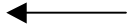
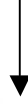
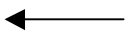


Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

KİTOSAN BAZLI BUKKAL BİYOADEZİF İLAÇ TAŞIYICI
SİSTEMLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE *İN VİTRO-İN VİVO*
DEĞERLENDİRİLMESİ

MUHAMMET DAVUT ARPA

DANIŞMAN
PROF.DR. ERDAL CEVHER

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ

İSTANBUL-2018



TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Farmasötik Teknoloji Programında Doktora öğrencisi Muhammet Davut ARPA tarafından Prof.Dr. Erdal CEVHER'in danışmanlığında hazırlanan "Kitosan Bazlı Bukkal Biyoadeziv İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Geliştirilmesi ve *İn vitro-İn vivo* Değerlendirilmesi" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 20/02/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.



Jüri Başkanı

Prof.Dr. Ahmet Oğul ARAMAN
İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

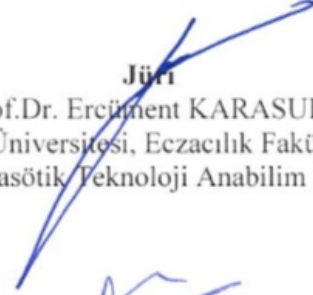


Jüri-Danışman

Prof.Dr. Erdal CEVHER
İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri

Prof.Dr. Ercüment KARASULU
Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı




Jüri

Prof.Dr. Yıldız ERGİNER
İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri

Doç.Dr. Neslihan ÜSTÜNDAĞ OKUR
İstanbul Medipol Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

BEYAN

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

Muhammet Davut ARPA

(imza)

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımın tüm aşamalarında bilgi ve tecrübelerini aktararak bana yol gösteren ve en yoğun anlarında bile yardımcı olmaya çalışan danışmanım Prof.Dr. Erdal CEVHER'e sonsuz teşekkür ederim.

Projemin her aşamasında her türlü katkıyı sağlayan ve özellikle moral-motivasyon konusundaki destekleri sebebiyle Doç.Dr. Neslihan ÜSTÜNDAĞ OKUR'a çok teşekkür ederim.

İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Ahmet Oğul ARAMAN ve hocalarımızdan Prof.Dr. Yıldız ÖZSOY ERGİNER'e çalışmalarımın yürütülmesi konularındaki desteklerinden ötürü teşekkür ederim. *Ex vivo* çalışmalarımın gerçekleştirilebilmesi için katkıları sebebiyle Prof.Dr. Sevgi GÜNGÖR'e teşekkür ederim.

Polimer sentezleri ve FTIR analizleri konularındaki katkı, desteklerinden ve her daim yönlendirici yaklaşımlarından ötürü Prof.Dr. Saadet PABUÇCUOĞLU ve Doç.Dr. Mehmet Koray GÖK'e, tez çalışmalarımın yürütülmesi konusunda hoşgörülerini ve desteklerini daima gösteren Prof.Dr. Şeref DEMİRAYAK ve Prof.Dr. Gülden Zehra OMURTAG'a çok teşekkür ederim.

İn vivo çalışmalarımın organizasyonunda vermiş olduğu desteklerden ötürü Prof.Dr. Ertuğrul KILIÇ'a ve ekibine çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca maddi ve manevi desteklerinden ötürü İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'nın ve İstanbul Medipol Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nin tüm personeline teşekkür ederim.

Yaklaşık altı yıl süren doktora dönemim boyunca kendilerini çok fazla ihmal etmiş olmama rağmen her an maddi ve manevi desteklerini hissettiğim ve şu an bu satırları yazabilmeme vesile olan aileme minnettarlığımı borç bilerek kendilerine çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	iii
BEYAN.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiv
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xviii
ÖZET	xx
ABSTRACT.....	xxi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Oral Mukoza	3
2.1.1. Oral Mukozanın Anatomi ve Fizyolojisi	3
2.1.1.1. Bukkal Mukozanın Anatomi ve Fizyolojisi	4
2.1.2. Tükürük	6
2.1.3. Mukus.....	6
2.1.4. Bukkal Mukozadan İlaç Uygulanması	8
2.1.4.1. Bukkal Mukozadan İlaç Geçiş ve Mukozanın Bariyer Özellikleri	8
2.1.4.2. Bukkal Yoldan İlaç Uygulanmasının Avantajları ve Dezavantajları	10
2.2. Biyoadezyon	11
2.2.1. Biyoadezif Sistemlerin Avantajları.....	11
2.2.2. Biyoadezyon Mekanizmaları	12
2.2.3. Biyoadezyon Teorileri.....	13
2.2.3.1. Islanma Teorisi	13
2.2.3.2. Adsorpsiyon Teorisi	13
2.2.3.3. Elektron Transferi Teorisi	14
2.2.3.4. Kırılma/Kopma Teorisi	14
2.2.3.5. Difüzyon Teorisi	14
2.2.3.6. Mekanik Teori.....	14
2.2.4. Biyoadezyonu Etkileyen Faktörler.....	15

2.2.4.1. Polimere İlişkin Faktörler	15
2.2.4.2. Çevresel ve Fizyolojik Faktörler	16
2.2.5. Biyoadezyonun Ölçümünde Kullanılan Yöntemler	17
2.2.5.1. Wilhelmy Tablası Yüzey Gerilimi Yöntemi	17
2.2.5.2. Değiştirilmiş Yüzey Gerilimi Yöntemi	18
2.2.5.3. Gerilme Direnci Yöntemi (Tekstür Analiz Cihazı Yöntemi).....	19
2.2.5.4. Kolloidal Altın Boyama Yöntemi	20
2.2.5.5. Direkt Boyama Yöntemi (Floresans İşaretleme Yöntemi).....	21
2.2.5.6. Bağırsak Kesesi (Gut sac) Yöntemi	21
2.2.5.7. Soyma Yöntemi (Peel Adezyon Yöntemi).....	21
2.2.5.8. Reolojik Yöntem (Viskozimetrik Yöntem).....	22
2.2.5.9. Akış Kanal Yöntemi	22
2.2.5.10. Atomik Güç Mikroskobu (AFM)	23
2.2.5.11. <i>İn vivo</i> Yöntemler	24
2.2.6. Biyoadeziv Polimerler	24
2.2.6.1. Selüloz Türevleri	25
2.2.6.2. Poliakrilatlar	26
2.2.6.3. Pektin	27
2.2.6.4. Aljinatlar	27
2.2.6.5. Kitosan	28
2.2.6.6. Lektinler	30
2.2.6.7. Tiyole Polimerler (Tiyomerler)	30
2.2.6.8. Bukkal Uygulamada Kullanılan Diğer Polimerlere Örnekler	31
2.2.7. Bukkal Biyoadeziv İlaç Taşıyıcı Sistemler	31
2.2.7.1. Tabletler	31
2.2.7.2. Yamalar (Patchler)	34
2.2.7.3. Filmler	36
2.2.7.4. Diskler	38
2.2.7.5. Gofretler (Waferlar)	39
2.2.7.6. Jeller ve merhemler	40
2.2.7.7. Pastil	41
2.2.7.8. Partiküler Sistemler	42
2.2.7.9. Sıvı İlaç Şekilleri	42

2.3. Tizanidin Hidroklorür	43
2.3.1. Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri	43
2.3.2. Farmakolojik Özellikleri	44
2.3.3. Farmakokinetik Özellikleri	45
2.3.4. Tizanidin Hidroklorürün Türkiye ve Dünya'daki Müstahzarlarına Örnekler	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM	46
3.1. Kullanılan Kimyasal Madde, Araç ve Gereçler	46
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	46
3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	47
3.2. Yöntem ve Deneyler	48
3.2.1. Tizanidin Hidroklorürün Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi	48
3.2.1.1. UV Spektrumu	48
3.2.1.2. FTIR Spektrumu	48
3.2.1.3. Erime Derecesi Tayini	49
3.2.2. Tizanidin Hidroklorürün Miktar Tayini İçin HPLC Metot ve Validasyonu	49
3.2.2.1. HPLC Metodunun Oluşturulması	49
3.2.2.2. Doğrusallık	49
3.2.2.3. Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirlik	50
3.2.2.4. Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik & Tekrar Elde Edilebilirlik)	50
3.2.2.5. Özgünlük, Seçicilik	50
3.2.2.6. Teşhis ve Tayin Sınırları (LOD ve LOQ)	51
3.2.2.7. Dayanıklılık	51
3.2.3. Tizanidin Hidroklorürün Çözünürlük Çalışmaları	52
3.2.4. Kitosan Türevi Polimerlerin Hazırlanması	52
3.2.4.1. Polimerlerin FTIR Spektroskopisi ile Kontrolü	53
3.2.5. Etken ve Yardımcı Madde Etkileşimlerinin Belirlenmesi	53
3.2.6. Bukkal Yama Formülasyonlarının Hazırlanması ve Fizikokimyasal Analizler	54
3.2.6.1. Bukkal Yama Formülasyonlarının Hazırlanması	54
3.2.6.2. Ağırlık Tekdüzeliliği	56
3.2.6.3. Kalınlık	56
3.2.6.4. pH	56
3.2.6.5. Nem Tutma Kapasitesi	56
3.2.6.6. Nem Kaybı Yüzdesi	56

3.2.6.7. Şişme Yüzdesi.....	57
3.2.6.8. Gerilme Direnci ve Esneklik.....	57
3.2.6.9. İçerik Tekdüzeligi Çalışmaları.....	57
3.2.6.10. FTIR Spektroskopisi Analizleri	58
3.2.7. Bukkal Tablet Formülasyonlarının Hazırlanması ve Fizikokimyasal Analizler	58
3.2.7.1. Bukkal Tablet Formülasyonlarının Hazırlanması	58
3.2.7.2. Ağırlık Tekdüzeligi	59
3.2.7.3. Çap – Kalınlık	59
3.2.7.4. pH.....	59
3.2.7.5. Friabilite	59
3.2.7.6. Sertlik	59
3.2.7.7. Şişme Yüzdesi.....	59
3.2.7.8. İçerik Tekdüzeligi Çalışmaları.....	60
3.2.7.9. FTIR Analizleri	60
3.2.8. Biyoadeziv Kuvvet Tayini.....	60
3.2.9. Bukkal Yama ve Tablet Formülasyonlarının <i>İn Vitro</i> Salım Çalışmaları.....	61
3.2.9.1. <i>İn Vitro</i> Salım Çalışmaları	61
3.2.9.2. <i>İn Vitro</i> Salım Verilerinin Kinetik Olarak Değerlendirilmesi.....	61
3.2.10. <i>Ex Vivo</i> Permeabilite Çalışmaları	61
3.2.11. Stabilitate	63
3.2.12. <i>İn Vivo</i> Çalışmalar.....	63
3.2.12.1. HPLC Metodunun Oluşturulması	63
3.2.12.2. Doğrusallık.....	63
3.2.12.3. Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirlik Çalışmaları	64
3.2.12.4. Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik & Tekrar Elde Edilebilirlik)	64
3.2.12.5. Özgünlük, Seçicilik.....	65
3.2.12.6. Teşhis ve Tayin Sınırları (LOD ve LOQ)	65
3.2.12.7. Dayanıklılık.....	65
3.2.12.8. <i>İn Vivo</i> Çalışmalar.....	65
3.2.13. İstatiksel Analizler	66
4. BULGULAR.....	67

4.1. Tizanidin Hidroklorürün Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi ile İlgili Bulgular.....	67
4.1.1. UV Spektrumu Bulguları	67
4.1.2. FTIR Spektroskopisi Bulguları	67
4.1.3. Erime Derecesi Tayini Bulguları	68
4.2. Tizanidin Hidroklorürün Miktar Tayini İçin HPLC Metot ve Validasyonuna Ait Bulgular.....	68
4.2.1. Doğrusallık Bulguları.....	68
4.2.2. Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirlik Bulguları.....	69
4.2.3. Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik & Tekrar Elde Edilebilirlik) Bulguları.....	70
4.2.4. Özgünlük, Seçicilik Bulguları.....	72
4.2.5. Teşhis ve Tayin Sınırları (LOD ve LOQ) Bulguları.....	74
4.2.6. Dayanıklılık Bulguları.....	75
4.3. Tizanidin Hidroklorürün Çözünürlük Çalışmaları Bulguları.....	75
4.4. Kitosan Türevi Polimerlerin Hazırlanması ile İlgili Bulgular	76
4.4.1. Polimerlerin FTIR Spektroskopisi Bulguları	76
4.5. Etken ve Yardımcı Madde Etkileşimlerinin Belirlenmesi Bulguları.....	77
4.6. Bukkal Yama Formülasyonlarının Hazırlanması ve Fizikokimyasal Analiz Bulguları	81
4.6.1. Bukkal Yama Formülasyonlarının Hazırlanmasına Ait Bulguları.....	81
4.6.2. Ağırlık Tekdüzeliliği Bulguları.....	82
4.6.3. Kalınlık Bulguları	82
4.6.4. pH Değeri Bulguları.....	82
4.6.5. Nem Tutma Kapasitesi Bulguları.....	84
4.6.6. Nem Kaybı Yüzdesi Bulguları.....	84
4.6.7. Şişme Yüzdesi Bulguları.....	86
4.6.8. Gerilme Direnci ve Esneklik Bulguları.....	87
4.6.9. İçerik Tekdüzeliliği Çalışmalarına Ait Bulgular	91
4.6.10. FTIR Spektroskopisi Analizlerine Ait Bulgular	92
4.7. Bukkal Tablet Formülasyonlarının Hazırlanması ve Fizikokimyasal Analiz Bulguları	94
4.7.1. Bukkal Tablet Formülasyonlarının Hazırlanmasına Ait Bulgular	94
4.7.2. Ağırlık Tekdüzeliliği Bulguları.....	95

4.7.3. Çap – Kalınlık Bulguları	95
4.7.4. pH Değeri Bulguları	95
4.7.5. Friabilite Bulguları	96
4.7.6. Sertlik Değeri Bulguları	96
4.7.7. Şişme Yüzdesi Bulguları	96
4.7.8. İçerik Tekdüzeliliği Çalışmalarına Ait Bulgular	97
4.7.9. FTIR Spektroskopisi Analizlerine Ait Bulgular	97
4.8. Biyoadeziv Kuvvet Tayini Bulguları	100
4.9. Yama ve Tablet Formülasyonlarının <i>İn Vitro</i> Salım Çalışmalarına Ait Bulgular	102
4.9.1. <i>İn Vitro</i> Salım Çalışmalarına Ait Bulgular	102
4.9.2. <i>İn vitro</i> Salım Kinetiklerine Ait Bulgular	103
4.10. <i>Ex Vivo</i> Permeabilite Çalışmalarına Ait Bulgular	104
4.11. Stabilite Bulguları	106
4.12. <i>İn Vivo</i> Çalışmalara Ait Bulgular	108
4.12.1. Doğrusallık Bulguları	108
4.12.2. Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirlik Bulguları	109
4.12.3. Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik & Tekrar Elde Edilebilirlik) Bulguları	109
4.12.4. Özgünlük, Seçicilik Bulguları	111
4.12.5. Teşhis ve Tayin Sınırları (LOD ve LOQ) Bulguları	112
4.12.6. Dayanıklılık Bulguları	113
4.12.7. <i>İn Vivo</i> Çalışmalara Ait Bulgular	113
5. TARTIŞMA	116
KAYNAKLAR	140
ETİK KURUL KARARI	162
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	164
ÖZGEÇMİŞ	166

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Bazı polimerlerin biyoadezif özellikleri ve iyonik yükleri	25
Tablo 2-2: Ticari olarak piyasada bulunan bukkal biyoadezif tabletlere örnekler	34
Tablo 2-3: Ticari olarak piyasada bulunan bukkal biyoadezif filmlere örnekler	38
Tablo 2-4: Piyasada bulunan bukkal biyoadezif yarı-katı formülasyon örnekleri.....	41
Tablo 2-5: Tizanidin hidroklorürün Türkiye ve Dünya'daki müstahzalarına bazı örnekler (www.drugbank.ca; Üstünes, 2016)	45
Tablo 3-1: Kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan yamaların içerikleri	54
Tablo 3-2: Kitosan klorür polimerleri ile hazırlanan yamaların içerikleri.....	55
Tablo 3-3: Kitosan glutamat polimerleri ile hazırlanan yamaların içerikleri	55
Tablo 3-4: Kitosan polimerleri ile hazırlanan tablet formülasyonlarının içerikleri	58
Tablo 4-1: Tizanidin hidroklorürün doğruluk ve geri elde edilebilirlik bulguları.....	70
Tablo 4-2: Tizanidin hidroklorürün kesinlik bulguları	71
Tablo 4-3: Tizanidin hidroklorürün tekrar elde edilebilirlik bulguları	71
Tablo 4-4: Tizanidin hidroklorürün tekrar edilebilirlik bulguları.....	72
Tablo 4-5: Tizanidin hidroklorürün dayanıklılık bulguları.....	75
Tablo 4-6: Tizanidin hidroklorürün farklı çözücülerdeki çözünürlükleri.....	75
Tablo 4-7: Kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan yama formülasyonlarının ağırlık tekdüzeliği, kalınlık ve pH değeri bulguları	82
Tablo 4-8: Kitosan klorür polimerleri ile hazırlanan yama formülasyonlarının ağırlık tekdüzeliği, kalınlık ve pH değeri bulguları	83
Tablo 4-9: Kitosan glutamat polimerleri ile hazırlanan yama formülasyonlarının ağırlık tekdüzeliği, kalınlık ve pH değeri bulguları	83
Tablo 4-10: Kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan yama formülasyonlarının nem kaybı ve nem tutma yüzdeleri	84
Tablo 4-11: Kitosan klorür polimerleri ile hazırlanan bukkal yama formülasyonlarının nem kaybı ve nem tutma yüzdeleri	85
Tablo 4-12: Kitosan glutamat polimerleri ile hazırlanan yama formülasyonlarının nem kaybı ve nem tutma yüzdeleri	85
Tablo 4-13: Yama formülasyonlarının şişme yüzdeleri	86

Tablo 4-14: Kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan bukkal yama formülasyonlarının gerilme direnci ve esneklik bulguları.....	88
Tablo 4-15: Kitosan klorür polimerleri ile hazırlanan bukkal yama formülasyonlarının gerilme direnci ve esneklik bulguları.....	88
Tablo 4-16: Kitosan glutamat polimerleri ile hazırlanan bukkal yama formülasyonlarının gerilme direnci ve esneklik bulguları.....	89
Tablo 4-17: İdeal yama formülasyonlarının içerik tekdüzelikleri	91
Tablo 4-18: Tablet formülasyonlarının ağırlık tekdüzeliği, çap-kalınlık ve pH değeri bulguları	96
Tablo 4-19: Tablet formülasyonlarına ait friabilite, sertlik ve şişme yüzdesi bulguları.	96
Tablo 4-20: Tablet formülasyonlarına ait içerik tekdüzeliği bulguları.....	97
Tablo 4-21: İdeal yama ve tablet formülasyonlarına ait biyoadesyon çalışması bulguları	101
Tablo 4-22: Tablet formülasyonlarına ait <i>in vitro</i> salım kinetikleri	104
Tablo 4-23: <i>Ex vivo</i> permeabilite çalışmaları neticesinde elde edilen veriler	105
Tablo 4-24: <i>Ex vivo</i> permeabilite çalışmalarında formülasyonların 8. ve 24. saat sonundaki % permeabilite değerleri ve bukkal dokuda kalan ilaç miktarının yüzdesi.	105
Tablo 4-25: Formülasyonların stabilite çalışmalarına ait etken madde içeriği bulguları	107
Tablo 4-26: Formülasyonların stabilite çalışmalarına ait pH değeri bulguları.....	107
Tablo 4-27: Tizanidin hidroklorürün doğruluk ve geri elde edilebilirlik bulguları	109
Tablo 4-28: Tizanidin hidroklorürün kesinlik bulguları	110
Tablo 4-29: Tizanidin hidroklorürün tekrar elde edilebilirlik bulguları	110
Tablo 4-30: Tizanidin hidroklorürün tekrar edilebilirlik bulguları.....	111
Tablo 4-31: Tizanidin hidroklorürün dayanıklılık bulguları.....	113
Tablo 4-32: Tizanidin hidroklorür içeren yama, tabletler ve müstahzara ait kan konsantrasyonu-zaman verileri	114

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Ağız içinin şematik görünümü (Patel ve ark., 2011)	3
Şekil 2-2: Bukkal mukozanın yapısı (Sattar ve ark., 2014).....	5
Şekil 2-3: Mukus içindeki glikoprotein zincirlerinin etkileşimi (Andrews ve ark., 2009)7	
Şekil 2-4: Bukkal mukozadan geçiş yolları (Paderni ve ark., 2012)	9
Şekil 2-5: Wilhelmy tablası (Yu ve ark., 2014).....	18
Şekil 2-6: Değiştirilmiş yüzey gerilim cihazı (Nair ve ark., 2013).....	19
Şekil 2-7: Tekstür analiz cihazı	20
Şekil 2-8: Gerilme, kayma ve soyma güçlerinin şematik gösterimi (Sudhakar ve ark., 2006).....	22
Şekil 2-9: Biyoadezyon ölçümü için deney kurulum şeması ve güç mesafe profili (Mackie ve ark., 2017).....	23
Şekil 2-10: Kitosanın kimyasal yapısı (Kumar ve ark., 2016).....	29
Şekil 2-11: Bukkal biyoadezif tablet şekilleri (Rossi ve ark., 2005).....	32
Şekil 2-12: Tizanidin hidroklorürün kimyasal formülü (www.pharmacopeia.cn)	43
Şekil 3-1: Kitosan ve azelaik asidin reaksiyonu sonucu kitosan azelat oluşumu	53
Şekil 3-2: Franz Difüzyon Hücre Sistemi'nde inek bukkal dokusu kullanılarak gerçekleştirilen yama ve tablet formülasyonlarına ait permeabilite çalışmaları.....	63
Şekil 3-3: Bukkal yama ve tablet formülasyonlarının tavşanlara uygulanması (A: A10-33 yama formülasyonunun uygulanması; B: Tablet formülasyonlarına ait görüntü).....	66
Şekil 4-1: Tizanidin hidroklorürün UV spektrumu.....	67
Şekil 4-2: Tizanidin hidroklorürün FTIR spektrumu.....	67
Şekil 4-3: Tizanidin hidroklorürün HPLC spektrumu	68
Şekil 4-4: Tizanidin hidroklorürün kalibrasyon grafiği	69
Şekil 4-5: Etken madde içeren A10-33 formülasyonunun HPLC spektrumu	73
Şekil 4-6: Etken madde içermeyen A10-33 formülasyonunun HPLC spektrumu.....	73
Şekil 4-7: Etken madde içeren TG-10 formülasyonunun HPLC spektrumu	74
Şekil 4-8: Etken madde içermeyen TG-10 formülasyonunun HPLC spektrumu	74
Şekil 4-9: 7 cP kitosan kullanılarak hazırlanan polimerlerin FTIR spektrumlarının karşılaştırılması.....	76
Şekil 4-10: 10 cP kitosan kullanılarak hazırlanan polimerlerin FTIR spektrumlarının karşılaştırılması.....	77

Şekil 4-11: Tizanidin hidroklorür, kitosan azelat (7 cP) ve (1:1) oranındaki karışımlarının spektrumları.....	77
Şekil 4-12: Tizanidin hidroklorür, kitosan azelat (10 cP) ve (1:1) oranındaki karışımlarının spektrumları.....	78
Şekil 4-13: Tizanidin hidroklorür, kitosan klorür (7 cP) ve (1:1) oranındaki karışımlarının spektrumları.....	78
Şekil 4-14: Tizanidin hidroklorür, kitosan klorür (10 cP) ve (1:1) oranındaki karışımlarının spektrumları.....	79
Şekil 4-15: Tizanidin hidroklorür, kitosan glutamat (7 cP) ve (1:1) oranındaki karışımlarının spektrumları.....	79
Şekil 4-16: Tizanidin hidroklorür, kitosan glutamat (10 cP) ve (1:1) oranındaki karışımlarının spektrumları.....	80
Şekil 4-17: Tizanidin hidroklorür, etil selüloz ve (1:1) oranındaki karışımlarının spektrumları	80
Şekil 4-18: Tizanidin hidroklorür, magnezyum stearat ve (1:1) oranındaki karışımlarının spektrumları	81
Şekil 4-19: 6 cm'lik petri kabında hazırlanan yamanın genel görünümü.....	81
Şekil 4-20: A10-33 formülasyonunun iki saatlik şişme sonucu görünümü (1: 1*1 cm ² boyutundaki yama; 2: İki saat şişen yama)	86
Şekil 4-21: Yama formülasyonlarının % şişme – zaman grafiği.....	87
Şekil 4-22: Farklı konsantrasyonda polimer içeren kitosan azelat (7 cP) yamalarının esneklik ve gerilme direnci profillerinin karşılaştırılması	89
Şekil 4-23: % 2 polimer ve farklı konsantrasyonda plastizer içeren kitosan klorür (10 cP) yamalarının esneklik ve gerilme direnci profillerinin karşılaştırılması.....	90
Şekil 4-24: % 3 polimer ve farklı konsantrasyonda plastizer içeren kitosan azelat (10 cP) yamalarının esneklik ve gerilme direnci profillerinin karşılaştırılması	90
Şekil 4-25: % 3 polimer ve % 3 plastizer içeren, kitosanın farklı türevleri (10 cP) ile hazırlanan yamaların esneklik ve gerilme direnci profillerinin karşılaştırılması	91
Şekil 4-26: A7-43'ün etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması.....	92
Şekil 4-27: A10-33'ün etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması.....	92

Şekil 4-28: C7-43'ün etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması.....	93
Şekil 4-29: C10-43'ün etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması.....	93
Şekil 4-30: G7-43'ün etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması.....	94
Şekil 4-31: G10-43'ün etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması.....	94
Şekil 4-32: Çift katlı tablet formülasyonları (1: <i>Tabletin etken madde içeren kısmının görüntüsü</i> ; 2: <i>Etil selüloz tabakasının görüntüsü</i> ; 3: <i>Tabletin yandan görüntüsü</i>)	95
Şekil 4-33: Tablet formülasyonlarının şişme yüzdelерinin 6 saat boyunca değişimi	97
Şekil 4-34: TA-7'nin etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması.....	98
Şekil 4-35: TA-10'un etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması.....	98
Şekil 4-36: TC-7'nin etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması.....	99
Şekil 4-37: TC-10'un etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması.....	99
Şekil 4-38: TG-7'nin etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması.....	100
Şekil 4-39: TG-10'un etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması.....	100
Şekil 4-40: TG-10 formülasyonunun biyoadezyon çalışmasına ait grafik	101
Şekil 4-41: Tablet formülasyonlarının biyoadezif profillerinin karşılaştırılması	102
Şekil 4-42: İdeal yama formülasyonlarının <i>in vitro</i> salım profilleri	103
Şekil 4-43: Bukkal tablet formülasyonlarının <i>in vitro</i> salım profilleri	103
Şekil 4-44: 24 saat sonunda yama ve tabletlerin görüntüsü (a: <i>A10-33 yama formülasyonunun görüntüsü</i> ; b: <i>TG-10 tablet formülasyonunun Franz hücresi içindeki görüntüsü</i> ; c: <i>TG-10 tablet formülasyonunun görüntüsü</i>).....	105
Şekil 4-45: İdeal formülasyonların <i>ex vivo</i> permeabilite çalışmalarında zamana göre cm^2 'den geçiş miktarları	106

Şekil 4-46: İdeal formülasyonların <i>ex vivo</i> permeabilite çalışmalarında birim zamanda cm^2 'den geçiş miktarları	106
Şekil 4-47: Tizanidin hidroklorürün HPLC spektrumu	108
Şekil 4-48: Tizanidin hidroklorürün kalibrasyon grafiği.....	108
Şekil 4-49: İlaç uygulanmayan kan plazmasının spektrumu	111
Şekil 4-50: A10-33 formülasyonunun spektrumu	112
Şekil 4-51: TC-10 formülasyonunun spektrumu	112
Şekil 4-52: TG-10 formülasyonunun spektrumu	112
Şekil 4-53: Yama, tabletler ve müstahzara ait 8 saatlik kan konsantrasyonu-zaman grafiği.....	114
Şekil 4-54: Yama, tabletler ve müstahzara ait 24 saatlik kan konsantrasyonu-zaman grafiği.....	115
Şekil 4-55: Yama, tabletler ve müstahzarın 8. saat sonundaki AUC değerleri (AUC_{0-8})	115

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

A	Kitosan azelat yama
AFM	Atomik floresans mikroskobu
AUC	Area under a curve (eğri altında kalan alan)
C	Kitosan klorür yama
cm	Santimetre
CMC	Karboksi metil selüloz
cP	Centipoise
CYP 450	Sitokrom 450
Da	Dalton
dk	Dakika
EDAC	1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimid
FTIR	Frouier Transmission Infrared
g	Gram
G	Kitosan glutamat yama
h	Gecikme zamanı (lag time)
HEC	Hidroksi etil selüloz
HPC	Hidroksi propil selüloz
HPMC	Hidroksi propil metil selüloz
J _{ss}	Denge durumu (steady state)
K	Konsantrasyon
K ₂₄	24 saat sonunda cm ² 'den geçen toplam ilaç miktarı
K ₈	8 saat sonunda cm ² 'den geçen toplam ilaç miktarı
km	Kafi miktar
K _n	Nominal (sözde/teorik) konsantrasyon değeri
K _ö	Ölçülen konsantrasyon değeri
LOD	Limit of detection (Teşhis sınırı)
LOQ	Limit of quantification (Tayin sınırı)
M	Molarite

MC	Metil selüloz
MCG	Membrane coating granule (Membran kaplama granülleri)
MDa	Megadalton
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
M _t	Müstahzar, tizanidin hidroklorürün piyasa preparatı
N	Newton
Na CMC	Sodyum karboksi metil selüloz
nm	Nanometre
NMDA	N-metil D-aspartat
Ort.	Ortalama
P	Permeabilite katsayısı
P.K.	Pratik konsantrasyon
PAA	Poliakrilik asit
PEG- <i>b</i> -PLA	Polietilen glikol metil eter polilaktat kopolimeri
PVA	Polivinil alkol
PVP	Polivinil pirolidon
r ²	Determinasyon katsayısı
Seramid NS	Seramid N-stearoil sfingozin
SS	Standart sapma
TA	Kitosan azelat tablet
TC	Kitosan klorür tablet
TG	Kitosan glutamat tablet
TZN HCl	Tizanidin hidroklorür
VK	Varyasyon katsayısı

ÖZET

Arpa, M.D. (2018). Kitosan Bazlı Bukkal Biyoadezif İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Geliştirilmesi ve *In Vitro-In Vivo* Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Bu çalışmanın amacı düşük biyoyararlanım (% 30-40) ve kısa yarılanma ömrüne (2,5 saat) sahip tizanidin hidroklorürün bukkal biyoadezif formülasyonlarının geliştirilmesidir. Böylelikle etken maddenin biyoyararlanımının artırılarak günlük uygulama sayısı ya da dozunun düşürülmesi hedeflenmiştir. Çalışmada düşük molekül ağırlığına sahip kitosanlar (7 cP ve 10 cP) kullanılarak kitosan azelat, kitosan klorür ve kitosan glutamat polimerleri sentezlenmiştir. Kitosan polimerleri ve plastizer olarak gliserin kullanımıyla yama formülasyonları hazırlanmıştır. Tablet formülasyonları ise etil selüloz kullanılarak çift tabakalı olarak tasarlanmıştır. Bukkal yama ve tablet formülasyonlarının ağırlık tekdüzeliği, kalınlık, pH, şişme yüzdesi, içerik tekdüzeliği gibi fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Yapılan fizikokimyasal analizler neticesinde ideal yama ve tablet formülasyonlarının *in vitro* salım ve biyoadezyon çalışmaları yapılmıştır. Yamaların 30 dakika içindeki salım yüzdeleri % 90-100 iken, tabletlerin 8 saat sonundaki salım yüzdeleri % 70,98-98,93 arasında değişmiştir. Yamaların biyoadezif özellikleri birbirine çok yakın olup tabletlere göre oldukça düşük çıkmıştır. TG-10, $7,526 \pm 0,726 \text{ mJ/cm}^2$ ve $3,159 \pm 0,726 \text{ N/cm}^2$ değerleri ile en yüksek biyoadezif özellik gösteren tablet olmuştur. *Ex vivo* permeabilite çalışmaları inek bukkal dokusu kullanılarak Franz Difüzyon Hücre Sistemi'nde gerçekleştirilmiştir. Yama formülasyonları (G10-43 ve A10-33) 24 saat sonunda tablet formülasyonlarına göre daha ince yapıda oldukları için daha yüksek geçiş göstermiştir. Yapılan tüm çalışmalar neticesinde A10-33 yama, TC-10 ve TG-10 tablet formülasyonlarının Yeni Zelanda tavşanları (2,5-3 kg, n=5) kullanılarak *in vivo* çalışmaları yapılmıştır. *In vivo* çalışmaları neticesinde bukkal yama ve tablet formülasyonları A10-33, TC-10 ve TG-10 sırasıyla 740,66; 765,97 ve 718,00 ng.saat/mL AUC_{0-8} değerleri ile piyasa preparatına (AUC_{0-8}) göre yaklaşık 3 kat biyoyararlanım göstermiştir.

Anahtar Kelimeler : Biyoadezyon, Bukkal Tablet, Bukkal Yama, Kitosan, Tizanidin hidroklorür

ABSTRACT

Arpa, M.D. (2018). Development and *In vitro-In vivo* Evaluation of Chitosan Based Buccal Bioadhesive Drug Delivery Systems. İstanbul University, Institute of Health Science, Pharmaceutical Technology Department. Doctoral Thesis. İstanbul.

The aim of this study is to develop buccal bioadhesive formulations of tizanidine hydrochloride, which has low bioavailability (30-40%) and short half-life (2.5 h). Thus, it has been aimed to increase the bioavailability of active substance, to reduce the number of daily administrations or dose. In the study, chitosan azelate, chitosan chloride and chitosan glutamate polymers were synthesized by using low viscosity chitosan (7 cP and 10 cP). Patches were prepared using chitosan polymers and glycerin as plasticizer. Tablets were designed as bilayered by using ethyl cellulose. Physicochemical properties of buccal patches and tablets such as weight uniformity, thickness, pH, swelling percentage, content uniformity were investigated. *In vitro* release and bioadhesion studies of ideal patches and tablets were studied. The release percentages of patches within 30 minutes were 90-100%, while the tablets were 70.98-98.93% at the end of 8 hours. The bioadhesive properties of patches were very close to each other and were significantly lower than tablets. TG-10 showed the highest bioadhesive property with $7.526 \pm 0.726 \text{ mJ/cm}^2$ and $3.159 \pm 0.726 \text{ N/cm}^2$. *Ex vivo* permeability studies were performed on Franz Diffusion Cell System using bovine buccal tissue. Patches (G10-43, A10-33) showed a higher permeability after 24 hours, because they are thinner than tablets. *In vivo* studies were carried out using New Zealand rabbits (2.5-3 kg, n = 5). *In vivo* studies showed that buccal patch and tablet formulations A10-33, TC-10 and TG-10 were 740.66; 765.97 and 718.00 ng.h/mL AUC_{0-8} and about 3-fold bioavailability compared to the marketed product (AUC_{0-8}).

Key Words: Bioadhesion, Buccal patch, Buccal tablet, Chitosan, Tizanidine hydrochloride

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Biyoadezif ilaç taşıyıcı sistemler, kontrollü salım sağlayan modern farmasötik sistemlerdir. İlacın uygulandığı bölgedeki kalış süresini artırarak etki süresinin ve biyoyararlanımının artırılmasını, ayrıca yan etkilerinin azaltılmasını sağlayabilmektedir. İlacın uygulandığı bölgede kalış süresinin artırılması ile kontrollü salım sağlayan bu sistemlerin rektal, vajinal, bukkal, oral olmak üzere çeşitli yollardan uygulanmaları ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Mukozaya yapışarak etki gösterdikleri için bu sistemlere mukoadezif sistemler de denilmektedir.

Bukkal yol, uzun yıllardır uygulanan, girişimsel olmayan ve oral uygulamaya göre etken maddenin gastrointestinal parçalanma ve hepatik ilk geçiş etkisinden kurtulması gibi önemli avantajlar sağlayan bir uygulama yoludur. İlacın ilk geçiş etkisinden kurtularak daha yüksek biyoyararlanım göstermesi bukkal yolun en önemli avantajlarından birisi olarak bilinmektedir. Ayrıca bukkal bölge özellikle uygulama kolaylığı ve uygulandığı bölgeden kolayca uzaklaştırılabilme gibi avantajlarından dolayı diğer mukozal bölgelere nazaran (vajinal, rektal vb.) yüksek hasta uyuncu sağlamaktadır.

Tablet, jel ve yama gibi ilaç taşıyıcı sistemler bukkal biyoadezif sistem olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır. Etken maddelerin mukozaya yapışmasını sağlayan, dolayısıyla bukkal bölgede kalış süresini artıran polimerler kullanılarak bu sistemler daha da geliştirilmektedir. Absorpsiyon artırıcı biyoadezif polimerler kullanılarak ilacın bukkal bölgede kalış süresi ile beraber mukozadan geçişinin de artırıldığı bilinmektedir. Doğal bir polisakkarit olan kitosan; katyonik yapıda, biyouyumlu, düşük toksisiteye sahip ve biyoparçalanabilir olması sebebiyle son yıllarda sıklıkla ilaç endüstrisinde kullanılmaktadır. Mukozaya yapışabilme, hücreler arası lipid organizasyonunu yeniden düzenleyebilme yeteneği ve bukkal permeabilityyi artırıcı özellikleri sebebiyle kitosan, bu çalışmada kullanılacak biyoadezif polimer olarak belirlenmiştir.

Tizanidin hidroklorür imidazolin türevi, α -2 adrenerjik reseptör agonisti olarak iskelet kasları üzerine monolitik etkili bir maddedir. Ağrılı kas spazmları, nörolojik bozukluklara bağlı spastisite gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılan tizanidin hidroklorürün tek dozdaki kullanımı 2 – 4 mg olup günlük kullanımının 36 mg'ı geçmemesi gerekmektedir. Tizanidin hidroklorürün oral biyoyararlanımı % 30 – 40

civarında olup yarılanma ömrü 2,5 saattir. Karaciğerde ilacın çok hızlı ve aşırı şekilde ilk geçiş etkisine uğraması nedeniyle oral biyoyararlanımı çok düşük seviyelerde kalmaktadır. Suda kolay çözünebilen tizanidin hidroklorür ile ilgili bu problemlerin üstesinden gelebilmek amacıyla bukkal biyoadezif yama ve tablet formülasyonlarının tasarlanması ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Geçmiş yıllarda tablet, yama, jel ve mikropartiküler sistemler başta olmak üzere katı ve yarı-katı halde pek çok farklı ilaç şekli bukkal olarak uygulanmakla birlikte, üzerinde en sık çalışılan bukkal formülasyonlar yama ve tabletlerdir. Uygulanacak ilaç şeklinin ağız içinin yapısına uygun özellikler göstermesi, özellikle küçük boyut ve uygun geometrik yapıda olması gerekmektedir. Bukkal tablet ve yama formülasyonları, uygulanan bölgede istenen süre boyunca yapışarak kalmaları sebebiyle, özellikle yarı-katı bukkal formülasyonlara göre etken maddenin kontrollü salımı açısından önemli avantajlar sağlamaktadır. Ayrıca bukkal biyoadezif yamalar, küçük boyutta ve ince özellikte olmaları sebebiyle yüksek hasta uyuncu göstermektedir. Bukkal tabletler ise küçük yapıları sebebiyle geleneksel tabletlere göre hastanın konuşma veya bir şeyler yeme içme esnasında rahatsız olmasını engelleyecek boyutta olmalarından dolayı tercih edilmektedir.

Bu çalışma kapsamında bukkal yolla uygulanan yama ve tablet formülasyonları hazırlanarak, geliştirilen bu formülasyonların fizikokimyasal özellikleri ile ilgili çalışmalar yapılacaktır. Hazırlanacak formülasyonların biyoadezif özellikleri değerlendirilip *in vitro* salım çalışmaları ve bukkal mukozadan geçişi ise Franz Difüzyon Hücre Sistemi ile *ex vivo* olarak değerlendirilecektir. *In vivo* çalışmalarda ise Yeni Zelanda tavşanları kullanılarak ideal yama ve tablet formülasyonları uygulandıktan sonra ilacın kan konsantrasyon değerleri belirlenecektir.

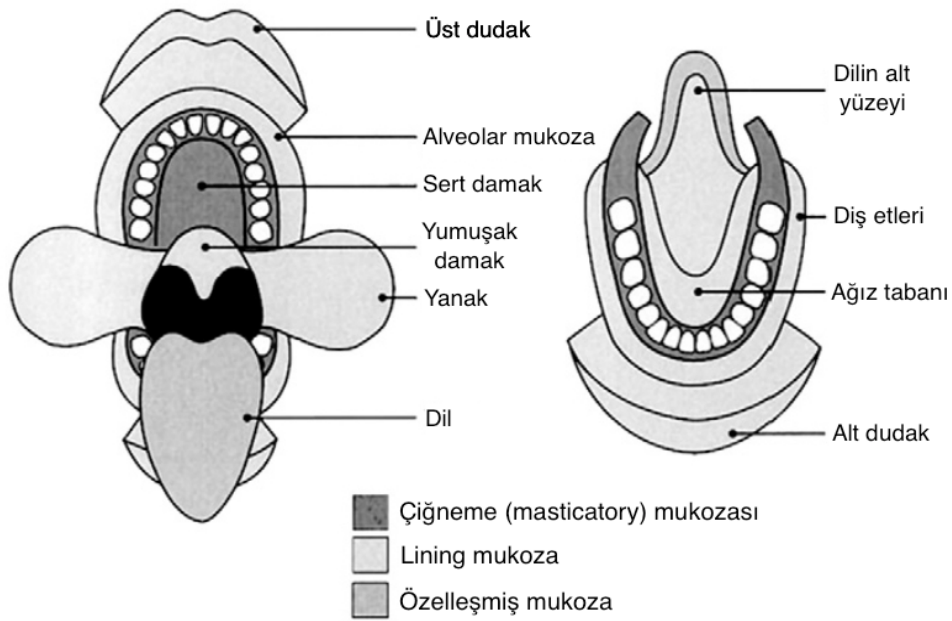
Çalışmanın amacı, düşük molekül ağırlıklı/düşük viskoziteli kitosan tuzları/türevleri kullanarak bukkal biyoadezif yama ve tablet formülasyonları hazırlayıp oral biyoyararlanımı düşük tizanidin hidroklorürün etkinliğini artırmaktır. Dolayısıyla ilacın günlük uygulama sayısı ya da dozu düşürülerek hastanın daha nitelikli etki ile yaşam kalitesi seviyesini yükseltmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Oral Mukoza

2.1.1. Oral Mukozanın Anatomi ve Fizyolojisi

Ağız içi; Şekil 2-1’de görüldüğü gibi dudaklar, yanak, dil, sert damak, yumuşak damak ve ağız tabanı bölümlerinden oluşmaktadır. Ağız boşluğu mukozası olarak ifade edilen bölge; bukkal mukoza, dilaltı (sublingual), diş etleri (gingival), damak (palatal) ve dudak (labial) mukozasının tamamını ifade etmektedir (Patel ve ark., 2011).



Şekil 2-1: Ağız içinin şematik görünümü (Patel ve ark., 2011)

Zengin damarlanma ağına sahip olan oral mukozanın toplam alanı yaklaşık 200 cm²’dir (Lam ve ark., 2014; Paderni ve ark., 2012). İnsan oral mukozası epitel doku, bazal membran ve alt mukoza (submukoza) olmak üzere üç temel tabakadan oluşmaktadır (Hoogstraate, 2005; Salamat-Miller ve ark., 2005).

Altındaki dokular açısından mikroorganizmalara ve zararlı tehditlere karşı koruyucu bir tabaka olan epitel tabaka ağız içi bölgede non-keratinize ve keratinize yapıdadır (Lam ve ark., 2014; Salamat-Miller ve ark., 2005). Yumuşak damağın

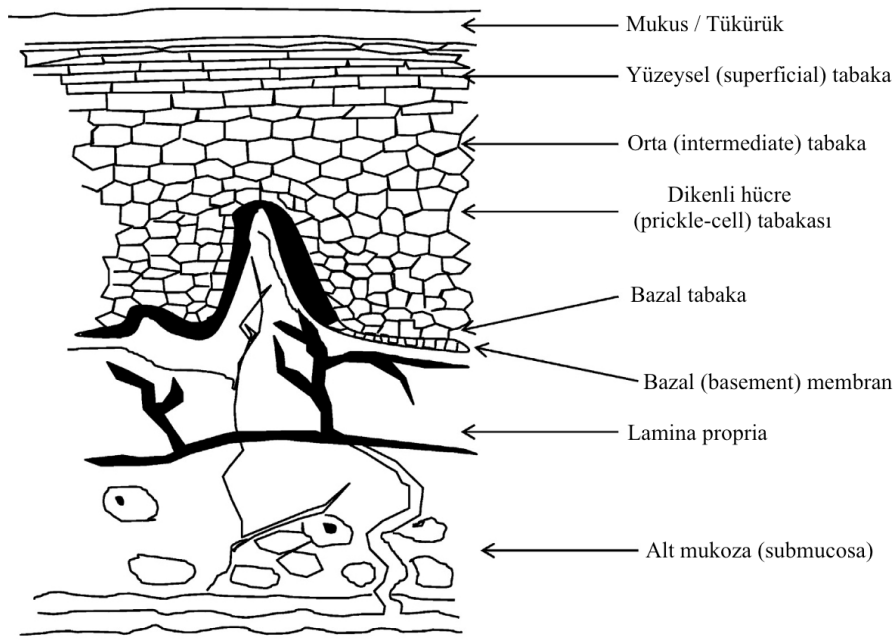
mukozal dizisi, dilin ventral yüzeyi, ağzın tabanı, alveolar mukoza, vestibül, dilaltı, dudaklar ve yanaklar non-keratinize yapıdayken; sert damak ve oral bölgenin esnek olmayan kısımları (gingiva) keratinize yapıdan oluşmaktadır (Patel ve ark., 2011; Salamat-Miller ve ark., 2005). Keratinize epitel, bariyer fonksiyonu ile ilişkilendirilen seramidler ve açıl-seramidler içermektedir (Patel ve ark., 2011).

Oral kavite farklı yapılarından dolayı çiğneme-masticatory mukoza (gingiva, sert damak), özelleşmiş mukoza (dilinde dorsumu) ve lining mukoza olmak üzere üç ana başlık altında incelenebilmektedir (Paderni ve ark., 2012). Lining mukoza oral mukozanın % 60'ını oluşturan non-keratinize yapıdaki bukkal ve sublingual bölgeden oluşmaktadır (Lam ve ark., 2014). Çiğneme mukozası ve özelleşmiş mukoza ise oral kavitenin sırasıyla % 25 ve % 15'ini kaplamaktadır (Lam ve ark., 2014; Paderni ve ark., 2012). Çiğneme mukozası non-keratinize epitelten oluşurken, özelleşmiş mukoza ise keratinize ve non-keratinize yapılarda çeşitli bölgelerde yer almaktadır (Lam ve ark., 2014). Oral mukozanın bu farklılaşmış yapısı ilaç geçişini de etkilemektedir (Lam ve ark., 2014).

2.1.1.1. Bukkal Mukozanın Anatomi ve Fizyolojisi

Bukkal mukoza yaklaşık 100 cm²'lik bir yüzey alanına sahip olup yanaklar, diş etleri, alt ve üst dudaklardan oluşmaktadır (Sattar ve ark., 2014; Sudhakar ve ark., 2006). Başlıca fonksiyonu; altındaki tabakaları yabancı maddelere karşı korumak olan bukkal mukoza, Şekil 2-2'de görüldüğü gibi dıştan içe doğru epitel tabaka, bazal membran, lamina propria ve altmukozadan oluşmaktadır (Sattar ve ark., 2014).

40 – 50 sıra epitel hücreden oluşan epitel tabakanın bukkal mukozadaki kalınlığı 500 – 600 µm arasındadır (Sattar ve ark., 2014; Sudhakar ve ark., 2006). Bukkal epitelde tight junction-sıkı birleşim noktaları nazal veya mide mukozasının aksine bulunmamaktadır, dolayısıyla hücreler arası bağlantılar daha gevşektir (Rossi ve ark., 2005; Sandri ve ark., 2006). Non-keratinize yapıdaki bukkal epitel bazal membranın üstünden itibaren dikenli (prickle), orta (intermediate) ve yüzeysel (supreficial) olmak üzere üç farklı morfolojik tabakaya ayrılmıştır (Rossi ve ark., 2005; Sattar ve ark., 2014). Bu tabakaların yani bukkal epitelin kendini yenileme süresi 5 – 7 gün arasında gerçekleşmektedir (Sattar ve ark., 2014).



Şekil 2-2: Bukkal mukozanın yapısı (Sattar ve ark., 2014)

Dikenli hücre tabakasında membran kaplama granülleri (membrane coating granule = MCG), bukkal mukozada geçirgenliği etkileyen önemli bir bariyerdir (Salamat-Miller ve ark., 2005; Sattar ve ark., 2014). Bu granüller plazma membranını eriterek bukkal epitelde hücreler arası boşluğa yüksek oranda fosfolipid düşük miktarda seramid içeren lipid içeriklerini atmaktadır. Bukkal dokunun lipid içeriği ise % 76,3 fosfolipidler, % 23 glikosfingolipid ve % 0,72 seramid NS (N-stearoil sfingozin)'den oluşmaktadır (Sudhakar ve ark., 2006).

Epitel dokunun altındaki ilk tabaka olan 1–2 μm kalınlığındaki bazal membranın mukozanın bariyer özelliklerine katkı sağladığı düşünülmektedir. İlaç geçişinde önemli bir etkisi olmayan lamina propria yumuşak kaslarla kolajen fibrinler ve hidrate-gevşek bağ dokudan oluşmaktadır (Sattar ve ark., 2014). Ayrıca lamina propria internal juguler vene açılan kapillerleri ve kan damarlarını içermektedir (Sudhakar ve ark., 2006). Bu damarlar aracılığı ile bukkal mukozaya kan akış hızı $2,4 \text{ mL/dk} \cdot \text{cm}^2$ 'dir. Lamina propria'nın altında yer alan altmukoza ise daha yoğun bir bağ dokudan oluşmaktadır (Sattar ve ark., 2014).

2.1.2. Tükürük

Tükürük; parotid (% 40), submandibular (% 40), sublingual (% 10) bezlerden ve submukozadaki minör tükürük bezlerinden (% 10) salgılanan viskoelastik yapıda bir sıvıdır (Lam ve ark., 2014; Sattar ve ark., 2014). Bir kaydırıcı gibi işlev gören tükürük, besinlerin çiğnenmesine yardımcı olurken, dişlerin demineralizasyonunu önlemektedir. Ayrıca karbonhidratların metabolize edilmesine katkı sunarken, oral floranın gelişimini de modüle etmektedir (Sattar ve ark., 2014). Bir bezde küçük kese benzeri boşluk şeklinde asiner hücreler dizilmiş olup bunlar ilk tükürüğü salgılamaktadır. Bu ilk salgı/tükürük plazmadakine benzer iyon konsantrasyonunda ve bileşiminde olup izotonik plazma benzeri çözelti şeklindedir (Lam ve ark., 2014).

Tükürüğün başlıca bileşenleri mukus, proteinler, mineral tuzlar ve enzimlerdir. Zayıf bir tampon olan tükürüğün pH'sı iyonik kompozisyon ve tükürüğün salgı/akış hızı ile değişmekle birlikte bu değer 5,5 – 7 arasında değişmektedir (Sattar ve ark., 2014). Tükürüğün içerisinde α -amilaz, lingual lipaz, kallikrein gibi çeşitli enzimler; IgA, IgG ve IgM gibi immünoglobulinler bulunmaktadır. Buradaki enzimler besinlerin sindirilmesinde ilk görev yapıcılar olarak görülmektedir (Lam ve ark., 2014).

Normal bir insanda tükürük akış hızı 0,5 mL/dk şeklinde olup günlük salgı miktarı 0,5–2 litre arasında değişmektedir. Ancak devamlı bir akıştan ötürü ağız içerisinde sabit tükürük hacmi yaklaşık 1,1 mL'dir (Sattar ve ark., 2014). Devamlı bir döngü içerisinde olması sebebiyle tükürüğün akış hızı ve pH değeri oral transmukozal olarak uygulanan ilaçların absorpsiyonunu önemli oranda etkilemektedir (Lam ve ark., 2014).

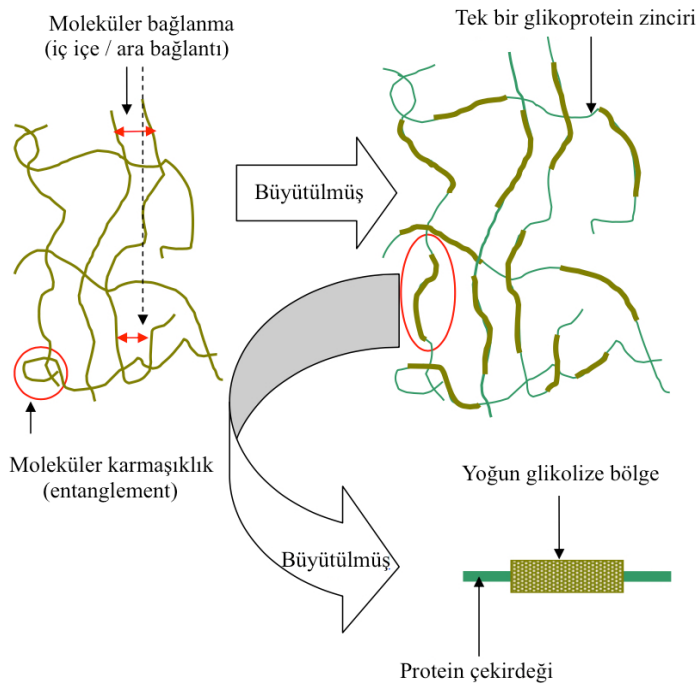
2.1.3. Mukus

Major ve minör tükürük bezlerinden salgılanan mukus, oral transmukozal ilaç salımında önemli bir bariyerdur (Sattar ve ark., 2014; Lam ve ark., 2014). Oral mukozanın farklı bölgelerinde 40–300 μ m arasında değişen kalınlığı ile epitel hücrelerin yüzeyini kaplayarak besinler, parazitler ve bakterilerin difüzyonu için de önemli bir geçiş önleyici unsur olarak görev yapmaktadır (Cook ve Khutoryanskiy, 2015; Sudhakar ve ark., 2006).

Mukusun yapısında % 95'e kadar su, % 5'e kadar müsin (glikoproteinler), % 1'e kadar mineral tuzlar, az miktarda karbonhidrat ve lipit bulunmaktadır (Cook ve Khutoryanskiy, 2015; Çapan, 2002). Mukusun esas bileşeni yüksek molekül ağırlığına

(0,5 – 20 MDa) sahip amfoterik bir makromolekül olan glikoproteinik yapıdaki müsindir (Çapan, 2002; Lam ve ark., 2014; Sattar ve ark., 2014).

Goblet hücrelerinden salgılanan müsın, Şekil 2-3'te görüldüğü gibi bir protein çekirdeğine bağlanmış oligosakkarit yan zincirinin glikolize olmuş ve genişlemiş proteinik bir yapıdır (Serra ve ark., 2009; Sudhakar ve ark., 2006). Bu oligosakkarit yan zincirleri L-fukoz, D-galaktoz, N-asetil-D-glukozamin, N-asetil-D-galaktozamin ve sialik asit olmak üzere ortalama beş farklı tipte 8 – 10 monosakkarit kalıntısı içermektedir (Sudhakar ve ark., 2006). Oligosakkarit yan zincirleri biyoadezyon açısından hidrojen bağlama ve sialik asidin fonksiyonel olarak karboksilik asit ile elektrostatik etkileşimi açısından önemli bir potansiyele sahiptir (Cook ve Khutoryanskiy, 2015).



Şekil 2-3: Mukus içindeki glikoprotein zincirlerinin etkileşimi (Andrews ve ark., 2009)

Yaklaşık % 70 – 80 karbonhidrat, % 15 – 20 protein ve % 5'e kadar sülfat esterlerinden oluşan müsın, yapısında bulunan sülfat ve sialik asit artıklarından dolayı negatif yüklüdür (Lam ve ark., 2014; Sattar ve ark., 2014; Sudhakar ve ark., 2006). Bu negatif yük, müsının jelatinimsi bir tabaka oluşturarak epitel hücrelerin yüzeyine

yapışmasını sağlamaktadır (Lam ve ark., 2014; Sattar ve ark., 2014). Ayrıca bu negatif yük, mukusun pH'sının oral bölgede 5,8 – 7,4 arasında olmasına sebep olmaktadır (Sudhakar ve ark., 2006). Ayrıca mündeki asidik grupların pK_a değeri 1 – 2,6 arasında değişmektedir (Cook ve Khutoryanskiy, 2015).

Mukus, oral transmukozal ilaç salımında bir bariyer görevi üstlenirken biyoadeziv ilaç taşıyıcı sistemler için ise çok kritik bir öneme sahip olmaktadır (Çapan, 2002; Lam ve ark., 2014). Mukus glikoproteinleri çeşitli polimerler ve yardımcı maddeler için kompleks oluşturarak, ilacın ilgili bölgedeki kalış süresini artırmada büyük rol oynamaktadır (Lam ve ark., 2014).

2.1.4. Bukkal Mukozadan İlaç Uygulanması

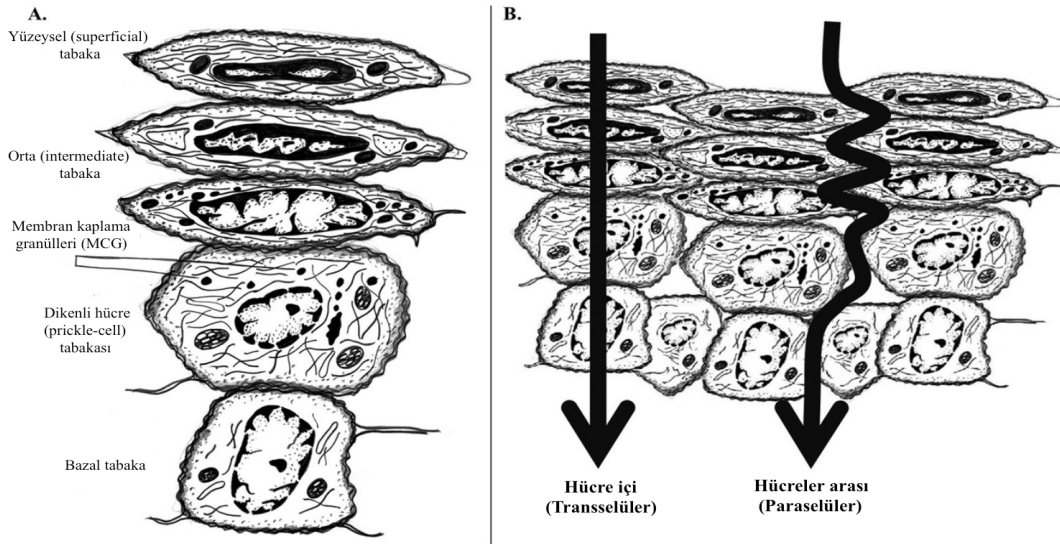
2.1.4.1. Bukkal Mukozadan İlaç Geçiş ve Mukozanın Bariyer Özellikleri

Bukkal mukozadan geçiş; pasif difüzyon, endositoz ve taşıyıcı aracılı transport olmak üzere üç ana mekanizma ile olmaktadır (Paderni ve ark., 2012). Non-keratinize epitel yapıda olan bukkal epitelden moleküllerin geçişi genellikle pasif difüzyonla olup Şekil 2-4'te gösterildiği gibi interselüler (paraselüler) ya da transselüler (intraselüler) olarak gerçekleşmektedir (Madhav ve ark., 2009; Sudhakar ve ark., 2006; Şenel ve Hıncal, 2001). Paraselüler yol, moleküllerin hücreler arası yoldan geçişi; transselüler yol ise moleküllerin hücre membranından geçişi olarak ifade edilmektedir (Madhav ve ark., 2009; Rossi ve ark., 2005).

Paraselüler boşluğun polar yapısı, daha dolambaçlı ve daha uzun bir yol olmasına rağmen hidrofilik moleküllerin kolayca geçişini sağlamaktadır. Makromoleküllerin paraselüler yoldan geçişini sağlayabilmek için iki alternatif yol önerilmektedir. İlk yol olarak lipid yapıdaki çift tabakadan daha hidrofobik geçiş yolu, ikincisi ise fosfolipidlerin polar yapıdaki baş gruplarının yakınındaki sulu bölgelerle kompleks oluşturma neticesinde daha hidrofilik yol bulunmaktadır. İlaçların fizikokimyasal özellikleri, geçişi etkilemekle birlikte hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaçlar için iki yolun kombine olabilmesi de çeşitli mekanizmalarla mümkün olabilmektedir (Morales ve McConville, 2014).

