuştur; ancak enfarktüs sırasında pulmoner konjestiyon geçirmiş olanlarda mortaliteyi olumsuz etkilediğinden onlarda kullanılmaması tavsiye edilmiştir.

Hipertansiyon tedavisinde başlangıçta günde 60 mg dozda verilir, alınan cevaba göre günlük doz 360 mg'a kadar artırılabilir. Günlük doz üçe bölünerek 3 kezde alınır. Ek sık görülen yan etkileri ödem, baş ağrısı, başdönmesi, yorgunluk (asteni), sinüs bradikardisi, ateş basması, konstipasyon ve 1° A-V blokudur. Karaciğer transaminazlarının plazma düzeyini yükseltebilir (103).

3.6. Diltiazem Hidroklorürün İlgili Farmasötik Teknoloji Alanında Yapılan Çalışmalar

Diltiazem hidroklorürün tabletleri (97,98,101,104), mikropartikülü (105) ve rektal jeli (58) hazırlanmıştır.

Diltiazemin sürekli salımı amacıyla guar zımkı ile tablet formülasyonları hazırlanmış ve çeşitli in vitro salım ortamlarında değerlendirilmiştir. Sonuç olarak hazırlanan bu tabletlerin piyasadaki diltiazemin sürekli salım yapan formlarına göre basit ve ekonomik bir alternatif olduğu belirtilmiştir (97). Pektin, HPMC ve jelatin ile granule edilen diltiazem hidroklorürün direkt basım yöntemi ile matriks tabletleri hazırlanmıştır. Hazırlanan tabletlerin şişme özelliklerinin ve salım profillerinin salım kinetiği üzerine etkileri değerlendirilmiştir (98). Poli(akrilamido-2-metil-1-propansülfonat sodyum-metil metakrilat) (PAMPSNa/MMA) ile diltiazem HCl'ün kompleksi hazırlanmış ve daha sonra bu kompleksler tablet halinde basılmıştır. Tabletlerden ilaç salım özellikleri ayrıca tablet geometrisinin salım profiline olan etkisi belirlenmiştir (101). Diltiazem hidroklorür içeren gecikmeli salım tabletleri üç farklı viskoziteye sahip CM tip hidroksietilselüloz (HEC) kullanılarak hazırlanmıştır. Gastrointestinal sisteme zaman kontrollü veya bölgeye spesifik ilaç taşıyıcı sistemlerin uygulanmasında uygun viskoziteye sahip HEC ile hazırlanan gecikmeli salım tabletlerinin faydalı olacağı belirtilmiştir (104).

Akrilat-metakrilat kopolimerleri kullanılarak püskürterek kurutma yöntemi ile diltiazem hidroklorür içeren mikropartiküller hazırlanmıştır. Polimer tipinin ve püskürterek kurutma sırasında üretim koşullarının değiştirilmesi ile ilaç salım hızının kontrol edilebildiği belirtilmiştir (105).

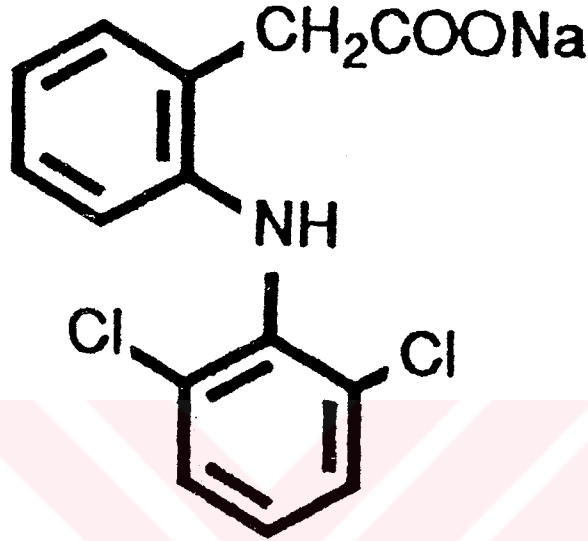
Rektal yoldan diltiazem hidroklorür ve indometazin uygulanması amacıyla termal jelleşme özelliğine sahip ksiloglukan jelleri ile çalışılmıştır. Rektal mukozaya zarar vermediğinden ve toksik olmadığından dolayı rektal yoldan ilaç uygulanması için ksiloglukanın uygun jeller olduğu belirtilmiştir (57).

3.7. Diltiazem Hidroklorürün Türkiye'deki Preparatları

Dilticard	tablet	(30-60 mg)	İlsan
Diltizem	tablet	(30-60 mg)	Mustafa Nevzat
Altizem SR	kapsül	(120 mg)	Nobel
Kardil	tablet	(60-120 mg)	Atabay

4. DİKLOFENAK SODYUM HAKKINDA GENEL BİLGİLER

4.1. Diklofenak Sodyumun Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri



Şekil 1.3. Diklofenak Na'un Kimyasal yapısı

Açık formülü yukarıda verilen diklofenak Na kimyasal olarak 2-{(2,6) amino} diklorofenil benzenasetik asit monosodyum tuzu yapısındadır. Yapısında C % 52.85, H % 3.17, Cl % 22.29, N % 7.23, O % 10.06 oranında bulunmaktadır. Erime derecesi 283-285°C'dir (91).

Kapalı formülü C₁₄H₁₀Cl₂NNaO₂ olup molekül ağırlığı 318.13'dür (90, 91, 102).

Sarımsı beyaz kristal veya kristalize toz olan diklofenak Na, metanol ve etanolde kolayca çözünür, suda ve glasiyel asetik asitte az çözünür, pratikte eterde çözünmez (102).

Zayıf asit karakterli olan diklofenak Na'un pKa'sı 4 olup, tatsız ve az miktarlarda higroskopik tozdur (90).

4.2. Diklofenak Na'un Teşhisi

Diklofenak Na'un metanoldeki 1/250'lik çözeltisinin 1 ml'sine 1 ml nitrik asit eklenince koyu kırmızı renk meydana gelir.

Diklofenak Na'un 3 mg'ı alev renklendirici test ile yeşil ışık oluşturur.

Önceden kurutulmuş diklofenak Na'un infrared spektrofotometresinde potasyum bromür disk metodu ile infrared absorpsiyon spektrumu tayin edilebilir.

Diklofenak Na'un 1/100'lük çözeltisi hazırlanarak kalitatif teşhis edilebilir (102). Gaz-likit kromatografisi, ince tabaka kromatografisi, NMR spektroskopisi, gaz kromatografisi, kütle spektroskopisi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi, UV spektrofotometrik metot ve kolorimetrik metot ile de teşhis edilebilir (90).

4.3. Diklofenak Na'un Miktar Tayini

Diklofenak Na'un miktar tayini UV spektrofotometrik (106-111), spektrofourometrik (112) ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (113-115) yöntemleri ile yapılabilir.

4.4. Diklofenak Na'un Farmakokinetiği

Diklofenak Na mide-bağırsak kanalından tam olarak ve çabuk absorbe edilir. Maksimum plazma düzeyine 1.5-2 saatte ulaşır. Plazma proteinlerine fazla bağlanır. Karaciğerde esas olarak hidroksillenmek ve konjugasyon suretiyle inaktive edilir. Böbreklerden ve kısmen karaciğerden itrah edilir. Eliminasyon yarılanma ömrü 1-2 saat kadardır (103).

4.5. Diklofenak Na'un Farmakolojisi

Analjezik, antienflamatuar ve antipiretik etkili bir fenilasetik asit türevidir. Siklooksijenaz ve lipoksijenaz enzimlerini inhibe ederek prostaglandin sentezini engeller (116).

Erişkinlere başlangıçta günde 3 kez 25-50 mg dozunda ağızdan verilir; sonra azaltılır. I.M. olarak 75 mg dozda günde 1-2 kez enjekte edilebilir. Çocuklarda günlük dozu 1-3 mg/kg'dır.

Yan etkilerinin çoğu gastrointestinal sistemle ilgilidir (101). Başlıca periferik ödem, cilt reaksiyonları, kaşıntı, baş dönmesi, baş ağrısı, uyku hali, bulantı, halsizlik, diyare, transaminaz yükselmesi, kanamaya eğilim gibi yan etkileri vardır (116).

4.6. Diklofenak Sodyum ile İlgili Farmasötik Teknoloji Alanında Yapılan Çalışmalar

Diklofenak sodyumun tabletleri (108, 117, 118), matriks granülleri (107, 110) mikroküreleri (119, 120), mikrokapsülü (121), mini matriksleri (111) hazırlanmıştır.

Diklofenak sodyumun HPMC kullanılarak direkt basım yöntemi ile matriks tabletleri hazırlanmıştır. Formülasyon ve üretim faktörlerinin tabletlerden ilaç salım profiline olan etkileri değerlendirilmiş ve HPMC matriks tabletlerinin mekanik özelliklerinin ilaç salımında çok önemi olmadığı belirlenmiştir (117). İki farklı boyutlarda polikarbofil granülleri ile formüle edilerek diklofenak sodyum içeren tabletler hazırlanmış, in vitro ve in vivo özellikleri değerlendirilmiştir (108). Diklofenak sodyum içeren aljinat mikroküreleri, karagen, sodyum aljinat, pektin, sodyum karboksimetilselüloz (NaCMC), kitre zıncı ve HPMC ile formüle edilerek tabletleri hazırlanmıştır. Dolgu maddesinin tipi, viskozitesi ve oranının ilaç salımında etkili faktörler olduğu belirlenmiştir. Uygun dolgu maddesinin

seçilmesiyle ilacın gastrointestinal sistemde kalış süresinin ayarlanabileceği ve ilacın uzatılmış salımının sağlandığı belirtilmiştir (118).

Model ilaç olarak diklofenak sodyumun, karnauba mumu, hidroksipropilselüloz (HPC-SL), metakrilik asit kopolimeri (Eudragit L-100) ve sodyum klorür (NaCl) gibi hız kontrol edici ajanlar kullanılarak mum matriks granülleri hazırlanmıştır. Şişme ve çözünürlük gibi fizikokimyasal özellikleri esas alınarak seçilen uygun hız kontrol edici ajan ile formüle edilen mum matriks granüllerden ilacın istenilen salım profilinin kolayca sağlanabileceği belirtilmiştir (97). Diğer bir çalışmada ise hazırlanan bu sistemin ilaç salım profili esnasındaki yapısal değişiklikleri cıvalı porozimetre ile belirlenmiştir (110).

Çapraz bağlayıcı olarak CaCl_2 kullanılarak sodyum aljinatla diklofenak sodyumun mikroküreleri hazırlanmış ve mikrokürelerin optimizasyonu için faktoriyel tasarım uygulanmıştır (119). Kolona hedeflendirmek amacıyla diklofenak sodyum kitozan mikrokürelerine yerleştirilmiş ve bu mikrokürelerin Eudragit L-100 ve Eudragit S-100 ile enkapsülasyonu yapılmıştır (120).

Wurster yöntemi ile, oral suspansiyonlar için uygun olacak şekilde diklofenak sodyumun uzatılmış etkili mikrokapsülleri hazırlanmış ve kaplama maddesinin kalınlığının ayarlanması ile ilacın salım hızının kontrol edilebildiği belirtilmiştir (121).

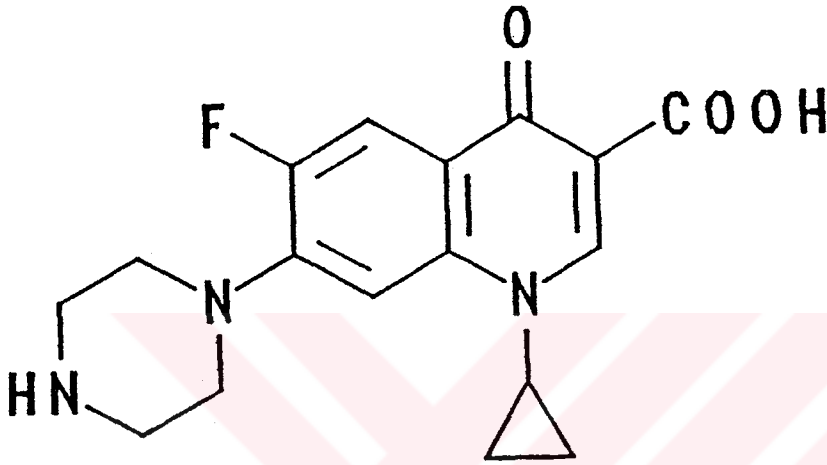
Uzatılmış etkili salım sistemi için diklofenak sodyumun karagen, keçi boynuzu, karaya ve ksantan zankı ile hazırlanan mini matriks formülasyonları sert jelatin kapsül içine yerleştirilmiştir. PH 7.0'de yapılan çözünme hızı çalışmaları, karagen dışındaki diğer üç hidrofilik zankı ile hazırlanan formülasyonlardan uzun etkili salım sağlanabildiği belirtilmiştir (111).

4.7. Diklofenak Sodyumun Türkiye'deki Preparatları

Voltaren Ophta	damla	1mg/ml	Ciba-Geigy
Voltaren	jel	% 1	Ciba-Geigy

**TC YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

5. SİPROFLOKSAZİN HAKKINDA GENEL BİLGİLER



Şekil.1.4. Siprofloksazin'in Kimyasal Yapısı

5.1. Siprofloksazin Hidroklorürün Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri

Yukarıda açık formülü verilen siprofloksazin hidroklorür, 1-siklopropil-6-fluoro-1, 4-dehidro-4 okso-7- (1-piperazinil)-3-kinolinkarboksilik asit, monohidroklorürdür (91, 122).

Beyaz, beyazımsı sarı, açık sarı tozdur.

Molekül ağırlığı 367.85'tir (91). Çift tuz yapısındaki bu madde baz (pKa 6.0) ve asit (pKa 8.8) fonksiyona sahiptir. Erime derecesi 270-275°C olup, izoelektrik noktası 7.4'tür.

5.2. Siprofloksazin Hidroklorürün Teşhisi

Siprofloksazin hidroklorürün infrared spektrumu USP Siprofloksazin hidroklorür RS ile aynı dalga boylarında karşılaştırılarak teşhis edilebilir.

Maddenin teşhisi kromatografik yöntemlerle de yapılabilir. İnce tabaka kromatografisiyle metilen klorür; metanol; amonyum hidroksit; asetonitril (4:4:2:1) çözücü sistemindeki Rf değeri USP Siprofloksazin hidroklorür ile karşılaştırılarak teşhis yapılabilir (122).

5.3. Siprofloksazin Hidroklorürün Miktar Tayini

Siprofloksazin hidroklorürün miktar tayini UV spektrofotometrik (123-125), 1. dereceden türev UV spektrofotometrik (126) ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (127-135) yöntemleri ile yapılabilir.

5.4. Siprofloksazin Hidroklorürün Farmakokinetik Özellikleri

Mide-barsak kanalından genellikle iyi absorbe edilir ve ağız yolundan kullanılır. Gastrointestinal absorpsiyon oranı % 60'ın üzerindedir. Yarılanma ömrü 4 saatten azdır. Plazma proteinlerine bağlanma oranı % 14 ile % 51 arasındadır. Karaciğerde P-450 sitokromuna bağımlı mikrozomal enzimler tarafından metabolize edilir.

5.5. Siprofloksazin Hidroklorürün Farmakolojisi

Siprofloksazin HCl sistemik infeksiyonlara karşı halen en fazla denenmiş olan fluorokinolondur. Ağızdan tablet şeklinde veya I.V. yoldan 50 veya 100 mg'lık infüzyon solusyonu şeklinde kullanılır. İdrar yolu infeksiyonlarında ağızdan günde iki kez 250-500 mg verilir; diğer infeksiyonlarda (üst ve alt solunum yolu

infeksiyonları, gastrointestinal kanal infeksiyonları, cilt ve yumuşak doku infeksiyonları ve osteomyelit gibi) günde iki kez 250-750 mg uygulanır (103).

5.6. Siprofloksazin Hidroklorür ile Farmasötik Teknoloji Alanında Yapılan Çalışmalar

Siprofloksazin hidroklorürün nanopartikülleri (129, 133, 136-138), mikroküreleri (139), lipozomları (126, 134, 140), niozomları (141), implantları (124, 128, 131) ve nazal preparatları (142) hazırlanmıştır.

Siprofloksazin hidroklorürün poli(izobutylsiyanoakrilat) (PIBCA) nanopartikülleri hazırlanmış (129, 136, 137) ve ilaç salımı incelenmiştir. Nanopartiküllerdeki siprofloksazin içeriğinin polimerizasyon ve inkübasyon ortamındaki ilaç konsantrasyonundan etkilendiği ve inkorporasyon yöntemi ile hazırlanmış nanopartiküllerden ilaç salımının adsorpsiyon yöntemi ile hazırlanmış nanopartiküllerden ilaç salımına göre daha yavaş olduğu belirlenmiştir. Ayrıca ilaç yükleme oranlarının da inkorporasyon yöntemi ile hazırlanmış nanopartiküllerde % 16 iken, adsorpsiyon yöntemi ile hazırlanmış nanopartiküllerde % 4 oranında olduğu belirlenmiştir (129). Siprofloksazinin serbest ve PIBCA nanopartiküllerine yüklü halde tavşanlara IV infüzyonu verilmiş ve ilacın her iki durumdaki farmakokinetik parametrelerinde belirgin farklılıklar olduğu belirlenmiştir (126). Emülsiyon polimerizasyonu ile hazırlanmış PIBCA nanopartiküllerinde izobutylsiyanoakrilat monomerinde polimerizasyon inhibitörü olarak bulunan SO_2 'in miktarı belirlenmiş ve SO_2 'in polimerizasyon prosesinin modifikasyonu için önemli bir faktör olduğu belirtilmiştir. SO_2 'in % 1.5 oranında kullanıldığı durumlarda siprofloksazin hidroklorür % 90 yükleme oranına sahip olmaktadır. (137).

Yapılan diğer bir çalışmada ise siprofloksazin yüklü polietilbutylsiyanoakrilat (PEBCA) nanopartikülleri hazırlanmıştır. Nanopartiküller emülsiyon polimerizasyonu yöntemi ile hazırlanmış fakat polimerizasyon ortamında aseton bulunduğu durumlarda, % 82 oranında başarılı yükleme sonuçlarının elde edildiği belirtilmiştir (133).

Kolistin ve siprofloksazin hidroklorürün serbest ve polialkilsiyanoakrilat nanopartiküllerine bağlı halde iken mononükleer fagosit sistem organlarında bulunan Salmonella'ya hedeflendirme ve ortadan kaldırmadaki etkinlikleri araştırılmıştır. Sonuç olarak bakterial hücrelerin bulunduğu mikro-çevre, antimikrobiyal ajanlara karşı olan geçirgenliklerinde belirgin farklılıklar göstermekte oldukları belirtilmiştir (138).

Siprofloksazin hidroklorür içeren Poli(L-laktik asit) mikrokürelerinin bakteri hücrelerini ortadan kaldırmak amacıyla gerekli olan minimum inhibisyon konsantrasyonunun (MIC) üzerinde birkaç gün boyunca ilacın sürekli olarak salımı için formülasyon faktörleri belirlenmiştir (139).

Siprofloksazin hidroklorürün yumurta fosfatidilkolin (EPC):kolesterol (Chol) veya dipalmitoilfosfatidilkolin (DPPC):Chol ile nötral, (-) ve (+) yüklü lipozomları hazırlanmış, yükleme kapasitesi, % salım özellikleri ve başlangıçtaki ilaç konsantrasyonunun enkapsülasyon yüzdesine etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak en yüksek enkapsülasyon kapasitesine sahip olduğundan (% 63.9±4.0) ve en yavaş salım özelliğini gösterdiğinden dolayı nötral lipozomların hazırlanmasının avantajlı olacağı belirtilmiştir (116). Siprofloksazin, norfloksazin ve yeni sentezlenmiş bir bileşik (CNV-8912) DPPC lipozomlarına yerleştirilmiş ve enkapsülasyon etkinliği belirlenmiştir. Sonuç olarak yüksek konsantrasyonlarda fosfolipit kullanılmasının enkapsülasyon etkinliğini artırdığı belirtilmiştir (124). Fosfatidilkolin: kolesterol (55:45 molar oranları) içeren siprofloksazin lipozomları beş farklı tipte nebulizatöre yerleştirilmiştir. Nebulizatörlerdeki siprofloksazin dozunun farklı yüzdelerde akciğere ulaştığı, bunun sebebinin de değişik tipte nebulizatör kullanımından kaynaklandığı belirtilmiştir (140).

Siprofloksazin ve norfloksazin niozomlarının enkapsülasyonu ve nazal, intestinal absorpsiyonları araştırılmıştır. Sürekli salım özelliği verecek şekilde ilaçların % 80'i niozomlara yerleştirilmiştir. Niozomda enkapsülasyonları

antibakterial bileşiklerin serbest hallerine göre stabilitelerini de iyileştirdiği belirtilmiştir (141).

Osteomiyelitin lokalize tedavisi amacıyla siprofloksazin hidroklorür içeren PLGA implantları hazırlanmış, implantasyon bölgesinden kemiğe ilaç penetrasyonu incelenmiştir. In vivo çalışmalar sonucunda PLGA implantlarının 5-6 hafta arasında hemen hemen tamamen resorbe oldukları belirlenmiş ve siprofloksazinin implantasyon bölgesinden 70 mm'ye kadar olan kısmında 6 hafta boyunca ilacın minimum inhibisyon konsantrasyonundan daha yüksek değerlerde bulunduğu analiz edilmiştir (124). Diğer bir çalışmada ise cerrahi yara enfeksiyonlarını engellemek amacıyla antibiyotiklerin (siprofloksazin ve sefazolin) bölgeye spesifik olarak salımı için gliseril monostearattan hazırlanmış implant sistemleri yapılmıştır. Implamlardan siprofloksazinin (80 saat) salımı sefazoline (25 saat) göre çok daha uzun sürede olmuştur (128). Siprofloksazin içeren PLA ve PLGA mikrokapsülleri basılarak siprofloksazin implantları hazırlanmıştır. Salım çalışmalarından elde edilen siprofloksazinin miktar tayini için hassas bir HPLC metodu geliştirilmiştir. (131).

Hidroksipropilmetilselüloz (HPMC), hidroksietil selüloz (HEC) ve metil selüloz (MC) gibi bioadesif özellikteki polimerlerle hazırlanan siprofloksazinin jel formülasyonu tavşanların nazal boşluğuna uygulanmıştır. Elde edilen biyoyararlanım sonuçları doğrultusunda HPMC içeren jel formülasyonların oral yoldan uygulamaya göre bir alternatif olabileceği belirtilmiştir (142).

5.7.Siprofloksazin Hidroklorürün Türkiye'deki Piyasa Preparatları

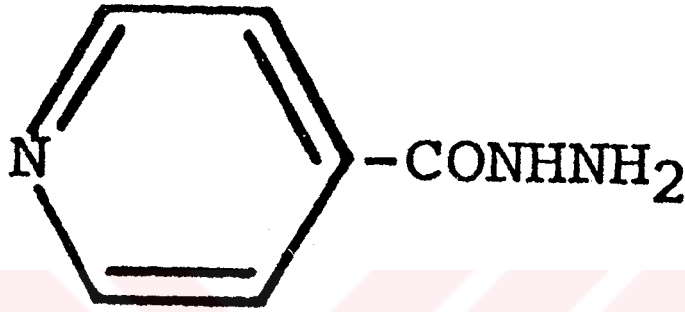
Proxacin	tablet	250-500 mg	Fako
Ciflosin	tablet	250-500 mg	Deva
Ciprasid	tablet	250-500 mg	Yeni İlaç
Ciproktan	tablet	500 mg	Koçak
Cipro	tablet	500 mg	Biyofarma
Ciproin	tablet	250-500 mg	Bayer
Ciprosazin	tablet	250-500 mg	Yurtoğlu Farma

Roxin	tablet	250-500 mg	İbrahim Ethem
Sanset	tablet	250-500 mg	Sanovel
Sifloks	tablet	500 mg	Eczacıbaşı
Siprobek	tablet	250 mg	Nobel



6. IZONIAZİD HAKKINDA GENEL BİLGİLER

6.1. İzoniazidin Yapısal Özellikleri ve Fizikokimyasal



Şekil.1.5. İzoniazid'in Kimyasal Yapısı

Yukarıda açık formülü verilen izoniazid, 4-piridin karboksilik asit hidrazid'dir (81, 112, 133).

Renksiz veya beyaz kristaller veya beyaz toz halde ve kokusuzdur (133).

Molekül ağırlığı 137.14'tür (81, 112, 133).

% 1'lik sulu çözeltilerinde pH 5.5-6.5 arasındadır.

Erime derecesi 170-173°C'dir. Suda 25°C'de % 14, alkolde 25°C'de % 2, kloroformda % 0.1 oranında çözünür. Pratik olarak eter ve benzende çözünmez (81).

6.2. İzoniazidin Teşhisi

İsoniazid infrared spektroskopisi, UV spektrofotometrik ve kromatografik yöntemlerle teşhis edilebilir (122)

6.3. İzoniazidin Miktar Tayini

İsoniazidin miktar tayininde UV spektrofotometri (144, 145) 1. Dereceden türev spektrofotometri (146), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (147,148) ve kapiller elektroforez (149) yöntemleri kullanılmıştır.

6.4. İzoniazidin Farmakokinetiği

İsoniazid mide-bağırsak kanalından çok çabuk ve tama yakın absorbe edilir; biyoyararlanımı yaklaşık % 90'dır. Biyolojik membranları kolayca geçen bir maddedir. 1-2 saat içinde plazmadaki maksimum konsantrasyon düzeyine ulaşır; 6 saat içinde konsantrasyon % 50'ye veya daha aşağıya düşer. Plazmada ancak % 10 oranında proteine bağlanır. Yarılanma ömrü ise 1-4 saat arasında değişmektedir (143).

6.5. İzoniazidin Farmakolojisi

İzonikotinic asidinin hidrazidi olan izoniazid tüberküloza karşı kullanılmaktadır. Çok düşük konsantrasyonlarda *Mycobacterium tuberculosis*'i etkileyebilmektedir. Minimum tüberkülostatik konsantrasyonu 0.015- 0.025 µg/ml'dir. İsoniyazid, mikobakterilerde ileri derecede morfolojik değişiklikler meydana getirir. İsoniazid, *Mycobacterum tuberculosis*'ten başka bakteriler üzerinde antibakteriyel etki yapmaz. Bu bakımdan çok dar spektrumlu bir ilaçtır.

Mutad dozu erişkinlerde ağızdan günde 300 mg'dır ve genellikle bir defada verilir. En sık görülen yan etkileri ciltte döküntü, ateş ve sarılıktır. Daha seyrek

görülen önemli bir yan tesir periferik ve santral sinir sistemi ile ilgili olanlarıdır (103).

6.6. İzoniazid ile Farmasötik Teknoloji Alanında Yapılan Çalışmalar

İsoniazidin matriks sistemleri (144), lipozomları (146) ve tabletleri (150) hazırlanmıştır.

İsoniazidin kuru karıştırma ve düşük dansiteli köpük metodu ile PLGA matriksleri hazırlanmıştır. İlacın salımı, kuru karıştırılarak hazırlanmış matrikslerden por difüzyonu ile köpük matrikslerden ise polimer zincirleri arasından olmaktadır (144).

İsoniazid ve rifampisin aynı lipozom formülasyonunda hazırlanmıştır. İsoniazid sulu fazda tutulmuş, rifampisin ise lipit membrana bağlanmıştır. Doymuş ve doymamış fosfolipitlerle hazırlanan lipozomların fraksiyonlarındaki % büyüklük dağılımı, % ilaç tutulması ve zamana karşı lipozomlardan salınan % ilaç miktarı incelenmiştir. İsoniazid ve rifampisinin yüklü olduğu lipozomal formülasyonlardan ilaçların tayini türev spektrofotometrisi ile yapılmıştır (146).

Guar zımkı, karaya zımkı ve bunların HPMC ile kombinasyonu ile hazırlanan izoniazid tabletlerinden kontrollü olarak ilacın salımında in vitro ve in vivo korelasyon sağlanmıştır (150).

6.7. İzoniazidin Türkiye'deki Piyasa Preparatları

Nydrazid B ₆	tablet	izoniazid 100 mg+B ₆ vitamini 10 mg	Fako
İ.N.H.	tablet	izoniazid 300 mg	Koçak
İsovit	tablet	izoniazid 100 mg+B ₆ vitamini 25 mg	Deva

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

II.DENEYSEL KISIM

A.GEREÇ

1. Kullanılan Maddeler

Metakrilik asit	(Polysciences Inc., USA)
Polietilen glikol monometakrilat	(Polysciences Inc., USA)
Tetraetilen glikol dimetakrilat	(Aldrich Chemical, USA)
Irgacure 184®	(Ciba-Geigy, USA)
Etanol	(McCormick Distillation Co., USA)
Diltiazem HCl	(İlsan İltaş A.Ş., Türkiye)
Diklofenak Na	(Fako İlaçları, Türkiye)
Siprofloksazin HCl	(Koçak İlaç, Türkiye)
İzoniazid	(Deva İlaç, Türkiye)
Hidroklorik asit (% 37)	(E. Merck, Almanya)
Potasyum klorür	(E. Merck, Almanya)
Sodyum hidroksit	(E. Merck, Almanya)
Sodyum dihidrojen fosfat	(E. Merck, Almanya)
Formaldehit	(J.T. Baker, Mallinckrodt Chem. Inc.)
Gluteraldehit	(E. Merck, Almanya)
Osmiyum tetraoksit	(E. Merck, Almanya)
Lantanum nitrat	(E. Merck, Almanya)
Toluen	(E. Merck, Almanya)
Epon 812	(E. Merck, Almanya)

Uranil asetat	(E. Merck, Almanya)
Kurşun sitrat	(E. Merck, Almanya)
Hemotoksilin eosin	(E. Merck, Almanya)

2. Kullanılan Aletler

UV Spektrofotometre	(Shimadzu UV 2100 S, Japonya)
IR Spektrofotometre	(Nicolet Magna-550, Spectrophotometer, USA)
DSC	(Mettler Toledo, TSO 801Ro, DSC 822)
Seluloz membran	(Sigma Chemical Co., USA)
Terazi	(Shimadzu AX 120, Japonya)
pH metre	(HI 9321 Hanna Instruments, Portekiz)
Çalkalayıcılı su banyosu	(Certomat WR B. Braun, Biotech International, Almanya)
Mekanik çalkalayıcı	(Gerhardt, Almanya)
Çözünme hızı tayin aleti	(Modal-Technik AG 4000, Basel, İsviçre)
Vorteks karıştırıcı	(Janke Kunkel, IKA Labortechnik, Almanya)
Vakum pompası	(Neuberger, D 79112 Freiburg, Almanya)
UV ışık kaynağı	(Spectroline, Model SB-125, NY, USA)
Etüvler	(Memmert, Almanya ve Reşat, Türkiye)
Liyofilizatör	(Leybold-Heraeus Lyovac GT2)
Stabilite dolabı	(Binder, Almanya)
Işık mikroskobu	(Nikon BX 200, Japonya)
Elektron mikroskobu	(Jeol, 1200EX)

3. Kullanılan Bilgisayar Programları

Sigma Plot

Excel

Word

4. Etik Kurul Onayı

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu
Proje Onay Tarihi ve Onay Sayısı: 10.2002.mar-8.2.2002

B. YÖNTEMLER

1. ETKİN MADDELERDE YAPILAN TEŞHİS VE TAYİNLER

1.1. Diltiazem Hidroklorürde Yapılan Teşhis ve Tayinler

1.1.1. Diltiazem Hidroklorürün Infrared Spektrumu

Diltiazem Hidroklorürün potasyum bromür ile hazırlanan diskleri ile infrared spektrumu alındı.

1.1.2. Diltiazem Hidroklorürün Termal Analizi

Diltiazem Hidroklorür yaklaşık 5 mg tartılarak alüminyum kap içerisine yerleştirildikten sonra diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile termal analizi yapılmıştır. Çalışma, 10°C/dk ısıtma hızı ile 50-350°C aralığında, akış hızı 10 mL/dk olan azot gazı altında gerçekleştirildi. Çalışma esnasında basınç maksimum 1 bar olmalıdır.

1.1.3. Diltiazem Hidroklorürün Ultraviyole Spektrumu

Diltiazem hidroklorürün 0.1 N HCl'de, pH 1.2'de, pH 6.8 fosfat tamponunda 15 µg/mL, pH 5.8'de 10µg/mL ve pH 7.4 fosfat tamponunda 20 µg/mL konsantrasyondaki çözeltisinin UV spektrofotometrede spektrumları alınarak maksimum absorbans gösterdiği dalga boyları saptandı.

1.1.4. Diltiazem Hidroklorürün Miktar Tayini için Standart Eğrisi

Diltiazem HCl'ün 0.1 N HCl, pH 1.2, pH 5.8, pH 6.8 ve pH 7.4 fosfat

tamponunda 2, 4, 6, 10, 14, 18 µg/mL konsantrasyonlarındaki çözeltileri hazırlandı. Herbir çözeltinin absorbensı spektrofotometrede 0.1 N HCl için 236.0 nm, pH 1.2 için 236.2 nm, pH 5.8 için 235.9 nm, pH 6.8 için 236.2 nm ve pH 7.4 için 236.6 nm dalga boyunda absorbensları boş çözeltiliye karşı okundu. Veriler konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek elde edilen denklemler ve r^2 değerleri en küçük kareler yöntemine göre hesaplandı.

1.1.5. Diltiazem Hidroklorürün Çözünürlük Tayini

0.1 N HCl, pH 1.2, pH 5.8, pH 6.8 ve pH 7.4 fosfat tampon çözeltisi içeren ağız kapaklı renkli flakonlar içine diltiazem HCl'ün aşırı miktarı ilave edilip, $37\pm0.5^\circ\text{C}$ 'de çalkalayıcı su banyosunda sabit hızda çalkalandı. Doygunluğa ulaşınca alınan örneklerde diltiazem HCl'ün miktar tayini spektrofotometrik yöntemle saptandı.

1.2. Diklofenak Sodyumda Yapılan Teşhis ve Tayinler

1.2.1. Diklofenak Sodyumun Infrared Spektrumu

Diklofenak sodyumun potasyum bromür ile hazırlanan diskleri ile infrared spektrumu alındı.

1.2.2. Diklofenak Sodyumun Termal Analizi

Diklofenak sodyum yaklaşık 5 mg tartılarak alüminyum kap içerisine yerleştirildikten sonra diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile termal analizi yapılmıştır. Çalışma, $20^\circ\text{C}/\text{dk}$ ısıtma hızı ile $50\text{--}450^\circ\text{C}$ aralığında, akış hızı 10 mL/dk olan azot gazı altında gerçekleştirildi. Çalışma esnasında basınç maksimum 1

bar olmalıdır.

1.2.3. Diklofenak Sodyumun UV Spektrumu

Diklofenak Na'un 0.1 N HCl'de, pH 1.2'de, pH 5.8'de ve pH 6.8 fosfat tamponunda hazırlanan 20 µg/mL konsantrasyondaki çözeltisinin ve pH 7.4 tampon çözeltisi ile hazırlanan 10 µg/mL konsantrasyondaki çözeltisinin UV spektrofotometrede spektrumları alınarak maksimum absorbans gösterdiği dalga boyları saptandı.

1.2.4. Diklofenak Sodyumun Miktar Tayini için Standart Eğrisi

Diklofenak Na'un 0.1 N HCl, pH 1.2, pH 5.8, pH 6.8 ve pH 7.4 fosfat tamponunda 2, 4, 8, 12, 16, 20 µg/mL konsantrasyonlarındaki çözeltileri hazırlandı. Herbir çözeltinin absorbansı 0.1 N HCl için 274.3 nm, pH 1.2 için 274.3 nm, pH 5.8 için 275.1 nm, pH 6.8 için 275.1 nm ve pH 7.4 için 275.9 nm dalga boyunda boş çözeltiliye karşı okundu. Veriler konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek elde edilen denklemler ve r^2 değerleri en küçük kareler yöntemine göre hesaplandı.

1.2.5. Diklofenak Na'un Çözünürlük Tayini

0.1 N HCl, pH 1.2, pH 5.8, pH 6.8 ve pH 7.4 fosfat tampon çözeltisi içeren ağzı kapaklı renkli flakonlar içine diklofenak Na'un aşırı miktarı ilave edildi ve $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 'de çalkalayıcı su banyosunda sabit hızda çalkalandı. Doygunluğa ulaşıncaya alınan örneklerde diklofenak Na'un miktar tayini spektrofotometrik yöntemle saptandı.

1.3. Siprofloksazin Hidroklorürde Yapılan Teşhis ve Tayinler

1.3.1. Sipprofloksazin Hidroklorürün Infrared Spektrumu

Sipprofloksazin hidroklorürün potasyum bromür ile hazırlanan diskleri ile infrared spektrumu alındı.

1.3.2. Sipprofloksazin Hidroklorürün Termal Analizi

Sipprofloksazin hidroklorür yaklaşık 5 mg tartılarak alüminyum kap içerisine yerleştirildikten sonra diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile termal analizi yapılmıştır. Çalışma, 10°C/dk ısıtma hızı ile 50-350°C aralığında, akış hızı 10 mL/dk olan azot gazı altında gerçekleştirildi. Çalışma esnasında basınç maksimum 1 bar olmalıdır.

1.3.3. Sipprofloksazin Hidroklorürün UV Spektrumu

Sipprofloksazin HCl'ün 0.1 N HCl'de, pH 1.2'de, pH 6.8 ve pH 7.4 fosfat tamponunda hazırlanan 10 µg/mL konsantrasyondaki çözeltisinin ve pH 5.8 fosfat tampon çözeltisi ile hazırlanan 15 µg/mL konsantrasyondaki çözeltisinin UV spektrofotometrede spektrumları alınarak maksimum absorbans gösterdiği dalga boyları saptandı.

1.3.4. Sipprofloksazin Hidroklorürün Miktar Tayini için Standart Eğrisi

Sipprofloksazin HCl'ün 0.1 N HCl, pH 1.2, pH 5.8, pH 6.8 ve pH 7.4 fosfat tamponunda 1, 2, 3, 5, 7, 10 µg/mL konsantrasyonlarındaki çözeltileri hazırlandı. Herbir çözeltinin absorbansı spektrofotometrede 0.1 N HCl için 276.7 nm, pH 1.2 için 277.1 nm, pH 5.8 için 274.8 nm, pH 6.8 için 271.4 nm, pH 7.4 için 270.6 nm dalga boyunda absorbansları boş çözeltiliye karşı okundu. Veriler konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek elde edilen denklemler ve r^2 değerleri en küçük kareler

yöntemine göre hesaplandı.

1.3.5.Siprofloksazin Hidroklorürün Çözünürlük Tayini

0.1 N HCl, pH 1.2, pH 5.8, pH 6.8 ve pH 7.4 fosfat tampon çözeltisi içeren ağzı kapaklı renkli flakonlar içine siprofloksazin HCl'ün aşırı miktarı ilave edildi ve $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 'de çalkalayıcı su banyosunda sabit hızda çalkalandı. Doygunluğa ulaşıncaya alınan örneklerde siprofloksazin HCl'ün miktar tayini spektrofotometrik yöntemle saptandı.

1.4.İzoniazidde Yapılan Teşhis ve Tayinler

1.4.1. İzoniazidin Infrared Spektrumu

Diklofenak sodyumun potasyum bromür ile hazırlanan diskleri ile infrared spektrumu alındı.

1.4.2. İzoniazidin Termal Analizi

İzoniazid yaklaşık 5 mg tartılarak alüminyum kap içerisine yerleştirildikten sonra diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile termal analizi yapılmıştır. Çalışma, $10^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ ısıtma hızı ile $50-350^{\circ}\text{C}$ aralığında, akış hızı $10\text{ mL}/\text{dk}$ olan azot gazı altında gerçekleştirildi. Çalışma esnasında basınç maksimum 1 bar olmalıdır.