Hücre membranının lipofilik yapısından dolayı ilaçların transselüler geçişi için yüksek log P değeri göstermeleri gerekmektedir. Transselüler geçiş için ilacın molekül büyüklüğü-ağırlığı, lipofilitesi, yükü, hidrojen bağlama kapasitesi büyük önem arz

etmektedir. Bu yüzden peptitlerin bukkal mukozadan geçişinde, pasif difüzyonla paraselüler yoldan geçiş önerilmektedir (Morales McConville, 2014). Ancak peptit gibi polar moleküllerin paraselüler yoldan geçişini etkileyen bazal membran ve MCG bariyerleri bulunmaktadır (Madhav ve ark., 2009).



Şekil 2-4: Bukkal mukozadan geçiş yolları (Paderni ve ark., 2012)

MCG'ler 100 – 300 nm çapında küresel yapıda organeller olup hem keratinize hem de non-keratinize epitelde bulunmaktadır. MCG'lerin fonksiyonları ile ilgili membranı kalınlaştırma, hücre adezyonu, hücre deskumasyonu, permeabilite bariyeri gibi pek çok hipotez bulunmaktadır (Patel ve ark., 2011). MCG'ler, hücreler arası lipit artıklarını boşalttığı için paraselüler yoldan geçişte önemli bir bariyerdir. MCG'leri olmayan kültürü yapılmış bukkal epitelin normal bukkal epitelden geçemeyen moleküller için daha geçirgen olduğu görülmüştür (Chinna ve ark., 2011).

Yabancı maddelerin bukkal epitelden geçmesindeki başlıca bariyer yüzeysel (supreficial) tabaka olmasına rağmen, epitel ile bağ doku arasındaki birleştirici unsur olması sebebiyle bazal membranın da geçişte sınırlayıcı bir rol oynadığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu etkiyi ters yönde de göstermektedir. Bazal membranın bileşenlerinin yükü, yüzeysel tabakayı nispeten kolay bir şekilde geçen lipofilik moleküllerin geçiş oranını da sınırlayabilmektedir (Sudhakar ve ark., 2006).

İlacın sistemik dolaşıma ulaşabilmesi için enzimatik bariyerleri aşması gerekmektedir (Rossi ve ark., 2005). Çünkü tükürükte pek çok proteolitik enzim bulunmaktadır (Chinna ve ark., 2011). Ancak bu enzimlerin etkinlikleri gastrointestinal sistemdeki kadar yüksek değildir. Ancak aminopeptidaz gibi enzimlerin peptit yapılı ilaçların bukkal yoldan verilmesinde problem oluşturabileceği sonucuna varılmıştır (Chinna ve ark., 2011; Rossi ve ark., 2005).

Bukkal mukozanın pH'sında meydana gelen artış ve azalış da absorpsiyonu etkileyen önemli faktörlerdendir. Özellikle zayıf asitler ve zayıf bazlar pH'ya bağlı iyonizasyon gösterdikleri için absorpsiyonları pH değişiminden daha çabuk etkilenmektedir. Ayrıca tükürük akış hızı da pH'yı ve ilacın bukkal bölgede kalışını etkilediği için bukkal absorpsiyonu etkilemektedir (Lam ve ark., 2014; Sudhakar ve ark., 2006).

2.1.4.2. Bukkal Yoldan İlaç Uygulanmasının Avantajları ve Dezavantajları

Özellikle peptit ve protein yapılı ilaçlar olmak üzere pek çok ilacın bukkal yoldan verilmesi için çalışmalar yapılmıştır (Şenel ve Hıncal, 2001). Bukkal yoldan ilaç uygulanmasının avantajları aşağıdaki şekilde sıralanabilir:

- İlacın uygulanması hızlı ve direkt olarak gerçekleştirilir
- Hem lokal hem sistemik etki için uygundur
- İlaçlar gastrointestinal sistem enzimlerinin aktivitesine maruz kalmaz
- Hasta, ilacı kendi başına kolayca uygulayabilir veya uzaklaştırabilir
- Genel olarak rektal ve vajinal yola göre hasta uyuncu daha yüksektir
- İlaç karaciğer ilk geçiş etkisine uğramadan sistemik dolaşıma katılır
- Diğer mukozalara göre enzim aktivitesi düşüktür
- Sistemik biyoyararlanım için yüksek kan akışı gösterir
- Deriye göre daha geçirgen bir yapıya sahiptir (Abruzzo ve ark., 2012; Çapan, 2002; Kumria ve ark., 2016; Nair ve ark., 2013; Patel ve ark., 2011; Salamat-Miller ve ark., 2005).

Bukkal yoldan ilaç uygulamasının pek çok avantajı olmakla birlikte bazı dezavantajları da bulunmaktadır:

- Oral bölgede sublingual mukozaya göre daha az geçirgindir
- İlaç uygulama alanı küçüktür (50 – 100 cm²)
- Yeme, içme ve yutma fonksiyonları ilacın kalış süresini kısıtlar
- Devamlı bir tükürük salgısı bulunur
- Sadece düşük dozdaki ilaçlar için uygundur (≤ 25 mg)
- Hasta uyuncu açısından ilaç küçük (1 – 3 cm²) ve ince olmalıdır (Patel ve ark., 2012; Salamat-Miller ve ark., 2005; Sudhakar ve ark., 2006).

Bukkal yoldan ilaç uygulaması ile ilgili pek çok çalışma yapılmasına rağmen günümüzde sadece birkaç ticari formülasyon geliştirilebilmiştir. Bu durum, zaman alıcı ve pahalı klinik araştırmalardan önce uygulanması gereken *in vitro* ve *in vivo* teknikler ile ilgili standardize metodoloji ve rehberlerin eksikliğinden kaynaklanmaktadır (Patel ve ark., 2012).

2.2. Biyoadezyon

Adezyon, bir yüzeyin başka bir yüzeye sabitlenmesi ya da yapışması olarak ifade edilmektedir (Andrews ve ark., 2009). Biyoadezyon ise en az biri biyolojik kaynaklı iki yüzeyin yüzeylerarası etkileşimleri ile belirli bir süre bir arada kalmaları ya da birbirine bağlanmaları durumudur (Smart, 2005). Eğer temas edilen biyolojik kaynaklı materyal mukus ise, mukoadezyon olarak da tanımlanabilmektedir (Serra ve ark., 2009; Smart, 2005).

Biyoadezyon teorileri 1980'lerin başında kontrollü ilaç salım sistemleri için ifade edilmiştir. Bu sistemler ilgili bölgede ilacın lokalize olmasının yanı sıra sistemik dolaşıma farklı yollardan ilaçların uygulanmasına imkan sunmuştur. Büyük molekül ağırlığına sahip ve oral yoldan uygulanması problemli olan peptit, protein yapılı ilaçların oküler, nazal, vajinal ve bukkal yoldan verilebilmesi için önemli avantajlar sağlamaktadır (Mansuri ve ark., 2016).

2.2.1. Biyoadezif Sistemlerin Avantajları

Vajinal, rektal, bukkal gibi pek çok farklı yol için uygulanabilen biyoadezif ilaç taşıyıcı sistemlerin pek çok avantajı bulunmaktadır.

- İlacın uygulandığı bölgede kalış süresi artırılarak absorpsiyonu artırılabilir

- Mukozal yüzeyden ötürü etki başlangıcı hızlı gerçekleşir
- Kontrollü salım sağlanabildiği için ilacın uygulama sıklığı azaltılabilir
- İlacın uygulandığı bölgede lokalizasyonu sağlanarak dozla ilişkili yan etkileri azaltılabilir
- İlacın gastrointestinal bozunmaya maruz kalmadan ilgili mukozadan emilimi gerçekleşir
- İlacın belli bir bölgeye hedeflenmesi sağlanabilir
- İlacın uygulanması kolay olduğu için hasta uyuncu yüksektir
- İlaç, karaciğer ilk geçiş etkisine uğramadan etki gösterir
- Tüm bunlarla birlikte ilacın biyoyararlanımı artırılabilir (Andrews ve ark., 2009; Mansuri ve ark., 2016).

2.2.2. Biyoadezyon Mekanizmaları

Biyoadezyon üç aşamada gerçekleşmektedir. İlk önce biyoadezif polimer mukoza ile temas ederek ıslanıp şişmektedir. İkinci aşamada polimer zincirleri ile müsin zincirleri arasında interpenetrasyon yani bir etkileşme meydana gelmektedir. Son aşamada ise zayıf kimyasal bağ oluşumları ile biyoadezyon mekanizması tamamlanmaktadır. Mukus ile biyoadezif polimer arasında; fiziksel veya mekanik bağlar, ikincil kimyasal bağlar ve kovalent bağlar olmak üzere üç ana etkileşim mekanizması bulunmaktadır (Serra ve ark., 2009).

Fiziksel bağlar, polimer matriksi ile müsin zincirinin interpenetrasyonu ve polimer zincirleri ile müsin glikoproteinlerinin birbiri içine geçmesi şeklinde oluşmaktadır. Makromoleküllerin interpenetrasyonu hem zincir esnekliği hem de difüzyon katsayısı ile ilişkilendirilmektedir (Serra ve ark., 2009).

İyonik bağlar, van der Waals bağları ve hidrojen bağları ikincil kimyasal bağlardır. Hidrojen bağları, mukoadezyonda polivinil alkol, poli akrilik asit gibi polimerlerin iyi biyoadezif özellik göstermelerini sağlamaktadır. Çünkü hidroksil, sülfat, karboksil ve amino grupları elektronegatif atomlara sahip oldukları için fonksiyonel olarak hidrojen bağı yapabilme özelliğine sahiptir (Morales ve McConville, 2014; Serra ve ark., 2009). Van der Waals bağları ise polar maddelerde dipol-dipol etkileşimleri şeklinde ortaya çıkabilen en zayıf etkileşimlerdir. Zayıf bağlar olan

hidrojen bağları ve van der Waals bağlarının biyoadezyonun oluşumunda çok önemli rol oynadıkları düşünülmektedir (Morales ve McConville, 2014). İyonik bağlar ise zıt yüklü polimer ve substratın elektrostatik etkileşmesi neticesinde oluşan ve diğer ikincil bağlara göre daha güçlü bağlardır (Smart, 2005). İkincil kimyasal bağların zayıf olarak ifade edilmesine rağmen, çok güçlü biyoadezif etkileşmelerin oluşmalarını sağladıkları bilinmektedir (Serra ve ark., 2009).

Ayrıca hidrofobik bağlar da mukoadezyonu sağlayan ikincil bağlar arasında sayılabilmektedir. Bu bağlar bir sulu çözelti içerisinde non-polar gruplar olduğunda dolaylı bir şekilde oluşan hidrofobik etkileşimlerdir (Smart, 2005). Kovalent bağlar ise, polimer ile mükün fonksiyonel gruplarının kimyasal etkileşimi neticesinde oluşan kalıcı ve güçlü bağlardır (Morales ve McConville, 2014; Serra ve ark., 2009).

2.2.3. Biyoadezyon Teorileri

Biyoadezyon çok kompleks bir proses olduğu için biyoadezyon mekanizmalarını açıklayan pek çok teori bulunmaktadır (Andrews ve ark., 2009). Bu teorilerden bazıları fiziksel etkileşmelere dayandırılırken bazıları da kimyasal bağlarla ilişkilendirilmiştir (Serra ve ark., 2009).

2.2.3.1. Islanma Teorisi

Islanma teorisi, sıvı ya da düşük viskozitedeki biyoadezif sistemlerin yüzey ve yüzeyler arası enerjileri üzerinden tanımlanan bir teoridir. Bu teoride, biyoadezif polimerin biyolojik yüzeye yayılabilme miktarı, biyoadezif yeteneğini göstermektedir (Mansuri ve ark., 2016; Smart, 2005). Bu teori, biyolojik substrata temas eden madde ile mukoza arasındaki yüzeyler arası gerilimin, her bir maddenin kendi yüzey geriliminden daha yüksek olması neticesinde iyi bir biyoadezyonun olabileceğini ifade etmektedir (Mansuri ve ark., 2016). Katı yüzeye sıvının afinitesini öğrenmek için temas açılı gonyometre kullanılarak ölçüm yapılmaktadır (Smart, 2005). Temas açısı, biyoadezif sistem ile mukozanın yüzeyler arası gerilimi ile ilişkilidir (Mansuri ve ark., 2016).

2.2.3.2. Adsorpsiyon Teorisi

Bu teori, biyoadezyonu mukus ile polimer arasında ikincil bağlar olan hidrojen bağları ve van der Waals bağlarının kurulması sonucunda oluştuğu şeklinde tanımlamaktadır (Serra ve ark., 2009). Yüzeyler arasında kurulan ilk temastan sonra iki

yüzeyin molekülleri arasındaki kuvvetli etkileşim neticesinde biyoadezif madde mukozaya yapışmaktadır (Mansuri ve ark., 2016). Bu teorinin bir alt bölümü olan kimyasal adsorpsiyon teorisine göre yüzeyler arası etkileşim, güçlü kovalent bağlarının sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Mansuri ve ark., 2016; Smart, 2005).

2.2.3.3. Elektron Transferi Teorisi

Zıt elektrik yüküne sahip olan biyoadezif sistem ile mukus arasında meydana gelen elektron transferinin bir sonucu olarak biyoadezyonun meydana geldiğini ifade etmektedir. Bu elektron transferi neticesinde iki yüzey arasında elektrik yüklü bir çift tabaka oluşmaktadır (Andrews ve ark., 2009).

2.2.3.4. Kırılma/Kopma Teorisi

Mukoza yüzeyinden adezif polimerin ayrılması için gerekli kuvvetle ilişkili olan bu teoride, çapraz bağlanma derecesinin az olması veya ağ zincirlerinin daha uzun olması durumunda kopma gücünün daha büyük olduğu bulunmuştur (Salamat-Miller ve ark., 2005).

2.2.3.5. Difüzyon Teorisi

Difüzyon teorisi, biyoadezif polimer ile mukus glikoproteinleri arasında meydana gelen zincir etkileşmesi temeline dayanmaktadır. İki yüzey arasında meydana gelen ilk temas neticesinde mukus ağının içerisine polimer zinciri difüze olarak iki substrat arasında bir bağlanma/network/ağ oluşmaktadır. Biyoadezif polimerin difüzyon katsayısı, kimyasal yapısı, yeterli esneme kabiliyeti ve yeterli temas süresi yüzeyler arasındaki bu difüzyonun gerçekleşebilmesini sağlayan faktörlerdendir (Salamat-Miller ve ark., 2005).

2.2.3.6. Mekanik Teori

Bu teoriye göre adezyon, biyoadezif sıvı tarafından kaba bir yüzey üzerindeki düzensizliklerin doldurulmasının bir sonucu olarak düşünülmektedir. Ayrıca bu düzensizlikler adezyonun en önemli olgusu olmakla birlikte etkileşimler için mevcut yüzey alanlarını artırabildiği değerlendirilmesine varılmaktadır (Mansuri ve ark., 2016).

2.2.4. Biyoadezyonu Etkileyen Faktörler

2.2.4.1. Polimere İlişkin Faktörler

Polimerin molekül ağırlığı, çapraz zincir uzunluğu, hidrofilikliği, şişme derecesi, konsantrasyonu ve yükü gibi pek çok faktör biyoadezyonu etkilemektedir (Kumar ve ark., 2014; Shaikh ve ark., 2011).

Molekül ağırlığı ve yapısı, zincir uzunluğundaki artıştan dolayı bir polimerin kohezif özelliklerini ve mukoadazyonu etkileyebilmektedir (Duggan ve ark., 2017). Molekül ağırlığı yüksek olan polimerlerin düşük molekül ağırlığındaki polimerlerden daha iyi yüzeyler arası etkileşim gösterdikleri belirtilmektedir (Shaikh ve ark., 2011). Molekül ağırlığı 100.000 – 4.000.000 Da arasındaki polimerlerin iyi derecede biyoadezif özelliğe sahip oldukları kaydedilmiştir. Molekül ağırlığı ile birlikte molekülün yapısı da biyoadezyonda büyük önem taşımaktadır. Hem anyonik hem de katyonik tiyollanmış polimerlerde yapılan bir çalışmada orta molekül ağırlığındaki (400.000 – 600.000 Da) polimerlerin en güçlü biyoadezyonu gösterdikleri tespit edilmiştir (Duggan ve ark., 2017). Ayrıca molekülün uzaysal biçimlenmesi (spatial conformation) biyoadezyonda ciddi önem arz etmektedir. Örneğin 19.500.000 Da molekül ağırlığındaki dekstran ile 200.000 Da molekül ağırlığındaki polietilen glikol (PEG) benzer adezif özellik göstermektedir. Dekstranın sarmal yapısı, yapısında bulunan pek çok adezif fonksiyonel grubun etki göstermesini engellerken, PEG'in doğrusal biçimlenmesi daha düşük molekül ağırlığına sahip olmasına rağmen benzer adezyonu göstermelerinin sebebi olarak ifade edilmektedir (Shaikh ve ark., 2011).

Elektriksel yük açısından biyoadezyonda kullanılan polimerler; anyonik, katyonik ya da non-iyonik özellikte olabilmektedir (Woertz ve ark., 2013). İyonik polimerlerin non-iyonik polimerlerden, katyonik polimerlerin ise anyonik polimerlerden daha iyi biyoadezif özellik gösterdikleri bilinmektedir (Kumar ve ark., 2014). Anyonik polimerler mukusla hidrojen bağı kurarken, kitosan gibi katyonik polimerler ise negatif yüklü müsin zincirleri ile iyonik bağ kurmaktadır (Woertz ve ark., 2013).

Çapraz zincir uzunluğu ve zincir esnekliğinin, biyoadezyonda önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Zincir esnekliğinin ve uzunluğunun fazla olması neticesinde biyoadezyonun arttığı bilinmektedir. Zincir esnekliğinin ve uzunluğunun fazla olması mukus ile polimer arasındaki fonksiyonel grupların daha kolay etkileşimini sağlamaktadır. Difüzyon teorisinde de ifade edildiği gibi polimer zincirleri mukus

içerisine difüze olarak mükün glikoproteinleri ile etkileşmektedir. (Duggan ve ark., 2017).

Konsantrasyon, polimer ile mukus arasında güçlü bir adezif bağın geliştirilmesi açısından çok önemlidir. Eğer polimer konsantrasyonu çok düşük olursa mukus ile polimer arasında yeterli bir etkileşim olmadığı için iyi bir penetrasyon gerçekleşemeyecektir. Genellikle yüksek konsantrasyondaki polimerler daha iyi penetrasyon ve adezyon göstermektedir. Ancak her polimerin kritik bir konsantrasyon değeri bulunmaktadır. Bazen polimerlerin yüksek konsantrasyonda olmaları biyoadezif özelliklerine zarar vermektedir. Yapılan bir çalışmada film yapıcı polimer olarak kullanılan polivinil pirolidon veya polivinil alkolün yüksek konsantrasyonlarının biyoadezif özelliklerini artırmadığı tespit edilmiştir (Salamat-Miller ve ark., 2005).

Şişme derecesi, biyoadezyonu etkileyen diğer önemli faktörlerden birisidir. Hidrasyon, polimer zincirinin gevşemesi ve interpenetrasyonunda çok önemlidir (Andrews ve ark., 2009). Polimerin su alarak şişmesi neticesinde polimer zincirleri mükün glikoproteinleri ile bağ yapmasını sağlamaktadır. Ortamda yeterli miktarda su bulunmaması durumunda şişme ve yüzeyler arası etkileşim gerçekleşemeyecektir (Çapan, 2002). Ancak çok yüksek miktarda su alarak şişen polimer, kaygan mükün üzerinden kolayca uzaklaşabileceği için biyoadezyonun azalması söz konusu olacaktır (Kumar ve ark., 2014; Shaikh ve ark., 2011).

Biyoadezif polimer ile mukusun yapışması ve bağlanması, yüzeyler arası etkileşimleri neticesinde meydana gelmektedir. Bu etkileşimin ardından yüzeyler arasında non-kovalent bağlar kurulmaktadır. Biyoadezif polimerlerin karboksil (COOH), hidroksil (OH), amin (NH₂) ve sülfat (SO₄) gibi hidrofilik *fonksiyonel gruplara* sahip olması mukus ile polimer arasında hidrojen bağları kurulmasını sağlamaktadır (Andrews ve ark., 2009).

2.2.4.2. Çevresel ve Fizyolojik Faktörler

Biyoadezyonu etkileyen pek çok çevresel ve fizyolojik faktör bulunmaktadır. Tükürük akış hızı ve mükün döngüsü, pH, temas süresi, yeme-içme bu faktörler arasında sayılabilmektedir (Andrews ve ark., 2009; Salamat-Miller ve ark., 2005).

Tükürük akış hızı ve mükün döngüsü, biyoadezyonu etkileyen en önemli faktörlerdendir. Çünkü tükürük, polimer için etkileşim ve çözünme ortamı olmakla

birlikte ortamın pH'sını da belirlemektedir. pH değışkenliğı polimerin iyonizasyonunu değıştirerek biyodezif özelliğini etkilemektedir (Salamat-Miller ve ark., 2005).

Temas süresi ile biyoadezif etkinlik arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır. Biyoadezif sistemin mukozaya yapışabilmesi için belirli bir süre basınçla temas ettirilmesi gerekmektedir (Çapan, 2002). Hastalık vb. durumlarla değışebilen mûsin döngüsü de temas süresini etkileyen faktörlerdendir (Shaikh ve ark., 2011).

Yeme, içme ve konuşma da bukkal bölgede biyoadezyonu etkilemektedir. Bu sebeple bukkal biyoadezif formülasyonların tasarımında bu fonksiyonların göz önünde bulundurulması gerekmektedir (Salamat-Miller ve ark., 2005).

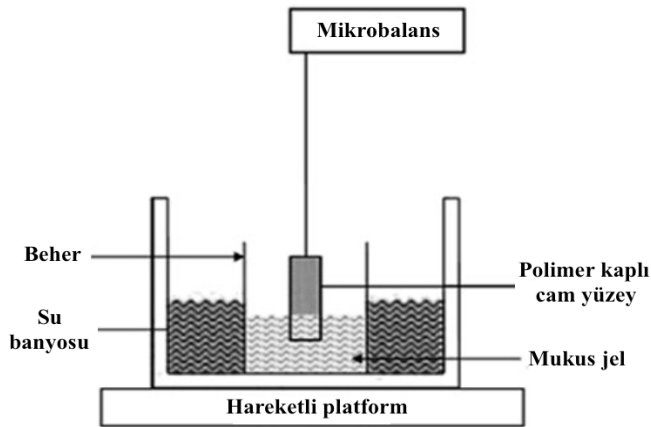
2.2.5. Biyoadezyonun Ölçümünde Kullanılan Yöntemler

Mukus ile polimer arasındaki biyoadezyon karakterizasyonun belirlenmesinde pek çok *in vitro*, *ex vivo* ve *in vivo* metot kullanılmaktadır. Biyoadezif kontrollü salım sistemlerin geliştirilmesinde önemli olan bu teknikler, genel olarak mukustan ayrılma veya mukusa bağlanmaya bağlı olarak gerilme direncini veya kayma gerilimini ya da mukozal yüzeydeki kalış süresini ölçmektedir (Singh ve Rana, 2012; Yu ve ark., 2014).

2.2.5.1. Wilhelmy Tablası Yüzey Gerilimi Yöntemi

Wilhelmy tablası yöntemi pek çok biyoadezif ilaç şeklinin adezif kuvvetinin ölçülmesinde kullanılan geleneksel bir yöntemdir (Nair ve ark., 2013). Bu yöntem ilk defa Smart ve arkadaşları tarafından 1984 yılında ayrılma kuvvetinin belirlenmesinde kullanılmıştır (Yu ve ark., 2014). Bu yöntem bir mikroterazi (mikrobalans) ya da mikrotansiyometre kullanılarak dinamik temas açısının ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Nair ve ark., 2013).

Şekil 2-5'te görülen mikroteraziye bağlı polimer ile kaplı cam tabaka, içinde mukus bulunan behere daldırılarak 60 °C'lik etüvde ağırlığın dengeye gelmesi sağlanır (Andrews ve ark., 2009; Yu ve ark., 2014). 7 dakika boyunca mukus ile polimer kaplı cam tabakanın temas etmesi sağlanır. Cam tabaka çekilirken mukus ile polimerin ayrılması esnasında en yüksek değer mikroterazide kaydedilir (Yu ve ark., 2014).



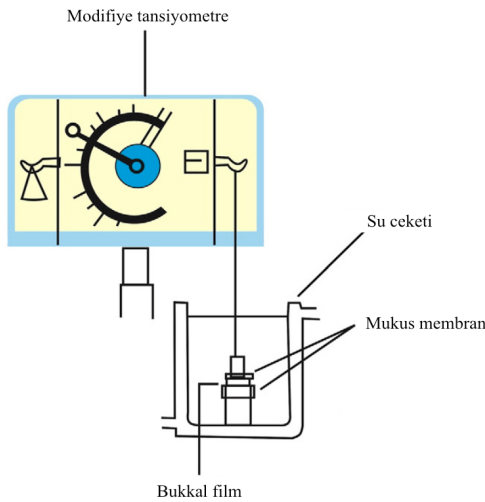
Şekil 2-5: Wilhelmy tablası (Yu ve ark., 2014)

Bu yöntem üzerinde çeşitli değişiklikler yapılarak farklı yöntemler geliştirilmiştir. Örneğin Leung ve Robinson tarafından geliştirilen yöntemde çift tansiyometre kullanılmaktadır. Bu yöntemde mukus yerine hayvan modellerinden elde edilen bukkal mukoza kullanılmaktadır. Adeziv kuvvet ilk tansiyometre ile ölçülürken kayma gerilimi ikinci tansiyometre ile ölçülmektedir (Nair ve ark., 2013).

2.2.5.2. Değiştirilmiş Yüzey Gerilimi Yöntemi

Bukkal filmlerin gerilme direncinin ölçümünde yaygın bir şekilde kullanılan ve en eski metotlardan biridir. Filmin mukoadeziv gücü, mukus membrandan filmin ayrılması için gerekli gücün belirlenmesi ile ölçülmektedir (Nair ve ark., 2013).

Şekil 2-6’da gösterildiği gibi simüle gastrik sıvı içeren bir behere yerleştirilmiş ağırlığı belli cam üzerine uygun boyutta kesilmiş doku sabitlenir. Aynı dokunun başka bir kısmı mukuslu tarafı açıkta olacak şekilde kauçuk tıpa üzerine yerleştirilir ve tansiyometre halkasına takılarak aşağı sarkıtılır. Film iki mukus dokusu üzerine yerleştirilir ve 60 saniye boyunca filme 20 dyne’lik bir güç uygulanır. Daha sonra mukoza filminden ayrılana kadar yavaşça kaldırılır ve ayrılma anındaki değer kaydedilir (Nair ve ark., 2013).



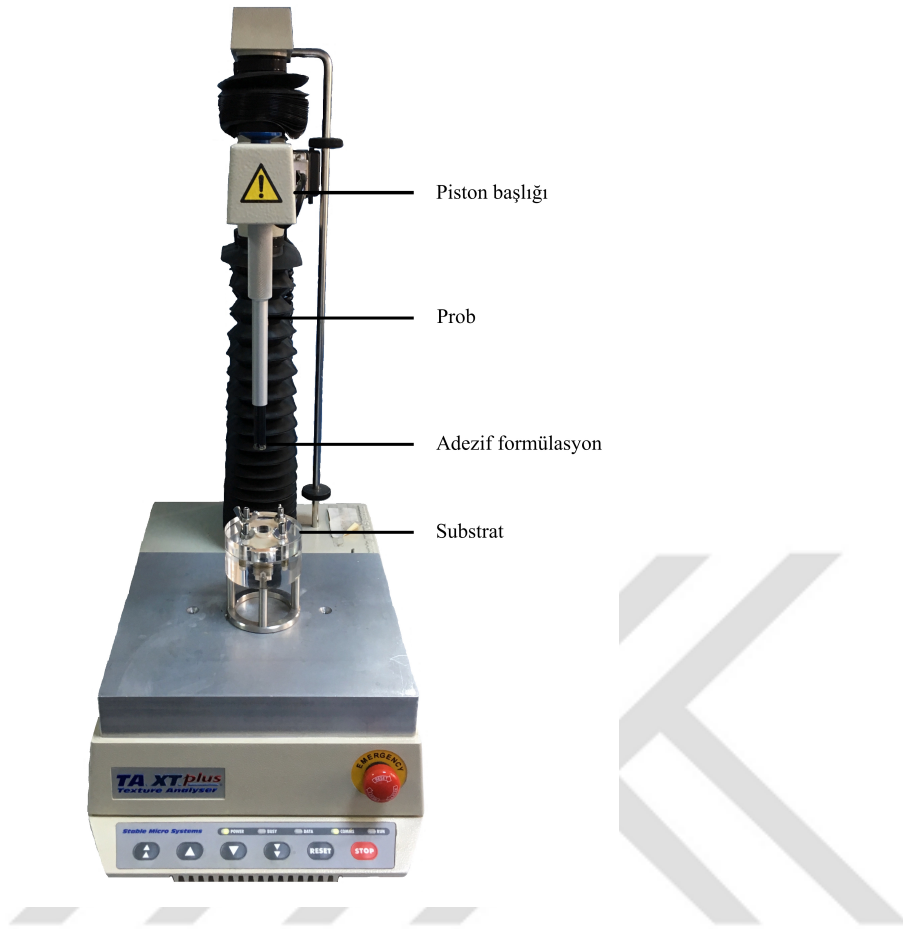
Şekil 2-6: Değiştirilmiş yüzey gerilim cihazı (Nair ve ark., 2013)

2.2.5.3. Gerilme Direnci Yöntemi (Tekstür Analiz Cihazı Yöntemi)

Gerilme direnci yönteminde en sık kullanılan cihaz, tekstür analiz cihazıdır (Şekil 2-7). Bu yöntemde bir hayvandan izole edilmiş mukozal yüzeyden polimeri/formülasyonu ayırmak için gerekli olan güç, mukoadezif gücü ortaya koymaktadır (Mackie ve ark., 2017; Carvalho ve ark., 2010).

Yöntemin esasında, formülasyon bir prob üzerine sabitlenerek mukus kaplı yüzeye yaklaştırılır. Formülasyon ile mukus kaplı yüzey arasında tam bir temas sağlandıktan sonra prob yüzeyden uzaklaştırılır ve iki yüzey arasında meydana gelen ayrılma kuvveti kaydedilir (Mackie ve ark., 2017). Temas süresi, temas kuvveti, prob hızı, çevresel faktörler bu cihazda mukoadezif gücü etkileyen önemli parametrelerdir (Singh ve Rana, 2012). Tabletler, filmler ve hidrojeller gibi farklı ilaç şekillerinin biyoadezif kuvvetlerinin belirlenmesinde bu teknikten faydalanılmıştır (Mackie ve ark., 2017).

Cevher ve arkadaşlarının 2014 yılında yapmış olduğu çalışmada biyoadezif tabletler silindirik proba çift taraflı yapışkan bir bant ile yapıştırılmıştır. 37 °C’de gerçekleştirilen çalışmalarda tabletin olduğu prob 1 mm/sn hızla aşağı indirilerek 1 Newton’luk güç uygulanmıştır. Tablet ve mukozanın temas etmesi neticesinde yapışma gerçekleşmiştir. 30 saniyelik temastan sonra prob 1 mm/sn hızla yukarı doğru hareket ettirilmiştir. Adezyon işi (mJ/cm^2), ayrılma için gereken kuvvet (N/cm^2) cihaz yazılımı üzerinden belirlenmiştir (Cevher ve ark., 2014).



Şekil 2-7: Tekstür analiz cihazı

2.2.5.4. Kolloidal Altın Boyama Yöntemi

Bu yöntem, 1989 yılında Park tarafından hidrojellerin biyoadezyonunun ölçülmesi için önerilmiştir (Singh ve Rana, 2012). Kırmızı kolloidal altın partiküllerinin müsin molekülleri tarafından adsorbe edilerek müsin-altın konjugatlarını oluşturması esasına dayanan bu yöntemde, biyoadezif hidrojeller bu konjugatlarla etkileşerek yüzeyin kırmızıya boyanması sağlanmaktadır. Hidrojel ile mukusun etkileşmesi sonucu hidrojin yüzeyi kırmızıya boyanarak bu konjugatların konsantrasyonunda bir azalma meydana gelmektedir. Hidrojin yüzeyindeki boyanma yoğunluğu ya da konjugatların konsantrasyonundaki azalma 525 nm’de absorbans değişimi üzerinden ölçülmektedir (Roy ve Prabhakar, 2010; Singh ve Rana, 2012).

2.2.5.5. Direkt Boyama Yöntemi (Floresans İşaretleme Yöntemi)

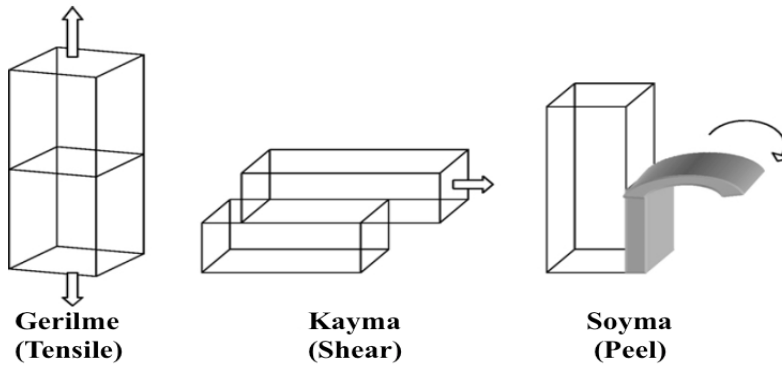
Hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak kullanılabilen bu yöntem sulu polimer dispersiyonunun insan bukkal hücrelerine adezyonunu belirlemek için geliştirilmiştir. Adezif polimerin % 0,1'lik (a/h) alsiyan mavisi ve eozin ile hazırlanan boya çözeltisi ile görünebilirliği sağlanmaktadır. Ortamdaki karışmayan boya ise 0,25 M süktroz ile yıkanarak uzaklaştırılmaktadır. Polimerin adezyon derecesi polimer ile işlenmiş hücreler ve kontrol grubunun boya yoğunlukları, görüntüleme yöntemleri üzerinden tespit edilmektedir (Andrews ve ark., 2009; Sudhakar ve ark., 2006).

2.2.5.6. Bağırsak Kesesi (Gut sac) Yöntemi

Bu yöntem özellikle polimerik mikrokürelerin biyoadezyonun ölçülmesinde kullanılan *ex vivo* bir yöntemdir. Yöntemde sıçandan izole edilmiş bağırsak dokusunun bir kısmı kullanılarak salım sisteminin adezyonu, ilk kütleden kalan kütle çıkartılarak tespit edilmektedir (Carvalho ve ark., 2010; Singh ve Rana, 2012). Mikroküre süspansiyonu, test tüpünde yer alan salin ortamdaki 15 cm uzunluğundaki bağırsak içerisine doldurularak 37 °C'de 60 dakika inkübasyona bırakılır. Süre sonunda bağırsaktan çıkarılan mikrokürelerin Coulter Counter sayacı ile sayısı hesaplanır. Böylece adezyondan önceki mikrokürelerin sayısı ile adezyondan sonraki mikrokürelerin sayısı arasındaki farktan adezyon yüzdesi tespit edilir (Singh ve Rana, 2012).

2.2.5.7. Soyma Yöntemi (Peel Adezyon Yöntemi)

Peel adezyon testi, bukkal ve transdermal yamaların biyoadezyonunun ölçülmesinde kullanılmaktadır (Sudhakar ve ark., 2006). Test birçok adezif formülasyon için uygun olmamakla birlikte özellikle yamalar için çok büyük avantajlar sağlamaktadır (Mansuri ve ark., 2016). Bu yöntem, mukozaya yapışmış olan yamanın soyulma yöntemi ile mukozadan ayrılması için gerekli gücü tespit etmektedir (Nair ve ark., 2013). Uygulama açısından soyma yönteminin gerilme ve kayma yöntemlerinden farkı Şekil 2-8'de gösterilmiştir.



Şekil 2-8: Gerilme, kayma ve soyma güçlerinin şematik gösterimi (Sudhakar ve ark., 2006)

2.2.5.8. Reolojik Yöntem (Viskozimetrik Yöntem)

Polimer ve müsin arasındaki etkileşimden kaynaklanan değişimi tespit eden ilk *in vitro* reolojik yöntem, Hassan ve Gallo tarafından yapılmıştır. Polimer ile müsin zincirleri arasındaki etkileşimi tespit etmek için viskozimetrik deneyler yapmışlardır. Polimer ile müsin zincirleri arasında meydana gelen etkileşim, hidrojen bağları, disülfid köprüleri gibi kurulan kimyasal ve fiziksel bağlar viskozitede değişimlere sebebiyet vermiştir (Mansuri ve ark., 2016, Singh ve Rana, 2012). Bu çalışmada polimerik jel ve müsin çözeltisinin karışımları ile oluşan reolojik yanıtın, her birinin ayrı reolojik yanıtlarının toplamından fazla olduğu görülmüştür. Bu yöntemin en büyük dezavantajı sürekli akışa maruz kalan polimer ve müsin ağıнын parçalanması durumudur. Salınlımlı reometre kullanılarak yöntem iyileştirilmiştir. Geliştirilen bu yöntemde hem viskoz hem de elastik davranışlar incelenebilmektedir (Mansuri ve ark., 2016).

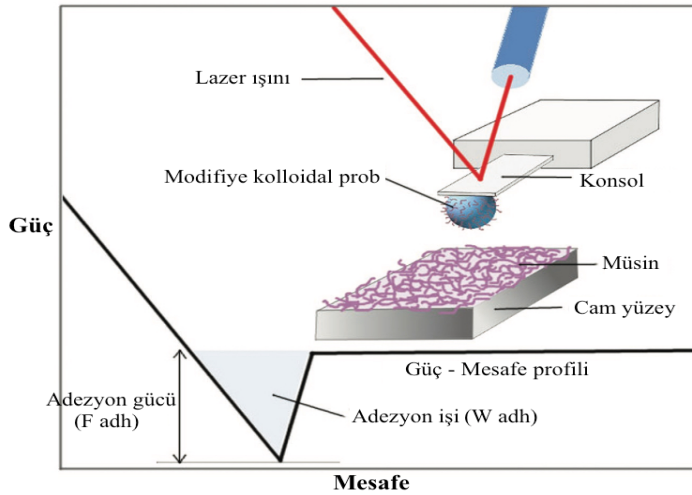
2.2.5.9. Akış Kanal Yöntemi

Mikrokürelerin adezif potansiyelini tespit etmek için kullanılan bir yöntemdir. Cihaz, bir su banyosu ile ısıtılan pleksiglas bir malzeme içermektedir. Müsin veya hayvansal mukoza, bu pleksiglasın tam ortasının en altına yerleştirilerek mikropartiküller bunun yüzeyine yapıştırılır. Hava dolu gaz silindiri yardımıyla volumetrik akış kontrol edilir. Bir temas açılı gonyometre mikroskobu ve bir ışık kaynağı iki akış kanalı arasına yerleştirilir. Video kamera, ayrılma gücünü ve formülasyon özelliklerini kaydedebilmek için sisteme bağlanır. Yüzeyden küreler ayrılana kadar akış hızının artırılması ve akış hızı sabit olarak ayrılmanın gerçekleştiği zamanın belirlenmesi şeklinde iki deney gerçekleştirilebilir (Woertz ve ark., 2013).

2.2.5.10. Atomik Güç Mikroskobu (AFM)

AFM, oral biyoadezif sistemlerde kullanılabilen, polimer ile mukoza arasında oluşan bağlanma üzerinden, yüzey özelliklerinde meydana gelen değişimlere dayanarak biyoadezyonu ölçen bir yöntemdir (Patel ve ark., 2012). Polimer ile mukoza arasında kurulan bağlar ile yüzey pürüzlülüğünde yüksek oranda değişimler meydana gelmektedir. Bu görüntüleme yöntemi biyoadezyondaki yüzey pürüzlülüğünün yanı sıra, polimerin mukozaya yapışma miktarı, bileşimi ve mukozadan ayrılma için gerekli güç hakkında bilgi vermektedir (Mackie ve ark., 2017; Woertz ve ark., 2013).

Bir çalışmada Pluronik PAA kopolimeri ile müsin kaplı yüzey arasındaki biyoadezif güçler incelenmiştir. Bir mikroskop camının üzerine sırayla epoksi yapışkan tabaka ve kolloidal yapıdaki küresel partiküller müsin ile temas edecek konsola yapıştırılmıştır. Konsol yüzeye doğru dikey bir şekilde yaklaştırılmıştır. Yüzey yapısının heterojen olması sebebiyle farklı bölgelerde yapılan ölçümler neticesinde farklı sonuçlar ortaya çıkmıştır. Ayrıca çekme hızının yanı sıra ön test hızı ve ölçme zamanı, sonuçlarda önemli değişiklikler görülmüştür (Woertz ve ark., 2013). Adezyon gücü ve adezyon işi güç-mesafe profili üzerinden hesaplanmıştır (Mackie ve ark., 2017). Yapılan bu çalışma Şekil 2-9'da gösterilmiştir.



Şekil 2-9: Biyoadezyon ölçümü için deney kurulum şeması ve güç mesafe profili (Mackie ve ark., 2017)

2.2.5.11. *In vivo* Yöntemler

Literatürlerde biyoadezyonla ilgili *in vivo* çalışmalara, *in vitro* çalışmalara nazaran maliyet, etik ve zaman gibi problemlerden dolayı çok daha az rastlanmaktadır (Andrews ve ark., 2009; Mansuri ve ark., 2016).

Gama sintigrafi yönteminde, gama ışın kameraları ile belirlenebilen radyoaktif izleyiciler kullanılmaktadır. Sintigramlar ilgili bölgedeki formülasyonun aktivitesinin belirlenmesini sağlamaktadır (Kumar ve ark., 2014). *X-ray ışınları*, ilaç şeklinin gastrointestinal geçiş süresi boyunca görüntülenebilmesini sağlamaktadır. Örneğin radyo opak bir madde olan baryum sülfat teofilin içeren yavaş salımlı tabletlerin dış yüzeyine kaplanmıştır. 2,5 kg ağırlığındaki tavşanlara, oral olarak bu tabletler verildikten sonra farklı zaman aralıklarında X-ray fotoğraflar alınarak biyoadezyon belirlenmiştir (Kumar ve ark., 2014). Araştırmacılar, gadolinyum kullanılarak ilaç şekillerinden tiyole polimerlerin salım noktasını belirleyebilmek için *manyetik rezonans görüntüleme* üzerinde odaklanmışlardır. Sıçanların bağırsak mukozasında fluoresans işaretli tiyomerlerin üç saat sonraki kalış süresi üzerinden *in vivo* biyoadezyon belirlenmiştir (Andrews ve ark., 2009).

2.2.6. Biyoadezif Polimerler

Biyoadezif ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesinde adezif özelliğe sahip pek çok polimer kullanılmaktadır. Biyoadezif polimerler sadece ilaç salımını ve ilacın bölgedeki kalış süresini değil, ilgili bölgedeki ilk temasla birlikte absorpsiyonu artırmakta ve bölgede olabilecek bir enzimatik degradasyonu da engellemektedir (Montero-Padilla ve ark., 2017). Tablo 2-1’de bukkal biyoadezif sistemlerin geliştirilmesinde kullanılan bazı polimerler, bu polimerlerin biyoadezif güçleri ve iyonik yükleri gösterilmiştir.

Biyoadezif polimerlerin genel olarak aşağıdaki özelliklere sahip olması istenir.

- Toksik ve iritan olmamalıdır
- Müsin ile güçlü biyoadezif bağlar kurabilmelidir
- Mukozaya kolay ve hızlı bir şekilde yapışabilmelidir
- Kontrollü salım boyunca ilgili bölgede yapısı bozunmadan kalabilmelidir
- İlgili bölgede kolayca şişebilmelidir

- Yüksek molekül ağırlığına ve zincir esnekliğine sahip olmalıdır
- Hidrojen bağı oluşturan hidroksil ve karboksil gibi fonksiyonel gruplara sahip olmalıdır (Kumar ve ark., 2014; Vinod ve ark., 2012).

Tablo 2-1: Bazı polimerlerin biyoadezif özellikleri ve iyonik yükleri

Polimer	Biyoadezif özelliği	İyonik yük	Kaynak
Na CMC	Mükemmel	Anyonik	Kumar ve ark., 2014; Yu ve ark., 2014
Karbopol	Mükemmel	Anyonik	Kumar ve ark., 2014; Yu ve ark., 2014
Polikarbofil	Mükemmel	Anyonik	Kumar ve ark., 2014; Yu ve ark., 2014
Polietilen oksit	Mükemmel	Noniyonik	Roy ve Prabhakar, 2010; Rowe ve ark., 2004
Metil selüloz	Mükemmel	Noniyonik	Roy ve Prabhakar, 2010; Yu ve ark., 2014
Sodyum aljinat	Mükemmel	Anyonik	Kumar ve ark., 2014; Yu ve ark., 2014
HPMC	Mükemmel	Noniyonik	Kumar ve ark., 2014; Yu ve ark., 2014
Jelatin	Çok iyi	Katyonik	Kumar ve ark., 2014; Shinde ve Nagarsenker, 2009
Pektin	İyi	Anyonik	Kumar ve ark., 2014; Duggan ve ark. 2017
PVP	İyi	Noniyonik	Roy ve Prabhakar, 2010; Yu ve ark., 2014
Polietilen glikol	İyi	Noniyonik	Roy ve Prabhakar, 2010; Yu ve ark., 2014
Kitosan	İyi	Katyonik	Kumar ve ark., 2014; Yu ve ark., 2014
HPC	İyi	Noniyonik	Kumar ve ark., 2014; Yu ve ark., 2014

Na CMC: Sodyum karboksimetil selüloz; HPMC: Hidroksipropil metil selüloz; PVP: Polivinil pirolidon; HPC: Hidroksipropil selüloz

2.2.6.1. Selüloz Türevleri

Selüloz türevi polimerler fonksiyonel gruplarının/sübstitüentlerinin tiplerine göre farklı özellik göstermektedir (Russo ve ark., 2016). Bu polimerler içerisinde

karboksimetil selüloz (CMC) anyonik özellik gösterirken, hidroksipropil metilselüloz (HPMC), hidroksipropil selüloz (HPC), metil selüloz (MC) non-iyonik özelliktedir (Yu ve ark., 2014). Hidroksietil selüloz (HEC), HPC, HPMC, CMC, MC; biyoadezif polimer olarak en sık kullanılan selüloz türevi polimerlerdir (Montero-Padilla ve ark., 2017; Yu ve ark., 2014).

CMC, anyonik bir polimer olup hidrojen bağlama yeteneği olduğu için selüloz türevleri içerisinde en iyi mukoadezif özelliklere sahiptir (Russo ve ark., 2016). Sodyum türevi olan sodyum karboksimetil selüloz (Na CMC), düşük maliyetli, suda çözünebilen bir selüloz türevidir. Polimerizasyon derecesi ve zincir uzunluğuna göre çözünme derecesi değişen Na CMC; bukkal yama, tablet ve mikroküre gibi birçok biyoadezif formülasyonun geliştirilmesinde kullanılmıştır (Kumar ve ark., 2014).

Yarı-sentetik, non-iyonik ve suda çözünen bir polimer olan HPMC, orta derecede mukoadezif özellik göstermektedir (Russo ve ark., 2016; Montero-Padilla ve ark., 2017). Mukoadezif özelliğinin orta derecede olması proton verici karboksil gruplarının yokluğundan kaynaklanmaktadır (Russo ve ark., 2016). Hızlı şişme özelliği gösteren termosensitif özellikteki bu polimer hiperelloz olarak da bilinmektedir (Kumar ve ark., 2014; Montero-Padilla ve ark., 2017). Müsin ile polimer arasında güçlü hidrojen bağlarının kurulması ile biyoadezif özelliklerini gösteren bu biyoadezif polimerin kullanımıyla pek çok tablet, film ve jel formülasyonu geliştirilmiştir (Kumar ve ark., 2014).

2.2.6.2. Poliakrilatlar

Polikarbofil ve karbopol biyoadezif ilaç taşıyıcı sistemlerin tasarlanmasında kullanılan poliakrilik asit türevi anyonik polimerlerdir (Andrews ve ark., 2009; Yu ve ark., 2014). Poliakrilatlar, karboksilik asit gruplarından dolayı müsin oligosakkaritleri ile çok güçlü hidrojen bağları kurmaktadır. Aynı zamanda fiziksel bağlanma neticesinde pH ve iyonik kompozisyonla kontrol edilen hidrofobik etkileşmeler ve van der Waals bağları ile iyi bir biyoadesyon sağlanmaktadır (Russo ve ark., 2016). Asidik pH'da poliakrilatlar protonlanmış polimer yapısında olmalarından dolayı müsin ile çok iyi etkileşme sağlayarak en iyi biyoadesyonu göstermektedir (Duggan ve ark., 2017). Polikarbofil ile karbopol arasındaki temel fark, çapraz bağlayıcı ajan ve çapraz bağlanma derecesinden kaynaklanmaktadır (Andrews ve ark., 2009). Polikarbofil, pH'ya bağımlı şişebilen ancak suda çözünmeyen poliakrilik asidin divinil alkolle çapraz

bağlı polimeridir. Müsin ile non-iyonize karboksilik asit uçları arasında hidrojen bağları kurularak biyoadezif etkileşim meydana gelmektedir (Asane ve ark., 2008).

Karbopol, poliakrilik asidin allil sükroz veya allil penta eritrol ile çapraz bağlı polimeridir (Asane ve ark., 2008). Suda çözünen yüksek molekül ağırlığına sahip bu polimer % 56 – 68 oranında karboksilik asit gruplarından oluşmaktadır (Rowe ve ark., 2004). İyi jel oluşturma ve biyoadezif özelliklerinden dolayı uzatılmış salım sistemlerin tasarımında önemli roller üstlenmektedir (Russo ve ark., 2016).

2.2.6.3. Pektin

Pektin, turunçgil veya elma kabuğu gibi bitkilerden izole edilen ve suda çözünen doğal bir polimerdir. Toksik olmayan bu anyonik polimer yüksek miktarda karboksilik asit gruplarına sahip galakturonat ve ramnoz kalıntılarını içeren bir heteropolisakkarit yapısındadır (Russo ve ark., 2016; Duggan ve ark., 2017). Ayrıca yapısındaki hidroksil grubu seviyelerinden dolayı yüksek hidrofilik özellik göstererek iyi şişme seviyelerine ulaşmaktadır (Duggan ve ark., 2017). Pektinin düşük molekül ağırlığına sahip modifikasyonları daha iyi biyoadezif özellik göstermektedir (Russo ve ark., 2016). Pektin ile müsin arasındaki etkileşmelerin hidrojen bağlarından kaynaklandığı düşünülmektedir (Russo ve ark., 2016).

2.2.6.4. Aljinatlar

Aljinatlar; deniz yosunlarından, alglerden ve bakterilerden ekstrakte edilerek elde edilen doğal bir polisakkarittir (Russo ve ark., 2016). Glukuronik ve mannuronik asidin çeşitli oranlarda bir araya gelmesi ile oluşan bu doğal polimer negatif yüklü olup suda çözünebilmektedir (Asane ve ark., 2008; Kumar ve ark., 2014; Russo ve ark., 2016). Ancak kalsiyum, stronsiyum ve baryum gibi çift değerlikli iyonlardan hazırlanan aljinat tuzları suda çözünmezken, sodyum aljinat suda çözünmektedir (Kumar ve ark., 2014; Sudhakar ve ark., 2006).

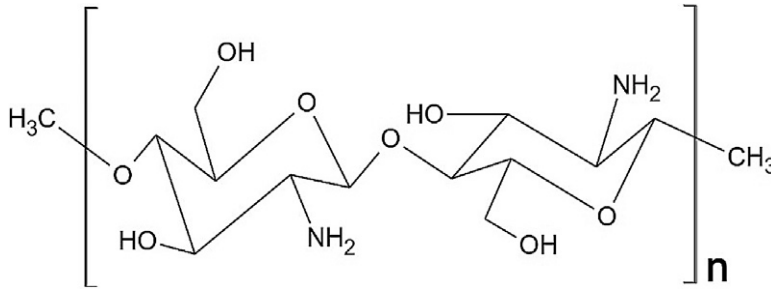
Mükemmel bir biyoadezif olan aljinatların biyoadezyon mekanizmasında molekül ağırlığının ve zincir esnekliğinin önemli olduğu belirtilmiştir. Yüksek molekül ağırlıklı aljinatların daha esnek oldukları için protein büzülmesine neden olan uzaktaki müsin bölgelerine ulaşması daha yüksek olmaktadır (Russo ve ark., 2016).

2.2.6.5. Kitosan

Kitosan, doğal bir madde olan kitinin kısmi deasetilasyonu sonucu türetilmiş biyoyoumlu, biyoparçalanabilir, toksik olmayan ve yüksek molekül ağırlığına sahip bir polisakkarittir (Caramella ve ark., 2010; Sandri ve ark., 2006). Alkali ortamda kitinden üretilen kitosan *N*-asetil glukozamin ve D-glukozaminin bir polimeridir. Suda çözünmeyen kitosan, katyonik bir yapıya sahip olduğu için asidik çözeltielerde birincil amin grupları protonlanarak çözünmektedir (Kumar ve ark., 2016). Kitosanın deasetilasyon derecesi genellikle % 65–70 veya daha üzerindedir (Şenel, 2010). Kitosanın fizikokimyasal ve biyolojik özellikleri açısından önemli olan deasetilasyon derecesinin yüksek olması, serbest amin gruplarının artışına sebep olarak çözünürlüğünün artmasını sağlamaktadır (Kumar ve ark., 2014; Şenel, 2010). Hafif asidik ortamlarda uygun asitlerle çözünerek hidroklorit, laktat, asetat, sitrat ve glutamat gibi tuzları sentezlenebilmektedir (Caramella ve ark., 2010; Russo ve ark., 2016).

Üretim yöntemi veya kullanılan hammadde kaynağına göre molekül ağırlığı 3.800 – 2.000.000 Da arasında değişen, aynı zamanda farklı deasetilasyon dereceleri ve saflıktaki kitosan türleri ticari olarak piyasada bulunmaktadır (Caramella ve ark., 2010; Russo ve ark., 2016; Şenel, 2010). Ayrıca kitosanın özellikle C-2 konumuna çeşitli fonksiyonel gruplar bağlanarak farmasötik uygulamalar için yeni kompleksler geliştirilebilmektedir (Şenel, 2010).

Kitosanın biyoadezif özelliği pozitif yüklü amino grupları ile mukustaki negatif yüklü sialik asit arasındaki güçlü elektrostatik etkileşimlerden kaynaklanmaktadır (Şenel, 2010). Ayrıca Şekil 2-10'da görüldüğü gibi kitosan, yapısındaki –OH ve –NH₂ gruplarından dolayı hidrojen bağı oluşturabilme yeteneğine de sahiptir (Russo ve ark., 2016). Yapılan çeşitli çalışmalar kitosanın bukkal mukozada penetrasyon artırıcı özelliğe de sahip olduğunu göstermektedir. Bu etkisini bukkal epiteldeki lipid organizasyonunu etkileyerek sağladığı belirtilmekle birlikte henüz ispatlanmamıştır (Şenel, 2010). Ayrıca kitosanın biyoadezif özelliğinin zayıf ve kısa süreli olduğu çeşitli çalışmalarda raporlanmıştır (Russo ve ark., 2016).



Şekil 2-10: Kitosanın kimyasal yapısı (Kumar ve ark., 2016)

Kitosan konsantrasyonunun formülasyonun biyoadezif özelliklerini değiştirdiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Cid ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada nonsteroidal antienflamatuvar bir ilaç olan selekoksibin bukkal biyoadezif jel formülasyonları geliştirilmiştir. % 1, 2 ve 3 oranlarında kitosan kullanılarak hazırlanan jel formülasyonlarından % 3 oranında kitosan içeren jelin; kalış süresi, biyoadezif güç vb. özellikler açısından selekoksibin bukkal yoldan verilmesi için ideal olduğu sonucuna varılmıştır (Cid ve ark., 2012).

Bukkal kanserin fotodinamik yöntemle tedavisinde kitosan bazlı biyoadezif film formülasyonları geliştirilmiştir. Yapılan çalışmada etken madde olarak 5-aminolevülinik asit kullanılıp fizikokimyasal bazı testler yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda % 10 etken madde ve % 4 kitosan içeren bukkal biyoadezif filmlerin uygulama için uygun karakteristik özelliklere sahip olduğu ve *in vitro* kalış süresinin 24 saatin üzerinde olmasıyla fotodinamik terapi için gayet iyi olduğu sonucuna varılmıştır (Costa ve ark., 2014).

Kitosan pek çok bukkal biyoadezif formülasyonda diğer polimerlerle biyoadezif özelliklerini geliştirmek amacıyla kullanılmıştır. Örneğin Tejada ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada mikonazol nitratın kitosan, karbopol, arap zampkı, aljinat ve jelatin olmak üzere 5 farklı polimer kullanılarak 9 farklı bukkal biyoadezif film formülasyonu hazırlanmıştır. Sadece kitosan içeren filmlerin en iyi esneklik gösterdiği ve diğer polimerler ile kombinasyonunda karbopol, jelatin ve aljinatlı formülasyonlarda adezif özellik artarken; sadece arap zampkı ile kombinasyonunda adezif özellik azalmıştır (Tejada ve ark., 2017).

Kitosanın fizikokimyasal özelliklerini geliştirebilmek amacıyla okzalik, malonik, adipik ve azelaik asit gibi dikarboksilik asitler ile konjuge polimerleri

hazırlanmıştır. Bu asitler ile hazırlanan kitosan filmlerinin asetik asit ile hazırlanan kitosan filmlerine göre gerilme direncinin ve esnekliğinin arttığı tespit edilmiştir (Ghosh ve Ali, 2012).

2.2.6.6. Lektinler

Lektinler, ikinci nesil mukoadezif polimerler arasında gösterilmektedir. Birinci nesil olarak sayılan mukoadeziflerde yapışma istenenden farklı bölgelerde de meydana gelirken, ikinci nesil polimerler fizyolojik koşullardan daha az etkilenerek istenen bölgeye hedeflenebilmektedir (Andrews ve ark., 2009). Lektinler, hücre duvarındaki karbonhidrat artıklarını biyolojik olarak tanıyabilme yeteneğine sahip, doğal olarak oluşan protein veya glikoproteinlerdir. Mukozal hücreye bağlanmasından sonra, lektinler ya hücre yüzeyinde kalmakta ya da reseptör aracılı adezyon ile endositoz gerçekleşmektedir. Biyoadezyonun bu özel niteliğinden yani hücreye özgü yapışmadan dolayı gerçekleşen işleme sitoadezyon denmektedir (Andrews ve ark., 2009; Russo ve ark., 2016).

2.2.6.7. Tiyole Polimerler (Tiyomerler)

Tiyomerler; poliakrilatlar ve kitosan gibi hidrofilik polimerlerden türetilmiş çok fonksiyonlu ikinci nesil biyoadezif polimerler arasında gösterilmektedir (Andrews ve ark., 2009; Sudhakar ve ark., 2006). Yapılarında bulunan serbest tiyol grupları sayesinde mukozal yüzeyde müsin glikoproteinlerinin sisteince zengin kısımları ile güçlü disülfid bağları kurarak biyoadezyonu arttırmaktadırlar (Duggan ve ark., 2017; Sudhakar ve ark., 2006). İlk nesil biyoadezif polimerler, biyoadezyonu kovalent olmayan ikincil etkileşimlerle sağlarken, tiyomerler kovalent bağlar yoluyla biyoadezyonu sağlamaktadır. Ayrıca iyonik güçlerde ve pH'da meydana gelen değişimlerden daha az etkilenmektedirler (Andrews ve ark., 2009).

Biyoadezyon ve ilaç salım sistemleri için ideal olarak en azından 400 $\mu\text{mol/g}$ tiyol grubu içeriği gerekli olup daha yüksek seviyelerde daha iyi biyoadezyon sağlanmaktadır (Duggan ve ark., 2017). Tiyol grupları ile yapısı değişen polimerlerin biyoadezif özellikleri 100 – 250 kat artırılabilir (Sudhakar ve ark., 2006). Tiyolizasyon işlemi sistein, Traut'un ajanı olan 2-iminotiyolan gibi maddelerle sağlanarak kitosan iminotiyolan, poliakrilik asit sistein, sodyum karboksimetil selüloz sistein tiyomerleri sentezlenmiştir (Duggan ve ark., 2017; Sudhakar ve ark., 2006).

2.2.6.8. Bukkal Uygulamada Kullanılan Diğer Polimerlere Örnekler

Doğal bir polisakkarit olan hiyaluronatlar, yine doğal bir polimer olan ve non-iyonik yapıdaki ksantan zımkı, non-iyonik özellikteki polivinil pırolidon, polietilen glikol, polietilen oksit gibi çeşitli polimerler iyi şişme özelliklerinden dolayı çeşitli biyoadezif formülasyonlarda kullanılmaktadır (Montero-Padilla ve ark., 2017; Russo ve ark., 2016; Yu ve ark., 2014).