1.4.3.İzoniyazidin UV Spektrumu

İzoniyazidin 0.1 N HCl'de ve pH 1.2'de $15\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ konsantrasyondaki çözeltisinin ve pH 5.8, pH 6.8 ve pH 7.4 fosfat tampon çözeltisi ile hazırlanan $10\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ konsantrasyondaki çözeltisinin UV spektrofotometrede spektrumları

alınarak maksimum absorbans gösterdiği dalga boyları saptandı.

1.4.4.İzoni yazidin Miktar Tayini için Standart Eğrisi

İzoni yazidin 0.1 N HCl, pH 1.2, pH 5.8, pH 6.8 ve pH 7.4 fosfat tamponunda 2, 5, 10, 15, 20, 30 µg/mL konsantrasyonlarındaki çözeltileri hazırlandı. Herbir çözeltinin absorbansı spektrofotometrede 0.1 N HCl için 266.4 nm, pH 1.2 için 266.1 nm, pH 5.8 için 262.1 nm, pH 6.8 için 259.3 nm ve pH 7.4 için 263.8 nm dalga boyunda boş çözeltiliye karşı okundu. Veriler konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek elde edilen denklemler ve r^2 değerleri en küçük kareler yöntemine göre hesaplandı.

1.4.5.İzoni yazidin Çözünürlük Tayini

0.1 N HCl, pH 1.2, pH 5.8, pH 6.8 ve pH 7.4 fosfat tampon çözeltisi içeren ağzı kapaklı renkli flakonlar içine izoni yazidin aşırı miktarı ilave edildi ve $37\pm0.5^\circ\text{C}$ 'de çalkalayıcılı su banyosunda sabit hızda çalkalandı. Doygunluğa ulaşınca alınan örneklerde izoni yazidin miktar tayini spektrofotometrik yöntemle saptandı.

2.P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNİN HAZIRLANMASI

Metakrilik asit ve poli(etilen glikol) monometakrilat 1:1 molar oranlarında karıştırıldı. Metakrilik asitten metoksietil hidrokinon $54^\circ\text{C}/25\text{mmHg}$ 'da vakum distilasyonu ile metakrilik asitten uzaklaştırıldı. Çapraz bağlayıcı olarak tetra(etilen glikol) dimetakrilat monomerlerin toplam mol sayısının % 0.75'i olacak şekilde karışıma ilave edildi. Reaksiyon başlatıcısı olarak Irgacure 184® (1-hidroksi sikloheksil fenil keton) monomerlerin toplam mol sayısının % 0.5'i

kadar karışıma ilave edildi. Monomer karışımı % 50(a/a) alkol:deionize su karışımı ile dilüe edildi. Hazırlanan çözeltiden oksijeni uzaklaştırmak amacıyla nitrojen gazı geçirildi. Daha sonra karışım yaklaşık 1 mm kalınlığındaki teflon ayırıcılar ile birbirinden ayrılmış 70x50x1 mm boyutlarındaki iki şeffaf tabaka arasına damlalık yardımı ile yerleştirildikten sonra UV ışığa maruz bırakıldı. UV polimerizasyon aşamasından sonra elde edilen film tabaka 7 gün boyunca çözücü veya reaksiyona girmemiş monomeri ortadan kaldırmak amacıyla deiyonize su ile yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra film tabakalar vakumlu etüvde kurutuldu. Kurutulmuş film tabakalar havan ve de havan eli yardımıyla parçalandıktan sonra elendi.

3.P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNDE YAPILAN ANALİZ VE TAYİNLER

3.1. P(MAA-g-EG) Partiküllerinin IR Spektrumu

P(MAA-g-EG) partiküllerinin potasyum bromür ile hazırlanan diskleri ile infrared spektrumu alındı.

3.2. P(MAA-g-EG) Partiküllerinin Termal Analizi

P(MAA-g-EG) Hidrojelleri yaklaşık 20 mg tartılarak alüminyum kap içerisine yerleştirildikten sonra diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile termal analizi yapılmıştır. Çalışma, 10°C/dk ısıtma hızı ile 50-350°C aralığında, akış hızı 10 mL/dk olan azot gazı altında gerçekleştirildi. Çalışma esnasında basınç maksimum 1 bar olmalıdır.

4.P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNE ETKİN MADDELERİN YÜKLENMESİ VE MİKTAR TAYİNİ

4.1.P(MAA-g-EG) Partiküllerine Diltiazem HCl'ün Yüklenmesi ve Miktar Tayini

Etkin madde:partikül oranları (1:25) ve (5:25) olacak şekilde yükleme yapıldı. Diltiazem HCl'in pH 7.4 fosfat tamponundaki çözeltisinin 5 mL'si ağzı kapaklı flakonlar içine koyulduktan sonra 25 mg P(MAA-g-EG) partikülleri ilave edildi. 24 saat boyunca mekanik çalkalayıcıda çalkalandı. 24 saatin sonunda 2.5 mL 0.1 N HCl ilave edilerek P(MAA-g-EG) partiküllerinin kompleks hale gelmesi sağlandı. Hidrojeller vakumdan membran filtre yardımı ile süzüldü. Süzülen hidrojeller önce 22.5 mL 0.1 N HCl ile daha sonra 22.5 mL deiyonize su ile yıkandı. Yıkama aşamasından sonra hidrojeller liyofilizatörde 6 saat boyunca kurutuldu. Süzüntüden UV spektrofotometre ile ölçüm yapılarak hidrojellerde tutulan diltiazem HCl miktarı belirlendi.

4.2.P(MAA-g-EG) Partiküllerine Diklofenak Na'un Yüklenmesi ve Miktar Tayini

Etkin madde:partikül oranları (1:25) ve (5:25) olacak şekilde yükleme yapıldı. Diklofenak Na'un pH 7.4 fosfat tamponundaki çözeltisinin 5 mL'si ağzı kapaklı flakonlar içine koyulduktan sonra 25 mg P(MAA-g-EG) partikülleri ilave edildi. 24 saat boyunca mekanik çalkalayıcıda çalkalandı. 24 saatin sonunda 2.5 mL 0.1 N HCl ilave edilerek P(MAA-g-EG) partiküllerinin kompleks hale gelmesi sağlandı. Hidrojeller vakumdan membran filtre yardımı ile süzüldü. Süzülen hidrojeller önce 22.5 mL 0.1 N HCl ile daha sonra 22.5 mL deiyonize su ile yıkandı. Yıkama aşamasından sonra hidrojeller liyofilizatörde 6 saat boyunca

kurutuldu. Süzüntüden UV spektrofotometre ile ölçüm yapılarak hidrojellerde tutulan diklofenak Na'un miktarı belirlendi.

4.3. P(MAA-g-EG) Partiküllerine Siprofloksazin HCl'ün Yüklenmesi ve Miktar Tayini

Etkin madde:partikül oranları (1:25) ve (5:25) olacak şekilde yükleme yapıldı Siprofloksazin HCl'ün pH 7.4 fosfat tamponundaki çözeltisinin 5 mL'si ağzı kapaklı flakonlar içine koyulduktan sonra 25 mg P(MAA-g-EG) partikülleri ilave edilir. 24 saat boyunca mekanik çalkalayıcıda çalkalanır. 24 saatin sonunda 2.5 mL 0.1 N HCl ilave edilerek P(MAA-g-EG) partiküllerinin kompleks hale gelmesi sağlandı. Hidrojeller vakumdan membran filtre yardımı ile süzüldü. Süzülen hidrojeller önce 22.5 mL 0.1 N HCl ile daha sonra 22.5 deiyonize su ile yıkandı. Yıkama aşamasından sonra hidrojeller liyofilizatörde 6 saat boyunca kurutuldu. Süzüntüden UV spektrofotometre ile ölçüm yapılarak hidrojellerde tutulan siprofloksazin HCl'ün miktarı belirlendi.

4.4.P(MAA-g-EG) Partiküllerine İzoniazidin Yüklenmesi ve Miktar Tayini

Etkin madde:partikül oranları (1:25) ve (5:25) olacak şekilde yükleme yapıldı İzoniazidin pH 7.4 fosfat tamponundaki çözeltisinin 5 mL'si ağzı kapaklı flakonlar içine koyulduktan sonra 25 mg P(MAA-g-EG) partikülleri ilave edildi. 24 saat boyunca mekanik çalkalayıcıda çalkalandı. 24 saatin sonunda 2.5 mL 0.1 N HCl ilave edilerek P(MAA-g-EG) partiküllerinin kompleks hale gelmesi sağlandı. Hidrojeller vakumdan membran filtre yardımı ile süzüldü. Süzülen hidrojeller önce 22.5 mL 0.1 N HCl ile daha sonra 22.5 deiyonize su ile yıkandı. Yıkama aşamasından sonra hidrojeller liyofilizatörde 6 saat boyunca kurutuldu. Süzüntüden UV spektrofotometre ile ölçüm yapılarak hidrojellerde tutulan

izoniazidin miktarı belirlendi.

5. ETKİN MADDE YÜKLÜ P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNDEN IN VITRO SALIM ÇALIŞMALARI

5.1. Diltiazem HCl Yüklü P(MAA-g-EG) Partiküllerinden in Vitro İlaç Salım Çalışmaları

Diltiazem HCl yüklü 20 mg P(MAA-g-EG) partiküllerinin pH 7.4 tampon içindeki dispersiyonu selüloz membran torba içine yerleştirildikten sonra çözünme hızı tayin aletine bağlandı. Palet yöntemi ile pH 7.4 fosfat tamponunda ve artan pH değerlerinde (pH 1.2-5.8-6.8-7.4) $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 'de 120 devir/dakika hızla çalışılarak belli zaman aralıklarında örnekler alındı ve sonuçlar spektrofotometrik olarak tayin edildi.

5.2. Diklofenak Na Yüklü P(MAA-g-EG) Partiküllerinden in Vitro İlaç Salım Çalışmaları

Diklofenak Na yüklü 20 mg P(MAA-g-EG) partiküllerinin pH 7.4 tampon içindeki dispersiyonu selüloz membran torba içine yerleştirildikten sonra çözünme hızı tayin aletine bağlandı. Palet yöntemi ile pH 7.4 fosfat tamponunda ve artan pH değerlerinde (pH 1.2-5.8-6.8-7.4) $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 'de 120 devir/dakika hızla çalışılarak belli zaman aralıklarında örnekler alındı ve sonuçlar spektrofotometrik olarak tayin edildi.

5.3. Siprofloksazin HCl Yüklü P(MAA-g-EG) Partiküllerinden in Vitro İlaç Salım Çalışmaları

Siprofloksazin HCl yüklü 20 mg P(MAA-g-EG) partiküllerinin pH 7.4 tampon

içindeki dispersiyonu selüloz membran torba içine yerleştirildikten sonra çözünme hızı tayin aletine bağlandı. Palet yöntemi ile pH 7.4 fosfat tamponunda ve artan pH değerlerinde (pH 1.2-5.8-6.8-7.4) $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 'de 120 devir/dakika hızla çalışılarak belli zaman aralıklarında örnekler alındı ve sonuçlar spektrofotometrik olarak tayin edildi.

5.4. İzonyazid Yüklü P(MAA-g-EG) Partiküllerinden in Vitro İlaç Salım Çalışmaları

İzonyazid yüklü 20 mg P(MAA-g-EG) partiküllerinin pH 7.4 tampon içindeki dispersiyonu selüloz membran torba içine yerleştirildikten sonra çözünme hızı tayin aletine bağlandı. Palet yöntemi ile pH 7.4 fosfat tamponunda ve artan pH değerlerinde (pH 1.2-5.8-6.8-7.4) $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$ 'de 120 devir/dakika hızla çalışılarak belli zaman aralıklarında örnekler alındı ve sonuçlar spektrofotometrik olarak tayin edildi.

6. P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNDEN ETKİN MADDELERİN SALIM HIZINA AİT KİNETİK PARAMETRELER

P(MAA-g-EG) partiküllerinden diltiazem hidroklorür, diklofenak sodyum, siprofloksazin hidroklorür ve izoniazidin salım hızına ait kinetik parametreler incelendi.

7. ANALİTİK YÖNTEM VALİDASYONU

Validasyon, bir analiz yönteminin performans özelliklerinin istenilen analitik uygulamada, belirlenen koşullarda sağlandığını göstermek için yapılan işlemlerin

tümüdür.

Analitik yöntemin uygunluğunu göstermek için kullanılan parametreler doğruluk, kesinlik, tutarlılık, doğrusallık, özgünlük, ve stablitedir.

7.1. Doğruluk

Belirlenen deney koşulları altında ölçülen değerin beklenen veya doğru olduğu bilinen değere yakınlığını gösterir. Kalibrasyon sınırları dahilinde olacak şekilde düşük, orta, yüksek üç konsantrasyon aynı gün içinde her biri altı kez analiz edilir. Ortalama geri kazanılan ve varyasyon katsayısı hesaplanır.

7.2. Kesinlik

Analiz yönteminin yeniden yapılabilirliğini ifade eder. Farklı koşullarda aynı yöntemle hazırlanan örneklerden elde edilen sonuçların uyumunu ifade eder.

7.2.1. Gün içi kesinlik

Altı farklı konsantrasyonda, her bir konsantrasyon üç kez denenmiş, standart sapma ve varyasyon katsayısı hesaplanmıştır.

7.2.2. Günlerearası kesinlik

Bu işlem gün boyunca 3 kez tekrar edilmiştir.

7.3. Tutarlılık

Bir analiz yönteminin farklı günlerde, farklı kişi, alet, farklı laboratuvar

şartlarında gerçekleştirilmesi ile elde edilen bulguların birbiriyle tutarlı olduğunu göstermektedir.

7.4. Doğrusallık

Bir analitik yöntemin doğrusallığı, deney bulgularının doğrudan veya transformasyon sonucu örnek içindeki madde konsantrasyonu ile belirli bir aralıkta orantılı olmasıdır. Doğrusallık aralığı ise, kesinlik, doğruluk ve doğrusallığın sağlandığı bir yöntemde en yüksek ve en düşük düzeylerin arasını ifade eder.

Doğrusallık, konsantrasyona karşı test bulgularının en küçük kareler yöntemiyle regresyon doğrusunun hesaplanmasıyla gerçekleştirilir. Regresyon doğrusunun eğimi ve eğimin varyansı doğrusallığın matematik ölçüsüdür.

7.5. Duyarlılık

Analitik yöntemin düşük konsantrasyonları saptayabilme yeteneğidir.

Miktar Tayini Sınırı

Deney koşulları altında, kabul edilebilir doğruluk ve kesinlikle ölçülebilen en düşük madde konsantrasyonudur.

Saptama Sınırı

Belirlenen deney koşulları içinde saptanabilen en düşük

konsantrasyondur. Madde konsantrasyonunun altında veya üstünde olup olmadığı saptanır.

7.6. Seçicilik

Analitik yöntemin sadece istenilen bileşen veya bileşenleri tayin edebilme yeteneğidir. Bunun için tayin yapılacak maddeye parçalanma ürünleri veya örnekte bulunan yardımcı maddeleri ilave edilir. Elde edilen bulgular, saf haldeki maddeden elde edilen bulgularla karşılaştırılır.

7.7. Stabilite

Analiz süresince analiz edilecek maddenin stabil kaldığından emin olmak, meydana gelebilecek bozunma ürünlerinin maddeyle etkileşime girmediklerini göstermek için stabilite testlerinin yapılması gerekir.

8.STABİLİTE ÇALIŞMALARI

Diltiazem HCl, diklofenak Na, siprofloksazin HCl, izoniazid, diltiazem HCl yüklü P(MAA-g-EG), diklofenak Na yüklü P(MAA-g-EG), siprofloksazin HCl yüklü P(MAA-g-EG), izoniazid yüklü P(MAA-g-EG) ve ilaçsız P(MAA-g-EG) partikülleri hızlandırılmış stabilite şartlarını sağlamak amacıyla $40\pm2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve $\% 75 \pm 5$ rölatif nem içeren stabilite dolabında üç ay boyunca ağzı sıkı kapaklı renkli şişelerde bekletildi. 1., 2., 3. ay sonunda organoleptik kontroller ve ilaç yüklü P(MAA-g-EG) hidrojellerinde pH 7.4 fosfat tamponunda in vitro salım hızı çalışmaları yapıldı. Stabilite öncesi ve de sonrasına ait Fourier Transform Infrared Spektrumları (FTIR) ve DSC'leri alındı.

9.HİSTOPATOLOJİK ÇALIŞMALAR

9.1. Işık Mikroskobu ile Yapılan İncelemeler

İnsan dozundan yola çıkarak, yaklaşık 200 g ağırlığındaki sıçan için hesaplanan 0.2 mg diltiazem HCl, 0.4 mg diklofenak Na, 2 mg siprofloksazin HCl, 1 mg izoniazid olmak üzere her bir ilaç ayrı ayrı ve 11 mg diltiazem HCl yüklü P(MAA-g-EG), 43 mg diklofenak Na yüklü P(MAA-g-EG), 385 mg siprofloksazin HCl yüklü P(MAA-g-EG), 48 mg izoniazid yüklü P(MAA-g-EG)) ayrıca 100 mg ilaçsız P(MAA-g-EG) partikülleri (toplam 9 örnek ve her bir örnekten 6 ayrı uygulama yapıldı) oral yoldan sonda yardımıyla yaklaşık 200 g ağırlığındaki Wistar sıçanlarına verildikten 2, 10, 20 saat sonra duodenum, ileum, jejunum çıkartıldı. Fosfat tamponlu formaldehit çözeltisinde 24 saat bekletildi ve hemotoksilin eosin ile boyandıktan sonra herhangi bir hücre ve doku hasarı olup olmadığının araştırılması amacıyla ışık mikroskobu ile morfolojik olarak değerlendirildi.

9.2. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile Yapılan İncelemeler

İnsan dozundan yola çıkarak, yaklaşık 200 g ağırlığındaki sıçan için hesaplanan 0.2 mg diltiazem HCl, 0.4 mg diklofenak Na, 2 mg siprofloksazin HCl, 1 mg izoniazid, 385 mg siprofloksazin HCl yüklü P(MAA-g-EG) ve 100 mg ilaçsız P(MAA-g-EG) hidrojellerinin oral yoldan sonda yardımıyla yaklaşık 200 g ağırlığındaki Wistar sıçanlarına verildikten 2 ve 10 saat sonra ince barsak pilor ile çekum arası çıkarıldı. Barsak içeriği elle sıyrılarak çıkarıldı ve temizlemek amacıyla tüm kanal birkaç defa fosfat tamponu (pH 7.4) ile yıkandı. Tüm ince barsak kanalı birkaç defa fosfat tamponlu % 2.5 gluteraldehit ve % 4 paraformaldehit içeren fiksatif ile perfüze edildi. Barsak örnekleri duodenum, jejunum ve ileum bölgelerinden 1 mm³ boyutunda örnekler alınarak aynı fiksatif içerisinde 24 saat

4°C’de immersiyon yapıldı. Post fiksasyon fosfat tamponlu % 1 osmiyum tetraoksit ve % 3 lantanum nitrat içeren fiksatif ile 1 saat 4°C yapıldı. Yükselen alkol serisinden geçirilerek dehidrate edilen numuneler toluen ile şeffaflaştırıldı ve EPON 812 içerisine gömüldü. 60-80 nm kalınlığında ince kesitler kaplanmış gridlerin üzerine alındıktan sonra uranil asetat ve kurşun sitrat kontrast boyama yapıldı ve örnekler TEM (JEOL1200EX) ile incelendi.



C. BULGULAR

1. ETKİN MADDELERDE YAPILAN TEŞHİS VE TAYİNLERE AİT BULGULAR

1.1. Diltiazem Hidroklorürde Yapılan Teşhis ve Tayinlere Ait Bulgular

1.1.1. Diltiazem Hidroklorürün Infrared Spektrumuna Ait Bulgular

Yöntem 1.1.1'de belirtildiği şekilde elde edilen infrared spektrumu şekil 2.1'de gösterilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi diltiazem hidroklorürün infrared spektrumu şu karakteristik bantları vermiştir: 3045 cm^{-1} aromatik yapıda C-H gerilme bandı, 2900-2800 cm^{-1} alifatik yapıda C-H gerilme bandı, 1750-1735 cm^{-1} C=O gerilme titreşimleri, 1450 cm^{-1} C-H asimetrik eğilme titreşimi, 1375 cm^{-1} C-H asimetrik eğilme titreşimi, 1342-1266 cm^{-1} C-N aromatik gerilme titreşimi, 1300-1000 cm^{-1} , C-O gerilme titreşimi, 1250-1020 cm^{-1} , 755-690 cm^{-1} aromatik yapıda C-H gerilme abndı, 700-600 cm^{-1} C-S gerilme titreşimi.

1.1.2. Diltiazem Hidroklorürün Termal Analizine Ait Bulgular

Yöntem 1.1.2'de anlatıldığı gibi yapılan analiz sonuçları Şekil 2.2'de gösterilmiştir.

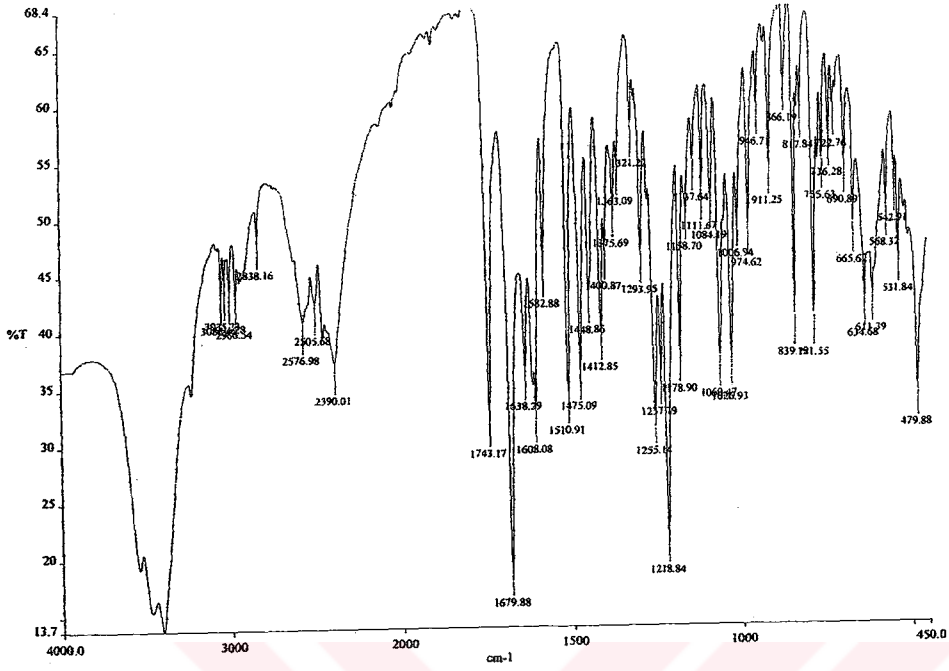
1.1.3. Diltiazem Hidroklorürün Ultraviyole Spektrumuna Ait Bulgular

Diltiazem hidroklorüre ait UV spektrumları yöntem 1.1.3'de anlatıldığı gibi alınmış ve şekil 2.3'de gösterilmiştir.

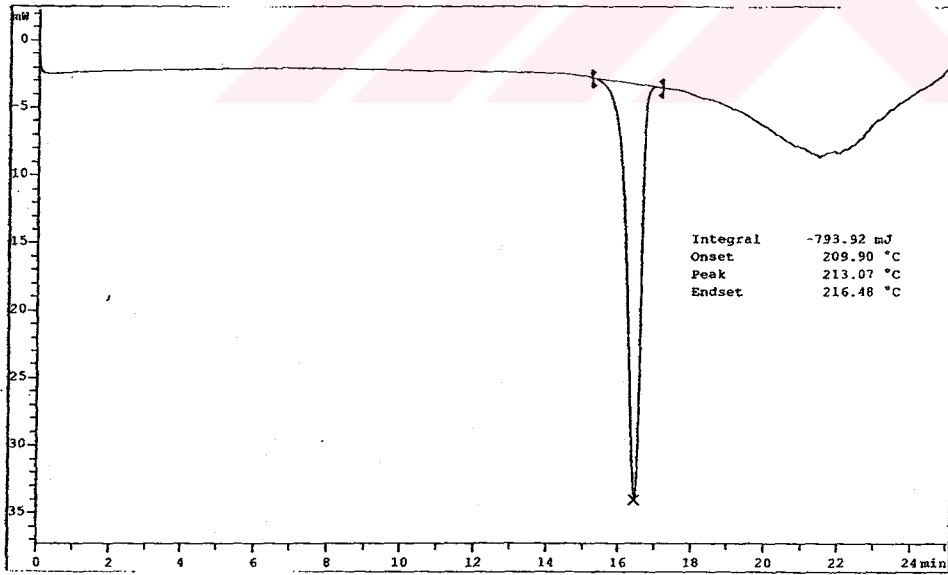
Şekil 2.3.a)'da görüldüğü gibi diltiazem hidroklorürün 0.1 N HCl'deki çözeltisi 236.2 ve 207.6 nm dalga boylarında maksimum absorbens göstermiştir.

Şekil 2.3.b)'de görüldüğü gibi diltiazem hidroklorürün pH 1.2'deki çözeltisi 236.2 ve 207.6 nm dalga boylarında maksimum absorbens göstermiştir.

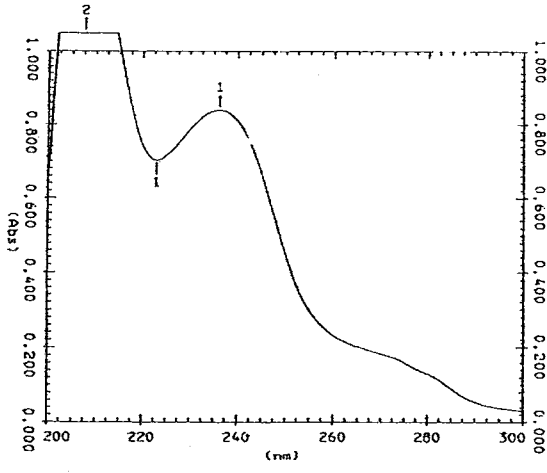
Şekil 2.3.c)'de görüldüğü gibi diltiazem hidroklorürün pH 5.8'deki çözeltisi 235.9 ve 208.4 nm dalga boylarında maksimum absorbens göstermiştir.



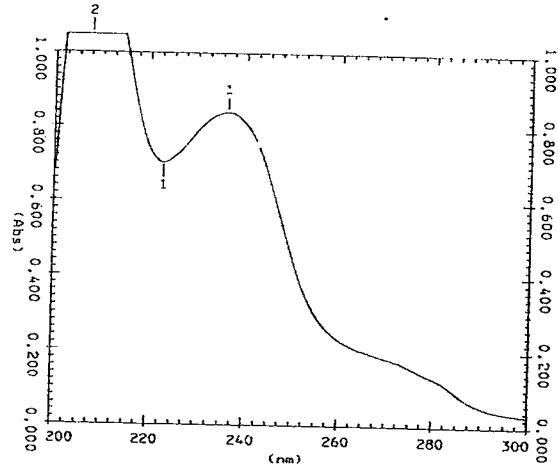
Şekil 2.1. Diltiazem HCl'ün FTIR Spektrumu



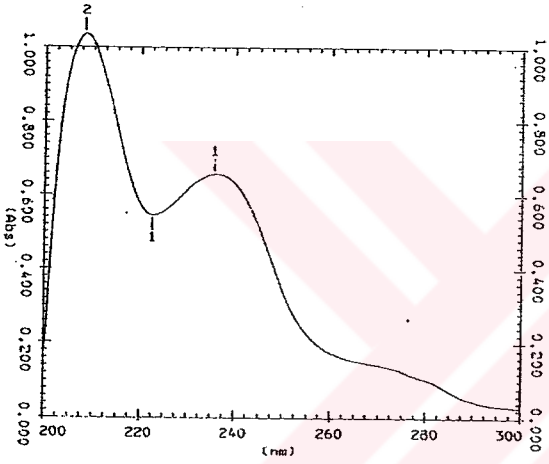
Şekil 2.1. Diltiazem HCl'ün DSC'si



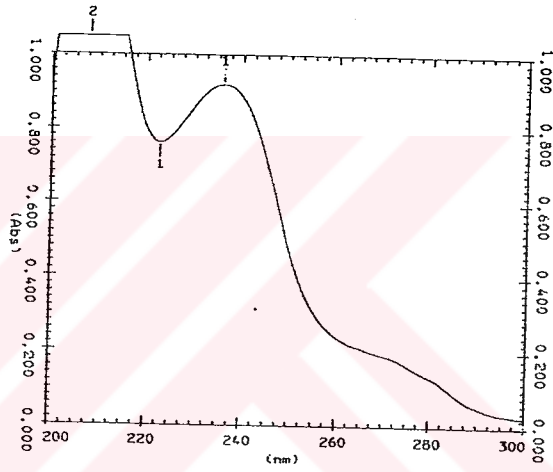
a) Diltiazem HCl'ün 0.1 N HCl'deki UV Spektrumu



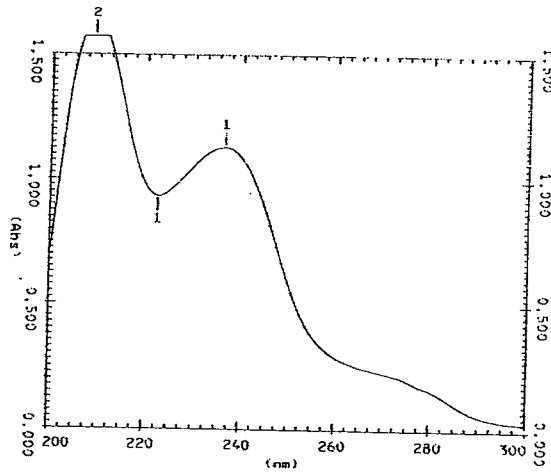
b) Diltiazem HCl'ün pH 1.2'deki UV Spektrumu



c) Diltiazem HCl'ün pH 5.8'deki UV Spektrumu



d) Diltiazem HCl'ün pH 6.8'deki UV Spektrumu



e) Diltiazem HCl'ün pH 7.4'deki UV Spektrumu

Şekil 2.3. Diltiazem HCl'ün UV Spektrumları

Şekil 2.3.d)'de görüldüğü gibi diltiazem hidroklorürün pH 6.8'deki çözeltisi 236.2 ve 208.0 nm dalga boylarında maksimum absorbans göstermiştir.

Şekil 2.3.e)'de görüldüğü gibi diltiazem hidroklorürün pH 7.4'deki çözeltisi 236.6 ve 209.1 nm dalga boylarında maksimum absorbans göstermiştir.

1.1.4. Diltiazem Hidroklorürün Miktar Tayinine Ait Bulgular

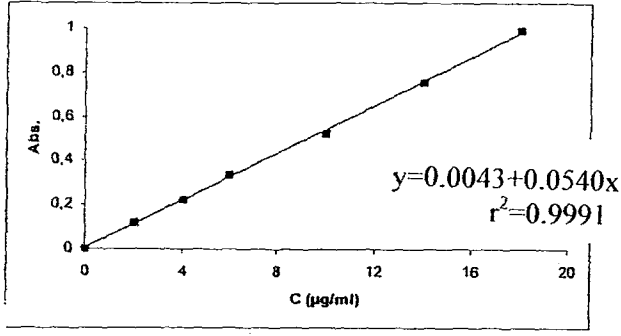
Yöntem 1.1.4'de anlatıldığı gibi hazırlanan standart eğriler Şekil 2.4'de, bu eğrilere ait değerler standart sapmaları ile birlikte Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Diltiazem Hidroklorürün Standart Eğrilerine Ait Veriler

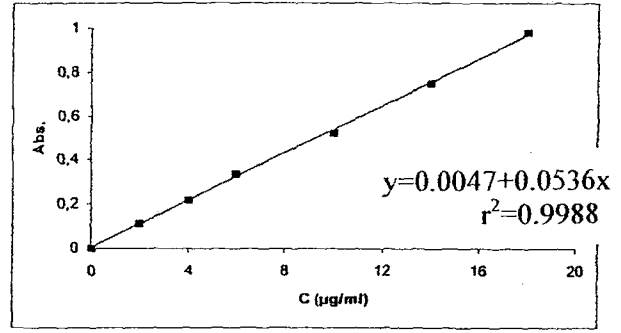
C (µg/mL)	Absorbans $\pm$ SD				
	0.1 N HCl	pH 1.2	pH 5.8	pH 6.8	pH 7.4
2	0.117 $\pm$ 0.005	0.115 $\pm$ 0.007	0.123 $\pm$ 0.004	0.125 $\pm$ 0.012	0.113 $\pm$ 0.003
4	0.223 $\pm$ 0.004	0.220 $\pm$ 0.007	0.231 $\pm$ 0.004	0.234 $\pm$ 0.003	0.220 $\pm$ 0.003
6	0.338 $\pm$ 0.003	0.336 $\pm$ 0.005	0.348 $\pm$ 0.011	0.345 $\pm$ 0.003	0.336 $\pm$ 0.004
10	0.527 $\pm$ 0.002	0.520 $\pm$ 0.003	0.536 $\pm$ 0.007	0.537 $\pm$ 0.007	0.524 $\pm$ 0.004
14	0.758 $\pm$ 0.006	0.751 $\pm$ 0.003	0.769 $\pm$ 0.010	0.771 $\pm$ 0.005	0.756 $\pm$ 0.005
18	0.987 $\pm$ 0.004	0.980 $\pm$ 0.004	0.999 $\pm$ 0.004	0.997 $\pm$ 0.004	0.984 $\pm$ 0.004

1.1.5. Diltiazem Hidroklorürün Çözünürlük Tayinine Ait Bulgular

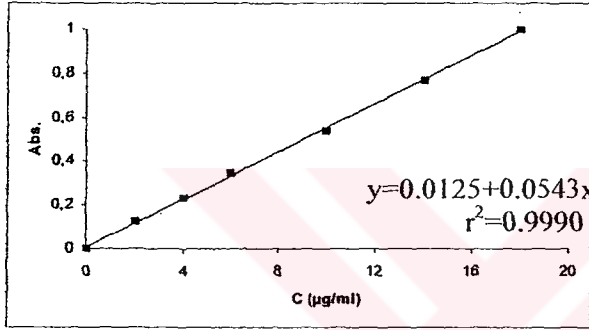
Yöntem 1.1.5'de anlatıldığı gibi yapılan çözünürlük tayini sonuçları Tablo 2.2'de verilmiştir.



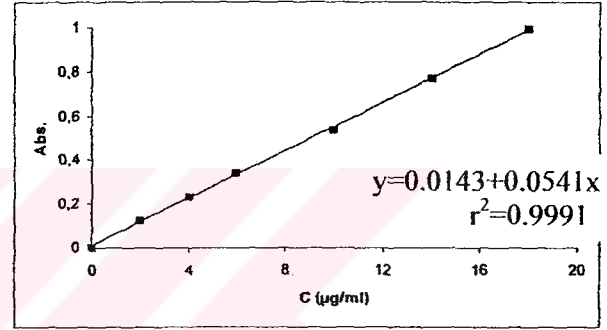
a) Diltiazem HCl'ün 0.1 N HCl'deki standart eğrisi



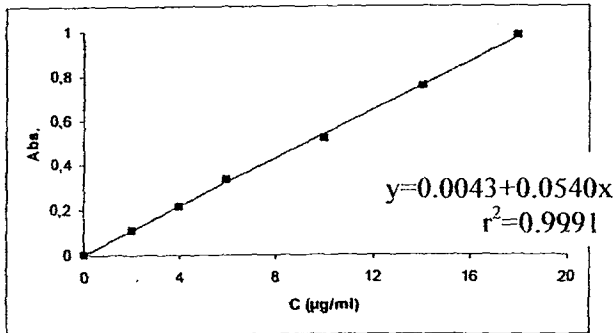
b) Diltiazem HCl'ün pH 1.2'deki standart eğrisi



c) Diltiazem HCl'ün pH 5.8'deki standart eğrisi



d) Diltiazem HCl'ün pH 6.8'deki standart eğrisi



e) Diltiazem HCl'ün pH 7.4'deki standart eğrisi

Şekil 2.4. Diltiazem HCl'ün Standart Eğrileri

Tablo 2.2. Etkin Maddelerin Değişik pH Ortamlarındaki Çözünürlük Değerleri

Çözünürlük ortamı	Çözünürlük(mg/ml) $\pm$ SD			
	Diltiazem HCl	Diklofenak Na	Siprofloksazin HCl	İzoniazid
0.1 N HCl	684.47 $\pm$ 4.27	0.027 $\pm$ 0.002	55.00 $\pm$ 3.04	134.16 $\pm$ 2.46
pH 1.2	684.50 $\pm$ 5.22	0.030 $\pm$ 0.25	61.13 $\pm$ 1.08	129.98 $\pm$ 0.54
pH 5.8	582.50 $\pm$ 4.50	0.662 $\pm$ 0.13	39.90 $\pm$ 0.10	140.09 $\pm$ 0.64
pH 6.8	593.50 $\pm$ 3.28	4.08 $\pm$ 0.10	35.68 $\pm$ 0.42	150.93 $\pm$ 1.24
pH 7.4	601.67 $\pm$ 3.88	12.03 $\pm$ 0.52	30.49 $\pm$ 0.15	168.39 $\pm$ 0.82

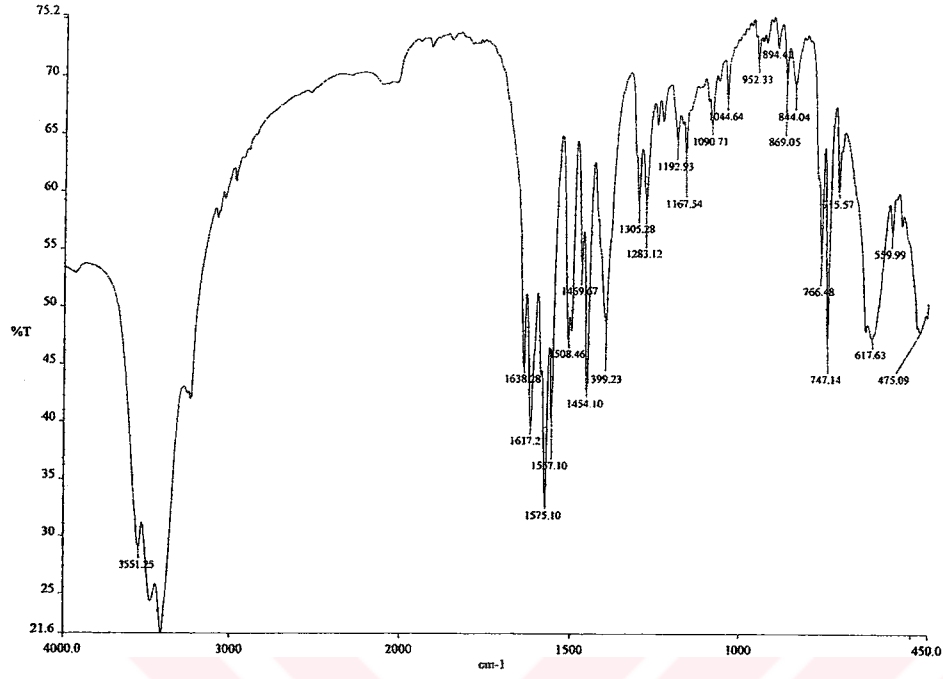
1.2. Diklofenak Sodyumda Yapılan Teşhis ve Tayinlere Ait Bulgular

1.2.1. Diklofenak Sodyumun Infrared Spektrumuna Ait Bulgular

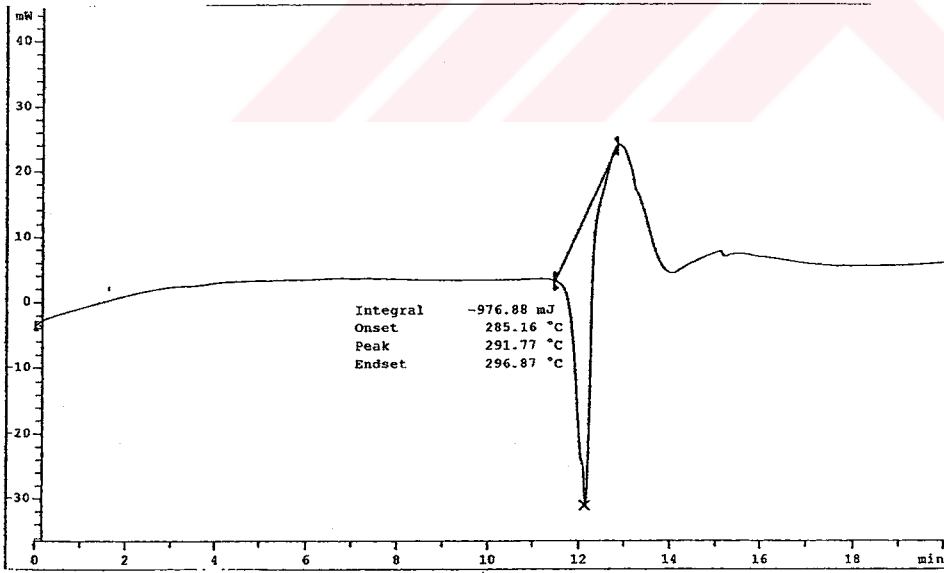
Yöntem 1.2.1’de belirtildiği şekilde elde edilen infrared spektrumu şekil 2.5’da gösterilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi diklofenak sodyumun infrared spektrumu şu karakteristik bantları vermiştir: 3500 cm^{-1} N-H gerilme bandı, 1650-1550 cm^{-1} karboksilat anyonuna ait C=O gerilme bandı, 1500-1400 cm^{-1} aromatik halka C=C gerilme bandı, 1400 cm^{-1} karboksilat anyonu zayıf asimetric gerilme bandı, 800-666 cm^{-1} düzlem dışı N-H eğilmesi

1.2.2. Diklofenak Sodyumun Termal Analizine Ait Bulgular

Yöntem 1.2.2’de anlatıldığı gibi yapılan analiz sonuçları şekil 2.6’de gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Diklofenak Na'un FTIR Spektrumu



Şekil 2.6. Diklofenak Na'un DSC'si

1.2.3. Diklofenak Sodyumun UV Spektrumuna Ait Bulgular

Diklofenak sodyuma ait UV spektrumları yöntem 1.2.3'de anlatıldığı gibi alınmış ve şekil 2.7'de gösterilmiştir.