2.2.7. Bukkal Biyoadezif İlaç Taşıyıcı Sistemler

Tabletler, yamalar, filmler, diskler, gofretler, pastil, yarı-katı sistemler, partiküler sistemler ve sıvı ilaç şekilleri bukkal ilaç taşıyıcı sistemler olarak uygulanmaktadır (Russo ve ark., 2016).

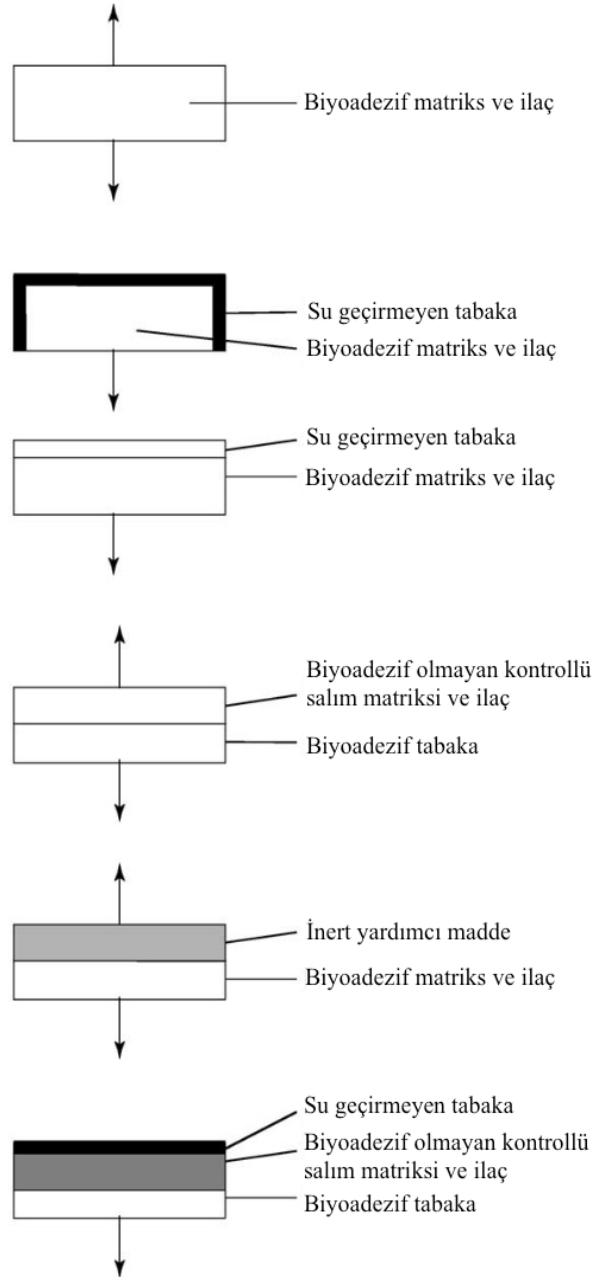
2.2.7.1. Tabletler

Günümüzde bukkal yoldan ilaç uygulanmasında en fazla araştırılan ilaç şekli bukkal tabletlerdir (Laffleur, 2014). Küçük, yüzeyi düz ve yaklaşık 5 – 13 mm çapında genellikle yuvarlak olarak tasarlanmaktadırlar (Laffleur, 2014; Mura ve ark., 2016). Lokal ya da sistemik etki elde etmek için tasarlanan bukkal biyoadezif tabletler geleneksel tabletlerin en büyük problemi olan konuşma, içme gibi ihtiyaçlar esnasında ilacın kullanımına imkan vermektedir (Laffleur, 2014; Montero-Padilla ve ark., 2017).

Bukkal biyoadezif tabletler direkt mukozaya veya bukkal mukoza ve oral bölgeye aynı anda ilaç salan sistemler olmak üzere genellikle iki şekilde tasarlanmaktadır (Montero-Padilla ve ark., 2017). Bu sistemlerin haricinde salımı kontrollü bir şekilde gerçekleştirebilmek amacıyla iki katmanlı tabletler de tasarlanmaktadır (Rossi ve ark., 2005). Tek taraflı salım yapan tabletlerde, tabletin mukoza ile temas etmeyen yüzeyi su geçirmeyen etil selüloz ya da hidrojenlenmiş hint yağı ile kaplanmaktadır (Laffleur, 2014; Montero-Padilla ve ark., 2017, Rossi ve ark., 2005). İki katmanlı biyoadezif tabletler Şekil 2-11’de görüldüğü gibi farklı şekillerde tasarlanarak kontrollü salım gerçekleştirilebilmektedir (Rossi ve ark., 2005).

Bukkal tabletler genellikle doğrudan basım yöntemi ile üretilirken yaş granülasyon yöntemi de çeşitli çalışmalarda kullanılmaktadır. Tablet sertliğinin iyi olması için uygun sıkıştırma basıncının olmasına dikkat edilmelidir (Laffleur, 2014). Doğrudan basım yönteminde formülasyonu oluşturan tüm maddeler karıştırılarak tablet basım makinasında uygun boyuttaki tabletler üretilmektedir. Yaş granülasyon

yönteminde ise bağlayıcı madde ile granül oluşturularak son karıştırma işleminden sonra tablet basımına geçilmektedir (Türkoğlu, 2012).



Şekil 2-11: Bukkal biyoadezif tablet şekilleri (Rossi ve ark., 2005)

Bukkal biyoadezif tabletler hem sistemik hem de lokal etki için tasarlanabilmektedir. Mura ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada konvülsiyonlar ve panik atak gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılan klonazepamın bukkal tabletleri geliştirilmiştir. Klonazepamın hem lokal hem de sistemik etkisini tespit edebilmek

amacıyla iki farklı çeşitte hazırlanan tabletler, doğrudan basım yöntemi ile üretilmiştir. Sistemik etki istenen tabletler etil selüloz, serezin ve Kollicoat denilen üç farklı çözünmeyen sırt tabakası ile çift tabakalı hale getirilmiştir. Farklı polimer çiftleri farklı oranda kullanılarak en iyi kalış süreleri tespit edilmiştir. En iyi kalış süresine sahip polimer çifti olan poloksamer ve düşük molekül ağırlıklı kitosandan üretilen tabletlerde, klonazepamın suda düşük çözünürlüğünden kaynaklanan problemini giderebilmek amacıyla, klonazepam siklodekstrin ile kompleks hale getirilmiştir. Yapılan testler sonucunda Kollicoat kaplı tabletlerin tükürüğe % 0,8'den daha düşük oranda ilaç salımı ile en iyi kaplı tablet olduğu ve siklodekstrin kompleksi ile ilaç permeabilitesinin 5 kat arttığı tespit edilmiştir. Siklodekstrin ile kompleks hale getirilmiş bukkal biyoadezif klonazepam tabletlerin hem lokal hem de sistemik etki için uygun olduğu sonucuna varılmıştır (Mura ve ark., 2016).

Kombine olarak birçok polimerin bir arada kullanıldığı bukkal biyoadezif tablet formülasyonları tasarlanmıştır. Oral biyoyaralanımı düşük (% 50) bir antidiyabetik olan repaglinidin etil selüloz sırt tabakası ile kaplı çift katlı bukkal biyoadezif tabletleri geliştirilmiştir. Karbopol, suda çözünen Polyox (polioksi etilen) reçinesi, PVP K-30, hidroksipropil selüloz, hidroksietil selüloz gibi biyoadezif polimerlerin farklı oranlarda birlikte kullanılarak geliştirildiği tabletlerden hidroksipropil selüloz içermeyen formülasyon 10 saatin sonunda % 87,18 ilaç salımı göstermiştir. Domuz bukkal dokusunda yapılan *ex vivo* permeabilitenin % 41,52 olduğu, bukkal biyoadezif tabletin piyasa ürünlerine bir alternatif olabileceği düşünülmektedir (Biswal ve ark., 2014).

Tablo 2-2'de günümüzde ruhsat almış bukkal biyoadezif tablet formülasyonları ve bu tabletlerin hazırlanmasında kullanılan biyoadezif polimerler belirtilmiştir.

Tablo 2-2: Ticari olarak piyasada bulunan bukkal biyoadezif tabletlere örnekler

Etken madde	Ticari adı	Polimer	Kaynaklar
Fentanil sitrat	Effentora [®]		Sattar ve ark., 2014
Fentanil sitrat	Fentora [®]		Hearnden ve ark., 2012
Hidrokortizon	Corlan [®] pellets	Akasya zmkı	Mansuri ve ark., 2016; Hindmarsh ve Greetzma, 2017
Mikonazol	Loramyc [®]	HPMC	Hearnden ve ark., 2012; www. drugs.com
Mikonazol	Tibozole	Karbopol	Kaundal ve ark., 2015; http://adisinsight.springer.com
Nitrogliserin	Nitrogard		Mansuri ve ark., 2016
Nitrogliserin	Suscard [®]	HPMC	Rossi ve ark., 2005
Proklorperazin	Buccastem [®]	PVP, Ksantan zmkı	Rossi ve ark., 2005
Testosteron	Striant [®] SR	Karbopol 934P, HPMC, Polikarbofil	Rossi ve ark., 2005
Triamsinolon asetonid	Aphtach [®]	HPMC, PAA	Rossi ve ark., 2005

PAA: Poliakrilik asit

2.2.7.2. Yamalar (Patchler)

Bukkal yamalar; genellikle salıma izin vermeyen sırt tabakası, ilacın kontrollü bir şekilde salımını sağlayan rezervuar tabaka ve mukozal yüzeye yapışmayı sağlayan biyoadezif tabaka olmak üzere üç katmandan oluşmaktadır (Laffleur, 2014; Mansuri ve ark., 2016). Bukkal yamalar bu özellikleri açısından transdermal ilaç taşıyıcı sistemlerle benzerlik göstermektedir (Mansuri ve ark., 2016). Bukkal biyoadezif yamalarda geçirimsiz sırt tabaka, ilaç kaybını en düşük seviyelere çekip deformasyonu ve

dağılmayı en aza indirgeyerek ilacın kontrollü bir şekilde salımını sağlamaktadır (Laffleur, 2014).

Bukkal yamalar çözücü döküm yöntemi ve direkt öğütme yöntemi olmak üzere iki şekilde üretilmektedir (Laffleur, 2014; Mansuri ve ark., 2016). Çözücü döküm yöntemi; basit ve düşük maliyetli olması sebebiyle bukkal yamaların üretiminde en sık kullanılan yöntemdir (Karki ve ark., 2016; Morales ve McConville, 2011). Bu yöntemde yamalar; çözeltinin hazırlanması, çözeltideki hava habarcıklarının uzaklaştırılması, çözeltinin uygun bir kaba dökülmesi, kurutma, uygun boyutta kesme ve ambalajlama olmak üzere altı basamakta hazırlanmaktadır (Morales ve McConville, 2011). Çözeltinin karıştırılması sırasında oluşan hava kabarcıklarının giderilmesi homojenite açısından büyük önem taşımaktadır. Ayrıca kurutma süresi ve çözeltinin reolojik özellikleri; içerik tekdüzeliğinin yanı sıra yamanın kalınlığını veya yüzey özelliklerini etkilemektedir. Bu yöntemin dezavantajlarından biri çözündürme için kullanılan organik çözücülerin insan ve çevre sağlığına zararlı olmasıdır (Karki ve ark., 2016). İkinci yöntem olan direkt öğütmede ise, formülasyonu oluşturan bileşenler homojen olana kadar karıştırıldıktan sonra uygun kalınlıkta sıkıştırılmaktadır. Ardından yamalar istenen boyut ve şekilde kesilerek kullanıma sunulmaktadır (Laffleur, 2014).

Cavallari ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada klorheksidinin jel oluşturuca bir polisakkarit olan psilyum içeren bukkal yama formülasyonları çözücü döküm yöntemi ile geliştirilmiştir. Sodyum karboksimetil selüloz ve HPMC'nin biyoadeziv polimer olarak kullanıldığı çalışmalarda plastizer olarak polietilen glikol 400 kullanılmıştır. Formülasyonların lokal periodontal tedavi için avantajlarının araştırıldığı çalışmada psilyumun yavaş salım göstererek uzatılmış salım sağlayabileceği tespit edilmiştir (Cavallari ve ark., 2015).

Partiküler sistemlerin bukkal yama olarak geliştirildiği pek çok çalışma bulunmaktadır. Barzoki ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada insülin nanopartiküllerinin bukkal yama formülasyonları geliştirilmiştir. Permeasyonu artırıcı bir polimer olan dimetil etil kitosan sistein ve tripolifosfat kullanılarak iyonik jelasyon tekniği ile insülin nanopartikülleri sentezlenmiştir. Biyoadeziv polimer olarak farklı oranlarda kitosan ve jelatinin kullanıldığı bu çalışmada gliserin plastizer olarak tercih edilerek etil selüloz ile ilaç geçirmeyen sırt tabakası hazırlanmıştır. İki katlı yamaların *in vitro* salım sonuçlarına göre 8 saatin sonunda % 80'inin üzerinde salım sonuçlarına ulaşılmıştır. Bu

durum *ex vivo* ve *in vivo* çalışmalarla desteklendiği takdirde insülinin bukkal yoldan verilmesi, alternatif bir yol olarak düşünülmektedir (Barzoki ve ark., 2016).

2.2.7.3. Filmler

Bukkal uygulama için son yıllarda üzerinde çok fazla çalışma yapılan filmler, tabletlere göre esnek, yumuşak ve daha konforlu ilaç şekilleridir (Laffleur, 2014). Ayrıca yarı-katı ilaç şekillerine göre daha uzun kalış sürelerine sahip olmaları ve uygulandıkları bölgeden kolayca uzaklaştırılabilmeleri en önemli avantajlarındanır (Borges ve ark., 2015; Laffleur, 2014). Yeme ve içme esnasında filmin yer değiştirebilmesi ya da istenmeden yutulması ise bu ilaç şeklinin dezavantajlarındanır. Sürekli devam eden tükürük salgısı da ilacın uygulama bölgesinde seyrrelmesine neden olabilmektedir (Silva ve ark., 2015). Ayrıca hastada konforsuzluğa sebep olmaması için filmin çok fazla şişmemesi gerekmektedir (Laffleur, 2014). Filmler genellikle polimer, plastizer, renklendirici, tatlandırıcı ve kokuyu maskeleyen için aromatik maddelerden oluşmaktadır (Silva ve ark., 2015). Bukkal filmler, yamalarda olduğu gibi tek tabakalı ya da çok tabakalı olarak tasarlanarak ilacın salımını kontrol edebilmektedir (Borges ve ark., 2015; Silva ve ark., 2015).

Filmlerin üretim yöntemleri yamalara benzemekle birlikte çözücü döküm yöntemi, hot-melt ekstrüzyon ve yeni teknolojilerden olan yazılım teknolojisi ile üretilmektedir (Karki ve ark., 2016; Silva ve ark., 2015). Çözücü döküm yöntemi yamalar bölümünde anlatıldığı için bu başlık altında diğer hazırlama yöntemleri anlatılacaktır.

Hot-melt ekstrüzyon yöntemi granül, tablet, ağızda dağılan tablet ve film gibi farklı ilaç şekillerinin üretilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Organik çözücü kullanılmasına gerek olmayan bu yöntem çözücü döküm yöntemine göre avantajlı olmasına rağmen literatürde bukkal film hazırlanışı için çok az sayıda çalışmada kullanılmıştır (Karki ve ark., 2016; Morales ve McConville, 2011). Bu yöntemin işlem basamaklarında önce formülasyonu oluşturan maddeler bir huni aracılığıyla ekstrüdere aktarılıp ardından karıştırma, öğütme ve yoğurma işlemleri gerçekleştirilmektedir. Karışım eritilip özel kalıplardan geçirilerek istenen nitelikte ürün elde edilmektedir. Ancak bu yöntemde yüksek sıcaklıklarda eritme işlemi gerçekleştirildiği için sıcaklığa duyarlı etken maddeler için uygun değildir (Karki ve ark., 2016).

3D yazılım teknolojisi, bukkal filmlerin üretilmesinde kullanılan yeni bir yöntemdir. Özellikle hastaya özgü ilaç şeklinin hazırlanabilmesi açısından önemli bir avantaj sağlamaktadır. Mürekkep püskürtmeli baskı teknolojisi ve flekso baskı teknolojisi kullanılan yöntemlerden olup flekso baskı yönteminde dakikada 530 film üretilmektedir (Karki ve ark., 2016).

Suda yüksek oranda çözünen ancak emilimi düşük olan B6 vitamininin bukkal filmlerinin geliştirildiği çalışmada lipozomal taşıyıcı sistem geliştirilmiştir. B6 vitamini yüklü lipozomların polimer olarak HPMC ve Na CMC, plastizer olarak propilen glükol kullanımıyla biyoadezif formülasyonları hazırlanmıştır. Çalışmalar neticesinde kontrol grubuna göre daha yüksek permeabilite sonuçlarının elde edilmesi suda çözünen ve çözünmeyen diğer vitaminler için bu sistemlerin geliştirilebileceğini göstermiştir (Abd El Azim ve ark., 2015).

Kanser hastalarında ağrıyı gidermek amacıyla fentanil etken maddesinin bukkal yoldan verilmesi için çeşitli çalışmalar yapılmış ve suda çözünebilen iki katlı bukkal biyoadezif filmler geliştirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa Birliği başta olmak üzere pek çok ülkede kullanılmakta olan bu film Onsolis[®], Breakly[®] ve Painkyl[™] (Tablo 2-3) ticari adlarıyla satılmaktadır (Garnock-Jones, 2016).

Çocuk hastalıklarının tedavisi için de çeşitli etken maddelerin bukkal filmlerinin geliştirilmesi için çalışmalar yapılmıştır. Trastullo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ondansetronun pediatrik kullanımı için bukkal filmler geliştirilmiştir. HPMC ile kitosan, sodyum hiyaluronat ve jelatin gibi farklı polimerler biyoadazyonu sağlayıcı olarak kullanılmıştır. HPMC ile beraber diğer polimerlerin birlikte kullanılmasının permasyonu artırdığı ancak biyoadezif özellikleri pek geliştirmediği tespit edilmiştir. İlacın tek yönlü salım yapması ve tadının maskelenmesi için iki katlı film yapılmasının düşünüldüğü belirtilmiştir (Trastullo ve ark., 2016).

Günümüzde fentanil sitrat ve buprenorfin gibi etken maddelerin bukkal biyoadezif filmleri (Tablo 2-3) piyasada ticari olarak bulunmaktadır (Silva ve ark., 2015; Garnock-Jones, 2016).

Tablo 2-3: Ticari olarak piyasada bulunan bukkal biyoadezif filmlere örnekler

Etken madde	Ticari adı	Polimer	Kaynaklar
Buprenorfin	Belbuca®	HEC, HPC, Na CMC, Polikarbofil	Silva ve ark., 2015; www.accessdata.fda.gov
Fentanil sitrat	Breakyl®	HEC, HPC, Na CMC, Polikarbofil	Garnock-Jones, 2016; www.hpra.ie
Fentanil sitrat	Onsolis®	HEC, HPC, CMC	Mansuri ve ark., 2016; www.fda.gov
Fentanil sitrat	Painkyl™		Garnock-Jones, 2016

2.2.7.4. Diskler

Biyodezif diskler yüksek çap ve kalınlık oranı ile karakterize edilen bukkal biyoadezif ilaç şekillerindendir. Çözücü buharlaştırma ya da sıkıştırma yöntemi ile üretilen bu ilaç şekilleri tabletlere benzemekle birlikte daha ince ve oval yapıdadırlar. Bu ilaç şekilleri erozyona uğrayan ince diskler olarak da ifade edilmektedir (Barua ve ark., 2016).

Jaipal ve arkadaşları tarafından serotonin reseptörünün kısmi agonisti olan anksiyolitik buspiron hidroklorürün bukkal biyoadezif disk formülasyonları geliştirmiştir. 2013 yılında yaptıkları çalışmada biyoadezif polimer olarak ksantan zamkı kullanarak özellikle farklı oranlarda kalsiyum sülfatın biyoadezif özelliklere ve ilaç salımına etkisi incelenmiştir. Kalsiyum sülfat miktarındaki artışın biyoadezyona etkisi olumsuz olurken, ilaç salımının hızlanmasına neden olmuştur. Çünkü kalsiyum iyonları polimerin konformasyonunu etkileyerek su alma yeteneğini ve şişme kapasitesini değiştirmiştir (Jaipal ve ark., 2013). Başka bir çalışmada biyoadezif polimer olarak HPMC, gözenekli yapıyı oluşturmak amacıyla mannitol kullanılarak bukkal diskler doğrudan basım yöntemiyle üretilmiştir. HPMC miktarının artışıyla salım azalırken biyoadezif gücün arttığı tespit edilmiştir. Mannitol miktarının artışı ise poröz yapıdan dolayı salımın daha hızlı olmasına sebep olmuştur (Jaipal ve ark., 2015).

2.2.7.5. Gofretler (Waferlar)

Gofretler, yapı açısından disklerle benzeyen ince, oval ve genellikle iki tabakadan oluşan bukkal biyoadezif ilaç şekilleridir (Chinna ve ark., 2011; Lam ve ark., 2014). Bu iki tabakadan ilki adezif tabaka, ikincisi ise ilacın yüklendiği tabakadır (Chinna ve ark., 2011). Biyoadezif bir polimer, plastizer ve kriyoprotektan bir maddenin sulu karışımının genellikle liyofilize edilmesi ile hazırlanan gofretler, poröz yapıda olduğu için filmlere göre daha hızlı salım yapmaktadır (Lam ve ark., 2014). Klasik jel formülasyonlarının aksine şişen jelimsi yapısı sayesinde ilgili bölgede uzun süre kalarak ilaç salımını gerçekleştirmektedir (Barua ve ark., 2016). Özellikle periodontit ile ilişkili mikrobiyal hastalıkların tedavisi için geliştirilmişlerdir (Chinna ve ark., 2011).

Biyoadezif gofretler genellikle liyofilizasyon teknolojisiyle üretilmektedir. Ayensu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda liyofilize kitosan gofretleri geliştirilerek sığır serum albumininin bukkal yoldan verilmesi incelenmiştir. Plastizer olarak gliserin, kriyoprotektan olarak D-mannitolün kullanıldığı çalışmalarda 7 saat sonunda % 91,5'lik salım düzeylerine ulaşılmıştır. Liyofilize kitosan gofretlerin proteinik yapıdaki ilaçların bukkal yoldan verilmesi açısından önemli bir potansiyele sahip olduğu ortaya konulmuştur (Ayensu ve ark., 2012). Başka bir çalışmada karragen ve pluronik asit kullanılarak suda çözünen parasetamol ve suda çözünmeyen ibuprofenin liyofilize gofret formülasyonları hazırlanmıştır. Yapılan çalışmalar neticesinde karragen ve pluronik asit bazlı liyofilize gofretlerin uygun biyoadezif özellikler göstererek bukkal uygulama için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Kianfar ve ark., 2013).

Bukkal formüllasyonlarda farklı ilaç şekillerine ilave edilen bir madde, ilacın değişik yüzdelerde salım göstermesine neden olabilmektedir. Nikotin replasman tedavisi için HPMC ve sodyum aljinat polimerleri kullanılarak gofret ve film formülasyonları geliştirilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda magnezyum alüminyum silikat ilave edilerek hazırlanan formülasyonların biyoadezif ve salım özellikleri incelenmiştir. Magnezyum alüminyum silikat gofretlerde ilacın hızlı bir şekilde salımını sağlarken, filmlerde daha yavaş bir şekilde salımına neden olmuştur (Okeke ve Boateng, 2017).

Merck&Co. Inc. firması, migren krizinde kullanılan rizatriptan etken maddesinin bukkal biyoadezif gofret formülasyonlarını geliştirmiştir. Bu ürün günümüzde Maxalt® Wafers adıyla ticari olarak satılmaktadır (Mansuri ve ark., 2016; Üstünes, 2016).

2.2.7.6. Jeller ve merhemler

Bu ilaç şekilleri ağız içi bölgede kolay bir şekilde disperse olmaları açısından avantajlı olmalarına rağmen, ilaç uygulama dozu diğer ilaç şekillerine göre net ayarlanamamaktadır (Laffleur, 2014; Paderni ve ark., 2012). Uygulama bölgesinde uzun süre kalamama problemlerinin üstesinden gelebilmek amacıyla biyoadezif polimerlerle formüle edilen bu yarı-katı preparatlar günümüzde özellikle periodontit, stomatit, ağız içi ülser ve yaralar gibi lokal etkinin beklendiği hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Barua ve ark., 2016; Laffleur, 2014; Paderni ve ark., 2012).

2017 yılında yapılan bir çalışmada baş ve boyun kanserine yakalanmış hastaların tedavisinde uygulanan kemoterapi ve/veya radyoterapi ile ilişkilendirilen oral mukozitin tedavisi için doksepin etken maddesini içeren yarı-katı biyoadezif formülasyonlar geliştirilmiştir. Mukoadezif bir pat olan Orabase® ile formüle edilen yarı-katı doksepin formülasyonunun, doksepin içeren gargaralara kıyasla daha kontrollü bir şekilde ilaç salımı yaparak lokal analjezik etkisini göstereceği saptanmıştır (Sanz ve ark., 2017).

Bazı çalışmalarda hidrojelden ağız içine ilaç sızmasını engellemek amacıyla kaplama yapılmıştır. Xu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada lidokain hidroklorürün genipin ile çapraz bağlı kateşol-kitosan bazlı hidrojel formülasyonları geliştirilmiştir. Formülasyonun aynı zamanda etil selüloz ile üst kısmı kaplanarak çalışmalar için dondurularak kurutulmuştur. Yapılan biyoadezyon testlerinde kateşolün, formülasyonun biyoadezif özelliklerini geliştirdiği tespit edilmiştir. Tavşanlar üzerinde yapılan *in vivo* çalışmalarda ticari preparatlara kıyasla bu formülasyonların etken maddeyi daha yüksek plazma konsantrasyon seviyelerine ulaştırdığı belirlenmiştir (Xu ve ark., 2015). Tablo 2-4'te ticari olarak piyasada bulunan bazı bukkal biyoadezif yarı-katı ürünler listelenmiştir.

Tablo 2-4: Piyasada bulunan bukkal biyoadezif yarı-katı formülasyon örnekleri

Etken madde	Ticari adı	Polimer	Kaynaklar
–	Gelclair®	PVP, HEC	Üstünes, 2016
–	Orabase®	Jelatin, Pektin	Mansuri ve ark., 2016
Amleksanoks	Aphthasol®	Jelatin, Pektin, Na CMC	Hearnden ve ark., 2012; www.accessdata.fda.gov
Amleksanoks	Aphtheal	Jelatin, Pektin, Na CMC	Murray ve ark., 2005; www.drugs.com
Klorheksidin diglukonat	Corsodyl® gel	HPMC	Smith ve ark., 2013; Mansuri ve ark., 2016
Kolin salisilat & Setalkonyum klorür	Bonjela	HPMC	Kleeman ve Engel, 2001; Gupta ve ark., 2017
Triamsinolon asetonid	Oralone®	Jelatin, Pektin, Na CMC	Hearnden ve ark., 2012; www.drugs.com

2.2.7.7. Pastil

Ağız içerisinde çözünerek ya da dağılarak etki göstermesi amaçlanan ve yavaş salım yapan ilaç şekilleridir (Chinna ve ark., 2011; Montero-Padilla ve ark., 2017). İçerisinde tatlandırıcı ve aromatik maddeler içeren pastiller uygulamayı kolaylaştırmak için bir aplikatör ile hastaya verilmektedir (Montero-Padilla ve ark., 2017). Uzatılmış salım sağlayan biyoadezif pastiller antimikrobiyal, kortikosteroid, antibiyotik, antifungal ve lokal anestezi etkili ilaç etken maddelerini içerebilmektedir (Chinna ve ark., 2011).

Lexicomp firması tarafından kanser tedavisi gören hastalarda ağrıyı dindirmek için kullanılan fentanil sitratın bukkal biyoadezif pastil formülasyonu geliştirilmiştir. Biyoadezif polimer olarak karbopol 934P ve sodyum karboksimetil selülozun kullanıldığı bu formülasyon Fentanyl Oralet® ticari adıyla piyasada bulunmaktadır (Kaundal ve ark., 2015; Lam ve ark., 2014).

2.2.7.8. Partiküler Sistemler

Biyoadezif partiküler sistemler küçük yapılarından dolayı mukusa daha iyi difüze oldukları için tabletlere göre daha gelişmiş ilaç taşıyıcı sistemlerdir (Madhav ve ark., 2009). Ayrıca tabletlere göre daha az iritasyona sebep olup hasta uyuncunu artırmaktadırlar. Partiküler sistemler süspansiyon, aerosol veya merhem şeklinde bukkal mukozaya uygulanabilmektedir (Barua ve ark., 2016).

Pistone ve arkadaşları yaptıkları çalışmada polisakkarit bazlı bukkal biyoadezif nanopartiküler sistemler geliştirmişlerdir. Kitosan, aljinat ve pektinden iyonotropik jelasyon tekniği ile tripolifosfat veya çinko kullanılarak hazırlanan nanopartiküllerin sitotoksisteleri TR146 bukkal epitel hücrelerinde test edilmiştir. Aljinat nanopartiküllerinin tükürük salgısına en dayanıklı, kitosan partiküllerinin ise hücre uyumluluğu en yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ancak çinko ile hazırlanan aljinat ve pektin nanopartiküllerinin sitotoksik olduğu belirlenmiştir. Bu nanopartiküllerin bukkal ilaç taşıyıcı sistemler olarak çeşitli etken maddeler için kullanılabileceği raporlanmıştır (Pistone ve ark., 2017).

Jiang ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada nonsteroidal antienflamatuvar bir ilaç olan benzydamin hidroklorürün kitosan ve türevleri kullanılarak püskürterek kurutma yöntemiyle biyoadezif mikroküreleri hazırlanmıştır. Kitosan içermeyen mikrokürelerin *in vitro* salım ortamında 5 dakikada % 100 seviyelerine çıkarken aynı durum kitosan mikrokürelerinde 30 dakikada gerçekleşmiştir. Ayrıca kitosan mikroküreleri bukkal mukozada yaklaşık 25 kat daha uzun süre kalabilmiştir. Bu çalışmaların sonucunda kitosan mikrokürelerin oromukozal hastalıkların tedavisi için uzatılmış salım sağlayarak önemli bir model olduğu vurgulanmıştır (Jiang ve ark., 2017).

2.2.7.9. Sıvı İlaç Şekilleri

Biyoadezif sıvı ilaç şekilleri genellikle spreyler ya da ağız yıkama preparatlarıdır. Bu preparatlar mukozayı kaplayarak ilaç molekülünün absorpsiyonunu sağlamaktadır. Genellikle aftöz stomatit, oral mukozit, tükürük salgısının azlığı ve oral kanser tedavisinde kullanılmaktadırlar (Paderni ve ark., 2012). Tükürük salgısının azlığı veya yokluğu için suni tükürük preparatları geliştirilmiştir. Wyvern ve Antigen firmaları tarafından biyoadezif polimer olarak sodyum karboksimetil selüloz kullanılarak bukkal biyoadezif sprey formülasyonları piyasaya sunulmuştur. Wyvern firması SalivezeTM,

Antigen firması ise Luborant® ticari adıyla bu suni tükürük spreylerinin satışını yapmaktadır (Kaundal ve ark., 2015).

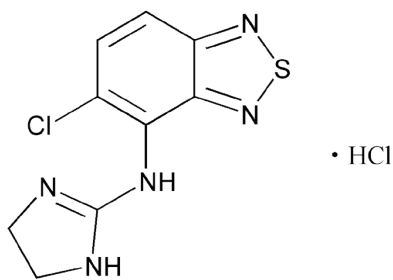
İnsülinin oral mukozaya uygulanması ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Generex Biotechnology firmasının geliştirdiği Oral-lyn™ sıvı aerosol sistem, ilacın hızlı bir şekilde oral epitelden emilip kan dolaşımına ulaşarak etki göstermesi ile yemek sonrası oluşan glukoz seviyesini kontrol etmeyi sağlamaktadır (Donnelly ve Woolfson, 2017). Ocak 2017’de oral mukozadan insülin uygulanması ile ilgili ABD, Kanada, Monako, İsviçre, Lihtenştayn ve Avrupa Birliği’nden patent alınmıştır. Tip I ve Tip II diyabetin tedavisi için raflarda yerini alan Oral-lyn™ isimli bu ürünün glukoz intoleransı tedavisi için gerçekleştirilen Faz II çalışmaları Mart 2017’de durdurulmuştur (<http://adisinsight.springer.com/drugs/800010312>).

2.3. Tizanidin Hidroklorür

Tizanidin hidroklorür, benzotiyadiazol türevi santral kas gevşetici etkili bir etken maddedir (Kayaalp, 2000).

2.3.1. Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Tizanidin hidroklorür (Şekil 2-12) beyaz veya hafif sarı renkte kristal toz görünümündedir. Erime derecesi 290 °C’dir (www.mhra.gov.uk). Suda ve metanolde kolay, % 96’lık etanolde ise çok az çözünmektedir (Türk Farmakopesi, 2016; www.accessdata.fda.gov).



Şekil 2-12: Tizanidin hidroklorürün kimyasal formülü (www.pharmacopeia.cn)

Açık formülü: 5-kloro-*N*-(4,5-dihidro-1*H*-imidazol-2-il)-2,1,3-benzotiyadiazol-4-amin hidroklorür

Kapalı formül: C₉H₈ClN₅S. HCl

Molekül ağırlığı: 290,18 (Kleeman ve Engel, 2001).

2.3.2. Farmakolojik Özellikleri

Santral etkili bir kas gevşetici olan tizanidinin başlıca etki yeri omurilik olup presinaptik α -2 reseptörlerini bloke ederek, *N*-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerini stimüle eden eksitatuvar aminoasitlerin serbestlenmesini inhibe etmektedir. Kas hipertonisinden sorumlu olan spinal internöronların polisinaptik sinyal geçişini de inhibe ederek kas tonusunu azaltmaktadır. Kas gevşetici özelliklerinin haricinde orta derecede santral analjezik etkisi de bulunmaktadır (Üstünes, 2016).

α -2 adrenerjik agonisti olarak multipl sklerozla veya inme ile ilişkili spastisitenin semptomatik ağrılarının hafifletilmesinde, omurilik yaralanmaları ve hastalıklarında kullanılmaktadır (Standaert ve Roberson, 2011). Bel ağrısı tedavisi ve kas-iskelet sistemi rahatsızlıkları ile ilişkilendirilen ağrılı kas spazmlarında da kullanılmaktadır (Rio-Sancho ve ark., 2016). Ayrıca spastik hastalarda kas tonusunun azaltılmasında etkili olduğu görülmüştür (Zheng ve ark., 2015).

Tizanidin; spazmolitik etkili olan klonidin ve deksmedetomidinden daha az kardiyovasküler etkilere neden olduğu dozlarında spastisiteyi azaltmaktadır. Tizanidin, klonidinin 10 – 15 katı daha düşük seviyede kan basıncını düşürücü etkiye sahiptir. Ayrıca oral tizanidinin diazepam, baklofen ve dantrolenin kas spazmlarındaki rahatlatıcı etkileriyle karşılaştırılabilir seviyede bir etkinliğinin olduğu klinik denemelerde gösterilmiştir. Bu kullanımları ile beraber tizanidinin kronik migren tedavisinde de etkili olduğu görülmektedir (Kruidering-Hall ve Campbell, 2014).

Tizanidinin en sık görülen yan etkisi sedasyon olup özellikle tedavinin başlangıcında somnolens yapabilmektedir (Kayaalp, 2000). Bunun için doz ayarlamasını iyi yapmak gerekmektedir (Üstünes, 2016). Terapötik indeksi dar bir ilaç olan tizanidinin plazma konsantrasyonları hastalar arasında değişkenlik gösterdiği için doz gereksinimi hastaya özgü belirlenmektedir (Kruidering-Hall ve Campbell, 2014; Üstünes, 2016). Başlangıçta günde üç defa 2 mg olarak verilmesi, yan etkilerin en aza indirgenmesi açısından tavsiye edilmektedir (Kayaalp, 2000; Üstünes, 2016).

Ağrılı kas spazmlarının tedavisinde normal doz günde üç defa 2–4 mg; ciddi vakalarda gece yatmadan ilave 2–4 mg alınabilmektedir. Nörolojik bozukluklara bağlı spastisitede başlangıçta günlük doz 6 mg'ı geçmeyecek şekilde günde üç defa kullanılmaktadır. Bu doz her yarım haftada ya da her haftada 2–4 mg artırılabilir. Tedavide istenen terapötik yanıt, genellikle eşit aralıklarla 3–4

defada alınan günlük 12 – 24 mg arasındaki dozla sağlanabilmektedir. Günlük doz 36 mg'ı geçmemelidir (Üstünes, 2016).

2.3.3. Farmakokinetik Özellikleri

Tizanidin oral uygulamada çok iyi absorbe olmaktadır (Abdel Azim ve ark., 2014). En yüksek plazma konsantrasyon seviyesine yaklaşık 1 saat sonra ulaşmaktadır. Karaciğerde yüksek miktarda ilk geçiş etkisine maruz kaldığı için oral biyoyararlanımı %34'tür. 4 mg tekli ve tekrarlı doz uygulamasını takiben tizanidinin ortalama maksimum plazma konsantrasyonu (C_{max}) sırasıyla 12,2 ng/mL (CV %10) ve 15,6 ng/mL (CV %13)'dir (Üstünes, 2016).

Geniş bir şekilde vücuda dağılan tizanidin yaklaşık %30 oranında plazma proteinlerine bağlanmaktadır (Abdel Azim ve ark., 2014; Üstünes, 2016). Tizanidinin farmakokinetik parametreleri cinsiyete göre değişkenlik göstermemektedir (Üstünes, 2016). Tizanidin karaciğerde başlıca CYP 450 enzimleri tarafından metabolize edilmekte olup metabolitlerin belirgin bir aktiviteyi bulunmamaktadır (Üstünes, 2016). Eliminasyon yarı-ömrü 2,5 saat olup metabolitleri genel olarak (%70) böbreklerden atılmaktadır (Üstünes, 2016; Zheng ve ark., 2015).

2.3.4. Tizanidin Hidroklorürün Türkiye ve Dünya'daki Müstahzarlarına Örnekler

Tablo 2-5: Tizanidin hidroklorürün Türkiye ve Dünya'daki müstahzalarına bazı örnekler (www.drugbank.ca; Üstünes, 2016)

Ticari adı	Doz	Dozaj Şekli	Firma	Ülke
Sirdalud	2 mg	30 tablet/kutu	Novartis	Türkiye
Sirdalud MR – Mikropellet kapsül	6 mg	10 kapsül/kutu	Novartis	Türkiye
Zanaflex	6 mg	kapsül	Lake Erie Medical & Surgical Supply Db	ABD
Tizanidine	4 mg	tablet	Aa Pharma Inc	Kanada
Tizanidine hydrochloride tablets	4 mg	kapsül	Actavis Pharma Company	ABD

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Madde, Araç ve Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Amonyak (% 25)	: Sigma, ABD
Amonyum asetat	: Sigma, ABD
Aseton	: Sigma, ABD
Asetonitril	: Merck, ABD
Azelaik asit	: Fluka, ABD
Dibütil ftalat	: Aldrich, ABD
EDAC	: Sigma, ABD
Etanol	: Sigma-Aldrich, ABD
Etil asetat	: ZAG Kimya, Türkiye
Etil selüloz	: Sigma, ABD
Gliserin	: Doğa İlaç, Türkiye
Glutamik asit	: Sigma, ABD
Hekzan	: Sigma-Aldrich, ABD
Hidroklorik asit	: Sigma, ABD
Kalsiyum klorür, susuz	: Merck, ABD
Ketamin HCl (Ketasol)	: Richter Pharma Ag, Avusturya
Kitosan (10 cP)	: Primex, İzlanda
Kitosan (7 cP)	: Primex, İzlanda
Ksilazin HCl (Rompun)	: Bayer, Almanya
Magnezyum stearat	: Doğa İlaç, Türkiye
Metanol	: Sigma-Aldrich, ABD
Müsin, Tip III	: Sigma-Aldrich, ABD

pH 6,8 fosfat tampon tableti	: Merck, ABD
pH 7,4 fosfat tampon tableti	: Sigma, ABD
Potasyum klorür	: Sigma, ABD
Sirdalud 2 mg	: Novartis, Türkiye
Sodyum hidroksit	: Sigma-Aldrich, ABD
Tizanidin hidroklorür	: TCI Chemicals, Japonya

3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Buzdolabı	: Electrolux, İsveç
Cam ve plastik malzemeler	: İnterlab, İldam, Çalışkan Cam, Türkiye
Diyaliz tüpü	: Serva, Almanya
EDTA'lı tüp	: FL Medical, İtalya
Elek takımı ve cihazı	: Retsch AS 200, Almanya
Erime derecesi tayin cihazı	: Stuart SMP 30, İngiltere
Etüv	: Ecocell MMM Medcenter, Almanya
Etüv	: JSR JSON 100, Kore
Filtre kağıdı (0,2 µm)	: Mecherey Nagel, Almanya
Franz Difüzyon Hücre Sistemi	: Permeagear, ABD
Friabilitör	: Pharmatest PTF 20E, Almanya
FTIR spektroskopisi	: Perkin-Elmer, ABD
Hassas terazi	: Ohaus Adventurer Pro, ABD
Homojenizatör	: Heidolph Silent Crusher M, Almanya
HPLC	: Agilent 1100, ABD
HPLC	: Shimadzu LC-2010C, Japonya
HPLC kolonu	: GL Sciences, Japonya
Isıticılı manyetik karıştırıcı	: Heidolph, Almanya
Isıticılı manyetik karıştırıcı, çoklu	: IKA RT 15 power, Almanya

Kumpas	: Guanglu, Çin
Liyofilizatör	: VirTis Advantage Plus, ABD
Mikropipet takımı	: Eppendorf, Almanya
Öğütme makinası	: Sinbo, Türkiye
pH metre	: WTW, Almanya
Santrifüj	: Nüve NF 048, Türkiye
Soğutmalı santrifüj	: Nüve NF 400R, Türkiye
Tablet baskı makinası	: Yeniyurt, Türkiye
Tablet sertlik tayin cihazı	: Pharmatest PTB311, Almanya
Tekstür analiz cihazı	: Stable Micro Systems, İngiltere
Ultra saf su cihazı	: Purelab Ultra-Elga, İngiltere
UV spektrofotometre	: Shimadzu UV 1800, Japonya
Vorteks	: VWR, ABD
Yatay Çalkalayıcı	: Cleaver Scientific, Birleşik Krallık

3.2. Yöntem ve Deneyler

3.2.1. Tizanidin Hidroklorürün Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi

3.2.1.1. UV Spektrumu

Tizanidin hidroklorürün pH 6,8 fosfat tamponunda 10 µg/mL konsantrasyonunda çözeltisi hazırlandı. 200–400 nm aralığında ve 0,5 nm hassasiyetinde çalışılarak 1 cm'lik kuvarz küvetlerin içinde kör denemeye karşı yapılan ölçümde etken maddenin spektrumları alınarak en yüksek absorbans yaptığı dalga boyu ($\lambda_{\max}$) tespit edildi (Paladugu ve ark., 2013).

3.2.1.2. FTIR Spektrumu

Perkin Elmer marka cihazın ATR probu ile tizanidin hidroklorür sıkıştırılarak 400 – 4000 cm^{-1} spektral bölgede ölçümler yapıldı.

3.2.1.3. Erime Derecesi Tayini

Stuart SMP 30 erime derecesi tayin cihazında kılcal tüp içinde tizanidin hidroklorürün erime derecesi tayini üç defa tekrarlanarak gerçekleştirildi.

3.2.2. Tizanidin Hidroklorürün Miktar Tayini İçin HPLC Metot ve Validasyonu

3.2.2.1. HPLC Metodunun Oluşturulması

Tizanidin hidroklorürün miktar tayini için HPLC metodu geliştirildi. Kullanılan HPLC cihazı; UV dedektör, gradient pompa ve termostabil kolon ünitesine sahiptir.

Çalışmada C18: 4,6x150 mm, 5 µm kolon (InterSustain C18, GL. Sciences) kullanıldı. Mobil faz 0,1 M amonyum asetat/asetonitril (85/15), akış hızı 1 mL/dk, enjeksiyon hacmi 10 µL ve dedektör sıcaklığı 30 °C olarak belirlendi (Ali ve ark., 2014). UV spektrofotometre ile yapılan ölçümde tizanidin hidroklorürün en yüksek absorbansı gösterdiği dalga boyunda (λ_{max}) çalışıldı.

Mobil fazı hazırlamak için gerekli miktar amonyum asetat, ultra saf su içinde çözündürülerek vakum filtrasyon sistemi yardımıyla selüloz asetat filtre kağıdından (0,2 µm por çapı) süzüldü. Ardından HPLC standartlarına uygun asetonitril ve 0,1 M amonyum asetat ayrı şişelerde sisteme verildi. Enjeksiyon öncesinde, en az bir saat boyunca mobil faz ile akış sağlanarak sistemin dengeye gelmesi sağlandı.

3.2.2.2. Doğrusallık

Bir analitik prosedür için doğrusallık testi, belirli aralıklarda örnek maddenin farklı konsantrasyonlarının orantılı olduğunu ortaya çıkarmak için gerçekleştirilmektedir (Farn ve ark., 2017).

Tizanidin hidroklorürün stok çözeltisinin hazırlanması için öncelikle 0,1 g etken madde 50 mL mobil fazda çözündürüldü. Ardından 100 mL'lik balon jodede mobil faz ile hacim tamamlanarak 1 mg/mL konsantrasyonda çözelti hazırlandı. Bu çözeltiden 1 mL alınıp 100 mL'ye tamamlanarak 10 µg/mL konsantrasyonda stok çözelti elde edildi.

Hazırlanan stok çözeltiden 10 farklı konsantrasyonda (0,25; 0,5; 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5; 20 µg/mL) mobil faz ile seyreltilerek numuneler hazırlandı. HPLC cihazında ölçüm gerçekleştirildi. İşlemlerin sonunda kalibrasyon grafiği çizilerek kalibrasyon denklemi ve determinasyon katsayısı (r^2) belirlendi.

3.2.2.3. Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirlik

Doğruluk, geri elde edilebilirliğin yüzdesi olarak ifade edilmektedir. Bu testte, numunedeki maddenin güven aralıkları içerisinde olup olmadığı tespit edilmektedir (ICH, 2005).

Üç farklı konsantrasyondaki (5; 7,5 ve 10 µg/mL) numunenin ölçümleri yapılarak alan değerlerinden konsantrasyonları bulundu ve aşağıdaki formül yardımıyla % geri elde edilebilirlik değerleri hesaplandı.

$$\% \text{ Geri elde edilebilirlik} = K_o / K_n \times 100$$

K_o : Ölçülen konsantrasyon değeri

K_n : Nominal (sözde/teorik) konsantrasyon değeri (Angelo ve ark., 2016).

3.2.2.4. Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik & Tekrar Elde Edilebilirlik)

Kesinlik, bir değer in tekrarlanabilme yeteneği veya bireysel test sonuçlarının birbirine yakınlığının bir ifadesi olarak validasyon testlerinde kullanılmaktadır (Söğüt Ertaş ve Kayalı, 2005). Ayrıca tekrar edilebilirlik (repeatability) ve tekrar elde edilebilirlik (reproducibility) testleri ile kesinlik değerlendirmesi yapılmaktadır (ICH, 2005). Yapılan çalışmalarda varyasyon katsayısının % 2'den düşük çıkması, yöntemin kesinliğini ifade etmektedir (Farn ve ark., 2017).

Kesinlik çalışması için 7,5 µg/mL konsantrasyonundaki numune on defa ölçülerek ortalama, standart sapma ve varyasyon katsayısı hesaplandı (Üstündağ-Okur, 2012). Tekrar edilebilirlik çalışmasında stok çözeltiden iki farklı günde hazırlanan aynı konsantrasyondaki (7,5 µg/mL) numunenin HPLC'ye en az altı defa peş peşe enjekte edilmesiyle elde edilen verilerin ortalama, standart sapma ve varyasyon katsayısı hesaplandı (Üstündağ-Okur, 2012).

Tekrar elde edilebilirlik çalışması kapsamında ise iki farklı analist tarafından stok çözeltiden altı adet aynı konsantrasyonda (10 µg/mL) numuneler hazırlanarak ölçüm yapıldı. Elde edilen sonuçların ortalama, standart sapma ve varyasyon katsayısı hesaplandı (Üstündağ-Okur, 2012).

3.2.2.5. Özgünlük, Seçicilik

Analitik yöntemde etken maddenin gösterdiği pik değerlerinin etken madde haricinde başka maddelerden kaynaklanıp kaynaklanmadığının tespiti dir. Yöntemde

HPLC çalışması neticesinde görülen pikin homojenliği ve saflığı belirlenmektedir (Santhosh ve ark., 2014). Etken madde içermeyen boş formülasyonlarla etken madde içeren formülasyonların gösterdikleri pikler karşılaştırılarak tespit edildi (ICH, 2005).

3.2.2.6. Teşhis ve Tayin Sınırları (LOD ve LOQ)

Bir maddenin tayin edilebileceği en düşük konsantrasyon değeri teşhis sınırı (limit of detection: LOD) olarak ifade edilmektedir. Tespit edilebilirlik sınırı olarak da ifade edilmektedir. Sinyal-gürültü (signal to noise) oranının belirlenmesi için bilinen en düşük konsantrasyonlardaki numuneler ile boş numunelerin ölçümleri yapılarak alınacak yanıtlar değerlendirilmektedir. Teşhis sınırını belirleyebilmek için sinyal-gürültü oranı genellikle 3:1 veya 2:1 oranında kabul edilmektedir. Teşhis sınırı aşağıdaki formül kullanılarak standart sapma üzerinden hesaplanabilmektedir.

$$LOD = 3,3 \times \sigma / S \text{ (ICH, 2005)}$$

σ : Alınan yanıtın standart sapması

S : Kalibrasyon eğrisinin eğimi

Tayin sınırı (limit of quantitation: LOQ) ise etken maddenin hesaplanabileceği en düşük konsantrasyonu ifade etmektedir. Hesaplanabilirlik limiti olarak da ifade edilmektedir. Burada detektörün hassasiyeti belirlenmektedir. Tayin sınırı aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır (ICH, 2005; Santhosh ve ark., 2014).

$$LOQ = 10 \times \sigma / S \text{ (ICH, 2005)}$$

σ : Alınan yanıtın standart sapması

S : Kalibrasyon eğrisinin eğimi

Teşhis ve tayin sınırları, en düşük konsantrasyondaki numunelerin analiz edilmesi ile yukarıdaki formüller kullanılarak hesaplandı (Üstündağ-Okur, 2012).

3.2.2.7. Dayanıklılık

Etken maddenin 10 µg/mL konsantrasyondaki çözeltisi 15., 30., 60., 120. dakikalarda, 24. ve 48. saatlerde ölçülerek alan değerlerine gelen konsantrasyon değerlerinde değişiklik olup olmadığı belirlendi (Üstündağ-Okur, 2012).

3.2.3. Tizanidin Hidroklorürün Çözünürlük Çalışmaları

Tizanidin hidroklorürün asetonitril, etanol, metanol, aseton, distile su, % 1 asetik asit ve pH 6,8 fosfat tamponundaki çözünürlükleri belirlendi. Öncelikle 1 mg etken madde 1 mL çözücü içerisine ilave edilerek 1 dakika boyunca vortekste çözündürülmeye çalışıldı. Çözeltilere bulanıklık olana kadar etken madde ilave edildi. Ardından 24 saat boyunca yatay çalkalayıcıda bekletildi. Süre sonunda 13.200 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi. Üstteki berrak kısımdan 0,5 mL alınarak HPLC cihazında etken maddenin farklı çözücülerdeki çözünürlükleri belirlendi. Çalışmalar üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi (Chinnala ve ark., 2015; Choi ve ark., 2012).

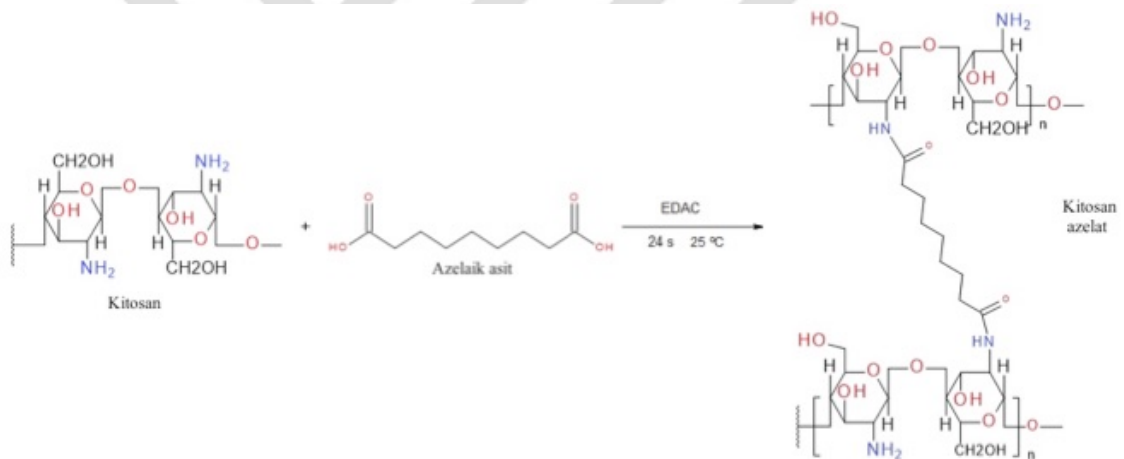
3.2.4. Kitosan Türevi Polimerlerin Hazırlanması

Kitosan türevi yeni polimerler glutamik asit, hidroklorik asit ve azelaik asit kullanılarak hazırlandı. Düşük molekül ağırlıklı/viskoziteli kitosandan kitosan glutamat hazırlayabilmek için 1:1 molekül ağırlığı oranında olacak şekilde glutamik asit ve kitosan kullanıldı (Cerchiara ve ark., 2003).

Hesaplamalara uygun olarak kitosan glutamat hazırlayabilmek için hesaplı miktar kitosanın (7 cP) üzerine glutamik asit ilave edildi. Ardından distile su eklenerek reaksiyonun gerçekleşmesi için manyetik karıştırıcı üzerinde 12 saat boyunca karıştırıldı. Karıştırma neticesinde hazırlanan çözelti ortamındaki fazla kalan artık maddeleri uzaklaştırabilmek için diyaliz işlemi gerçekleştirildi. Bunun için diyaliz tüpüne (12.000 – 14.000 Da) çözelti dökülerek tüpün ağzı iki tarafından sıkıca kapatıldı. Tüp, distile su içeren 4 L’lik balonların içerisine konularak günde iki defa ortamın suyu üç gün boyunca değiştirildi. Hazırlanmış olan kitosan çözeltisi plastik kabın içinde liyofilizatöre yerleştirildi. İki günün sonunda liyofilizatörde çözücünün uzaklaştırılması neticesinde kitosan glutamat polimeri elde edildi. Aynı işlemler 10 cP kitosan kullanılarak kitosan glutamat hazırlanması için tekrar edildi. Kitosan klorür hazırlayabilmek için yukarıda anlatılan işlemlerin aynısı glutamik asit yerine hidroklorik asit kullanılarak gerçekleştirildi.

Kitosan azelati hazırlayabilmek amacıyla kitosan (7 cP) % 1’lik asetik asit çözeltisinde çözündürüldü. Ardından mol bakımından 6 mol glukozamin ünitesine karşılık 1 mol azelaik asit olacak şekilde azelaik asit, etanol içerisinde ve 1 mol glukozamin ünitesi başına 0,0001 mol EDAC da yine aynı kabın içerisinde çözündürülerek birbiri içerisine ilave edilip 25 dakika boyunca reaksiyonun

tamamlanması için manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Ardından bu karışım kitosan-asetik asit çözeltisine ilave edildi. Etanolün oda sıcaklığında buharlaşarak uzaklaşması ile ortadan kaybolması ve reaksiyonun tamamlanması için bir gün boyunca karıştırmaya devam edildi. Reaksiyon sonunda oluşan ürün, amonyak çözeltisinde çöktürüldü ve 4.500 rpm’de 5 dakika santrifüj edilerek su ile pH’sı nötral oluncaya kadar yıkandı. Hazırlanmış olan karışım geniş plastik bir kabın içine dökülerek liyofilizatöre yerleştirildi. İki günün sonunda liyofilizatörde çözücünün uzaklaştırılması neticesinde kitosan azelat polimeri elde edildi. Aynı işlemler 10 cP kitosan kullanılarak kitosan azelat hazırlanması için tekrar edildi. Böylelikle tüm bu işlemlerin sonunda 7 cP ve 10 cP’lık kitosanolardan altı farklı polimer elde edildi. Kitosan ve azelaik asidin reaksiyonu sonucu oluşan kitosan azelat polimerinin yapısı Şekil 3-1’de gösterilmiştir.



Şekil 3-1: Kitosan ve azelaik asidin reaksiyonu sonucu kitosan azelat oluşumu

3.2.4.1. Polimerlerin FTIR Spektroskopisi ile Kontrolü

Hazırlanan polimerlerin FTIR spektroskopisinde $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ spektrum aralığında spektrumları belirlenip, kitosanın spektrumu ile karşılaştırılarak farklılıklar tespit edildi (Kassem ve ark., 2014).

3.2.5. Etken ve Yardımcı Madde Etkileşimlerinin Belirlenmesi

Kullanılacak yardımcı maddelerin tizanidin hidroklorür ile uyumlu olup olmadığını tespit edebilmek amacıyla numunelerin FTIR spektroskopisi ile olası etkileşimleri değerlendirildi. $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ spektrum aralığında etken madde, yardımcı

maddeler ve etken madde ile yardımcı maddelerin 1:1 oranındaki karışımlarının spektrumları belirlenerek karşılaştırma yapıldı (Kassem ve ark., 2014).

3.2.6. Bukkal Yama Formülasyonlarının Hazırlanması ve Fizikokimyasal Analizler

3.2.6.1. Bukkal Yama Formülasyonlarının Hazırlanması

Bukkal yama formülasyonları Tablo 3-1, Tablo 3-2 ve Tablo 3-3'te olduğu gibi polimer olarak farklı oranlarda kitosan klorür ya da kitosan glutamat ya da kitosan azelat, plastizer olarak gliserin kullanılarak çözücü döküm yöntemiyle hazırlandı. Öncelikle polimer ve gliserin tartılarak bir behere alındı ve kullanılacak petri kabına (çapı 6 cm) hacim olarak uygun olması açısından toplam ağırlık 14 g olacak şekilde distile su ya da % 1 asetik asit çözeltisi ilave edildi (Abruzzo ve ark., 2012). 12 saat 30–40 °C ve 350 rpm'de karıştırılarak çözünme gerçekleştirildi. Hazırlanan homojen çözelti 6 cm çapına sahip plastik petri kabına dökülerek 50 °C'de (Abruzzo ve ark., 2012; Shiledar ve ark., 2014) etüvde çözücü buharlaşana kadar 16 saat kurutulmaya bırakıldı.

Tablo 3-1: Kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan yamaların içerikleri

Formülasyon / Madde (g)	Kitosan azelat (7 cP)	Kitosan azelat (10 cP)	Gliserin	% 1 asetik asit (km)
A7-22	0,28	-	0,28	14
A7-23	0,28	-	0,42	14
A7-32	0,42	-	0,28	14
A7-33	0,42	-	0,42	14
A7-42	0,56	-	0,28	14
A7-43	0,56	-	0,42	14
A10-22	-	0,28	0,28	14
A10-23	-	0,28	0,42	14
A10-32	-	0,42	0,28	14
A10-33	-	0,42	0,42	14
A10-42	-	0,56	0,28	14
A10-43	-	0,56	0,42	14

A: Kitosan azelat; km: Kafi miktar

Tablo 3-2: Kitosan klorür polimerleri ile hazırlanan yamaların içerikleri

Formülasyon / Madde (g)	Kitosan klorür (7 cP)	Kitosan klorür (10 cP)	Gliserin	Distile su (km)
C7-22	0,28	-	0,28	14
C7-23	0,28	-	0,42	14
C7-32	0,42	-	0,28	14
C7-33	0,42	-	0,42	14
C7-42	0,56	-	0,28	14
C7-43	0,56	-	0,42	14
C10-22	-	0,28	0,28	14
C10-23	-	0,28	0,42	14
C10-32	-	0,42	0,28	14
C10-33	-	0,42	0,42	14
C10-42	-	0,56	0,28	14
C10-43	-	0,56	0,42	14

C: Kitosan klorür

Tablo 3-3: Kitosan glutamat polimerleri ile hazırlanan yamaların içerikleri

Formülasyon / Madde (g)	Kitosan glutamat (7 cP)	Kitosan glutamat (10 cP)	Gliserin	Distile su (km)
G7-22	0,28	-	0,28	14
G7-23	0,28	-	0,42	14
G7-32	0,42	-	0,28	14
G7-33	0,42	-	0,42	14
G7-42	0,56	-	0,28	14
G7-43	0,56	-	0,42	14
G10-22	-	0,28	0,28	14
G10-23	-	0,28	0,42	14
G10-32	-	0,42	0,28	14
G10-33	-	0,42	0,42	14
G10-42	-	0,56	0,28	14
G10-43	-	0,56	0,42	14

G: Kitosan glutamat

3.2.6.2. Ağırlık Tekdüzeliliği

1 x 1 cm² boyutlarında kesilmiş olan yamalar her bir formülasyondan 10 adet olacak şekilde terazide tartılarak ağırlık değerleri belirlendi.

3.2.6.3. Kalınlık

1 x 1 cm² boyutlarında kesilmiş olan yamaların kalınlıkları dijital kumpas kullanılarak ölçüldü. Her bir formülasyon için 10 tekrarlı olacak şekilde çalışıldı.

3.2.6.4. pH

Bukkal dokuda meydana gelebilecek iritasyonu tespit edebilmek amacıyla yama yüzeylerinin pH'sı tespit edildi (Avachat ve ark., 2013). 1 x 1 cm² boyutlarında kesilmiş olan yama formülasyonları her biri 10 mL'lik beherin içerisine ilave edilerek üzerlerine 5 mL pH 6,8 fosfat tamponu ilave edildi. Ağzıları parafilm ile kapatılan petrilerin iki saatlik süre sonunda pH metre kullanılarak yüzey pH'sı ölçüldü (Singh ve ark., 2010; Vasantha ve ark., 2011). Her bir formülasyon için 5 tekrarlı olacak şekilde çalışıldı.

3.2.6.5. Nem Tutma Kapasitesi

Nem tutma kapasitesi, doymuş potasyum klorür çözeltisi kullanılarak tespit edildi. 34 g potasyum klorür 100 mL distile suda çözündürüldü. 1 x 1 cm² boyutlarında kesilmiş olan yamaların ağırlıkları belirlendi (M₁). Ardından bir petri kabının içerisine konularak, 100 mL doymuş potasyum klorür çözeltisi bulunan desikatöre yerleştirildi. 72 saatlik süre sonunda desikatörden alınan yamalar tekrar tartılarak (M₂) aşağıdaki formül yardımıyla nem tutma kapasitelerinin yüzdesi belirlendi (Aswathy ve ark., 2014; Ghareeb ve Mohammad, 2013). Her bir formülasyon için 5 örnekle çalışıldı.

$$\% \text{ Nem tutma kapasitesi} = (M_2 - M_1) / M_1 \times 100$$

3.2.6.6. Nem Kaybı Yüzdesi

Nem kaybı yüzdesi, susuz kalsiyum klorür ile gerçekleştirildi. 1x1 cm² boyutlarında kesilmiş olan yama formülasyonlarının önce ağırlıkları belirlendi (M₁). 100 g susuz kalsiyum klorür içeren desikatöre, yamalar petri kabı içerisinde yerleştirildi. 72 saatlik süre sonunda desikatörden alınan yamalar tekrar tartılarak (M₂) aşağıdaki formül yardımıyla nem tutma kapasitelerinin yüzdesi belirlendi (Aswathy ve ark., 2014). Her bir formülasyon için 5 örnekle çalışıldı.

$$\% \text{ Nem tutma kapasitesi} = (M_1 - M_2) / M_1 \times 100$$

3.2.6.7. Şişme Yüzdesi

Maurya ve arkadaşlarının (2012) ve Shiledar ve arkadaşlarının (2014) çalışmaları referans alınarak çalışma pH 6,8 fosfat tamponu kullanılarak gerçekleştirildi. 1x1 cm² boyutlarında kesilmiş yamalar tartıldı (M₁), ardından petri kaplarına konuldu. Yamanın her tarafı ıslanacak şekilde 37 ± 0,5 °C'ye getirilmiş 5 mL pH 6,8 fosfat tamponu bu petri kabına ilave edildi. 37 ± 0,5 °C'deki etüve yerleştirildi. 1. ve 2. saat sonlarında etüvden alınan yamalar bir selüloz filtre kağıdı ile üzerindeki ıslaklık alınarak tekrar tartıldı. Aşağıdaki formül yardımıyla yamaların şişme yüzdeleri tespit edildi. Her bir formülasyon için 5 örnekle çalışıldı.

$$\% \text{ Nem tutma kapasitesi} = (M_2 - M_1) / M_1 \times 100 \text{ (Maurya ve ark., 2012)}$$

3.2.6.8. Gerilme Direnci ve Esneklik

Bukkal biyoadeziv yamaların esnekliği tekstür analiz cihazında gerçekleştirildi. Öncelikle cihazda, 5 kg'lık load cell ile çalışıldı. 30 x 10 mm² boyutlarında kesilmiş yamaların uç kısımları (5 mm üst, 5 mm alt uç) cihazın probuna yerleştirilirken yapışma ya da parçalanmayı engellemek için bant ile sarıldı. Cihazın alt ve üst problemleri arasına yama yerleştirildikten sonra üst prob 0,5 mm/sn hız ile çalışarak yamayı germeye başladı. Yamanın kopma anındaki güç, cihaz tarafından kaydedilerek aşağıdaki formüller yardımıyla yamanın gerilme direnci ve esnekliği hesaplandı (Yildiz Pekoz ve ark., 2016). Her formülasyon için üç tekrarlı olarak çalışıldı.

$$\text{Gerilme direnci (N/cm}^2\text{)} = \text{Kopma anındaki güç (N)} / \text{İlk kesit alanı (cm}^2\text{)}$$

$$\text{Esneklik} = [\text{Kopma anındaki uzunluktaki artış (mm)} / \text{İlk uzunluk (mm)}] \times 100$$

3.2.6.9. İçerik Tekdüzeliliği Çalışmaları

Hazırlanan formülasyonlardan ideal formülasyonlar belirlenerek etken madde yüklemesi gerçekleştirilmiştir. Yöntem 3.2.5.1'de anlatıldığı şekilde hazırlanan yama çözeltisine en son olarak petri çapına uygun ve 1 cm²'lik alanda 2,288 mg tizanidin hidroklorür olacak şekilde 90,21 mg tizanidin hidroklorür ilave edilerek etken madde çözünene kadar tekrar karıştırıldı. Bu hesaplama yapılırken yama çözeltisi petri kabına döküldükten sonra 0,6 cm yükseklikte petri kabının kenarlarına da yapışma olduğu için bu alan da göz önünde bulunduruldu ($2\pi.r.h + \pi.r^2$).

1 x 1 cm² boyutunda kesilmiş olan yama formülasyonu 50 mL pH 6,8 fosfat tamponunda 10 dakika homojenizatör ile karıştırıldı. Çözelti 200 mL'ye fosfat tamponu

ile tamamlandı. 0,2 µm membran filtreden süzülerek alınan 0,5 mL örnek, HPLC cihazında tespit edildi. Her bir formülasyon için işlem beş defa tekrar edildi (Biswal ve ark., 2014; Furtado ve ark., 2010).

3.2.6.10. FTIR Spektroskopisi Analizleri

Hazırlanan ideal formülasyonlar ile aynı formülasyonların etken madde içermeyenleri FTIR spektroskopisi ile analiz edilerek spektrumları karşılaştırıldı.

3.2.7. Bukkal Tablet Formülasyonlarının Hazırlanması ve Fizikokimyasal Analizler

3.2.7.1. Bukkal Tablet Formülasyonlarının Hazırlanması

Bukkal tablet formülasyonlarını hazırlayabilmek için öncelikle polimerler bıçaklı öğütücü ile küçük parçalara ayrıldı ve ardından polimerler 250 µm'lik eleklerden elendi. Uygun partikül büyüklüğüne getirilmiş kitosan glutamat (7 cP) ve kaydırıcı olarak magnezyum stearat (% 2) çekirdek tablet ağırlığı 80 mg olacak şekilde tartılarak bir cam havanda 10 dakika boyunca karıştırıldı. Hazırlanan karışıma Yenyurt Tablet Baskı Makinası'nda Shirsand ve arkadaşlarının (2013) ve Narendra ve arkadaşlarının (2005) çalışmaları esas alınarak 8 mm çapına sahip zımbaların kullanımıyla 50 kg/cm² (49 bar)'lık bir basınçla ön sıkıştırma yapıldı. Ardından 250 µm'lik elekten elenmiş 40 mg etil selüloz, bu çekirdek tabletin üzerine ilave edilerek 240 kg/cm² (235,4 bar)'lık basınç ile son sıkıştırma yapıldı ve çift tabakalı tabletler hazırlandı (Tablo 3-4).

Tablo 3-4: Kitosan polimerleri ile hazırlanan tablet formülasyonlarının içerikleri

Formülasyon / Madde (mg)	Kitosan azelat (7 cP) (mg)	Kitosan azelat (10 cP) (mg)	Kitosan klorür (7 cP) (mg)	Kitosan klorür (10 cP) (mg)	Kitosan glutamat (7 cP) (mg)	Kitosan glutamat (10 cP) (mg)	Magnezyum stearat (%2) (mg)	Etil selüloz (mg)
TA-7	78,4	-	-	-	-	-	1,6	40
TA-10	-	78,4	-	-	-	-	1,6	40
TC-7	-	-	78,4	-	-	-	1,6	40
TC-10	-	-	-	78,4	-	-	1,6	40
TG-10	-	-	-	-	78,4	-	1,6	40
TG-10	-	-	-	-	-	78,4	1,6	40

TA: Kitosan azelat tablet; TC: Kitosan klorür tablet; TG: Kitosan glutamat tablet

3.2.7.2. Ağırlık Tekdüzeliliği

Hazırlanan tabletler her formülasyon için 20 adet olacak şekilde hassas terazide tartılarak ortalama ağırlık ve standart sapma değerleri bulundu.

3.2.7.3. Çap – Kalınlık

Dijital kumpas kullanılarak, hazırlanan tablet formülasyonlarının çap ve yükseklikleri belirlenip ortalama ve standart sapma değerleri hesaplandı. Her formülasyon için 10 tekrarlı olacak şekilde çalışıldı.

3.2.7.4. pH

Tablet formülasyonu petri kabına konuldu. Petri kabındaki tabletin her tarafı ıslanacak şekilde 5 mL pH 6,8 fosfat tamponu ilave edildi. Petrilerin kapakları kapatılıp 2 saat sonra pH metre yardımıyla pH değeri ölçüldü (Shirsand ve ark., 2013). Her formülasyon için işlem 5 tekrarlı olarak yapıldı.

3.2.7.5. Friabilite

20 adet tablet hassas terazide tartılarak toplam ağırlık bulundu (M_1). Friabilitöre tartımı yapılan tabletler yerleştirildi. Farmakopeye uygun olarak 25 rpm hızla 4 dakika boyunca friabilitör çalıştırıldı. Friabilitörden alınan tabletler tekrar tartıldı (M_2). Aşağıdaki formül yardımıyla friabilite değeri hesaplandı. Friabilite değerinin % 1'den küçük olması istenmektedir (Darekar ve ark., 2014).

$$\% \text{ Friabilite} = 100 - ((M_1 - M_2) / M_1 \times 100) \text{ (Darekar ve ark., 2014)}$$

3.2.7.6. Sertlik

Pharmatest cihazı ile 10 adet tabletin sertliği Newton cinsinden tayin edildi.

3.2.7.7. Şişme Yüzdesi

Tabletlerin ilk ağırlıkları hassas terazide tartıldı (M_1). Plastik petri kaplarına bukkal tabletler ve $37 \pm 0,5$ °C'ye getirilmiş pH 6,8 fosfat tamponu, tabletin tamamı ıslanacak şekilde (5 mL) ilave edildi. Petri kapları etüve yerleştirildikten sonra 30. dakika, 1., 2., 3., 4. ve 6. saatlerde tabletler alınarak selüloz filtre kağıdı ile kurutuldu ve tekrar tartıldı (M_2). Aşağıdaki formül yardımıyla tartım yapılan saatlerdeki şişme yüzdeleri hesaplandı. Etüvdeki bu çalışmalar $37 \pm 0,5$ °C'de yürütüldü (Ahmed ve ark., 2014; Kassem ve ark., 2014).

$$\text{Şişme yüzdesi} = (M_2 - M_1) / M_1 \times 100 \text{ (Ahmed ve ark., 2014)}$$

3.2.7.8. İçerik Tekdüzeliliği Çalışmaları

Yöntem 3.2.7.1’de olduğu gibi çekirdek tabletin ağırlığı 80 mg olacak şekilde 2,288 mg tizanidin hidroklorür ilave edilerek etken madde yüklemesi gerçekleştirildi.

İçerik tekdüzeliliği çalışmasında 5 adet tablet alınarak havanda öğütüldü ve homojen hale gelene kadar karıştırıldı. Bu karışımdan 1 tablet ağırlığı kadar toz madde (120 mg) ve 50 mL pH 6,8 fosfat tamponu çözeltisi bir beher içerisine ilave edildi. Homojenizatör yardımıyla 10 dakika karıştırıldıktan sonra hacim pH 6,8 fosfat tamponu ile 200 mL’ye tamamlandı. 0,2 µm gözenek çapına sahip membran filtreden süzülerek alınan 0,5 mL örneğin HPLC cihazı ile etken madde içeriği tespit edildi (Shanker ve ark., 2009; Biswal ve ark., 2014). Her formülasyon için işlem 5 tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

3.2.7.9. FTIR Analizleri

Hazırlanan ideal formülasyonlar ile aynı formülasyonların etken madde içermeyenleri FTIR spektroskopisi ile analiz edilerek elde edilen spektrumlar karşılaştırıldı.

3.2.8. Biyoadezif Kuvvet Tayini

Biyoadezif kuvvet tayini, tekstür analiz cihazında gerçekleştirildi. Kesildikten hemen sonra inekten alınan bukkal doku -30 °C’de muhafaza edildi. Dondurulmuş bukkal mukozadan yüzeyden iç kısma doğru yaklaşık olarak 1 mm kalınlığında bukkal doku kesiti alınarak izotonik sodyum klorür çözeltisinde oda sıcaklığında buzları çözünene bekletildi. Tekstür analiz cihazı 5 kg’lık load cell ile kalibre edildi. Ardından 2 x 2 cm² boyutlarında kesilmiş bukkal doku, mukozal yüzey yukarıda olacak şekilde pleksiglas levhaların arasına yerleştirildi. 75 µL % 2 müsün (a/h) içeren pH 6,8 fosfat tamponu bukkal mukozanın üzerine damlatılarak mukoza ıslatıldı. İdeal yama ve tablet formülasyonları, çift taraflı bir bant ile proba (SNSP/10) yapıştırıldı. 0,5 mm/sn hızla mukozaya yaklaştırılıp yamanın/tabletin 1 Newton’luk kuvvet ile mukozaya 120 saniye boyunca basınç uygulayarak yapışması sağlandı. Ardından 0,5 mm/sn hızla probun mukozadan uzaklaşması sağlandı. Adezyon işi (mJ.cm⁻²) ve adezif kuvvet (N.cm⁻²) cihaz yazılımı ve aşağıdaki formüller ile hesaplandı (Cevher ve ark., 2014; Amasya ve ark., 2012; Tiwari ve ark., 1999; İkinci ve ark., 2004; Yıldız Pekoz ve ark., 2016; Palem ve ark., 2011; Okeke ve Boateng, 2017). İşlemler dört defa tekrar edildi.

$$\text{Adezyon işi (mJ.cm}^{-2}\text{)} = \text{AUC}_{1-2} / \pi r^2 \text{ (Cevher ve ark., 2014)}$$

$$\text{Adezyon işi (mJ.cm}^{-2}\text{)} = \text{AUC}_{1-2} / (a \times b)$$

AUC_{1-2} : Güç-mesafe grafiğinde eğri altında kalan alan

πr^2 : Tablet yüzey alanı

$a \times b$: Yamanın yüzey alanı

3.2.9. Bukkal Yama ve Tablet Formülasyonlarının *In Vitro* Salım Çalışmaları

3.2.9.1. *In Vitro* Salım Çalışmaları

Swamy ve arkadaşlarının (2010) ve Biswal ve arkadaşlarının (2014) yapmış olduğu çalışmalar esas alınarak 250 mL'lik beher içerisine 200 mL fosfat tamponu ilave edildi. 1 x 1 cm² boyutunda kesilmiş yama, 2 x 2 cm²'lik cam plaka üzerine akrilat türevi yapıştırıcı ile yapıştırıldı. Tablet formülasyonlarında ise aynı şekilde suda çözünmeyen etil selüloz tabakası cam yüzeye denk gelecek şekilde yapıştırıldı. Manyetik karıştırıcı üzerinde gerçekleştirilen çalışmada sıcaklık değeri, 37 ± 0,5 °C'de iken üzerinde yama/tablet olan cam plakalar dikey bir şekilde beherlerin içerisine yerleştirildi. 50 rpm'de çalışan cihazdan mikropipet vasıtasıyla 30. dakika, 1., 2., 3., 4., 5., 6., ve 8. saatlerde 0,5 mL numune alındı ve aynı miktarda taze fosfat tamponu bu beherlere ilave edildi. 8. saatin sonunda ortamda dağılmayan formülasyon var ise karıştırıcı yardımıyla yüksek hızda tamamen dağılması sağlanarak karıştırıldı ve son bir numune alındı. Alınan bu numune tablet/yama içerisindeki etken madde miktarı açısından % 100 olarak kabul edildi. HPLC cihazı ile ölçümler gerçekleştirilerek salım grafikleri belirlendi. Her formülasyon için 5 tekrarlı çalışıldı.

3.2.9.2. *In Vitro* Salım Verilerinin Kinetik Olarak Değerlendirilmesi

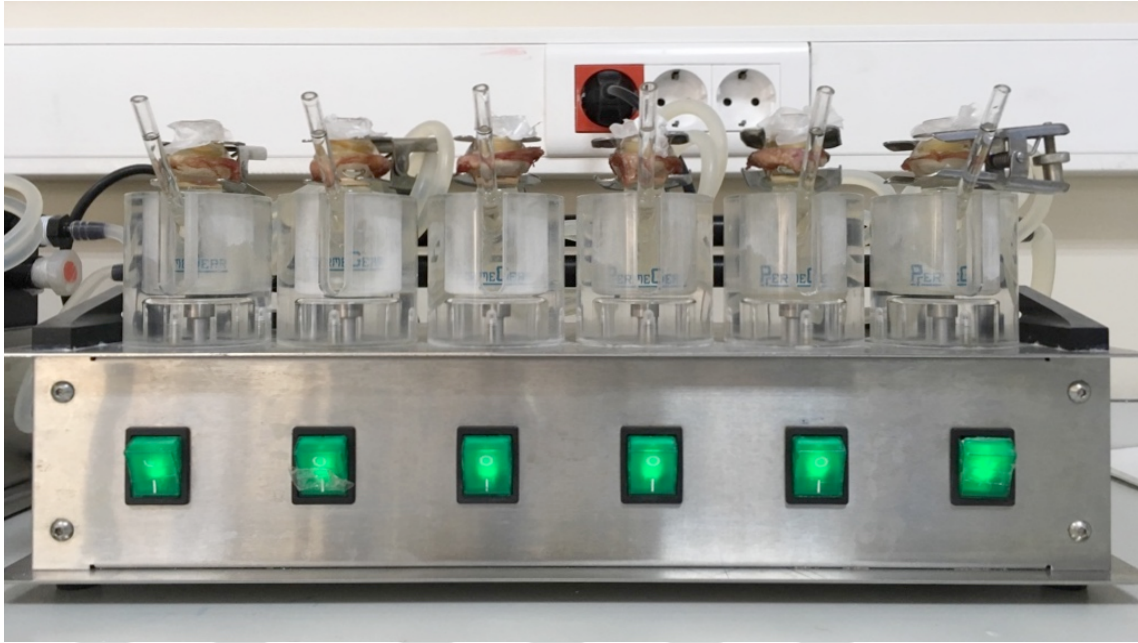
Tablet formülasyonlarına ait *in vitro* salım verileri analiz edilerek sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi, Hixson-Crowel ve Korsmeyer Peppas kinetik modelleri açısından incelendi (Bozkır ve ark., 2007).

3.2.10. *Ex Vivo* Permeabilite Çalışmaları

Franz Difüzyon Hücre Sistemi'nde inek bukkal dokusu kullanılarak tizanidin hidroklorürün permeabilitesi değerlendirildi (Şekil 3-2). 1,77 cm² membran alanı olan Franz difüzyon hücrelerinde reseptör ve donör arasına 1 mm kalınlık ve 4 cm² büyüklükte kesilmiş inek bukkal dokusu yerleştirilerek sıkıştırıldı. Donör bölümü 1 mL

pH 6,8 fosfat tamponu ile, reseptör bölümü ise 12 mL pH 7,4 fosfat tamponu ile dolduruldu. Ağız içi mukozanın pH'sı 6,8 olup ilaç mukozadan geçerek kan damarlarına ulaşacaktır. Bu sebeple reseptör bölüm, kanın pH değeri olan 7,4 fosfat tamponu ile dolduruldu (Amores ve ark., 2014). Çalışmalar $37 \pm 0,5$ °C'de 300 rpm'de yapıldı. Çalışma boyunca belirlenen sürelerde (30. dk, 1., 2., 3., 4., 5., 6., 8. ve 24. saat) 1 mL örnekler çekilerek 0,2 µm por çapına sahip membran filtreden süzüldü. Her örnek çekildikten sonra reseptör bölümleri pH 7,4 fosfat tamponu ile tamamlandı. 3 tekrarlı olarak yapılan çalışmada örneklerin analizi HPLC cihazında gerçekleştirildi.

% permeabilite değerleri; reseptör kısımdaki kümülatif etken madde miktarı, bukkal dokuda ve donör kısımda kalan etken madde miktarlarının toplamı üzerinden hesaplandı. Üstündağ Okur ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma referans alınarak bukkal doku önce küçük parçalara ayrılarak 20 mL pH 6,8 fosfat tamponuna alındı. Homojenizatörde 10 dakika boyunca 15.000 rpm hızda karıştırılıp 50 mL'ye pH 6,4 fosfat tamponu ile tamamlandı. 1 dakika boyunca vortekste karıştırıldıktan sonra bir tüpe alınarak 10 dakika santrifüj edildi. Arından 0,5 mL üstteki berrak kısımdan alınarak HPLC cihazında analiz edildi. *Ex vivo* permeabilite verilerinin değerlendirilmesinde konsantrasyon-zaman (µg/mL – saat) grafiği çizilecektir. Bu grafiğin eğimi J_{ss} (steady state)'yi yani akı değerini verecektir. Akı değerinin (J_{ss}) donör kompartmandaki toplam etken madde miktarına bölünmesiyle permeabilite katsayısı (P, cm/saat) hesaplanacaktır. Gecikme zamanı (lag time, h) ise konsantrasyon zaman eğrisine ait eğilim çizgisinin x eksenini kestiği nokta olarak alınacaktır (Üstündağ Okur ve ark., 2017).



Şekil 3-2: Franz Difüzyon Hücre Sistemi'nde inek bukkal dokusu kullanılarak gerçekleştirilen yama ve tablet formülasyonlarına ait permeabilite çalışmaları

3.2.11. Stabilite

Ex vivo çalışmalardan sonra seçilen ideal formülasyonlar için stabilite çalışmaları 4 ± 1 °C'de buzdolabında, 25 ± 2 °C oda sıcaklığı ve 40 ± 2 °C koşullarında olmak üzere üç farklı sıcaklık değerinde gerçekleştirildi. 3 ay boyunca gerçekleştirilen stabilite çalışmalarında ilk anda, 1. ay ve 3. ay sonunda formülasyonların fizikokimyasal özellikleri (görünüş, etken madde içeriği ve pH değeri) değerlendirildi.

3.2.12. *In Vivo* Çalışmalar

3.2.12.1. HPLC Metodunun Oluşturulması

Tizanidin hidroklorürün *in vivo* çalışmalardaki miktar tayini için HPLC metodu geliştirildi. Kullanılan Shimadzu LC-2010C HPLC cihazı, UV dedektör, gradient pompa ve termostabil kolon ünitesine sahiptir. Çalışmada C18: 4,6x150 mm, 5 µm kolon (GL. Sciences) kullanıldı. Mobil faz 0,1 M amonyum asetat / asetonitril (85/15), akış hızı 1 mL/dk, enjeksiyon hacmi 100 µL ve dedektör sıcaklığı 30 °C olarak belirlendi (Ali ve ark., 2014). UV spektrofotometrede yapılan ölçümde etken maddenin en yüksek absorbansı gösterdiği dalga boyu, 228 nm'de çalışıldı.

3.2.12.2. Doğrusallık

Plazma örneklerinin HPLC'de analiz edilecek olması sebebiyle tavşanın kulak veninden EDTA'lı tüpe alınan 1 mL kan, öncelikle 4000 rpm'de -4 °C'de 4 dakika

boyunca santrifüj edilerek plazma kısmı alınıp -20 °C’de muhafazaya bırakıldı. Kullanılacağı zaman oda sıcaklığında çözündürülüp 0,25 mL plazma örneğine 0,1 mL 0,05 M sodyum hidroksit, 2 mL hekzan/etil asetat (3/2 oranında) ilave edilerek vortekste 1 dakika karıştırıldı. Ardından 4000 rpm’de -4 °C’de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki organik fazın 1,5 mL’si bir test tüpüne alınarak 40 °C’de nitrojen gazı altında buharlaştırıldı (Ali ve ark., 2014; Jaipal ve ark., 2015; Yıldız Pekoz ve ark., 2016).

Stok çözeltiyi hazırlayabilmek için öncelikle Yöntem 3.2.2.2’de olduğu gibi 100 µg/mL konsantrasyonda tizanidin hidroklorür çözeltisi hazırlandı. Tüpün dip kısmındaki kuru kalıntı, mobil faz ile çözündürülerek membran filtreden (0,2 µm, naylon) süzüldü. 100 µg/mL’lık çözeltiden 0,125 mL alınarak plazma içeren stok çözeltisi balon jodede mobil faz ile 50 mL’ye tamamlandı. Böylelikle 250 ng/mL konsantrasyonda tizanidin hidroklorürün plazma stok çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan bu stok çözeltiden 13 farklı konsantrasyonda (2; 4; 6; 8; 10; 20; 30; 40; 50; 75; 100; 150 ve 200 ng/mL) numuneler hazırlandı. Kalibrasyon grafiği çizilerek kalibrasyon denklemi ve determinasyon katsayısı (r^2) belirlendi.

3.2.12.3. Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirlik Çalışmaları

Yöntem 3.2.2.3’teki esaslara dayanarak üç farklı konsantrasyondaki (8; 20 ve 30 ng/mL) numunenin ölçümleri yapılarak alan değerlerinden konsantrasyonları bulundu ve % geri elde edilebilirlik değerleri hesaplandı.

3.2.12.4. Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik & Tekrar Elde Edilebilirlik)

Yöntem 3.2.2.4’teki esaslara uygun olarak gerçekleştirilen kesinlik çalışmasında 8 ng/mL konsantrasyonundaki numune on defa ölçüldü. Tekrar edilebilirlik çalışmasında stok çözeltiden iki farklı günde hazırlanan 8 ng/mL konsantrasyondaki numunenin HPLC’ye en az altı defa verilmesiyle elde edilen veriler değerlendirildi. Tekrar elde edilebilirlik çalışmasında iki farklı analist tarafından stok çözeltiden altı adet 50 ng/mL konsantrasyonda numuneler hazırlanarak ölçüm yapıldı. Kesinlik, tekrar edilebilirlik ve tekrar elde edilebilirlik çalışmalarında elde edilen sonuçların ortalama, standart sapma ve varyasyon katsayısı hesaplandı (Üstündağ-Okur, 2012).

3.2.12.5. Özgünlük, Seçicilik

Yapılan çalışmalarda etken madde içermeyen formülasyonların pik verdiği sürelerde kan plazmasından kaynaklı herhangi bir pik olup olmadığı karşılaştırmalar yapılarak tespit edildi (ICH, 2005).

3.2.12.6. Teşhis ve Tayin Sınırları (LOD ve LOQ)

Yöntem 3.2.2.6'daki gibi en düşük konsantrasyondaki numunelerin analiz edilmesi neticesinde teşhis ve tayin sınırları hesaplandı (Üstündağ-Okur, 2012).

3.2.12.7. Dayanıklılık

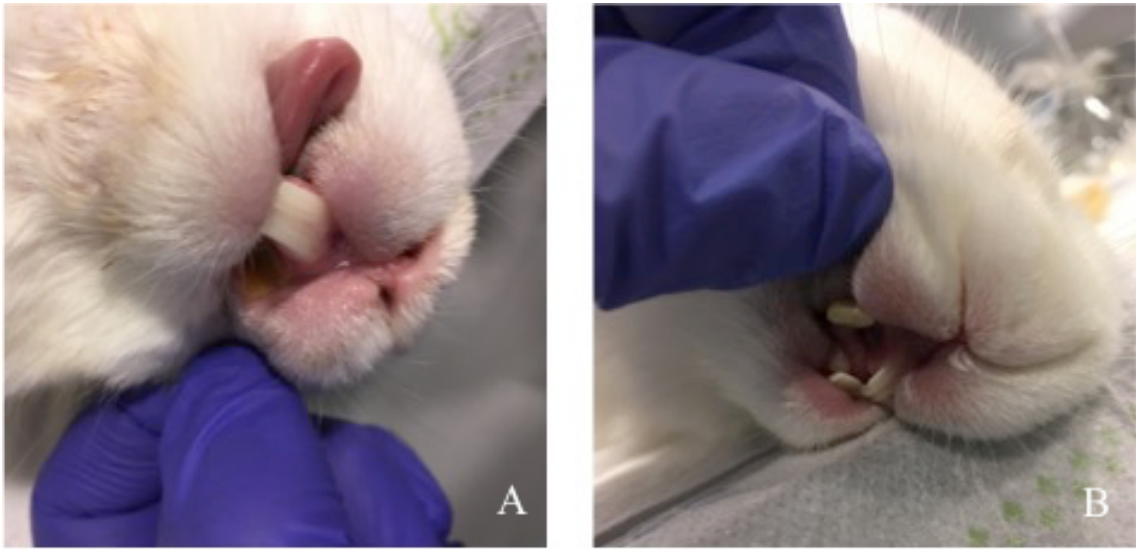
Etken maddenin 30 ng/mL konsantrasyondaki çözeltisi 15., 30., 60., 120. ve dakikalarda, 24. ve 48. saatlerde ölçülerek alan değerlerine gelen konsantrasyon değerlerinde değişiklik olup olmadığı belirlendi (Üstündağ-Okur, 2012).

3.2.12.8. *In Vivo* Çalışmalar

In vivo çalışmaları gerçekleştirebilmek için İstanbul Medipol Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 78 nolu karar ile izin alındı. Seçilen üç ideal formülasyon için çalışma 2,5-3 kg ağırlığındaki Yeni Zelanda tavşanları ile gerçekleştirildi. Tavşan seçilmesinin nedeni tavşan bukkal mukozasının keratinize olmayıp insan bukkal mukozasına benzemesidir (Yildiz Pekoz ve ark., 2016). Tavşanın ağız içi mukozasına uygun boyutta olması için yama ve tablet formülasyonları yeniden tasarlandı. Tablet ve yama formülasyonlarındaki etken madde miktarı 1/4 oranında değiştirilerek 0,572 mg olarak belirlendi. İdeal yama formülasyonu Yöntem 3.2.6'daki gibi hazırlanıp 0,5 x 0,5 cm² olacak şekilde kesildi. Tablet formülasyonları ise tabletin toplam ağırlığı 30 mg olacak şekilde (20 mg çekirdek tablet, 10 mg etil selüloz tabakası) 0,5 cm çapına sahip zimbalar kullanılarak Yöntem 3.2.8'deki gibi basıldı. Piyasa preparatı olarak 2,288 mg tizanidin hidroklorür içeren Sirdalud® tablet tartıldı. Ardından tablet toz edilerek 0,572 mg etken madde içeren toz, uygulama için hazırlandı.

Tavşanlar 12/12 gündüz/gece profiline uygun olacak şekilde oda sıcaklığı 22 ± 1 °C ve % 60 ± 5 bağıl nemde kafeslerde deney için bekletildi. Her grupta 5 tavşan olacak şekilde hayvanlar dört gruba ayrıldı. İlaç uygulamasından önce tavşanlara 5 mg/kg ksilazin hidroklorür ve 35 mg/kg ketamin hidroklorür kas içine uygulanarak anestezi yapıldı. Çalışma süresi boyunca ihtiyaç olduğu takdirde ketamin hidroklorür ve ksilazin hidroklorür ile ilk dozun yarısı oranında uygulama yapılarak anesteziye devam edildi.

Anestezi uygulamasından sonra yama ve tablet formülasyonlarının tavşanın yanak mukozası üzerine hafifçe bastırılarak yapışması sağlandı (Şekil 3-3). Piyasa preparatı ise anestezi yapılmayan tavşanlara gastrik gavaj ile verildi. İlaç uygulamasını takiben tavşanların kulak arterinden 30. dakika, 1., 2., 3., 4., 5., 6., 8. ve 24. saatlerde 1 mL kan alındı. 2,5 mL'lik EDTA'lı tüpe alınan kan örnekleri Yöntem 3.2.13.2'de olduğu gibi gerekli işlemler yapılarak nitrojen gazı altında buharlaştırıldı. Ardından kalıntı içeren tüplere 1 mL mobil faz ilave edilerek 1 dakika vortekste karıştırıldı ve membran filtreden süzülerek HPLC numuneleri hazırlandı.



Şekil 3-3: Bukkal yama ve tablet formülasyonlarının tavşanlara uygulanması (A: A10-33 yama formülasyonunun uygulanması; B: Tablet formülasyonlarına ait görüntü)

3.2.13. İstatiksel Analizler

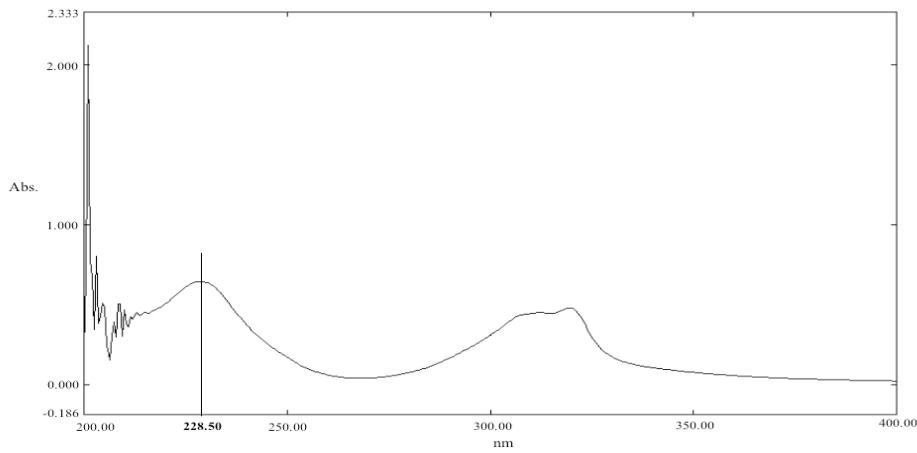
Yapılan çalışmalar neticesinde elde edilen veriler, istatistiki olarak ortalama ve standart sapma değerleri üzerinden sunuldu. Dayanıklılık çalışmaları, gerilme direnci ve esneklik çalışmaları, biyoadeziv kuvvet tayini çalışmaları, *ex vivo* permeabilite çalışmaları, stabilite, *in vivo* çalışmalar tek yönlü varyans analizi yapılarak elde edilen veriler istatistiksel olarak incelendi. Bu amaçla güvenlik düzeyi % 95 olarak alınarak one way-Anova testi uygulandı. Çalışma kapsamındaki testler Graphpad Prism 7 programı kullanılarak gerçekleştirildi.

4. BULGULAR

4.1. Tizanidin Hidroklorürün Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi ile İlgili Bulgular

4.1.1. UV Spektrumu Bulguları

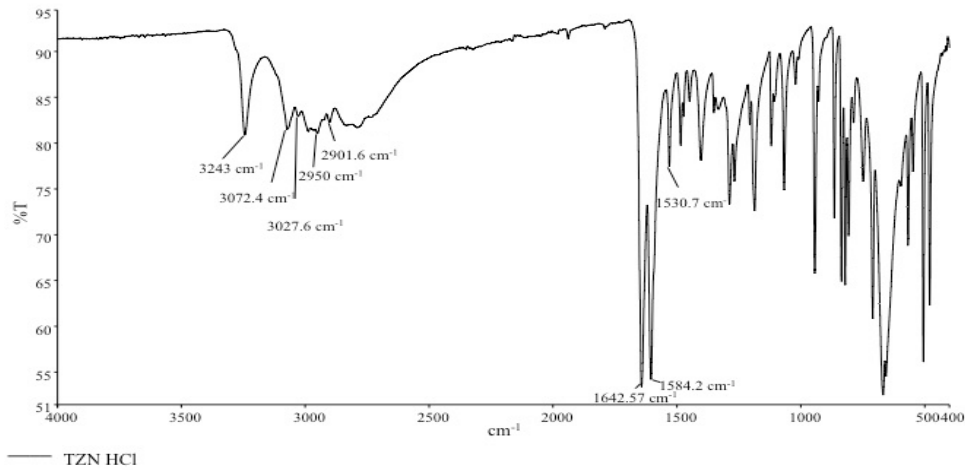
Yöntem 3.2.1.1’de anlatılan çalışmada tizanidin hidroklorürün UV spektrumu Şekil 4.1’de gösterilmiş olup en yüksek absorbans değeri 228,5 nm’de görüldü.



Şekil 4-1: Tizanidin hidroklorürün UV spektrumu

4.1.2. FTIR Spektroskopisi Bulguları

Yöntem 3.2.1.2’de belirtildiği gibi yürütülen çalışmada tizanidin hidroklorürün FTIR spektrumu Şekil 4-2’de gösterilmiştir.



Şekil 4-2: Tizanidin hidroklorürün FTIR spektrumu

Bu FTIR spektrumunda;

3243 cm^{-1} – sekonder amin N – H bandı

3072 cm^{-1} – aromatik C = C – H bandı

3027 cm^{-1} – aromatik C = C – H bandı

2950 cm^{-1} – C – H bandı

2901 cm^{-1} – C – H bandı

1642 cm^{-1} – C = N bandı

1584 cm^{-1} – C = C bandı

1530 cm^{-1} – N – H eğilme bandı görüldü (Erdik, 2011).

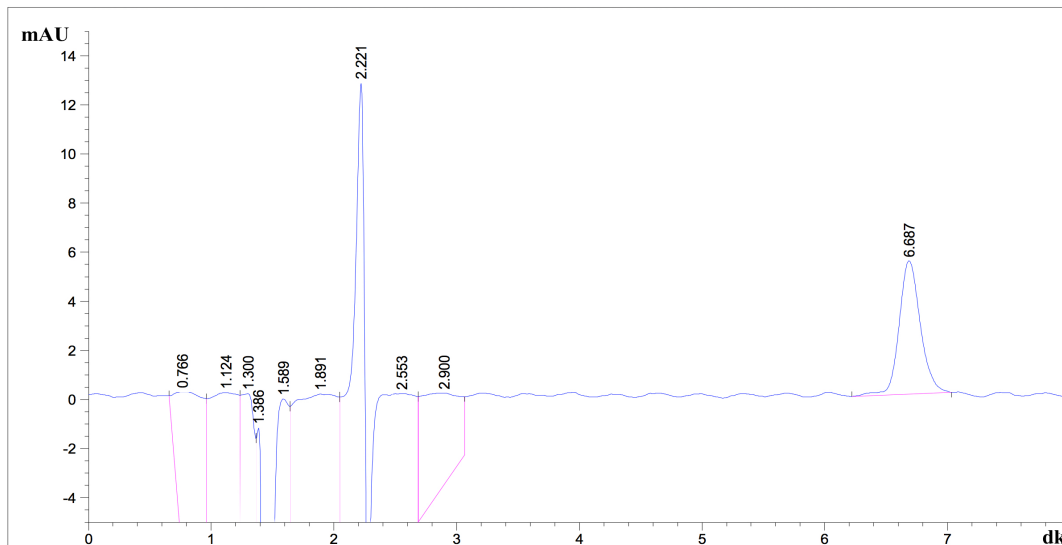
4.1.3. Erime Derecesi Tayini Bulguları

Yöntem 3.2.1.3'te anlatıldığı gibi yürütülen çalışmada etken maddenin erime derecesi $293 \pm 1,7$ °C olarak bulundu.

4.2. Tizanidin Hidroklorürün Miktar Tayini İçin HPLC Metot ve Validasyonuna Ait Bulgular

4.2.1. Doğrusallık Bulguları

Yöntem 3.2.2.2'ye göre yapılan çalışmalarda elde edilen veriler üzerinden çizilen kalibrasyon eğrisi Şekil 4-4'te gösterildi. r^2 değeri 0,99706 olarak bulundu. Tizanidin hidroklorüre ait pik 6,5–6,8. dakikaları arasında gözlemlendi (Şekil 4-3).



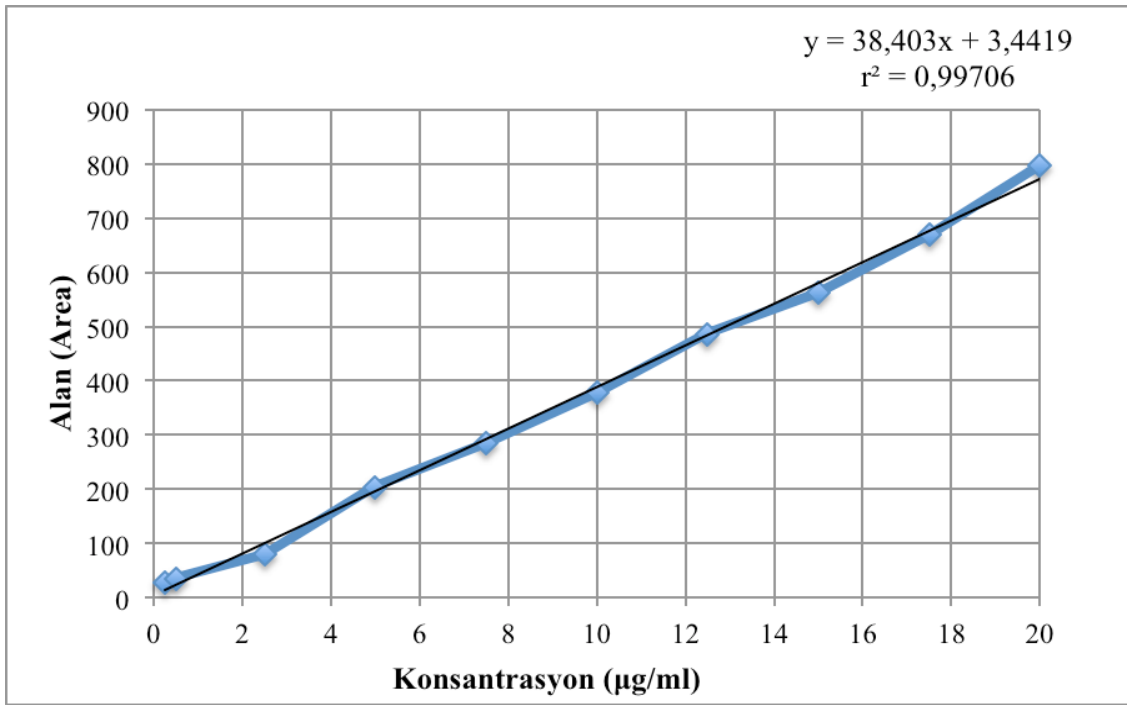
Şekil 4-3: Tizanidin hidroklorürün HPLC spektrumu

Yapılan çalışma neticesinde standart doğru denklemi $y = 38,403 \cdot x + 3,4419$ olarak bulundu. Grafikteki semboller aşağıda belirtilmiştir.

y : HPLC neticesinde elde edilen pik alanı

x : Konsantrasyon değeri ($\mu\text{g/mL}$)

r^2 : Determinasyon katsayısı



Şekil 4-4: Tizanidin hidroklorürün kalibrasyon grafiği

4.2.2. Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirlik Bulguları

Yöntem 3.2.2.3'te anlatıldığı gibi yapılan çalışmalar ile elde edilen verilerde doğruluk ve geri elde edilebilirlik bulguları Tablo 4-1'de gösterildi. Ortalama geri elde edilebilirlik farkı % 10 aralığında ve varyasyon katsayısı % 2'den az bulundu.

Tablo 4-1: Tizanidin hidroklorürün doğruluk ve geri elde edilebilirlik bulguları

K (µg/mL)	Alan değeri	Bulunan kons.(µg/mL)	Geri elde ed. (%)
5	201	5,144	102,89
5	203,4	5,208	104,16
5	210,2	5,384	107,68
		Ort.	104,91
		SS	2,48
		VK	1,85
7,5	289,8	7,457	99,42
7,5	289,6	7,451	99,35
7,5	289,2	7,441	99,21
		Ort.	99,33
		SS	0,11
		VK	0,09
10	375,9	9,699	96,99
10	377,4	9,738	97,38
10	372,9	9,621	96,21
		Ort.	96,86
		SS	0,60
		VK	0,49

K: Konsantrasyon; SS: Standart sapma; VK: Varyasyon katsayısı

4.2.3. Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik & Tekrar Elde Edilebilirlik) Bulguları

Yöntem 3.2.2.4'te belirtildiği üzere gerçekleştirilen kesinlik çalışması neticesinde elde edilen değerler Tablo 4-2'de gösterilmiştir. Varyasyon katsayısı % 2'den az bulundu.

Yine yöntem 3.2.2.4'te anlatıldığı şekilde yapılan tekrar elde edilebilirlik ve tekrar edilebilirlik çalışmaları neticesinde elde edilen bulgular Tablo 4-3 ve Tablo 4-4'te gösterilmiştir. Çalışmalarda varyasyon katsayısının % 2'den küçük olduğu tespit edildi.

Tablo 4-2: Tizanidin hidroklorürün kesinlik bulguları

Örnek no	Alan değeri
1	293,8
2	294
3	297,2
4	289,5
5	290,2
6	290,8
7	291,2
8	291
9	291,1
10	295
Ort.	292,38
SS	2,35
VK	0,80

Ort.: Ortalama

Tablo 4-3: Tizanidin hidroklorürün tekrar elde edilebilirlik bulguları

1. Analist		2. Analist	
Örnek no	Alan değeri	Örnek no	Alan değeri
1	362,7	1	363
2	366,5	2	364,5
3	361,2	3	369,1
4	365,2	4	364,9
5	367,4	5	369,1
6	359,4	6	369,8
Ort.	363,7	Ort.	366,7
SS	3,14	SS	2,93
VK	0,86	VK	0,80

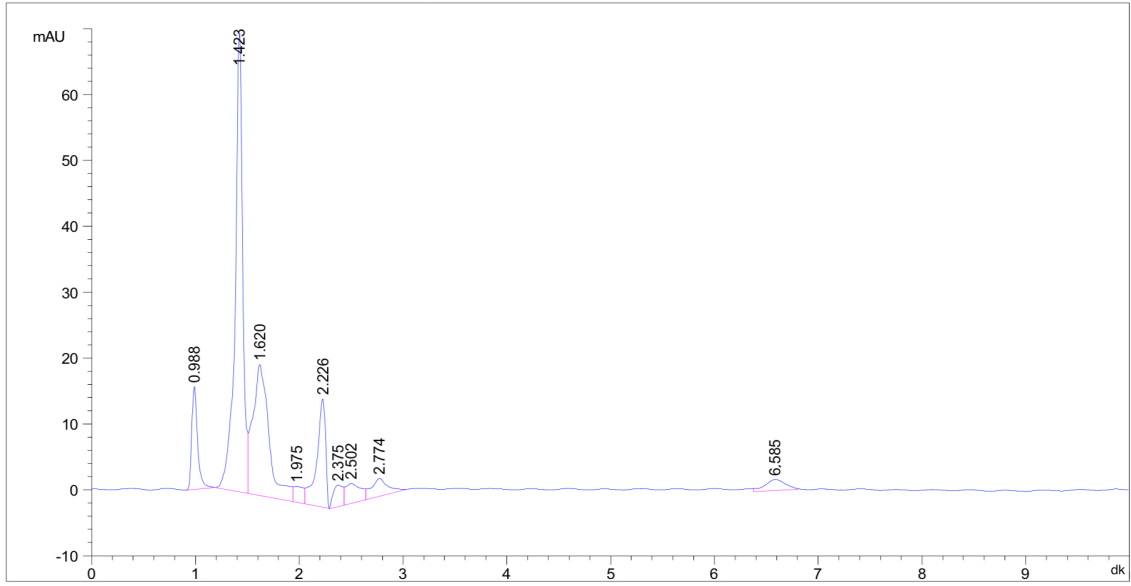
Tablo 4-4: Tizanidin hidroklorürün tekrar edilebilirlik bulguları

1. gün			2. gün		
Örnek no	Alan değeri	P.K. (µg/mL)	Örnek no	Alan değeri	P.K. (µg/mL)
1	295	7,592	1	293,8	7,561
2	294	7,566	2	291,7	7,506
3	297,2	7,649	3	290,7	7,480
4	293,8	7,561	4	290,1	7,464
5	291	7,488	5	289,4	7,446
6	290,8	7,483	6	289,2	7,441
7	291,2	7,493	7	289,6	7,451
8	291,1	7,491	8	289,8	7,457
9	290,2	7,467	9	284,3	7,313
10	289,5	7,449	10	285	7,332
Ort.		7,524	Ort.		7,445
SS		0,06	SS		0,07
VK		0,86	VK		0,99

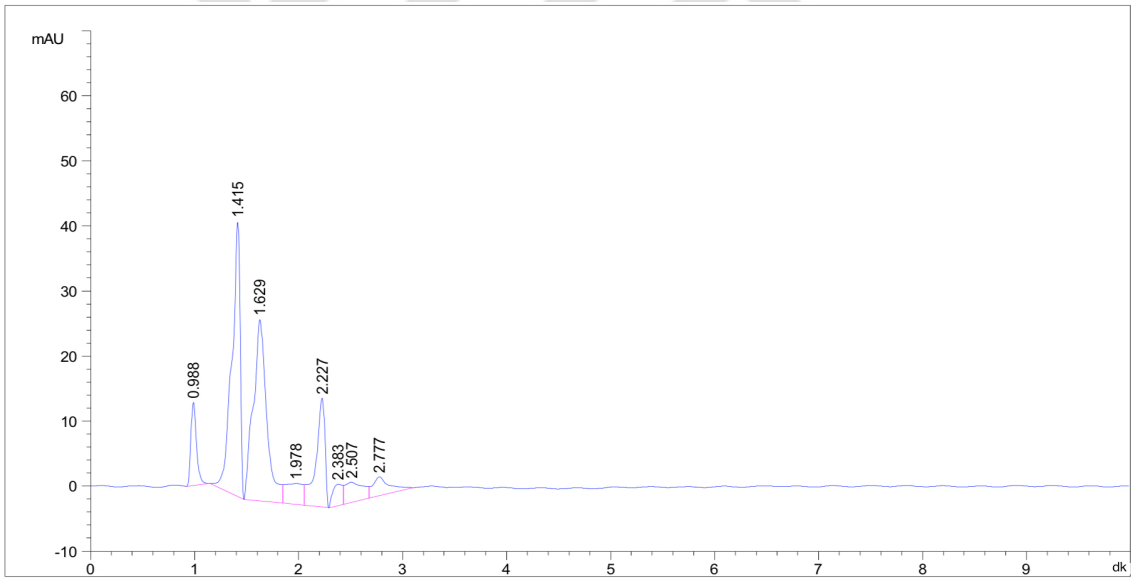
P.K.: Pratik konsantrasyon

4.2.4. Özgünlük, Seçicilik Bulguları

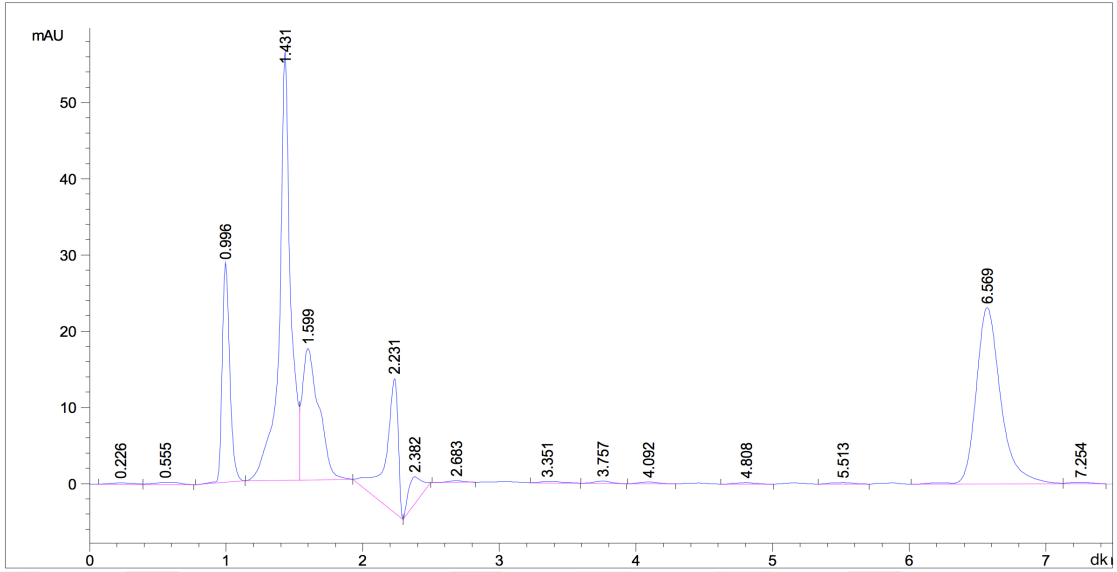
Yöntem 3.2.2.5'te anlatıldığı şekilde yapılan çalışmalar neticesinde formülasyonu oluşturan yardımcı maddelerin etken maddenin pik verdiği sürelerde herhangi bir pik vermediği gözlemlendi. A10-33 ve TG-10'un etken madde içeren ve etken madde içermeyen formülasyonlarının HPLC spektrumları Şekil 4-5, Şekil 4-6, Şekil 4-7 ve Şekil 4-8'de gösterilmiştir.



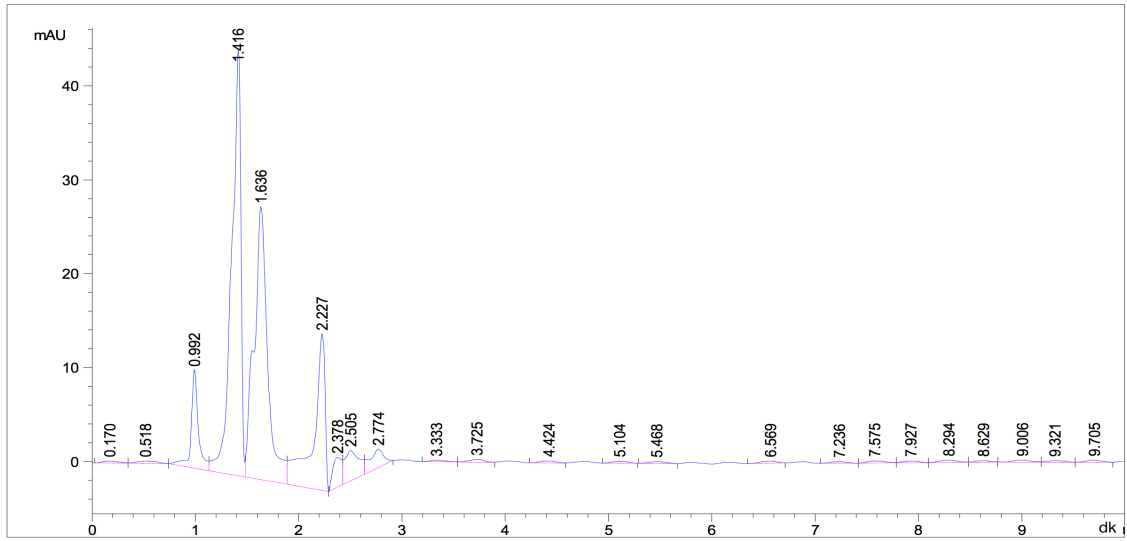
Şekil 4-5: Etken madde içeren A10-33 formülasyonunun HPLC spektrumu



Şekil 4-6: Etken madde içermeyen A10-33 formülasyonunun HPLC spektrumu



Şekil 4-7: Etken madde içeren TG-10 formülasyonunun HPLC spektrumu



Şekil 4-8: Etken madde içermeyen TG-10 formülasyonunun HPLC spektrumu

4.2.5. Teşhis ve Tayin Sınırları (LOD ve LOQ) Bulguları

Yöntem 3.2.2.6'da anlatıldığı gibi yürütülen çalışmalardan elde edilen teşhis ve tayin sınırları sırasıyla $0,0282 \pm 0,0058$ ve $0,0853 \pm 0,0176$ $\mu\text{g/mL}$ olarak bulundu.

4.2.6. Dayanıklılık Bulguları

Yöntem 3.2.2.7’de belirtildiği şekilde gerçekleştirilen çalışmalarda elde edilen konsantrasyonlar Tablo 4-5’te belirtilmiştir. Elde edilen konsantrasyon değerlerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlendi ($p > 0,1$).

Tablo 4-5: Tizanidin hidroklorürün dayanıklılık bulguları

Zaman	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)
15. dk	10,920
30. dk	10,964
60. dk	10,893
120. dk	11,008
24. saat	10,949
48. saat	10,886
SS	0,045

4.3. Tizanidin Hidroklorürün Çözünürlük Çalışmaları Bulguları

Etkin maddenin farklı çözücülerdeki çözünürlükleri Tablo 4-6’da gösterilmiştir. Tizanidin hidroklorürün distile suda ve metanolde çok kolay çözündüğü gözlemlendi.

Tablo 4-6: Tizanidin hidroklorürün farklı çözücülerdeki çözünürlükleri

Çözücü	Konsantrasyon (mg/mL)
Aseton	$0,037 \pm 0,001$
Asetonitril	$0,161 \pm 0,001$
% 1 Asetik asit	$39,454 \pm 0,087$
pH 6,8 fosfat tamponu	$37,160 \pm 0,105$
Distile su	$36,132 \pm 0,239$
Etanol	$5,888 \pm 0,051$
Metanol	$38,959 \pm 0,076$

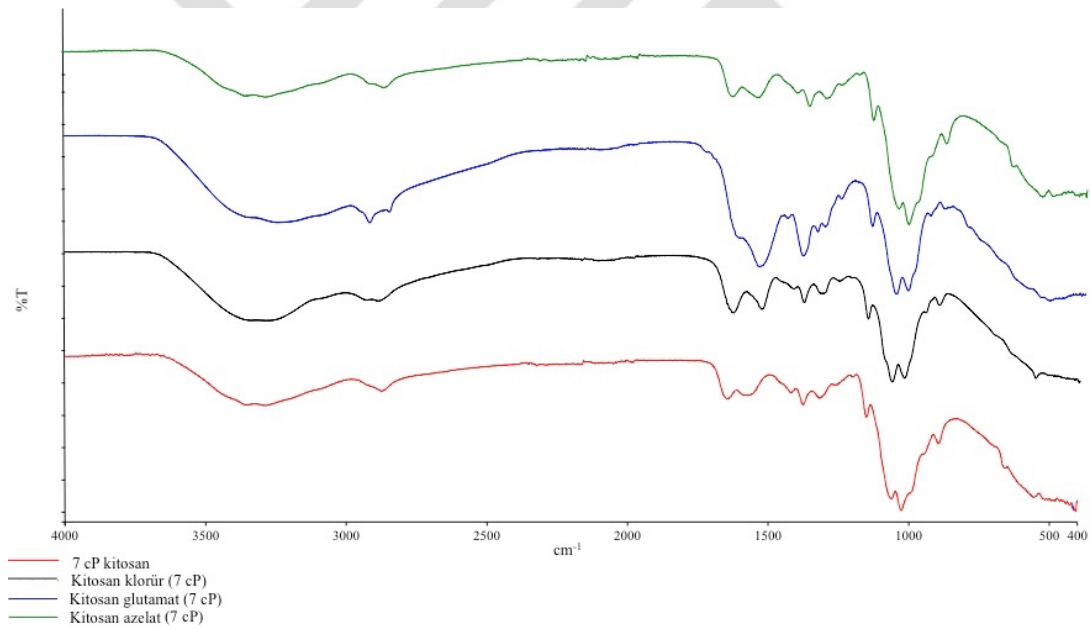
4.4. Kitosan Türevi Polimerlerin Hazırlanması ile İlgili Bulgular

Yöntem 3.2.4'e göre yapılan çalışmalar neticesinde 7 cP ve 10 cP kitosandan 6 farklı polimer başarılı bir şekilde hazırlandı.