Şekil 2.7.a)'da görüldüğü gibi diklofenak sodyumun 0.1 N HCl'deki çözeltisi 274.3 nm dalga boyunda maksimum absorbans göstermiştir.

Şekil 2.7.b)'de görüldüğü gibi diklofenak sodyumun pH 1.2'deki çözeltisi 274.3 nm dalga boyunda maksimum absorbans göstermiştir.

Şekil 2.7.c)'de görüldüğü gibi diklofenak sodyumun pH 5.8'deki çözeltisi 275.1 nm dalga boyunda maksimum absorbans göstermiştir.

Şekil 2.7.d)'de görüldüğü gibi diklofenak sodyumun pH 6.8'deki çözeltisi 275.1 nm dalga boylarında maksimum absorbans göstermiştir.

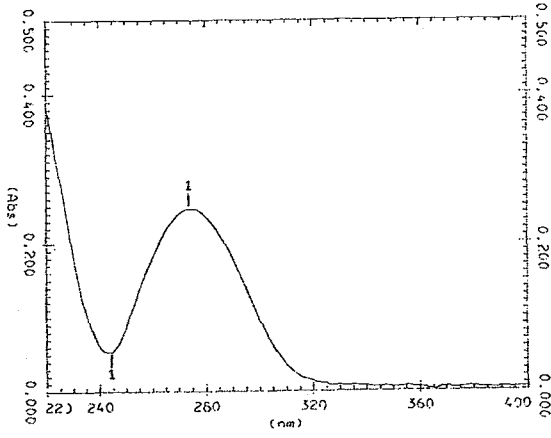
Şekil 2.7.e)'de görüldüğü gibi diklofenak sodyumun pH 7.4'deki çözeltisi 275.6 ve 205.1 nm dalga boylarında maksimum absorbans göstermiştir.

1.2.4. Diklofenak Sodyumun Miktar Tayinine Ait Bulgular

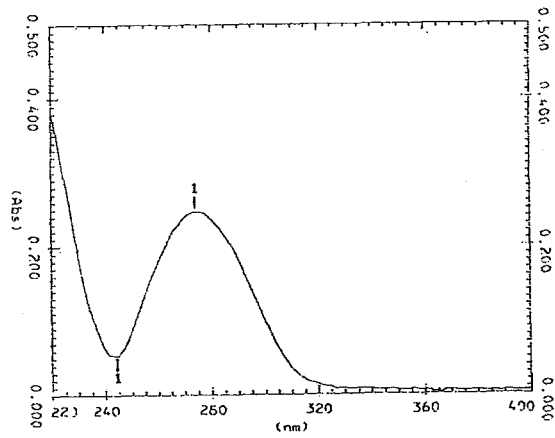
Yöntem 1.1.4'de anlatıldığı gibi hazırlanan standart eğriler Şekil 2.8'de, bu eğrilere ait değerler standart sapmaları ile birlikte Tablo 2.3'de gösterilmiştir.

Tablo 2.3. Diklofenak Sodyumun Standart Eğrilerine Ait Veriler

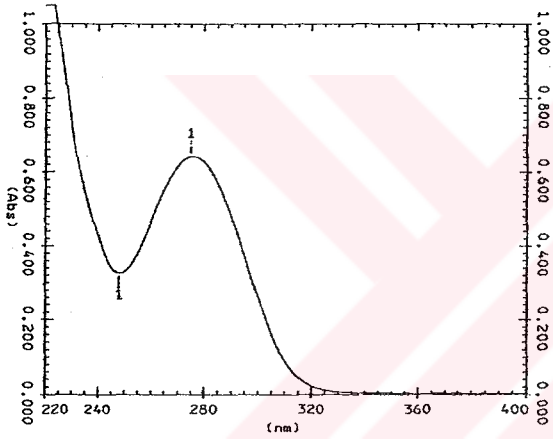
C (µg/mL)	Absorbans ±SD				
	0.1 N HCl	pH 1.2	pH 5.8	pH 6.8	pH 7.4
2	0.041±0.003	0.043±0.002	0.075±0.004	0.090±0.002	0.175±0.004
4	0.064±0.003	0.065±0.006	0.151±0.005	0.154±0.004	0.250±0.003
8	0.105±0.004	0.107±0.005	0.255±0.004	0.270±0.003	0.384±0.004
12	0.147±0.004	0.147±0.004	0.386±0.004	0.387±0.003	0.514±0.004
16	0.201±0.002	0.204±0.004	0.492±0.005	0.490±0.006	0.664±0.003
20	0.244±0.003	0.245±0.003	0.640±0.005	0.643±0.003	0.811±0.003



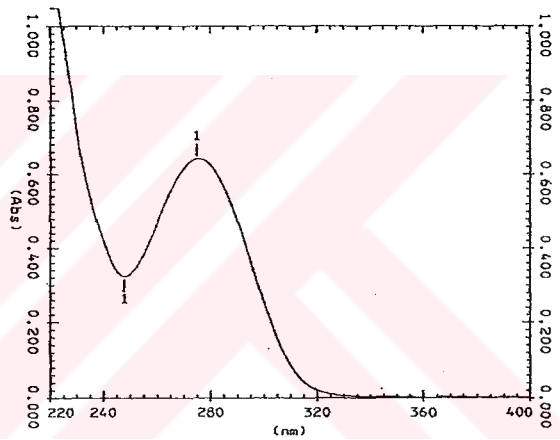
a) Diklofenak Na'un 0.1 N HCl'deki
UV Spektrumu



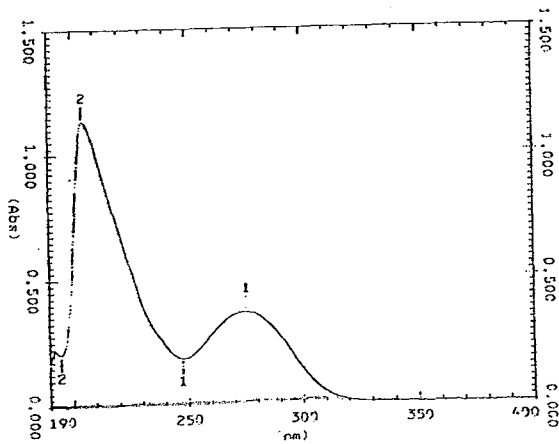
b) Diklofenak Na'un pH 1.2'deki
UV Spektrumu



c) Diklofenak Na'un pH 5.8'deki
UV Spektrumu

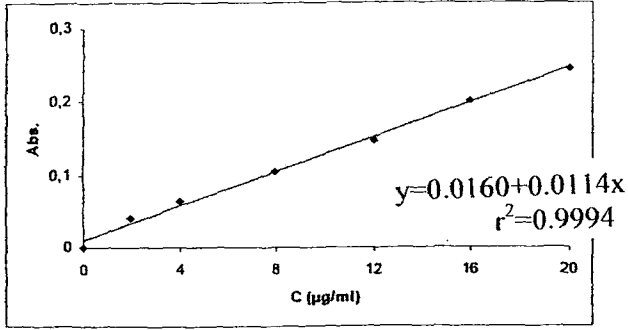


d) Diklofenak Na'un pH 6.8'deki
UV Spektrumu

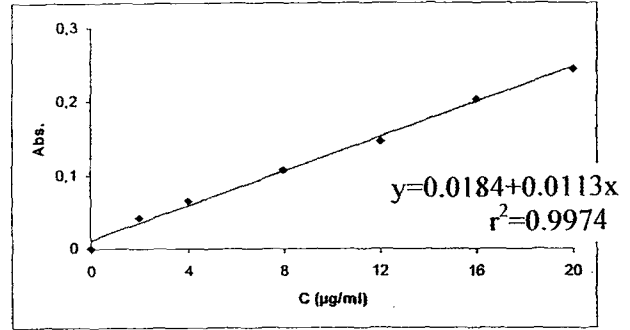


e) Diklofenak Na'un pH 7.4'deki UV Spektrumu

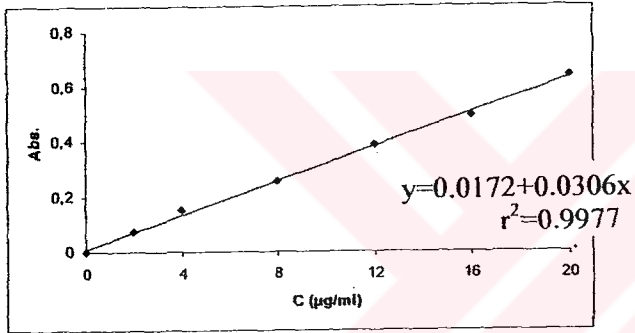
Şekil 2.7. Diklofenak Na'un UV Spektrumları



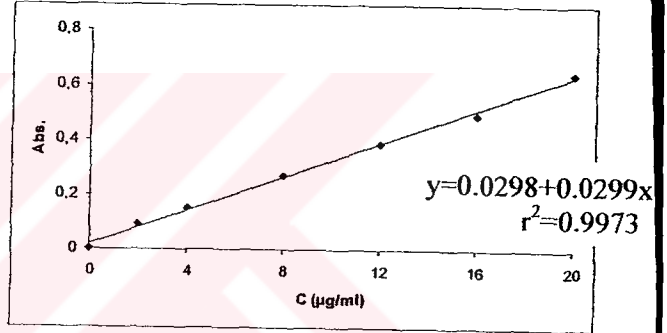
a)Diklofenak Na'un 0.1 N HCl'deki standart eğrisi



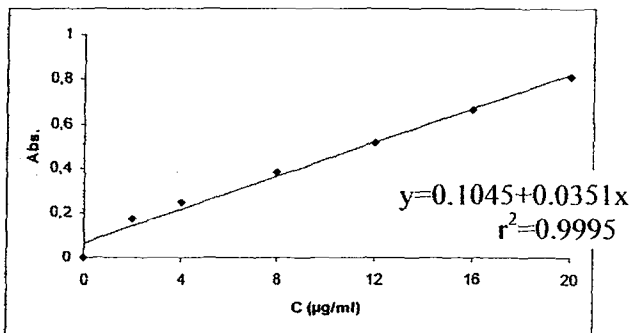
b) Diklofenak Na'un pH 1.2'deki standart eğrisi



c)Diklofenak Na'un pH 5.8'deki standart eğrisi



d) Diklofenak Na'un pH 6.8'deki standart eğrisi



e)Diklofenak Na'un pH 7.4'deki standart eğrisi

Şekil 2.8. Diklofenak Na'un Standart Eğrileri

1.2.5. Diklofenak Na'un Çözünürlük Tayinine Ait Bulgular

Yöntem 1.1.5'de anlatıldığı gibi yapılan çözünürlük tayini sonuçları Tablo 2.2'de verilmiştir.

1.3. Siprofloksazin Hidroklorürde Yapılan Teşhis ve Tayinlere Ait Bulgular

1.3.1. Siprofloksazin Hidroklorürün Infrared Spektrumuna Ait Bulgular

Yöntem 1.3.1'de belirtildiği şekilde elde edilen infrared spektrumu şekil 2.9'da gösterilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi siprofloksazin hidroklorürün infrared spektrumu şu karakteristik bantları vermiştir: 3080-3010 cm^{-1} aromatik yapıda C-H gerilmesi, 1720-1706 cm^{-1} C=O gerilme titreşimi, 1600-1430 cm^{-1} C-N halka gerilmesi, 1500-1400 cm^{-1} C=C aromatik halka gerilme bandı, 1360-1310 cm^{-1} C-N tersiyer aromatik amindeki gerilme titreşimi, 1250-1020 cm^{-1} C-N gerilme titreşimi.

1.3.2. Siprofloksazin Hidroklorürün Termal Analizine Ait Bulgular

Yöntem 1.3.2'de anlatıldığı gibi yapılan analiz sonuçları şekil 2.10'da gösterilmiştir.

1.3.3. Siprofloksazin Hidroklorürün UV Spektrumuna Ait Bulgular

Siprofloksazin hidroklorüre ait UV spektrumları yöntem 1.3.3'de anlatıldığı gibi alınmış ve şekil 2.11'de gösterilmiştir.

Şekil 2.11.a)'da görüldüğü gibi siprofloksazin hidroklorürün 0.1 N HCl'deki çözeltisi 276.7 nm dalga boyunda maksimum absorbens göstermiştir.

Şekil 2.11.b)'de görüldüğü gibi siprofloksazin hidroklorürün pH 1.2'deki çözeltisi 277.1 nm dalga boyunda maksimum absorbens göstermiştir.

Şekil 2.11.c)'de görüldüğü gibi siprofloksazin hidroklorürün pH 5.8'deki çözeltisi 317.8 ve 274.8 nm dalga boyunda maksimum absorbens göstermiştir.

Şekil 2.11.d)'de görüldüğü gibi siprofloksazin hidroklorürün pH 6.8'deki çözeltisi 271.4 nm dalga boylarında maksimum absorbands göstermiştir.

Şekil 2.11.e)'de görüldüğü gibi siprofloksazin hidroklorürün pH 7.4'deki çözeltisi 270.4 nm dalga boyunda maksimum absorbands göstermiştir.

1.3.4. Siprofloksazin Hidroklorürün Miktar Tayinine Ait Bulgular

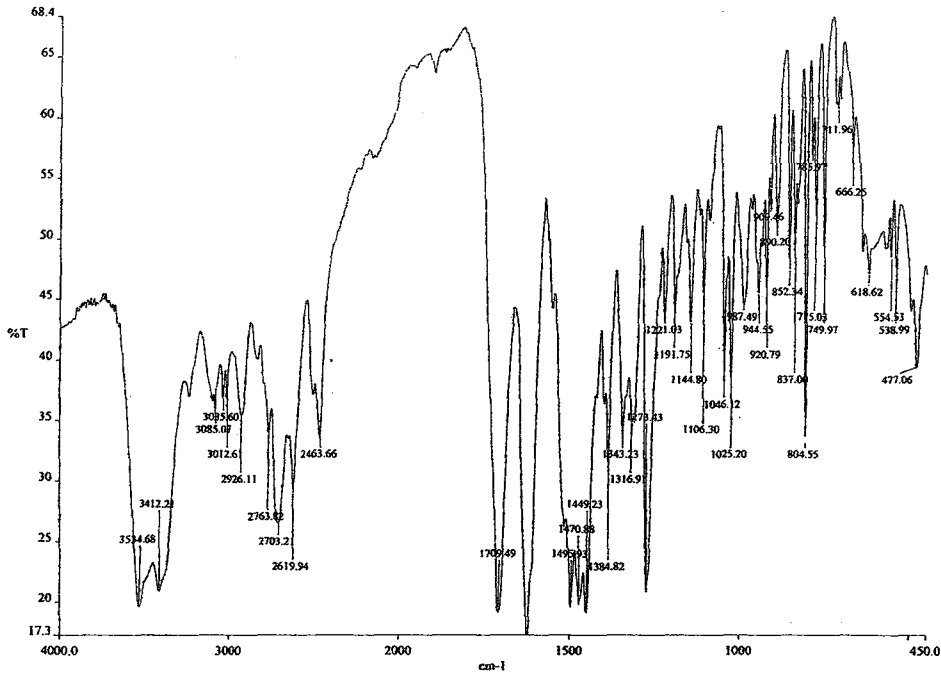
Yöntem 1.3.4'de anlatıldığı gibi hazırlanan standart eğriler Şekil 2.12'de, bu eğrilere ait değerler standart sapmaları ile birlikte Tablo 2.4'de gösterilmiştir.

Tablo 2.4. Siprofloksazin Hidroklorürün Standart Eğrilerine Ait Veriler

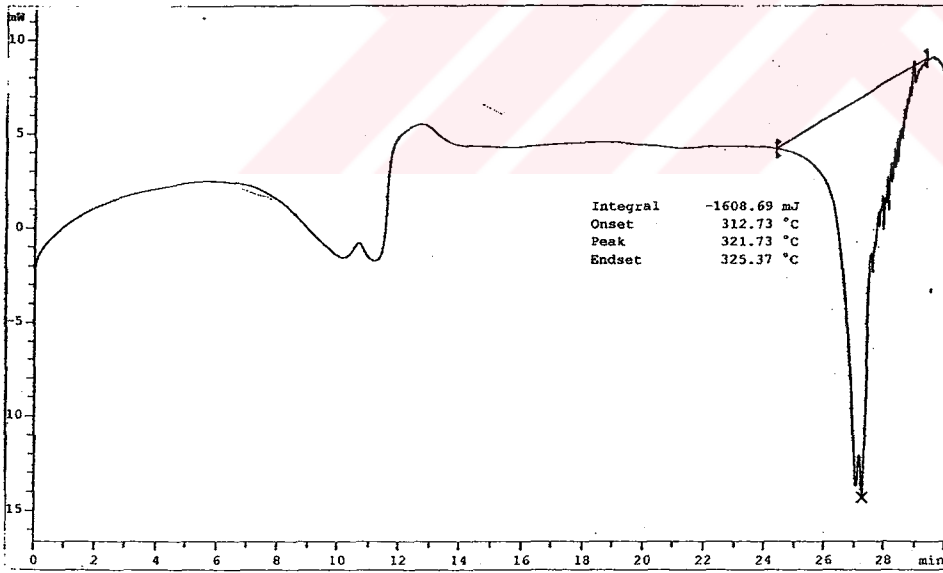
C (µg/mL)	Absorbans ±SD				
	0.1 N HCl	pH 1.2	pH 5.8	pH 6.8	pH 7.4
1	0.188±0.005	0.189±0.005	0.073±0.004	0.075±0.003	0.062±0.003
2	0.291±0.003	0.290±0.005	0.184±0.004	0.184±0.003	0.173±0.004
3	0.386±0.003	0.388±0.004	0.291±0.002	0.293±0.002	0.272±0.003
5	0.592±0.004	0.591±0.003	0.466±0.004	0.469±0.002	0.445±0.003
7	0.785±0.003	0.787±0.002	0.647±0.004	0.645±0.003	0.630±0.006
10	1.048±0.003	1.045±0.004	0.920±0.005	0.924±0.002	0.895±0.005

1.3.5. Siprofloksazin Hidroklorürün Çözünürlük Tayinine Ait Bulgular

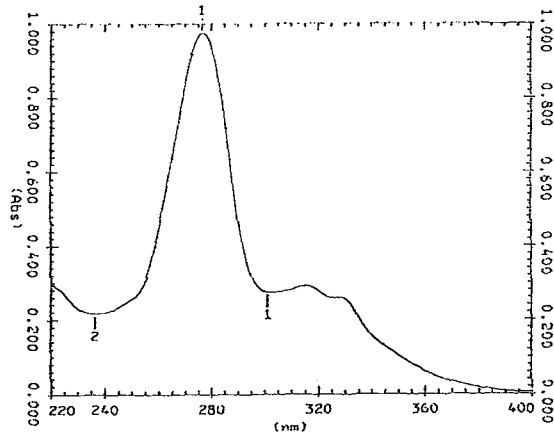
Yöntem 1.3.5'de anlatıldığı gibi yapılan çözünürlük tayini sonuçları Tablo 2.2'de verilmiştir.



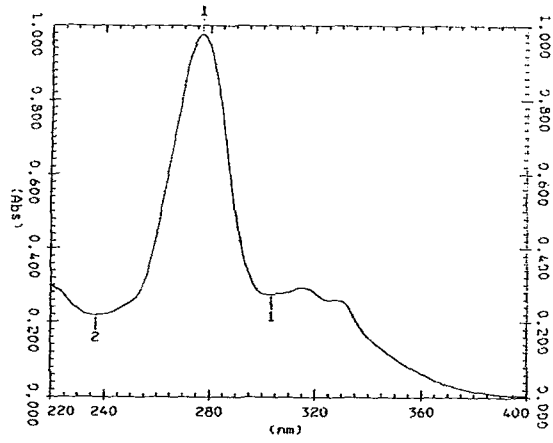
Şekil 2.9. Siprofloksazin HCl'ün FTIR Spektrumu



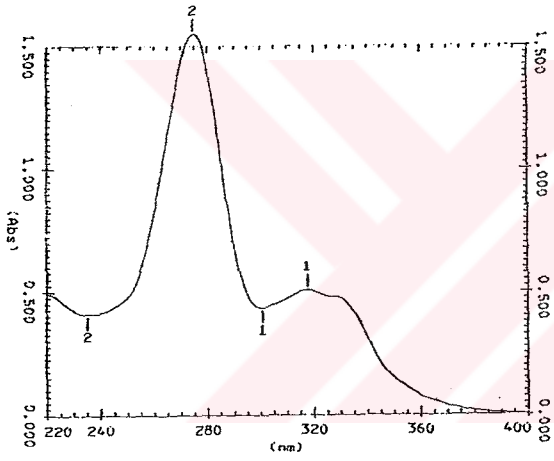
Şekil 2.10. Siprofloksazin HCl'ün DSC'si



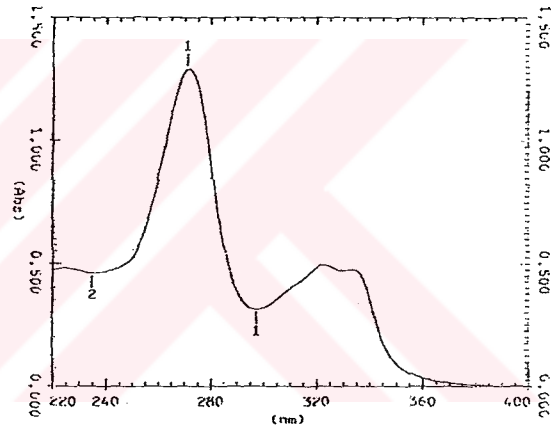
a) Siprofloksazin HCl'ün 0.1 N HCl'deki UV Spektrumu



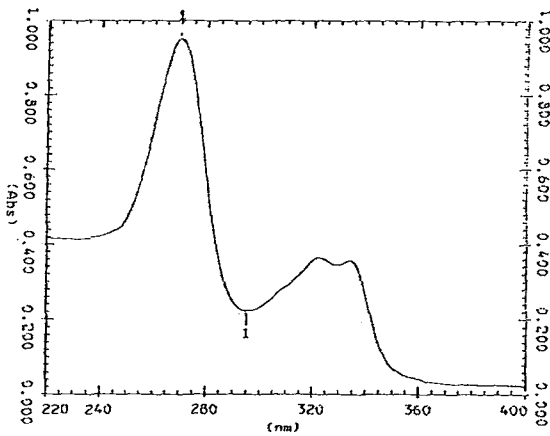
b) Siprofloksazin HCl'ün pH 1.2'deki UV Spektrumu



c) Siprofloksazin HCl'ün pH 5.8'deki UV Spektrumu



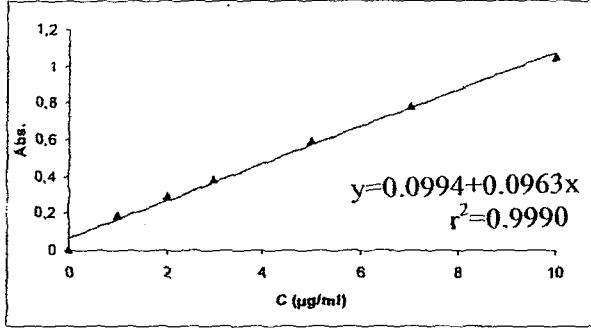
d) Siprofloksazin HCl'ün pH 6.8'deki UV Spektrumu



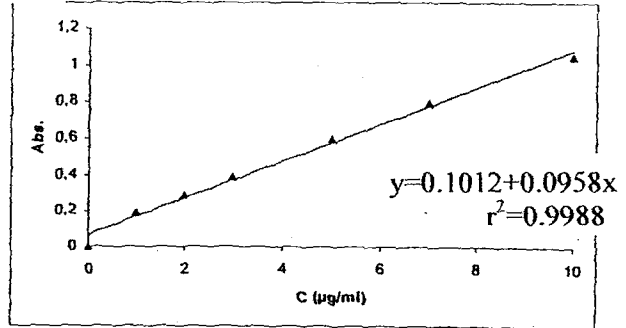
e) Siprofloksazin HCl'ün pH 7.4'deki UV Spektrumu

Şekil 2.11. Siprofloksazin HCl'ün UV Spektrumları

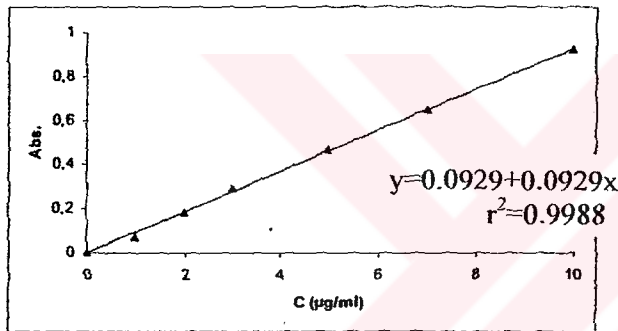
T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ



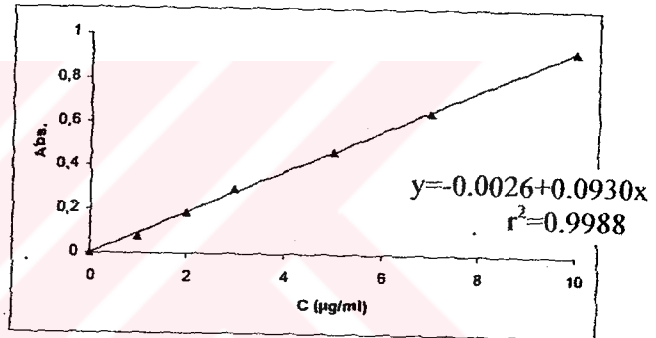
a) Sipprofloksazin HCl'ün 0.1 N HCl'deki standart eğrisi



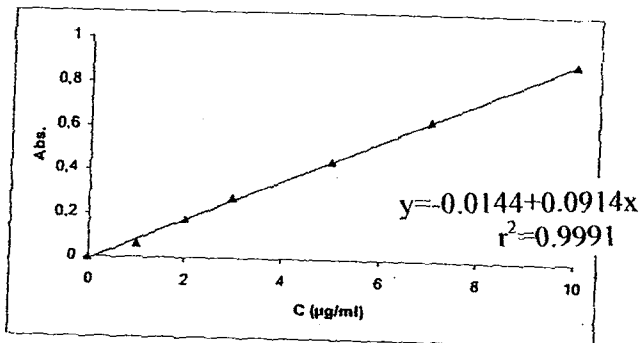
b) Sipprofloksazin HCl'ün pH 1.2'deki standart eğrisi



c) Sipprofloksazin HCl'ün pH 5.8'deki standart eğrisi



d) Sipprofloksazin HCl'ün pH 6.8'deki standart eğrisi



e) Sipprofloksazin HCl'ün pH 7.4'deki standart eğrisi

Şekil 2.12. Sipprofloksazin HCl'ün Standart Eğrileri

1.4.İzoniazidde Yapılan Teşhis ve Tayinlere Ait Bulgular

1.4.1. İzoniazidin Infrared Spektrumuna Ait Bulgular

Yöntem 1.4.1’de belirtildiği şekilde elde edilen infrared spektrumu şekil 2.13’de gösterilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi izoniazidin infrared spektrumu şu karakteristik bantları vermiştir: 3300-3000 cm^{-1} N-H ve C-H gerilme bantları, 3100-3000 cm^{-1} aromatik halkada C-H gerilmesi, 1670 cm^{-1} hidrazid grubu C=O gerilme bandı, 1667 cm^{-1} C=O gerilme titreşimi, 1650-1580 cm^{-1} N-H eğilme titreşimi, 1640 cm^{-1} hidrazid grubu N-H eğilme bandı, 1600-1430 cm^{-1} C-N halka gerilmesi, 1500 cm^{-1} aromatik halkada C=C ve C=N eğilme bantları, 1260-1020 cm^{-1} C-N gerilme titreşimi.

1.4.2. İzoniazidin Termal Analizine Ait Bulgular

Yöntem 1.4.2’de anlatıldığı gibi yapılan analiz sonuçları şekil 2.14’de gösterilmiştir.

1.4.3. İzoniazidin UV Spektrumuna Ait Bulgular

İzoniazide ait UV spektrumları yöntem 1.4.3’de anlatıldığı gibi alınmış ve şekil 2.15’de gösterilmiştir.

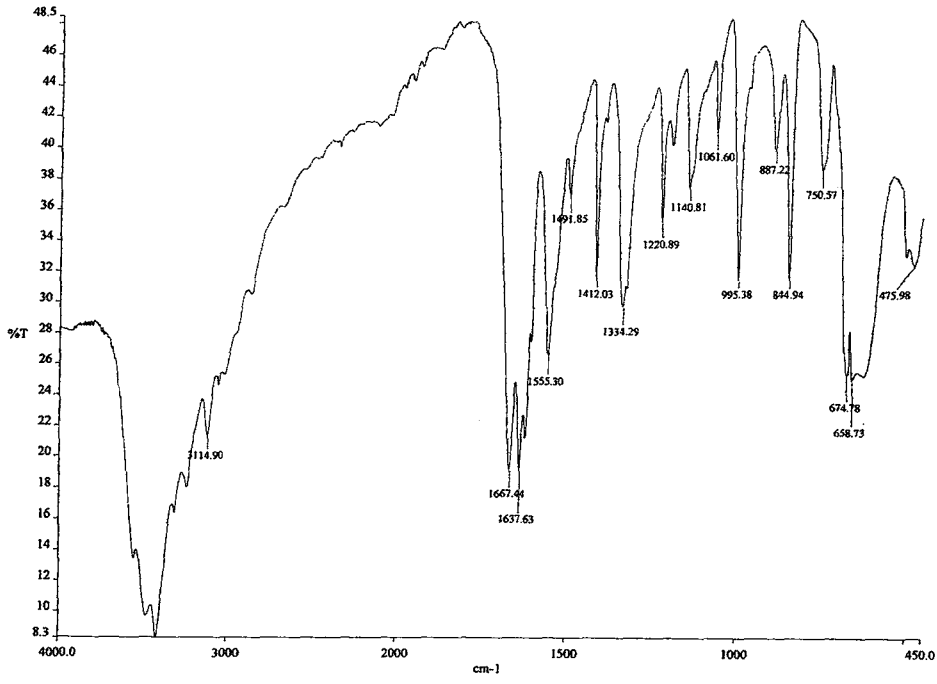
Şekil 2.15.a)’da görüldüğü gibi izoniazidin 0.1 N HCl’deki çözeltisi 266.1 nm dalga boyunda maksimum absorbens göstermiştir.

Şekil 2.15.b)’de görüldüğü gibi izoniazidin pH 1.2’deki çözeltisi 266.1 nm dalga boyunda maksimum absorbens göstermiştir.

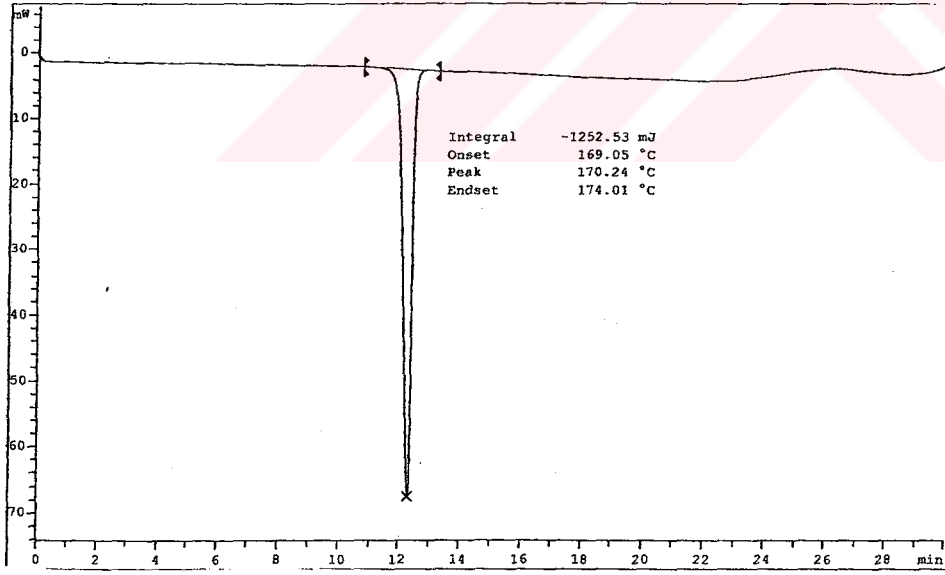
Şekil 2.15.c)’de görüldüğü gibi izoniazidin pH 5.8’deki çözeltisi 262.2 nm dalga boyunda maksimum absorbens göstermiştir.

Şekil 2.15.d)’de görüldüğü gibi izoniazidin pH 6.8’deki çözeltisi 259.3 nm dalga boylarında maksimum absorbens göstermiştir.

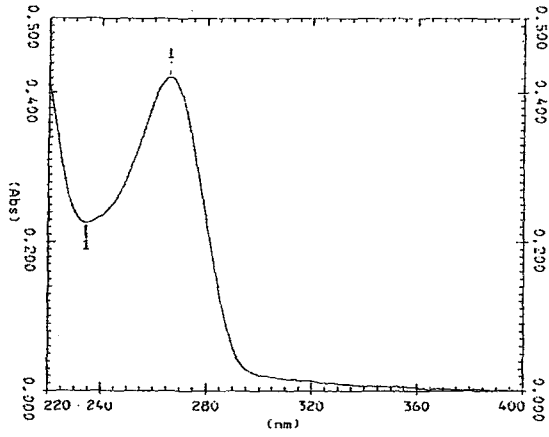
Şekil 2.15.e)’de görüldüğü gibi izoniazidin pH 7.4’deki çözeltisi 262.4 nm dalga boyunda maksimum absorbens göstermiştir.



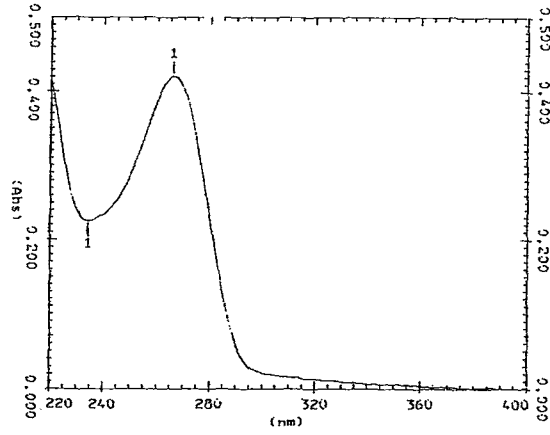
Şekil 2.13. İzoniazid'in FTIR Spektrumu



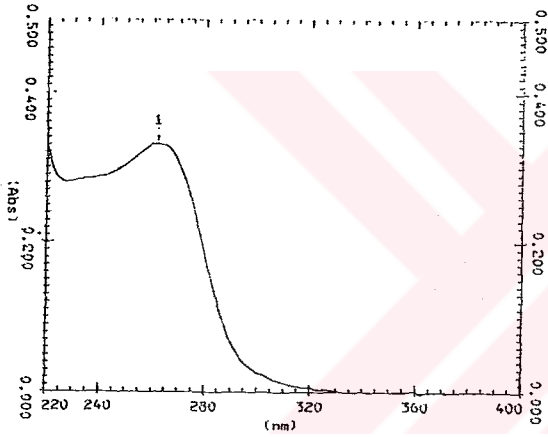
Şekil 2.14. İzoniazid'in DSC'si



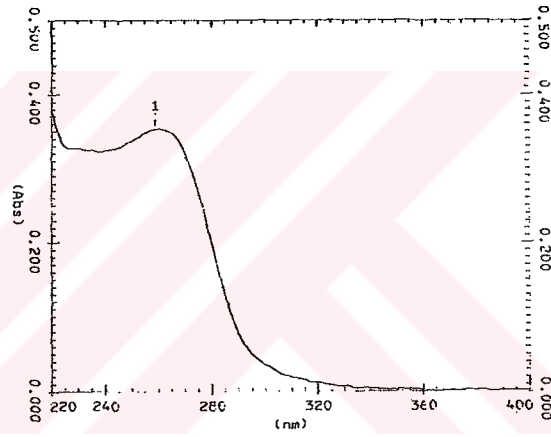
a) İzoniazid'in 0.1 N HCl'deki
UV Spektrumu



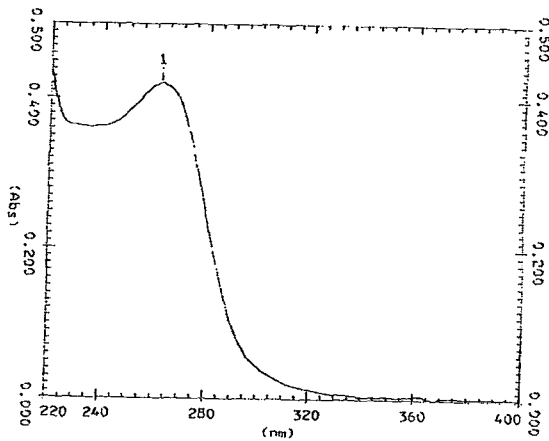
b) İzoniazid'in pH 1.2'deki
UV Spektrumu



c) İzoniazid'in pH 5.8'deki
UV Spektrumu

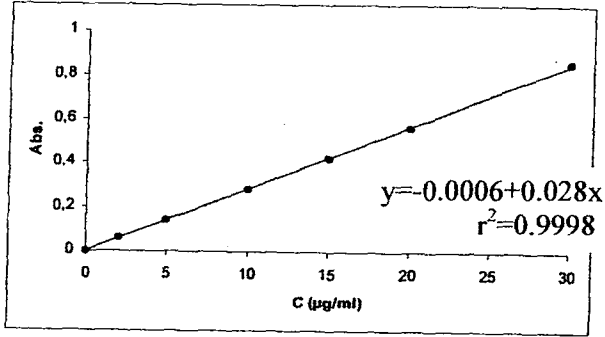


d) İzoniazid'in pH 6.8'deki
UV Spektrumu

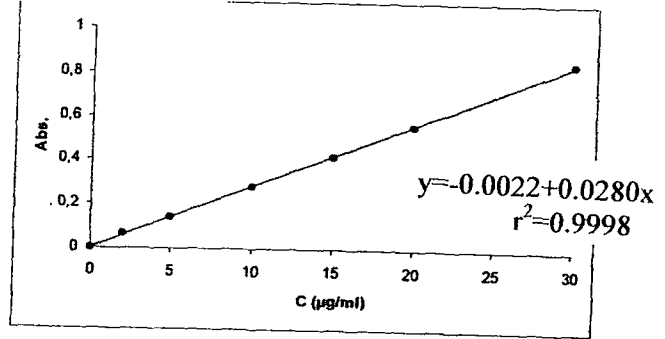


e) İzoniazid'in pH 7.4'deki UV Spektrumu

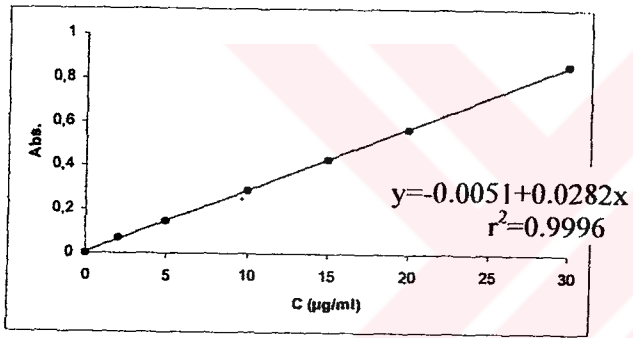
Şekil 2.15. İzoniazid'in UV Spektrumları



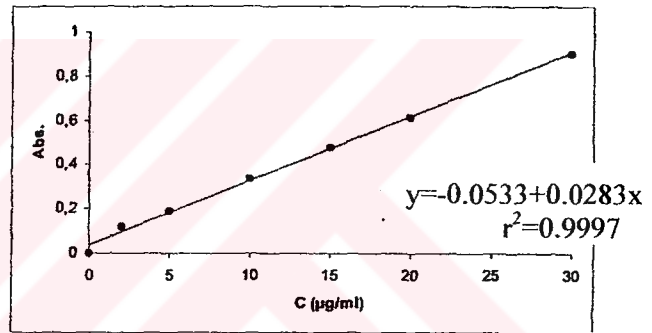
a) İzoniazid'in 0.1 N HCl'deki standart eğrisi



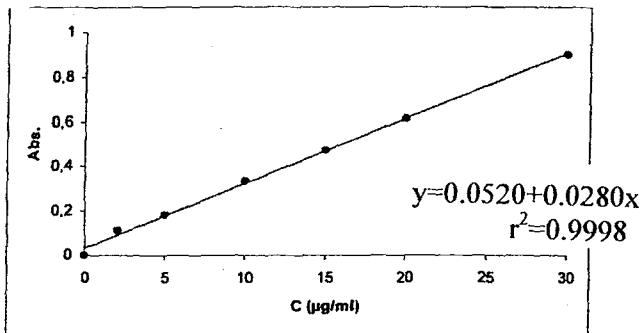
b) İzoniazid'in pH 1.2'deki standart eğrisi



c) İzoniazid'in pH 5.8'deki standart eğrisi



d) İzoniazid'in pH 6.8'deki standart eğrisi



e) İzoniazid'in pH 7.4'deki standart eğrisi

Şekil 2.16. İzoniazid'in Standart Eğrileri

1.4.4.İzoniyazidin Miktar Tayinine Ait Bulgular

Yöntem 1.4.4’de anlatıldığı gibi hazırlanan standart eğriler Şekil 2.16’da, bu eğrilere ait değerler standart sapmaları ile birlikte Tablo 2.5’de gösterilmiştir.