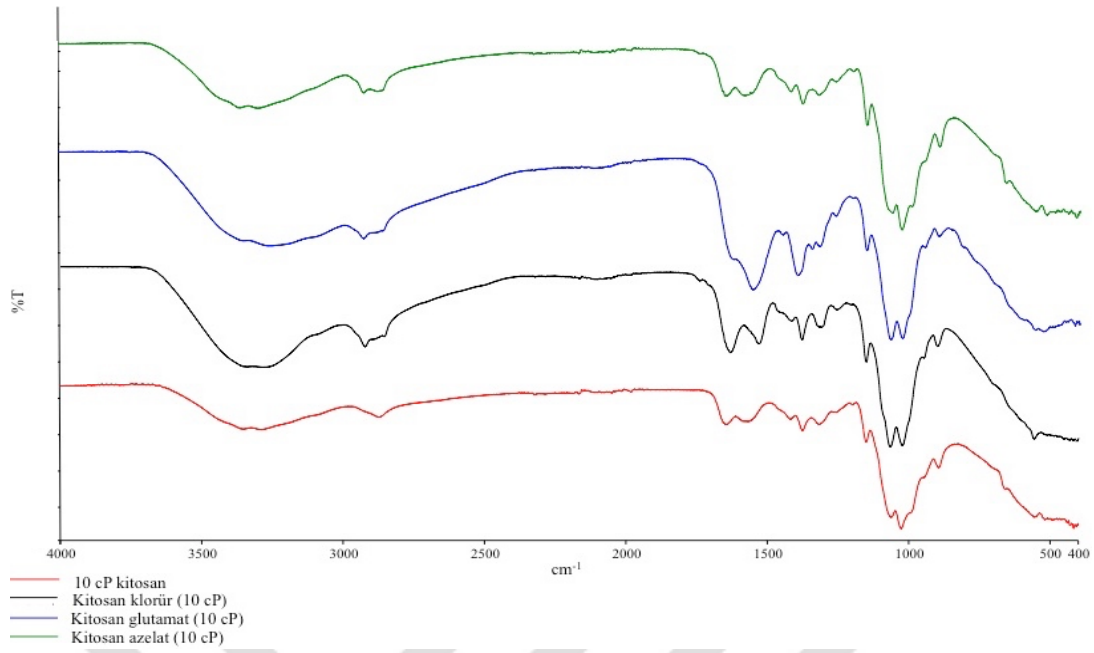
4.4.1. Polimerlerin FTIR Spektroskopisi Bulguları

Yöntem 3.2.4.1'e uygun olarak gerçekleştirilen çalışmalarda polimerlerin uygun bir şekilde hazırlandığı, FTIR spektrumlarının karşılaştırıldığı Şekil 4-9 ve Şekil 4-10'da gösterilmiştir.

7 cP ve 10 cP kitosan polimerlerinde yapılan modifikasyonların doğruluğunun gösterilmesi için yapılan FTIR spektrumlarının incelenmesinde kitosanın C-2 konumunda ($-NH_2$ grubu) meydana gelen bağ oluşumundan ötürü değişimlerin meydana geldiği görülmüştür (Ghosh ve Ali, 2012; Simons, 1978).



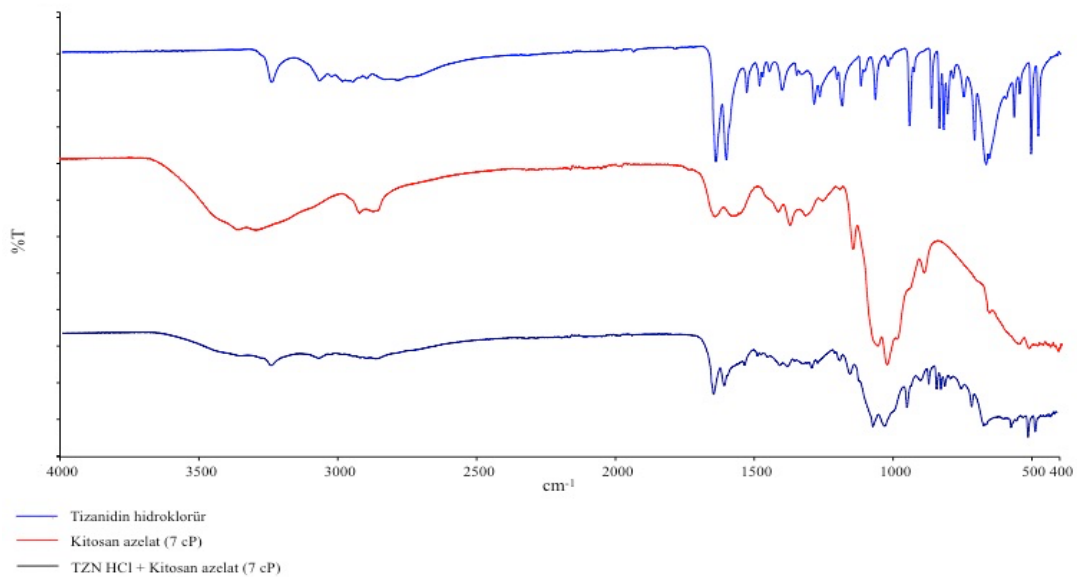
Şekil 4-9: 7 cP kitosan kullanılarak hazırlanan polimerlerin FTIR spektrumlarının karşılaştırılması



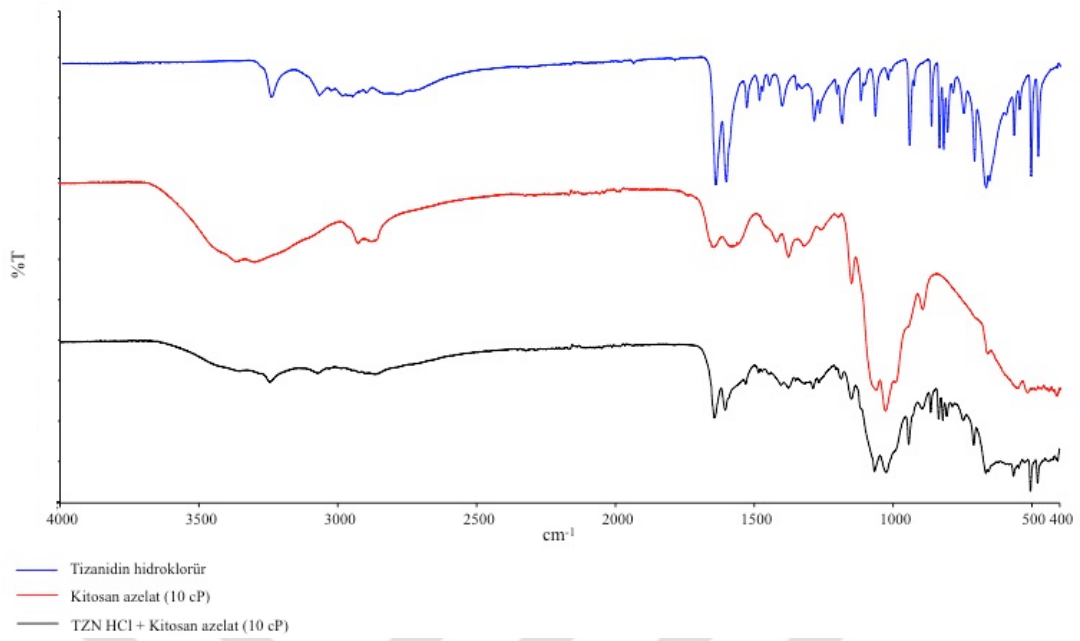
Şekil 4-10: 10 cP kitosan kullanılarak hazırlanan polimerlerin FTIR spektrumlarının karşılaştırılması

4.5. Etken ve Yardımcı Madde Etkileşimlerinin Belirlenmesi Bulguları

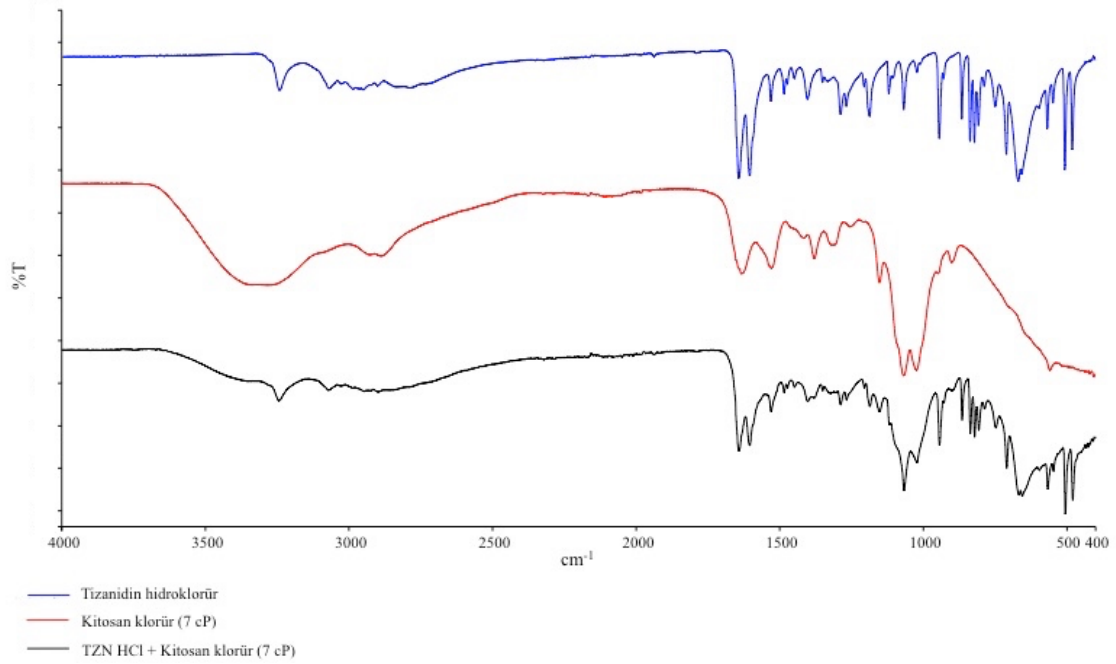
Yöntem 3.2.5'e göre yapılan çalışmalar neticesinde elde edilen spektrumlar bu başlık altındaki şekillerde karşılaştırılarak herhangi bir etkileşim olmadığı gösterildi. Tizanidin hidroklorürün, yardımcı maddelerle 1:1 oranındaki karışımlarının verdiği spektrumlar karşılaştırıldığında tizanidin hidroklorüre ait 3243 cm^{-1} 'de sekonder amin N – H bandı, 1642 cm^{-1} 'de – C = N bandı ve 1584 cm^{-1} 'de C = C bandı görüldü.



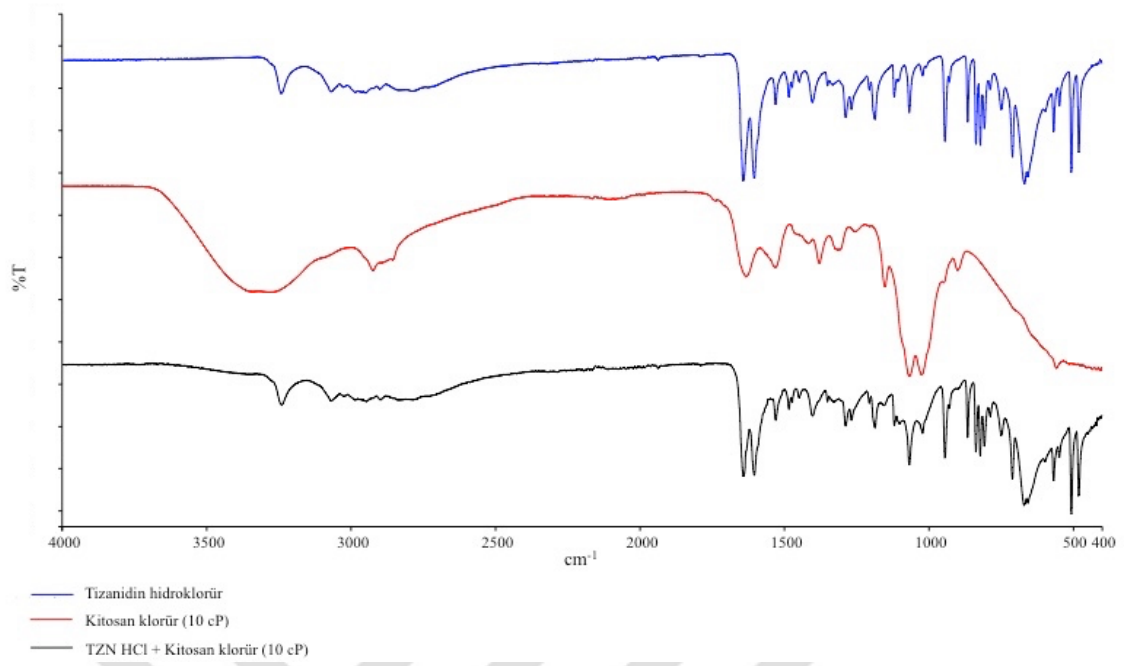
Şekil 4-11: Tizanidin hidroklorür, kitosan azelat (7 cP) ve (1:1) oranındaki karışımlarının spektrumları



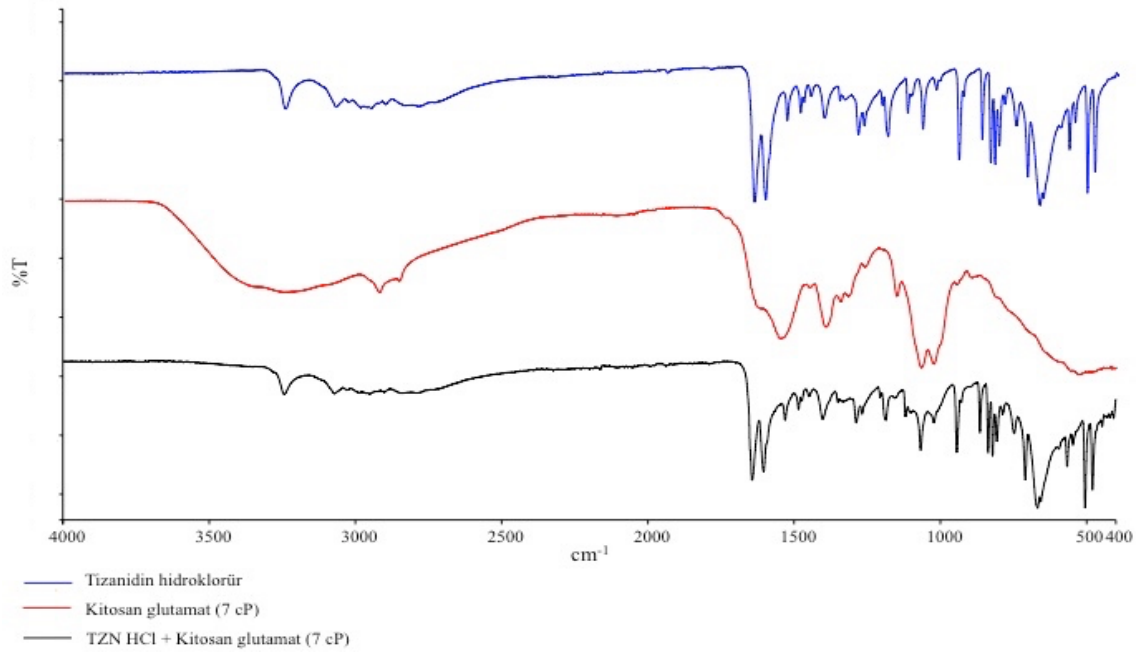
Şekil 4-12: Tizanidin hidroklorür, kitosan azelat (10 cP) ve (1:1) oranındaki karışımlarının spektrumları



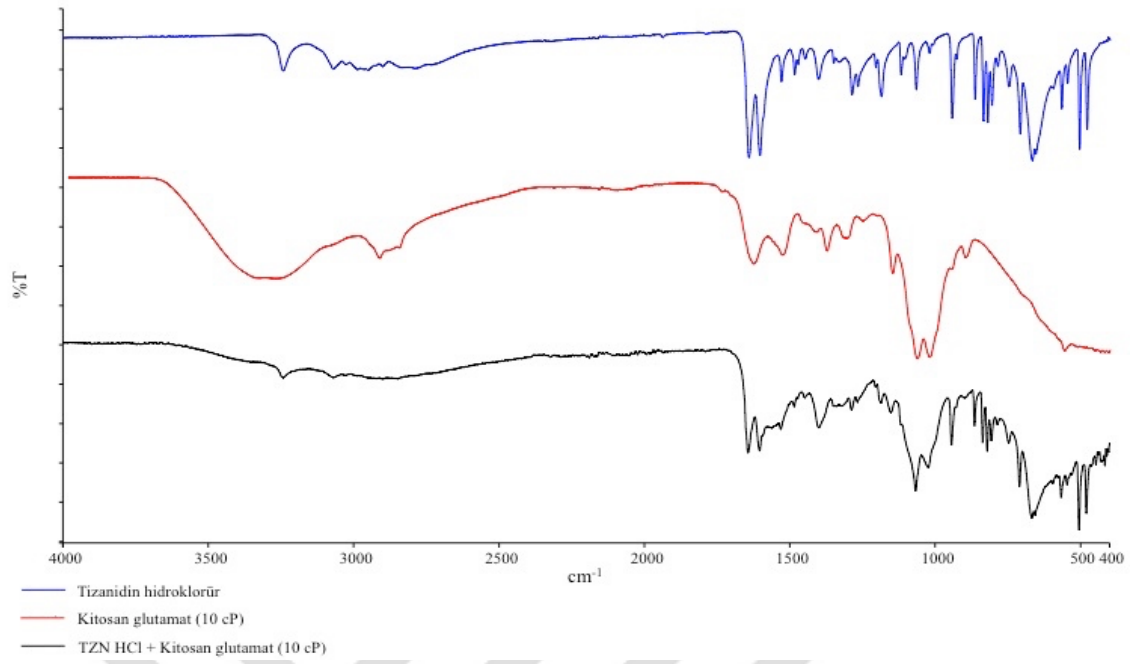
Şekil 4-13: Tizanidin hidroklorür, kitosan klorür (7 cP) ve (1:1) oranındaki karışımlarının spektrumları



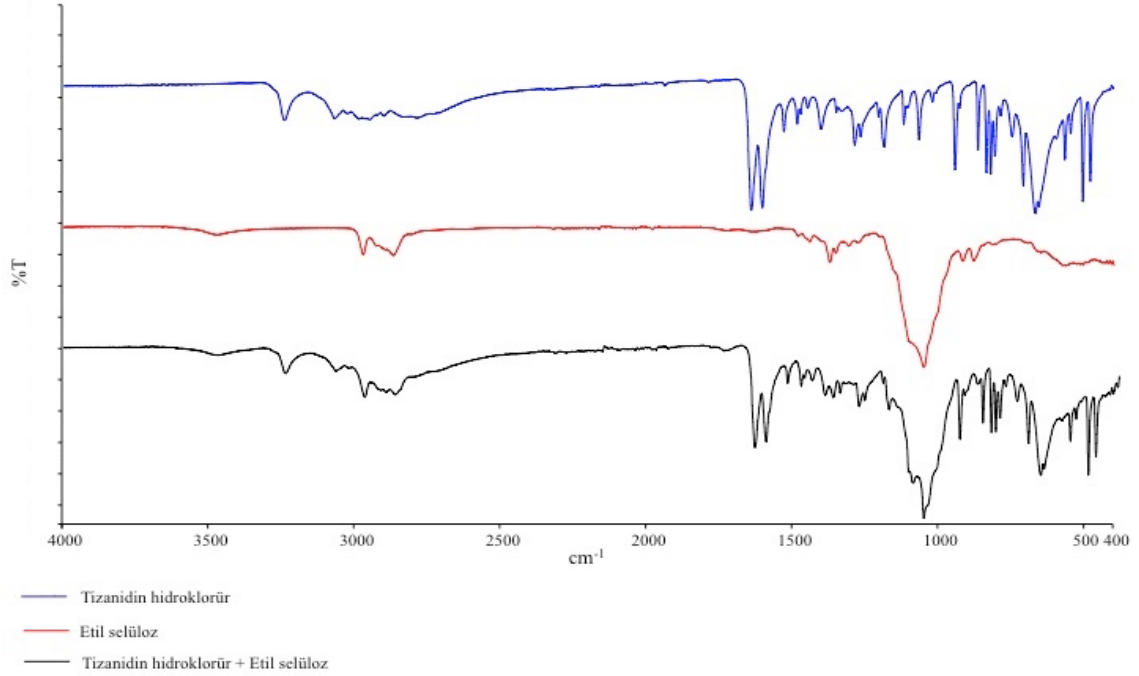
Şekil 4-14: Tizanidin hidroklorür, kitosan klorür (10 cP) ve (1:1) oranındaki karışımlarının spektrumları



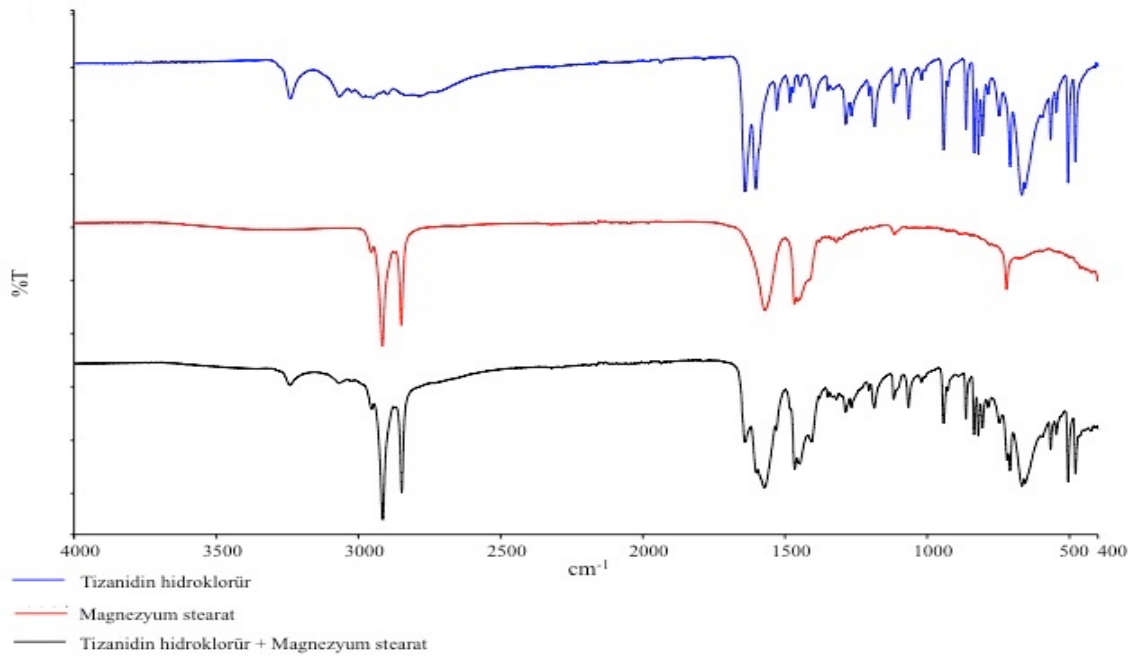
Şekil 4-15: Tizanidin hidroklorür, kitosan glutamat (7 cP) ve (1:1) oranındaki karışımlarının spektrumları



Şekil 4-16: Tizanidin hidroklorür, kitosan glutamat (10 cP) ve (1:1) oranındaki karışımlarının spektrumları



Şekil 4-17: Tizanidin hidroklorür, etil selüloz ve (1:1) oranındaki karışımlarının spektrumları

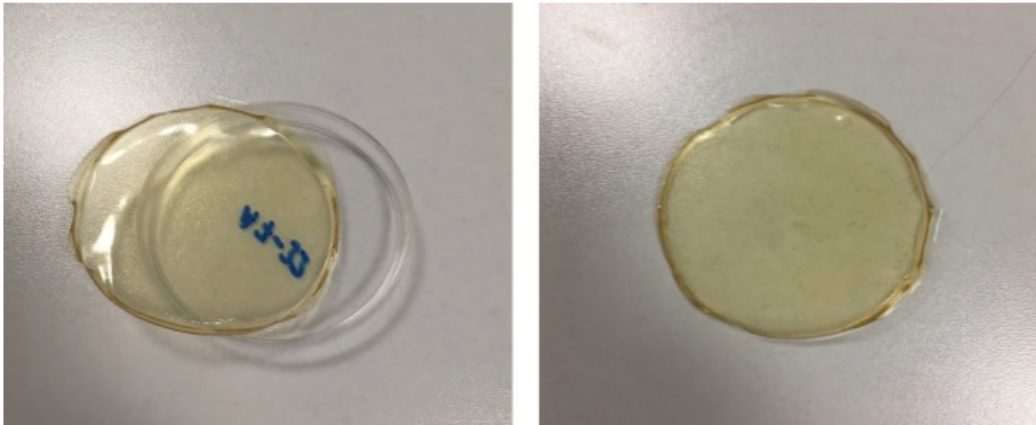


Şekil 4-18: Tizanidin hidroklorür, magnezyum stearat ve (1:1) oranındaki karışımlarının spektrumları

4.6. Bukkal Yama Formülasyonlarının Hazırlanması ve Fizikokimyasal Analiz Bulguları

4.6.1. Bukkal Yama Formülasyonlarının Hazırlanmasına Ait Bulguları

Yöntem 3.2.6.1’de anlatıldığı gibi 6 farklı polimer kullanılarak 34 adet bukkal yama formülasyonu Şekil 4-19’deki örnekte olduğu gibi başarılı bir şekilde hazırlandı. A10-42 ve A10-43 nolu formülasyonlar hazırlanırken çok yüksek viskoziteye sahip oldukları için petri kabına dökülemedi.



Şekil 4-19: 6 cm’lik petri kabında hazırlanan yamanın genel görünümü

4.6.2. Ağırlık Tekdüzeliliği Bulguları

Yöntem 3.2.6.2’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları Tablo 4-7, Tablo 4-8 ve Tablo 4-9’da gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre en yüksek ağırlığa sahip yama G10-43 nolu formülasyon olup $31,20 \pm 0,75$ mg ağırlığındadır. En düşük ağırlığa sahip yama ise G7-22 nolu formülasyon olup $13,80 \pm 0,75$ mg ağırlığındadır.

4.6.3. Kalınlık Bulguları

Yöntem 3.2.6.3’te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen çalışma sonuçları Tablo 4-7, Tablo 4-8 ve Tablo 4-9’da gösterilmiştir. Sonuçlara göre en kalın ve en ince yamalar sırasıyla C10-43 ve G7-22 olup kalınlıkları $0,240 \pm 0,000$ ve $0,134 \pm 0,005$ mm’dir.

4.6.4. pH Değeri Bulguları

Yöntem 3.2.6.4’te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen çalışmaların sonuçlarında Tablo 4-7, Tablo 4-8 ve Tablo 4-9’da gösterildiği gibi yamaların pH değerinin, 6,178 – 6,720 arasında olduğu tespit edildi.

Tablo 4-7: Kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan yama formülasyonlarının ağırlık tekdüzeliği, kalınlık ve pH değeri bulguları

Formülasyon / Özellikler	Ağırlık tekdüzeliği (mg)	Kalınlık (mm)	pH
A7-22	$15,00 \pm 1,41$	$0,138 \pm 0,007$	$6,230 \pm 0,033$
A7-23	$19,00 \pm 1,41$	$0,158 \pm 0,004$	$6,224 \pm 0,019$
A7-32	$22,60 \pm 1,02$	$0,166 \pm 0,010$	$6,204 \pm 0,032$
A7-33	$26,00 \pm 1,26$	$0,170 \pm 0,000$	$6,210 \pm 0,026$
A7-42	$23,80 \pm 0,75$	$0,186 \pm 0,005$	$6,178 \pm 0,015$
A7-43	$30,00 \pm 1,41$	$0,200 \pm 0,009$	$6,218 \pm 0,045$
A10-22	$16,80 \pm 0,75$	$0,154 \pm 0,005$	$6,228 \pm 0,026$
A10-23	$20,20 \pm 0,75$	$0,166 \pm 0,005$	$6,212 \pm 0,015$
A10-32	$24,40 \pm 1,36$	$0,204 \pm 0,005$	$6,212 \pm 0,039$
A10-33	$29,00 \pm 1,41$	$0,238 \pm 0,004$	$6,196 \pm 0,041$

Tablo 4-8: Kitosan klorür polimerleri ile hazırlanan yama formülasyonlarının ağırlık tekdüzeliği, kalınlık ve pH değeri bulguları

Formülasyon / Özellikler	Ağırlık tekdüzeliği (mg)	Kalınlık (mm)	pH
C7-22	17,40 ± 1,36	0,140 ± 0,000	6,686 ± 0,017
C7-23	18,20 ± 2,04	0,142 ± 0,004	6,694 ± 0,022
C7-32	20,00 ± 0,89	0,144 ± 0,005	6,628 ± 0,012
C7-33	23,60 ± 0,80	0,160 ± 0,000	6,626 ± 0,020
C7-42	24,40 ± 1,02	0,210 ± 0,000	6,564 ± 0,022
C7-43	28,20 ± 1,33	0,230 ± 0,000	6,534 ± 0,010
C10-22	19,80 ± 0,98	0,154 ± 0,005	6,704 ± 0,014
C10-23	21,00 ± 0,89	0,176 ± 0,005	6,690 ± 0,018
C10-32	20,40 ± 1,02	0,150 ± 0,000	6,644 ± 0,021
C10-33	25,40 ± 1,50	0,164 ± 0,005	6,628 ± 0,012
C10-42	23,40 ± 0,80	0,222 ± 0,004	6,602 ± 0,020
C10-43	28,80 ± 0,75	0,240 ± 0,000	6,600 ± 0,027

Tablo 4-9: Kitosan glutamat polimerleri ile hazırlanan yama formülasyonlarının ağırlık tekdüzeliği, kalınlık ve pH değeri bulguları

Formülasyon / Özellikler	Ağırlık tekdüzeliği (mg)	Kalınlık (mm)	pH
G7-22	13,80 ± 0,75	0,134 ± 0,005	6,708 ± 0,015
G7-23	17,20 ± 1,17	0,142 ± 0,004	6,720 ± 0,011
G7-32	21,00 ± 0,89	0,214 ± 0,004	6,638 ± 0,015
G7-33	24,00 ± 0,63	0,218 ± 0,004	6,644 ± 0,015
G7-42	24,40 ± 1,02	0,178 ± 0,004	6,486 ± 0,033
G7-43	29,00 ± 1,10	0,208 ± 0,004	6,496 ± 0,026
G10-22	16,60 ± 1,02	0,148 ± 0,004	6,696 ± 0,010
G10-23	19,60 ± 0,80	0,160 ± 0,000	6,716 ± 0,014
G10-32	23,80 ± 0,75	0,152 ± 0,004	6,642 ± 0,017
G10-33	26,00 ± 0,89	0,208 ± 0,004	6,664 ± 0,008
G10-42	23,60 ± 0,80	0,206 ± 0,005	6,536 ± 0,023
G10-43	31,20 ± 0,75	0,236 ± 0,005	6,544 ± 0,022

4.6.5. Nem Tutma Kapasitesi Bulguları

Yöntem 3.2.6.5'te anlatıldığı gibi yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar Tablo 4-10, Tablo 4-11 ve Tablo 4-12'de gösterilmiştir. Elde edilen veriler neticesinde nem tutma kapasitesi en yüksek formülasyon % $55,04 \pm 7,31$ ile G7-22 nolu formülasyonudur. Nem tutma kapasitesi en düşük formülasyon ise % $3,01 \pm 2,46$ ile G10-23 formülasyonudur.

4.6.6. Nem Kaybı Yüzdesi Bulguları

Yöntem 3.2.6.6'da anlatıldığı şekilde yürütülen çalışmalardan elde edilen bulgular Tablo 4-11, Tablo 4-12 ve Tablo 4-13'te gösterilmiştir. Bu veriler neticesinde nem kaybı yüzdesi en yüksek ve en düşük formülasyonlar sırasıyla A10-33 ve C7-43 nolu formülasyonlardır. Yamaların nem kaybı yüzdeleri % 1,94 – 17,11 arasındadır.

Tablo 4-10: Kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan yama formülasyonlarının nem kaybı ve nem tutma yüzdeleri

Formülasyon / Özellikler	Nem kaybı (%)	Nem tutma (%)
A7-22	$4,32 \pm 2,11$	$5,44 \pm 2,74$
A7-23	$4,05 \pm 1,63$	$6,33 \pm 1,85$
A7-32	$4,54 \pm 2,09$	$9,52 \pm 3,55$
A7-33	$4,41 \pm 1,79$	$16,89 \pm 1,14$
A7-42	$8,16 \pm 0,46$	$23,60 \pm 2,83$
A7-43	$13,18 \pm 1,27$	$40,61 \pm 2,22$
A10-22	$3,82 \pm 1,69$	$9,71 \pm 2,83$
A10-23	$4,60 \pm 1,24$	$8,45 \pm 2,67$
A10-32	$7,31 \pm 1,59$	$15,54 \pm 3,44$
A10-33	$17,11 \pm 0,64$	$32,69 \pm 4,30$

Tablo 4-11: Kitosan klorür polimerleri ile hazırlanan bukkal yama formülasyonlarının nem kaybı ve nem tutma yüzdeleri

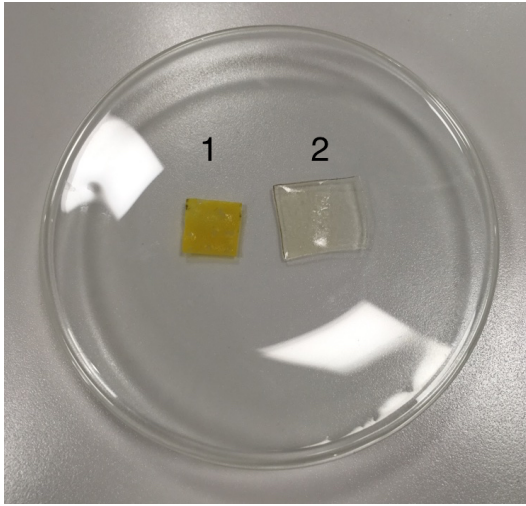
Formülasyon / Özellikler	Nem kaybı (%)	Nem tutma (%)
C7-22	5,17 ± 2,04	9,43 ± 2,43
C7-23	4,35 ± 1,21	4,96 ± 0,19
C7-32	4,20 ± 1,02	41,65 ± 3,92
C7-33	2,44 ± 1,16	43,80 ± 3,75
C7-42	2,69 ± 1,28	14,85 ± 1,48
C7-43	1,94 ± 0,82	49,95 ± 2,67
C10-22	2,24 ± 1,51	12,63 ± 2,58
C10-23	2,32 ± 1,01	11,08 ± 2,09
C10-32	3,54 ± 1,33	16,92 ± 4,23
C10-33	3,03 ± 1,19	34,79 ± 5,34
C10-42	2,93 ± 1,34	23,64 ± 1,82
C10-43	6,48 ± 2,31	44,77 ± 2,01

Tablo 4-12: Kitosan glutamat polimerleri ile hazırlanan yama formülasyonlarının nem kaybı ve nem tutma yüzdeleri

Formülasyon / Özellikler	Nem kaybı (%)	Nem tutma (%)
G7-22	5,84 ± 3,43	55,04 ± 7,31
G7-23	8,39 ± 2,19	9,94 ± 2,86
G7-32	2,39 ± 1,08	4,05 ± 2,03
G7-33	2,04 ± 0,90	12,28 ± 2,79
G7-42	3,03 ± 1,19	31,47 ± 1,63
G7-43	6,90 ± 0,21	30,91 ± 2,26
G10-22	3,15 ± 1,55	4,58 ± 2,30
G10-23	2,47 ± 1,15	3,01 ± 2,46
G10-32	2,17 ± 1,00	10,67 ± 2,33
G10-33	8,02 ± 1,36	54,12 ± 3,03
G10-42	9,58 ± 1,77	8,14 ± 0,26
G10-43	8,19 ± 1,27	12,16 ± 1,64

4.6.7. Şişme Yüzdesi Bulguları

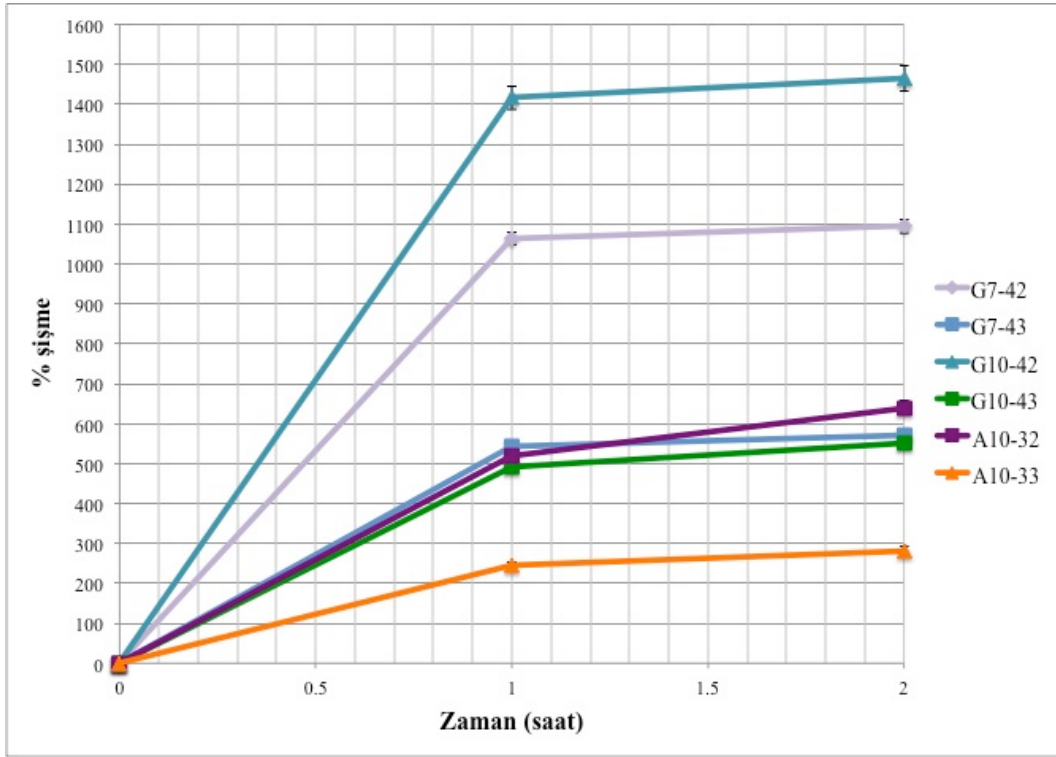
Yöntem 3.2.6.7'ye göre yapılan şişme çalışmaları sonucunda yamaların büyük bir çoğunluğunun bir saat içinde parçalandığı gözlemlendi. C7-43 ve C10-43 nolu formülasyonların 1. ve 2. saatler arasında parçalandığı tespit edildi. 2. saat sonunda parçalanmadan tartımları yapılabilen yamalarla ilgili sonuçlar Tablo 4-13 ve Şekil 4-21'de gösterilmiştir. Kitosan azelat ile hazırlanan yamaların diğer polimerler ile hazırlanan yamalara göre daha az şiştiği tespit edildi. Şekil 4-20'de görüldüğü gibi A10-33 yama formülasyonu boyut olarak yaklaşık iki katına çıkmıştır.



Şekil 4-20: A10-33 formülasyonunun iki saatlik şişme sonucu görünümü (1: 1*1 cm² boyutundaki yama; 2: İki saat şişen yama)

Tablo 4-13: Yama formülasyonlarının şişme yüzdeleri

Formülasyon / Özellikler	Şişme yüzdesi (%) 1. saat	Şişme yüzdesi (%) 2. saat
A10-32	518,53 ± 16,30	640,17 ± 18,76
A10-33	246,85 ± 5,88	283,04 ± 9,48
G7-42	1064,63 ± 16,21	1095,10 ± 17,88
G7-43	544,66 ± 8,20	569,61 ± 13,10
G10-42	1416,86 ± 29,60	1463,82 ± 31,73
G10-43	490,26 ± 10,60	551,89 ± 6,70



Şekil 4-21: Yama formülasyonlarının % şişme – zaman grafiği

4.6.8. Gerilme Direnci ve Esneklik Bulguları

Yöntem 3.2.6.8'e uygun olarak gerçekleştirilen gerilme direnci ve esneklik çalışmalarının bulguları Tablo 4-14, Tablo 4-15 ve Tablo 4-16'da gösterilmiştir. Gerilme direnci en yüksek formülasyon $8,745 \pm 1,169 \text{ N/cm}^2$ ile C10-42 iken, en düşük ise $0,450 \pm 0,042 \text{ N/cm}^2$ ile G10-23 olmuştur. Esnekliği en yüksek ve en düşük formülasyonlar ise sırasıyla % $147,74 \pm 7,13$ ile G10-23 ve % $49,72 \pm 5,40$ ile A10-33 olmuştur. Şekil 4-22'de görüldüğü gibi kitosan azelat (7 cP) ve % 2 gliserin içeren formülasyonlardan A7-42 en yüksek gerilme direncini göstermiştir. Polimer miktarı sabitken gliserin konsantrasyonundaki değişimin esneklik ve gerilme direncini nasıl etkilediği Şekil 4-23 ve Şekil 4-24'te gösterilmiştir. Aynı konsantrasyonda ancak farklı tipte polimer (% 3) ve aynı konsantrasyonda gliserin (% 3) içeren formülasyonların karşılaştırılmasında en esnek formülasyon G7-33 olmuştur (Şekil 4-25). Yapılan çalışmalar neticesinde elde edilen bulgulara göre kitosan glutamat ile hazırlanan yamaların esneklikleri diğer polimerler ile hazırlanan yamalara göre genel olarak daha yüksek çıkmıştır.

Tablo 4-14: Kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan bukkal yama formülasyonlarının gerilme direnci ve esneklik bulguları

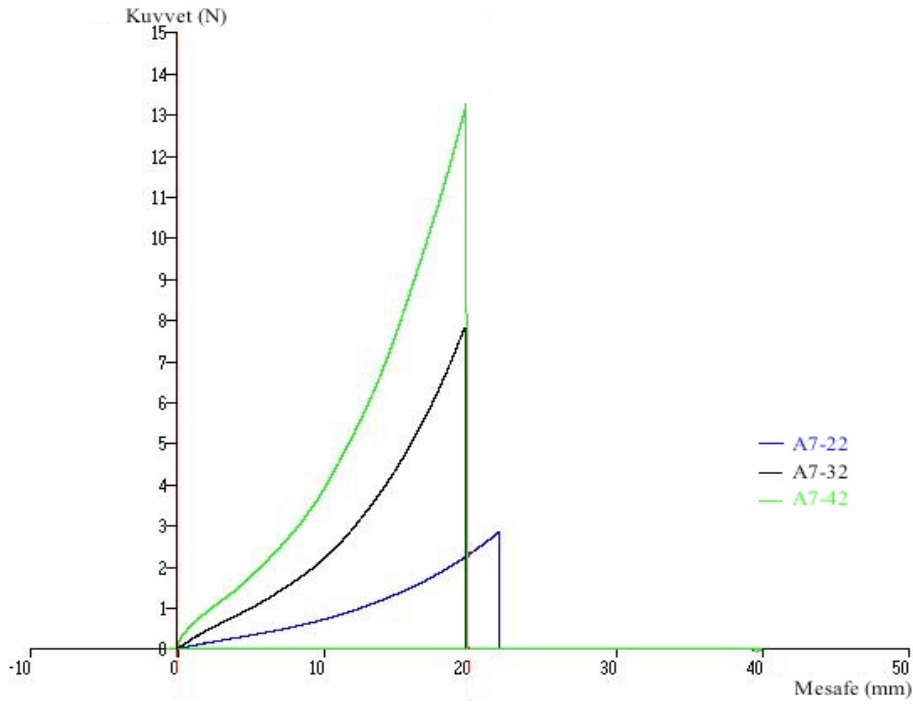
Formülasyon / Özellikler	Gerilme direnci (N/cm ²)	Esneklik (%)
A7-22	1,288 ± 0,424	109,69 ± 23,43
A7-23	0,703 ± 0,083	144,89 ± 8,49
A7-32	4,565 ± 0,460	104,80 ± 10,55
A7-33	1,033 ± 0,323	95,23 ± 7,68
A7-42	6,684 ± 0,175	106,61 ± 4,68
A7-43	2,742 ± 0,290	91,31 ± 5,37
A10-22	1,575 ± 0,300	95,86 ± 13,42
A10-23	0,828 ± 0,168	99,88 ± 12,36
A10-32	3,193 ± 0,114	97,43 ± 0,77
A10-33	1,945 ± 0,236	49,72 ± 5,40

Tablo 4-15: Kitosan klorür polimerleri ile hazırlanan bukkal yama formülasyonlarının gerilme direnci ve esneklik bulguları

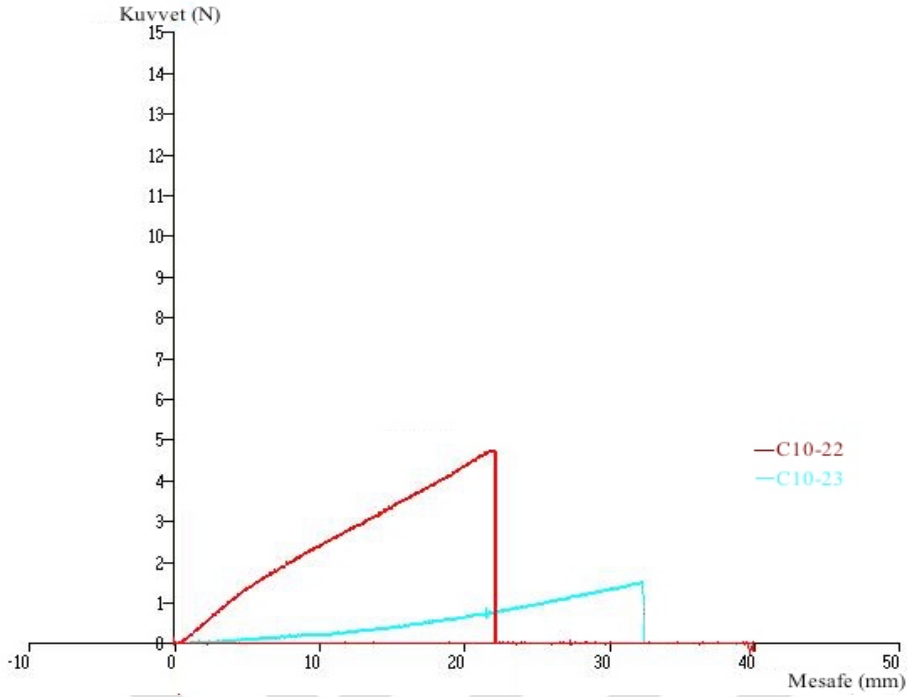
Formülasyon / Özellikler	Gerilme direnci (N/cm ²)	Esneklik (%)
C7-22	0,615 ± 0,095	110,09 ± 16,24
C7-23	0,533 ± 0,018	87,03 ± 3,56
C7-32	2,172 ± 0,510	100,04 ± 26,56
C7-33	2,998 ± 0,189	75,57 ± 2,23
C7-42	2,569 ± 0,042	64,11 ± 9,00
C7-43	3,384 ± 0,495	70,25 ± 4,99
C10-22	2,358 ± 0,049	113,77 ± 4,41
C10-23	0,747 ± 0,025	142,69 ± 13,57
C10-32	1,829 ± 0,203	76,06 ± 8,51
C10-33	2,716 ± 0,398	77,51 ± 4,09
C10-42	8,745 ± 1,169	69,29 ± 8,71
C10-43	3,558 ± 0,395	71,39 ± 11,21

Tablo 4-16: Kitosan glutamat polimerleri ile hazırlanan bukkal yama formülasyonlarının gerilme direnci ve esneklik bulguları

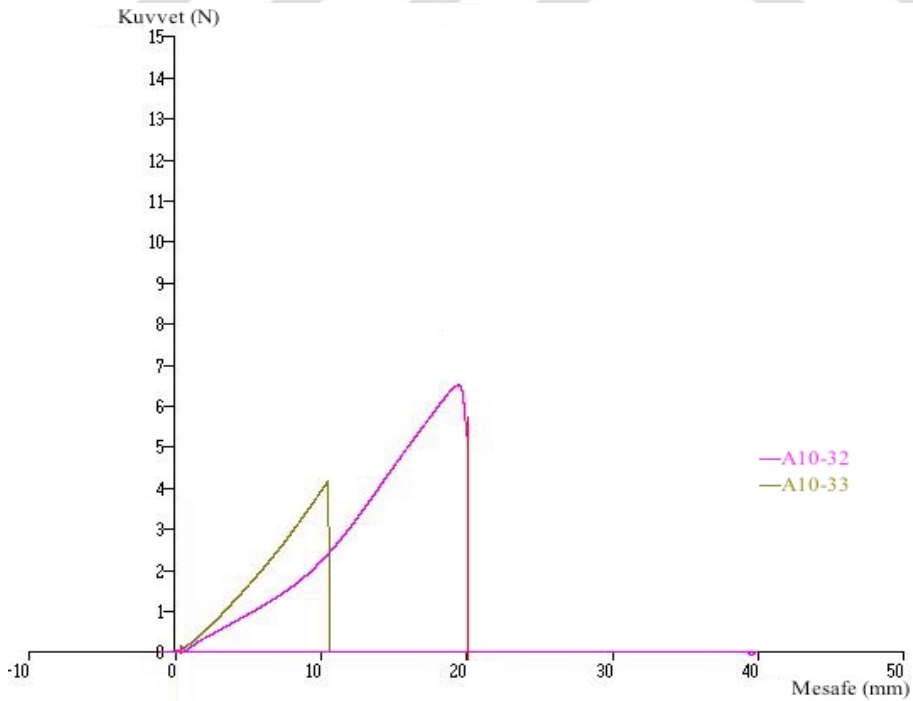
Formülasyon / Özellikler	Gerilme direnci (N/cm ²)	Esneklik (%)
G7-22	0,677 ± 0,082	121,30 ± 7,59
G7-23	0,450 ± 0,042	124,15 ± 13,01
G7-32	1,758 ± 0,390	90,73 ± 7,27
G7-33	0,888 ± 0,149	125,91 ± 10,15
G7-42	3,051 ± 0,635	115,06 ± 8,28
G7-43	0,922 ± 0,096	70,37 ± 6,90
G10-22	2,907 ± 0,144	134,99 ± 5,42
G10-23	2,132 ± 0,144	147,74 ± 7,13
G10-32	4,042 ± 0,544	145,34 ± 17,16
G10-33	4,918 ± 0,066	144,91 ± 10,68
G10-42	2,017 ± 0,478	89,38 ± 7,01
G10-43	2,015 ± 0,178	122,98 ± 5,41



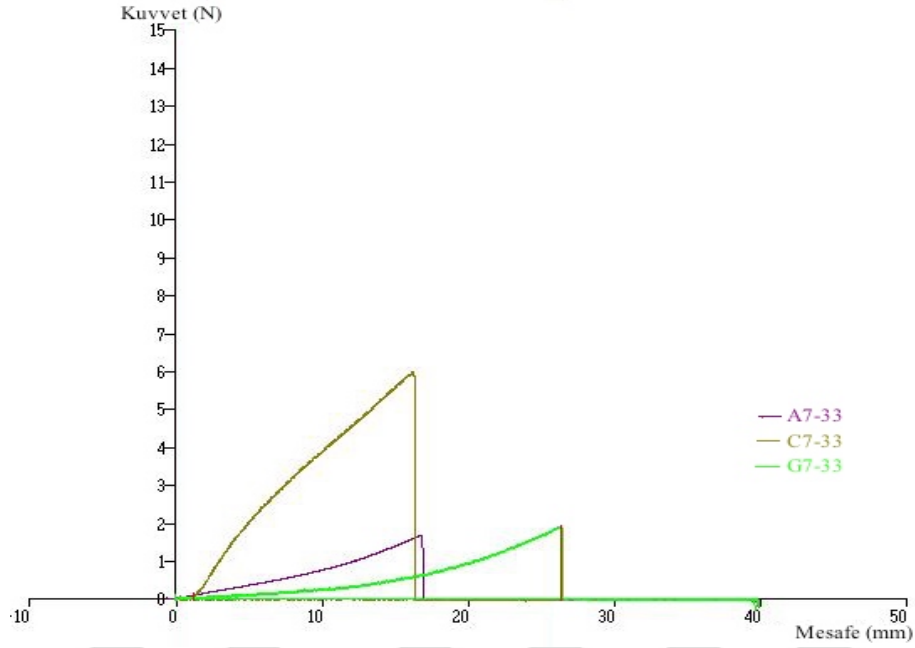
Şekil 4-22: Farklı konsantrasyonda polimer içeren kitosan azelat (7 cP) yamalarının esneklik ve gerilme direnci profillerinin karşılaştırılması



Şekil 4-23: % 2 polimer ve farklı konsantrasyonda plastizer içeren kitosan klorür (10 cP) yamalarının esneklik ve gerilme direnci profillerinin karşılaştırılması



Şekil 4-24: % 3 polimer ve farklı konsantrasyonda plastizer içeren kitosan azelat (10 cP) yamalarının esneklik ve gerilme direnci profillerinin karşılaştırılması



Şekil 4-25: % 3 polimer ve % 3 plastizer içeren, kitosanın farklı türevleri (10 cP) ile hazırlanan yamaların esneklik ve gerilme direnci profillerinin karşılaştırılması

4.6.9. İçerik Tekdüzeliliği Çalışmalarına Ait Bulgular

Yöntem 3.2.6.9’da anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen içerik tekdüzeliliğine ait bulgular Tablo 4-17’de gösterilmiştir. Yamaların etken madde içeriklerinin % 93,26 – 114,11 arasında olduğu tespit edildi.

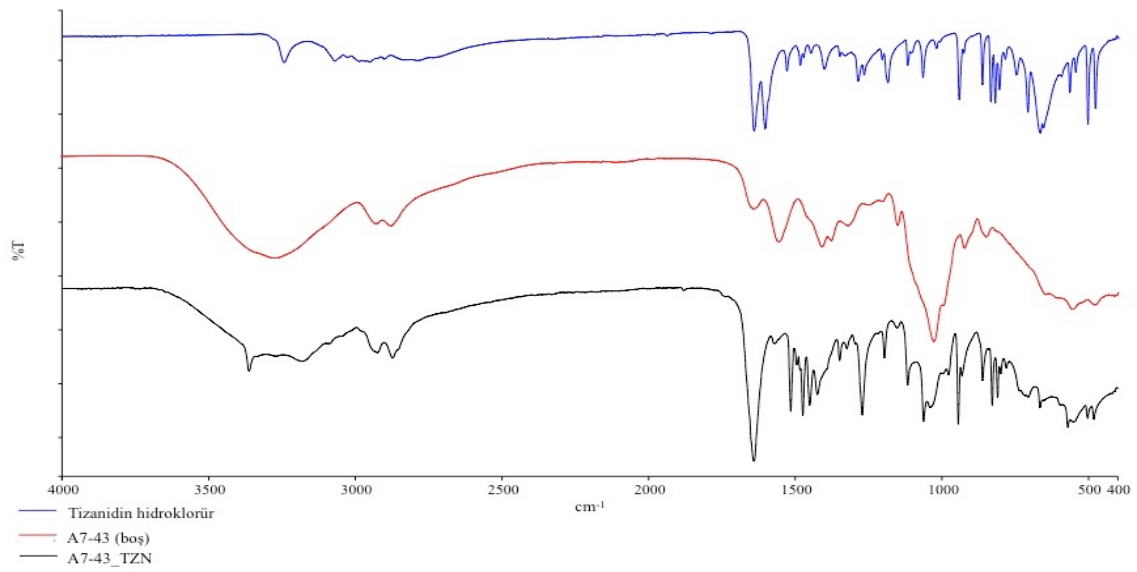
Tablo 4-17: İdeal yama formülasyonlarının içerik tekdüzelilikleri

Formülasyon	İçerik tekdüzeliliği (%)
A7-43	98,17 ± 1,49
A10-33	97,55 ± 4,24
C7-43	93,26 ± 4,85
C10-43	109,50 ± 7,96
G7-43	114,11 ± 4,48
G10-43	100,31 ± 3,62

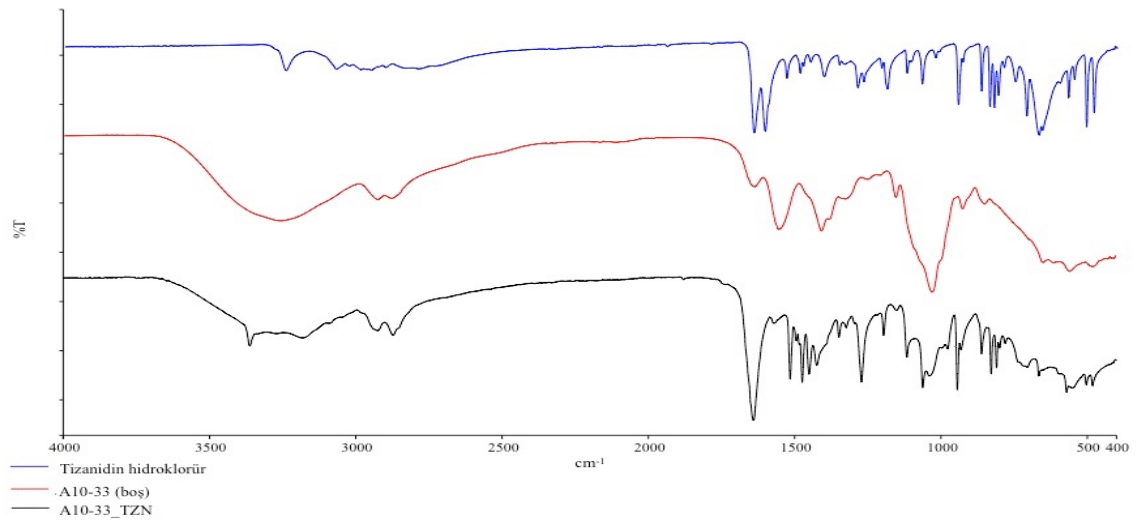
4.6.10. FTIR Spektroskopisi Analizlerine Ait Bulgular

Şekil 4-26, Şekil 4-27, Şekil 4-30 ve Şekil 4-31’de olduğu gibi kitosan azelat ve kitosan glutamat ile hazırlanan polimerlerin etken madde içeren formülasyonlarında tizanidin hidroklorüre ait $3200 - 3300 \text{ cm}^{-1}$ değerleri civarında sekonder amin N – H bandı ve 1642 cm^{-1} ’de $-C = N$ bandı görüldü.

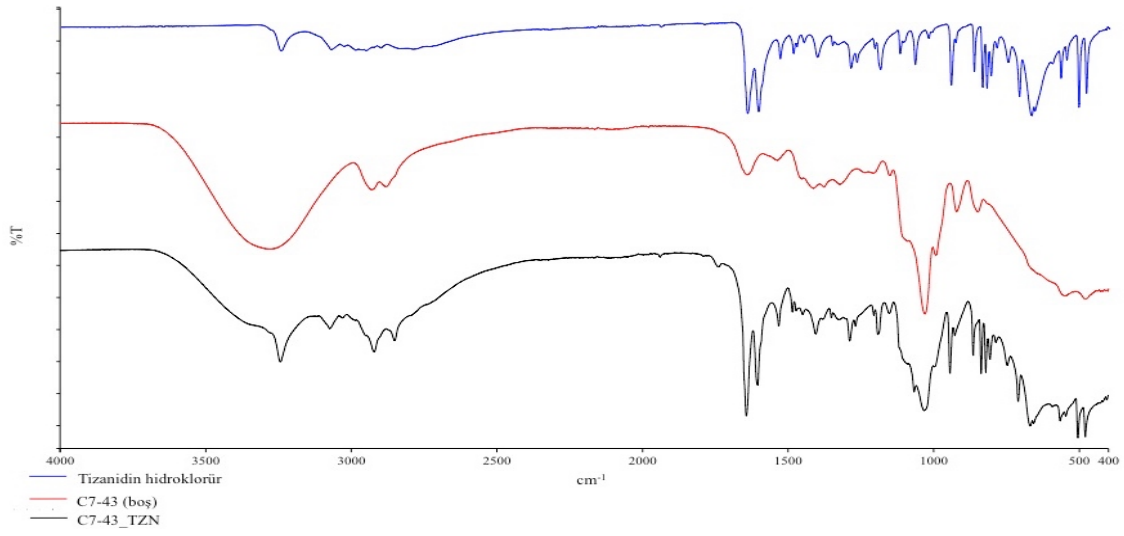
Şekil 4-28 ve Şekil 4-29’da kitosan klorür ile hazırlanan polimerlerin etken madde içeren formülasyonlarında tizanidin hidroklorüre ait 3243 cm^{-1} ’de sekonder amin N – H bandı, 1642 cm^{-1} ’de $-C = N$ bandı ve 1584 cm^{-1} ’de $-C = C$ bandı görüldü.



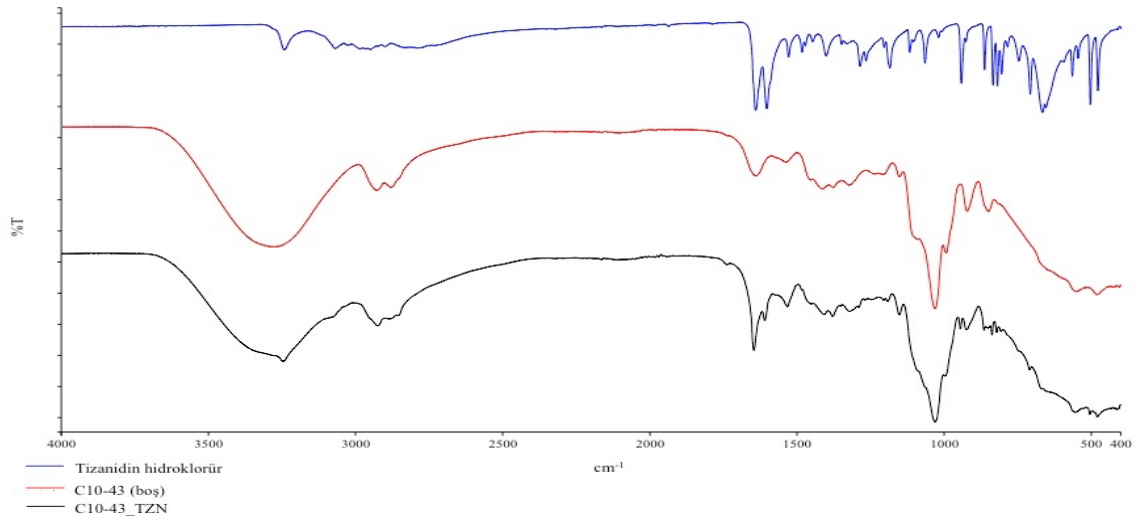
Şekil 4-26: A7-43’ün etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması



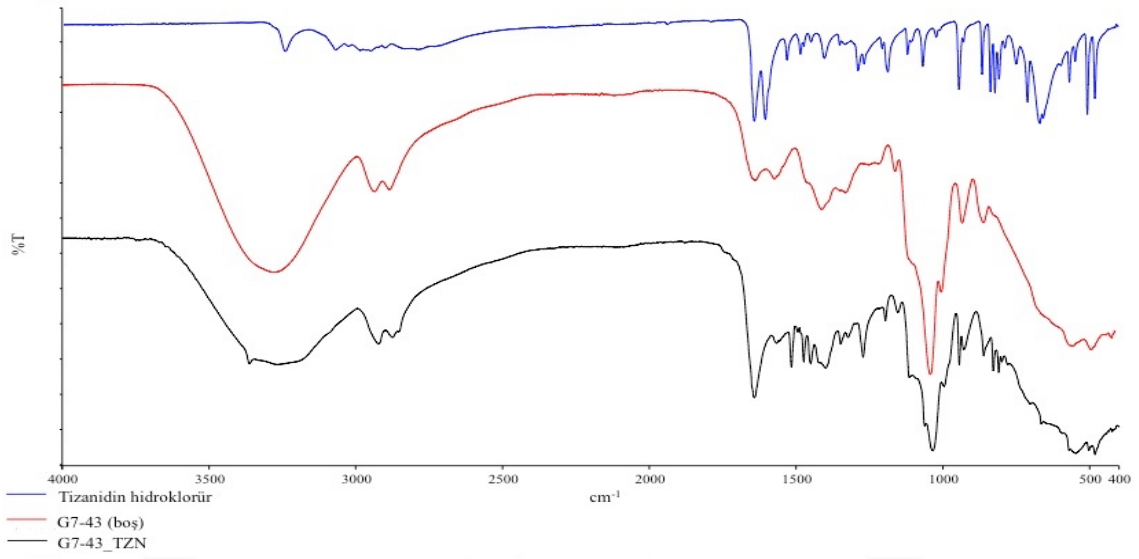
Şekil 4-27: A10-33’ün etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması



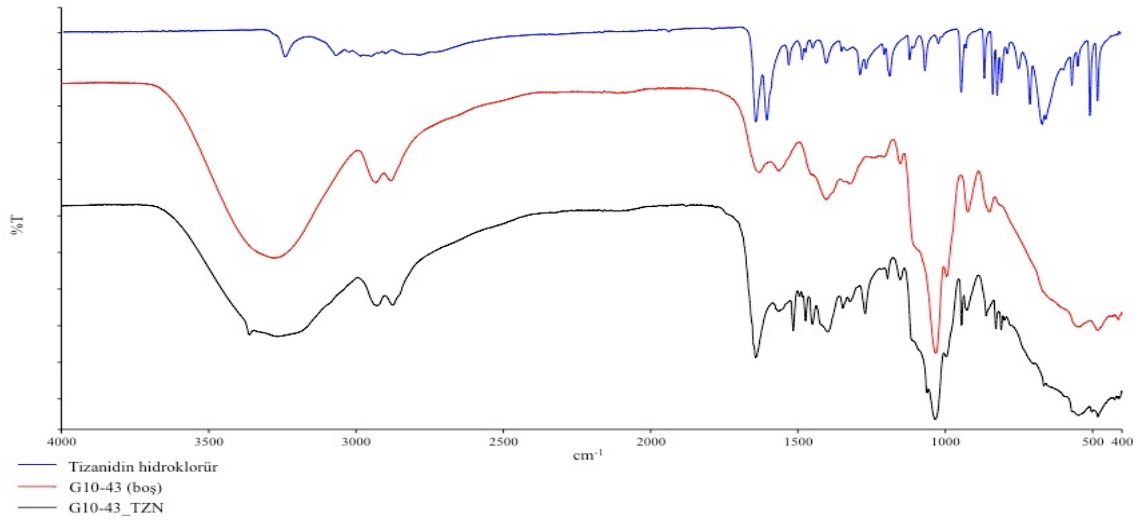
Şekil 4-28: C7-43'ün etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması



Şekil 4-29: C10-43'ün etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması



Şekil 4-30: G7-43'ün etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması

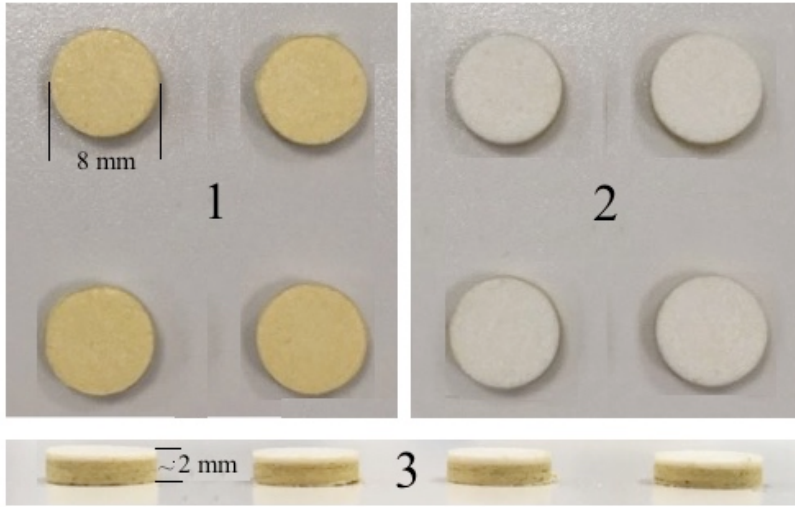


Şekil 4-31: G10-43'ün etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması

4.7. Bukkal Tablet Formülasyonlarının Hazırlanması ve Fizikokimyasal Analiz Bulguları

4.7.1. Bukkal Tablet Formülasyonlarının Hazırlanmasına Ait Bulgular

Yöntem 3.2.8.1'de anlatıldığı üzere 6 farklı polimer kullanılarak etken madde içermeyen çift katlı bukkal tablet formülasyonları Şekil 4-32'de görüldüğü gibi başarılı bir şekilde hazırlandı.



Şekil 4-32: Çift katlı tablet formülasyonları (1: Tabletın etken madde içeren kısmının görüntüsü; 2: Etil selüloz tabakasının görüntüsü; 3: Tabletın yandan görüntüsü)

4.7.2. Ağırlık Tekdüzeliliği Bulguları

Yöntem 3.2.8.2'deki ağırlık tekdüzeliliği çalışmalarında tabletlerin ağırlıkları 119 – 120 mg olarak saptandı. Elde edilen bulgular Tablo 4-18'de gösterilmiştir.

4.7.3. Çap – Kalınlık Bulguları

8 mm çapına sahip zımbalar kullanılarak Yöntem 3.2.8.3'te anlatıldığı gibi kumpasla yapılan ölçümler neticesinde elde edilen bulgular Tablo 4-18'de gösterilmiştir. Tabletlerin çapları 7,99 – 8,00 mm aralığında olup tablet kalınlıklarının ise 2,01 – 2,29 mm arasında değişkenlik gösterdiği tespit edildi.

4.7.4. pH Değeri Bulguları

Yöntem 3.2.8.4'teki çalışmalarda pH değerleri 6,068 – 6,846 arasında bulundu. En düşük pH'ya sahip formülasyon TG-7 olurken, en yüksek pH değerini gösteren ise TA-10 olduğu belirlendi. Elde edilen sonuçlar Tablo 4-18'de gösterilmiştir.

Tablo 4-18: Tablet formülasyonlarının ağırlık tekdüzeliği, çap-kalınlık ve pH değeri bulguları

Formülasyon / Özellikler	Ağırlık tekdüzeliği (mg)	Çap (mm)	Kalınlık (mm)	pH
TA-7	119,0 ± 1,02	8,00 ± 0,01	2,03 ± 0,01	6,824 ± 0,019
TA-10	120,0 ± 0,84	8,00 ± 0,01	2,01 ± 0,01	6,846 ± 0,015
TC-7	119,5 ± 1,03	7,99 ± 0,02	2,01 ± 0,01	6,192 ± 0,021
TC-10	119,5 ± 1,05	7,99 ± 0,01	2,01 ± 0,01	6,148 ± 0,023
TG-7	119,0 ± 0,84	8,00 ± 0,01	2,29 ± 0,01	6,068 ± 0,019
TG-10	120,0 ± 0,99	8,00 ± 0,01	2,28 ± 0,01	6,428 ± 0,015

4.7.5. Friabilite Bulguları

Yöntem 3.2.8.5'e göre gerçekleştirilen friabilite sonuçları Tablo 4-19'da gösterildi. Tabletlerin friabilite değerleri % 1'den küçük olup % 0,13 – 0,80 arasındadır.

4.7.6. Sertlik Değeri Bulguları

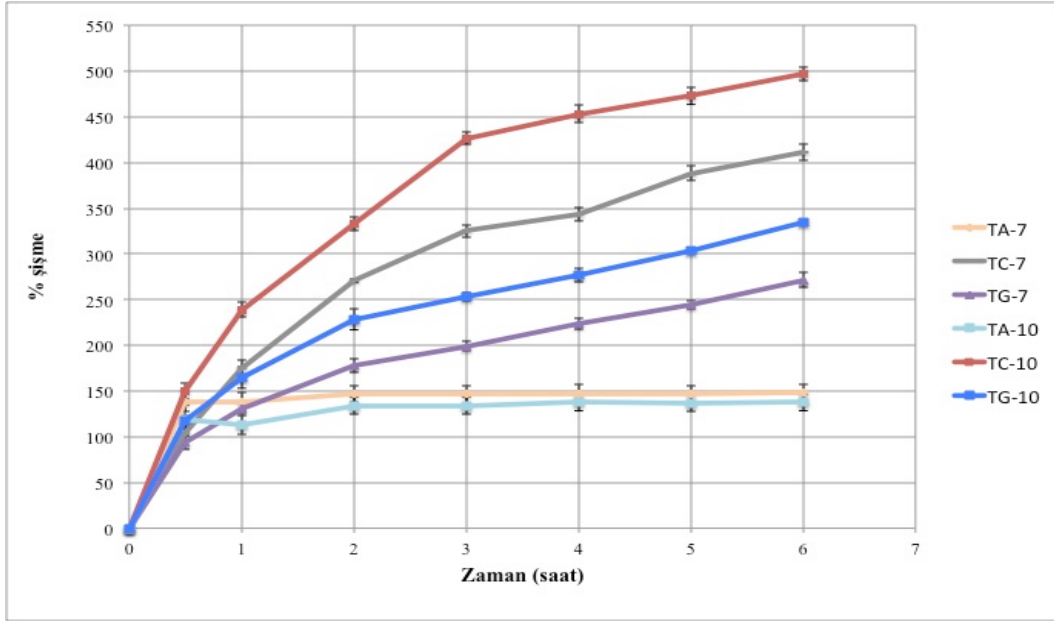
Yöntem 3.2.8.6'ya uygun olarak yapılan tablet sertlik çalışmalarında tabletlerin sertlik değerleri 75,56 – 85,44 N arasında bulunmuştur (Tablo 4-19).

4.7.7. Şişme Yüzdesi Bulguları

Yöntem 3.2.8.7'ye göre yapılan şişme yüzdesi çalışmalarındaki veriler Tablo 4-19 ve Şekil 4-33'te gösterilmiştir. 6 saatlik şişme çalışmasının sonunda en fazla şişme gösteren tablet % 496,85 ± 7,45 ile TC-10, en az şişme gösteren tablet ise % 138,02 ± 9,45 ile TA-7 olmuştur.

Tablo 4-19: Tablet formülasyonlarına ait friabilite, sertlik ve şişme yüzdesi bulguları

Formülasyon / Özellikler	% Friabilite	Sertlik (N)	6. saat % şişme
TA-7	0,42	78,47 ± 3,73	147,83 ± 9,29
TA-10	0,66	75,56 ± 3,77	138,02 ± 9,45
TC-7	0,13	80,13 ± 4,38	411,14 ± 8,93
TC-10	0,25	84,41 ± 6,02	496,85 ± 7,45
TG-7	0,80	81,07 ± 5,59	271,71 ± 8,44
TG-10	0,59	85,44 ± 4,92	334,74 ± 2,74



Şekil 4-33: Tablet formülasyonlarının şişme yüzdelerinin 6 saat boyunca değişimi

4.7.8. İçerik Tekdüzeliliği Çalışmalarına Ait Bulgular

Yöntem 3.2.7.8’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen içerik tekdüzeliğine ait bulgular Tablo 4-20’de gösterilmiştir. İçerik tekdüzeliği sonuçları % 69,88 – 89,86 arasında değişkenlik göstermiştir.

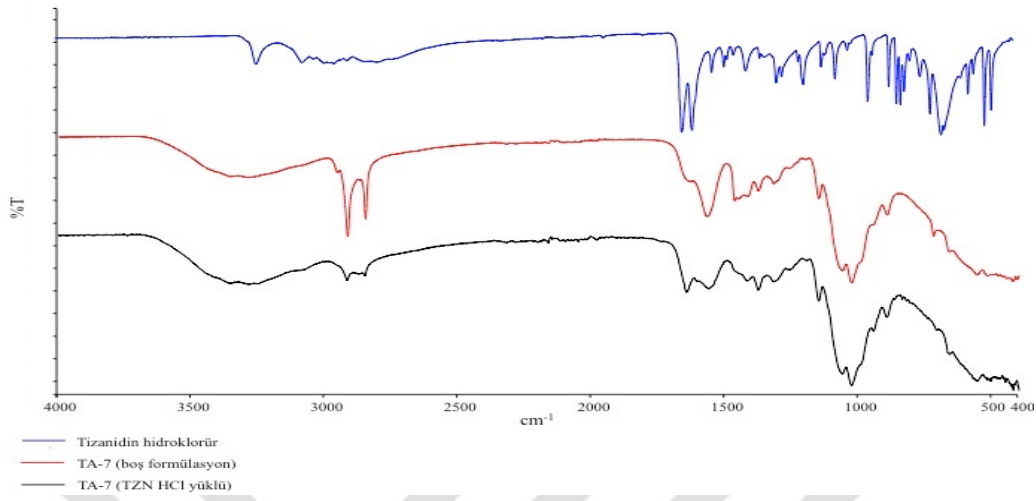
Tablo 4-20: Tablet formülasyonlarına ait içerik tekdüzeliği bulguları

Formülasyon	İçerik tekdüzeliği (%)
TA-7	78,43 ± 3,40
TA-10	69,88 ± 3,35
TC-7	70,48 ± 3,67
TC-10	78,93 ± 1,00
TG-7	79,27 ± 1,71
TG-10	89,86 ± 3,35

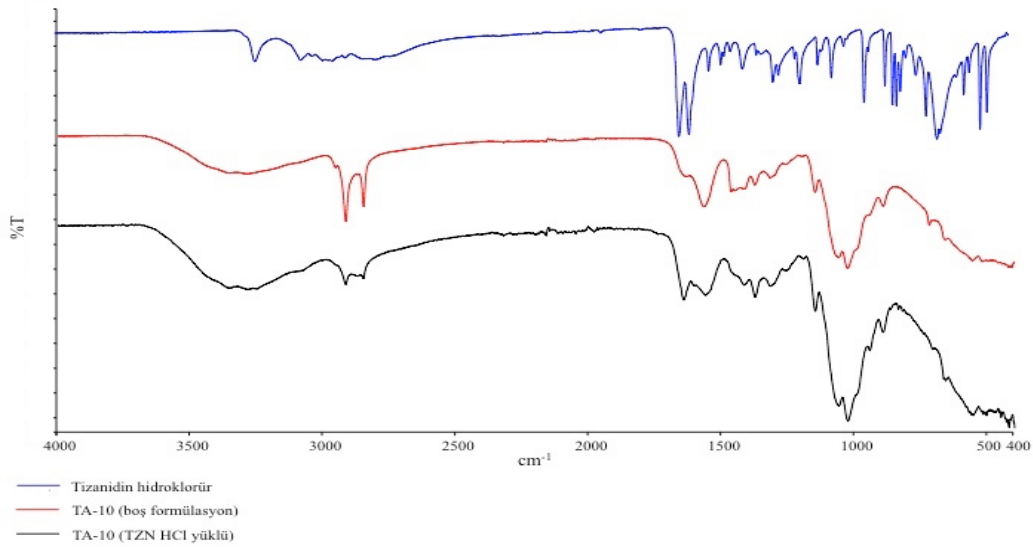
4.7.9. FTIR Spektroskopisi Analizlerine Ait Bulgular

Bulgulara göre etken maddenin yardımcı maddelerle herhangi bir etkileşim yapmadığı tespit edildi. Şekil 4-34 ve Şekil 4-35’te kitosan azelat ile hazırlanan tablet

formülasyonlarında 1642 cm^{-1} 'de $-C=N$ bandı, 3243 cm^{-1} 'de sekonder amin $N-H$ bandı görüldü.

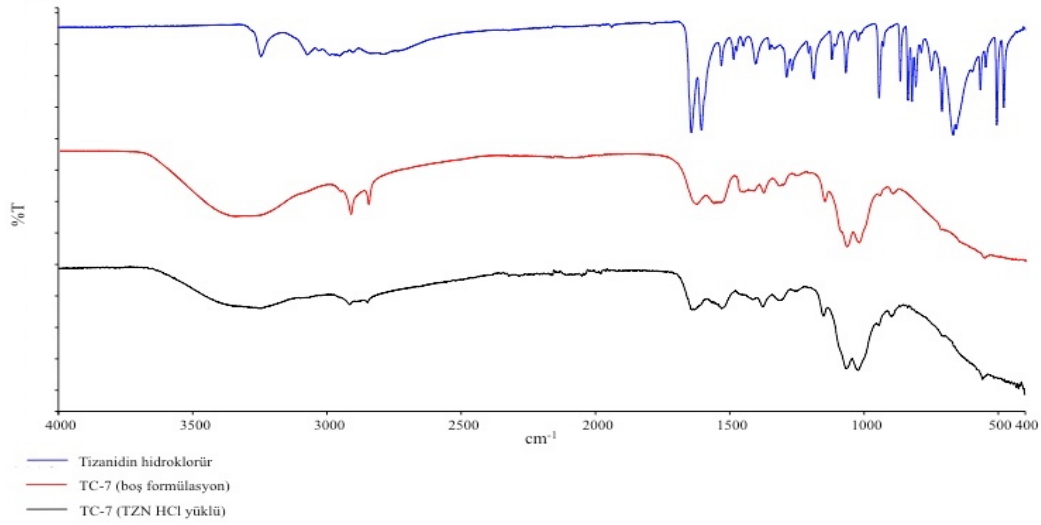


Şekil 4-34: TA-7'nin etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması



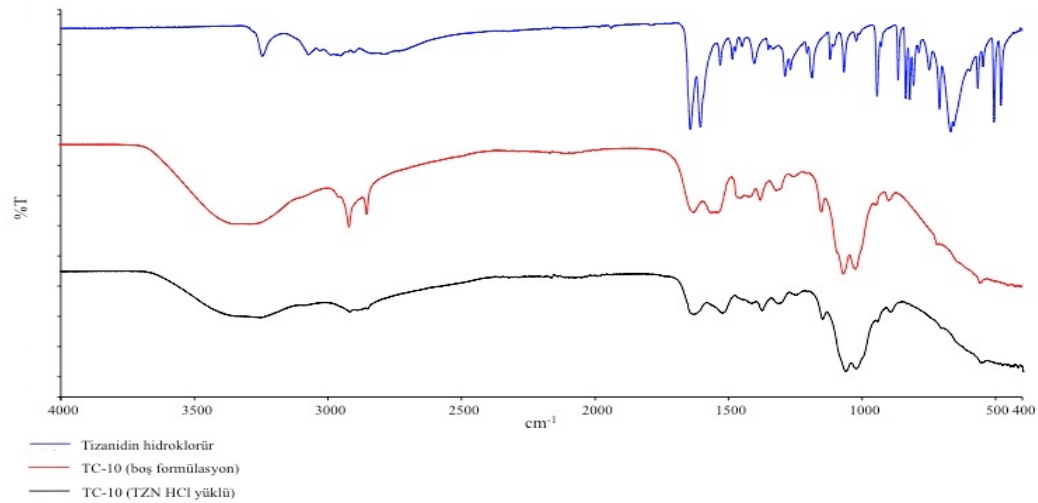
Şekil 4-35: TA-10'un etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması

TC-7 ile ilgili yapılan çalışmalarda Şekil 4-36'da 1642 cm^{-1} 'de etken madde içeren formülasyonda tizanidin hidroklorürden kaynaklı $-C=N$ bandı görüldü. Ayrıca spektrumlara ait ham verilerde 3243 cm^{-1} 'de etken madde içermeyen formülasyonda % T değeri 64,2 iken, tizanidin hidroklorür içeren formülasyonda % 94,92'dir.



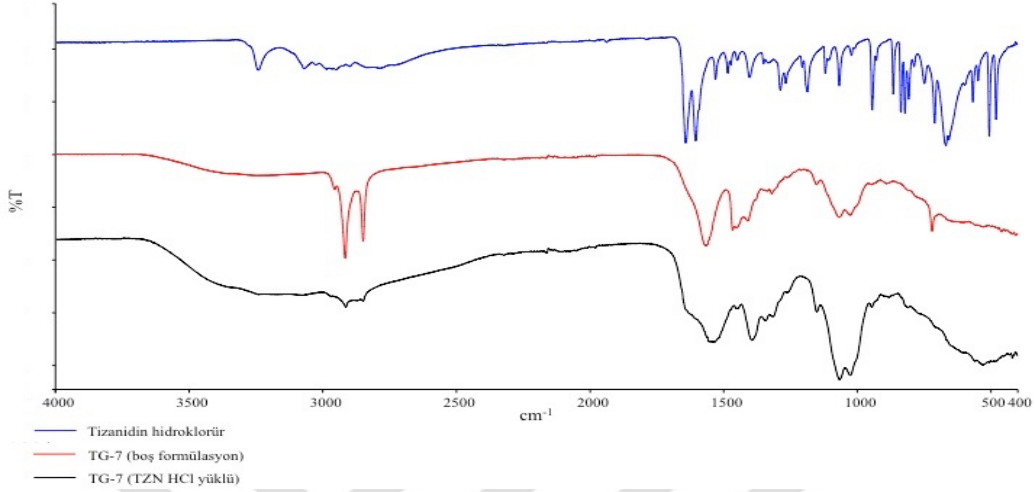
Şekil 4-36: TC-7'nin etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması

TC-10 ile ilgili yapılan çalışmalarda Şekil 4-37'de 1642 cm^{-1} 'de etken madde içeren formülasyonda tizanidin hidroklorürden kaynaklı $\text{C}=\text{N}$ bandı görüldü. Ayrıca spektrumlara ait ham verilerde 3243 cm^{-1} 'de etken madde içermeyen formülasyonda % T değeri 67,87 iken, tizanidin hidroklorür içeren formülasyonda % 88,55'tir.

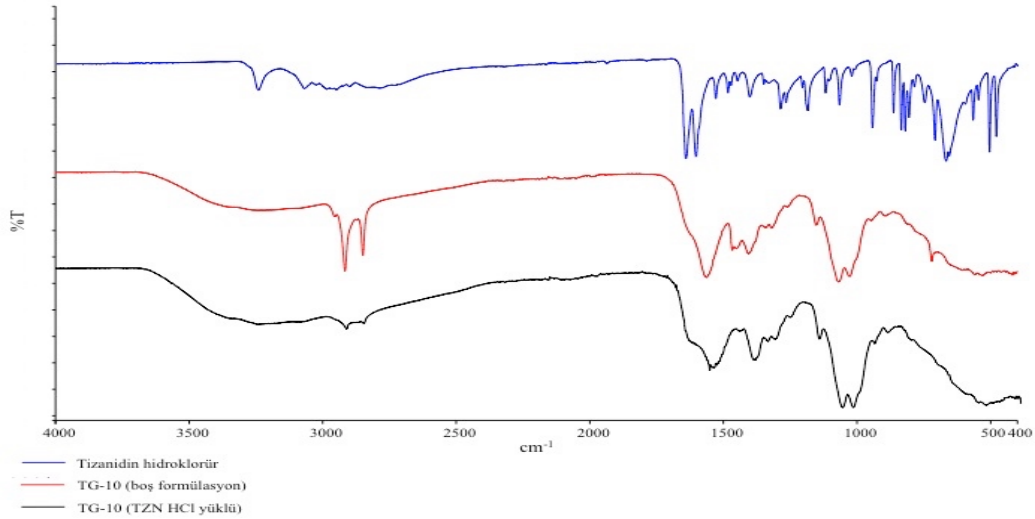


Şekil 4-37: TC-10'un etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması

Şekil 4-38 ve Şekil 4-39’da kitosan glutamat ile hazırlanan tablet formülasyonlarında 1642 cm^{-1} ’de $-\text{C}=\text{N}$ bandı, 3243 cm^{-1} ’de sekonder amin $\text{N}-\text{H}$ bandı görüldü.



Şekil 4-38: TG-7’nin etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması

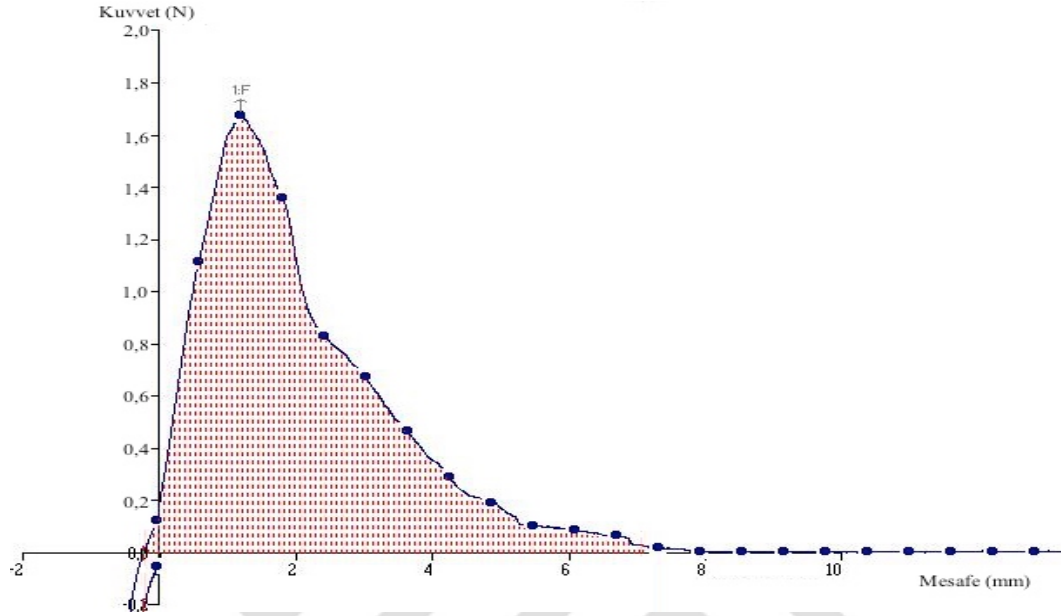


Şekil 4-39: TG-10’un etken madde içeren ve içermeyen formülasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması

4.8. Biyoadeziv Kuvvet Tayini Bulguları

Yama formülasyonlarının biyoadezyon işi ve biyoadeziv kuvvet sonuçları yakın çıkmış olup en yüksek biyoadeziv kuvvet $0,366 \pm 0,130\text{ N/cm}^2$ ile G10-43, en yüksek biyoadeziv iş ise $0,252 \pm 0,021\text{ mJ/cm}^2$ ile C10-43’te görüldü (Tablo 4-21). Tablet formülasyonlarının biyoadezyon işi ve biyoadeziv kuvvet sonuçları yama

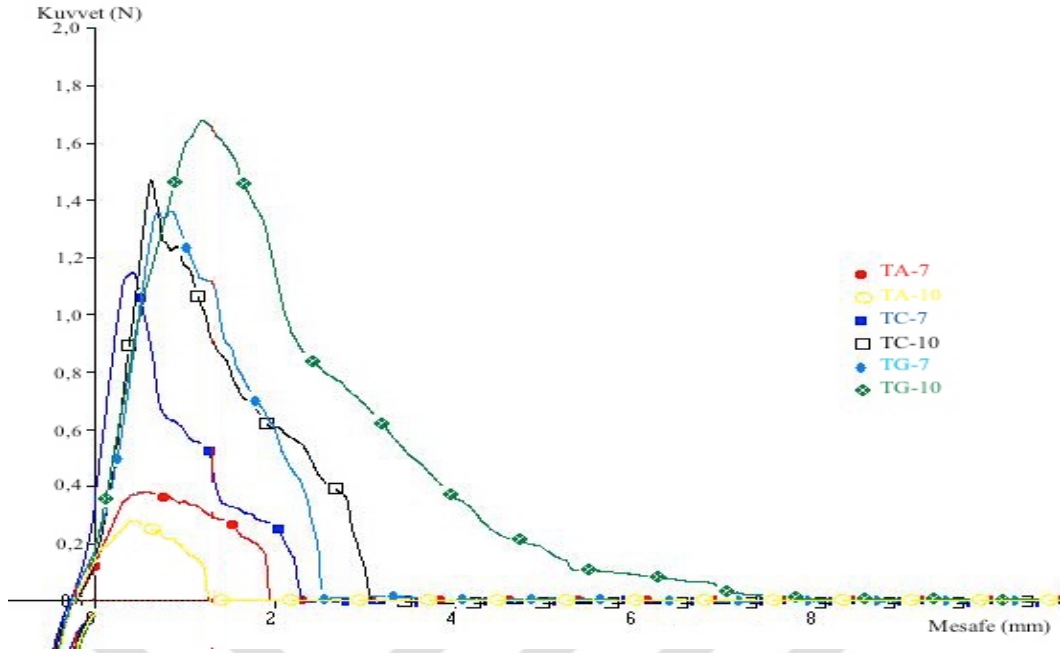
formülasyonlarına göre yüksektir. En yüksek değerleri TG-10 formülasyonu gösterirken, en düşük değerleri ise TA-10 formülasyonu göstermiştir (Şekil 4-41). Şekil 4-40'ta TG-10 formülasyonunun biyoadezyon çalışmasına ait grafik verilmiştir.



Şekil 4-40: TG-10 formülasyonunun biyoadezyon çalışmasına ait grafik

Tablo 4-21: İdeal yama ve tablet formülasyonlarına ait biyoadezyon çalışması bulguları

Formülasyon / Özellikler	Biyoadezyon işi (mJ/cm ²)	Biyoadezif kuvvet (N/cm ²)
A7-43	0,184 ± 0,040	0,176 ± 0,024
A10-33	0,214 ± 0,034	0,330 ± 0,073
C7-43	0,246 ± 0,055	0,345 ± 0,118
C10-43	0,252 ± 0,021	0,283 ± 0,045
G7-43	0,233 ± 0,100	0,307 ± 0,052
G10-43	0,249 ± 0,148	0,366 ± 0,130
TA-7	1,221 ± 0,078	0,818 ± 0,098
TA-10	0,779 ± 0,337	0,655 ± 0,189
TC-7	2,801 ± 0,701	2,341 ± 0,519
TC-10	4,994 ± 0,515	2,472 ± 0,580
TG-7	5,134 ± 0,890	2,743 ± 0,415
TG-10	7,526 ± 0,726	3,519 ± 0,300

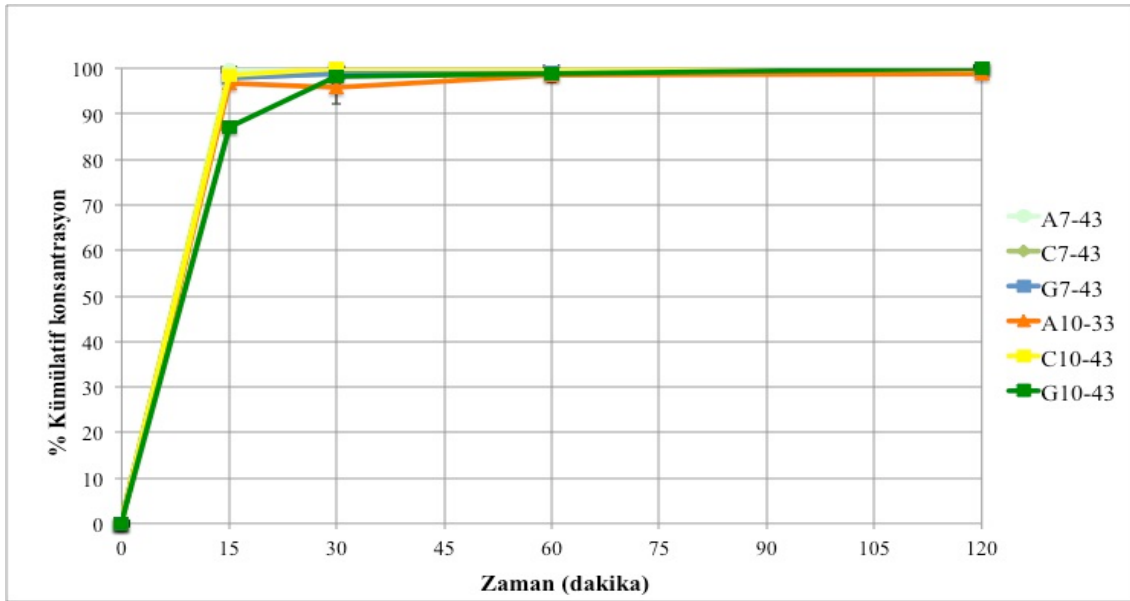


Şekil 4-41: Tablet formülasyonlarının biyoadeziv profillerinin karşılaştırılması

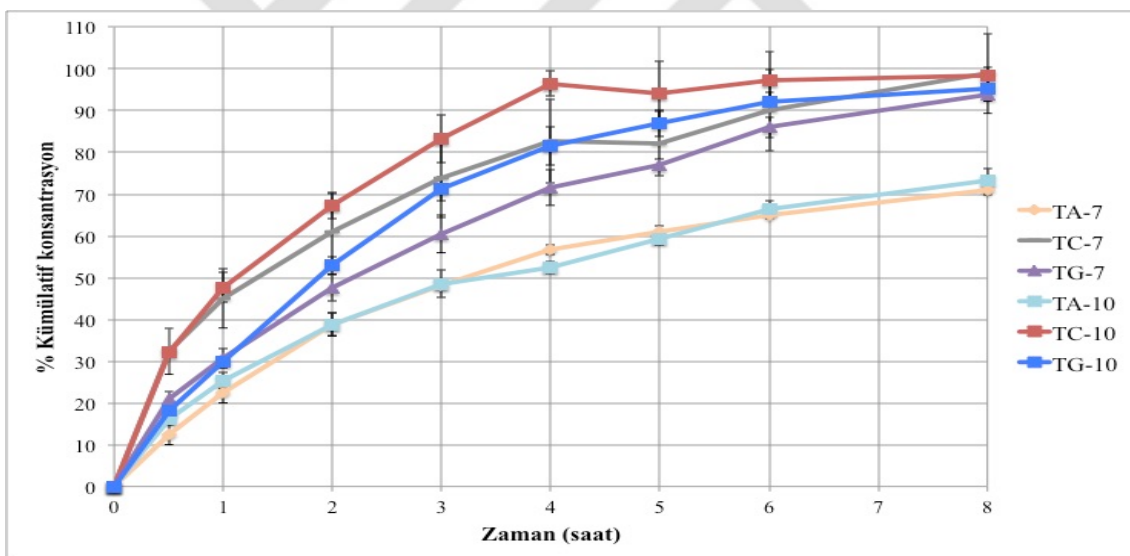
4.9. Yama ve Tablet Formülasyonlarının *İn Vitro* Salım Çalışmalarına Ait Bulgular

4.9.1. *İn Vitro* Salım Çalışmalarına Ait Bulgular

Yama formülasyonlarının *in vitro* salım çalışmalarında elde edilen bulgular Şekil 4-42'de gösterilmiştir. G10-43 nolu yama 15. dakikada etken maddenin % 87,21'inin salımını gerçekleştirirken, diğer yamalar % 95'in üzerinde salım göstermiştir. Yama formülasyonları 30. dakikada etken madde içeriklerinin yaklaşık % 100'ünün salımını yapmıştır. Tablet formülasyonlarının *in vitro* salım sonuçları Şekil 4-43'te gösterilmiştir. Tablet formülasyonlarına ait salım sonuçlarına göre 4. saat sonunda TC-10 formülasyonu $96,45 \pm 3,00$ ile en yüksek salım gösterirken; en düşük salımı ise $52,39 \pm 1,35$ ile TA-10 göstermiştir. 8. saat sonunda ise kitosan klorür ve kitosan glutamat polimerleri ile hazırlanan tabletler % 90'ın üzerinde salım yaparken, kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan tabletler % 70 civarında salım yapmıştır. 8 saat sonunda en yüksek ve en düşük salımı yapan formülasyonlar sırasıyla $98,93 \pm 9,56$ ile TC-7 ve $70,98 \pm 1,18$ ile TA-7 olmuştur.



Şekil 4-42: İdeal yama formülasyonlarının *in vitro* salım profilleri



Şekil 4-43: Bukkal tablet formülasyonlarının *in vitro* salım profilleri

4.9.2. *İn vitro* Salım Kinetiklerine Ait Bulgular

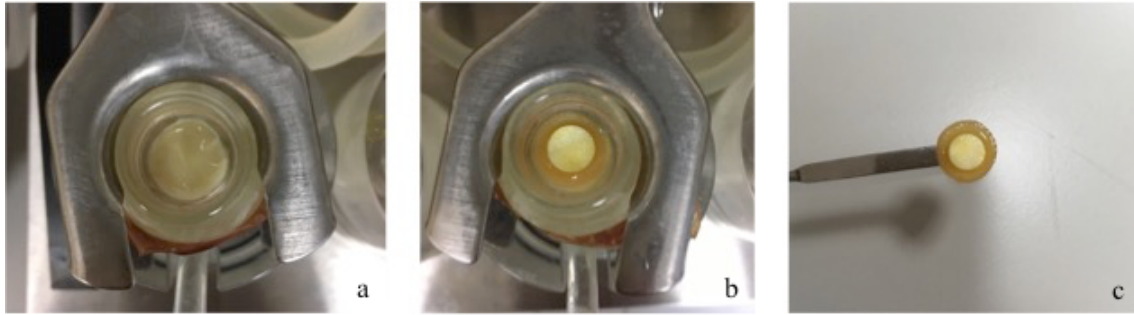
Yöntem 3.2.11.2’de belirtildiği şekilde sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi, Hixson-Crowel ve Korsmeyer Peppas salım kinetiklerine göre tablet formülasyonları için determinasyon katsayıları (r^2) hesaplandı (Tablo 4-22). Tablet formülasyonları genel olarak Korsmeyer Peppas salım kinetiğine uygunluk göstermiştir.

Tablo 4-22: Tablet formülasyonlarına ait *in vitro* salım kinetikleri

Formülasyon / Kinetik modeli	Sıfıncı derece	Birinci derece	Higuchi	Hixson- Crowel	Korsmeyer Peppas	
	(r ²)	(r ²)	(r ²)	(r ²)	r ²	n
TA-7	0.8910	0.9647	0.9741	0.9436	0.9875	0.696
TA-10	0.9382	0.9901	0.9924	0.9786	0.9921	0.563
TC-7	0.8919	0.8926	0.9712	0.9724	0.9995	0.458
TC-10	0.7629	0.9194	0.8900	0.8802	0.9984	0.535
TG-7	0.9366	0.9870	0.9921	0.9975	0.9993	0.595
TG-10	0.8492	0.9931	0.9483	0.9626	0.9980	0.770

4.10. *Ex Vivo* Permeabilite Çalışmalarına Ait Bulgular

In vitro salım çalışmaları sonuçlarına göre seçilen formülasyonlarla gerçekleştirilen çalışmalarda elde edilen bulgular Tablo 4-23, Tablo 4-24, Şekil 4-46 ve Şekil 4-47’de gösterilmiştir. Yama ve tablet formülasyonlarının permeabilite çalışmaları neticesinde yama formülasyonları tablet formülasyonlarına göre daha yüksek geçiş göstermiştir. 24 saat sonunda en yüksek ve en düşük permeabilite gösteren formülasyonlar sırasıyla $273,16 \pm 2,89 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ile A10-33 ve $100,22 \pm 15,05 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ile TG-10 olmuştur. Tablo 4-24’te gösterildiği gibi bukkal biyoadeziv formülasyonların 24 saatlik geçiş çalışmalarında en yüksek ve en düşük geçiş gösteren formülasyonlar % $54,70 \pm 7,22$ ile A10-33 yama formülasyonu ve % $13,40 \pm 1,17$ ile TG-7 tablet formülasyonu olmuştur. Tablet formülasyonlarında en yüksek permeabilite yüzdesini % $26,36 \pm 4,25$ ile TC-7 göstermiştir. Çalışma sonunda bukkal dokularda kalan tizanidin hidroklorür miktarlarının % 7,97 – 22,59 arasında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir.



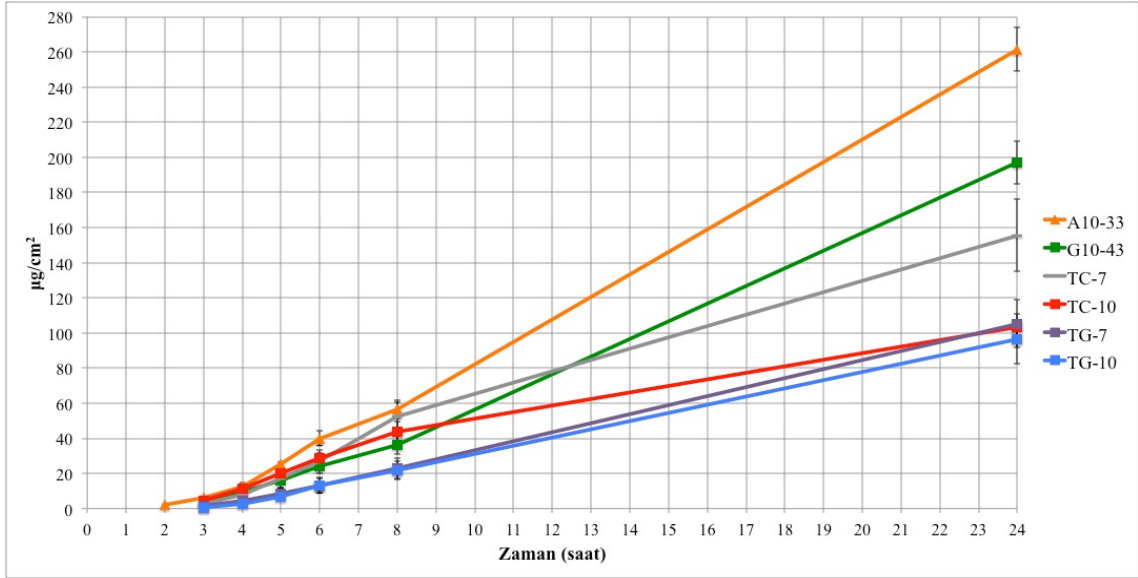
Şekil 4-44: 24 saat sonunda yama ve tabletlerin görüntüsü (a: A10-33 yama formülasyonunun görüntüsü; b: TG-10 tablet formülasyonunun Franz hücresi içindeki görüntüsü; c: TG-10 tablet formülasyonunun görüntüsü)

Tablo 4-23: *Ex vivo* permeabilite çalışmaları neticesinde elde edilen veriler

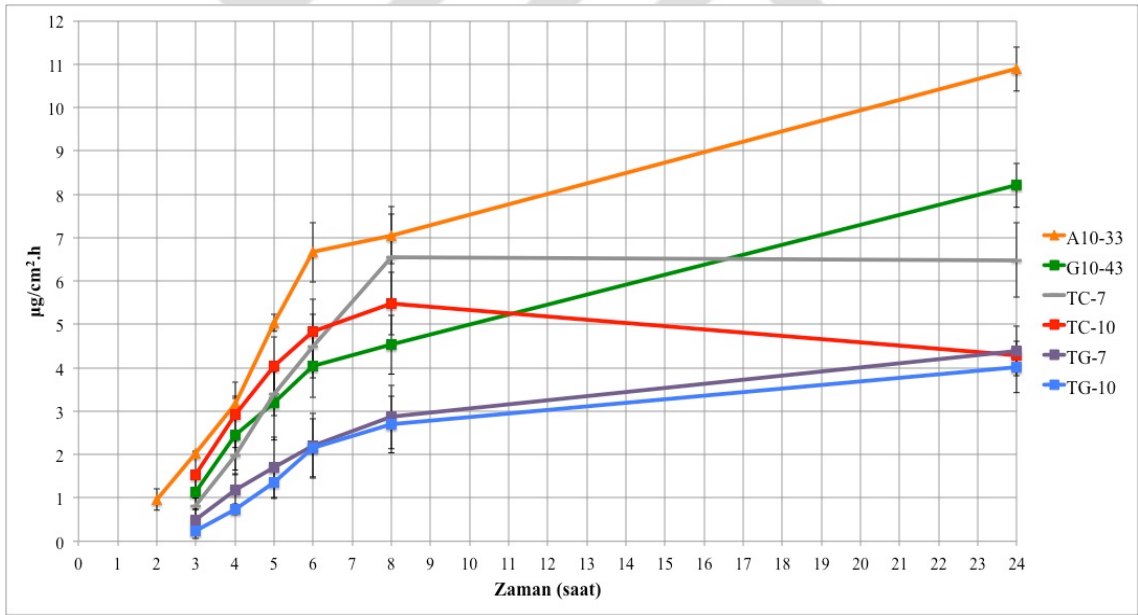
Formülasyon/ Özellikler	Akı (J_{ss}) $\mu\text{g}/\text{cm}^2.\text{saat}$	K_8 $(\mu\text{g}/\text{cm}^2)$	K_{24} $(\mu\text{g}/\text{cm}^2)$	$P * 10^{-2}$ (cm/saat)	h (saat)	r^2
A10-33	$12,120 \pm 0,595$	$63,43 \pm 5,65$	$273,16 \pm 13,13$	19,519	$2,691 \pm 0,029$	$0,995 \pm 0,002$
G10-43	$9,383 \pm 0,589$	$40,68 \pm 6,50$	$204,39 \pm 12,63$	7,632	$3,260 \pm 0,401$	$0,996 \pm 0,001$
TC-7	$7,285 \pm 0,947$	$56,84 \pm 8,84$	$164,53 \pm 22,00$	12,261	$2,398 \pm 0,077$	$0,991 \pm 0,002$
TC-10	$4,496 \pm 0,188$	$49,29 \pm 6,85$	$112,22 \pm 5,03$	6,279	$0,706 \pm 0,719$	$0,968 \pm 0,017$
TG-7	$5,021 \pm 0,759$	$25,26 \pm 6,72$	$109,47 \pm 12,90$	5,703	$3,076 \pm 0,915$	$0,993 \pm 0,001$
TG-10	$4,639 \pm 0,666$	$23,53 \pm 5,81$	$100,22 \pm 15,05$	6,539	$3,279 \pm 0,285$	$0,998 \pm 0,000$

Tablo 4-24: *Ex vivo* permeabilite çalışmalarında formülasyonların 8. ve 24. saat sonundaki % permeabilite değerleri ve bukkal dokuda kalan ilaç miktarının yüzdesi

Formülasyon/ Özellikler	% permeabilite (t_{0-8})	% permeabilite (t_{0-24})	Bukkal dokuda kalan TZN (%)
A10-33	$9,98 \pm 1,71$	$54,70 \pm 7,22$	$22,59 \pm 3,91$
G10-43	$2,93 \pm 0,16$	$16,10 \pm 1,22$	$12,47 \pm 3,04$
TC-7	$8,88 \pm 1,68$	$26,36 \pm 4,25$	$11,88 \pm 0,51$
TC-10	$6,11 \pm 0,64$	$14,40 \pm 0,30$	$7,97 \pm 2,06$
TG-7	$2,74 \pm 0,85$	$13,40 \pm 1,17$	$14,84 \pm 1,33$
TG-10	$3,14 \pm 1,06$	$13,93 \pm 3,28$	$10,16 \pm 2,41$



Şekil 4-45: İdeal formülasyonların *ex vivo* permeabilite çalışmalarında zamana göre cm²'den geçiş miktarları



Şekil 4-46: İdeal formülasyonların *ex vivo* permeabilite çalışmalarında birim zamanda cm²'den geçiş miktarları

4.11. Stabilité Bulguları

Yöntem 3.2.13'e göre gerçekleştirilen stabilité çalışmalarının bulgularında etken madde içeriği Tablo 4-25'te ve pH değeri bulguları Tablo 4-26'da gösterilmiştir.

Tablo 4-25: Formülasyonların stabilite çalışmalarına ait etken madde içeriği bulguları

Sıcaklık	Zaman (gün)	Formülasyonlar / Etken madde içeriği		
		A10-33	TC-10	TG-10
4 °C	0	97,55 ± 4,24	80,54 ± 0,15	89,11 ± 2,50
	30.	100,24 ± 4,35	76,64 ± 3,21	88,02 ± 1,34
	90.	97,27 ± 2,78	77,08 ± 2,18	88,30 ± 0,76
25 °C	0	97,86 ± 4,31	80,84 ± 1,12	89,29 ± 1,84
	30.	101,02 ± 0,91	80,35 ± 1,78	88,43 ± 3,59
	90.	97,22 ± 1,67	79,49 ± 1,55	88,48 ± 2,40
40 °C	0	97,37 ± 4,14	80,22 ± 0,35	88,42 ± 1,84
	30.	101,64 ± 3,63	78,77 ± 2,66	87,61 ± 0,82
	90.	98,12 ± 1,33	76,77 ± 2,43	89,06 ± 2,21

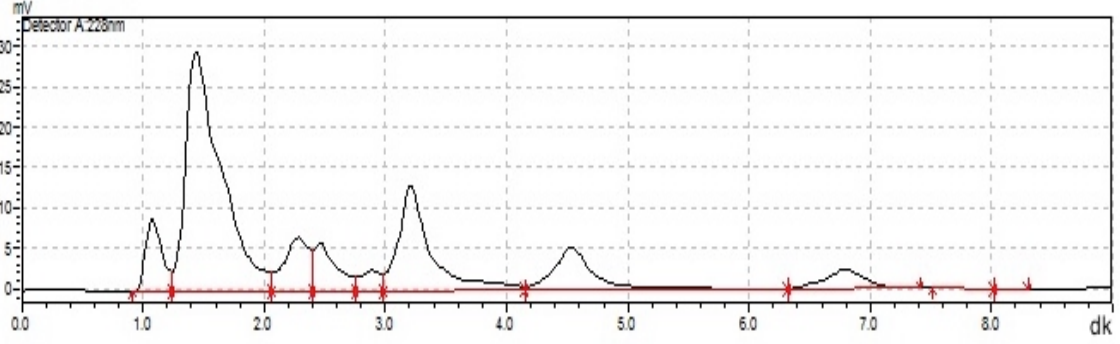
Tablo 4-26: Formülasyonların stabilite çalışmalarına ait pH değeri bulguları

Sıcaklık	Zaman (gün)	Formülasyonlar / pH		
		A10-33	TC-10	TG-10
4 °C	0	6,200 ± 0,025	6,136 ± 0,025	6,428 ± 0,015
	30.	6,184 ± 0,030	6,216 ± 0,023	6,456 ± 0,027
	90.	6,180 ± 0,045	6,224 ± 0,035	6,470 ± 0,032
25 °C	0	6,182 ± 0,021	6,130 ± 0,019	6,438 ± 0,015
	30.	6,170 ± 0,029	6,196 ± 0,016	6,450 ± 0,033
	90.	6,148 ± 0,032	6,242 ± 0,035	6,458 ± 0,021
40 °C	0	6,178 ± 0,038	6,134 ± 0,016	6,436 ± 0,070
	30.	6,174 ± 0,032	6,198 ± 0,012	6,438 ± 0,024
	90.	6,154 ± 0,040	6,218 ± 0,025	6,444 ± 0,019

4.12. *İn Vivo* Çalışmalara Ait Bulgular

4.12.1. Doğrusallık Bulguları

Yöntem 3.2.14.2’de anlatıldığı gibi yapılan çalışmalarda elde edilen kalibrasyon eğrisi Şekil 4-48’de gösterilmiştir. r^2 değeri 0,9992 olarak bulundu. Tizanidin hidroklorüre ait pik 6,4 – 6,9. dakikaları arasında gözlemlendi (Şekil 4-47).



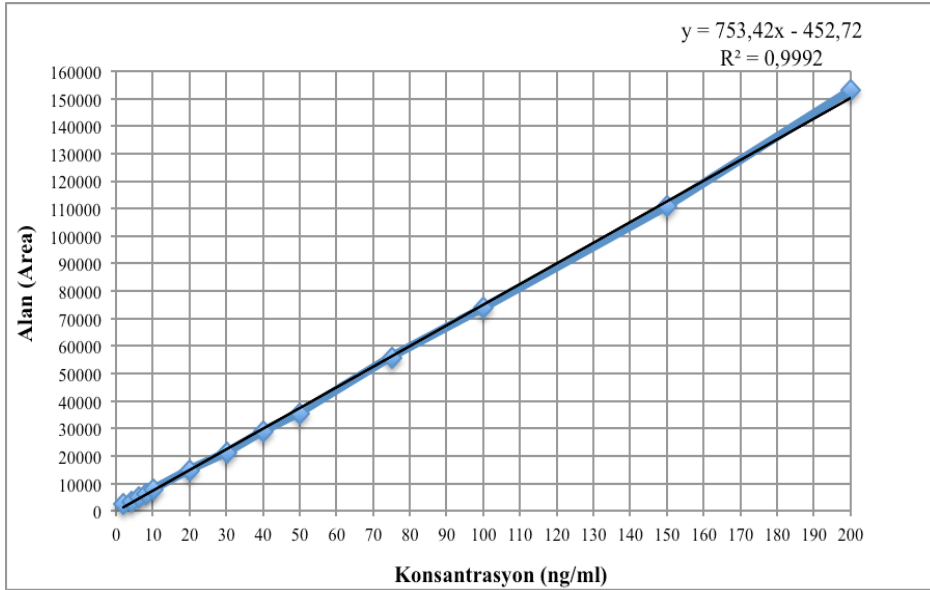
Şekil 4-47: Tizanidin hidroklorürün HPLC spektrumu

Yapılan çalışma neticesinde standart doğru denklemi $y = 753,42 \cdot x - 452,72$ olarak bulundu. Grafikteki semboller aşağıda belirtilmiştir.

y : HPLC neticesinde elde edilen pik alanı

x : Konsantrasyon değeri ($\mu\text{g/mL}$)

r^2 : Determinasyon katsayısı



Şekil 4-48: Tizanidin hidroklorürün kalibrasyon grafiği

4.12.2. Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirlik Bulguları

Yöntem 3.2.14.3'te anlatıldığı gibi yapılan çalışmalar ile elde edilen verilerde doğruluk ve geri elde edilebilirlik bulguları Tablo 4-27'de gösterildi. Ortalama geri elde edilebilirlik farkı % 10 aralığında ve varyasyon katsayısı % 2'den az bulundu.

Tablo 4-27: Tizanidin hidroklorürün doğruluk ve geri elde edilebilirlik bulguları

K (ng/mL)	Alan değeri	Bulunan kons.(ng/mL)	Geri elde ed. (%)
8	6101	8,699	108,73
8	6163	8,781	109,76
8	6147	8,760	109,50
		Ort.	109,33
		SS	0,54
		VK	0,49
20	14709	20,124	100,62
20	14674	20,077	100,39
20	14721	20,140	100,70
		Ort.	100,57
		SS	0,16
		VK	0,16
30	21413	29,057	96,74
30	21423	29,070	96,78
30	21866	29,676	98,74
		Ort.	97,42
		SS	1,14
		VK	1,17

K: Konsantrasyon; SS: Standart sapma; VK: Varyasyon katsayısı

4.12.3. Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik & Tekrar Elde Edilebilirlik) Bulguları

Yöntem 3.2.14.4'teki gibi gerçekleştirilen kesinlik çalışması neticesinde elde edilen değerler Tablo 4-28'de gösterildi. Varyasyon katsayısı % 2'den az bulundu.

Tablo 4-28: Tizanidin hidroklorürün kesinlik bulguları

Örnek no	Alan değeri
1	6237
2	6126
3	6201
4	6316
5	6163
6	6247
7	6292
8	6385
9	6120
10	6218
Ort.	6230,5
SS	79,99
VK	1,28

Tekrar elde edilebilirlik ve tekrar edilebilirlik çalışmalarında elde edilen bulgular Tablo 4-29 ve Tablo 4-30’da gösterilmiştir. Varyasyon katsayısının % 2’den küçük olduğu tespit edildi.

Tablo 4-29: Tizanidin hidroklorürün tekrar elde edilebilirlik bulguları

1. Analist		2. Analist	
Örnek no	Alan değeri	Örnek no	Alan değeri
1	34467	1	34156
2	33718	2	34532
3	34328	3	33988
4	34911	4	34467
5	34584	5	33126
6	35513	6	34758
Ort.	34586,8	Ort.	34171,2
SS	599,85	SS	581,08
VK	1,73	VK	1,70

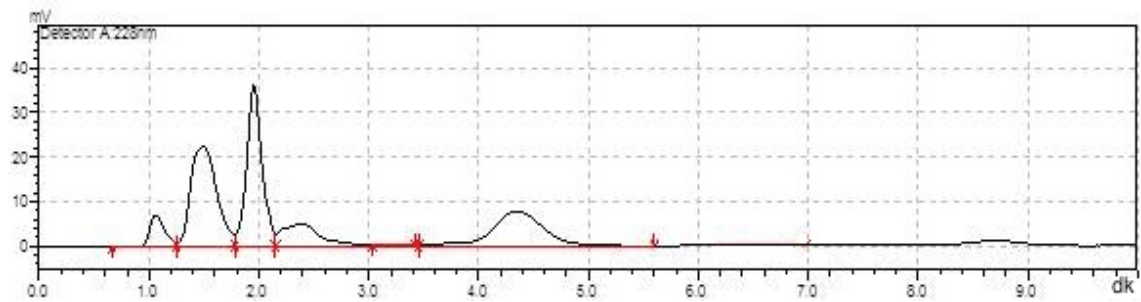
Tablo 4-30: Tizanidin hidroklorürün tekrar edilebilirlik bulguları

1. gün			2. gün		
Örnek no	Alan değeri	P.K. (ng/mL)	Örnek no	Alan değeri	P.K. (ng/mL)
1	6201	8,831	1	6222	8,859
2	6126	8,732	2	6150	8,764
3	6237	8,879	3	6286	8,944
4	6218	8,854	4	6282	8,939
5	6316	8,984	5	6191	8,818
6	6163	8,781	6	6165	8,784
7	6247	8,892	7	6242	8,886
8	6385	9,076	8	6178	8,801
9	6120	8,724	9	6241	8,884
10	6292	8,952	10	6209	8,842
Ort.		8,235	Ort.		8,852
SS		0,12	SS		0,06
VK		1,39	VK		0,70

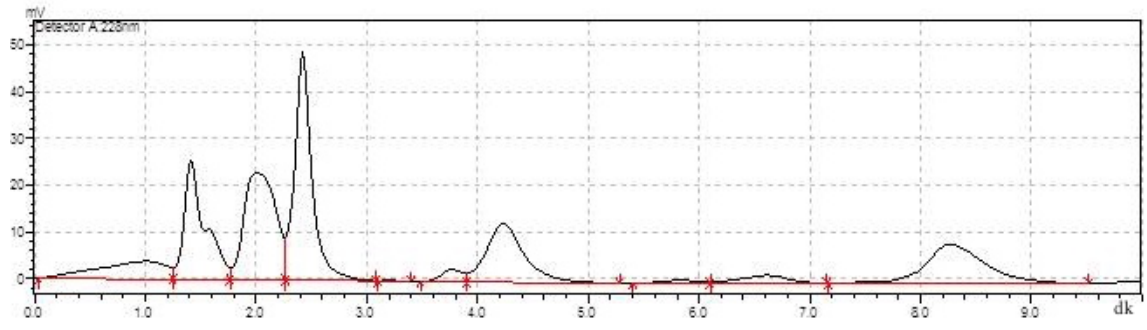
P.K.: Pratik konsantrasyon

4.12.4. Özgünlük, Seçicilik Bulguları

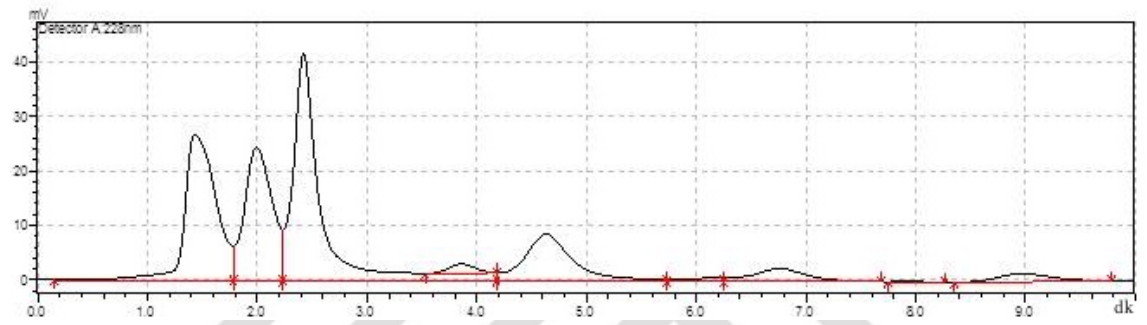
Yöntem 3.2.14.5'teki çalışmalarda formülasyonların uygulanması ile tizanidin hidroklorürün pik verdiği sürelerde kan plazmasından kaynaklanan herhangi bir pik olmadığı gösterilmiştir.