Tablo 2.5. İzoniazidin Standart Eğrilerine Ait Veriler

C (µg/mL)	Absorbans ±SD				
	0.1 N HCl	pH 1.2	pH 5.8	pH 6.8	pH 7.4
2	0.060±0.003	0.065±0.007	0.069±0.007	0.117±0.003	0.115±0.004
5	0.140±0.004	0.139±0.005	0.145±0.003	0.189±0.004	0.187±0.002
10	0.283±0.002	0.280±0.004	0.286±0.002	0.338±0.003	0.335±0.002
15	0.423±0.003	0.421±0.007	0.428±0.003	0.476±0.004	0.475±0.004
20	0.562±0.003	0.559±0.006	0.566±0.005	0.615±0.003	0.614±0.004
30	0.852±0.003	0.847±0.004	0.857±0.002	0.907±0.007	0.904±0.003

1.4.5.İzoniyazidin Çözünürlük Tayini

Yöntem 1.4.5’de anlatıldığı gibi yapılan çözünürlük tayini sonuçları Tablo 2.2’de verilmiştir.

2.P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNDE YAPILAN TAYİNLERE AİT BULGULAR

2.1. P(MAA-g-EG) Partiküllerinin IR Spektrumuna Ait Bulgular

Yöntem 3.1’de belirtildiği şekilde elde edilen infrared spektrumu şekil 2.13’de gösterilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi P(MAA-g-EG) partiküllerinin infrared spektrumu şu karakteristik bantları vermiştir: 3650-3584 cm⁻¹ O-H gerilme titreşimi, 1650-1550 cm⁻¹ asimetrik karboksilat anyonuna ait titreşim, ≈ 1400 cm⁻¹ zayıf simetrik gerilme bandı, 1450 cm⁻¹ C-H asimetrik eğilme bandı, 1375 cm⁻¹ simetrik eğilme bandı, 1300-800 cm⁻¹ C-C gerilme titreşimi, 700-610 cm⁻¹ C-H eğilme titreşimi.

2.2. P(MAA-g-EG) Partiküllerinin Termal Analizine Ait Bulgular

Yöntem 3.2’de anlatıldığı gibi yapılan analiz sonuçları Şekil 2.18’de gösterilmiştir.

3.P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNDEN ETKİN MADDELERİN MİKTAR TAYİNİNE AİT BULGULAR

3.1.P(MAA-g-EG) Partiküllerinden Diltiazem HCl’ün Miktar Tayinine Ait Bulgular

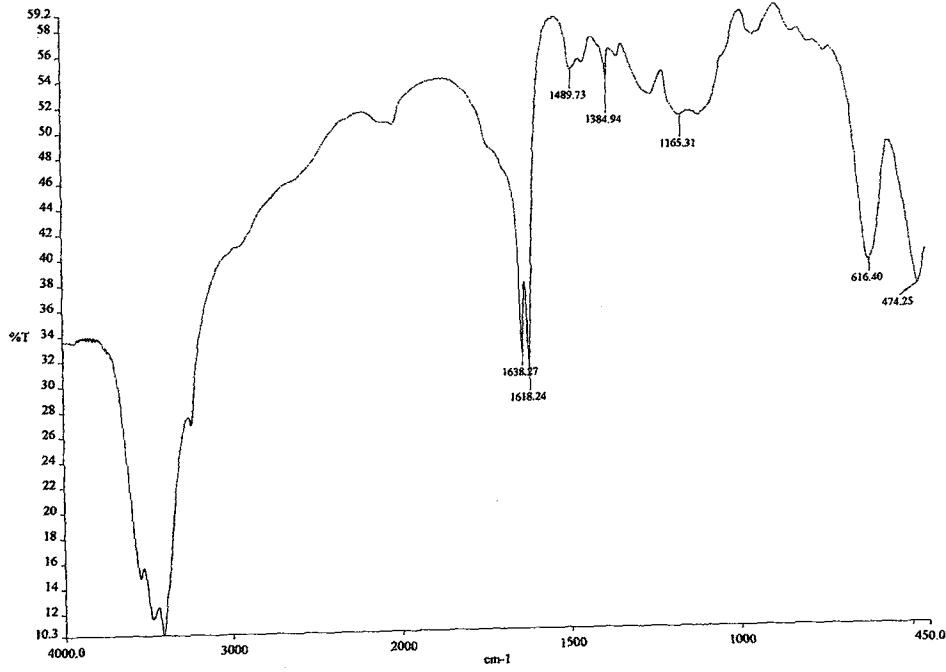
Yöntem 4.1.’de belirtildiği şekilde çalışılması sonucunda diltiazem HCl’ün P(MAA-g-EG) partiküllerindeki % tutulma değeri Tablo 2.6’da gösterilmiştir.

3.2.P(MAA-g-EG) Partiküllerinden Diklofenak Na’un Miktar Tayinine Ait Bulgular

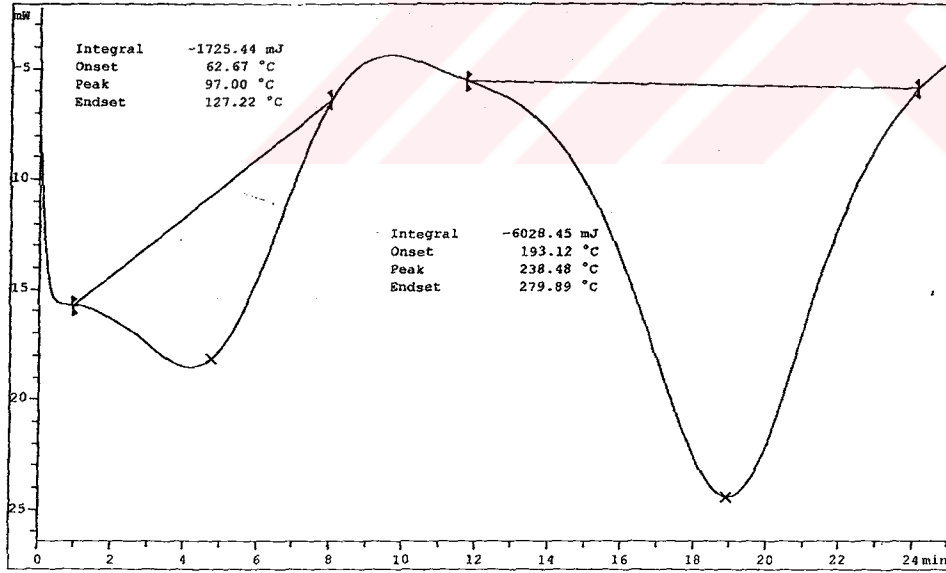
Yöntem 4.2.’de belirtildiği şekilde çalışılması sonucunda diklofenak Na’un P(MAA-g-EG) partiküllerindeki % tutulma değeri Tablo 2.6’da gösterilmiştir.

3.3.P(MAA-g-EG) Partiküllerinden Siprofloksazin HCl’ün Miktar Tayinine Ait Bulgular

Yöntem 4.3.’de belirtildiği şekilde çalışılması sonucunda siprofloksazin HCl’ün P(MAA-g-EG) partiküllerindeki % tutulma değeri Tablo 2.6’da gösterilmiştir.



Şekil 2.17. P(MAA-g-EG)'ün FTIR Spektrumu



Şekil 2.18. P(MAA-g-EG)'ün DSC'si

3.4.P(MAA-g-EG) Hidrojellerinden İzonyazidin Miktar Tayinine Ait Bulgular

Yöntem 4.4.'de belirtildiği şekilde çalışılması sonucunda izonyazidin P(MAA-g-EG) hidrojellerindeki % tutulma değeri Tablo 2.6'da gösterilmiştir.

Tablo 2.6. Etkin Maddelerin P(MAA-g-EG) Partiküllerinde % Tutulma $\pm$ SD Değerleri

Etkin maddeler	% Tutulma $\pm$ SD	
	(Etkin madde:partikül) (1:25)	(Etkin madde:partikül) (5:25)
İzoniazid	52.27 $\pm$ 1.51	52.85 $\pm$ 1.29
Diltiazem HCl	44.72 $\pm$ 4.27	45.21 $\pm$ 2.53
Diklofenak Na	23.23 $\pm$ 2.80	22.70 $\pm$ 2.04
Siprofloksazin HCl	13.40 $\pm$ 1.39	13.26 $\pm$ 1.95

4.ETKİN MADDE YÜKLÜ P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNDEN IN VITRO SALIM ÇALIŞMALARI

4.1.Diltiazem HCl Yüklü P(MAA-g-EG) Hidrojellerinden in Vitro Salım Çalışmalarına Ait Bulgular

Yöntem 5.1.'de anlatıldığı gibi yapılan in vitro salım çalışmasına göre diltiazem HCl yüklü P(MAA-g-EG) hidrojellerinden salınan diltiazem HCl miktarlarına ait veriler Tablo 2.7- 2.8 ve şekil 2.19- 2.20'de gösterilmiştir. Toplam ilaç miktarının % 27'si partiküllerin içinde salınmadan kalmıştır (Tablo 2.8, Şekil 2.20).

4.2.Diklofenak Na Yüklü P(MAA-g-EG) Partiküllerinden in Vitro Salım Çalışmalarına Ait Bulgular

Yöntem 5.2.'de anlatıldığı gibi yapılan in vitro salım çalışmasına göre diklofenak Na yüklü P(MAA-g-EG) partiküllerinden salınan diklofenak Na miktarlarına ait veriler Tablo 2.7- 2.8 ve Şekil 2.19- 2.20'de gösterilmiştir. Toplam ilaç miktarının % 32'si partiküllerin içinde salınmadan kalmıştır (Tablo 2.8, Şekil 2.20).

4.3.Siprofloksazin HCl Yüklü P(MAA-g-EG) Partiküllerinden in Vitro Salım Çalışmalarına Ait Bulgular

Yöntem 5.3.'de anlatıldığı gibi yapılan in vitro salım çalışmasına göre siprofloksazin HCl yüklü P(MAA-g-EG) partiküllerinden salınan siprofloksazin HCl miktarlarına ait veriler Tablo 2.7- 2.8 ve Şekil 2.19- 2.20'de gösterilmiştir. Toplam ilaç miktarının % 19'u partiküllerin içinde salınmadan kalmıştır (Tablo 2.8, Şekil 2.20).

4.4.İzoniyazid Yüklü P(MAA-g-EG) Partiküllerinden in Vitro Salım Çalışmalarına Ait Bulgular

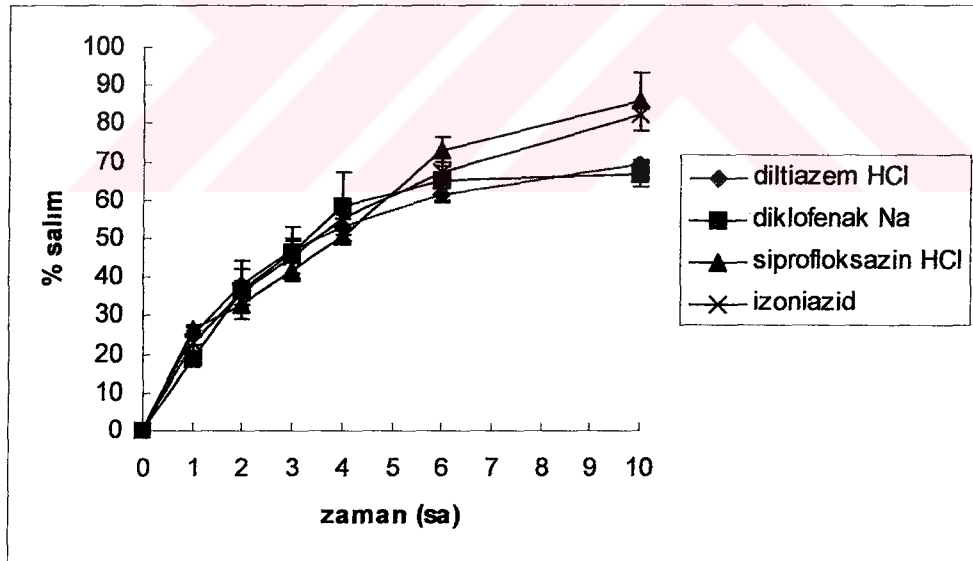
Yöntem 5.4.'de anlatıldığı gibi yapılan in vitro salım çalışmasına göre izoniyazid yüklü P(MAA-g-EG) partiküllerinden salınan izoniyazid miktarlarına ait veriler Tablo 2.7- 2.8 ve Şekil 2.19- 2.20'de gösterilmiştir. Toplam ilaç miktarının % 18'i partiküllerin içinde salınmadan kalmıştır (Tablo 2.8, Şekil 2.20).

Tablo 2.7. Etkin Madde Yüklü P(MAA-g-EG) Partiküllerinden pH 7.4 Fosfat Tamponundaki in Vitro Salım Değerleri

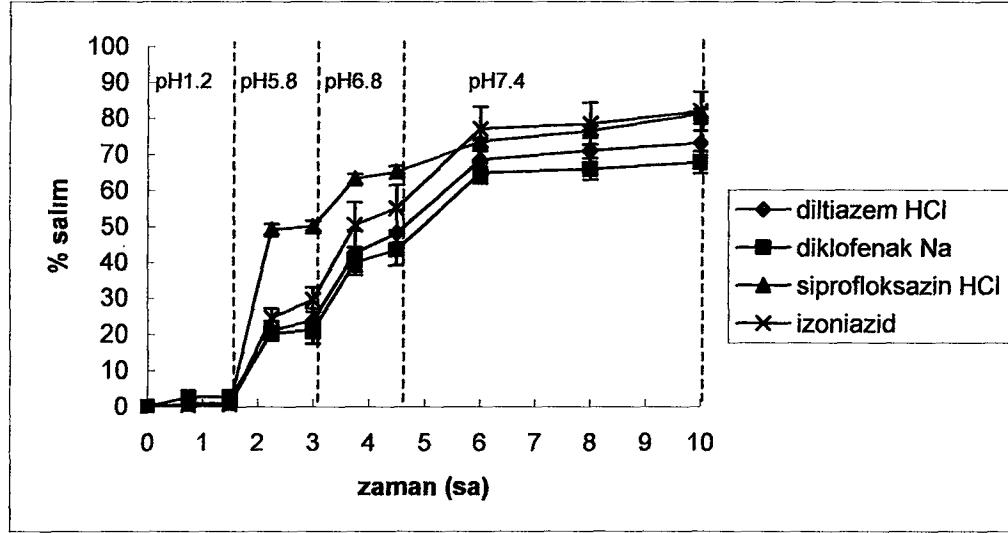
Zaman (saat)	% salım $\pm$ SD			
	Diltiazem HCl	Diklofenak Na	Siprofloksazin HCl	İzoniazid
1	25.09 $\pm$ 2.72	18.74 $\pm$ 1.58	26.38 $\pm$ 0.59	22.73 $\pm$ 2.17
2	38.13 $\pm$ 3.87	36.69 $\pm$ 7.36	32.62 $\pm$ 1.68	36.17 $\pm$ 2.17
3	46.94 $\pm$ 3.26	46.27 $\pm$ 6.82	41.79 $\pm$ 2.67	45.44 $\pm$ 3.12
4	53.09 $\pm$ 2.24	58.22 $\pm$ 8.81	50.59 $\pm$ 1.92	55.43 $\pm$ 4.09
6	61.39 $\pm$ 2.12	64.93 $\pm$ 4.88	72.82 $\pm$ 3.87	67.2 $\pm$ 3.21
10	69.47 $\pm$ 1.00	66.74 $\pm$ 3.11	85.77 $\pm$ 7.64	82.27 $\pm$ 2.40

Tablo 2.8. Etkin Madde Yüklü P(MAA-g-EG) Hidrojellerinden Artan pH Değerlerindeki in Vitro Salım Değerleri

Zaman (sa)	pH değerleri	% salım $\pm$ SD			
		Diltiazem HCl	Diklofenak Na	Siprofloksazin HCl	İzoniazid
0,75	1.2	0.69 $\pm$ 0.45	2.75 $\pm$ 1.70	0.78 $\pm$ 0.43	0.49 $\pm$ 0.41
1,5	1.2	1.10 $\pm$ 0.40	2.78 $\pm$ 1.72	1.04 $\pm$ 0.36	0.63 $\pm$ 0.56
2,25	5.8	21.04 $\pm$ 1.06	20.27 $\pm$ 1.91	49.31 $\pm$ 1.51	24.59 $\pm$ 2.54
3	5.8	23.78 $\pm$ 1.67	21.14 $\pm$ 2.20	50.13 $\pm$ 1.48	29.59 $\pm$ 3.42
3,75	6.8	42.67 $\pm$ 3.42	39.90 $\pm$ 2.48	63.35 $\pm$ 1.18	50.55 $\pm$ 6.30
4,5	6.8	48.32 $\pm$ 3.01	43.62 $\pm$ 4.37	65.23 $\pm$ 1.56	55.25 $\pm$ 6.27
6	7.4	68.41 $\pm$ 5.22	64.82 $\pm$ 2.87	73.47 $\pm$ 0.49	77.08 $\pm$ 6.13
8	7.4	70.92 $\pm$ 5.58	65.92 $\pm$ 2.98	76.46 $\pm$ 1.33	78.46 $\pm$ 5.79
10	7.4	73.08 $\pm$ 5.37	67.77 $\pm$ 2.99	81.21 $\pm$ 1.23	81.89 $\pm$ 5.40



Şekil 2.19. Etkin Madde Yüklü P(MAA-g-EG) Hidrojellerinden pH 7.4 Fosfat Tamponundaki in Vitro Salım Profilleri



Şekil 2.20. Etkin Madde Yüklü P(MAA-g-EG) Hidrojellerinden Artan pH Değerlerindeki in Vitro Salım Profilleri

5. P(MAA-g-EG) PARTİKÜLLERİNDEN ETKİN MADDELERİN SALIM HIZINA AİT KİNETİK PARAMETRELER

Etkin maddelerin P(MAA-g-EG) partiküllerinden pH 7.4'deki salım hızlarına ait kinetik parametreler Tablo 2.8.'de gösterilmiştir. Salım mekanizmaları $M_t/M_\infty = k \cdot t^n$ (M_t/M_∞ ; salınan ilaç oranı, t ; salım zamanı, k ; yapı ve geometrik özelliklere bağlı kinetik sabiti, n ; ilaç salım mekanizmasını ifade eden üstel sayısı) eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır.

Tablo 2.8 Etkin maddelerin P(MAA-g-EG) partiküllerinden pH 7.4'deki salım hızlarına ait kinetik parametreler

	r^2	n	k
Diltiazem HCl	0.995	0.538	0.369
Diklofenak Na	0.990	0.812	0.292
Siprofloksazin HCl	0.962	0.462	0.297
İzoniazid	0.998	0.624	0.282

6. ANALİTİK YÖNTEM VALİDASYONUNA AİT BULGULAR

6.1.Doğruluk

6.1.1.Diltiazem HCl için doğruluk

Yöntem 7.1.'de anlatıldığı gibi yapılan deney bulguları diltiazem HCl için Tablo 2.9.a-c'de, verilmiştir.

Tablo 2.9.a: Analitik yöntemin doğruluğuna ait bulgular (düşük konsantrasyon)

Konsantrasyon (µg/mL)	İlave edilen (%)	Bulunan (%)	Geri kazanılan (%)
2	10	9.5	99.55
2	10	12.0	101.82
2	10	10.5	100.45
2	10	11.0	100.91
2	10	10.5	100.45
2	10	10.5	98.64
Ortalama		10.67	100.30
Standart sapma		0.82	1.10
Varyasyon katsayısı		7.68	1.10

Tablo 2.9.b. Analitik yöntemin doğruluğuna ait bulgular (orta konsantrasyon)

Konsantrasyon (µg/mL)	İlave edilen (%)	Bulunan (%)	Geri kazanılan (%)
6	40	41.3	100.95
6	40	42.7	101.90
6	40	40.2	100.12
6	40	42.8	102.02
6	40	38.7	99.05
6	40	39.5	99.64
Ortalama		40.9	100.61
Standart sapma		1.69	1.21
Varyasyon katsayısı		4.13	1.20

İ.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Tablo 2.9.c. Analitik yöntemin doğruluğuna ait bulgular (yüksek konsantrasyon)

Konsantrasyon (µg/mL)	İlave edilen (%)	Bulunan (%)	Geri kazanılan (%)
14	70	71.57	100.92
14	70	61.67	95.08
14	70	62.21	95.42
14	70	71.72	100.01
14	70	72.25	101.30
14	70	72.36	101.39
Ortalama		68.63	99.02
Standart sapma		5.19	2.96
Varyasyon katsayısı		7.57	2.99

6.1.2.Diklofenak Na için doğruluk

Yöntem 7.1.'de anlatıldığı gibi yapılan deney bulguları diklofenak Na için için Tablo 2.10 a-c'de, verilmiştir.

Tablo 2.10 a. Analitik yöntemin doğruluğuna ait bulgular (düşük konsantrasyon)

Konsantrasyon (µg/mL)	İlave edilen (%)	Bulunan (%)	Geri kazanılan (%)
2	10	9.0	99.09
2	10	10.5	100.45
2	10	13.5	103.18
2	10	12.0	101.82
2	10	8.0	98.18
2	10	10.5	100.45
Ortalama		10.58	100.42
Standart sapma		1.98	1.73
Varyasyon katsayısı		18.76	1.72

Tablo 2.10 b. Analitik yöntemin doğruluğuna ait bulgular (orta konsantrasyon)

Konsantrasyon (µg/mL)	İlave edilen (%)	Bulunan (%)	Geri kazanılan (%)
8	40	41.62	101.16
8	40	41.25	100.89
8	40	39.50	99.64
8	40	38.0	98.57
8	40	39.12	99.37
8	40	39.5	99.64
Ortalama		39.83	99.88
Standart sapma		1.36	0.97
Varyasyon katsayısı		3.42	0.97

Tablo 2.10 c. Analitik yöntemin doğruluğuna ait bulgular (yüksek konsantrasyon)

Konsantrasyon (µg/mL)	İlave edilen (%)	Bulunan (%)	Geri kazanılan (%)
16	70	68.12	97.32
16	70	68.79	98.27
16	70	69.59	99.41
16	70	70.92	101.32
16	70	70.99	101.40
16	70	70.99	101.40
Ortalama		69.9	99.85
Standart sapma		1.26	1.79
Varyasyon katsayısı		1.80	1.79

6.3. Siprofloksazin HCl için doğruluk

Yöntem 7.1.'de anlatıldığı gibi yapılan deney bulguları siprofloksazin HCl için Tablo 2.11 a-c'de, verilmiştir.

Tablo 2.11.a. Analitik yöntemin doğruluğuna ait bulgular (düşük konsantrasyon)

Konsantrasyon (µg/mL)	İlave edilen (%)	Bulunan (%)	Geri kazanılan (%)
1	10	7.91	79.09
1	10	9.38	93.64
1	10	11.56	115.45
1	10	10.87	108.18
1	10	10.37	103.63
1	10	10.17	101.82
Ortalama		10.04	100.29
Standart sapma		1.27	12.64
Varyasyon katsayısı		12.67	12.60

Tablo 2.11.b. Analitik yöntemin doğruluğuna ait bulgular (orta konsantrasyon)

Konsantrasyon (µg/mL)	İlave edilen (%)	Bulunan (%)	Geri kazanılan (%)
3	40	43.41	108.57
3	40	41.54	103.81
3	40	40.67	101.67
3	40	39.33	98.33
3	40	39.33	98.33
3	40	38.84	97.38
Ortalama		40.54	101.95
Standart sapma		1.72	4.51
Varyasyon katsayısı		4.24	4.42

Tablo 2.11.c. Analitik yöntemin doğruluğuna ait bulgular (yüksek konsantrasyon)

Konsantrasyon (µg/mL)	İlave edilen (%)	Bulunan (%)	Geri kazanılan (%)
7	70	60.01	85.71
7	70	65.08	92.94
7	70	72.46	103.53
7	70	77.41	104.03
7	70	73.62	105.21
7	70	72.46	103.53
Ortalama		70.17	99.16
Standart sapma		6.39	7.98
Varyasyon katsayısı		9.10	8.04

6.1.4. İzoniazid için doğruluk

Yöntem 7.1.'de anlatıldığı gibi yapılan deney bulguları izoniazid için Tablo 2.12 a-c'de, verilmiştir.

Tablo 2.12.a Analitik yöntemin doğruluğuna ait bulgular (düşük konsantrasyon)

Konsantrasyon (µg/mL)	İlave edilen (%)	Bulunan (%)	Geri kazanılan (%)
2	10	11.00	110.00
2	10	10.20	101.82
2	10	9.72	97.27
2	10	10.04	100.45
2	10	10.20	101.82
2	10	9.40	94.09
Ortalama		10.09	100.91
Standart sapma		0.54	5.37
Varyasyon katsayısı		5.37	5.32

Tablo 2.12.b Analitik yöntemin doğruluğuna ait bulgular (orta konsantrasyon)

Konsantrasyon (µg/mL)	İlave edilen (%)	Bulunan (%)	Geri kazanılan (%)
5	40	45.13	112.86
5	40	42.91	107.28
5	40	38.26	95.71
5	40	38.26	95.71
5	40	38.06	95.14
5	40	38.06	95.14
Ortalama		40.11	100.31
Standart sapma		3.11	7.77
Varyasyon katsayısı		7.75	7.74

Tablo 2.12.c Analitik yöntemin doğruluğuna ait bulgular (yüksek konsantrasyon)

Konsantrasyon (µg/mL)	İlave edilen (%)	Bulunan (%)	Geri kazanılan (%)
10	70	78.79	112.53
10	70	75.44	107.76
10	70	71.37	101.94
10	70	68.17	97.35
10	70	65.40	93.41
10	70	65.40	93.41
Ortalama		70.76	101.07
Standart sapma		5.49	7.85
Varyasyon katsayısı		7.76	7.76

6.2. Kesinlik

6.2.1. Diltiazem HCl için kesinlik:

Diltiazem HCl için gün içi kesinlik bulguları tablo 2.13.a'da, günlerarası kesinlik bulguları ise tablo 2.13.b'de ve şekil 2.21'de verilmiştir.

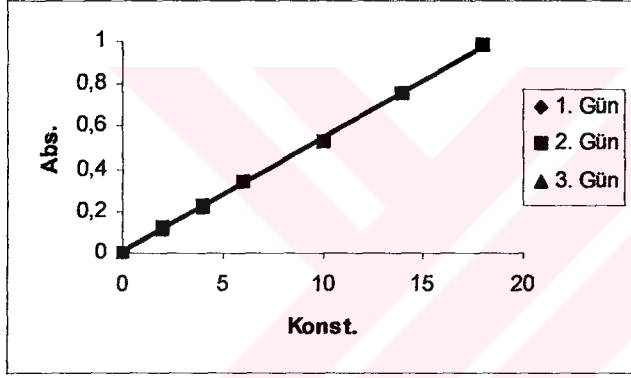
Tablo 2.13.a Diltiazem HCl için gün içi kesinlik bulguları

C (µg/mL)	Absorbans ±SD	% RSD	Hesaplanan Konsantrasyon ±SD	% RSD	Ortalama % Geri Kazanılan ±SD	% RSD
2	0.113±0.003	2.65	2.04±0.005	2.45	101.92±2.65	1.60
4	0.220±0.003	1.36	4.02±0.05	1.24	100.54±1.31	1.30
6	0.336±0.004	1.19	6.17±0.08	1.30	102.89±1.32	1.28
10	0.524±0.004	0.76	9.64±0.07	0.73	96.45±0.76	0.79
14	0.756±0.005	0.66	13.95±0.08	0.57	99.66±0.61	0.61
18	0.984±0.004	0.41	18.17±0.07	0.38	100.93±0.38	0.38

Tablo 6.13.b. Diltiazem HCl için günlerarası kesinlik bulguları

C (µg/mL)	Absorbanslar		
	1. gün	2. gün	3. gün
2	0.109	0.110	0.113
4	0.218	0.216	0.219
6	0.330	0.330	0.334
10	0.520	0.524	0.522
14	0.750	0.751	0.749
18	0.982	0.980	0.983

1. gün $y = -1.403 + 0.0540x$ $r^2 = 0.9990$
2. gün $y = -0.008 + 0.0540x$ $r^2 = 0.9993$
3. gün $y = 0.002 + 0.0540x$ $r^2 = 0.9989$



Şekil 2.21. Diltiazem HCl için günlerarası kesinlik

6.2.2. Diklofenak Na için kesinlik:

Diklofenak Na için gün içi kesinlik bulguları tablo 2.14.a'da, günlerarası kesinlik bulguları ise tablo 2.14 b'de ve şekil 2.22'de verilmiştir.

Tablo 2.14 a Diklofenak Na için gün içi kesinlik bulguları

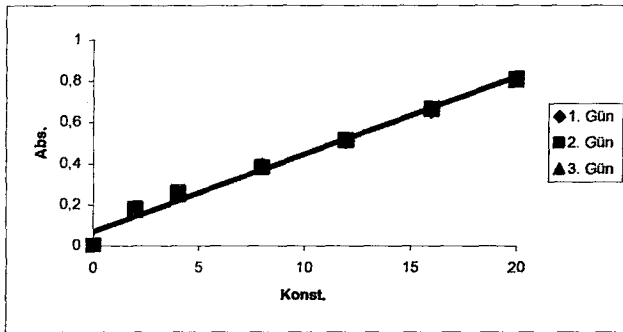
C (µg/mL)	Absorbans ±SD	% RSD*	Hesaplanan Konsantrasyon ±SD	% RSD	Ortalama % Geri Kazanılan ±SD	% RSD
2	0.175±0.004	2.28	2.01±0.12	5.97	100.50±6.12	6.09
4	0.250±0.003	1.20	4.17±0.09	2.16	104.21±2.16	2.07
8	0.384±0.002	0.52	7.97±0.06	0.75	99.66±0.82	0.82
12	0.514±0.004	0.78	11.71±0.13	1.11	97.56±1.07	1.10
16	0.664±0.003	0.45	16.00±0.09	0.56	99.99±0.57	0.57
20	0.811±0.003	0.37	20.18±0.08	0.40	100.92±0.40	0.40

*RSD: relative standard deviation

Tablo 6.14.b. Diklofenak Na için günlerarası kesinlik bulguları

C (µg/mL)	Absorbanslar		
	1. gün	2. gün	3. gün
2	0.170	0.179	0.172
4	0.249	0.256	0.250
8	0.384	0.382	0.386
12	0.510	0.512	0.516
16	0.661	0.667	0.667
20	0.810	0.812	0.808

1. gün $y = 0.1015 + 0.0351x$ $r^2 = 0.9991$
 2. gün $y = 0.1080 + 0.0348x$ $r^2 = 0.9988$
 3. gün $y = 0.1731 + 0.0312x$ $r^2 = 0.9996$

**Şekil 2.22.** Diklofenak Na için günlerarası kesinlik

6.2.3. Siprofloksazin HCl için kesinlik:

Siprofloksazin HCl için gün içi kesinlik bulguları tablo 2.15.a'da, günlerarası kesinlik bulguları ise tablo 2.15.b'de ve şekil 2.23'de verilmiştir.

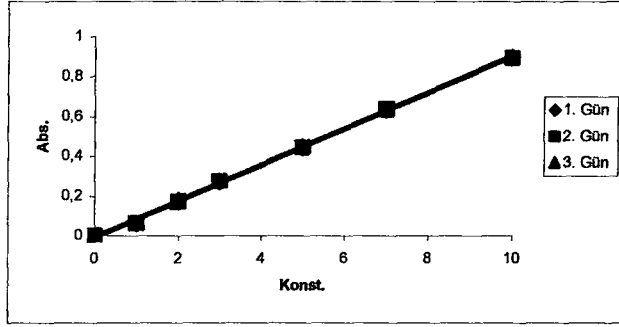
Tablo 2.15.a Siprofloksazin HCl için gün içi kesinlik bulguları

C (µg/mL)	Absorbans ±SD	% RSD	Hesaplanan Konsantrasyon ±SD	% RSD	Ortalama % Geri Kazanılan ±SD	% RSD
1	0.062±0.003	4.84	0.93±0.03	3.22	93.50±3.15	3.37
2	0.173±0.004	2.31	2.05±0.04	1.95	102.50±1.95	1.90
3	0.272±0.003	1.10	3.12±0.04	1.28	104.11±1.36	1.31
5	0.445±0.006	0.67	5.02±0.04	0.80	100.33±0.80	0.80
7	0.630±0.006	0.95	7.03±0.07	0.99	100.50±0.99	0.98
10	0.895±0.005	0.56	9.85±0.21	2.13	98.50±2.13	2.16

Tablo 2.15.b. Siprofloksazin HCl için günlerarası kesinlik bulguları

C (µg/mL)	Absorbanslar		
	1. gün	2. gün	3. gün
1	0.060	0.061	0.066
2	0.171	0.170	0.178
3	0.269	0.274	0.275
5	0.441	0.444	0.448
7	0.632	0.634	0.639
10	0.891	0.893	0.897

1. gün	$y = -0.0166 + 0.0915x$	$r^2 = 0.9990$
2. gün	$y = -0.0152 + 0.0917x$	$r^2 = 0.9988$
3. gün	$y = -0.0101 + 0.0915x$	$r^2 = 0.9989$



Şekil 2.23. Siprofloksazin HCl için günlerarası kesinlik

6.2.4. İzoniazid için kesinlik:

İzoniazid için gün içi kesinlik bulguları tablo 2.16.a'da, günlerarası kesinlik bulguları ise tablo 2.16.b'de ve şekil 2.24'de verilmiştir.

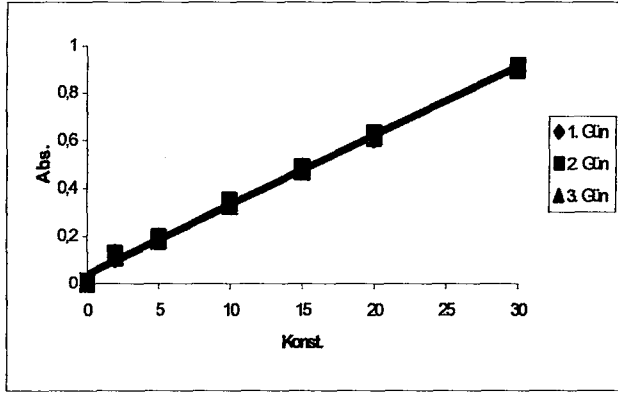
Tablo 6.16.a İzoniazid için gün içi kesinlik bulguları

C (µg/mL)	Absorbans ±SD	% RSD	Hesaplanan Konsantrasyon ±SD	% RSD	Ortalama % Geri Kazanılan ±SD	% RSD
2	0.115±0.004	3.48	2.24±0.12	5.36	111.83±6.28	5.61
5	0.187±0.002	1.07	4.79±0.08	1.67	95.67±1.80	1.88
10	0.335±0.002	0.60	10.02±0.09	0.90	100.25±0.95	0.95
15	0.475±0.004	0.42	14.96±0.13	0.87	99.72±0.87	0.87
20	0.614±0.004	0.49	19.88±0.13	0.65	99.41±0.65	0.65
30	0.904±0.003	0.11	30.13±0.11	0.36	100.42±0.37	0.37

Tablo 2.16.b. İzoniazid için günlerarası kesinlik bulguları

C (µg/mL)	Absorbanslar		
	1. gün	2. gün	3. gün
2	0.112	0.114	0.119
5	0.186	0.185	0.189
10	0.337	0.335	0.334
15	0.479	0.476	0.475
20	0.613	0.619	0.618
30	0.902	0.904	0.904

1. gün	$y = -0.0512 + 0.0283x$	$r^2 = 0.9998$
2. gün	$y = -0.0504 + 0.0284x$	$r^2 = 0.9998$
3. gün	$y = -0.0539 + 0.0282x$	$r^2 = 0.9997$



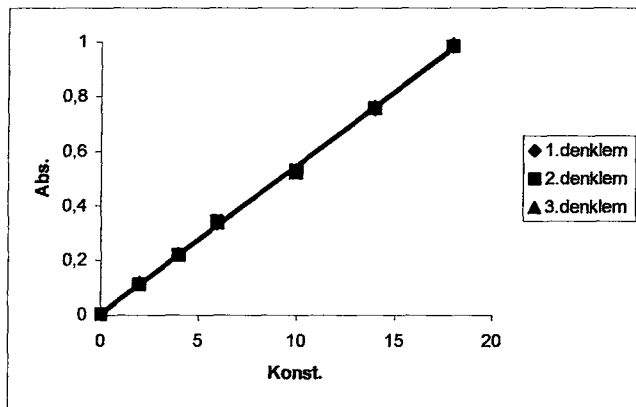
Şekil 2.24. İzoniazid için günlerarası kesinlik

6.3. Doğrusallık

6.3.1. Diltiazem HCl için doğrusallık

Diltiazem HCl için doğrusallık bulguları şekil 2.25.'de gösterilmiştir.