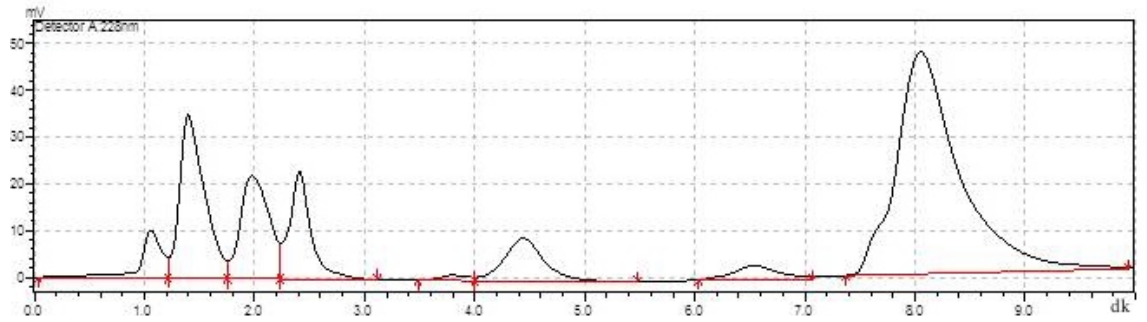
Şekil 4-49: İlaç uygulanmayan kan plazmasının spektrumu



Şekil 4-50: A10-33 formülasyonunun spektrumu



Şekil 4-51: TC-10 formülasyonunun spektrumu



Şekil 4-52: TG-10 formülasyonunun spektrumu

4.12.5. Teşhis ve Tayin Sınırları (LOD ve LOQ) Bulguları

Yöntem 3.2.14.6'dan elde edilen teşhis ve tayin sınırları (LOD ve LOQ) sırasıyla $0,168 \pm 0,017$ ve $0,540 \pm 0,047$ ng/mL olarak bulundu.

4.12.6. Dayanıklılık Bulguları

Alan değerlerinden elde edilen konsantrasyonlar Tablo 4-31’de belirtilmiştir. Konsantrasyon değerlerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlendi ($p > 0,1$).

Tablo 4-31: Tizanidin hidroklorürün dayanıklılık bulguları

Zaman	K (ng/mL)
15. dk	29,906
30. dk	29,861
60. dk	29,875
120. dk	29,927
24. saat	29,807
48. saat	29,921
SS	0,041

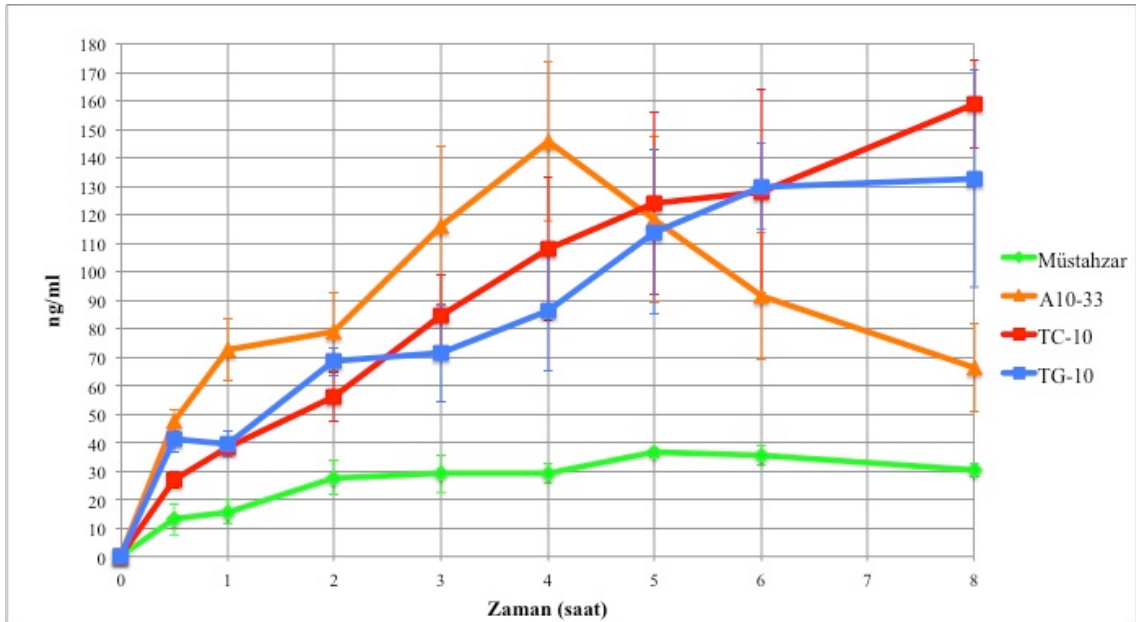
4.12.7. *In Vivo* Çalışmalara Ait Bulgular

Elde edilen kan konsantrasyonu zaman verileri Tablo 4-32’de verilmiştir. Şekil 4-53’teki grafiğe göre piyasa preparatı maksimum $36,36 \pm 1,54$ ng/mL kan plazma konsantrasyonuna ulaşırken A10-33, TC-10 ve TG-10 formülasyonları sırasıyla $145,84 \pm 27,97$, $158,87 \pm 15,43$ ve $132,60 \pm 37,99$ ng/mL değerlerine çıkmıştır. Müstahzar ilaç uygulamasında maksimum plazma konsantrasyonuna 5. saatte, A10-33 yama formülasyonunda 4. saatte, TC-10 ve TG-10 tablet formülasyonlarında ise 8. saatte ulaşılmıştır. 8 saat sonunda yama ve tablet formülasyonları oral olarak kullanılan piyasa preparatının 3 katından daha fazla biyoyararlanım göstermiştir (Şekil 4-55). Yapılan uygulamalarda yama formülasyonu A10-33’ün yaklaşık 3. – 4. saatler arasında parçalanmaya başladığı tespit edildi. Buna rağmen tablet formülasyonlarından TC-10’un 7. saatte yavaş yavaş dağılmaya başladığı, TG-10 formülasyonunun ise 7. saatin sonunda hala dağılmadığı gözlemlendi.

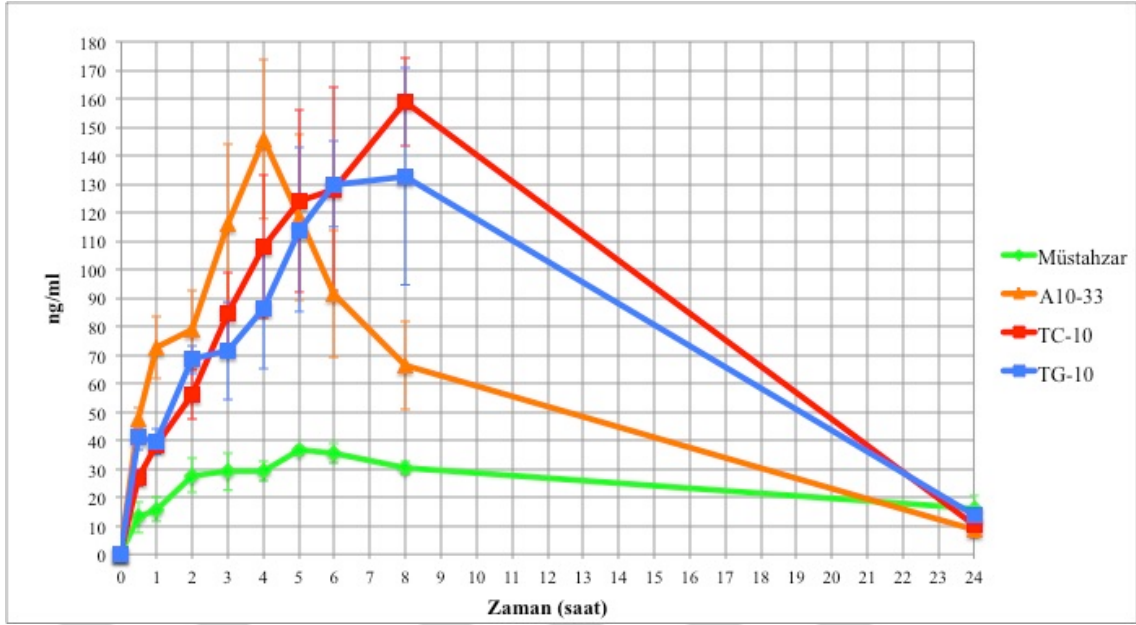
Tablo 4-32: Tizanidin hidroklorür içeren yama, tabletler ve müstahzara ait kan konsantrasyonu-zaman verileri

Zaman (saat)	Kan konsantrasyonu (ng/mL)			
	M _i	A10-33	TC-10	TG-10
0,5.	13,09 ± 5,48	47,74 ± 3,89	26,81 ± 2,99	40,99 ± 4,44
1.	15,74 ± 4,15	72,59 ± 11,09	38,47 ± 1,24	39,65 ± 4,52
2.	27,58 ± 5,95	78,86 ± 13,82	55,93 ± 8,43	68,41 ± 4,96
3.	28,94 ± 6,39	115,88 ± 27,92	84,51 ± 14,15	71,43 ± 17,16
4.	29,13 ± 3,35	145,84 ± 27,97	108,03 ± 25,20	86,36 ± 21,24
5.	36,36 ± 1,54	118,32 ± 29,31	124,18 ± 32,10	113,98 ± 28,73
6.	35,37 ± 3,42	91,52 ± 22,38	128,13 ± 35,64	130,00 ± 15,00
8.	30,36 ± 2,53	66,18 ± 15,35	158,87 ± 15,43	132,60 ± 37,99
24.	16,19 ± 4,43	8,58 ± 3,01	10,29 ± 1,62	13,70 ± 7,04

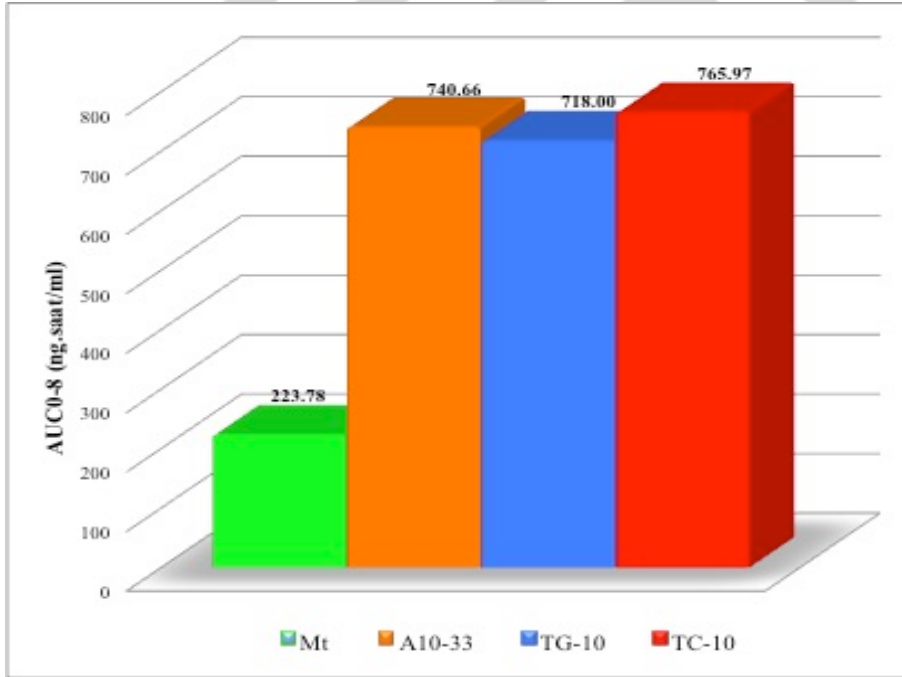
M_i: Müstahzar, tizanidin hidroklorürün piyasa preparatı



Şekil 4-53: Yama, tabletler ve müstahzara ait 8 saatlik kan konsantrasyonu-zaman grafiği



Şekil 4-54: Yama, tabletler ve müstahzara ait 24 saatlik kan konsantrasyonu-zaman grafiği



Şekil 4-55: Yama, tabletler ve müstahzarın 8. saat sonundaki AUC değerleri (AUC_{0-8})

5. TARTIŞMA

Çalışmada ilk olarak tizanidin hidroklorürün fizikokimyasal özelliklerini tayin etmek için çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla yapılan UV analizinde tizanidin hidroklorürün en yüksek absorbansı gösterdiği değer 228,5 nm olarak bulunmuştur (Şekil 4-1). Bu veri literatürler ile uyumludur (Nalluri ve ark., 2012; Ali ve ark., 2014).

FTIR spektroskopisi cihazı ile tizanidin hidroklorürün spektrumu çekilmiş olup 3243, 3072, 3027, 2950, 2901, 1642, 1584 ve 1530 cm^{-1} 'de pikler belirlenmiştir (Şekil 4-2). Tespit edilen bu piklerin tizanidin hidroklorürün kimyasal yapısına uygun olduğu görülmüştür (Harikrishnan ve ark., 2016). Tizanidin hidroklorürün erime derecesi tayini çalışmaları neticesinde, erime derecesi $293 \pm 1,7$ °C olarak bulunmuştur. Bu sonucun literatürlerde belirtilen değer ile uyumlu olduğu görülmüştür (www.mhra.gov.uk).

Tizanidin hidroklorürün miktar tayini için gerçekleştirilen HPLC metot ve validasyonu çalışmalarında mobil faz olarak asetronitril ve 0,1 M amonyum asetat kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda elde edilen grafiğin denklemi $y = 38,403 \cdot x + 3,4419$ olarak belirlenmiştir. Determinasyon katsayısı (r^2) değeri 0,99706 olarak bulunmuştur. Validasyon çalışmalarında kesinlik, tekrar edilebilirlik, tekrar elde edilebilirlik, geri elde edilebilirlik, özgünlük, seçicilik, dayanıklılık, LOQ ve LOD analizleri yapılmıştır. Varyasyon katsayısının % 2'den az olduğu tespit edilerek verilerin kılavuzlarda istenen değerlere uygun olduğu gösterilmiştir (ICH, 2005). Özgünlük, seçicilik çalışmalarında etken maddenin pik verdiği sürelerde yardımcı maddelerden kaynaklanan bir pik görülmemiştir. HPLC metodunun uygunluğu validasyon çalışmaları ile gösterilerek yöntemin kullanılabileceği ispatlanmıştır.

Tizanidin hidroklorürün çeşitli çözücülerdeki çözünürlükleri HPLC ile analiz edilmiştir. Etken maddenin distile su, pH 6,8 fosfat tamponu, % 1 asetik asit ve metanolde kolayca çözündüğü tespit edilmiştir (Tablo 4-6). Çözünürlük çalışması sonuçlarının literatüre uygun olduğu görülmüştür (Chinnala ve ark., 2015; El-Mahrouk ve ark., 2014). Distile suyun pH değeri astiliğe doğru kaydıka çözünürlük değeri daha çok artmıştır. Bu durum tizanidin hidroklorürün suda kolayca iyonize olmasından dolayı asidik ortamlarda daha kolay çözünebileceğini göstermektedir (El-Mahrouk ve ark., 2014). pH 6,8 fosfat tamponunda tizanidin hidroklorürün kolayca çözünmesi bukkal mukozada kolay bir şekilde çözünebileceğini göstermiştir (Sattar ve ark., 2014).

Kitosan suda çözünmeyen şişen, doğal bir polimerdir. Ancak zayıf organik asitlerin sudaki çözeltiğinde kolayca çözünebilmektedir. Kitosanın suda çözünmesini sağlamak amacıyla kitosan askorbat, kitosan glutamat gibi farklı birçok kitosan türevi hazırlanmıştır (Singh ve ark., 2009; Pillai ve ark., 2009; Rossi ve ark., 2008). 7 cP ve 10 cP kitosanolardan hareketle hidroklorik asit, glutamik asit ve azelaik asit kullanılarak 6 farklı polimer başarılı bir şekilde elde edilmiştir. Kitosan glutamat ve kitosan klorür polimerleri tuz formunda oldukları için distile su içerisinde kolayca çözünebilirken (Russo ve ark., 2016; Pignatello ve ark., 2009), kitosan azelat konjuge yapısından dolayı % 1 asetik asit içerisinde çözünebilmektedir. Azelaik asit, akne tedavisinde kullanılan, suda çözünürlüğü çok düşük, dikarboksilik asit türevi doğal bir maddedir. Uzun hidrokarbon zincirinden dolayı hidrofobik bir karakter gösteren azelaik asidin yapısında bulunan iki karboksilik asitten dolayı yüksek sıcaklıklarda hidrofilik özelliği artmaktadır (Manosroi ve ark., 2005; Chaumat ve ark., 2011). Azelaik asidin bu yapısından dolayı kitosan azelat polimerlerinin bukkal pH'da daha dayanıklı bir karakter gösterecekleri düşünüldüğü için sentezlenmiştir.

Şekil 4-9 ve Şekil 4-10'da kitosan polimerlerinin FTIR spektrumları incelenerek modifikasyonların gerçekleştiği doğrulanmıştır. Kitosanın azelaik asit modifikasyonuna ait FTIR spektrumunda; 10 cP kitosana ait olan karakteristik absorpsiyon piklerinden maksimumu 1577 cm^{-1} 'de bulunan kitosan molekülündeki -NH_2 grubunun bükülme titreşiminden ileri gelen geniş küçük pikin yerine, azelaik asit ile olan modifikasyon sonucunda, maksimumu 1555 cm^{-1} 'de görülen (-CONH) bağındaki N-H deformasyon ve C-N gerilme titreşimlerine ait küçük keskin pikin ortaya çıktığı görülmüştür. Bu durumu, maksimumu yaklaşık 2921 cm^{-1} 'de bulunan, oluşan amid yapıdaki -NH gerilme titreşimine ait küçük pikin görülmesi ve buna karşın azelaik asitteki -COOH gruplarının C=O bağının gerilme titreşiminden ileri gelen maksimumu yaklaşık 1715 cm^{-1} 'de bulunan absorpsiyon pikinin görülmemesi desteklemiştir (Şekil 4-12). Sonuç olarak kitosan molekülündeki -NH_2 grupları ile azelaik asitteki -COOH grupları arasındaki modifikasyon reaksiyonunun amid bağları oluşumu şeklinde gerçekleştiği görülmüştür (Ghosh ve Ali, 2012; Simons, 1978). Kitosan – Glutamik asit modifikasyonuna ait FTIR spektrumda (Şekil 4-10); 10 cP kitosana ait olan karakteristik absorpsiyon piklerinden maksimumu 1577 cm^{-1} 'de bulunan kitosan molekülündeki -NH_2 grubunun bükülme titreşiminden ileri gelen geniş küçük pikin yerine, glutamik asit ile olan modifikasyon sonucunda, maksimumu 1552 cm^{-1} 'de görülen (-CONH)

bağındaki N–H deformasyon ve C–N gerilme titreşimlerine ait küçük keskin pikin ortaya çıktığı görülmüştür. Bu durumu, maksimumu yaklaşık 2931 cm^{-1} 'de bulunan oluşan amid yapıdaki –NH gerilme titreşimine ait küçük pikin görülmesi, buna karşın glutamik asitteki –COOH gruplarının C=O bağının gerilme titreşiminden ileri gelen maksimumu yaklaşık 1715 cm^{-1} 'de bulunan absorpsiyon pikinin görülmemesi desteklemiştir. Ayrıca glutamik asitten ileri gelen 2106 ve 1400 cm^{-1} 'de yer alan –NH_3^+ ve –COO^- gruplarının deformasyonuna ait sırasıyla yaygın omuz ve büyük keskin piklerin ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Bununla beraber $1300\text{--}1430\text{ cm}^{-1}$ bölgesindeki kitosan molekülünde bulunan $\text{–CH}_2\text{OH}$ gruplarının gerilme titreşiminden ileri gelen piklerin kaybolmuş olması ve C–O–C bağının gerilme titreşiminden ileri gelen yaklaşık maksimumu 1067 cm^{-1} 'deki pikin uzamış olması reaksiyon esnasında molekül içi kondenzasyonun olduğunu göstermiştir (Singh ve ark., 2009; Simons, 1978). Kitosan – Hidroklorik asit kuaternizasyonuna ait FTIR spektrumunda (Şekil 4-10); 10 cp kitosana ait karakteristik absorpsiyon piklerinden maksimumu 1577 cm^{-1} 'de bulunan kitosan molekülündeki –NH_2 grubunun bükülme titreşiminden ileri gelen geniş küçük pik, HCl ile kuaternizasyonu sonucunda hafifçe kayarak oluşan (–NH_3^+) grubu nedeni ile 1531 cm^{-1} 'de keskin pik olarak ortaya çıkmıştır. Bununla beraber $1300\text{--}1430\text{ cm}^{-1}$ bölgesindeki kitosan molekülünde bulunan $\text{–CH}_2\text{OH}$ gruplarının gerilme titreşiminden ileri gelen piklerin kaybolmuş olması ve C–O–C bağının gerilme titreşiminden ileri gelen yaklaşık maksimumu 1067 cm^{-1} 'deki pikin uzamış olması kuaternizasyon esnasında molekül içi kondenzasyonun olduğunu göstermiştir (Ghosh ve Ali, 2012; Simons, 1978). Yapılan genel değerlendirmeler 7 cP kitosan için de gerçekleştirilmiş olup aynı değişimlerin meydana geldiği tespit edilmiştir. Sadece maksimum pik değerlerinde küçük oynamalar belirlenmiştir. Dolayısıyla yapılan kontrollerde 7 cP ve 10 cP kitosan moleküllerinin azelaik asit, glutamik asit ve hidroklorik asit modifikasyonu ile 6 farklı polimeri başarılı bir şekilde hazırlanmıştır.

Tablet ve yama formülasyonlarının hazırlanmasında kullanılacak yardımcı maddelerin tizanidin hidroklorür ile herhangi bir etkileşim göstermemesi gerekmektedir. Bu amaçla gerçekleştirilen FTIR analizlerinde tizanidin hidroklorürün 1:1 oranında yardımcı maddelerle karıştırılması neticesinde tizanidin hidroklorüre ait pikler net bir şekilde görülmüştür. Elde edilen spektrumlarda Şekil 4-12'de de olduğu gibi 3243 cm^{-1} 'de sekonder amin N – H bandı, 1642 cm^{-1} 'de $\text{–C}=\text{N}$ bandı ve 1584 cm^{-1} 'de $\text{C}=\text{C}$ bandı görülmüştür. Bu pikler tizanidin hidroklorürün kimyasal yapısına ait olup

yardımcı maddelerin tizanidin hidroklorür ile herhangi bir etkileşim göstermediği sonucuna varılmıştır (Erdik, 2011).

7cP ve 10 cP kitosandan hazırlanan kitosan azelat, kitosan klorür ve kitosan glutamat polimerleri kullanılarak bukkal yama formülasyonları çözücü döküm yöntemi ile hazırlanmıştır. Pahalı donanım gerektirmemesi ve kolay olması sebebiyle çözücü döküm yöntemi yamaların hazırlanışında en sık kullanılan yöntemdir (Karki ve ark., 2016). Bukkal yama formülasyonlarının elastik ve yumuşak yapıda olması için plastizer kullanılması gerekmektedir. Bu amaçla yama formülasyonlarının hazırlanmasında en sık kullanılan plastizer maddelerden gliserin tercih edilmiştir (Adhikari ve ark., 2010; Prajapati ve ark., 2012). Yama formülasyonlarının hazırlanışında kitosan polimerleri % 2, 3 ve 4; plastizer olarak gliserin % 2 – 3 oranında ilave edilmiştir. Kitosan klorür ve kitosan glutamat polimerleri ile yamaların hazırlanışında çözücü olarak distile su, kitosan azelat polimerleri için ise % 1 asetik asit çözeltisi kullanılmıştır. 6 cm’lik plastik petri kaplarında hazırlanacak yamalar için formülasyonun toplam miktarı literatürde yapılan bazı çalışmalar referans alınarak belirlenmiştir (Abruzzo ve ark., 2012). 6 farklı kitosanın farklı yüzdelerde ve yine % 2 – 3 oranında gliserin kullanımıyla 36 farklı yama formülasyonun hazırlanması amaçlanmıştır. Ancak kitosan azelat (10 cP) ile hazırlanan formülasyonlarda % 4 oranında polimer içeren çözeltiler jel kıvamına gelmiş, petri kabına dökülecek kıvamda olmadıklarından dolayı bu formülasyonlar (A10-42 ve A10-43) çalışmadan çıkarılmıştır. Ayrıca % 5 oranında polimer içeren yamaların da aynı şekilde çok yüksek viskozite gösterdikleri için çalışma tasarımına dahil edilmemiştir. Çözücü döküm yönteminde homojen bir şekilde çözeltiler hazırlandıktan sonra petri kabına dökülüp etüvde bekletilmektedir. Kurutma süresi ve sıcaklığı yamanın esnekliği açısından çok büyük önem arz etmektedir. Literatürde genellikle 40 – 60 °C’de 6 – 48 saat arasındaki kurutma sürelerinde çalışılmıştır. Ayrıca bazı çalışmalarda oda sıcaklığında bir gün boyunca bekletilerek de kurutma yapılmıştır. Kurutma sıcaklığı ve süresi, kullanılan polimerlerin türü ve miktarı, çözelti miktarı gibi farklılıklardan dolayı değişkenlik göstermektedir (Govindasamy ve ark., 2013; Jafar ve Ali, 2011; Kumar ve ark., 2011; Shiledar ve ark., 2014; Trastullo ve ark., 2016). Petri kapları literatürdeki örnek çalışmalara uygun olarak 50 °C’de 16 saat bekletilerek kurutulmuştur. Çalışmalar neticesinde Şekil 4-19’deki örnek formülasyonda olduğu gibi 34 farklı bukkal yama başarılı bir şekilde hazırlanmıştır. Literatürde birçok farklı çalışmada yama hazırlanışında polimer olarak yalnızca kitosan tercih edildiğinde,

genellikle % 1 – 5 konsantrasyonlarında kullanılmıştır (Furtado ve ark., 2010; Costa ve ark., 2014; Cid ve ark., 2012; Mortazavian ve ark., 2014). Ancak plastizer olarak kullanılan gliserin, formülasyon içerisindeki polimerin niteliği ve yüzdesi göz önünde bulundurularak % 1 – 30 konsantrasyonlarında kullanılmıştır (Avachat ve ark., 2013; Patel ve ark., 2009). Plastizer konsantrasyonu çalışmada düşük seviyelerde tutulmuştur. Preis ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada plastizer olarak gliserin % 1 – 7 arasında ve farklı yüzdelerde polimer kullanılmıştır. Ancak polimer konsantrasyonu arttıkça gliserin formülasyonlara daha düşük konsantrasyonlarda ilave edilmiştir (Preis ve ark., 2014).

Yama formülasyonlarının ağırlık tekdüzeliği, kalınlık, pH değeri, nem tutma kapasitesi, nem kaybı yüzdesi, şişme yüzdesi, esneklik ve gerilme direnci gibi özellikleri incelenmiştir. Yamaların ağırlıkları 13,80 – 31,20 mg arasında değişkenlik göstermektedir. Aynı polimeri içeren yamaların ağırlıkları genel olarak içerdikleri polimer miktarı arttıkça artmıştır. Aswathy ve arkadaşlarının (2014) yaptığı çalışmada plastizer oranı % 2 olup kitosan 100 – 500 mg arasında değişecek şekilde beş farklı formülasyon hazırlanmıştır. Hazırlanan yamaların ağırlıkları 6,33 – 11,42 mg arasında değişmekle birlikte en düşük miktarda polimer içeren en yüksek polimer içeren formülasyona doğru ağırlık artmıştır. Aynı polimeri aynı miktarda içeren yamalarda gliserin yüzdesi fazla olan polimerin ağırlığı daha yüksek çıkmıştır (Kaur ve ark., 2014). Aynı oranda farklı tip polimer ve aynı oranda gliserin içeren formülasyonların ağırlıkları arasında çok büyük farklılık görülmemiştir. Ancak aynı tip olup farklı viskozite değerine sahip polimerler ile hazırlanan yamalarda yüksek viskoziteli kitosan türevi polimer ile hazırlanan yamanın ağırlığının genellikle daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Örneğin A7-33 nolu formülasyonun ağırlığı $26,00 \pm 1,26$ mg iken, A10-33'ün ağırlığı $29,00 \pm 1,41$ mg'dır (Tablo 4-7). Bu durum kitosanın viskozite/molekül ağırlığı artışına bağlı olarak daha fazla su tutabilme özelliğinden kaynaklanmıştır. Yamaların ağırlıkları 0,134 – 0,224 mm arasında değişkenlik göstermiştir. Sonuçlara göre en kalın ve en ince yamalar sırasıyla C10-43 ve G7-22 olmuştur. Farklı polimerler ile hazırlanan, aynı yüzdede polimer ve aynı miktarda gliserin içeren formülasyonların kalınlık değerlerinde önemli bir farklılık görülmemiştir. G10-43 nolu yamanın kalınlık değeri $0,236 \pm 0,005$ mm iken, G7-43 nolu yamanın kalınlığı $0,208 \pm 0,004$ mm olarak ölçülmüştür. Bu durum yamanın ağırlığının daha fazla olmasından kaynaklanmaktadır. Yama formülasyonlarının bukkal dokuya uygulanmaları açısından literatürdeki örnekler

ile kıyaslandığında yeterli incelikte olduğu sonucuna varılmıştır (Walicova ve ark., 2017; Preis ve ark., 2014; Kumria ve ark., 2014).

pH değeri verilerine göre sonuçlar 6,178 – 6,720 arasındadır (Tablo 4-7, Tablo 4-8 ve Tablo 4-9). Kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan yamaların pH değerleri 6,178 – 6,230; kitosan glutamat ile hazırlananların pH değerleri 6,486 – 6,720; kitosan klorür ile hazırlananlar da ise 6,534 – 6,704 arasında bulunmuştur. Kitosan klorür ve kitosan glutamat polimerleri ile hazırlanan yama formülasyonlarının pH değerleri birbirine yakın çıkarken kitosan azelat ile hazırlanan yamaların pH değerlerinin daha düşük çıkmasının sebebi bu formülasyonların % 1 asetik asit içerisinde çözündürülerek hazırlanmasından kaynaklanmıştır. Ayrıca polimer yüzdesi arttıkça pH değeri daha düşük çıkmıştır. Bu durum ortamdaki polimer konsantrasyonu arttıkça sulu ortama geçen H^+ iyonlarının artmasından kaynaklanmıştır. Yamaların, bukkal mukoza için uygun olduğu görülmüştür (Montero-Padilla ve ark., 2017; Sattar ve ark., 2014).

Yamaların nem tutma kapasiteleri ve nem kaybı yüzdeleri sırasıyla doymuş potasyum klorür çözeltisi ve susuz kalsiyum klorür kullanılarak desikatör içerisinde gerçekleştirilmiştir. Yamaların nem tutma kapasitesi % 3,01 – 55,04 arasında değişkenlik gösterirken, nem kaybı yüzdelerinin % 1,94 – 17,11 arasında olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4-10, Tablo 4-11 ve Tablo 4-12). Aswathy ve arkadaşlarının çalışmalarında kitosan konsantrasyonu arttıkça nem tutma kapasiteleri artarken, nem kaybı yüzdeleri azalmıştır (Aswathy ve ark., 2014). Polimer olarak kitosan, HPMC K100'ün kullanıldığı bir çalışmada sadece kitosan ve HPMC K100 ile hazırlanan yamalarda polimer konsantrasyonu arttıkça nem kaybı yüzdesi ve nem tutma kapasiteleri artmıştır (Gorle ve ark., 2015).

Şişme çalışmaları bukkal mukozanın pH'sına uygun olacak şekilde pH 6,8 fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir. Yama formülasyonlarının şişme çalışmalarının sonuçları Tablo 4-13'te gösterildiği gibi birçok formülasyon iki saat sonunda parçalanmaya başlamıştır. Kitosan klorür polimerleri ile hazırlanan yama formülasyonlarının büyük bir çoğunluğu 1 saat süre sonunda parçalanmış olup sadece C7-43 ve C10-43 nolu yamalar 1. ve 2. saat arasında parçalanmıştır. Kitosan glutamat polimerleri ile hazırlanan formülasyonlardan G7-42, G7-43, G10-42 ve G10-43 nolu formülasyonların şişme çalışmaları tamamlanabilmiştir. Kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan yamalarda ise sadece A10-32 ve A10-33 nolu yamalar iki saat boyunca

parçalanmadan şişmiştir. Yama formülasyonları çok yüksek oranda su alarak % 283,04 – 1463,82 arasında değişen bir şişme yüzdesi göstermiştir (Tablo 4-13). İçerdikleri kitosan polimerlerinden dolayı yamalar çok yüksek oranda su alarak şişme göstermiştir. Ayrıca çok ince yapıda olmalarından dolayı sadece yüksek miktarda polimer içeren formülasyonlar iki saat boyunca şişerek dayanıklı kalabilmiştir. Şekil 4-20’de görüldüğü gibi yama formülasyonları su aldıklarında boyutlarının en az iki katına kadar çıkabilmektedir. Bu durum özellikle yapılarının daha kolay bozunmalarına yani parçalanmalarına sebep olmuştur. Ayrıca iki saat boyunca dayanıklı olan yama formülasyonlarının ikinci saatten sonra parçalanmaya başladıkları görüldüğü için şişme çalışmaları iki saat boyunca yürütülmüştür. Kitosan azelat (10 cP) polimerini içeren yamalar diğer polimerler ile hazırlanan yama formülasyonlarına göre daha az şişme göstermiştir (Şekil 4-21). Bu durum kitosan azelat polimerinin daha hidrofobik yapısından kaynaklanmıştır (Manosroi ve ark., 2005; Chaumat ve ark., 2011). Tablo 4-13’te görüldüğü gibi % 2 oranında gliserin içeren yama formülasyonları % 3 oranında gliserin içeren formülasyonlara göre daha yüksek oranda şişme göstermiştir.

Yamaların, esneklik ve gerilme direnci çalışmaları tekstür analiz cihazında yapılmıştır. Yapılan çalışmalar neticesinde yamaların esneklikleri % 49,72 – 147,74 arasında bulunmuştur (Tablo 4-14, Tablo 4-15, Tablo 4-16). İçerdikleri polimer yüzdesi arttıkça yamaların esnekliklerinin azaldığı görülmüştür (Şekil 4-22). % 2 ve % 3 veya % 3 ve % 4 polimer içeren yamaların esnekliklerinin karşılaştırılmasında aradaki farklar genel olarak istatistiksel açıdan anlamlı değilken ($p>0,05$), % 2 ve % 4 polimer içeren yamaların esneklikleri arasındaki fark istatistiksel açıdan genel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca aynı tip polimeri aynı oranda içerip yüksek oranda gliserin içeren yamaların esnekliklerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çünkü plastizer maddeler yamaların uzama ve esneklik özelliklerini geliştirmek amacıyla formülasyonlara ilave edilmektedir (Barzoki ve ark., 2016). Aynı miktarda polimer içeren formülasyonlarda gliserin miktarındaki artış esnekliğin artışını anlamlı derecede değiştirmemiştir ($p>0,05$). Ancak A10-32 ve A10-33; G7-32 ve G7-33; G7-42 ve G7-43; G10-42 ve G10-43 formülasyonlarında bu fark anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Yamaların hazırlanabilmesi ve uygun bir esneklik gösterebilmesi için bu çalışma tasarımı % 4 polimer değerinin maksimum olduğu sonucuna varılmasını sağlamıştır. Çünkü % 5 polimer içeren çözeltilerin yüksek viskoziteye sahip oldukları için petri

kabına dökülemediklerinden ötürü hazırlanamadıkları sonucu, bu durumun önemli bir göstergesi olarak belirtilebilmektedir.

Gerilme direnci en yüksek yama $8,745 \pm 1,169 \text{ N/cm}^2$ ile C10-42 iken, en düşük ise $0,450 \pm 0,042 \text{ N/cm}^2$ ile G10-23 olmuştur. Şekil 4-22’de gösterildiği gibi kitosan azelat (7 cP) ile hazırlanan yama formülasyonlarının gerilme dirençleri büyükten küçüğe A7-42, A7-32 ve A7-22 olarak belirlenmiştir. Yama formülasyonlarındaki polimer miktarının artışı, gerilme direncinin artışıyla sonuçlanmıştır. Genel olarak polimer miktarındaki artışın gerilme direncine etkisi istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). % 2 oranında polimer ile hazırlanan yama formülasyonlarında % 2 gliserin içeren formülasyonların, % 3 gliserin içeren formülasyonlara göre daha yüksek gerilme direnci ve daha düşük esneklik göstermiştir. C10-22 yama formülasyonunun gerilme direnci ve esneklik değerleri sırasıyla $2,358 \pm 0,049 \text{ N/cm}^2$ ve $\% 113,77 \pm 4,41$ iken, C10-23 için bu değerler $0,747 \pm 0,025 \text{ N/cm}^2$ ve $\% 142,69 \pm 13,57$ olarak hesaplanmıştır (Şekil 4-23). % 3 – 4 polimer kullanılarak hazırlanan formülasyonlarda da genellikle aynı durum ortaya çıkmıştır. Ancak bazı formülasyonlarda gliserin miktarı arttıkça gerilme direnci azalırken, esneklik yüzdesinde de azalma görülmüştür (Şekil 4-24). A10-32 ve A10-33 formülasyonlarının gerilme direnci ve esneklik değerleri sırasıyla $3,193 \pm 0,114 \text{ N/cm}^2$ ve $1,945 \pm 0,236 \text{ N/cm}^2$; $\% 97,43 \pm 0,77$ ve $\% 49,72 \pm 5,40$ olarak belirlenmiştir (Tablo 4-14). Polimer miktarı sabitken gliserin miktarındaki artışın gerilme direncine etkisi kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan yamalarda istatistiksel açıdan anlamlı bulunurken ($p < 0,05$), kitosan glutamat ve kitosan hidroklorür yamaları arasında bu değişim anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Sadece C10-42 – C10-43 ve G7-42 – G7-43 yamalarının gerilme dirençleri arasındaki fark anlamlı olarak tespit edilmiştir.

Şekil 4-25’te gösterildiği gibi aynı oranda ancak farklı tipte polimer ve aynı oranda gliserin içeren formülasyonların kıyaslanmasında gerilme dirençleri en yüksek formülasyon C7-33 olurken, esnekliği en yüksek formülasyon G7-33 olmuştur. Genel olarak kitosan glutamat ile hazırlanan yama formülasyonlarının esnekliklerinin ortalama olarak daha yüksek ve dolayısıyla gerilme dirençlerinin de daha düşük olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar neticesinde gerilme direnci ile esneklik arasında genellikle ters orantılı bir durumun olduğu tespit edilmiştir (Pereria ve ark., 2014).

Yapılan bir çalışmada okra polimeri (% 2 – 3) ve gliserin (% 0,25 – 0,75) kullanılarak yama formülasyonları hazırlanmıştır. Polimer yüzdesi arttıkça gerilme direncinin arttığı tespit edilmiştir. Ancak aynı miktarda polimer içeren formülasyonların gerilme dirençleri gliserin yüzdesi arttıkça artmamıştır. Gerilme dirençleri sırasıyla büyükten küçüğe F2 (% 2 polimer ve % 0,5 gliserin), F1 (% 2 polimer ve % 0,25 gliserin) ve F3 (% 2 polimer ve % 0,75 gliserin) olarak belirlenmiştir (Kaur ve ark., 2014). Aynı yüzdede plastizer içeren formülasyonlarda polimer konsantrasyonu artarken gerilme direnci artış göstermektedir. Ancak aynı konsantrasyonda polimer içeren formülasyonlarda plastizer konsantrasyonunun artışı ile gerilme direnci doğru orantı göstermemektedir.

Yüksek oranda polimer içeren yama formülasyonlarının daha yüksek kalınlıkta ve ağırlıkta olmaları sebebiyle, yapılan şişme çalışmaları neticesinde daha dayanıklı oldukları tespit edilmiştir. Bukkal yama formülasyonlarının hazırlanmasında çözelti yama kabına dökülüp kurutma yapıldıktan sonra petri kabının kenarlarında da yaklaşık 0,6 cm yüksekliğinde yamanın olduğu tespit edilmiştir. Bu durumdan yola çıkarak çözeltilere ilave edilecek tizanidin hidroklorür miktarı hesaplanırken yamanın yüzey alanı ve petri kabının kenarlarındaki yükseklik de göz önüne alınmıştır. Yapılan içerik tekdüzeliği çalışmalarının sonuçlarına göre etken madde içeriği % 93,26 – 114,11 arasında çıkmıştır (Tablo 4-17). İçerik tekdüzeliğinde yamaların etken madde içeriğinin % 100'den fazla çıkmasının petri kabındaki çözeltinin yüksekliğindeki değişimlerden kaynaklanabilmektedir. Petri kabında çözeltinin yüksekliğinin 0,6 cm'den düşük olması neticesinde diğer bölümlerde daha fazla etken madde yüklemesi gerçekleşmiştir. C10-43 ve G7-43 formülasyonlarında içerik tekdüzeliğinin sırasıyla % $109,50 \pm 7,96$ ve % $114,11 \pm 4,48$ olarak çıkmasının sebebi bu şekilde açıklanabilmektedir.

Tizanidin hidroklorür içeren ile içermeyen yamaların FTIR spektroskopisi ile spektrumları çekilmiştir. Şekil 4-26'da olduğu gibi yapılan karşılaştırmalarda etken madde içeren yamalarda tizanidin hidroklorüre ait pikler belirlenmiştir. Bu sonuçlar üretim yönteminin tizanidin hidroklorürün yapısını etkilemediğini göstermiştir.

Bukkal tablet formülasyonları etken maddenin sadece bukkal mukozaya salımını sağlamak amacıyla çift tabakalı olarak tasarlanmıştır. Bu amaçla suda çözünmeyen hidrofobik karakterli etil selüloz kullanılmıştır. Etil selüloz birçok çift tabakalı bukkal biyoadesif formülasyonun hazırlanmasında su geçirmeyen sırt tabakası olarak

kullanılmıştır (Misra, 2012; Biswal ve ark., 2014). Öncelikle polimer, tizanidin hidroklorür, kaydırıcı olarak magnezyum stearatı içeren biyoadezif tabaka ön sıkıştırma ile sıkıştırılmış, ardından etil selüloz tabakası ilave edilerek 8 mm çapına sahip zimbaların kullanımıyla tabletler başarılı bir şekilde hazırlanmıştır (Şekil 4-32).

Literatürde bukkal tablet formülasyonları çok farklı ağırlık (100 – 300 mg) ve çap (5 – 13 mm) değerlerinde hazırlanmaktadır (El-Nahas ve ark., 2017; Ikeuchi-Takahashi ve ark., 2017; Mura ve ark., 2016; Laffleur, 2014; Abdulhady ve Ibrahim, 2017). Ancak ağızda oluşabilecek bir rahatsızlık hissini en düşük seviyede tutabilmek amacıyla bu çalışmada 8 mm çapında ve 120 mg ağırlığında olacak şekilde tablet formülasyonları tasarlanmıştır. Hazırlanan bukkal tabletlerin ağırlık tekdüzeliği, kalınlık, çap ve pH değerleri Tablo 4-18’de gösterilmiştir. Tabletlerin ağırlıkları 119 – 120 mg, kalınlıkları 7,99 – 8,00 mm ve çapları 2,01 – 2,29 mm olarak ölçülmüştür. Tabletlerin ince yapıda olmaları, istenen temel özelliklerden bir tanesidir (Laffleur, 2014). Abdulhady ve Ibrahim’in (2017) yapmış olduğu çalışmada 300 mg’lık bukkal tablet formülasyonlarının direkt basım yöntemi ile basılarak 2,94 – 3,15 mm kalınlığında tabletler elde edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada metoprolol tartaratın 13 mm’lik zimbalar kullanılarak 250 mg ağırlığında tabletleri üretilmiştir ve üretilen tabletlerin kalınlık değerleri ortalama 1,2 mm olarak bulunmuştur (El Sayeh ve ark., 2013). Tablet kalınlığının uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Çap değerleri sonuçlarında kitosan azelat ve kitosan klorür ile hazırlanan tabletlerin daha ince olduğu tespit edilmiştir. Bu durum kitosan glutamat polimerlerinin sıkışabilirliğinin daha düşük olduğunun bir sonucu olarak yorumlanmıştır. Polimerler tablet basımında kullanılmadan önce öğütülüp elekten geçirilmiştir. pH değerleri 6,068 – 6,846 arasında değişen bukkal tabletlerde kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan tabletlerin pH’ları 6,8’e çok yakın değerler göstermiştir. Bu durum hidrofobik yapıda olan kitosan azelat polimerlerinin daha az ıslanması neticesinde pH 6,8 fosfat tamponunun pH’sını pek değiştirmedeği şeklinde yorumlanmıştır. Ancak elde edilen sonuçlar ışığında tüm tablet formülasyonlarının bukkal mukozanın pH değeri için uygun olduğunu göstermiştir (Sattar ve ark., 2014; Montero-Padilla ve ark., 2017).

Bukkal tablet formülasyonlarının friabilite değerlerinin % 0,13 – 0,80 ve sertliklerinin ise 75,56 – 85,44 N arasında olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalardaki gözlemlere dayanarak friabilite çalışmalarında tabletin etil selüloz tabakasından

ufalanmaların olduğu, sertlik çalışmasında ise yine etil selüloz tabakasının kırılarak parçalandığı tespit edilmiştir. Kitosan türevi polimerleri içeren biyoadezif tabaka sıkıştırıldıktan sonra kağıt mukavva niteliğinde olduğu için kırılma ya da ufalanma gibi özellikleri göstermemektedir. Çelik'in 2017 yılında yaptığı çalışmada risperidonun bukkal biyoadezif tablet formülasyonları geliştirilmiştir. Tabletlerin sertlik değerleri 46,2 – 81,4 N arasında bulunmuştur. Bukkal tabletlerin sertlik değerlerinin kolayca parçalanmamaları için 30 N'dan yüksek olması istenmektedir (Onishi ve ark., 2015). Dolayısıyla çalışmada hazırlanan tablet formülasyonlarının bukkal pH'da uzun süre boyunca ağızda dağılmadan kalabilecek bir sertlik değerinde olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca friabilite değerleri farmakopelere uygun olarak % 1'den düşük seviyede çıkarak istenen sınırlar içerisinde kalmıştır (Fatima ve ark., 2015).

Tablet formülasyonlarının 6 saatlik şişme sonuçları Tablo 4-19 ve Şekil 4-33'te görüldüğü gibi % 147,83 – 496,85 arasında değişkenlik göstermiştir. Literatürde bukkal tablet formülasyonları için genellikle 8. saate kadar şişme çalışmaları sürdürülürken bu çalışmada 6. saatten sonra bazı tablet formülasyonlarında hafif bir dağılma görüldüğü için şişme çalışması bu saatte sonlandırılmıştır (Shirsand ve ark., 2013; Biswal ve ark., 2014; Abdulhady ve Ibrahim, 2017). Kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan TA-7 ve TA-10 sırasıyla % $147,83 \pm 9,29$ ve % $138,02 \pm 9,45$ ile en düşük şişme değerlerini gösterirken; en yüksek şişme değerlerini ise kitosan klorür polimerleri ile hazırlanan TC-7 % $411,14 \pm 9,13$ ve TC-10 % $496,85 \pm 7,45$ ile göstermiştir. Ayrıca TA-7 ve TA-10 formülasyonlarının 2. saatten sonra neredeyse hiç şişme göstermedikleri tespit edilmiştir. TA-7 ve TA-10'un daha düşük şişme değerleri göstermesinin sebebi kitosan azelatin daha hidrofobik yapıda olmasından kaynaklanmıştır.

Pathak ve arkadaşları tarafından antifungal etkili flukonazolun kitosan ve karbopol polimerleri kullanarak bukkal biyoadezif tabletleri geliştirilmiştir. 5 mL pH 6,8 fosfat tamponu içeren petrilerde yapılan 12 saatlik şişme çalışması sonucunda tabletlerin şişme yüzdeleri % 88,09 – 89,64 arasında çıkmıştır (Pathak ve ark., 2016). Yapılan başka bir çalışmada karbopol 974P ve HPMC K4M polimerleri kullanılarak diltiazem hidroklorürün bukkal tablet formülasyonları geliştirilmiştir. 9 farklı tabletin hazırlandığı çalışmada şişme yüzdeleri % 65,34 – 92 arasında çıkmış olup toplam polimer miktarı arttıkça genel olarak şişme yüzdesi artmıştır. Ancak F6'nın (15 mg karbopol 974P, 10 mg HPMC K4M) şişme yüzdesi % 86,72 ve F8'in (11,25 mg

karbopol 974P, 12 mg HPMC K4M) şişme yüzdesi % 90,26 olarak bulunmuştur. Yani F6'daki toplam polimer miktarı fazla olmasına rağmen, F8'in şişme yüzdesi yüksek çıkmıştır. Bu durum HPMC K4M'in daha yüksek kapasitede su tutmasından kaynaklanmıştır. Dolayısıyla polimerin cinsi ve miktarı şişme yüzdesini direkt olarak etkilemektedir (Narkhede ve ark., 2010).

Yapılan karakterizasyon çalışmaları neticesinde elde edilen bulgulara dayanarak 6 tablet formülasyonunun da uygun olduğu değerlendirilerek tizanidin hidroklorür yüklemesine geçilmiştir. 80 mg'lık biyoadezif tablet kısmına 2,288 mg tizanidin hidroklorür yüklenecek şekilde tartımlar yapılarak etil selüloz ilavesinden sonra çift tabakalı 120 mg'lık tabletler başarılı bir şekilde basılmıştır. Tablet formülasyonlarının içerik tekdüzeliği sonuçları % 69,88 – 89,86 arasında bulunmuştur (Tablo 4-20). İçerik tekdüzeliği sonucu en yüksek çıkan formülasyon % $89,86 \pm 2,51$ ile TG-10 olmuştur. İçerik tekdüzeliği çalışmaları neticesinde elde edilen bulgular bukkal yama formülasyonlarına göre etken maddenin daha düşük oranda tablet formülasyonlarına yüklendiğini göstermiştir.

Tizanidin hidroklorür içeren ve içermeyen formülasyonların FTIR analizlerinde 1642 cm^{-1} 'de tizanidin hidroklorürün kimyasal yapısında bulunan $\text{C}=\text{N}$ bandı görülmüştür (Şekil 4-34). Ayrıca TA-7, TA-10, TG-7 ve TG-10 formülasyonlarında 3243 cm^{-1} 'de sekonder amin $\text{N}-\text{H}$ bandı net bir şekilde tespit edilebilirken; TC-7 ve TC-10'da bu bandın varlığı % T değerlerine bakılarak tespit edilmiştir. TC-7 ve TC-10'un tizanidin hidroklorür içeren formülasyonlarına ait spektrumlarda 3243 cm^{-1} 'de % T değerinin, tizanidin hidroklorür içermeyen formülasyonlarına göre oldukça yüksek çıkmıştır. Bu sonuçlar tablet üretimi esnasında etken maddenin yapısını etkileyen herhangi bir durumun olmadığını göstermiştir.

Bukkal biyoadezif formülasyonların değerlendirilmesindeki en önemli ölçütlerden bir tanesi biyoadezif özellikleridir. Çünkü ilaç salımının istenen süre boyunca gerçekleşebilmesi için formülasyonun ilgili bölgede yeterli kalış süresi göstermesi gerekmektedir. Bu amaçla formülasyonun biyoadezif özellikleri, dolayısıyla adezif özelliğe sahip polimerin etkinliği tespit edilmektedir. Biyoadezyonu etkileyen cihaz ile ilgili temel parametreler ilk temas kuvveti, temas süresi ve probun hızı olarak ifade edilmektedir (Giovino ve ark., 2013; Singh ve Rana, 2012). Çünkü ilk uygulama esnasında formülasyonun hastanın mukozasına düzgün bir şekilde yapıştırılması

gerekmektedir. Yapılan bir çalışmada 0,05 – 1 N arasındaki ilk temas kuvveti değerlerinde çalışılmıştır. Ancak ilk temas kuvvetindeki artışın biyoadezyon gücünü önemli ölçüde arttırmadığı ifade edilmiştir (Giovino ve ark., 2013). Literatürde genellikle 30 – 180 saniyelik temas sürelerinde çalışıldığı belirlenmiştir (Yıldız Pekoz ve ark., 2016; Giovino ve ark., 2013; Avachat ve ark., 2013; Palem ve ark., 2011). Bu projede biyoadezyon ölçümü için yapılan ön çalışmalarda 60 saniyelik temas süresinde elde edilen sonuçların, 120 – 180 saniyeye göre daha düşük olduğu, 120 ve 180 saniyelik temas sürelerinde önemli bir farkın olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca mukozal yüzeyi ıslatmak için kullanılan müsin ya da pH 6,8 fosfat tamponunun da miktarı biyoadezyonu etkilemektedir. Çalışmalarda genellikle 100 µL ile yapışma yüzeyinin ıslatıldığı raporlanmaktadır (Palem ve ark., 2011). Yapılan bu çalışmada 100 µL müsin miktarı özellikle yamaların çok fazla ıslanıp şişerek büyümesine sebep olduğu için 75 µL % 2'lik (a/h) müsin ilave edilerek gerçekleştirilmiştir.

Tekstür analiz cihazı kullanılarak ideal yama ve tablet formülasyonlarının biyoadezif özellikleri inek bukkal dokusu kullanılarak belirlenmiştir. Tablo 4-21'de gösterildiği gibi yama formülasyonlarının biyoadezyon bulgularına göre en yüksek ve en düşük biyoadezif kuvvet değerlerini sırasıyla $0,366 \pm 0,130 \text{ N/cm}^2$ ile G10-43 ve $0,176 \pm 0,024 \text{ N/cm}^2$ ile A7-43 formülasyonu göstermiştir. Biyoadezyon işi değerleri ise birbirine oldukça yakın olup $0,189 - 0,252 \text{ mJ/cm}^2$ arasında bulunmuştur. En yüksek biyoadezyon işi değerlerini gösteren formülasyonlar sırasıyla C10-43 ve G10-43 olmuştur. Yama formülasyonlarının biyoadezif özellikleri birbirine oldukça yakın bulunmuştur. Yama formülasyonlarının biyoadezif özellikleri arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

% 1,5 asetik asit çözeltisinde % 1 oranında kitosan ve % 0,1 – 0,2 PVP K-30 kullanılarak hazırlanan yama formülasyonlarının biyoadezif özellikleri koyun bukkal mukozası kullanılarak belirlenmiştir. Gerçekleştirilen çalışmada biyoadezif güç $0,09 - 0,12 \text{ N}$ olarak hesaplanmıştır (Furtado ve ark., 2010). Giovino ve arkadaşları (2013) PEG-b-PLA nanopartiküllerine insülin yükleyip % 1,25 oranında kitosan kullanarak bukkal film formülasyonları geliştirmiştir. *In vitro* ortamda gerçekleştirilen biyoadezyon çalışması % 2 oranında müsin (a/h) kullanılarak tekstür analiz cihazında yapılmıştır. Elde edilen sonuçlarda biyoadezyon işi $1,6 - 1,8 \text{ N.mm}$ arasında bulunmuştur. Yine yapılan başka bir çalışmada karbopol, kitosan, HPMC ve PVP polimerleri kullanılarak

hazırlanan amilorid hidroklorür yamaların biyoadezif özellikleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda biyoadezif güç yaklaşık 25 – 40 g (0,245 – 0,392 N) olarak bulunmuştur. Tek bir polimer ile hazırlanan yama formülasyonlarına göre dört polimerin ortak kullanılarak hazırlandığı yama formülasyonunun (AF4; % 0,5 HPMC, % 1 kitosan, % 0,5 karbopol, % 0,5 PVP) en iyi biyoadezif özellik gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmalar sonucunda en iyi biyoadezif özellikleri HPMC ve kitosan göstermiştir (Reddy ve ark., 2013).

Bukkal tablet formülasyonlarının biyoadezif kuvvet değerleri 0,655 – 3,519 N/cm², biyoadezyon işi değerleri ise 0,779 – 7,526 mJ/cm² olarak hesaplanmıştır. Tabletlerin biyoadezyon çalışmalarına göre en iyi biyoadezif özellik gösteren formülasyon TG-10 olurken, en düşük biyoadezif özellik gösteren formülasyon ise TA-10 olmuştur. Tablet formülasyonlarının biyoadezif özellikleri TG-10 > TG-7 > TC-10 > TC-7 > TA-7 > TA-10 şeklinde sıralanmıştır (Tablo 4-21). Bu sonuçlara göre kitosan glutamat polimerleri ile hazırlanan tablet formülasyonlarının en yüksek, kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan tabletlerin ise en düşük biyoadezif özelliğe sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan tabletlerin daha düşük biyoadezif özellik göstermesinin temel sebebi hidrofobik yapısından kaynaklanmıştır. Ayrıca kitosan azelat polimerlerinin diğer polimerlere göre münin ile hidrojen bağı oluşturma kapasiteleri kimyasal yapılarından dolayı daha düşük seviyededir. Bukkal tablet formülasyonlarının biyoadezif özellikleri arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (p<0,05). 10 cP kitosanın modifiye polimerleri ile hazırlanan tabletler, 7 cP kitosanın türevleri ile hazırlanan tabletlere göre genel olarak daha iyi biyoadezif özellik göstermişlerdir. Tabletlerin bu açıdan biyoadezyon işi değerleri kıyaslandığında TA-7 – TA-10 arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmazken (p>0,05), TC-7 – TC-10 ve TG-7 – TG-10 tablet çiftleri arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (p<0,05). Ayrıca birbirine çok yakın biyoadezif özellik gösteren TC-10 ve TG-7 formülasyonlarının biyoadezif özellikleri arasındaki fark, istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır (p>0,05).