1. denklem:	$y = 0.0004 + 0.0536x$	$r^2 = 0.9990$
2. denklem:	$y = 0.0027 + 0.0540x$	$r^2 = 0.9992$
3. denklem:	$y = 0.0025 + 0.0542x$	$r^2 = 0.9986$

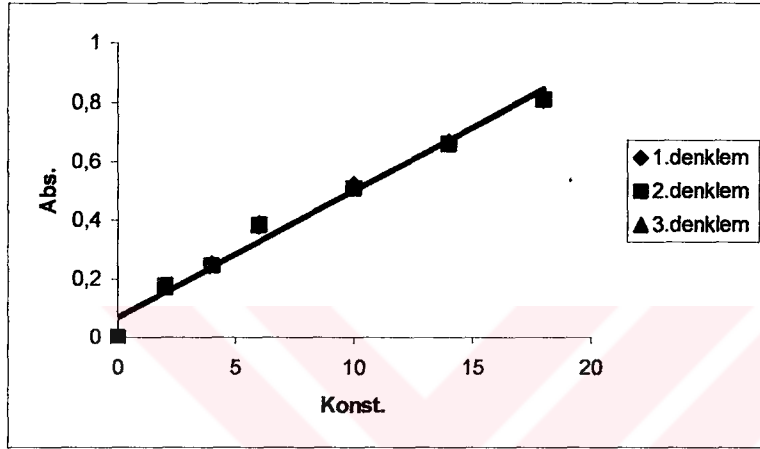


Şekil 2.25. Diltiazem HCl için doğrusallık

6.3.2. Diklofenak Na için doğrusallık

Diklofenak Na için doğrusallık bulguları şekil 2.26'da gösterilmiştir.

1. denklem:	$y = 0.1128 + 0.0394x$	$r^2 = 0.9931$
2. denklem:	$y = 0.1114 + 0.0393x$	$r^2 = 0.9931$
3. denklem:	$y = 0.1084 + 0.0399x$	$r^2 = 0.9925$

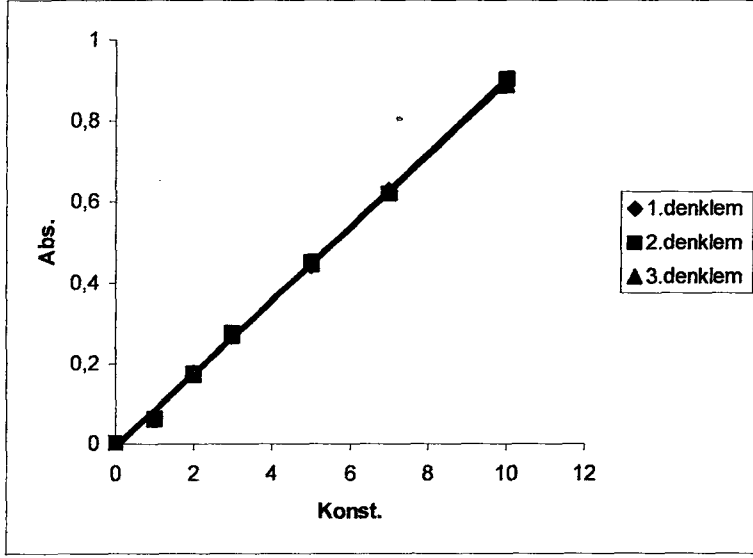


Şekil 2.26. Diklofenak Na için doğrusallık

6.3.3. Siprofloksazin HCl için doğrusallık

Siprofloksazin HCl için doğrusallık bulguları şekil 6.3.3'de gösterilmiştir.

1. denklem:	$y = -0.0142 + 0.0916x$	$r^2 = 0.9994$
2. denklem:	$y = -0.0143 + 0.0918x$	$r^2 = 0.9987$
3. denklem:	$y = -0.0147 + 0.0909x$	$r^2 = 0.9989$

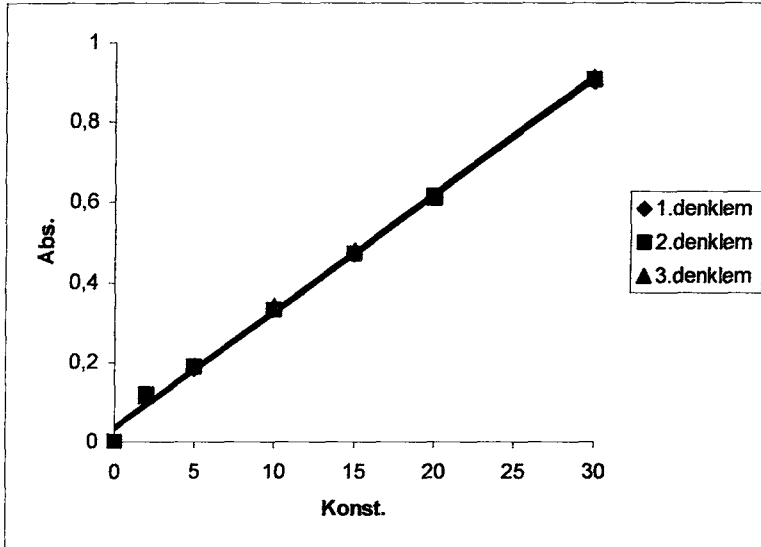


Şekil 2.27. Sipprofloksazin HCl için doğrusallık

6.3.4. İzoniazid için doğrusallık

İzoniazid için doğrusallık bulguları şekil 2.28’de gösterilmiştir.

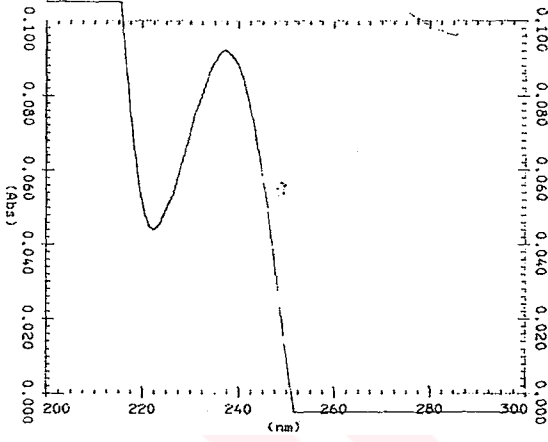
1. denklem:	$y = 0.0483 + 0.0283x$	$r^2 = 0.9998$
2. denklem:	$y = 0.0520 + 0.0283x$	$r^2 = 0.9995$
3. denklem:	$y = 0.0524 + 0.0284x$	$r^2 = 0.9995$



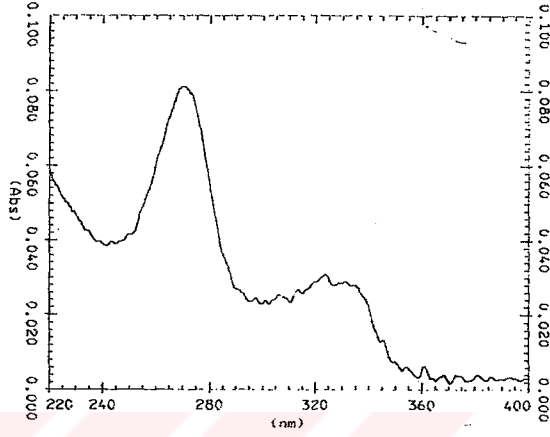
Şekil 2.28. İzoniazid için doğrusallık

6.4.Duyarlılık

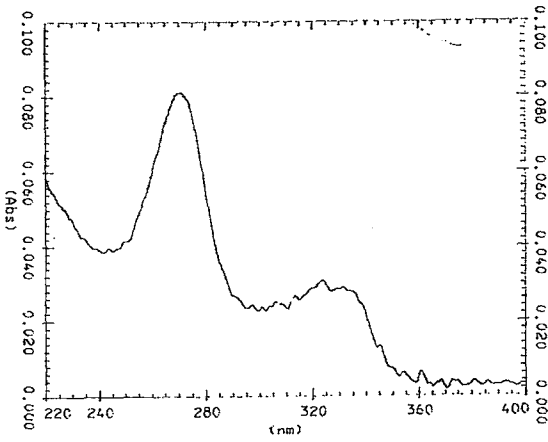
Yöntem 7.5’de anlatıldığı gibi yapılan tayin bulguları Şekil 2. 29. a-d’de gösterilmiştir.



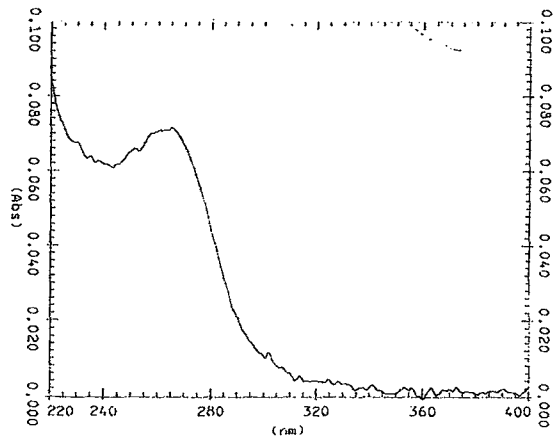
Şekil 2.29a) Analitik Yöntem Validasyonu. Duyarlılık
3 µg/ml diltiazem HCl’ün pH 7.4’deki UV spektrumu



Şekil 2.29b) Analitik Yöntem Validasyonu. Duyarlılık
3 µg/ml diklofenak Na’ın pH 7.4’deki UV spektrumu



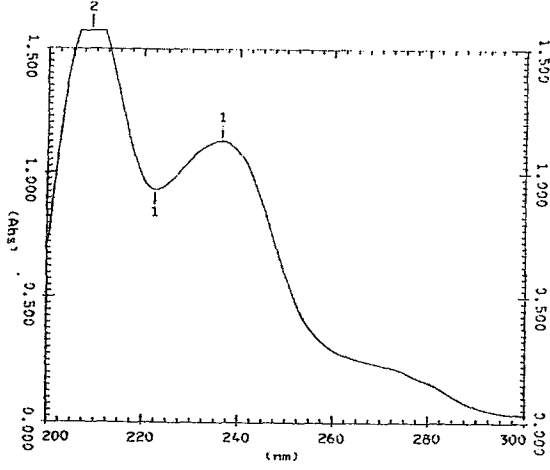
Şekil 2.29c) Analitik Yöntem Validasyonu. Duyarlılık
1 µg/ml siprofloksazin HCl’ün pH 7.4’deki UV spektrumu



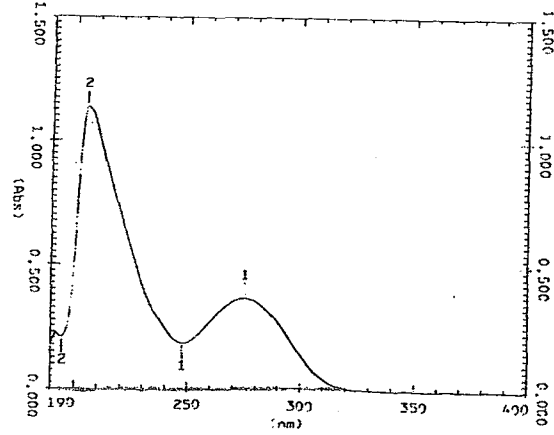
Şekil 2.29b) Analitik Yöntem Validasyonu. Duyarlılık
1 µg/ml izoniazid’in pH 7.4’deki UV spektrumu

6.5.Özgünlük

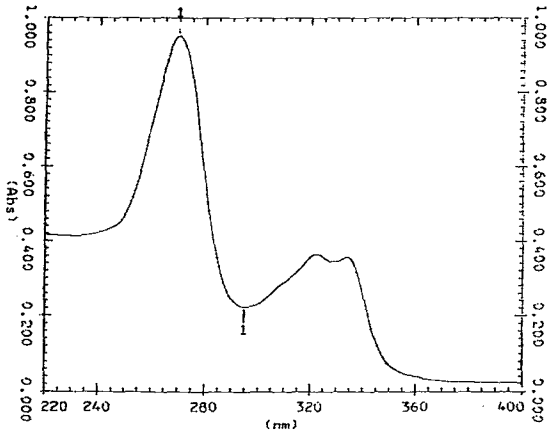
Yöntem 7.6'da anlatıldığı gibi yapılan tayin bulguları Şekil 2. 30. a-d'de gösterilmiştir.



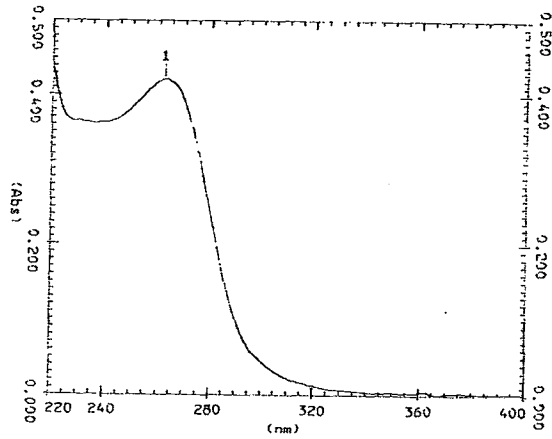
Şekil 2.30a) Diltiazem HCl'ün çözeltisine P(MAA-g-EG) (10 µg/ml) ilavesinden sonra elde edilen UV spektrumu



Şekil 2.30b) Diklofenak Na'un çözeltisine P(MAA-g-EG) (10 µg/ml) ilavesinden sonra elde edilen UV spektrumu



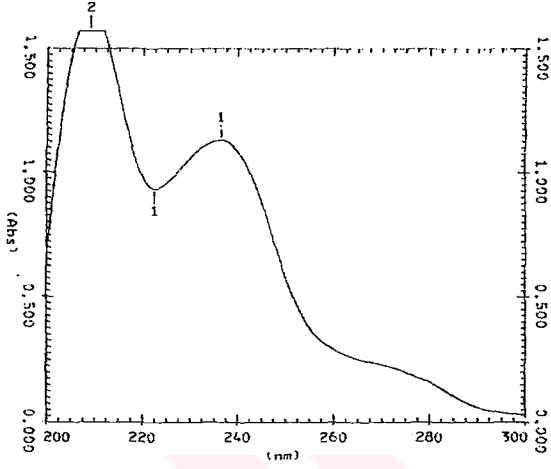
Şekil 2.30c) Siprofloksazin HCl'ün çözeltisine P(MAA-g-EG) (10 µg/ml) ilavesinden sonra elde edilen UV spektrumu



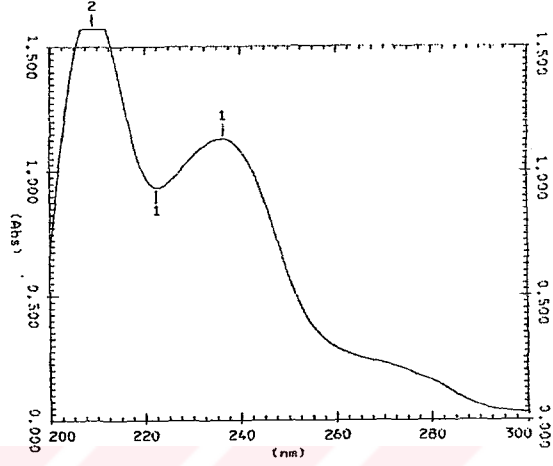
Şekil 2.30d) İzoniazid'in çözeltisine P(MAA-g-EG) (10 µg/ml) ilavesinden sonra elde edilen UV spektrumu

6.6. Stabilit 

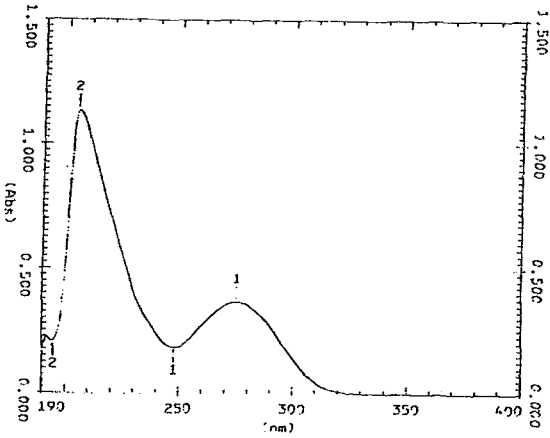
Yöntem 7.7’da anlatıldığı gibi yapılan tayin bulguları Şekil 2. 31. a-h’de gösterilmiştir.



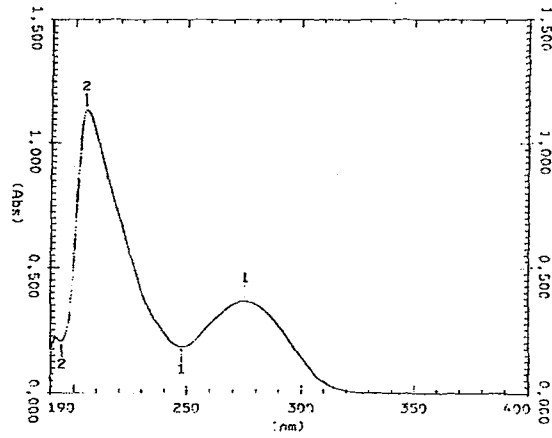
Şekil 2.31a) Diltiazem HCl’ n pH 7.4’deki UV spektrumu



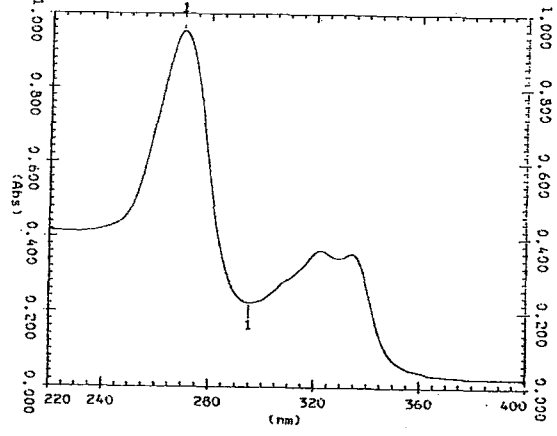
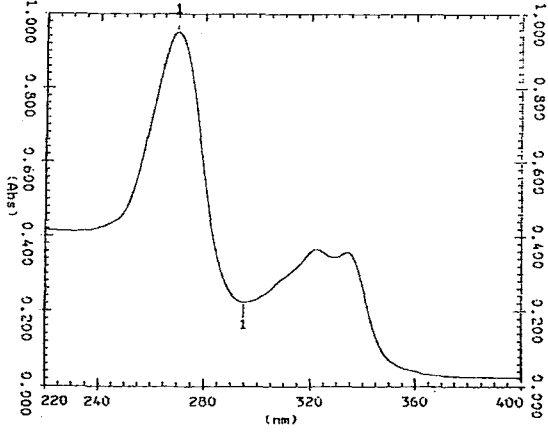
Şekil 2.31b) Diltiazem HCl’ n pH 7.4’de 24 saat sonra alınan UV spektrumu



Şekil 2.31c) Diklofenak Na’ n pH 7.4’deki UV spektrumu

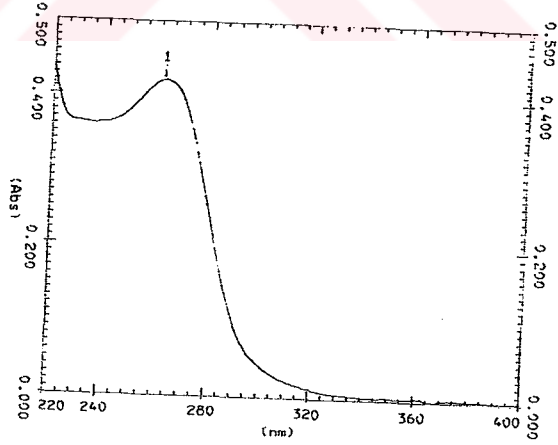
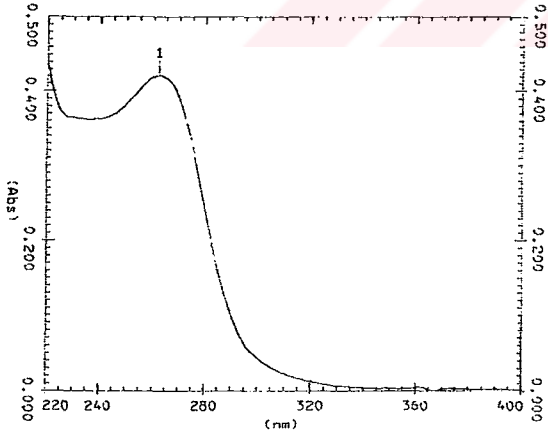


Şekil 2.31d) Diklofenak Na’ n pH 7.4’de 24 saat sonra alınan UV spektrumu



Şekil 2.31e) Siprofloksazin HCl'in pH 7.4'deki UV spektrumu

Şekil 2.31f) Siprofloksazin HCl'in pH 7.4'de 24 saat sonra alınan UV spektrumu



Şekil 2.31g) İzoniazid'in pH 7.4'deki UV spektrumu

Şekil 2.31h) İzoniazid'in pH 7.4'de 24 saat sonra alınan UV spektrumu

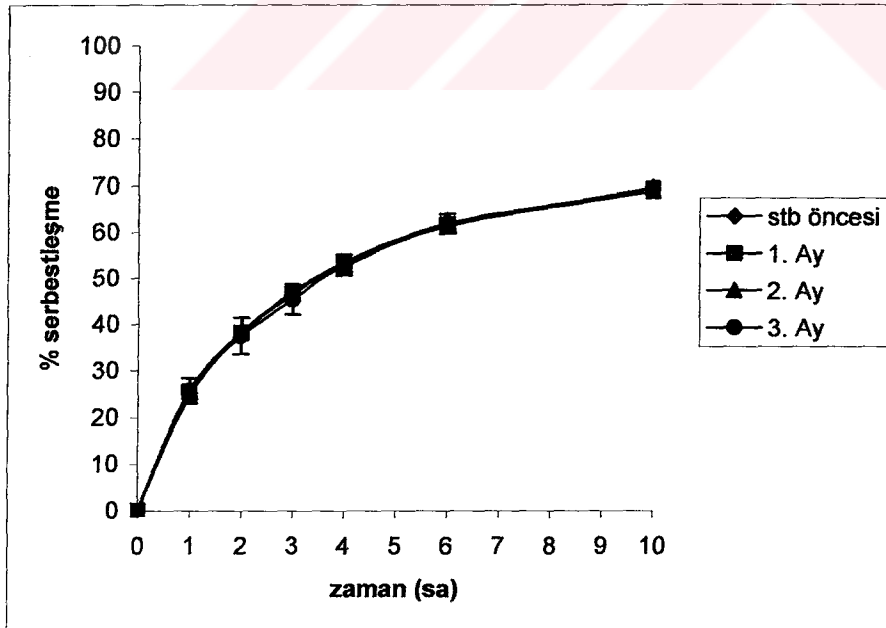
7.STABİLİTE ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR

7.1. Diltiazem HCl'ün Stabilite Çalışmalarına Ait Bulgular

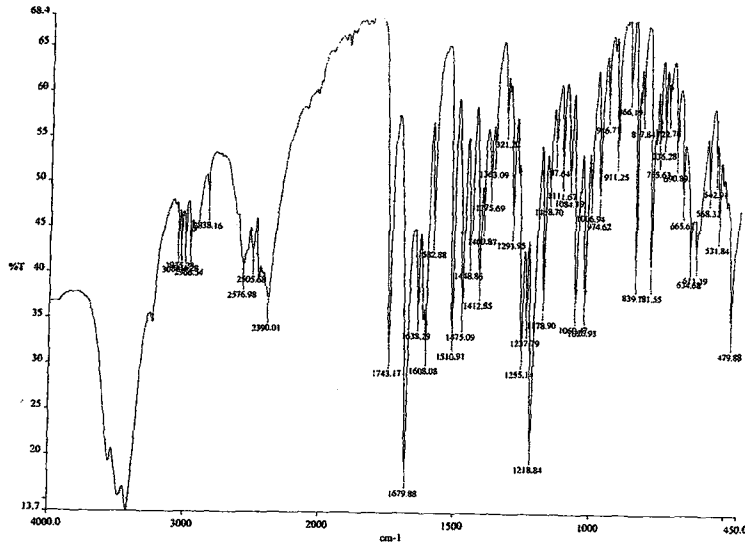
Yöntem 8'de anlatıldığı gibi yapılan diltiazem HCl için in vitro salım hızı çalışmalarına ait stabilite öncesi ve stabilitenin 1., 2. ve 3. ay sonuçlarına ait veriler tablo 2.17 ve şekil 2.32'de gösterilmiştir. Ayrıca stabilite öncesi ve de 10 ay sonrasına ait FTIR spektrumları Şekil 2.33, 2.34'de, DSC analizi ise Şekil 2.35'de gösterilmiştir.

Tablo 2.17. Diltiazem HCl'ün stabilite öncesi, stabilitenin 1., 2. ve 3. ay sonundaki % salım değerleri

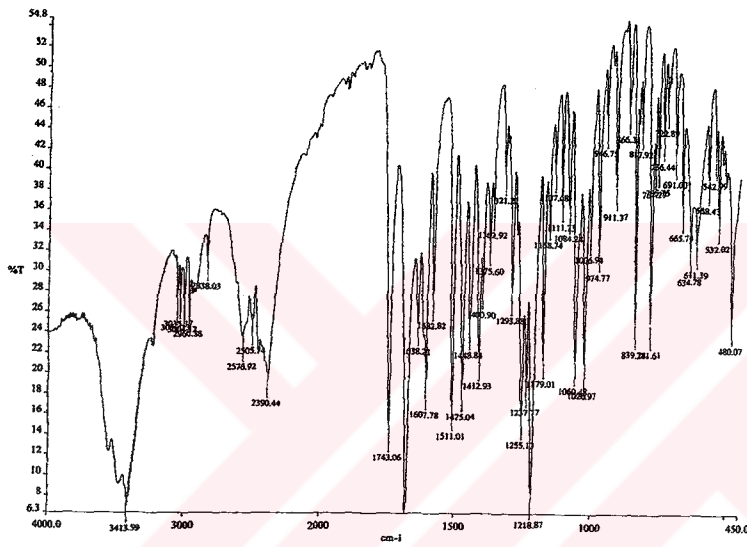
Zaman (saat)	Stabilite öncesi % salım	1. ay sonunda % salım	2. ay sonunda % salım	3. ay sonunda % salım
1	25.09±2.72	25.51±1.73	24.57±0.58	25.64±1.57
2	38.13±3.87	38.16±1.92	38.09±0.82	37.49±0.91
3	46.94±3.26	46.28±3.80	46.81±1.22	45.32±2.49
4	53.09±2.24	53.47±4.30	52.57±1.18	52.77±1.16
6	61.39±2.12	61.56±4.15	61.19±1.21	61.76±1.25
10	69.47±1.00	69.29±5.51	68.66±0.93	68.78±1.53



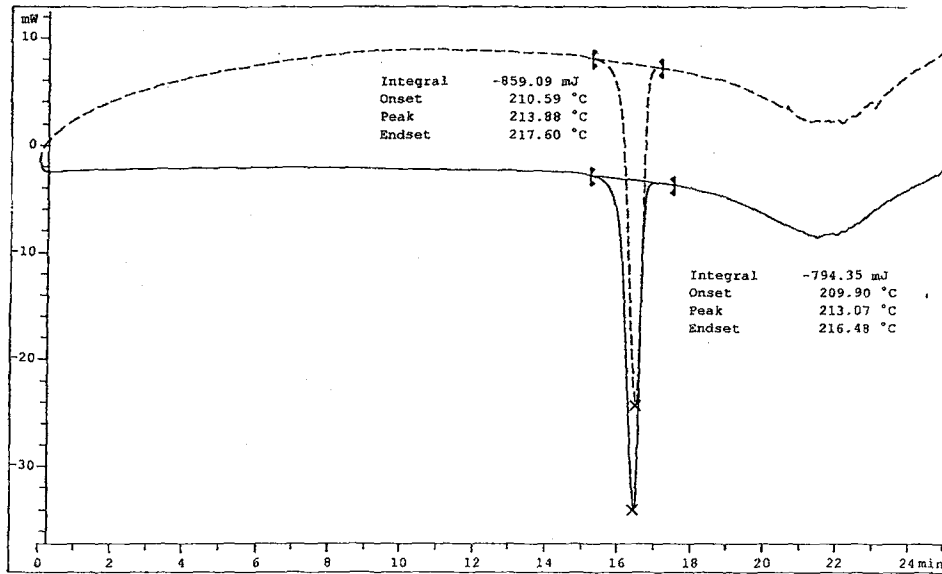
Şekil 2.32. Diltiazem HCl'ün stabilite öncesi, stabilitenin 1., 2. ve 3. ay sonundaki % salım profilleri



Şekil 2.33. Diltiazem HCl'ün stabilite öncesine ait FTIR spektrumu



Şekil 2.34. Diltiazem HCl'ün stabilite sonrasına ait FTIR spektrumu



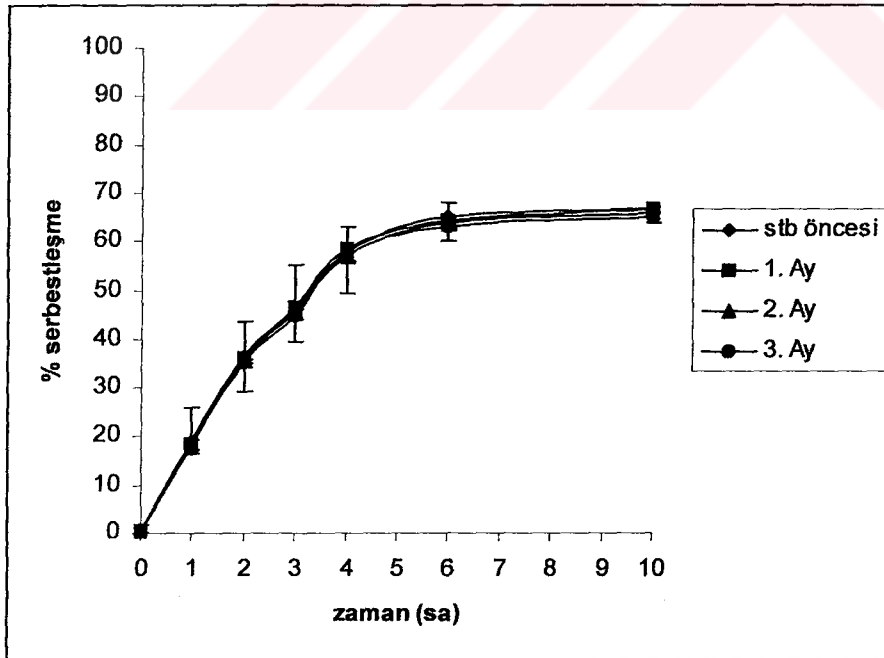
Şekil 2.35. Diltiazem HCl'ün stabilite öncesi ve sonrasına ait DSC analizi

7.2. Diklofenak Na'un Stabilite Çalışmalarına Ait Bulgular

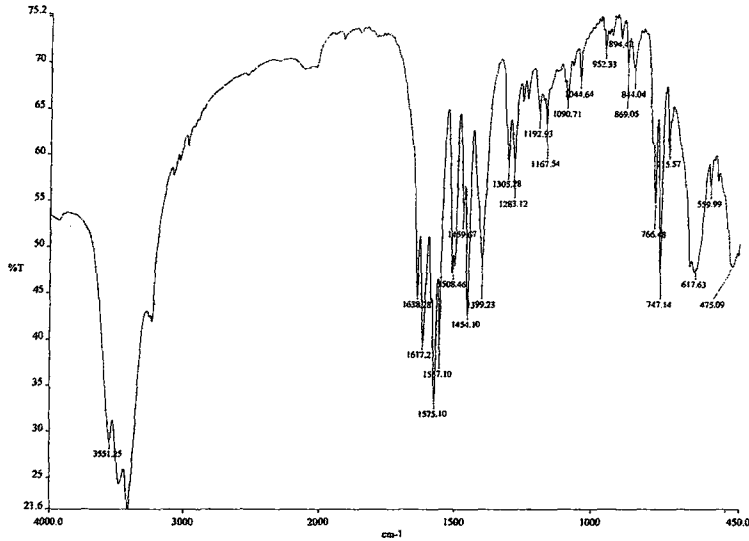
Yöntem 8'de anlatıldığı gibi yapılan diklofenak Na için in vitro salım hızı çalışmalarına ait stabilite öncesi ve stabilitenin 1., 2. ve 3. ay sonuçlarına ait veriler tablo 2.18 ve şekil 2.36'da gösterilmiştir. Ayrıca stabilite öncesi ve de 10 ay sonrasına ait FTIR spektrumları Şekil 2.37, 2.38'de, DSC analizi ise Şekil 2.39'de gösterilmiştir.

Tablo 2.18. Diklofenak Na'un stabilite öncesi, stabilitenin 1., 2. ve 3. ay sonundaki % salım değerleri

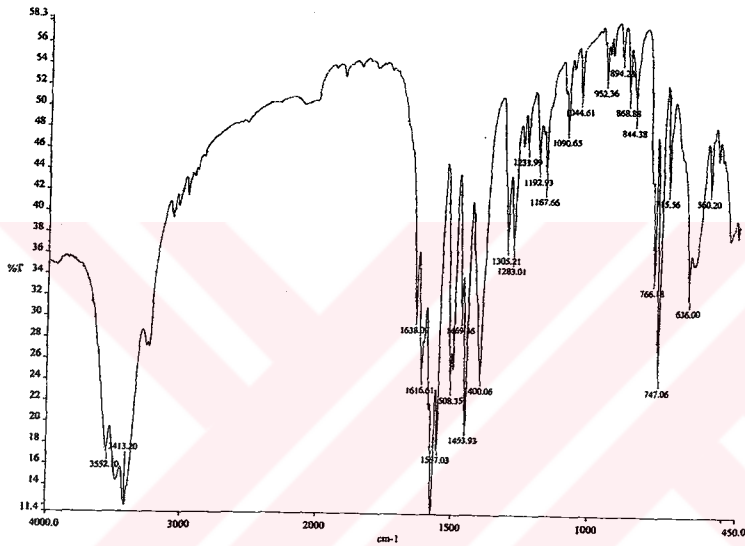
Zaman (saat)	Stabilite öncesi % salım	1. ay sonunda % salım	2. ay sonunda % salım	3. ay sonunda % salım
1	18.74±1.58	18.51±0.34	18.03±1.27	18.32±0.98
2	36.69±7.36	36.19±1.26	35.85±1.42	35.4±0.52
3	46.27±6.82	46.36±1.56	45.69±1.58	44.99±0.93
4	58.22±8.81	58.25±5.01	57.15±1.82	57.14±1.06
6	64.93±4.88	64.40±3.10	63.73±1.39	63.08±1.09
10	66.74±3.11	66.82±2.03	65.99±1.28	64.83±1.19



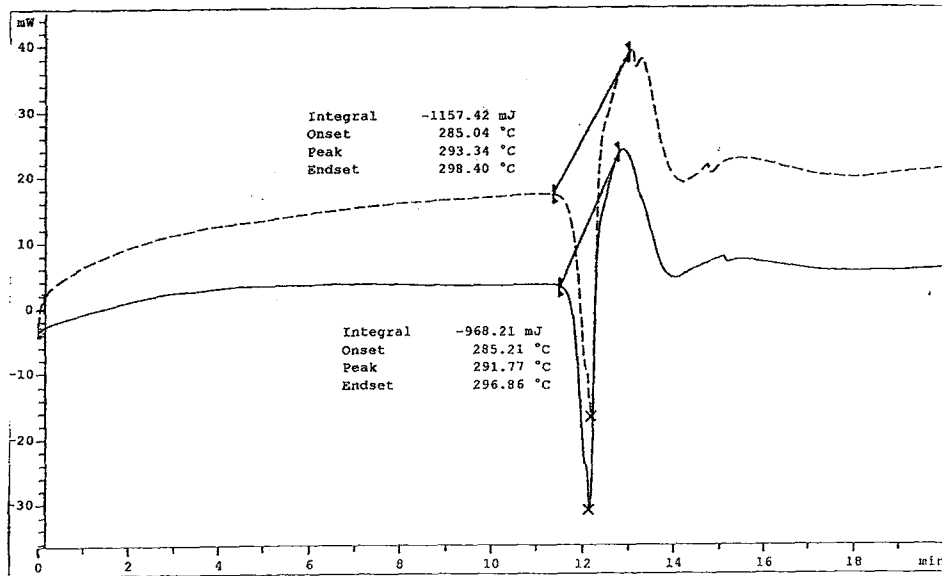
Şekil 2.36. Diklofenak Na'un stabilite öncesi, stabilitenin 1., 2. ve 3. ay sonundaki % salım profilleri



Şekil 2.37. Diklofenak Na'un stabilite öncesine ait FTIR spektrumu



Şekil 2.38. Diklofenak Na'un stabilite sonrasına ait FTIR spektrumu



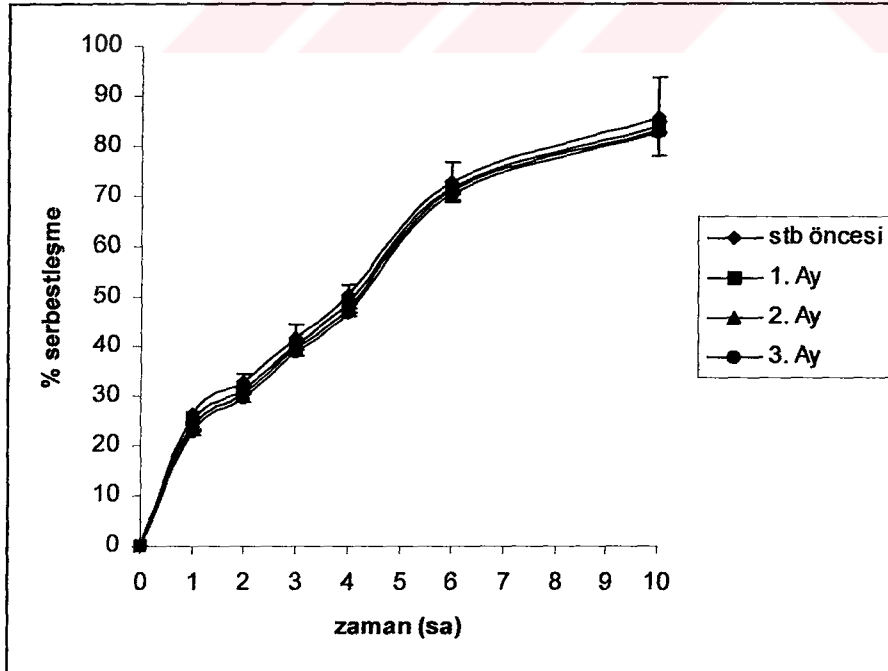
Şekil 2.39. Diklofenak Na'un stabilite öncesi ve sonrasına ait DSC analizi

7.3. Siprofloksazin HCl'ün Stabilité Çalışmalarına Ait Bulgular

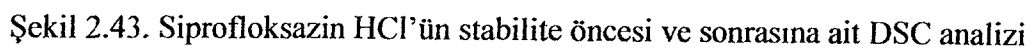
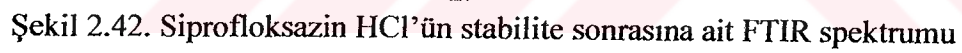
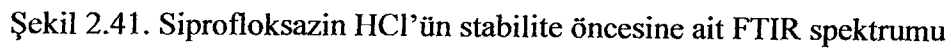
Yöntem 8'de anlatıldığı gibi yapılan Siprofloksazin HCl için in vitro salım hızı çalışmalarına ait stabilite öncesi ve stabilitenin 1., 2. ve 3. ay sonuçlarına ait veriler tablo 2.19 ve şekil 2.40'da gösterilmiştir. Ayrıca stabilite öncesi ve de 10 ay sonrasında ait FTIR spektrumları Şekil 2.41, 2.42'de, DSC analizi ise Şekil 2.43'de gösterilmiştir.

Tablo 2.19. Siprofloksazin HCl'ün stabilite öncesi, stabilitenin 1., 2. ve 3. ay sonundaki % salım değerleri

Zaman (saat)	Stabilite öncesi % salım	1. ay sonunda % salım	2. ay sonunda % salım	3. ay sonunda % salım
1	26.38±0.59	24.68±1.07	23.65±1.34	22.97±0.17
2	32.62±1.68	31.36±0.94	30.36±1.57	29.67±0.69
3	41.79±2.67	40.28±1.14	39.57±1.45	38.67±0.52
4	50.59±1.92	48.85±1.14	47.51±1.56	46.97±0.80
6	72.82±3.87	71.45±0.90	71.06±0.86	70.59±0.33
10	85.77±7.64	84.15±0.86	83.15±1.69	82.62±0.32



Şekil 2.40. Siprofloksazin HCl'ün stabilite öncesi, stabilitenin 1., 2. ve 3. ay sonundaki % salım profilleri

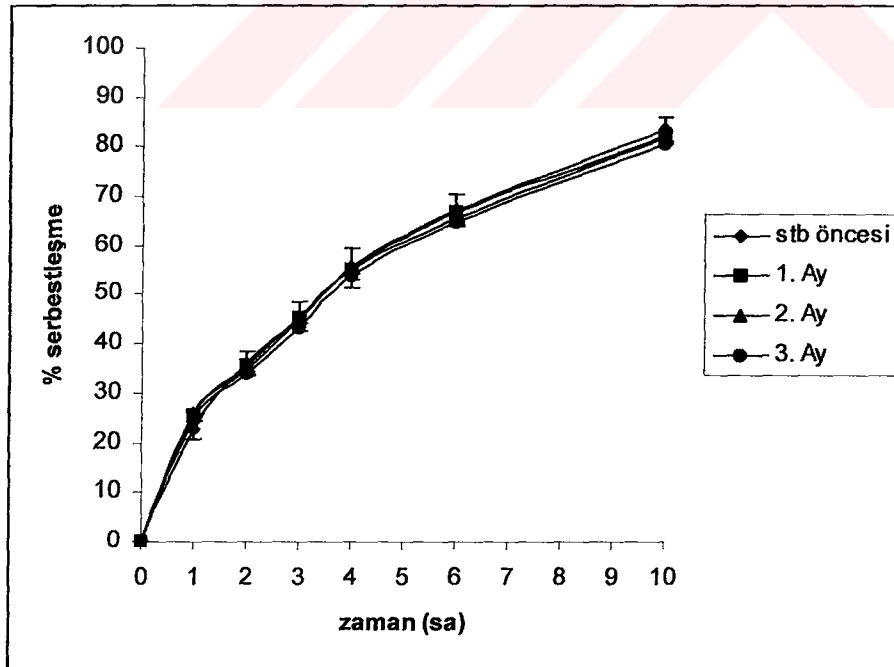


7.4. İzoniazid'in Stabilité Çalışmalarına Ait Bulgular

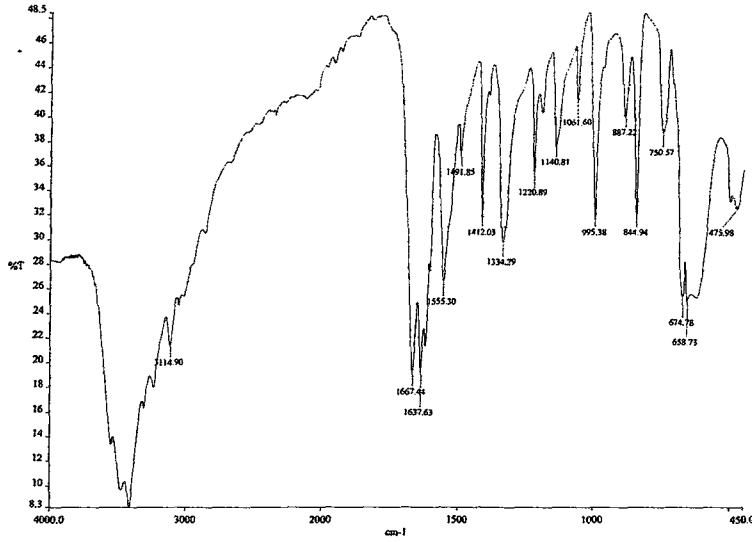
Yöntem 8'de anlatıldığı gibi yapılan izoniazid için in vitro salım hızı çalışmalarına ait stabilite öncesi ve stabilitenin 1., 2. ve 3. ay sonuçlarına ait veriler tablo 2.19 ve şekil 2.44'de gösterilmiştir. Ayrıca stabilite öncesi ve de 10 ay sonrasına ait FTIR spektrumları Şekil 2.45, 2.46'de, DSC analizi ise Şekil 2.47'de gösterilmiştir.

Tablo 2.20 İzoniazid'in stabilite öncesi, stabilitenin 1., 2. ve 3. ay sonundaki % salım değerleri

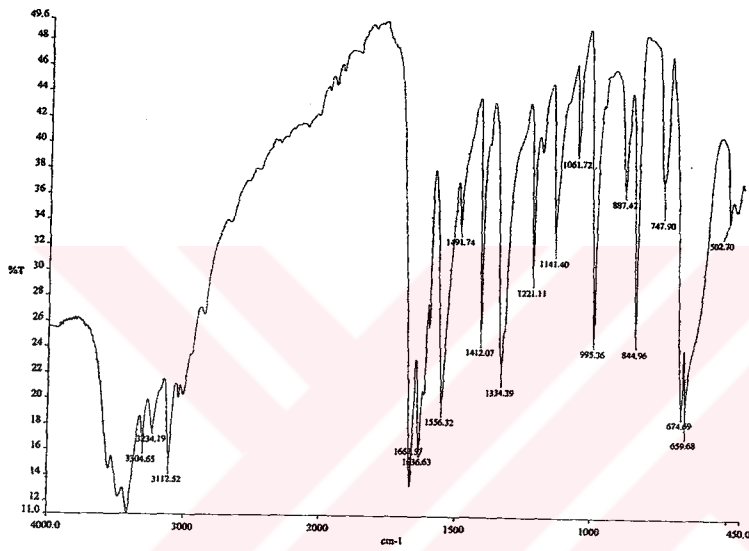
Zaman (saat)	Stabilite öncesi % salım	1. ay sonunda % salım	2. ay sonunda % salım	3. ay sonunda % salım
1	22.73±2.17	25.52±0.68	25.76±0.80	24.69±0.44
2	36.17±2.17	35.72±0.38	34.70±2.33	33.91±0.33
3	45.44±3.12	45.21±1.22	44.92±1.09	43.44±0.89
4	55.43±4.09	54.86±1.38	54.95±2.43	53.72±0.51
6	67.20±3.21	66.87±1.72	65.64±1.36	64.72±0.20
10	82.27±2.40	82.02±1.96	81.63±1.81	80.73±0.20



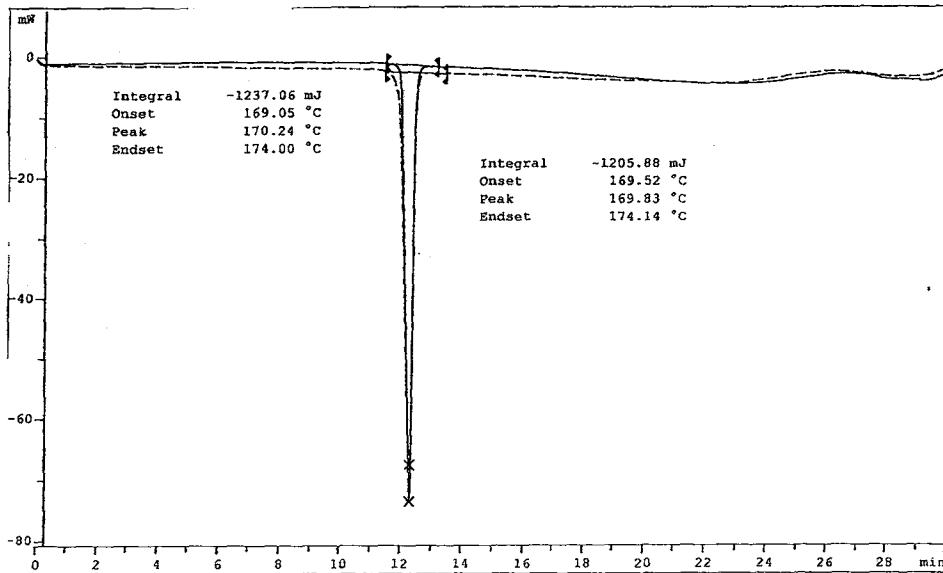
Şekil 2.44. İzoniazid'in stabilite öncesi, stabilitenin 1., 2. ve 3. ay sonundaki % salım profilleri



Şekil 2.45. İsoniazid'in stabilite öncesine ait FTIR spektrumu



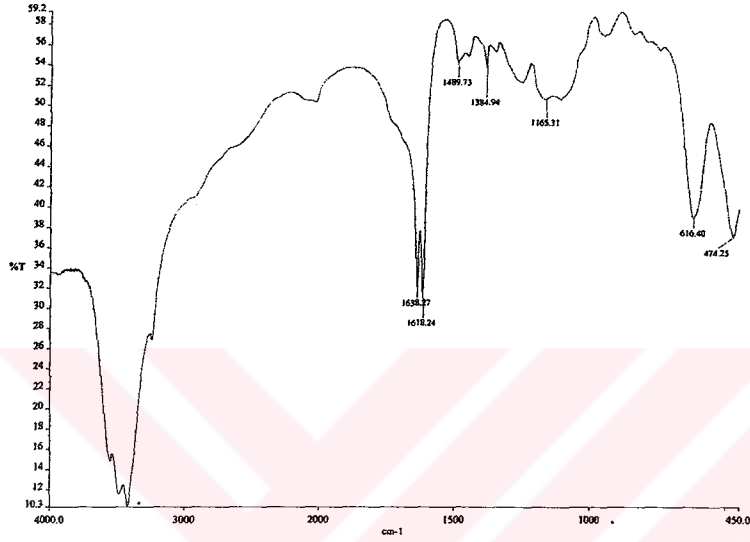
Şekil 2.46. İsoniazid'in stabilite sonrasına ait FTIR spektrumu



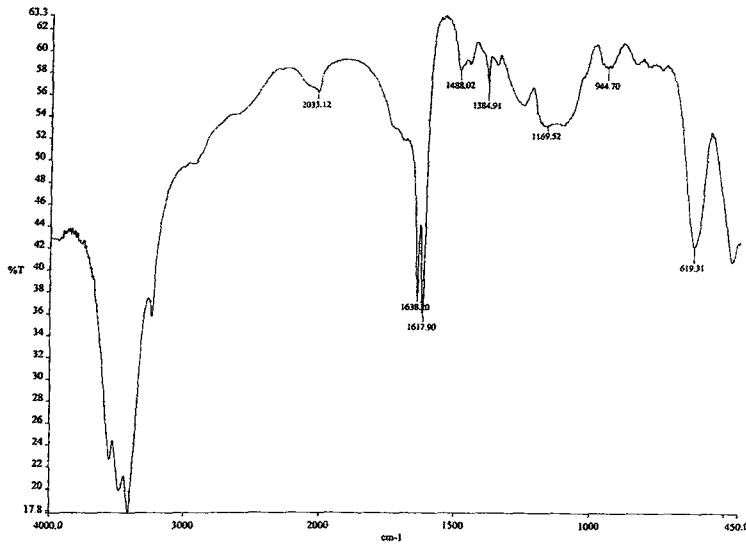
Şekil 2.47. İsoniazid'in stabilite öncesi ve sonrasına ait DSC analizi

7.5. P(MAA-g-EG)'ün Stabilité Çalışmalarına Ait Bulgular

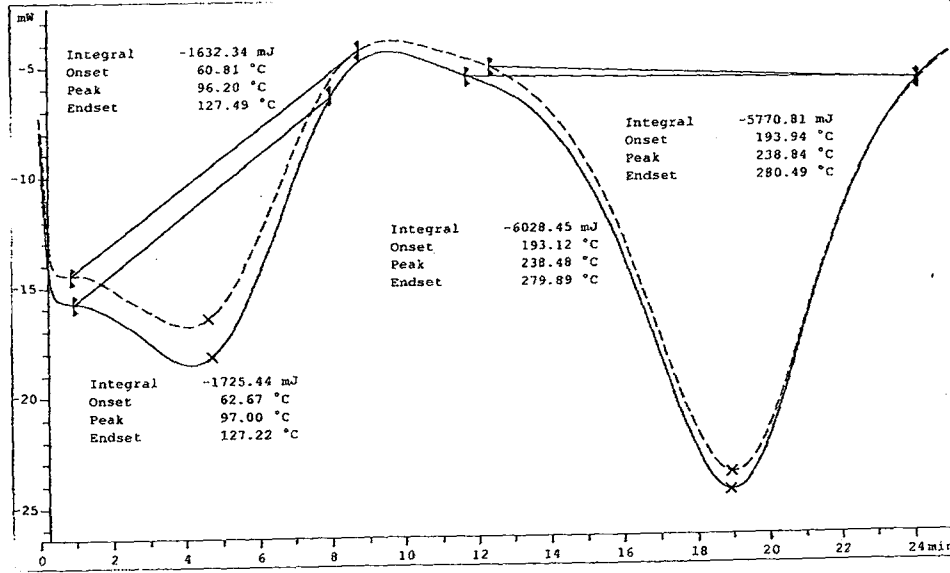
Yöntem 8'de anlatıldığı gibi yapılan P(MAA-g-EG)'e ait stabilite öncesi ve de sonrasına ait FTIR spektrumları Şekil 2.48, 2.49'de, DSC analizi ise Şekil 2.50'de gösterilmiştir.



Şekil 2.48. P(MAA-g-EG)'in stabilite öncesine ait FTIR spektrumu



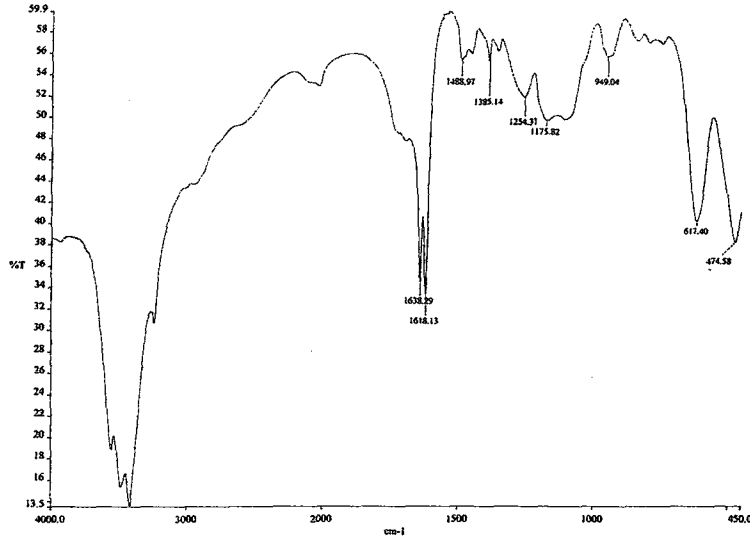
Şekil 2.49. P(MAA-g-EG)'in stabilite sonrasına ait FTIR spektrumu



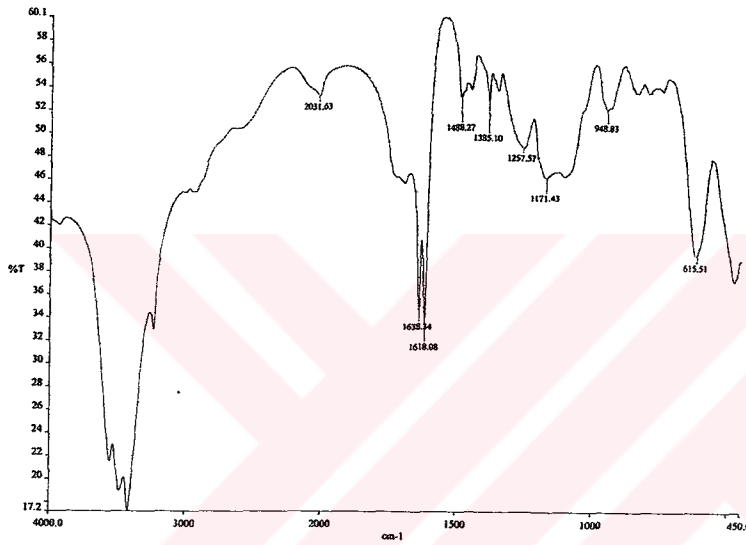
Şekil 2.50. P(MAA-g-EG)'in stabilite öncesi ve sonrasına ait DSC analizi

7.6. Etkin madde yüklü P(MAA-g-EG)'ün Stabilite Çalışmalarına Ait Bulgular

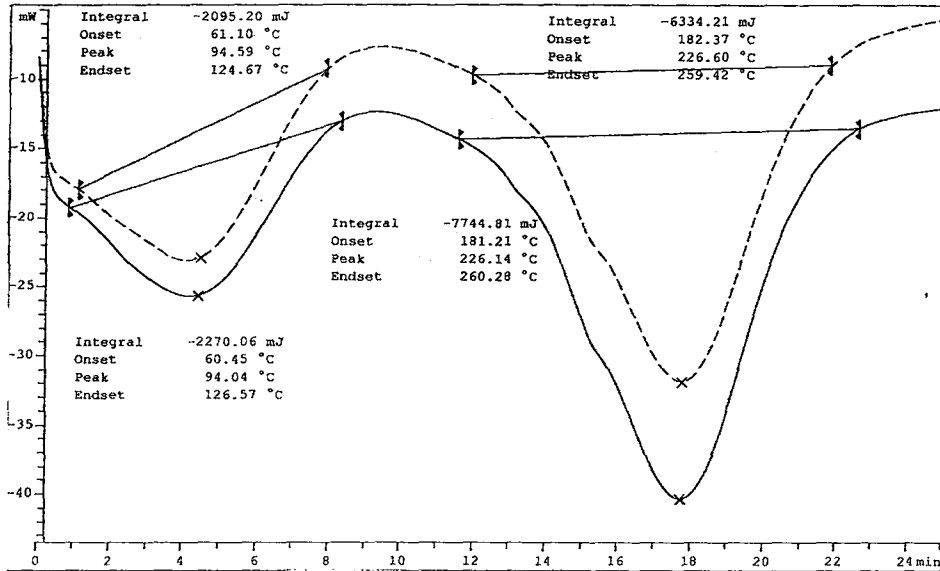
Yöntem 8'de anlatıldığı gibi yapılan diltiazem HCl yüklü P(MAA-g-EG)'e ait stabilite öncesi ve de 10 ay sonrasına ait FTIR spektrumları Şekil 2.51, 2.52'de, DSC analizi ise Şekil 2.53'de, diklofenak Na yüklü P(MAA-g-EG)'e ait stabilite öncesi ve de 10 ay sonrasına ait FTIR spektrumları Şekil 2.54, 2.55'de, DSC analizi ise Şekil 2.56'da, siprofloksazin HCl yüklü P(MAA-g-EG)'e ait stabilite öncesi ve de 10 ay sonrasına ait FTIR spektrumları Şekil 2.57, 2.58'de, DSC analizi ise Şekil 2.59'da, izoniazid yüklü P(MAA-g-EG)'e ait stabilite öncesi ve de 10 ay sonrasına ait FTIR spektrumları Şekil 2.60, 2.61'de, DSC analizi ise Şekil 2.62'de, gösterilmiştir.



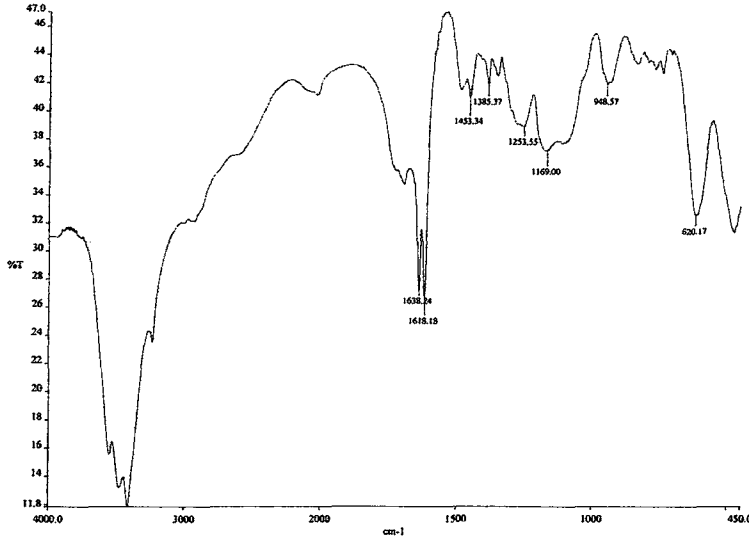
Şekil 2.51. Diltiazem HCl yüklü P(MAA-g-EG)'ün stabilite öncesine ait FTIR spektrumu



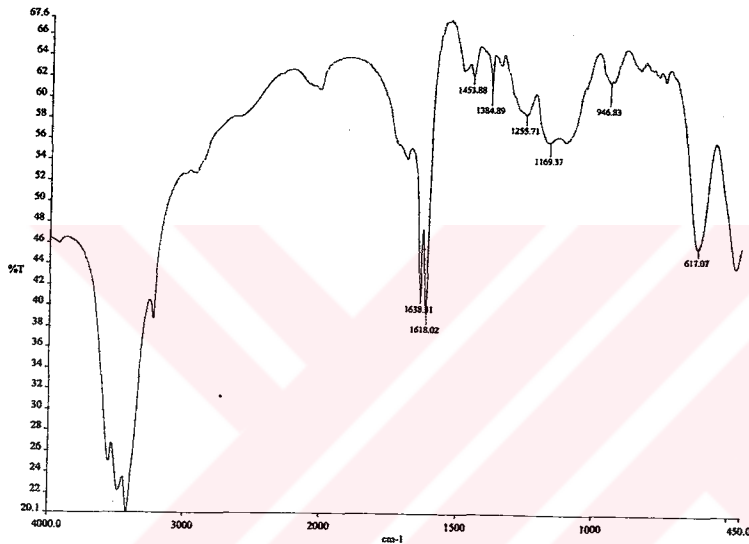
Şekil 2.52. Diltiazem HCl yüklü P(MAA-g-EG)'ün stabilite sonrasına ait FTIR spektrumu



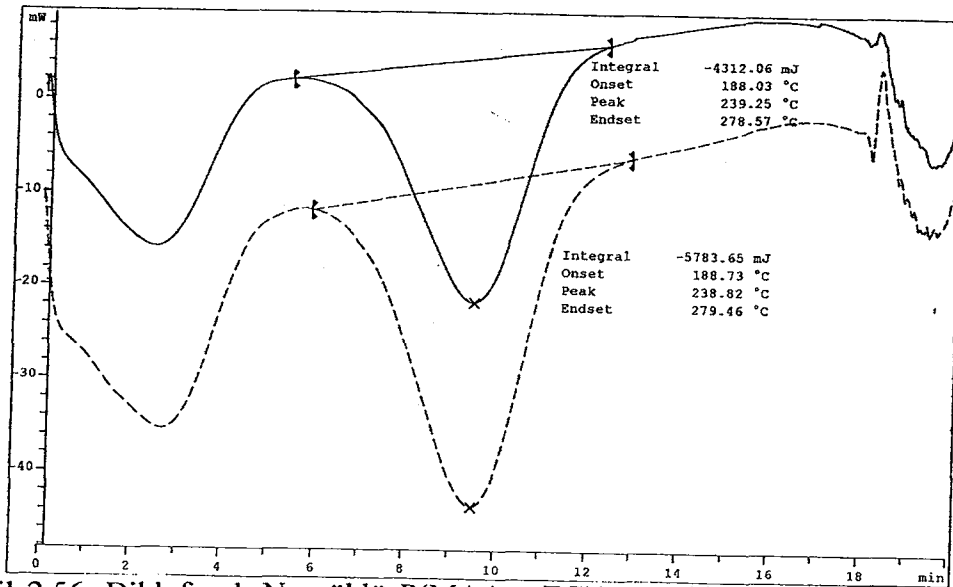
Şekil 2.53. Diltiazem HCl yüklü P(MAA-g-EG)'ün stabilite öncesi ve sonrasına ait DSC analizi



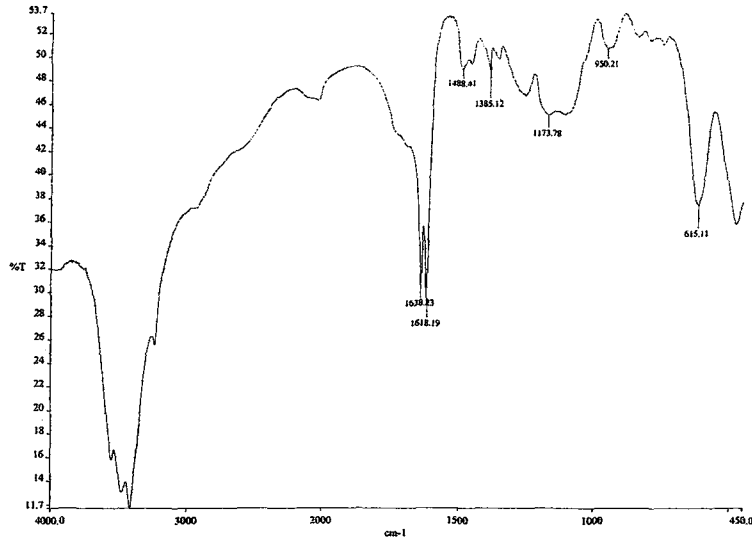
Şekil 2.54. Diklofenak Na yüklü P(MAA-g-EG)'ün stabilite öncesine ait FTIR spektrumu



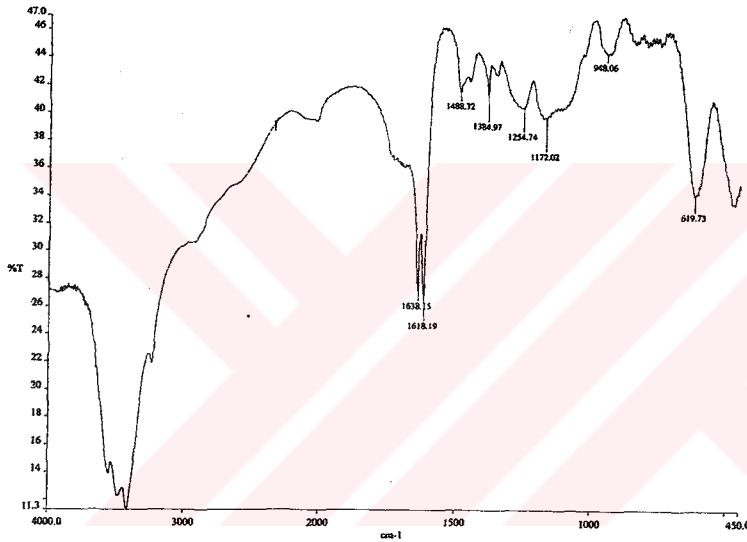
Şekil 2.55. Diklofenak Na yüklü P(MAA-g-EG)'ün stabilite sonrasına ait FTIR spektrumu



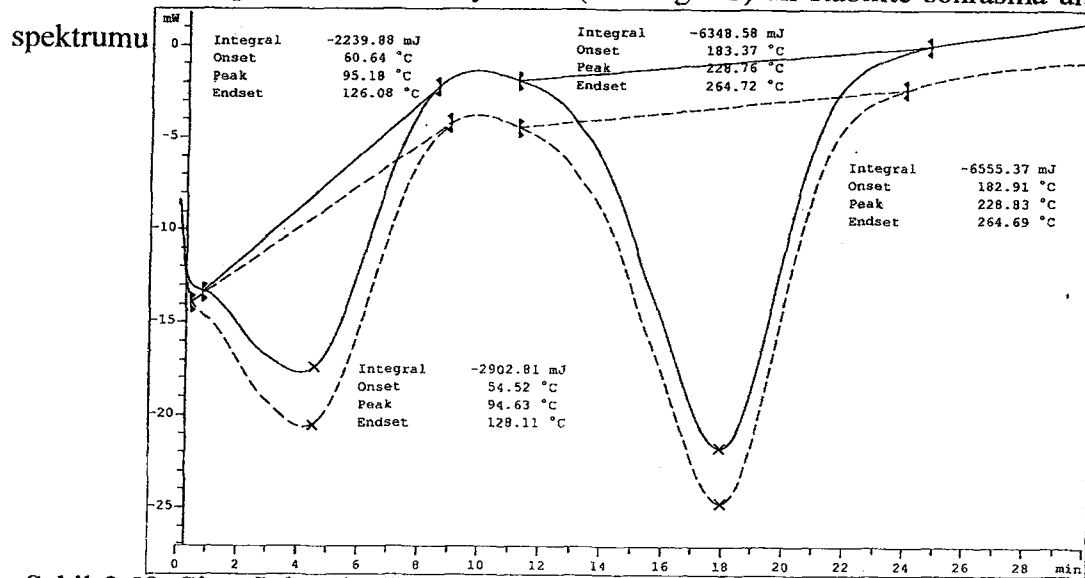
Şekil 2.56. Diklofenak Na yüklü P(MAA-g-EG)'ün stabilite öncesi ve sonrasına ait DSC analizi



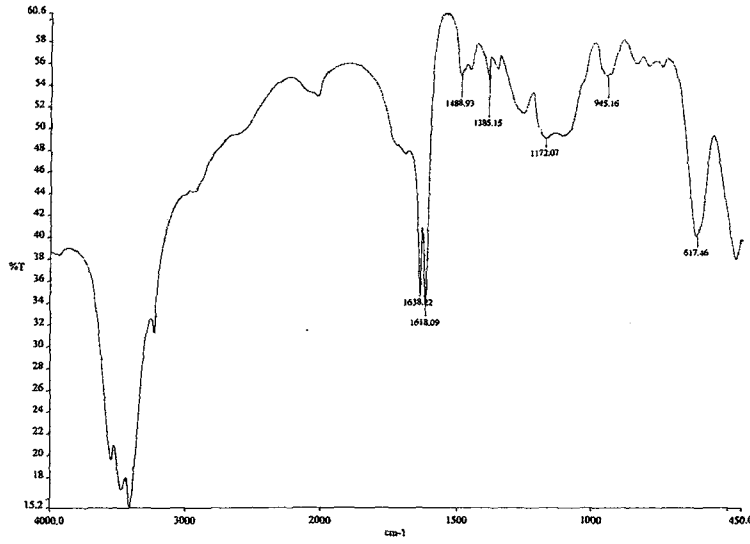
Şekil 2.57. Sipprofloksazin HCl yüklü P(MAA-g-EG)'ün stabilite öncesine ait FTIR spektrumu



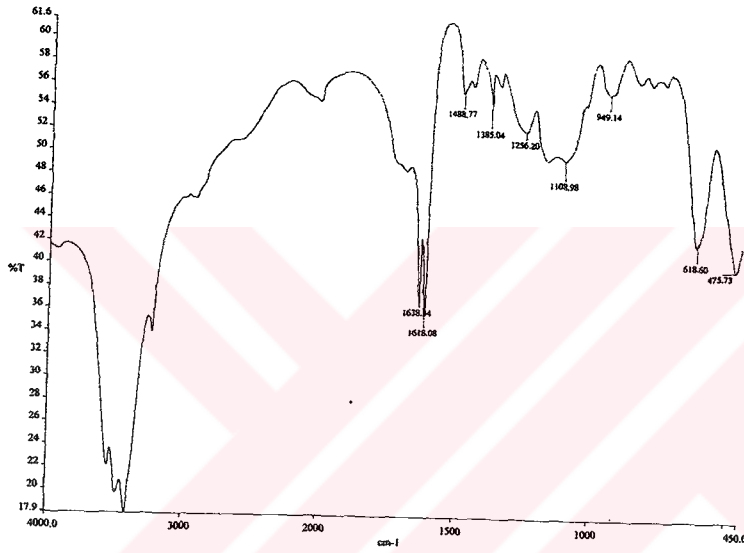
Şekil 2.58. Sipprofloksazin HCl yüklü P(MAA-g-EG)'ün stabilite sonrasına ait FTIR spektrumu



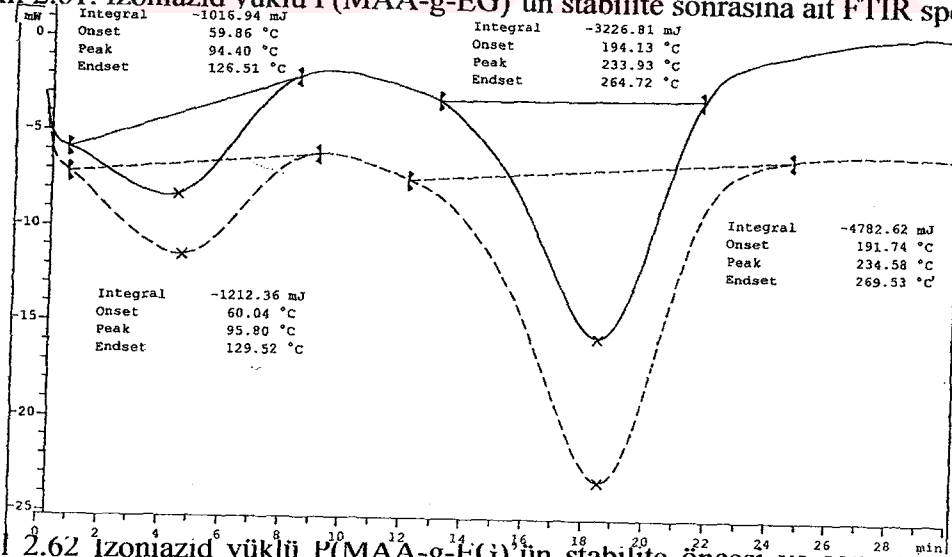
Şekil 2.59. Sipprofloksazin HCl yüklü P(MAA-g-EG)'ün stabilite öncesi ve sonrasına ait DSC analizi



Şekil 2.60. İzoniiazid yüklü P(MAA-g-EG)'ün stabilite öncesine ait FTIR spektrumu



Şekil 2.61. İzoniiazid yüklü P(MAA-g-EG)'ün stabilite sonrasına ait FTIR spektrumu



Şekil 2.62 İzoniiazid yüklü P(MAA-g-EG)'ün stabilite öncesi ve sonrasına ait DSC analizi

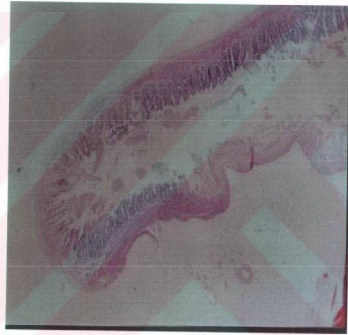
8. HİSTOPATOLOJİ ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR

8.1. Işık Mikroskobu ile Yapılan İncelemelere Ait Bulgular

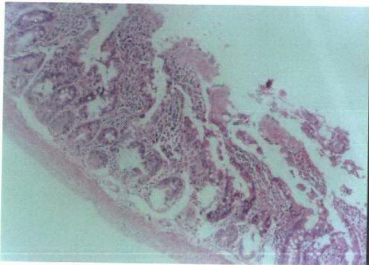
Yöntem 9.1.'de anlatıldığı gibi yapılan deneylerin saf ilaçlar ve ilaç yüklü partiküllerin sıçanlara verildikten 2 saat sonrasına ait bulguları Resim 1'de, ilaçsız partiküllerin sıçanlara verildikten 2, 10 ve 20 saat sonrasında elde edilen bulguları Resim 2'de, saf ilaçlar ve ilaç yüklü partiküllerin 20 saat sonucunda elde edilen bulguları ise Resim 3'de görülmektedir.



a) diltiazem HCl, 2 saat



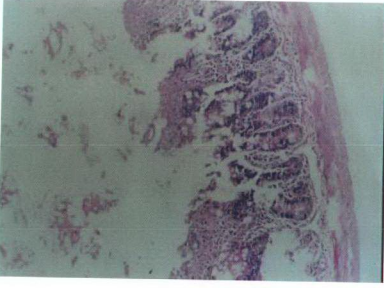
b) diltiazem HCl yüklü partikül, 2 saat



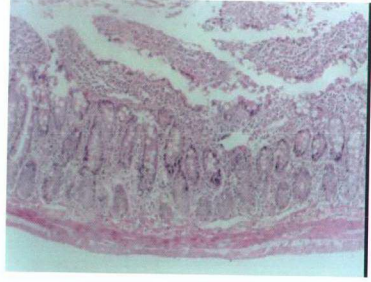
c) diklofenak Na, 2 saat



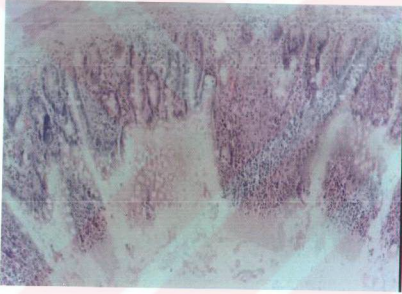
d) diklofenak Na yüklü partikül, 2 saat



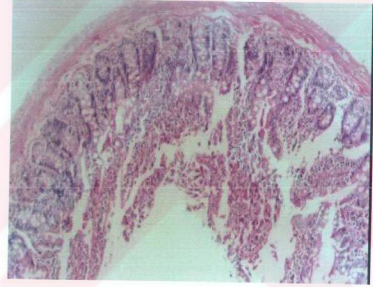
e) siprofloksazin HCl, 2 saat



f) siprofloksazin HCl yüklü partikül, 2 saat

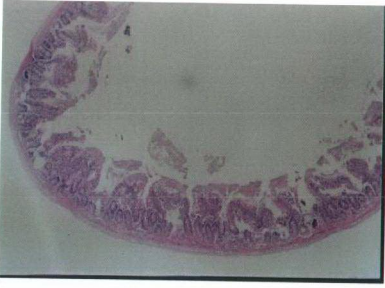


g) izoniazid, 2 saat

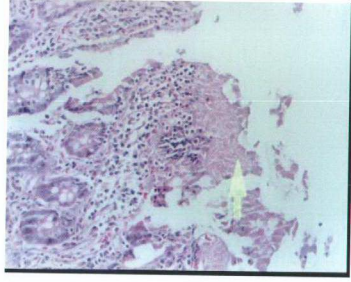


h) izoniazid yüklü partikül, 2 saat

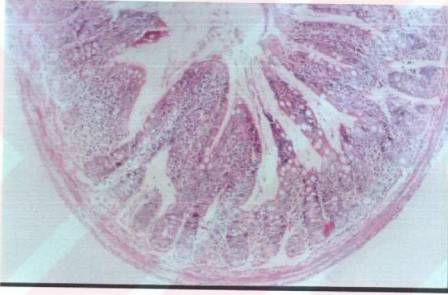
Resim 1 Saf ilaç ve de ilaç yüklü partiküllerin oral yoldan Wistar sıçanlarına verilmesinden 2 saat sonra alınan ileum kesitlerinin ışık mikroskobu ile histolojik analizleri a) diltiazem HCl; 40X, H&E, eritem, b) diltiazem HCl yüklü partikül; 40X, H&E, hemoraji c) diklofenak Na; 100X, H&E, eritem d) diklofenak Na yüklü partikül; 40X, H&E, eritem e) siprofloksazin HCl; 100X, H&E, hemoraji f) siprofloksazin HCl yüklü partikül; 100X, H&E, eritem g) izoniazid; 100X, H&E, hemoraji h) izoniazid yüklü partikül; 100X, H&E, hafif hemoraji



a) partikül, 2 saat

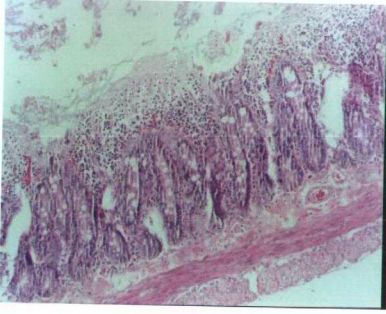


b) partikül, 10 saat

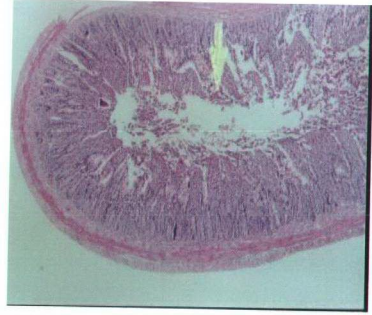


c) partikül, 20 saat

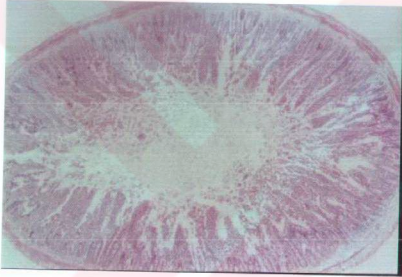
Resim 2. İlaçsız partiküllerin oral yoldan Wistar sıçanlarına verilmesinden sonra alınan ileum kesitlerinin ışık mikroskobu ile histolojik analizleri a) 2 saat sonra; 40X, H&E, erozyon, eritem b) 10 saat sonra; 100X, H&E, hafif eritem, fokal erozyon c) 20 saat sonra; 200X, H&E, normal villus yapısı



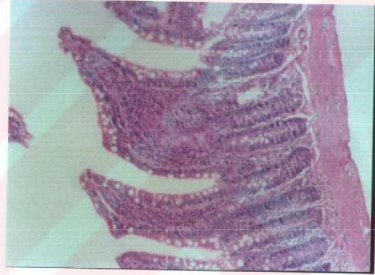
a) diltiazem HCl, 20 saat



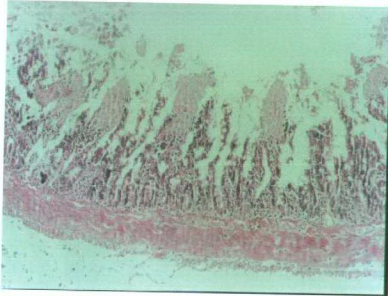
b) diltiazem HCl yüklü partikül, 20 saat



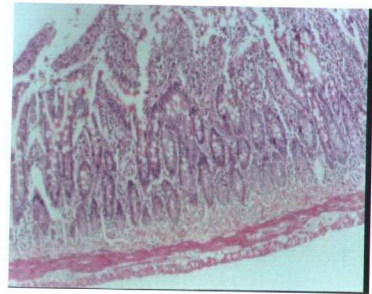
c) diklofenak Na, 20 saat



d) diklofenak Na yüklü partikül, 20 saat



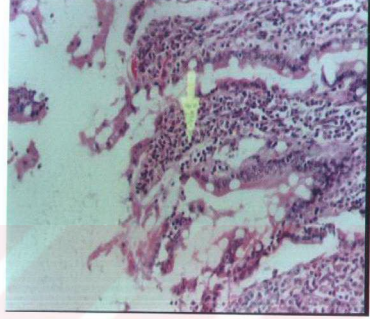
e) siprofloksazin HCl, 20 saat



f) siprofloksazin HCl yüklü partikül, 20 saat



g) izoniazid, 20 saat



h) izoniazid yüklü partikül, 20 saat

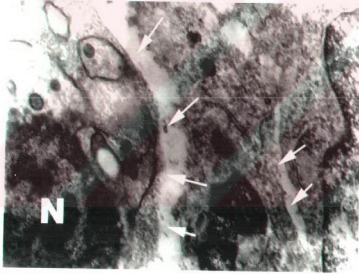
Resim 3. Saf ilaç ve de ilaç yüklü partiküllerin oral yoldan Wistar sıçanlarına verilmesinden 20 saat sonra alınan ileum kesitlerinin ışık mikroskobu ile histolojik analizleri a) diltiazem HCl; 100X, H&E, yaygın erozyon, eritem, b) diltiazem HCl yüklü partikül; 40X, H&E, normal villus yapısı, ok ile lenfoplasmosit gösterilmektedir c) diklofenak Na; 40X, H&E, yaygın erozyon, hafif hemoraji d) diklofenak Na yüklü partikül; 200X, H&E, normal villus yapısı, hafif eritem e) siprofloksazin HCl; 100X, H&E, eritem f) siprofloksazin HCl yüklü partikül; 200X, H&E, normal villus yapısı, hafif eritem g) izoniazid; 40X, H&E, eritem, ok ile fokal erozyon görülmekte h) izoniazid yüklü partikül; 200X, H&E, normal villus yapısı, hafif eritem, ok ile lenfoplasmosit gösterilmektedir.

8.2. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile Yapılan İncelemelere Ait Bulgular

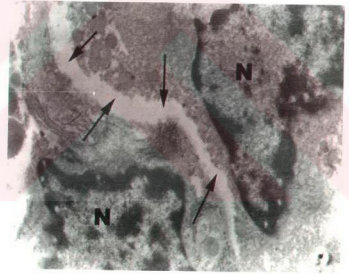
Yöntem 9.2.'de anlatıldığı gibi yapılan deneylere ait bulgular Resim 4'de görülmektedir.



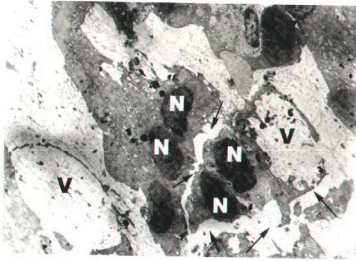
a) kontrol grubu



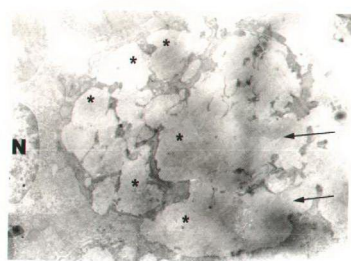
b) diltiazem HCl, 2 saat



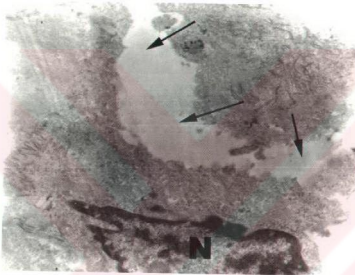
c) diltiazem HCl, 10 saat



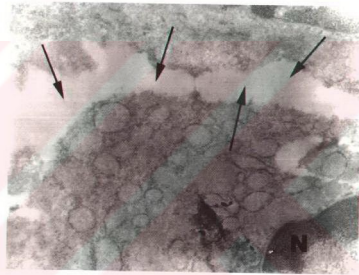
d) diklofenak Na, 2 saat



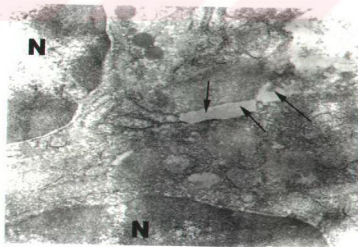
e) diklofenak Na, 10 saat



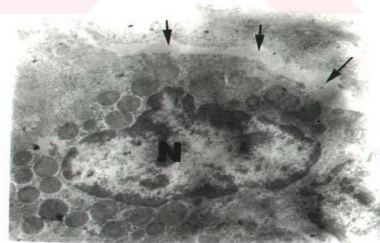
f) siprofloksazin HCl, 2 saat



g) siprofloksazin HCl, 10 saat



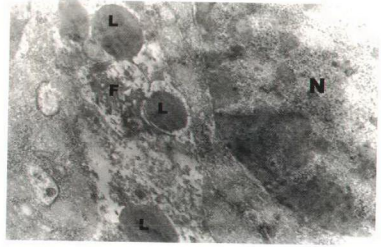
h) izoniazid, 2 saat



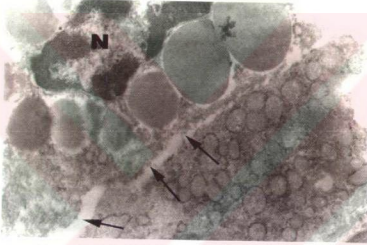
i) izoniazid, 10 saat



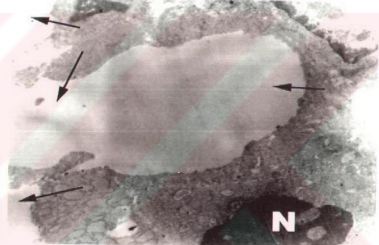
j) partikül, 2 saat



k) partikül, 10 saat



l) siprofloksazin HCl yüklü partikül, 2 saat



m) siprofloksazin HCl yüklü partikül, 10 saat

Resim 4.

Saf ilaç, saf partikül ve de ilaç yüklü partiküllerin oral yoldan Wistar sıçanlarına verilmesinden 2 saat ve 10 saat sonra alınan ileum kesitlerinin transmisyon elektron mikroskobu ile analizleri

- a. kontrol grubu : apikal yüzeylerinde mikrovilus kenarı düzgün, bazal yüzeylerinde bazal membrana komşulukları normal aralarda bazal hücreler görülmekte, yan yüzeyler ise lumenden itibaren hücre ara bağlantısı (tight junction) tarzında sıkı bağlantılar ile birleşmiş olarak bulundu. Goblet hücreleri düzgün, APUD hücreleri ve Paneth hücreleri normal görünümde.

- b. diltiazem HCl; 2 saat, mikrovillus yüzeyi normal, yan bağlantılar sağlam. Goblet hücreleri aktif, genişlemiş sekresyonu artmış, Paneth ve endokrin hücreler normal
- c. diltiazem HCl; 10 saat, vilus yüzeyinde hücrelerde hipertrofi ve intertisyel alanda genişleme saptandı. Kriptlerde tüm hücreler normal görünümde,
- d. diklofenak Na; 2 saat, normal alanlar mevcut ancak yer yer kript genişlemesi dikkat çekiyor. Vilus yüzeyinde gobletlerde hipertrofi, yan bağlantılarda gevşeme var ama kript içerisinde enterosit, Paneth ve endokrin hücreler normal görünümde. Submukoza ve lamina propia normal
- e. diklofenak Na; 10 saat, Goblet hipertrofisi dışında hücreler normal dizilimde. Yüzey bütünlüğü neredeyse normal düzeyde. Submukoza ve lamina propria normal
- f. siprofloksazin HCl; 2 saat, vilus yüzeyine yakın alanlarda enterosit bütünlüğü bozulmuş hücreler arası bağlantılar gevşemiş veya kopmuş. Gobletlerde hipertrofi var. Paneth hücrelerinde yoğunlaşma yer yer piknoz söz konusu. Kript içi ve diğer alanlar normal
- g. siprofloksazin HCl; 10 saat, hücreler arası bağlantılar normale dönmüş, sadece gobletlerde hipertrofi devam ediyor. Submukozada hafif ödem var.
- h. izoniazid; 2 saat, hücre yapısı ve aralıkları normal, kontrol ile benzer. Hücre ve yüzey bütünlüğü korunmuş.
- i. izoniazid; 10 saat; yer yer goblet hipertrofisi ve sekresyon artışı saptandı. Hücre ve yüzey bütünlüğü hasarı minimal, normale yakın.
- j. partikül; 2 saat, normal görünümde goblet hücrelerinde sayısal artış ve sekresyon artması görüldü. Goblet hücrelerinde hipertrofi mevcut. Enterositler, Paneth ve endokrin hücreler normal

- k. partikül; 10 saat, Mikrovili yüzeyi normal, hücre ara bağlantıları sağlam, goblet normal sayı ve büyüklükte. Diğer hücreler normal. Submukozada yer yer ödem belirtileri mevcut.
- l. siprofloksazin HCl yüklü partikül; 2 saat, vilus yüzeyine yakın bölgelerde interstisyel alanlarda genişleme, hücreler arası bağlantılarda genişleme, goblet hipertrofisi ve sekresyon artışı. Enterositlerde yer yer harabiyet mevcut. Paneth hücrelerinde sekresyon granüllerinde azalma. Endokrin hücreler normal. Submukozada genişleme ve ödem belirtileri.
- m. siprofloksazin HCl yüklü partikül; 10 saat, vilus yüzey hasarı devam ediyor ama alan olarak azalmış. Goblet genişlemesi yanı sıra enterosit harabiyeti az sayıda devam ediyor. Diğer hücreler normal. Submukoza ve lamina propria normal görünümde. Hücre arası bağlantılarda genişleme devam etmekte.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Hidrojeller su veya biyolojik sıvı emme kapasitesine sahip çapraz bağlı hidrofilik polimerlerdir (43). Hidrojeller ilaçlar, peptit ve proteinler için taşıyıcı, vücudun belirli bir bölgesine hedeflendirme ajanı veya protein, enzim konjugatlarının hazırlanması için gerekli bileşikler olarak kullanılmaktadır. Ortam pH'sı, sıcaklığı, iyonik gücü ve elektromagnetik radyasyonun etkisi gibi çeşitli çevresel faktörlerden etkilenerek şişme özelliklerinde belirgin değişiklikler meydana gelmektedir (2).

[P(MAA-g-EG)] partikülleri ilk olarak Klier ve ark. tarafından sentezlenmiştir (83). Düşük pH değerlerinde büzülmüş durumda iken proteini midenin asit ortamından korumaktadırlar. Sistem mideden bağırsağa ilerlerken pH artışı sebebiyle hidrojel ağ yapısında şişme meydana gelecek ve taşıdığı proteini açığa çıkacaktır (84). Ayrıca yapısında bulunan karboksil grupları yardımı ile kalsiyuma bağlanma kapasitesinden dolayı proteaz enzimlerinin inhibisyonuna sebep olmakta ve ince barsakta bulunan epitel hücre bağlantılarını açmaktadır (22). Bu özelliklerinden dolayı insülin ve kalsitoninin oral yoldan kullanımı için uygun adaylar olduğu belirtilmiştir (151, 84).

Bu çalışmada P(MAA-g-EG) partiküllerinin ve bu partiküllere küçük molekül ağırlıklı maddeler yüklendiğinde hücre ara bağlantılarının açılmasının ne derece olduğunu, gerek ilaçların gerekse ilaç yüklü partiküllerin hücre ara bağlantılarında değişiklik yapıp yapmadığı ve histopatolojik değişimlerin olup olmadığını araştırmak amaçlanmıştır. Bu amaçla P(MAA-g-EG) partiküllerine küçük molekül ağırlıklı dört adet etkin madde (pH 7.4'de katyonik özellik gösteren diltiazem HCl, anyonik özellikte olan diklofenak Na, nötral siprofloksazin HCl ve katyonik izoniazid) ayrı ayrı olacak şekilde yüklenmiş ve in vitro ve in vivo özellikleri incelenmiştir. In vitro olarak, ilaç yüklü hidrojellerde % tutulma miktarı, pH 7.4 fosfat tamponunda ve kademeli olarak artan pH değerlerindeki (pH 1.2, 5.8, 6.8 ve 7.4) salım özellikleri değerlendirilmiştir. Ayrıca hızlandırılmış stabilite koşullarındaki (40±0.5°C ve % 75±5 RH) 1., 2. ve 3. ay sonundaki stabilite özellikleri incelenmiştir. In vivo olarak ise saf ilaçlar, ilaçsız partikül ve ilaç yüklü partiküller oral yoldan Wistar sıçanlarına gavaj yardımı ile verildikten sonra ince barsak dokusunda hasar meydana getirip getirmediği ışık mikroskobu ile hücre ara bağlantılarında olan değişimler histopatolojik olarak TEM ile incelenmiştir.

İzoniazid, diltiazem HCl, diklofenak Na ve siprofloksazin HCl sırasıyla P(MAA-g-EG) hidrojelinde % 52.27 ± 1.51 , % 44.72 ± 4.27 , % 23.23 ± 2.80 , % 13.40 ± 1.39 , oranlarında tutulmuştur (Tablo 2.6). İnsülinin oral yoldan uygulanması amacıyla yapılan çalışmalarda ise Lowman A.M. ve ark., başlangıç çözeltisinde bulunan insülinin % 94 ± 9 'nun P(MAA-g-EG) partikülleri tarafından tutulduğunu belirtmişlerdir (84). Morishita M. ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada, insülin, teofilin, vankomisin ve dekstran P(MAA-g-EG) partiküllerine yüklenmiş, salım profilleri incelenmiştir. İnsülin % 87.4 ± 6.8 , teofilin % 1.1 ± 0.5 , vankomisin % 14.5 ± 0.3 , dekstranlar ise % 5.2 ± 0.2 ile 7.0 ± 0.3 arasında tutulma oranları göstermiştir. İnsülin başarılı bir şekilde sisteme yüklenmesine rağmen diğer etkin maddelerde tutulmanın düşük kalması, teofilin ve vankomisin gibi küçük molekül ağırlıklı ilaçların asitik çözelti ile yıkanması esnasında hidrojel dışına sızarak uzaklaşmasına bağlanmıştır. Molekül ağırlığının etkisinin dışında molekülün şeklinin de tutulmada etkili olduğu belirtilmiştir. Peptit yapıli ilaçlardan farklı olarak dekstranlar çubuk şeklinde bir yapıya sahip olduklarından dolayı tutulmada zorluk çıkarmaktadırlar (11). Bu çalışmada, % tutulmalar pH 7.4'te katyonik özellikte oldukları için diltiazem HCl ve izoniazid sırasıyla % 52.27 ± 1.51 , % 44.72 ± 4.27 oranlarında olmuştur. Oysa anyonik özellik gösteren diklofenak Na 23.23 ± 2.80 oranında ve nötr özellik gösteren siprofloksazin HCl P(MAA-g-EG) hidrojelinde % 13.40 ± 1.39 oranlarında tutulmuştur. Bu % tutulma değerlerinde ilaçların katyonik, anyonik özelliklerinin rolü olmasının yanısıra başka faktörler de etkili olmuş olabilir. Örneğin Morishita M. ve ark.'nın yaptıkları çalışmada (152) % tutulma değerlerinin düşük olmasının sebebi, molekül ağırlığına bağlı olarak, partiküllerin asit çözelti ile yıkanması esnasında partikülün dışına sızarak uzaklaşmasına bağlanmaktadır. Fakat diklofenak Na ve siprofloksazin HCl'in asit ortamdaki (0.1 N HCl) çözünürlükleri kullanılan diğer maddelere göre en az olanlarıdır. Ayrıca etkin madde: partikül oranı 1:25'ten 5:25'e artırıldığında % tutulma değerlerinde bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$) (Tablo 2.6).

Oral yoldan kalsitonin uygulanması amacıyla geliştirilen sıcaklığa ve pH'ya hassas bir hidrojel olan poli(N-izopropil akrilamid-co- butilmetakrilat-co-akrilik asit)'e kalsitoninin yaklaşık % 50 oranında yüklenebildiği belirtilmiştir. Bu oranlarda yükleme sağlamak için kalsitoninin stabil ve polimerin şişme özelliğine sahip olduğu pH ve

sıcaklık değerleri belirlenmiştir (36). Bovine serum albumin model ilaç olarak PVA hidrojel nanopartiküllerinde % 96.2 ± 3.8 oranında tutulduğu (68), başka bir çalışmada ise yine model ilaç olarak bovine serum albumin PLGA-PVA mikrokürelerinde % 82.31 ± 10.97 oranında tutulduğu belirtilmiştir (71).

Bu çalışmada pH 7.4 fosfat tamponunda yapılan in vitro kontrollü salım çalışmaları 10 saat sonunda, diltiazem HCl'ün % 69.47 ± 1.00 'i, diklofenak Na'un % 66.74 ± 3.11 'i, siprofloksazin HCl'ün % 85.77 ± 7.64 'ü, izoniazid'in ise % 82.27 ± 2.40 'ı P(MAA-g-EG) hidrojellerinden açığa çıkmıştır (Tablo 2.7, Şekil 2.19). Torres Lugo M. ve Peppas N.'nin yaptığı bir çalışmada kalsitonin yüklü P(MAA-g-EG)'den kalsitoninin pH 7.0'de yaklaşık 100 saatte tamamının açığa çıktığı belirtilmiştir (151). Yapılan diğer bir çalışmada ise proksifilinin P(MAA-g-EG) hidrojellerinden 4 saatte pH 3.5'te yaklaşık % 25'i açığa çıktığı, pH 6.8'de ise yaklaşık % 75'inin açığa çıktığı görülmüştür. Vitamin B12 yüklü P(MAA-g-EG)'den yine 4 saatte pH'nın 4.8'den daha az olduğu değerlerde ilacın % 10'undan daha azının açığa çıktığı, pH 4.8'den yüksek pH değerine sahip ortamlarda ise ilacın salım yüzdelerinde artış görülmüştür (85). Yapılan bu in vitro kontrollü salım çalışmalarının sonuçları pH'ya hassas P(MAA-g-EG) hidrojellerinin düşük pH değerlerinde büzüşme özelliği göstermesi ve yüksek pH değerlerinde ise iyonizasyon sonucunda şişme göstererek ilacı açığa çıkarma prensibine dayanmaktadır (2, 3, 85, 151).

pH'ya hassas özellik gösteren kitozan-polivinil pirolidon partiküllerinden amoksisilinin pH 1.0, pH 2.0 ve pH 3.0'deki in vitro salım özellikleri incelenmiştir. 3 saatin sonunda dondurarak kurutulmuş hidrojellerden pH 1.0'de amoksisilinin yaklaşık % 70'ı, pH 2.0'de yaklaşık % 50'si ve pH 3.0'de yaklaşık % 40'i açığa çıkmıştır. Bu hidrojel in asit ortamlarda şişme özelliğinde artış meydana gelmesinin sebebinin kitozandaki primer amino grubunun protonlaşmasına bağlı olduğu belirtilmiştir (28).

In vitro kontrollü salım çalışmalarına ek olarak kademeli olarak artan pH değerlerinde de in vitro salım çalışmaları yapılmıştır. Çalışmada, diltiazem HCl, diklofenak Na, siprofloksazin HCl ve izoniazid yüklü P(MAA-g-EG) hidrojellerinden kademeli olarak artan pH değerlerinde (ilk 1.5 saat pH 1.2'de, ikinci 1.5 saat pH 5.8'de, üçüncü 1.5 saat pH 6.8'de ve son 5.5 saat pH 7.4'de) ilaçların salım özellikleri

belirlenmiştir. İlk 1.5 saat pH 1.2’de hidrojel büzüşmüş durumunda iken ilaç salımı % 2’yi geçmemiş, pH 5.8’den itibaren hidrojin iyonizasyon sonucunda şişme özelliğindeki artış ile beraber ilaçların salım hızında artış belirlenmiştir (Tablo 2.8, Şekil 2.20). Partiküllerdeki salınmaya ilaBenzer sonuçlar vitamin B12 ve insülin için de saptanmıştır (85,88). İlk 24 saatte vitamin B12 pH 3.2’de yaklaşık % 15 oranında açığa çıkmış, daha sonra pH 7.1’e alındığında tamamıyla iyonize olmuş P(MAA-g-EG) partikülünden ilacın kalanı % 60’ının salındığı belirtilmiştir (85). İnsülin ile yapılan çalışmada ise ilk 2 saat içinde pH 1.2’de insülin miktarının % 10’undan daha azı salınmış, devam eden 4 saatin sonunda pH 6.8’de ise insülinin yaklaşık tamamına yakını salınmıştır (88). Kademeli olarak artan pH değerlerinde yapılan bu in vitro salım çalışmaları, düşük pH değerlerinde P(MAA-g-EG) partikülünün büzüşme özelliği göstermesinden dolayı ilaçları, peptit ve proteinleri açığa çıkarmayarak midenin asit ortamından koruma özelliğine sahip olduğunu, ayrıca artan pH değerlerinde iyonize olarak şişme özelliği göstermesinden dolayı ince barsaktan itibaren ilaçları salma özelliğine sahip olduğu belirtilmiştir (85,88).

pH’ya hassas özelliğe sahip polikarbofil içeren silikon mikrokürelerinden nikotinamidin kademeli olarak artan pH değerlerinde (pH 1.2, 6.8, 7.4) in vitro salım özelliği belirlenmiştir. Farklı çaplarda mikrokürelerle yapılan bu çalışmanın sonucunda çapın büyümesi ile pH’ya hassas olarak kontrollü salımın yapılabilir olduğu ayrıca 2 saatte pH 1.2’de yaklaşık % 20 oranlarında açığa çıkan ilaç giderek artan oranlarda açığa çıkarak 9 saatin sonunda % 40 oranında salım gösterdiği bildirilmiştir Ayrıca bu mikrokürelerdeki pH’ya hassas özelliğin yapıda bulunan bir ticari ürün olan polikarbofilin çapraz bağlı poliakrilik asit içermesinden kaynaklandığı belirtilmiştir (30).

Etkin maddelerin $M_t / M_\infty = k \cdot t^n$ eşitliğine göre pH 7.4’deki salım mekanizmaları incelendiğinde, “n” değerlerinin 0.5 ve 1.0 arasında olmasından dolayı non-Fickian transport ile polimerden difüzyon ve gevşeme kontrollü olarak ilaçların salındığı belirlenmiştir (Tablo 2.8) (157).

In vitro bulguların elde edilmesinde kullanılan analitik yöntem validasyonu için, validasyonun analitik parametreleri olan doğruluk, kesinlik, doğrusallık, duyarlılık, özgünlük ve stabilite sırasıyla incelenmiştir.

Doğruluk: diltiazem HCl, diklofenak Na, siprofloksazin HCl ve izoniazid için düşük, orta ve yüksek olmak üzere üç konsantrasyonda aynı gün içerisinde ard arda 6 kez analiz edilmesi sonucunda elde edilen bulgular Tablo 2.9a-c, 2.10a-c, 2.11a-c, 2.12a-c'de verilmiştir. Ortalama % geri kazanılan değerler % 98-102 arasında olup, yöntemin doğruluğu saptanmıştır.

Kesinlik: diltiazem HCl, diklofenak Na, siprofloksazin HCl ve izoniazid için gün içi kesinlik bulguları Tablo 2.13a, 2.14a, 2.15a ve 2.16a'da gösterilmiştir. 6 farklı konsantrasyonda hazırlanan çözeltilerin absorbansları günde 3 kez ve 3 gün üst üste ölçülmüş olup, bulgular Tablo 2.13b, 2.14b, 2.15b ve 2.16b'de verilmiştir. Kalibrasyon eğrilerinin eğimleri ve de % RSD değerleri yöntemin gün içi ve de günlerarası kesinliğin sağlandığını belirtmektedir.

Doğrusallık: diltiazem HCl, diklofenak Na, siprofloksazin HCl ve izoniazid için örnek konsantrasyonları ile absorbans değerleri arasında tam bir doğrusallık elde edilmiştir (Şekil 2.25, 2.26, 2.27 ve 2.28).

Duyarlılık: diltiazem HCl ve diklofenak Na için miktar tayini sınırı 3 µg/ml, siprofloksazin HCl ve izoniazid için ise 1 µg/ml bulunmuştur (Şekil 2.29 a-d).

Seçicilik: diltiazem HCl, diklofenak Na, siprofloksazin HCl ve izoniazidin çözeltilerine P(MAA-g-EG) ilavesi ile UV bölgede absorbans değişikliği meydana gelmediği belirlenmiştir (Şekil 2.30 a-d).

Stabilite: diltiazem HCl, diklofenak Na, siprofloksazin HCl ve izoniazidin başlangıçtaki ve 24 saat sonundaki UV spektrumları alınmış ve absorbanslarında bir değişiklik görülmemiştir (Şekil 2.31 a-h).

P(MAA-g-EG) partiküllerinin DSC ile yapılan termal analizi sonucunda PEG'e ait yaygın bir erime derecesi piki 60°C üzerinde, P(MAA) zincirinin erime derecesi ise 200°C civarında görülmüştür (Şekil 2.18) (156). Etkin madde yüklü P(MAA-g-EG)

partiküllerinde etkin madde ile partikül arasında hidrojen bağı oluşumuna bağlı olarak bir etkileşim olduğu gözlenmiştir (Şekil 2.53, 256, 2.59, 2.62).

Saf ilaçların (diltiazem HCl, diklofenak Na, siprofloksazin HCl ve izoniazid), P(MAA-g-EG) hidrojelinin ve ilaç yüklü hidrojin hızlandırılmış stabilite koşullarındaki ($40\pm0.5^{\circ}\text{C}$ ve $\% 75\pm5$ RH) 1., 2. ve 3. ay sonundaki stabilite özellikleri incelenmiştir. FTIR ve DSC analizleri sonucunda diltiazem HCl'ün (Şekil 2.33-35), diklofenak Na'un (Şekil 2.37-39), siprofloksazin HCl'ün (Şekil 2.41-43), izoniazidin (Şekil 2.45-47), ilaçsız P(MAA-g-EG)'ün (Şekil 2.48-50), diltiazem HCl yüklü P(MAA-g-EG)'ün (Şekil 2.51-53), diklofenak Na yüklü P(MAA-g-EG)'ün (Şekil 2.54-56), siprofloksazin HCl yüklü P(MAA-g-EG)'ün (Şekil 2.57-59) ve de izoniazid yüklü P(MAA-g-EG)'ün (Şekil 2.60-62) hızlandırılmış stabilite koşullarının öncesinde ve de sonrasında yapılarında herhangi bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir.

Hızlandırılmış stabilite koşullarının ($40\pm0.5^{\circ}\text{C}$ ve $\% 75\pm5$ RH) etkisini belirlemek amacıyla FTIR ve DSC analizlerine ek olarak ilaç yüklü hidrojellerden pH 7.4 fosfat tampon çözeltisinde ilaçların in vitro salım profilleri incelenmiştir. 1., 2. ve 3. ayın sonunda yapılan in vitro salım profilleri sonucuna göre diltiazem HCl yüklü P(MAA-g-EG) (Tablo 2.17, Şekil 2.32), diklofenak Na yüklü P(MAA-g-EG) (Tablo 2.18, Şekil 2.36), siprofloksazin HCl yüklü P(MAA-g-EG) (Tablo 2.19, Şekil 2.40) ve de izoniazid yüklü P(MAA-g-EG)'nin (Tablo 2.20, Şekil 2.44) stabilite öncesi değerlerden farklı olmadığı dolayısıyla ilaç salımında hızlandırılmış stabilite koşullarının etkili olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$).

Altay S.A ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada diltiazem HCl içeren kitre zımkı ile hazırlanmış matriks tabletleri hızlandırılmış stabilite koşullarının tabletlerden ilaç salım profiline etkisini belirlemek amacıyla tabletler $40\pm0.5^{\circ}\text{C}$ ve $\% 75\pm5$ RH'de 3 ay boyunca saklanmıştır. Diltiazem HCl'in tabletlerden in vitro salım çalışmaları stabilite öncesinde, 1. ve 3. ay sonunda olacak şekilde yapılmış ve sonuçların birbirine benzer olduğu bildirilmiştir (97).

Hidrojellerin uygulanmasında biyolojik doku ile geçimli olmaları önemli bir faktördür. Sitotoksikite testleri olarak da bilinen hücre kültürü metotları hidrojellerin

toksitesini belirlemek için kullanılan yöntemlerdendir (1). P(MAA-g-EG) nanokürelerinin epitel hücrelerine olan fizikokimyasal davranışları ve sitotoksik etkileri Caco-2 hücreleri kullanılarak incelenmiştir. Kolorimetrik hücre proliferasyon miktar tayini ve canlı hücre sayma yöntemi ile yapılan sitotoksikite deneyleri sonucunda P(MAA-g-EG) nanokürelerinin düşük sitotoksik etki gösterdiği belirtilmiştir (21).

Sitotoksikite testlerinin dışında in vivo olarak hidrojellerin histopatolojik özelliklerinin değerlendirilmesi de yapılmaktadır (10,11). γ -radyasyon ile elde edilen poli[N-(2-hidroksi etil)-DL-aspartamid] (PHEA) oral yoldan sıçanlara verilmiş, 24 saat sonra mide ve duodenumlarında büyük ölçüde bir lezyon olmadığı belirlenmiştir (10). Deneysel olarak kolonik enflamasyon oluşturulmuş sıçanlara oral yoldan enflamatuvar barsak hastalığında kullanılan budesonid (BDS) yüklü Eudragit S mikropartikülleri verilmiştir. Sonuç olarak mukoza ve submukozada yüksek sayıda nötrofiller tespit edilmiştir (11).

Bu çalışmada saf ilaçlar, ilaçsız hidrojel ve ilaç yüklü partikül oral yoldan Wistar sıçanlarına gavaj yardımı ile verildikten sonra ince barsak dokusunda hasar meydana getirip getirmediği histopatolojik olarak incelenmiştir.

Oral yoldan Wistar sıçanlarına P(MAA-g-EG) partiküllerinin uygulanmasından 2 saat sonra alınan ileum kesitlerinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi sonucunda eritem ve de fokal erozyon belirlenmiştir (Resim 2a). Buna rağmen, uygulamanın 10 saat sonrasında ise eritemde azalma meydana gelerek hafif eritem ve fokal erozyon gözlemlenmiştir (Resim 2b). Uygulamanın 20 saat sonrasında ise hasarsız normal villus yapısı saptanmıştır. (Resim 2c).

Oral yoldan Wistar sıçanlarına diltiazem HCl, diklofenak Na, siprofloksazin HCl ve izoniazid uygulanmasından 2 ve 20 saat sonra alınan ileum kesitleri incelendiğinde 2 saat sonrasında, diltiazem HCl ve diklofenak Na ile eritem gözlemlenirken siprofloksazin HCl ve de izoniazid ile hemoraji gözlemlenmiştir (Resim 1 a,c,e,g). Buna rağmen uygulamanın 20 saat sonrasında, diltiazem HCl ve diklofenak Na ile yaygın erozyonla beraber eritem, siprofloksazin HCl ve izoniazid ile ise eritem belirlenmiştir (Resim 3 a,c,e,g).

2 ve de 20 saat sonucunda diltiazem HCl'ün sebep olduğu eritem diltiazem HCl'ün P(MAA-g-EG) partiküllerine yüklü halde iken Wistar sıçanlarına oral yoldan uygulanmasından 2 saat sonrasında hemorajiye sebep olmuş (Resim 1 b), 20 saat sonrasında ise normal villus yapısı oluşmuş ve eritem belirgin bir şekilde azalmıştır (Resim 3 b).

Diklofenak Na'un P(MAA-g-EG) partiküllerine yüklenmesi sonucunda ise uygulamanın 2 saat sonrasında serbest ilaç ile karşılaştırıldığında her ikisi de eriteme sebep olduğundan dolayı bir değişiklik gözlemlenmemiştir. (Resim 1 c,d). Buna rağmen uygulamanın 20 saat sonrasında ise serbest ilaç ile karşılaştırıldığında diklofenak Na'un meydana getirdiği hafif hemoraji, ilacın P(MAA-g-EG) partiküllerine yüklü halde iken uygulanması sonucunda hafif hemorajide belirgin bir azalma gözlemlenerek hafif eritem gösteren normal villus yapısı belirlenmiştir (Resim 3 c,d).

Uygulamadan 2 saat sonra siprofloksazin HCl ve izoniazidin sebep olduğu hemoraji, siprofloksazin HCl P(MAA-g-EG) partiküllerine yüklü iken uygulama sonrasında hemorajide azalma gözlemlenerek eritem meydana gelmiş (Resim 1 e,f), izoniazid P(MAA-g-EG) partiküllerine yüklü iken yine hemorajide azalma gözlemlenerek hafif hemoraji meydana gelmiştir (Resim 1 g,h). Uygulamanın 20 saat sonrasında siprofloksazin HCl ve de izoniazidin sebep olduğu eritem, bu ilaçların P(MAA-g-EG) partiküllerine yüklü halde iken uygulanması sonucunda eritemde azalma gözlemlenerek hafif eritem gösteren normal villus yapısı belirlenmiştir (Resim 3 f,h).

Literatürde, bir kalsiyum antagonisti olan diltiazem HCl'ün düz kaslara olan etkisinden dolayı gastrointestinal sistemde konstipasyona sebep olduğu belirtilmiştir (153). Non steroid al antiienflamatuvar bir ilaç olan diklofenak Na'un ise en önemli yan etkilerinin gastrik iritasyon ve ülserasyon olduğu bildirilmiştir (91). Gastrointestinal sistemle ilgili olarak siprofloksazin HCl'ün başlıca yan etkileri bulantı, kusma ve diyaredir (154). İzoniazid ile yapılan çalışmalarda gastrointestinal sistemle ilgili olarak ciddi yan etkilere rastlanmamakla beraber karın üst kısmında yanma ve ağız kuruluğu gibi etkiler belirtilmiştir (153).

Histopatoloji çalışmalarına ait sonuçlar, serbest P(MAA-g-EG) partiküllerinin sıçanlara uygulanmasından 20 saat sonra ileumda hasarsız normal villus yapısı

göstermektedir. Ayrıca 20 saat sonucunda serbest ilaçlarla gözlemlenen doku hasarları P(MAA-g-EG) partiküllerine yüklü iken normal villus yapısı gözlenmektedir. Bu durumda ilaçların sebep olduğu doku hasarının partiküllere yüklenmesi ile engellenebileceği görüşüne varılmıştır.

Literatürde benzer çalışmalar çeşitli ilaçlar ve polimerlerle yapılmıştır. Giammona G. ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, oral yoldan sıçanlara uygulanan non steroid al antiinflamatuar bir ilaç olan diflunisal mide ve duodenumda hemorajiye sebep olmuştur. Buna rağmen ilaç poli[N-(2-hidroksi etil)-DL-aspartamid] (PHEA)'e yüklü iken sıçanlara uygulandıktan sonra mide ve duodenumdan alınan kesitlerde yapılan histopatolojik değerlendirme sonucunda hemorajide belirgin bir azalma meydana geldiği bildirilmiştir (10).

P(MAA-g-EG) partiküllerinin diğer bir önemli özelliği yapılarında bulunan karboksil grubu ile kalsiyuma bağlanarak hücre ara bağlantılarının (tight junctions) açılmasına sebep olmakta ve böylelikle ilaçların absorpsiyonunu artırmaktadır (14,80). Literatürde bu konu ile ilgili in vitro ve de Caco-2 hücrelerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır (8,14,80). ATR-FTIR ile yapılan inceleme sonucunda P(MAA-g-EG)'ün iyonizasyonuna bağlı olarak pH 5.0 ve pH 6.5'te alınan spektrumlarda kalsiyum ile bağlanmayı kanıtlayacak şekilde karboksilik asitin tuzuna ait pik görülmüştür (14). Ayrıca P(MAA-g-EG) hidrojenleri kalsiyum klorür çözeltisine ilave edilerek 2 saat boyunca 37°C'de inkubasyona bırakılmış ve polimere bağlı kalsiyumun miktarı atomik absorpsiyon spektrometrisi ile ölçüldüğünde metakrilik asit/etilen glikol oranı yükseldikçe kalsiyuma bağlanma oranı artmıştır (22).

Bu çalışmada ise saf ilaçlar, ilaçsız P(MAA-g-EG) ve de ilaç yüklü P(MAA-g-EG) oral yoldan gavaj yardımıyla Wistar sıçanlarına verildikten 2 ve 10 saat sonra partiküllerin kalsiyuma bağlanarak hücre ara bağlantılarının açılması ve sonra bu ara bağlantılarda nasıl bir değişim olduğu transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile değerlendirildi.

Diltiazem HCl, diklofenak Na, izoniazid ve P(MAA-g-EG) Wistar sıçanlarına oral yoldan uygulandıktan 2 ve 10 saat sonra hücre yapısının normal olduğu ve hücre ara

bağlantılarında bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir (Resim 4a,b,c,d,g,h,j,k). Sadece siprofloksazin HCl uygulandıktan 2 saat sonra hücre ara bağlantıları gevşemiş veya kopmuş durumda iken uygulamadan 10 saat sonra ise hücre ara bağlantıları normale döndüğü gözlemlenmiştir (Resim 4 e,f). Ayrıca siprofloksazin HCl yüklü P(MAA-g-EG) partikülleri uygulandıktan 2 saat sonra hücre arası bağlantılarda genişleme belirlenmiş, uygulamadan 10 saat sonra ise halen hücre arası bağlantılardaki genişlemenin devam etmekte olduğu görülmektedir (Resim 4 l,m). Siprofloksazin HCl'in partiküllerde tutulmasının düşük olduğundan sıçanlara gerekli dozu verebilmek için partikül miktarı artırılmıştır. Partikül miktarının artırılmasının 10 saat sonunda düzelmeyi engellediği düşünülmüştür.

Yapılan bir çalışmada, P(MAA-g-EG) nanokürelerinin epitel hücrelerine olan fizikokimyasal davranışları ve sitotoksik etkileri Caco-2 hücreleri kullanılarak incelenmiştir. Sitotoksikite deneyleri sonucunda P(MAA-g-EG) nanokürelerinin düşük sitotoksik etki gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca epitel hücreleri ile nanokürelerin direkt temasta bulunması sonucunda yapılan transepitel elektriksel rezistans ölçümleri hücre bütünlüğünde değişiklikler olduğunu belirlemiştir. Bu hidrojellerin kalsiyum ile bağlanma kapasiteleri hücre ara bağlantılarını açmalarına ve de paraselular yoldan geçiş yapan moleküllerin transportunu artırmalarına sebep olduğu belirtilmiştir (21). Bu çalışmada sıçanlara oral yoldan partiküllerin verilmesi sonucunda TEM ile elde edilen morfolojik verilerin, Caco-2 hücrelerinde yapılan çalışmalarla paralellik göstermemesinin sebebi uygulanan partikülün miktarına veya uygulama süresine bağlı olduğu düşünülebilir. Bu konu ile ilgili benzer bir sorun Hochman J.H. ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada görülmüştür. Palmitoilkarnitinin absorpsiyon artırma mekanizması Caco-2 hücrelerinde incelenmiş, düşük miktarlarda palmitoilkarnitin Caco-2 hücrelerinde transepitel elektrik rezistansında (TER) belirgin bir düşüş gözlemlenirken, TEM sonuçlarında morfolojide belirgin bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir (155).

Sonuç olarak, P(MAA-g-EG) partiküllerine küçük molekül ağırlıklı ilaçların yüklenebildiği ve % tutulmada ilaçların kimyasal özelliklerinin önemli olabileceği, ilaçların partiküllerden 10 saatte % 66 ile % 85 arasında salınabildiği, ilaçsız partiküllerin hücre arası bağlantıları açmadığı, ancak bu bağlantıların açılmasının partikül miktarına bağlı olduğu, partikülün ancak belli bir miktara ulaştınca bağlantıları açabildiği ve 10 saat süresince açık tutabildiği saptanmıştır. Dolayısıyla P(MAA-g-EG)

partiküllerinin küçük moleköl ağırlıklı ilaçlarla yüklenmesinin bu ilaçların kullanılmasında yararlı olabileceğı görüşüne varılmıştır.



REFERANSLAR:

1. Peppas, N.A., Bures, P., Leobandung, W., Ichikawa, H. : Hydrogels in Pharmaceutical Formulations, 50 : 27-46, 2000.
2. Peppas, N.A. : Hydrogels and Drug Delivery, Current Opinion in Colloid & Interface Science 2: 531-537, 1997.
3. Lowman, A.M., Peppas, N.A.: Hydrogels in E. Mathiowitz (Ed.), Encyclopedia of Controlled Drug Delivery, Wiley, New York, 1999.
4. Gürsoy, A., Dortunç, B., Pişkin, E., Peppas, N.A.: Kontrollü İlaç Serbestleştirme Sistemleri, Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları no: 469/5, İstanbul, 1989.
5. Gürsoy, A. (ed.), Kontrollü Salım Sistemleri, Kontrollü salım sistemleri derneği yayın no: 1, İstanbul, 2002.
6. Andreopoulos, F.M., Beckman, E., Russel, A.J., : Light Induced Tailoring of PEG-hydrogel Properties, Biomaterials, 19: 1343-1352, 1998.
7. Peppas, N.A., Colombo, P., Analysis of drug release behavior from swellable polymer carriers using the dimensionality index, J. Controlled Rel., 45, 35-40, 1997.
8. Peppas, N.A., Keys, K.B., Torres Lugo, M., Lowman, A., Poly(ethylene glycol)-containing hydrogels in drug delivery, 62, 81-87, 1999.
9. Stringer, J., Peppas, N.A., Diffusion of small molecular weight drugs in radiation cross-linkd poly(ethylene oxide) hydrogels, J. Controlled Rel., 42, 195-202, 1996.
10. Giammona, G., Pitarressi, G., Tomarchio, V., Cacciaguerra, S., Govoni, P., A hydrogel based on a polyaspartamide: characterization and evaluation of in-vivo biocompatibility and drug release in the rat, J. Pharm. Pharmacol., 49, 1051-1056, 1997.
11. Rodriguez, M., Antunez, J.A., Taboada, C., Seijo, B., Torres, D., Colospecific delivery of budesonide from encapsulated cellulosic cores: evaluation of the efficacy against inflammation in rats, J. Pharm. Pharmacol., 53, 1207-1215, 2001.
12. Giammona, G., Pitarresi, G., Tomarchio, V., Spampinato, S., Govoni, P., Campana, T., New hydrogel matrices based on chemical crosslinked α,β -polyasparthrazide: synthesis, cahracterization and in vivo biocompatibility studies, Int. J. Pharm., 127, 165-175, 1996.

13. Gasbarrini, G., Montalto, M., Structure and function of tight junctions. Role in intestinal barrier, *Ital. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 31, 481-488, 1999.
14. Cooper G.M., *The Cell, A Molecular Approach*, 11-12, ASM Press, Washington D.C., 1997.
15. Ganong, W.F., *Review of Medical Physiology*, 511-513, 13th ed., California, 1987.
16. Junginger, H.E., Verhoef, J.C., Macromolecules as Safe Penetration Enhancers for Hydrophilic Drugs- a fiction?, *PSTT Vol. 1, No 9, December*, 370-376, 1998.
17. Artursson, P., Magnusson, C., Epithelial Transport of drugs in cell culture. II; The effect of different lipophilicities across monolayers of intestinal epithelial (Caco-2) cells, *J. Pharm. Sci.*, Vol. 79, No 7, July, 595-600, 1990.
18. Noach, A.B.J., Kurosaki, Y., Margret, C.M., Blom-Roosemalen, G. De Boer, A., Breimer, D.D., Cell polarity dependent effect of chelation on the paracellular permeability of confluent Caco-2 cell monolayers, *Int. J. Pharm.*, 90, 229-237, 1993.
19. Tomita, M., Hayashi, M., Awazu, S., Absorption-enhancing mechanism of EDTA, caprate and decanoylcarnitine in Caco-2 cells, *J. Pharm. Sci.*, Vol. 85, no.6, June, 608-611, 1996.
20. Kriwet, B., Kissel, T., Poly(acrylic acid) microparticles widen the intercellular spaces of caco-2 cell monolayers: an examination by confocal laser scanning microscopy, *Eur. J. Pharm.*, 42 (4) 233-240, 1996.
21. Torres-Lugo, M., Garcia, M., Record, R., Peppas, N.A., Physicochemical behaviour and cytotoxic effects of p(methacrylic acid -g-ethylene glycol) nanospheres for oral delivery of proteins, *J. Controlled Release*, 80, 197-205, 2002.
22. Madsen, F., Peppas, N.A., Complexation Graft Copolymer Networks: Swelling Properties, Calcium Binding and Proteolytic Enzyme Inhibition, *Biomaterials*, 20: 1701-1708, 1999.
23. Martin, E., Verhoef, J.C., Spies, F., van der Meulen, J., Nagelkerke, J.F., Koerten, H.K., Merkus, F.W.H.M., The effect of methylated β -cyclodextrins on the tight junction of the rat nasal respiratory epithelium: electron microscopic and confocal laser scanning microscopic visualisation studies, *J. Controlled Release*, 57, 205-213, 1999.
24. Thanou, M.M., Verhoef, J.C., Romeijn, S.G., Fred Nagelkerke, J. Merkus, F.W.H.M., Junginger, H.E., Effects of N-trimethyl chitosan chloride, a novel

- absorption enhancer, on caco-2 intestinal epithelia and the ciliary beat frequency of chicken embryo trachea, *Int. J. Pharm.*, 185, 73-82, 1999.
25. Sipahigil, O., Torres Lugo, M., Peppas, N.A., FTIR Spectroscopic Analysis of Protein/Carrier Interactions in Novel Protein Systems, *STP Pharma Sci.*, 12 (6), 345-350, 2002
 26. Anderberg, E. K., Artursson, P., Epithelial transport of drugs in cell culture. VIII: Effects of Sodium dodecyl sulphate on cell membrane and tight junction permeability in human intestinal epithelial (caco 2) cells, *J. Pharm. Sci.*, 82 (4), 392-398, 1993.
 27. Ravichandran, P, Shantha, K.L., Panduranga Rao, K., Preparation, swelling characteristics and evaluation of hydrogels for stomach specific drug delivery, *Int. J. Pharm.*, 154: 89-94, 1997.
 28. Risbud, M.V., Hardikar, A.A., Bhat, S.V., Bhonde, R.R., pH sensitive freeze dried chitosan-polyvinyl pyrrolidone hydrogels as controlled release system for antibiotic delivery, *J. Controlled Rel.*, 68, 23-30, 2000.
 29. Bilia, A., Carelli, V., Di Colo, G., Nannipieri, E., In vitro evaluation of a pH sensitive hydrogel for control of GI drug delivery from silicone-based matrices, *Int. J. Pharm.*, 130, 83-92, 1996.
 30. Carelli, V., Di Colo, G., Gesi, M., Martini, F., Nannipieri, E., Mechanism of drug release from silicone microspheres containing Polycarbophil, *Int. J. Pharm.*, 153, 105-114, 1997.
 31. Hoffman, A.S., Stayton, P.S., Bulmus, V., Chen, G., Chen, J., Cheung C., Cjilkoti A., Ding Z., Dong L., Fong R., Lackey C.A., Long C.J., Miura M., Morris J.E., Murthy N., Nabeshima Y., Park T.G., Press O.W., Shimoboji T., Shoemaker S., Yang H.J., Monji N., Nowinski R.J., Cole A.N., Priest J.H., Harris J.M., Nakamae K., Nishino T., Miyata T.,: Really Smart Bioconjugates of Smart Polymers and Receptor Proteins, Founder's Award, Sixth World Biomaterials Congress 2000 Kamuela, HI, May 15-20, 2000.
 32. Jeong, B., Han Bae, Y., Wan Kim, S., Drug release from biodegradable injectable thermosensitive hydrogel of PEG-PLGA-PEG triblock copolymers, *J Controlled Rel.*, 63: 155-163, 2000.
 33. Ichikawa, H., Fukumri, Y., J., A novel positively thermosensitive controlled release microcapsule with membrane of nano-sized poly(N-isopropylacrylamide) gel dispersed in ethylcellulose matrix, *J. Controlled Rel.*, 63, 107-119, 2000.

34. Iza, M., Stoianovici, G., Viora, L., Grossiord, J.L., Couarraze, G., Hydrogels of poly(ethylene glycol): mechanical characterization and release of a model drug, *J. Controlled Rel.*, 52, 41-51, 1998.
35. Bae, Y.H., Huh, K.M., Kim, Y., Park, K., Biodegradable amphiphilic multiblock copolymers and their implications for biomedical applications, *J. Controlled Rel.*, 64, 3-13, 2000.
36. Serres, A., Baudys, M., Kim, S.W., Temperature and pH sensitive polymers for human calcitonin delivery, *Pharm. Res.*, 13, 196-201, 1996.
37. Lavon, I., Kost, J., Mass transport enhancement by ultrasound in non-degradable polymeric controlled release systems, *J. Controlled Rel.*, 54, 1-7, 1998.
38. Hsu, C., Block, L.H., Anionic gels as vehicles for electrically modulated drug delivery I. Solvent and drug transport phenomena, *Pharm. Res.*, 13, 1865-1870, 1996.
39. Kiser, P.F., Wilson, G., Needham, D., Lipid-coated hydrogels for the triggered release of doxorubicin, *J. Controlled Rel.*, 68: 9-22, 2000.
40. Budtova, T., Absorption/release of polyvalent metal ions by a polyelectrolyte gel, *J. Controlled Rel.*, 54, 305-312, 1998.
41. Goldbart, R., Kost, J., Calcium responsive bioerodible drug delivery system, *Pharm. Res.*, 16, 1483-1486, 1999.
42. Miyata, T., Asami, N., Uragami, T., A reversibly antigen-responsive hydrogel, *Nature*, 399, 766-769, 1999.
43. Tanihara, M., Suzuki, Y., Nishimura, Y., Suzuki, K., Kakimaru, Y., Fukunishi, Y., A novel microbial infection-responsive drug release system, *J. Pharm. Sci.*, 88, 510-514, 1999.
44. Peppas, N.A., Huang, Y., Torres-Lugo, M., Ward, J., Zhang, J., : Physicochemical Foundations and Structural Design of Hydrogels in Medicine and Biology, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 02: 9-29, 2000.
45. Peppas, N.A., Langer, R., : New Challenges in Biomaterials, *Science* 263: 1715-1720, 1994.
46. Kitano, M., Maitani, Y., Takayama, K., Nagai, T., Buccal absorption through golden hamster cheek pouch in vitro and in vivo of 17 β -estradiol from hydrogels containing three types of absorption enhancers, *Int. J. Pharm.*, 174, 19-28, 1998.
47. Boble, L., Gray, A.I., Sadiq, L., Uchegbu, I.F., A non-covalently cross-linked chitosan based hydrogel, *Int. J. Pharm.*, 192, 173-182, 1999.

48. Blanco-Fuente, H., Anguiano-Igea, S., Otero-Espinar, F.J., Blanco-Mendez, J., In vivo bioadhesion of carbopol hydrogels, *Int. J. Pharm.*, 142, 169-174, 1996.
49. Remunan Lopez, C., Portero, A., Vila-Jato, J.L., Alonso, M.J., Design and evaluation of chitosan/ethylcellulose mucoadhesive bilayered devices for buccal drug delivery, *J. Controlled Rel.*, 55, 143-152, 1998.
50. Chen, J., Blevins, W.E., Park, H., Park, K., Gastric retention properties of superporous hydrogels, *J. Controlled Rel.* 64: 39-51, 2000.
51. Gliko-Kabir, I., Yagen, B., Penhasi, A., Rubinstein, A., Phosphated crosslinked guar for colon-specific drug delivery I. Preparation and physicochemical characterization, *J. Controlled Rel.*, 63: 121-127, 2000.
52. Gliko-Kabir, I., Yagen, B., Baluom, M., Rubinstein, A., Phosphated crosslinked guar for colon-specific drug delivery II. In vitro and in vivo evaluation in the rat, *J. Controlled Rel.*, 63: 129-134, 2000.
53. Coviello, T., Grassi, M., Rambone, G., Santucci, E., Carafa, M., Murtas, E., Riccieri, F., Alhaique, F., Novel hydrogel system from scleroglucan: synthesis and characterization, *J. Controlled Rel.*, 60: 367-378, 1999.
54. Slovin, E.M., Robinson, J.R., In vivo swelling kinetics of a series of hydrogel polymers in the cannulated gastrointestinal tract of the canine, *Int. J. Pharm.*, 155, 53-63, 1997.
55. Giammona, G., Pitarresi, G., Tomarchio, V., Guidi, G.D., Giuffrida, S., Swellable microparticles containing Suprofen: evaluation of in vitro release and photochemical behaviour, *J. Controlled Rel.*, 51, 249-257, 1998.
56. Castelli, F., Pitarresi, G., Tomarchio, V., Giammona, G., Effect of pH on the transfer kinetics of an anti-inflammatory drug from polyaspartamide hydrogels to a lipid model membrane, *J. Controlled Rel.*, 45, 103-111, 1997.
57. Vervoort, L., Van Den Mooter, G., Augustinjs, P., Gusson, R., Toppet, S., Kinget R., Inulin hydrogels as carriers for drug targeting: I. Synthesis and characterization of methacrylated inulin and hydrogel formation, *Pharm. Res.*, 14, 1730-1737, 1997.
58. Miyazaki, S., Suisha, F., Kawasaki, N., Shirakawa, M., Yamatoya, K., Attwood, D., Thermally reversible xyloglucan gels as vehicles for rectal drug delivery, *J. Controlled Rel.*, 56, 75-83, 1998.
59. Watanebe, K., Yakou, S., Takayama, K., Isowa, K., Nagai, T., Rectal absorption and mucosal irritation of rectal gels containing buprenorphine hydrochloride

- prepared with water-soluble dietary fibers, xanthan gum and locust bean gum, *J. Controlled Rel.*, 38, 29-37, 1996.
60. Smadar, C., Lobel, E., Trevigoda, A., Peled, Y., A novel insitu-forming ophthalmic drug delivery system from alginates undergoing in the eye, *J. Controlled Rel.*, 44, 201-208, 1997.
61. Chetoni, P., Di Colo, G., Grandi, M., Morelli Saettone, Darougar, S., Silicone rubber/hydrogel composite ophthalmic inserts: preparation and preliminary in vitro/in vivo evaluation, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 46, 125-132, 1998.
62. Conaghey, O.M., Corish, J., Corrigan, O.I., The release of nicotine from a hydrogel containing ion exchange resins, *Int. J. Pharm.*, 170, 215-224, 1998.
63. Conaghey, O.M., Corish, J., Corrigan, O.I., Iontophoretically assisted in vitro membrane transport of nicotine from a hydrogel containing ion exchange resins, *Int. J. Pharm.*, 170, 225-237, 1998.
64. Gomez, C., Blanco, M.D., Bernardo, M.V., Sastre, R.L., Teijon, J.M., Poly(acrylamide-co-monoethyl Itaconate) hydrogels as devices for cytarabine release in Rats, *J. Pharm. Pharmacol.*, 50, 703-712, 1998.
65. Coviello, T., Dentini, M., Rambone, G., Desideri, P., Carafa, M., Murtas, E., Riccieri, M., Alhaique, F., J. A novel co-crosslinked polysaccharide: studies for a controlled delivery matrix, *J. Controlled Rel.*, 55: 57-66, 1998.
66. Yamamoto, M., Tabata, Y., Hong, L., Miyamoto, S., Hashimoto, N., Ikada, Y., Bone regeneration by transforming growth factor β 1 released from a biodegradable hydrogel, *J. Controlled Rel.*, 64, 133-142, 2000.
67. Cho, C., Han, S., Ha, J., Kim, S., Lim, D., Clonazepam release from biodegradable hydrogels based on semi-interpenetrating polymer networks composed of poly(ϵ -caprolactone) and poly(ethylene glycol) macromer, *Int. J. Pharm.*, 181, 235-242, 1999.
68. Kui Li, J., Wang, N., Shen Wu, X., Poly(vinyl alcohol) nanoparticles prepared by freezing-thawing process for protein/peptide drug delivery, *J. Controlled Rel.*, 56: 117-126, 1998.
69. An, Y., Hubbell, J.A., Intraarterial protein delivery via intimately-adherent bilayer hydrogels, *J. Controlled Rel.*, 64: 205-215, 2000.
70. Gehrke, S.H., Uhden, L.H., McBride, J.F., Enhanced loading and activity retention of bioactive proteins in hydrogel delivery systems, *J. Controlled Rel.*, 55: 21-33, 1998.

71. Wang, N., Shen Wu, X., Kui Li, J., A heterogeneously structured composite based on poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres and poly(vinyl alcohol) hydrogel nanoparticles for long term protein drug delivery, *Pharm. Res.* 16: 1430-1435, 1999.
72. Franssen, O., Vandervennet, L., Roders, P., Hennink, W.E., Degradable dextran hydrogels: controlled release of a model protein from cylinders and microspheres, *J. Controlled Rel.*, 60: 211-221, 1999.
73. Luo, Y., R. Kirker, K., D. Prestwich, G.D., Cross-linked hyaluronic acid hydrogel films: new biomaterial for drug delivery, *J. Controlled Rel.*, 69: 169-184, 2000.
74. Aikawa, K., Matsumoto, K., Uda, H., Tanaka, S., Shimamura, H., Aramaki, Y., Tsuchiya, S., Hydrogel formation of the pH response polymer polyvinylacetal diethylaminoacetate (AEA), *Int. J. Pharm.*, 167, 97-104, 1998.
75. Kuijpers, A.J., Wachem, P.B., Luyn, M.J.A., Engbers, G.H.M., Krijgsveld, J., Zaat, S.A.J., Dankert, J., Feijen, J., In vivo and in vitro release of lysozyme from cross-linked hydrogels: a model system for the delivery of antibacterial proteins from prosthetic heart valves, *J. Controlled Rel.*, 67, 323-336, 2000.
76. Tabata, Y., Matsui, Y., Ikada, Y., Growth factor release from amylopectin hydrogel based on copper coordination, *J. Controlled Rel.*, 135-148, 1998.
77. Hennink, W.E., Franssen, van Dijk-Wolthuis, W.N.E., Talsma, H., Dextran hydrogels for the controlled release of proteins, *J. Controlled Rel.*, 48, 107-114, 1997.
78. Narayani, R., Rao, K.P., Collagenpoly (HEMA) hydrogels for the controlled delivery of methotrexate and cisplatin, *Int. J. Pharm.*, 138, 121-124, 1996.
79. Draye, J.P., Delaey, B., Voorde, A., Bulcke, A.V.D., Bogdanov, B., Schacht, E., In vitro release characteristics of bioactive molecules from dextran dialdehyde cross linked gelatin hydrogel films, *Biomaterials*, 19, 99-107, 1998.
80. Cruise, G.M., Scharp, D.S., Hubbell, J.A., Characterization of permeability and network structure of interfacially photopolymerized poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogels, *Biomaterials*, 19, 1287-1294, 1998.
81. Hassan, C.M., Stewart, J.E., Peppas, N.A., Diffusional characteristics of freeze/thawed poly(vinyl alcohol) hydrogels: Applications to protein controlled release from multilaminate devices, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 49, 161-165, 2000.
82. Lu, G., Jun, H.W., Diffusion studies of methotrexate in Carbopol and Poloxamer gels, *Int. J. Pharm.*, 160, 1-9, 1998.

83. Klier, J., Scranton, A.B, Peppas N.A., Self associating networks of poly(methacrylic acid-g-ethylene glycol), *Macromolecules*, 23, 4944-4949, 1990.
84. Lowman, A.M., Morishita, M., Kajita, M., Nagai, T., Peppas, N.A., Oral delivery of Insulin Using pH-Responsive Complexation Gels, *J. Pharm. Sci.* Vol 88 no 9, 933-937, September, 1999.
85. Lowman, A.M., Peppas, N.A., Pulsatile Drug Delivery Based on a Complexation-Decomplexation Mechanism in Dinh S.M., DeNuzzio J.D., Comfort A.R. (Ed.) *Intelligent Materials for Controlled Release*, ACS, Washington DC, 1999.
86. Lowman, A.M., Peppas, N.A., Molecular Analysis of Interpolymer Complexation in Graft Copolymer Networks, *Polymer* 41: 73-80, 2000.
87. Peppas, N.A., Lowman, A.M., Protein Delivery from Novel Bioadhesive Complexation Hydrogels, *Peptide and Protein Drug Delivery*, Alfred Benzon Symposium 43, 206-216, Copenhagen, 1998.
88. Lowman, A.M., Peppas, N.A., Morishita, M., Nagai, T., Novel Bioadhesive Networks for Oral Protein Drug Delivery in McCulloch I., Shalaby S.W., (Ed.) *Tailored Polymeric Materials for Controlled Delivery Systems*, ACS, Washington DC, 1998.
89. Huang, Y., Leobandung, W., Foss, A., Peppas, N.A., Molecular Aspects of muco- and Bioadhesion: Tethered Structures and Site Specific Surfaces, *J. Control. Release*, 65: 63-71, 2000.
90. Madsen, F., Peppas, N.A., Complexation Graft Copolymer Networks: Swelling Properties, Calcium Binding and Proteolytic Enzyme Inhibition, *Biomaterials*, 20: 1701-1708, 1999.
91. *Analytical Profiles of Drug Substances*, Vol:19, Florey, K., Academic Press, Inc., California, 1987.
92. *The Merck Index*, 12th ed., Merck & Co., Inc., USA, 1996.
93. Bonnefous, J.L., Boulieu, R., Lahet, C., Stability of Diltiazem and its metabolites in human blood samples, *J. Pharm Sci.*, 81, 341-344, 1992.
94. Hussain, M.D., Tam, Y.K., Finegan, B.A., Coutts, R.T., Simple and sensitive high performance liquid chromatographic method for the determination of diltiazem and six of its metabolites in human plasma, *J. Chromatography*, 582, 203-209, 1992.
95. Chaudhary, R.S., Gangwal, S.S., Avachat, M.K., Shah, Y.N., Jindal, K.C., Determination of diltiazem hydrochloride in human serum by high performance liquid chromatography, *J. Chromatography*, 614, 261-266, 1993.

96. Rutledge, D.R., Abadi, A.H., Lopez, L.M., Beaudreau, C.A., High performance liquid chromatographic determination of diltiazem and two of its metabolites in plasma using a short alkyl chain silanol deactivated column, *J. Chromatography*, 615, 111-116, 1993.
97. Altaf, S.A., Yu, K., Parasrampur, J., Friend, D.R., Guar gum based sustained release diltiazem, *Pharm. Res.*, 15, 1196-1201, 1998.
98. Kim, H., Fassihi, R., A new ternary polymeric matrix system for controlled drug delivery of highly water soluble drugs: I. Diltiazem hydrochloride, *Pharm. Res.*, 14, 1415-1421, 1997.
99. Yu, K., Gebert, M., Altaf, S.A., Wong, D., Friend, D.R., Optimization of sustained release diltiazem formulations in man by use of an in vitro/in vivo correlations, *J. Pharm. Pharmacol.*, 50, 845-850, 1998.
100. Pillay, V., Fassihi, R., Electrolyte induced compositional heterogeneity: a novel approach for rate controlled oral drug delivery, *J. Pharm. Sci.*, 88, 1140-1148, 1999.
101. Konar, N., Kim, C., Drug release from drug polyanion complex tablets: poly(acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonate sodium-co-methyl methacrylate), *J. Controlled Rel.*, 57, 141-150, 1999.
102. Martindale The Extra Pharmacopoeia, 28th ed., the pharmaceutical press, London, 1982.
103. Kayaalp S.O., Tıbbi Farmakoloji, 6. Baskı, 2. cilt, Feryal Matbaacılık, Ankara, 1992.
104. Matsuo, M., Arimori, K., Nakamuro, C., Nakano, M., Delayed-release tablets using hydroxyethylcellulose as a gel forming matrix, *Int. J. Pharm.*, 138, 225-235, 1996.
105. Kristmundsdottir, T., Gudmundsson, O.S., Ingvasdottir, K., Release of diltiazem from Eudragit microparticles prepared by spray drying, *Int. J. Pharm.*, 137, 159-165, 1996.
106. Ramani, C.C., Puranik, P.K., Dorle, A.K., Study of diabetetic acid as matrix forming material, *Int. J. Pharm.* 137, 11-9, 1996.
107. Miyagawa, Y., Okabe, T., Yamaguchi, Y., Miyajima, M., sato, H., Sunada, H., Controlled release of diclofenac sodium from wax matrix granule, *Int. J. Pharm.*, 138, 215-224, 1996.

108. Hosny, E.A., Formulation and comparative evaluation of bioadhesive containing diclofenac sodium and commercial enteric coated tablets in vitro and in dogs, *Int. J. Pharm.*, 133, 149-153, 1996.
109. Huang, Y., Wu, P., Ko, H., Tsai, Y., Cardamom oil as a skin permeation enhancer for indomethacin, piroxicam and diclofenac, *Int. J. Pharm.*, 126, 11-117, 1995.
110. Sato, H., Miyagawa, Y., Okabe, T., Miyajima, M., Sunada, H., Dissolution mechanism of diclofenac sodium from wax matrix granules, *J. Pharm. Sci.*, 86, 929-934, 1997.
111. Sujja-areevath, J., Munday, D.L., Cox, P.J., Khan, K.A., Release characteristics of diclofenac sodium from encapsulated natural gum mini matrix formulations, *Int. J. Pharm.*, 139, 53-62, 1996.
112. Carreira, L.A., Rizk, M., El-Shabrawy, Y., Zakhari, N.A., Toubar, S.S., Europium(III) ion probe spectrofluorometric determination of diclofenac sodium, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 13, 1331-1337, 1995.
113. Kuhlmann, O., Krauss, G., Crocheted ETFE reactor for on-line post-column photoderivatization of diclofenac in high performance liquid chromatography, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 16, 553-559, 1997.
114. Schneeweis, A., Müller-Goymann, C., In vivo and in vitro diclofenac sodium evaluation after rectal application of soft gelatine capsules enabling application induced transformation (AIT) into a semisolid system of liquid crystals (SSLC) for controlled release, *Pharm. Res.*, 14, 1726-1729, 1997.
115. Giagoudakis, G., Markantonis, S.L., An alternative high performance liquid chromatographic method for the determination of diclofenac and flurbiprofen in plasma, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 17, 897-901, 1998.
116. Scholer, D.W., Ku, E., Boettcher, I., Schweizer, A., Pharmacology of diclofenac sodium, *The American Journal of Medicine*, 80, 34-37, 1986.
117. Velasco, M. V., Ford, J.L., Rowe, P., Rajabi-Siahboomi, A.R., Influence of drug: hydroxypropylmethylcellulose ratio, drug and polymer size and compression force on the release of diclofenac sodium from HPMC tablets, *J. Controlled Rel.*, 57, 75-85, 1999.

118. Gürsoy, A., Çevik, S., Sustained release properties of alginate microspheres and tabletted microspheres of diclofenac sodium, *J. Microencapsulation*, 17, 565-575, 2000.
119. Gohel, M.C., Amin, A.F., Formulation optimization of controlled release diclofenac sodium microspheres using factorial design, *J. Controlled Rel.*, 51, 115-122, 1998.
120. Lorenzo-Lamosa, M.L., Remunan-Lopez, C., Vila-Jato, J.L., Alonso, M.J., Design of microencapsulated chitosan microspheres for colonic drug delivery, *J. Controlled Rel.*, 52, 109-118, 1998.
121. Ichikawa, H., Fukumori, Y., Adeyeye, C.M., Design of prolonged release microcapsules containing diclofenac sodium for oral suspensions and their preparation by the Wurster process, *Int. J. Pharm.*, 156, 39-48, 1997.
122. The United States Pharmacopoeia XXIII, Rockville, United States Pharmacopoeial Convection Inc., 1995.
123. Fratini, L., Schapoval, E.E.S., Ciprofloxacin determination by visible light spectrophotometry using iron (III) nitrate, *Int. J. Pharm.*, 127, 279-282, 1996.
124. Ramchandri, M., Robinson, D., In vitro and in vivo release of ciprofloxacin from PLGA 50:50 implants, *J. Controlled Rel.*, 54, 167-175, 1998.
125. Takacs-Novac, K., Jozan, M., Hermecz, I., Szasz G., Lipophilicity of antibacterial fluoroquinolones, *Int. J. Pharm.*, 79, 89-96, 1992.
126. Gürsoy, A., Senyücel, B., Characterization of ciprofloxacin liposome: derivative ultraviolet spectrophotometric determinations, *J. Microencapsulation*, 14, 769-776, 1997.
127. Ma, H.H.M., Chiu, F.C.K., Li, C.K., Mechanistic investigation of the reduction in antimicrobial activity of ciprofloxacin by metal cations, *Pharm. Res.*, 14, 366-370, 1997.
128. Allababidi, S., Shah, J.C., Kinetics and mechanism of release from glyceryl monostearate-based implants: evaluation of release in a gel simulating in vivo, *J. Pharm. Sci.*, 87, 738-744, 1998.

129. Fawaz, F., Guyot, M., Laguency, A.M., Devissaguet, J., Ciprofloxacin loaded polyisobutylcyanoacrylate nanoparticles: preparation and characterization, *Int. J. Pharm.*, 154, 191-203, 1997.
130. Bakhouya, A., Saidna M., Vergnaud, J.M., Calculation of the antibiotic level in the plasma with an oral erosion controlled dosage form, *Int. J. Pharm.* 143, 143-149, 1996.
131. Dash, A.K., Haney, P.W., Garavalia, M.J., Development of an in vitro dissolution method using microdialysis sampling technique for implantable drug delivery systems, 88, 1036-1040, 1999.
132. Vega, E., Dabbene, V., Nassetta, M., Sola, N., Validation of a reversed phase LC method for quantitative analysis of intravenous admixtures of ciprofloxacin and metronidazole, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 21, 1003-1009, 1999.
133. Page-Clisson M.E., Pinto-Alphandary, H., Ourevitch, M., Andremont, A., Couvreur, P., Development of ciprofloxacin loaded nanoparticles: physicochemical study of the drug carrier, *J. Controlled Rel.*, 56, 23-32, 1998
134. Montera, M.T., Saiz, D., Sitges, R., Vazquez, J.L., Borrell, J.H., Influence of physicochemical properties of fluoroquinolones on encapsulation efficiency in liposomes, *Int. J. Pharm.*, 138, 113-120, 1996.
135. Zaghloul, I.Y., Aly, Z.H., Radwan, M.A., Effect of ciprofloxacin on the hypoprothrombinemic activity of warfarin in rats, *Int. J. Pharm.*, 131, 131-136, 1996.
136. Fawaz, F., Bonini, F., Maugein, J., Laguency, A.M., Ciprofloxacin loaded polyisobutylcyanoacrylate nanoparticles: pharmacokinetics and in vitro antimicrobial activity, *Int. J. Pharm.*, 168, 255-259, 1998.
137. Page-Clisson, M., Gibaud, S., Pinto-Alphandary, H., Weingarten, C., Couvreur, P., Polyisobutylcyanoacrylate nanoparticles as drug carriers: influence of sulfur dioxide on the physico-chemical characteristics of ciprofloxacin and doxorubicin loaded nanoparticles, *Int. J. Pharm.*, 166, 117-120, 1998.

138. Page-Clisson, M., Pinto-Alphandary, H., Chachaty, E., Couvreur, P., Andremont, A., Drug targeting by polyalkylacrylate is not efficient against persistent salmonella, *Pharm. Res.*, 15, 544-549, 1998.
139. Owusu-Ababio, F., Rogers, J., Anwar, H., Effectiveness of ciprofloxacin microspheres in eradicating bacterial biofilm, *J. Controlled Rel.*, 57, 151-159, 1999.
140. Finlay, W.H., Wong, J.P., Regional lung deposition of nebulized liposome encapsulated ciprofloxacin, *Int. J. Pharm.*, 167, 121-127, 1998.
141. Souza, S.A.D., Ray, J., Pandey, S., Udupa, N., Absorption of ciprofloxacin and norfloxacin when administered as niosome encapsulated inclusion complexes, *J. Pharm. Pharmacol.*, 49, 145-149, 1997.
142. Özsoy, Y., Tunçel, T., Can, A., Akev, N., Birteksöz, S., Gerçeker, A., In vivo studies on nasal preparations of ciprofloxacin hydrochloride, *Pharmazie*, 8, 607-609, 2000.
143. Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th ed., Mack Publishing company, Easton Pennsylvania, 1975.
144. Hsu, Y., Gresser, J.D., Stewart R.R., Trantolo, D.J., Lyons, C.M., Simons, G.A., Gangadharam R.J., Wise D.L., Mechanism of isoniazid release from poly(D,L-lactide-co-glycolide) matrices prepared by dry-mixing and low density polymeric foam methods, *J. Pharm. Sci.*, 85, 706-712, 1996.
145. Goicoechea, H.C., Olivieri, A.C., Simultaneous determination of rifampicin, isoniazid and pyrazinamide in tablet preparations by multivariate spectrophotometric calibration, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 20, 681-686, 1999.
146. Kut, E.,: Türev spektroskopisi yöntemi ile izoniazid ve rifampisin lipozom formülasyonlarında ayırımı ve özelliklerinin incelenmesi, M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul 2000.
147. Argekar, A.P., Kunjir, S.S., Purandare, K.S., Simultaneous determination of rifampicin, isoniazid and pyrazinamid by high performance thin layer chromatography, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 14, 1645-1650, 1996.
148. Carlin, A., Gregory, N., Simmons, J., Stability of isoniazid in isoniazid syrup: formation of hydrazine, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 17, 885-890, 1998.
149. You, T., Niu, L., Gui, J.Y., Dong, S., Wang E., Detection of hydrazine, methylhydrazine and isoniazid by capillary electrophoresis with a 4-pyridyl hydroquinone self assembled microdisk platinum electrode, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 19, 231-237, 1999.

150. Jain, N.K., Talwar, N., Controlled release tablet formulation of isoniazid, *Pharmazie*, 47, 277-278, 1992.
151. Torres-Lugo, M., Peppas, N.A., Molecular Design and in Vitro Studies of Novel pH Sensitive Hydrogels for the Oral Delivery of Calcitonin, *Macromolecules*, 32: 6646-6651, 1999.
152. Morishita, M., Lowman, A.M., Takayama, K., Nagai, T., Peppas, N.A., Elucidation of mechanism of incorporation of insulin in controlled release systems based on complexation polymers, *J. Controlled Release*, 81, 25-32, 2002.
153. Dukes, M.N.G., (ed.), Meyler's side effect of drugs, an encyclopedia of adverse reactions and interactions, 375, 11th ed. Amsterdam-New York, Oxford, 1988.
154. LeBel, M., Evaluation of new drugs, ciprofloxacin: chemistry, mechanism of action, resistance, antimicrobial spectrum, pharmacokinetics, clinical trials and adverse reactions, *Pharmacotherapy*, 8 (1): 3-33, 1998.
155. Hochman, J.H., Fix, J.A., LeCluyse, E.L., In vitro and in vivo analysis of the mechanism of absorption enhancement by palmitoylecarnitine, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 269, no. 2, 813-822, 1994.
156. Brandup, J., Immergut E.H. (ed.), *Polymer Handbook*, 32-92, Interscience Publishers, Newyork, 1966.
157. Ritger, P.L., Peppas, N.A., A Simple Equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices, *J. Controlled Release*, 5, 37-42, 1987.

ÖZGEÇMİŞİM

16 Eylül 1973 tarihinde Ankara’da doğdum. İlkokulu Nurettin Teksan İlkokulunda, orta ve liseyi ise Hüseyin Avni Sözen Anadolu Lisesinde okudum. 1995 yılında Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesini bitirdikten sonra aynı üniversiteye bağlı olan Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalında hem Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya hem de yüksek lisans yapmaya başladım. 1998 yılında yüksek lisans programından mezun olduktan sonra 1999 yılında doktora programına başladım. Mayıs 2000- Ocak 2001 tarihleri arasında Purdue Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümünde Prof. Dr. Nicholas Peppas’ın laboratuvarında misafir araştırmacı olarak çalıştım.

Halen Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.

EC. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Doktora öğrencisi Oya SİPAHİGİL'in, çalışması jürimiz tarafından Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Doktora tezi olarak uygun görülmüştür.

İMZA

Tez Danışmanı : Prof.Dr.Ayla GÜRSOY
Üniversitesi : Marmara

.....

Üye : Prof.Dr. *Salim Dordug* PEPPAS
Üniversitesi : Purdue

.....

Üye : Prof.Dr.Murat TÜRKOĞLU
Üniversitesi : Marmara

.....

Üye : Prof.Dr.Yılmaz ÇAPAN
Üniversitesi : Hacettepe

.....

Üye : Doç.Dr.Yıldız ERGİNER
Üniversitesi : İstanbul

.....

ONAY

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 06 / 08 / 2003 tarih ve 12 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr.Sevim ROLLAS
Müdür