Betahistin hidroklorürün HPMC K4M, guar zımkı ve Na CMC kullanılarak bukkal tablet formülasyonları geliştirilmiştir. Hazırlanan tabletlerin biyoadezif kuvvetleri 10.356,50 – 128.645,31 dyn/cm² (0,103 – 1,286 N/cm²) arasında değişkenlik göstermiştir (El-Nabawari ve ark., 2016). Yapılan başka bir çalışmada Kepsutlu ve

arkadaşları düşük moleköl ağırlıklı kitosan ve HPMC polimerlerini kullanarak antienflamatuvar etkinliği olan piroksikamın bukkal tabletlerini geliştirmişlerdir. Tekstür analiz cihazında inek bukkal dokusu ile gerçekleştirilen işlemlerde mukoza 50 µL suni tükürük ile ıslatılmıştır. Çalışmalar neticesinde biyoadezif kuvvet 0,33 – 6,80 N (0,66 – 13,7 N/cm²) ve biyoadezyon işi 1,16 – 10,12 N.mm (2,32 – 20,24 mJ/cm²) olarak bulunmuştur. En yüksek biyoadezif kuvvet değerini sadece düşük moleköl ağırlıklı kitosan içeren formülasyon (F1) göstermiştir, ancak biyoadezyon işi değeri en yüksek formülasyon F12 (10 mg HPMC içeren) olmuştur (Kepsutlu ve ark., 2016). Biyoadezyon işi değerinin hesaplanmasında biyoadezif güç ve mukozadan kopma anındaki uzama mesafesi (mm) kullanılmaktadır. Bu sebeple biyoadezif kuvvet ve biyoadezyon işi değerleri her zaman paralellik göstermemektedir. Çalışma kapsamında hazırlanan tablet formülasyonlarından TC-7, TC-10, TG-7 ve TG-10 literatürdeki çalışmalarla da kıyaslandığında genel olarak iyi biyoadezif özellikler göstermiştir. Yama formülasyonlarının tablet formülasyonlarına göre çok daha düşük biyoadezif değerler göstermeleri yapılarının çok ince ve tabletlere göre içerdikleri polimer miktarlarının az olmasından kaynaklanmıştır.

Yama formülasyonlarının pH 6,8 fosfat tamponu içeren ortamdaki *in vitro* salım verileri neticesinde tizanidin hidroklorürün % 100'ünün 30 dakika içerisinde salım ortamına geçtiği tespit edilmiştir (Şekil 4-42). 15. dakikadaki verilere göre salımı en yavaş gerçekleştiren formülasyon % 87,21 ile G10-43 olmuştur. Tizanidin hidroklorür suda çok kolay çözünebilen bir etken maddedir (El-Mahrouk ve ark., 2014). Bu sebeple etken madde, çok yüksek miktarda su içeren salım ortamına kolay bir şekilde çözünerek geçmektedir. Ayrıca tizanidin hidroklorürün literatürdeki bukkal yama çalışmalarına kıyasla hazırlanmış olan yama formülasyonları oldukça ince bir yapıya sahiptir. Kitosan klorür polimerleri ile hazırlanan yamalar (C7-43 ve C10-43) salım ortamında yaklaşık 30 – 45 dakika içinde tamamen dağılmıştır. Kitosan glutamat polimerleri ile hazırlanan yamalar (G7-43 ve G10-43) yaklaşık 60 – 90 dakika arasında parçalanmaya başlarken, kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan yamalardan A7-43, 60 – 90 dakika arasında parçalanmıştır. Ancak A10-33 formülasyonunun ise iki saat sonunda hala parçalanmadan kaldığı tespit edilmiştir. Özetle yamaların salım ortamında hızlı ve kolay bir şekilde dağılmaları, salım ortamındaki hacmin çok yüksek olması, tizanidin hidroklorürün suda yüksek oranda çözünürlük göstermesi ve yamaların çok ince yapıda olmaları etken madde salımının hızlı bir şekilde gerçekleşmesinin nedenleri olarak

sıralanabilmektedir. Pendekal ve Tegginamat'ın yaptığı çalışmada tizanidin hidroklorür içeren yama formülasyonları kitosan ve Eudragit kullanarak hazırlanmıştır. Elde edilen yamaların kalınlıkları 0,53 – 0,64 mm arasında değişkenlik göstermiştir. Salımı yavaşlatan Eudragit polimeri kullanılması ve yamaların kalınlıklarının fazla olması sebebiyle tizanidin hidroklorürün salımı 4. saatte % 80 değerlerine ulaşmıştır (Pendekal ve Tegginamat, 2012). Chinnala ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise tizanidin hidroklorürün HPMC ve PVA kullanılarak bukkal filmleri hazırlanmıştır. Kalınlıklarının 0,10 – 0,16 mm arasında değiştiği filmlerin *in vitro* ortamda etken maddenin % 100'ünü 15 dakikada salım ortamına verdikleri tespit edilmiştir (Chinnala ve ark., 2015). *In vitro* ortamda salım bu kadar hızlı gerçekleşirken *ex vivo* ve *in vivo* çalışmalarda daha az tükürük ve mukus sebebiyle salımın daha da uzayarak ilaç geçişinin istenen seviyelerde olacağı düşünülmektedir.

Sadece bukkal mukozaya direkt ilaç salıp oral mukozaya etken madde salımını engellemek amacıyla çift katlı yama formülasyonları tasarlanmaktadır. Etil selüloz gibi hidrofobik karakterli maddeler bu amaçla kullanılmaktadır (Kumria ve ark., 2016; Patel ve ark., 2016). Hazırlanan yama formülasyonlarının tek taraflı salımını yapmak amacıyla formülasyon geliştirme çalışmaları yapılmıştır. Etil selüloz, plastizer olarak dibütıl ftalat kullanımıyla aseton içerisinde çözündürölüp cam petri kabına dökölümüştür. Oda sıcaklığında kurutulduktan sonra etken madde içeren biyoadezif çözelti aynı petri kabının üzerine dökölerek etüvde kurutulmuştur. Ancak hazırlanan bu çift katlı yama, salım ortamında çok kısa süre içerisinde birbirinden ayrılmıştır. Çünkü kitosan türevi polimerleri içeren yama su içerisinde çok kolay ve hızlı bir şekilde şişerek kendi büyüklüğünün birkaç katına kadar çıkmıştır. Ancak suda çözünmeyen etil selüloz tabakası ise kendi yapısını koruması sebebiyle aynı büyüklükte kalmıştır. Bu sebeple salım ortamında suda hızla şişen bu yama tabakası ile su geçirmeyen etil selüloz tabakası birbirlerinden kolayca ayrılmıştır. Bu sebeple hazırlanan çift tabakalı formülasyonlar çalışma tasarımına dahil edilmemiştir.

Tablet formülasyonlarının *in vitro* salım sonuçlarına göre tizanidin hidroklorürün ilk yarım saatte sadece % 12,54 – 32,37'sinin salımı gerçekleşmiştir (Şekil 4-43). 4. saat sonunda ilaç salım yüzdeleri % 52,39 – 96,45 arasında değişkenlik göstermiştir. 6 saat sonunda kitosan glutamat ve kitosan klorür polimerleri ile hazırlanan tabletlerin etken maddenin yaklaşık % 90'ının salımını gerçekleştirdiği

belirlenmiştir. 8. saat sonunda en yüksek salım yapan formülasyonlar % $98,93 \pm 9,56$ ile TC-7 ve % $98,40 \pm 1,94$ ile TC-10 olmuştur. En düşük yüzde ile salım yapan tablet formülasyonları ise % $70,98 \pm 1,18$ ile TA-7 ve % $73,29 \pm 2,80$ ile TA-10'dur. 8. saat sonunda TC-7, TC-10, TG-7 ve TG-10 tabletlerinin biyoadezif kısımları salım ortamında neredeyse tamamen dağılırken, TA-7 ve TA-10 formülasyonları şişme göstermiş ancak dağılmamıştır. Kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan bu tabletlerin (TA-7 ve TA-10) henüz dağılmamış olmaları salım yüzdelerinin diğer tabletlere göre daha düşük çıkmalarına sebebiyet vermiştir. Salım profillerinin genel olarak daha düşük çıkmasının temel sebebi de diğer polimerlere göre daha hidrofobik yapılarından dolayı daha az şişmeleri ve etken maddeyi çözecek suyun poröz yapıdaki gözeneklerine daha geç girmelerinden kaynaklanmıştır. Tablet formülasyonlarının yamalara göre daha uzun sürede ilaç salımı yapmaları sıkıştırılmış yapıları, çok daha kalın olmaları ve çift katlı özelliklerindendir.

Yapılan bir çalışmada karbopol 934P, HPMC K4M, HPMC K15M ve Na CMC polimerleri kullanılarak tizanidin hidroklorürün çift katlı tablet formülasyonları hazırlanmıştır. 8 mm çapına sahip zımbalar kullanılarak 100 mg'lık çekirdek tablete 20 mg etil selüloz ilavesiyle hazırlanan 120 mg'lık bu tabletlerin *in vitro* salımları 6 saatlik süre ile takip edilmiştir. 500 mL pH 6,8 salım ortamında 50 rpm'de yürütülen çalışmalarda salım değerleri % 50,43 – 90,47 arasında çıkmıştır. En hızlı salım yapan formülasyonlar karbopol 934P ve Na CMC ile hazırlanan tabletler olurken, en yavaş salım yapanlar ise karbopol 934P ve HPMC K15M polimerleri ile hazırlanan tabletler olmuştur. Çalışmalar sonunda formülasyon içerisindeki karbopol miktarının azalmasının salımı geciktirdiği belirlenmiştir. Bu durumun karbopolün diğer polimerlere göre daha hidrofilik olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (Shivanand ve ark., 2010).

Shanker ve arkadaşlarının (2009) yapmış olduğu çalışmada HPMC K4M, Na CMC, β -siklodekstrin, HP- β -siklodekstrin, sodyum deoksikolat kullanılarak tizanidin hidroklorürün 8 mm'lik çift katlı tablet formülasyonları geliştirilmiştir. 50 mg etil selüloz kullanılarak hazırlanan 150 mg'lık tabletlerin salım çalışması 200 mL pH 6,6 fosfat tamponunda 50 rpm hızda gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilere göre yüksek miktarda HPMC K4M içeren tabletler (F1, F3, F4, F5 ve F6) yaklaşık bir saat sonunda % 90 salım seviyelerine ulaşırken, Na CMC miktarı yüksek formülasyonlarda (F2 ve

F7) salım daha yavaş gerçekleşmiştir. Ayrıca polimerler iler birlikte β -siklodekstrin (F8) ve sodyum deoksikolat (F10, F11 ve F12) içeren formülasyonlar yaklaşık 4 saatte % 90 – 100 arasındaki salım seviyelerine ulaşırken, polimerler ile beraber HP- β -siklodekstrin içeren formülasyon (F9) bir saat sonunda % 90 salım seviyelerine varmıştır.

Tablet formülasyonlarının *in vitro* salım verilerini kinetik açıdan incelemek amacıyla sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi, Hixson-Crowel ve Korsmeyer Peppas kinetik modelleri uygulanmıştır. Elde edilen denklemlerin r^2 değerleri üzerinden bir değerlendirme yapılmıştır. Buna göre tablet formülasyonlarının salım değerleri genel olarak en yüksek determinasyon katsayısı değerlerini genel olarak Korsmeyer Peppas kinetik modelinde göstermiştir. Korsmeyer Peppas kinetiğinde bulunan n değerleri 0,458 – 0,770 arasında değişkenlik göstermiştir. Bu durum ilaç salımının Fick olmayan salım kinetiğine uygunluk gösterip zamana bağlı olduğunu ifade etmektedir (Cevher ve ark., 2014).

Yama ve tablet formülasyonlarının *in vitro* salım profilleri, biyoadezif özellikleri ve fizikokimyasal karakterleri göz önünde bulundurularak *ex vivo* çalışmalar için en uygun formülasyonlar seçilmiştir. Yama formülasyonlarının *in vitro* salım sonuçları birbirine oldukça yakın çıkmış olup en yavaş salım gösteren formülasyonlar sırasıyla G10-43 ve A10-33 olmuştur (Şekil 4-42). Ancak salım ortamında A10-33 formülasyonu iki saatten daha uzun süre dağılmadan kalırken, diğer formülasyonlar maksimum 90 dakika içerisinde parçalanarak dağılmıştır. Biyoadezif özelliklerinin karşılaştırılmasında genel olarak sonuçlar birbirine yakın çıkmış olup en yüksek biyoadezif kuvvet gösteren formülasyonlar sırasıyla G10-43, C7-43 ve A10-33; en yüksek biyoadezyon işi gösteren formülasyonlar ise sırasıyla C10-43, G10-43 ve C7-43 olmuştur (Tablo 4-21). Ancak yamaların biyoadezif özellikleri arasındaki farklar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Yapılan şişme çalışmalarında ise C7-43 ve C10-43 formülasyonlarının iki saat içerisinde parçalandıkları tespit edilmiştir. Yapılan çalışmaların genel değerlendirilmesi neticesinde A10-33 ve G10-43 yama formülasyonlarının *ex vivo* çalışmalar için uygun oldukları sonucuna varılmıştır. *Ex vivo* çalışmalarda tablet formülasyonlarının belirlenebilmesi için *in vitro* salım profilleri, biyoadezif özellikleri ve fizikokimyasal karakterleri değerlendirilmiştir. Kitosan azelat polimerleri ile hazırlanan yamaların (TA-7 ve TA-10) *in vitro* salım çalışmalarında 8 saat sonunda yaklaşık % 70'lik ilaç salımı ile en düşük ilaç salımı gerçekleştirdiği

belirlenmiştir. Ayrıca şişme yüzdeleri ve biyoadezif özellikleri diğer tablet formülasyonlarına göre düşük çıkmıştır (Tablo 4-19, Tablo 4-21). TA-7 ve TA-10 formülasyonlarının *ex vivo* uygulamalar için uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. TC-7, TC-10, TG-7 ve TG-10 formülasyonları *ex vivo* uygulamalar için belirlenmiştir.

Bukkal biyoadezif formülasyonlarının *ex vivo* permeabilite çalışmalarında inek, koyun, tavşan, domuz bukkal dokusu gibi çeşitli dokular kullanılmaktadır (Al-Dhubiab ve ark., 2016; Amores ve ark., 2014; Shivanand ve ark., 2010; İkinci ve ark., 2005). *Ex vivo* permeabilite çalışmaları inek bukkal dokusu kullanılarak Franz Difüzyon Hücre Sistemi'nde gerçekleştirilmiştir. Seçilen ideal bukkal yama ve tablet formülasyonları uygulandıktan sonra 8 saat boyunca saat başlarında ve 24. saatte örnekler alınarak birim alandan geçen etken madde miktarı tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular Tablo 4-23, Tablo 4-24, Şekil 4-45 ve Şekil 4-46'da gösterilmiştir. Yama ve tablet formülasyonlarının permeabilite çalışmaları neticesinde yama formülasyonları tablet formülasyonlarına göre daha yüksek geçiş göstermiştir. 24 saat sonunda en yüksek ve en düşük permeabilite gösteren formülasyonlar sırasıyla $273,16 \pm 2,89 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ile A10-33 ve $100,22 \pm 15,05 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ile TG-10 olmuştur. Yama formülasyonlarından A10-33; G10-43 formülasyonuna göre daha yüksek geçiş özelliği göstermiştir. G10-43 formülasyonunun *in vitro* salım çalışmalarında da diğer formülasyonlara göre daha yavaş salım gösterdiği tespit edilmişti (Şekil 4-42). Akı (J_{ss}) değerlerinde en yüksek ve en düşük formülasyonlar sırasıyla A10-33 ve TG-10 olmuştur. İstatiksel olarak A10-33 ve G10-43 yama formülasyonlarının K_8 , K_{24} ve akı (J_{ss}) değerleri arasındaki farklar anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Ancak tablet formülasyonlarından TC-10, TG-7 ve TG-10'un bu değerleri arasındaki farklar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Uygulama esnasında yapılan gözlemlerde yama formülasyonları A10-33 ve G10-43 yüksek oranda su alarak şişmeye başlamıştır. 8 saat sonunda yapılan kontrolde G10-43 formülasyonu parçalanmaya başlarken, A10-33 formülasyonu bütünlüğünü korumuştur. Tablet formülasyonlarından kitosan klorür polimerleri ile hazırlanan TC-7 ve TC-10 çok yüksek şişme gösterdiği için 8. saatin sonunda hafif dağılma gösterirken, 24 saatin sonunda neredeyse tamamen dağılma göstermiştir. Ancak kitosan glutamat polimerleri ile hazırlanan TG-7 ve TG-10 formülasyonları 24 saatin sonunda çok yüksek oranda su alarak şişmesine rağmen bütünlüğünü korumuştur (Şekil 4-44). Bu durum ağız içi uygulamasında yüksek tükürük salgısına rağmen kitosan glutamat tabletlerinin kitosan klorür tabletlerine göre daha uzun süre dağılmadan kalabileceğini göstermektedir.

Ex vivo çalışmalarda formülasyonların % permeabilite değerleri belirlenirken 24 saat sonundaki yüzde geçiş değerleri, bukkal dokuda ve donör kısımda kalan etken madde miktarları üzerinden hesaplanmıştır. Bukkal dokuda kalan etken madde miktarları % 7,97 – 22,59 arasında değişkenlik göstermiştir. 8 saat ve 24 saat sonundaki % permeabilite değerleri sırasıyla % 2,93 – 9,98 ve % 13,40 – 54,70 olarak tespit edilmiştir. 24 saat sonunda en yüksek % permeabilite değeri gösteren formülasyon A10-33 olurken, en düşük % permeabiliteyi ise TG-7 göstermiştir (Tablo 2-24). Yama ve tablet formülasyonlarının 8 ve 24 saat sonundaki % permeabilite değerleri arasındaki farklar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Ancak TC-10, TG-7 ve TG-10 tablet formülasyonlarının % permeabilite değerleri arasındaki farklar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). 2010 yılında yapılan çalışmada domuz bukkal dokusu kullanılarak tizanidin hidroklorür bukkal tabletlerin *ex vivo* permeabilite çalışmaları yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda 6 saat sonunda % permeabilite değerleri % 7,47 – 62,73 arasında çıkmıştır. Akı (J_{ss}) değerleri ise 0,3342 – 0,8127 mg.saat/cm² arasında çıkmıştır. İlaç geçişinin yüksek seviyelerde sağlanabilmesi hücreler arası ve hücre içi geçişi artıran sodyum deoksilaktat tuzunun kullanılması ile açıklanmıştır (Shanker ve ark., 2010). Yapılan başka bir çalışmada koyun bukkal dokusu kullanılarak tizanidin hidroklorür içeren bukkal yama formülasyonlarının *ex vivo* permeabilite çalışmaları Franz Difüzyon Hücre Sistemi'nde gerçekleştirilmiştir. Kitosan ve Eudragit içeren bukkal yamaların permeabiliteleri 8. saat sonunda % 80,1 – 83,1 olarak belirlenmiştir (Pendekal ve Tegginamat, 2012). 2017 yılında yapılan bir çalışmada tiyole arabinoksilan polimeri kullanılarak tizanidin hidroklorürün bukkal film formülasyonları geliştirilmiştir. Keçi bukkal mukozası kullanılarak Franz Difüzyon Hücre Sistemi'nde filmlerin permeasyon çalışmaları yapılmıştır. 8 saat sonraki bukkal permeabilite değerleri % 78,90 – 92,22 arasında bulunmuştur. Çalışmada özellikle plastizer olarak kullanılan gliserinin bukkal mukozadan geçişi arttırdığı belirtilmiştir. İdeal bir kontrollü salım için hem gliserin hem de polimerin konsantrasyonları 3D grafik yöntemi ile incelenmiş ve 1:6,66 plastizer polimer oranının uygun olduğu tespit edilmiştir (Hanif ve Zaman, 2017). Bukkal yama ve tablet formülasyonlarının literatürdeki çalışmalara kıyasla 8 ve 24 saat sonundaki % permeabilite değerlerinin düşük olması birkaç sebeple açıklanabilmektedir. Özellikle inek bukkal dokusunun keratinize ve kalın bir yapıda olması (Esim ve ark., 2017), *ex vivo* ortamda sürekli bir mukus akışının olmaması, dokunun *in vivo* ortamı yeterince taklit edememesi sayılabilmektedir.

Ex vivo çalışmaları yapılan bukkal yama formülasyonlarından A10-33 ve G10-43'ün karşılaştırılmasında; biyoadezif özellikleri arasında (Tablo 4-21) istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). A10-33 formülasyonunun şişme yüzdesi, *in vitro* salım ve *ex vivo* çalışmalarda bukkal pH'ya daha dayanıklı olup daha uzun süre parçalanmadan kalabilmiştir. Ayrıca *ex vivo* geçiş çalışmalarında daha yüksek permeabilite değerleri göstermiştir (Tablo 4-23, Tablo 4-24). Tüm bu değerlendirmelerin sonunda A10-33 formülasyonu ideal yama olarak *in vivo* çalışmalar için belirlenmiştir.

Tablet formülasyonlarının değerlendirilmesinde; en yüksek biyoadezif özellik gösteren formülasyon TG-10 olurken, TG-7 ve TC-10 formülasyonları birbirine yakın değerler göstermiştir (Tablo 4-21). Yapılan *in vitro* salım çalışmalarında TC-7 ve TC-10 formülasyonu 4. ve 6. saatler arasında dağılmaya başlarken, TG-7 ve TG-10 formülasyonları 6. ve 8. saatler arasında dağılmaya başlamıştır. TC-7 ve TC-10 formülasyonları daha fazla su alarak çabuk şişmekte ve daha çabuk dağılmaktadır. *Ex vivo* çalışmalarda TC-10, TG-7 ve TG-10 formülasyonlarının % permeabilite değerleri (% 13,40 – 14,40) birbirine yakın çıkarken, TC-7 bu formülasyonlara göre yaklaşık iki kat % permeabilite değeri (% 26,36) göstermiştir (Tablo 4-24). Tüm bu verilerin neticesinde en yüksek biyoadezif özellik gösterip şişme yüzdesi, *in vitro* salım ve *ex vivo* permeabilite çalışmalarında bukkal pH'ya en dayanıklı formülasyon olarak TG-10; TC-10 formülasyonu da yüksek biyoadezif özellik gösterip *in vitro* ortamda daha hızlı salım göstermesi sebebiyle *in vivo* çalışmalar için belirlenmiştir.

A10-33 yama, TC-10 ve TG-10 tablet formülasyonlarının stabilite çalışmaları 4 ± 1 °C'de buzdolabında, 25 ± 2 °C oda sıcaklığı ve 40 ± 2 °C sıcaklık koşullarında 3 ay boyunca gerçekleştirilmiştir. İlk anda, 1. ay ve 3. ay sonunda formülasyonların fiziksel görünümü, pH değeri ve etken madde içerikleri belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda yama formülasyonlarının görünüşlerinde hava ile temas etmelerinden dolayı hafif bir sararmanın meydana geldiği tespit edilmiştir. Tablet formülasyonlarının fiziksel görünümünde herhangi bir değişiklik olmamıştır. pH değeri çalışmalarında üç dönemli ölçümde anlamlı bir değişiklik olmamıştır. Etken madde içeriği çalışmalarında ise üç ölçümde bazı formülasyonlarda yaklaşık % 2 – 3 değerinde değişiklikler görülmüştür. Ancak bu durum yama formülasyonlarında ilk üretim anında etüvde kurutma yüzeyinin hafif eğimli olması vb. durumlardan kaynaklanacağı düşünülmüştür.

Çünkü örneğin A10-33 formülasyonun 4 ± 1 °C’de muhafaza edilen örneklerinde sırasıyla ölçümler % 97,55; % 100,24; % 97,27 olarak belirlenmiştir. İlk ölçüm ile 3. ayın sonuçları birbirine yakinken 1. aydaki ölçümün bu şekilde çıkması bu durumu desteklemektedir. TC-10 tablet formülasyonlarında ise % 1 – 2 değerinde meydana gelen değişiklikler tabletlerin içerik tekdüzeliği çalışmalarında da belirtildiği gibi kitosan polimerlerinin uçuşan yapısının homojeniteyi etkilemesi ile açıklanabilmektedir. Bu durum sonucunda etken madde içeriği çalışmalarında bazı farklılıkların olmasına sebebiyet vermiştir. Tabletlerin 3 aylık stabiliteleri ile ilgili yapılan istatistiksel analizlerde pH ve etken madde içeriği değerlerinde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0,1$).

İn vivo çalışmalarda alınan kan örneklerindeki etken maddenin miktar tayini için gerçekleştirilen HPLC metodunun oluşturulması ve validasyonu çalışmalardan elde edilen 13 noktalı kalibrasyon grafiğinde noktaların oluşturduğu eğilim çizgisinin denklemi $y = 753,42 \cdot x - 452,72$ olarak belirlenmiştir. Determinasyon katsayısı (r^2) değeri 0,9992 olarak bulunmuştur. Varyasyon katsayısının % 2’den az olduğu tespit edilerek verilerin kılavuzlarda istenen değerlere uygun olduğu gösterilmiştir (ICH, 2005). Özgünlük, seçicilik çalışmalarında etken maddenin pik verdiği 6,4 – 6,9 dakikaları arasında kan plazmasından kaynaklanan herhangi bir pik görülmemiştir. *İn vivo* çalışmalardaki analizler için oluşturulan HPLC metodunun uygunluğu, validasyon çalışmaları ile gösterilerek yöntemin miktar tayininde kullanılabileceği ispatlanmıştır.

Yapılan tüm analizler neticesinde *in vivo* çalışmalar için 10 cP kitosan türevi üç farklı polimer ile hazırlanan üç formülasyon kullanılmıştır. Kitosan azelat ile hazırlanan A10-33 yama, kitosan klorür ile hazırlanan TC-10 tablet ve kitosan glutamat ile hazırlanan TG-10 tablet kullanılmıştır. *İn vivo* çalışmalar Yeni Zelanda tavşanları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Literatürde tavşanlardan kan alma çalışmalarında genellikle kulak veninden örnek alınmıştır. Ancak anestezi altındaki tavşanın kulak veninden metabolizmanın yavaşlaması sebebiyle belirli bir süre sonra kan alınamamıştır. Bu sebeple literatürde referans çalışmalar da değerlendirilerek intraket kullanımıyla tavşanların kulak arterinden kan örnekleri belirlenen aralıklarla alınmıştır (Yıldız Peköz ve ark., 2015). Bukkal tablet ve yama formülasyonlarının anestezi sonrası tavşanların bukkal mukozasına hafifçe bastırılarak yapışması sağlanmıştır. İlacın piyasa preparatı ise toz edildikten sonra gastrik gavaj ile uygulanmıştır. Yapılan çalışmalarda A10-33 yama formülasyonu yaklaşık 3. – 4. saat aralığında parçalandığı

için bu saatten sonra anesteziye devam edilmemiştir. Bukkal tablet formülasyonları ise 6. – 8. saat arasında bukkal bölgede dağılmaya başladığı için tavşanlar yaklaşık 8. saatte uyanacak şekilde anestezi uygulamasına devam edilmiştir. Tavşanların gözlemsel yolla takibinde anestezi uygulamasından yaklaşık bir saat sonra uyanmaya başladıkları tespit edildiği için devam dozları buna uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

In vivo çalışmalar esnasında alınan kan örnekleri HPLC’de analiz edilerek kan konsantrasyonu-zaman grafikleri belirlenmiştir (Tablo 4-32). En yüksek kan konsantrasyonu değerini $158,87 \pm 15,43$ ng/mL ile TC-10 formülasyonu gösterirken, müstahzar ilacın maksimum konsantrasyon değeri $36,36 \pm 1,54$ ng/mL olmuştur. A10-33 yama formülasyonu 4. saatte maksimum kan konsantrasyonu seviyesine ulaşırken ($145,84 \pm 27,97$ ng/mL), müstahzar ilaç 5. saatte ulaşmıştır. TC-10 ve TG-10 tablet formülasyonları ise 8. saatte maksimum kan konsantrasyonu seviyelerine ulaşmıştır (Şekil 4-53). Yama formülasyonu ince yapısı sebebiyle etken madde salımını daha hızlı bir şekilde yapmaya başlamıştır. Ancak 3. – 4. saatler arasında parçalanması sebebiyle bu saatlerden sonra bukkal geçişin daha düşük olduğu görülmüştür. TC-10 ve TG-10 tablet formülasyonları ise yaklaşık 8 saat boyunca bukkal dokuda dayanıklı olmaları sebebiyle bu süre zarfında kan konsantrasyonu değerleri sürekli artış göstermiştir. TC-10 tablet formülasyonu TG-10’a göre daha fazla su alıp şişerek etken maddenin bukkal dokuya daha hızlı ve daha fazla geçişini sağlamıştır. Ancak TG-10’un tavşan bukkal dokusuna yüksek biyoadezif özelliğinden dolayı daha kolay ve iyi yapıştığı tespit edilmiştir. 24. saat örneklerinin analizlerinde kanda hala etken madde olduğu belirlenmiştir. 24 saat sonundaki plazma konsantrasyon değerleri 8,58 – 16,19 ng/mL arasında değişkenlik göstermiştir (Tablo 4-32, Şekil 4-54). Uygulanan müstahzar ve bukkal yama – tablet formülasyonlarına ait 8 saatlik AUC değerleri neticesinde bukkal biyoadezif formülasyonlar oral olarak uygulanan piyasa prepratının üç katından daha fazla biyoyararlanım göstermiştir (Şekil 4-55). Geliştirilen yama ve tablet formülasyonlarının müstahzara göre 8 saatlik AUC değerleri istatistiksel açıdan çok yüksek derecede anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$).

El-Mahrouk ve arkadaşlarının (2014) yaptığı çalışmada kitosan laktat polimeri kullanılarak tizanidin hidroklorürün bukkal gofret formülasyonları geliştirilmiştir. Hazırlanan formülasyonların *in vivo* çalışmaları sağlıklı gönüllü insanlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Formülasyonlar piyasa preparatı Sirdalud®’a göre kıyaslanmıştır.

Kontrol grubuna oral kullanım için piyasa preparatı tabletler verilmiştir. 4,58 mg tizanidin hidroklorür içeren bukkal yamalar uygulandıktan sonra 8 saat boyunca gönüllülerin herhangi bir şey yiyip içmelerine müsaade edilmemiştir. 8 saate kadar belirli aralıklarla ve 12. saat son kan örneği alınmıştır. Uygulama sonucunda elde edilen verilere göre bukkal gofret ve piyasa preparatının maksimum kan konsantrasyonları sırasıyla $0,887 \pm 0,240$ ve $0,670 \pm 0,219$ ng/mL olmuştur. Bukkal gofretin t_{max} , AUC_{0-12} değerleri 6 saat ve $5,273 \pm 1,633$ ng.saat/mL olurken; piyasa preparatı için bu değerler 2 saat ve $2,828 \pm 0,747$ ng.saat/mL olarak belirlenmiştir. Farmakokinetik çalışmalar sonucunda gofretin piyasa preparatına göre daha iyi sonuçlar verdiği belirtilmiştir.

Kitosan azelat, kitosan klorür ve kitosan glutamat polimerleri kullanılarak tizanidin hidroklorürün bukkal tablet ve yama formülasyonlarının geliştirildiği bu çalışma kapsamında hazırlanan yama ve tablet formülasyonlarının fizikokimyasal özellikleri, biyoadeziv özellikleri, *in vitro* salım çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar kapsamında Franz Difüzyon Hücre Sistemi'nde *ex vivo* çalışmalar ve ardından *in vivo* çalışmalar tamamlanmıştır. *In vivo* çalışmalarda kullanılan A10-33 yama formülasyonu, TC-10 ve TG-10 tablet formülasyonları oral olarak kullanılan tablete göre yaklaşık üç kat daha fazla AUC_{0-8} değeri göstermiştir. A10-33 yama formülasyonu maksimum konsantrasyona 4 saatte ulaşırken, TC-10 ve TG-10 tablet formülasyonları 8. saat sonunda maksimum seviyelerine ulaşmıştır. Özellikle tablet formülasyonları yama formülasyonuna göre daha dayanıklı yapıda olduğu için daha uzun süreli kalış ve etkinlik gösterebilmektedir. Ayrıca tabletlerin çift katlı yapıda olması bukkal bölgeden sindirim kanalına ilaç kaybını en aza indirmektedir.

Sonuç olarak kitosan türevi polimerler ile hazırlanan bu üç formülasyon piyasa preparatına göre üstünlük göstermesi sebebiyle klinik çalışmalar için umut vaat etmektedir. Düşük biyoyararlanım gösteren tizanidin hidroklorürün uygulama dozu azaltılabilecek ve/veya özellikle tablet formülasyonları günlük uygulama sayısını düşürerek hastanın yaşam kalitesinin artmasını sağlayabilecektir. Ayrıca hazırlanan polimerlerin birçok farklı etken madde için ilaç taşıyıcı sistem olarak uygun özellikler gösterdiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

Abd El Azim, H., Nafee, N., Ramadan, A. and Khalafallah, N. (2015). Liposomal buccal mucoadhesive film for improved delivery and permeation of water-soluble vitamins. *International Journal of Pharmaceutics*, **488**, 78-85.

Abdel Azim, A.M., El-Ashmoony, M., Swealem, A.M. and Shoukry, R.A. (2014). Transdermal films containing tizanidine: *In vitro* and *in vivo* evaluation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **24(1)**, 92-99.

Abdulhady, S.S. and Ibrahim, K.M.H. (2017). Preparation and evaluation of mebeverine hydrochloride as mucoadhesive buccal tablet for local anesthesia. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **16(8)**, 1805-1812.

Abruzzo, A., Bigucci, F., Cerchiara, T., Cruciani, F., Vitali, B. and Luppi, B. (2012). Mucoadhesive chitosan/gelatin films for buccal delivery of propanol hydrochloride. *Carbohydrate Polymers*, **87**, 581-588.

Adhikari, S.N.R., Nayak, B.S., Nayak, A.M. and Mohanty, B. (2010). Formulation and evaluation of buccal patches for delivery of atenolol. *Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, **2(3)**, 1038-1044.

Ahmed, S., El-Setouhy, A., Badawi, A.A.E. and El-Nabarawi, M.A. (2014). Provesicular granisetron hydrochloride buccal formulations: *In vitro* evaluation and preliminary investigation of *in vivo* performance. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **60**, 10-23.

Ali, T., Shoaib, M.H., Yousuf, R.I., Siddiqui, F., Ali, H., Ahmed, F.R., et. al. (2014). Development and validation of a reverse phase high performance liquid chromatography (HPLC) method for determination of tizanidine in human plasma. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **8(7)**, 199-205.

Amasya, G., Karavana, S.Y., Şen, T., Baloglu, E. and Tarımcı, N. (2012). Bioadhesive and mechanical properties of triamcinolone acetonide buccal gels. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, **9(1)**, 1-12.

Amores, S., Domenech, J., Colom, H., Calpena, A.C., Clares, B., Gimeno, A. et al. (2014). An improved cryopreservation method for porcine buccal mucosa in *ex vivo* drug permeation studies using Franz diffusion cells. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **60**, 49-54.

Andrews, G.P., Lavery, T.P. and Jones, D.S. (2009). Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **71**, 505-518.

Angelo, T., Pires, F.Q., Gelfuso, G.M., Silva, J.K.R., Gratieri, T. and Cunha-Filho, M.S.S. (2016). Development and validation of a selective HPLC-UV method for thymol determination in skin permeation experiments. *Journal of Chromatography B*, **1022**, 81-86.

Asane, G.S., Nirmal, S.A., Rasal, K.B., Naik, A.A., Mahadik, M.S. and Rao, Y.M. (2008). Polymers for mucoadhesive drug delivery system: A current status. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **34**, 1246-1266.

Aswathy, S.N., Vidhya, K.M., Saranya, T.R., Sreelakshmy, K.R. and Sreeja, C.N. (2014). Mucoadhesive buccal patch of cefixime trihydrate using biodegradable natural polymer. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **6(6)**, 366-371.

Avachat, A.M., Gujar, K.N. and Wagh, K.V. (2013). Development and evaluation of tamarind seed xyloglucan-based mucoadhesive buccal films of rizatriptan benzoate. *Carbohydrate Polymers*, **91**, 537-542.

Ayensu, I., Mitchell, J.C. and Boateng, J.S. (2012). Development and physico-mechanical characterisation of lyophilised chitosan wafers as potential protein drug delivery systems via the buccal mucosa. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **91**, 258-265.

Barua, S., Kim, H., Jo, K., Seo, C.W., Park, T.J., Lee, K.B. et. al. (2016). Drug delivery techniques for buccal route: Formulation strategies and recent advances in dosage form design. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, **46**, 593-613.

Barzoki, Z.M., Emam-Djomeh, Z., Mortazavian, E. Moosavi-Movahedi, A.A. and Tehrani, M.R. (2016). Formulation, *in vitro* evaluation and kinetic analysis of chitosan-gelatin bilayer muco-adhesive buccal patches of insulin nanoparticles. *Journal of Microencapsulation*, **33**(7), 613-624.

Biswal, B., Karna, N. and Bhavsar, B. (2014). Formulation and evaluation of repaglinide buccal tablet: *Ex vivo* bioadhesion study and *ex vivo* permeability study. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **4**(05), 96-103.

Borges, A.F., Silva, C., Coelho, J.F.J. and Simões, S. (2015). Oral films: Current status and future perspectives I – Galenical development and quality attributes. *Journal of Controlled Release*, **206**, 1-19.

Bozkır, A., Karataş, A., Haşçıçek, C., Canefe, K., Kılıçarslan, M., Tarımcı, N. et. al. (2007). *Farmasötik Teknoloji Deneyisel Uygulamaları Kitabı*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları.

Caramella, C., Ferrari, F., Bonferoni, M.C., Rossi, S. and Sandri, G. (2010). Chitosan and its derivatives as drug penetration enhancers. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **20**(1), 5-13.

Carvalho, F.C., Bruschi, M.C., Evangelista, R.C. and Gremião, M.P.D. (2010). Mucoadhesive drug delivery systems. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **46**(1), 1-17.

Cavallari, C., Brigidi, P. and Fini, A. (2015). *Ex-vivo* and *in-vitro* assessment of mucoadhesive patches containing the gel-forming polysaccharide psyllium for buccal delivery of chlorhexidine base. *International Journal of Pharmaceutics*, **496**, 593-600.

Cerchiara, T., Luppi, B., Bigucci, F. and Zecchi, V. (2003). Chitosan salts as nasal sustained delivery systems for peptidic drugs. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **55**, 1623-1627.

Cevher, E., Açma, A., Sinani, G., Aksu, B., Zloh, M. and Mülazımoğlu, L. (2014). Bioadhesive tablets containing cyclodextrin complex of itraconazole for the treatment of vaginal candidiasis. *International Journal of Biological Macromolecules*, **69**, 124-136.

Chaumat, G., Müller, K. and Reiche, I. (2011). Preliminary experiments on model artificially altered samples to consolidate degraded and wet archaeological bone with azelaic acid. *ArcheoSciences Revue d'archéométrie*, **35**, 213-222.

Chinna, R.P., Chaitanya, K.S.C. and Madhusudan, R.Y. (2011). A review on bioadhesive buccal drug delivery systems: Current status of formulation and evaluation methods. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, **19(6)**, 385-403.

Chinnala, K.M., Panigrahy, R.N., Bantu, R. and Sravanthi, B. (2015). Formulation and evaluation of mouth dissolving films containing tizanidine hydrochloride. *International Journal of Pharma Research and Health Sciences*, **3(2)**, 621-629.

Choi, J., Choi, M.K., Chong, S. Chung, S.J., Shim, C.K. and Kim, D.D. (2012). Effect of fatty acids on the transdermal delivery of donepezil: *In vitro* and *in vivo* evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, **422**, 83-90.

Cid, Y.P., Pedrazzi, V., Sousa, V.P. and Pierre, M.B.R. (2012). *In vitro* characterization of chitosan gels for buccal delivery of celecoxib: Influence of a penetration enhancer. *Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, **13(1)**, 101-111.

Cook, M.T. and Khutoryanskiy, V.V. (2015). Mucoadhesion and mucosa-mimetic materials – A mini-review. *International Journal of Pharmaceutics*, **495**, 991-998.

Costa, I.S.M., Abranches, R.P., Garcia, M.T.J. and Pierre, M.B.R. (2014). Chitosan-based mucoadhesive films containing 5-aminolevulinic acid for buccal cancer's treatment. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **140**, 266-275.

Çapan, Y. (2002). Mukozaya yapışan sistemler. İçinde Gürsoy, A.Z. (Ed.), *Kontrollü Salım Sistemleri*. İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği; 177-196.

Çelik, B. (2017). Risperidone mucoadhesive buccal tablets: formulation design, optimization and evaluation. *Drug Design, Development and Therapy*, **11**, 3355-3365.

Darekar, S.S., Khadabadi, S.S. and Shahi, S.R. (2014). Formulation and evaluation of bilayer buccal tablet of sumatriptan succinate. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **6(6)**, 469-475.

Donnelly, R.F. and Woolfson, A.D. (2015). Bioadhesive systems for drug delivery. İçinde Bianco-Peled, H. and Davidovich-Pinhas, M. (Ed.). *Bioadhesion and Biomimetics From Nature to Applications*. New York: Pan Stanford Publishing; 235-268.

Duggan, S., Cummins, W., O'Donovan, O., Hughes, H. and Owens, E. (2017). Thiolated polymers as mucoadhesive drug delivery systems. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **100**, 64-78.

El-Mahrouk, G.M., El-Gazayerly, O.N., Aboelwafa, A.A. and Taha, M.S. (2014). Chitosan lactate wafer as a platform for the buccal delivery of tizanidine HCl: *In vitro* and *in vivo* performance. *International Journal of Pharmaceutics*, **467**, 100-112.

El-Nabawari, M.A., Ali, A.A., Aboud, H.M., Hassan, A.H. and Godah, A.H. (2016). Transbuccal delivery of betahistine hydrochloride from mucoadhesive tablets with a unidirectional drug flow: *in vitro*, *ex vivo* and *in vivo* evaluation. *Drug Design, Development and Therapy*, **10**, 4031-4045.

El-Nahas, A.E., Allam, A.N. and El-Kamel, A.H. (2017). Mucoadhesive buccal tablets containing silymarin Eudragit-loaded nanoparticles: formulation, characterisation and *ex vivo* permeation. *Journal of Microencapsulation*, **34(5)**, 463-474.

El Sayeh, A., Abou el Ela, F., Ibrahim, E.H., and Allam, A.A. (2013). Bucco-adhesive tablets containing metoprolol tartarate: formulation, *in vitro* and *in vivo* characterization. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **23(2)**, 171-179.

Erdik, E. (ed.). (2011). *Denel Organik Kimya* (6. baskı). Ankara: Gazi Ankara Kitabevi.

Esim, O., Savaser, A., Ozkan, C.K., Bayrak, Z. and Ozkan, Y. (2017). Effect of polymer type on characteristics of buccal tablets using factorial design. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 1-11.

<https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.10.013>

Farn, S.S., Yeh, Y.H., Li, C.C., Yang, C.S., Chen, J.T., Yu, C.S. et. al. (2017). Development and validation of a reversed-phase HPLC method for analysis of radiochemical purity in [^{123}I] IBZM. *Applied Radiation and Isotopes*, **127**, 61-67.

Fatima, S., Panda, N., Reddy, A.V. and Fatima, S. (2015). Buccal mucoadhesive tablets of sumatriptan succinate for treatment of sustainable migraine: Design, formulation and *in vitro* evaluation. *International Journal of Pharmaceutical Sciences & Allied Sciences*, **4(3)**, 114-126.

Furtado, S., Bharath, S., Basavaraj, B.V., Abraham, S., Deveswaran, R. and Madhavan, S. (2010). Development chitosan based bioadhesive bilayered patches of metoprolol tartrate. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, **4(3)**, 198-202.

Garnock-Jones, K.P. (2016). Fentanyl buccal soluble film: A film review breakthrough cancer pain. *Clinical Drug Investigation*, **36**, 413-419.

Ghareeb, M.M. and Mohammad, H.A. (2013). Study the effects of secondary polymers on the properties of buccoadhesive polyvinyl alcohol patches of 5-fluorouracil. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **5(4)**, 484-488.

Ghosh, A. and Ali, M.A. (2012). Studies on physicochemical characteristics of chitosan derivatives with dicarboxylic acids. *Journal of Material Science*, **47**, 1196-1204.

Giovino, C., Ayensu, I., Tetteh, J. and Boateng, J.S. (2013). An integrated buccal delivery system combining chitosan films impregnated with peptide loaded PEG-*b*-PLA nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **112**, 9-15.

Gorle, A., Patil, P., Bhaskar, R. and Ola, M. (2015). Development and evaluation of buccal film containing antihypertensive agent. *The Pharma Innovation Journal*, **4(1)**, 53-60.

Govindasamy, P., Kesavan, B.R. and Narasimha, J.K. (2013). Formulation of unidirectional release buccal patches of carbamazepine and study of permeation through porcine buccal mucosa. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **3(12)**, 995-1002.

Gupta, A., Gaud, R.S. and Ganga, S. *Buccal adhesive dosage forms: Research to market*. Erişim 20.08.2017, School of Pharmacy and Technology Management, SVKM's Narsee Monjee Institute of Management Studies:
http://www.iitbhu.ac.in/phe/images/the_pharmstudent_vol_xxv/1.Gupta_et_al.pdf

Hanif, M. and Zaman, M. (2017). Thiolation of arabinoxylan and its application in the fabrication of controlled release mucoadhesive oral films. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, **25(6)**, 1-13.

Harikrishnan, V., Madhusudhan, S. and Santhiagu, A. (2016). Design and evaluation of controlled release buccal tablet of tizanidine hydrochloride using natural polymer guar gum. *Der Pharmacia Lettre*, **8(1)**, 73-79.

Hearnden, V., Sankar, V., Hull, K., Juras, D.V., Greenberg, M., Kerr, A.R. et. al. (2012). New developments and opportunities in oral mucosal drug delivery for local and systemic disease. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **64**, 16-28.

Hindmarsh, P.C. and Geertsma, K. (2017). *Congenital Adrenal Hyperplasia A Comprehensive Guide*. London: Academic Press.

Hoogstraate, J., Benes, L., Burgaud, S., Horriere, F. and Seyler, I. (2005). Oral trans-mucosal drug delivery. (2nd ed.). İçinde Hillery, A.M., Lloyd, A.W., Swarbrick, J.S. (Ed.), *Drug Delivery and Targeting*. London and New York: Taylor & Francis; 168-188.

<http://adisinsight.springer.com/drugs/800010312>

Erişim 20.08.2017 (Oralin)

<http://adisinsight.springer.com/drugs/800029327>

Erişim 19.08.2017 (Tibozole)

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/96/020511ap.pdf

Erişim 19.08.2017 (Aphthasol)

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2006/020397s021,021447s002lbl.pdf

Erişim 20.08.2017 (Tizanidin hidroklorür)

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/207932s002lbl.pdf

Erişim 19.08.2017 (Belbuca)

<https://www.drugs.com/uk/loramyc-50mg-muco-adhesive-buccal-tablets-leaflet.html>

Erişim 19.08.2017 (Loramyc)

<https://www.drugbank.ca/drugs/DB00697>

Erişim 14.09.2017 (Tizanidin hidroklorür)

<https://www.drugs.com/uk/aphtheal-5-orumucosal-paste-leaflet.html>

Erişim 19.08.2017 (Aphtheal)

<https://www.drugs.com/uk/maxalt-melt-10mg-oral-wafers-leaflet.html>

Erişim 19.08.2017 (Maxalt)

<https://www.fda.gov/downloads/drugs/drugsafety/ucm285397.pdf>

Erişim 19.08.2017 (Onsolis)

http://www.hpra.ie/img/uploaded/swedocuments/2118523.PA1332_027_006.763284a1-996a-4357-ba25-61e7c372912b.000001Product%20leaflet%20approved.130614.pdf

Erişim 19.08.2017 (Breakyl)

<http://www.mhra.gov.uk/home/groups/par/documents/websiteresources/con014794.pdf>

Erişim 20.08.2017

http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m83740.html

ICH (2005, Kasım). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). Geneva: International Conference on Harmonisation. Erişim 11.08.2017,

https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf

Ikeuchi-Takahashi, Y., Ishihara, C. and Onishi, H. (2017). Evaluation of polyvinyl alcohols as mucoadhesive polymers for mucoadhesive buccal tablets prepared by direct compression. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **43(9)**, 1489-1500.

İkinci, G., Şenel, S., Tokgözoğlu, L., Wilson, C.G. and Şumnu, M. (2005). Development and *in vitro/in vivo* evaluations of bioadhesive buccal tablets for nicotine replacement therapy. *Pharmazie*, **61**, 203-207.

İkinci, G., Şenel, S., Wilson, C.G. and Şumnu, M. (2004). Development of a buccal bioadhesive nicotine tablet formulation for smoking cessation. *International Journal of Pharmaceutics*, **277**, 173-178.

Jafar, M. and Ali, S. (2011). Development and evaluation of meloxicam solid dispersion loaded buccal patches. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **1**(3), 77-82.

Jaipal, A., Pandey, M.M., Abhishek, A., Vinay, S. and Charde, S.Y. (2013). Interaction of calcium sulfate with xanthan gum: Effect on *in vitro* bioadhesion and drug release behavior from xanthan gum based buccal discs of buspirone. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **111**, 644-650.

Jaipal, A., Pandey, M.M., Charde, S.Y., Raut, P.P., Prasanth, K.V. and Prasad, R.G. (2015). Effect of HPMC and mannitol on drug release and bioadhesion behavior of buccal discs of buspirone hydrochloride: *In-vitro* and *in-vivo* pharmacokinetic studies. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **23**, 315-326.

Jiang, W.Z., Cai, Y. and Li, H.Y. (2017). Chitosan-based spray-dried mucoadhesive microspheres for sustained oromucosal drug delivery. *Powder Technology*, **312**, 124-132.

Karki, S., Kim, H., Na, S.J., Shin, D., Jo, K. and Lee, J. (2016). Thin films as an emerging platform for drug delivery. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2**, 559-574.

Kassem, M.A.A., ElMeshad, A.N. and Fares, A.R. (2014). Enhanced bioavailability of buspirone hydrochloride via cup and core buccal tablets: Formulation and *in vitro/in vivo* evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, **463**, 68-80.

Kaundal, A., Kumar, P. and Chaudhary, A. (2015). A review on mucoadhesive buccal tablets prepared using natural and synthetic polymers. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **4(07)**, 475-500.

Kaur, G., Singh, D. and Brar, V. (2014). Bioadhesive okra polymer based buccal patches as platform for controlled drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*, **70**, 408-419.

Kayaalp, S.O. (2000). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. (9th ed.). Ankara: Hacettepe-Taş.

Kepsutlu, A.R., Tas, C., Savaser, A., Ozkan, Y. and Baykara, T. (2016). Delivery of piroxicam with a mucoadhesive buccal tablet: *In vitro*, *ex vivo* and *in vivo* evaluation. *Research and Reviews: Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **5(1)**, 33-44.

Kianfar, F., Antonijevic, M., Chowdhry, B. and Boateng, J.S. (2013). Lyophilized wafers comprising carrageenan and pluronic acid for buccal drug delivery using model soluble and insoluble drugs. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **103**, 99-106.

Kleeman, A. and Engel, J. (2001). *Pharmaceutical Substances: Syntheses, Patents, Applications*. (4th ed.). Frankfurt: Thieme.

Kruidering-Hall, M. and Campbell, L. (2014). İskelet kası gevşeticileri. Çev. Gündüz, Ö. İçinde Katzung, B.G., Masters, S.B. and Trevor, A.J. (Ed.) *Temel ve Klinik Farmakoloji Kitabı*. (12th ed.) Çev. Ed. Akkan, G. ve ark., İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 465-482.

Kumar, A., Vimal, A. and Kumar, A. (2016). Why chitosan? From properties to perspective of mucosal drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*, **91**, 615-622.

Kumar, V., Zakir, F., Agarwal, G. and Choudhary, A. (2011). Formulation and evaluation of buccal patches of venlafaxine. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, **1**(3), 170-182.

Kumar, K., Dhawan, N., Sharma, H., Vaidya, S. and Vaidya B. (2014). Bioadhesive polymers: Novel tool for drug delivery. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, **42**, 274-283.

Kumria, R., Nair, A.B., Goomber, G. and Gupta, S. (2016). Buccal films of prednisolone with enhanced bioavailability. *Drug Delivery*, **23**(2), 471-478.

Laffleur, F. (2014). Mucoadhesive polymers for buccal drug delivery. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **40**(5), 591-598.

Lam, J.K.W., Xu, Y., Worsley, A. and Wong I.C.K. (2014). Oral transmucosal drug delivery for pediatric use. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **73**, 50-62.

Mackie, A.R., Goycoolea, F.M., Menchicchi, B., Caramella, C.M., Saporito, F., Lee, S. et. al. (2017). Innovative methods and applications in mucoadhesion research. *Macromolecular Bioscience*, 1-32. DOI: 10.1002/mabi.201600534

Madhav, N.V.S., Shakya, A.K., Shakya, P. and Singh, K. (2009). Orotransmucosal drug delivery systems: A review. *Journal of Controlled Release*, **140**, 2-11.

Mansuri, S., Kesharwani, P., Jain, K., Tekade, R.K. and Jain, N.K. (2016). Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system. *Reactive and Functional Polymers*, **100**, 151-172.

Manosroi, J., Apriyani, M.G., Foe, K. and Manosroi, A. (2005). Enhancement of the release of azelaic acid through the synthetic membranes by inclusion complex formation with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics*, **293**, 235-240.

Maurya, S.K., Bali, V. and Pathak, K. (2012). Bilayered transmucosal drug delivery system of pravastatin sodium: Statistical optimization, *in vitro*, *ex vivo*, *in vivo* and stability assessment. *Drug Delivery*, **19(1)**, 45-57.

Misra, S.K. (2012). Formulation and characterization of buccal bilayer tablet of glipizide. *Journal of Pharmacy Research*, **5(3)**, 1342-1345.

Montero-Padilla, S., Velega, S. and Morales, J.O. (2017). Buccal dosage forms: General considerations for pediatric patients. *Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, **18(2)**, 273-282.

Morales, J.O. and McConville, J.T. (2011). Manufacture and characterization of mucoadhesive buccal films. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **77**, 187-199.

Morales, J.O. and McConville, J.T. (2014). Novel strategies for the buccal delivery of macromolecules. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **40(5)**, 579-590.

Mura, P., Cirri, M., Mennini, N., Casella, G. and Maestrelli, F. (2016). Polymeric mucoadhesive tablets for topical or systemic buccal delivery of clonazepam: Effect cyclodextrin complexation. *Carbohydrate Polymers*. **152**, 755-763.

Murray, B., McGuinness, N., Biagioni, P., Hyland, P. and Lamey, P.J. (2005). A comparative study of the efficacy of AphthealTM in the management of recurrent minor aphthous ulceration. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, **34**, 413-419.

Nair, A.B., Kumria, R., Harsha, S., Attimarad, M., Al-Dhubiab, B.E. and Alhaider, I.A. (2013). *In vitro* techniques to evaluate buccal films. *Journal of Controlled Release*, **166**, 10-21.

Nalluri, B.N., Sushmitha, K., Sunandana, B. and Prasad Babu D. (2012). Development and validation of RP-HPLC-PDA method for simultaneous estimation of baclofen and tizanidine in bulk and dosage forms. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **2(7)**, 111-116.

Narendra, C., Srinath, M.S. and Rao, B.P. (2005). Development of three layered buccal compact containing metoprolol tartrate by statistical optimization technique. *International Journal of Pharmaceutics*, **304**, 102-114.

Narkhede, H., Kondawar, M., Nazarkar, S., Oswal, A., Gaikwad, S. and Sonone, S. (2010). Formulation of buccal bioadhesive tablet diltiazem hydrochloride and its evaluation. *International Journal of Pharmtech Research*, **2(4)**, 2407-2414.

Okeke, O.C. and Boateng, J.S. (2017). Nicotine stabilization in composite sodium alginate based wafers and films nicotine replacement therapy. *Carbohydrate Polymers*, **155**, 78-88.

Onishi, H., Sakata, O. and Yumoto, K. (2015). *In vitro* and *in vivo* evaluations of buccal tablet formulation of ritodrin hydrochloride. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **38**, 919-925.

Paderni, C., Compilato, D., Giannola, L.I. and Campisi, G. (2012). Oral local drug delivery and new perspectives in oral drug formulation. *Oral Medicine*, **114(3)**, e25-e34.

Paladugu, S., Divakar, B., Rama, H.B., Ramu, A. and Mahesh, U. (2013). Development and validation of new analytical method for the estimation of tizanidine hydrochloride in bulk and in formulation by UV spectrophotometric method. *International Journal of Pharma Sciences*, **3(6)**, 403-407.

Palem, C.R., Gannu, R., Doodipala, N., Yamsani, V.Y. and Yamsani, M.R. (2011). Transmucosal delivery of domperidone from bilayered buccal patches: *In vitro*, *ex vivo* and *in vivo* characterization. *Archives of Pharmacal Research*, **34(10)**, 1701-1710.

Patel, A., Shah, D., Desai, T.R. and Noolvi, M.N. (2016). Mucoadhesive buccal films based chitosan and carboxymethylated *Feronia limonia* fruit pulp mucilage interpolymer complex for delivery of opioid analgesics. *Asian Journal of Pharmaceutics*, **10(2)**, 137-143.

Patel, D.H., Patel, M.P. and Patel, M.M. (2009). Formulation and evaluation of drug-free ophthalmic films prepared by using various synthetic polymers. *Journal of Young Pharmacists*, **1(2)**, 116-120.

Patel, V.F., Liu, F. and Brown, M.B. (2011). Advances in oral transmucosal drug delivery. *Journal of Controlled Release*, **153**, 106-116.

Patel, V.F., Liu, F. and Brown M.B. (2012). Modeling the oral cavity: *In vitro* and *in vivo* evaluations of buccal drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*, **161**, 746-756.

Pathak, K., Sharma, V., Akhtar, N. and Rastogi, P. (2016). Localization of fluconazole in oral cavity by preential coating of buccoadhesive tablet for treatment of oral thrush. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, **6(2)**, 106-115.

Pendekal, M.S. and Tegginamat, P.K. (2012). Formulation and evaluation of a bioadhesive patch for buccal delivery of tizanidine. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, **2(3)**, 318-324.

Pereria, G.G., Guterres, S.S., Balducci, A.G., Colombo, P. and Sonvico, F. (2014). Polymeric films loaded with vitamin E and *Aloe vera* for topical application in the treatment of burn wounds. *BioMed Research International*, **641590**, 1-9.

Pignatello, R., Basile, L. and Puglisi, G. (2009). Chitosan glutamate hydrogels with local anesthetic activiy for buccal application. *Drug Delivery*, **16(3)**, 176-181.

Pillai, C.K.S., Paul, W. and Sharma, C.P. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science*, **34**, 641-678.

Pistone, S., Goycoolea, F.M., Young, A. Smistad, G. and Hiorth, M. (2017). Formulation of polysaccharide-based nanoparticles for local administration into the oral cavity. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **96**, 381-389.

Prajapati, V., Bansal, M. and Sharma, P.K. (2012). Mucoadhesive buccal patches and use of natural polymer in its preparation – A review. *International Journal of PharmTech Research*, **4(2)**, 582-589.

Preis, M., Woertz, C., Schneider, K. Kukawka, J., Broscheit, J., Roewer, N. et. al. (2014). Design and evaluation of bilayered buccal film preparations for buccal administration of lidocaine hydrochloride. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **86**, 552-561.

Reddy, J.R.K., Muzib, Y.I. and Cowrady, K.P.R. (2013). Development and *in-vivo* characterization of novel trans buccal formulations of amiloride hydrochloride. *Journal of Pharmacy Research*, **6**, 647-652.

Rio-Sancho, S., Merino, V., López-Castellano, A. and Kalia, Y.N. (2016). A UHPLC-UV method to quantify skin deposition and transdermal permeation of tizanidine hydrochloride. *Journal of Chromatographic Science*, **54(5)**, 790-795.

Rossi, S., Marciello, M., Sandri, G., Bonferoni, M.C., Ferrari, F. and Caramella, C. (2008). Chitosan ascorbate: A chitosan salt with improved penetration enhancement properties. *Pharmaceutical Development and Technology*, **13**, 513-521.

Rossi, S., Sandri, G. and Caramella, C.M. (2005). Buccal drug delivery: A challenge already won?. *Drug Discovery Today: Technologies*, **2(1)**, 59-65.

Rowe, R.C., Sheshey, P.J. and Quinn, M.E. (Ed.). (2004). *Handbook of Pharmaceutical Excipient*. (6th ed.) London: Pharmaceutical Press.

Roy, S.K. and Prabhakar, B. (2010). Bioadhesive polymeric platforms for transmucosal drug delivery systems – A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **9(1)**, 91-104.

Russo, E., Selmin, F., Baldassari, S., Gennari, C.G.M., Caviglioli, G., Cilurzo, F. et. al. (2016). A focus on mucoadhesive polymers and their application in buccal dosage forms. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **32**, 113-125.

Salamat-Miller, N., Chittchang, M. and Johnston, T.P. (2005). The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **57**, 1666-1691.

Sandri, G., Poggi, P., Bonferoni, M.C., Rossi, S. Ferrari, F. and Caramella, C. (2006). Histological evaluation of buccal penetration enhancement properties of chitosan and trimethyl chitosan. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **58**, 1327-1336.

Santhosh, G., Nagasowjanya, G., Ajitha, A. and Rao, Y.U.M. (2014). HPLC method development and validation: An overview. *International Journal of Pharmaceutical Research & Analysis*, **4(4)**, 274-280.

Sanz, R., Calpena, A.C., Mallandrich, M., Gimeno, Á., Halbaut, L. and Clares, B. (2017). Development of a buccal doxepin platform for pain in oral mucositis derived from head and neck cancer treatment. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **117**, 203-211.

Sattar, M., Sayed, O.M. and Lane, M.E. (2014). Oral transmucosal drug delivery – Current status and future prospects. *International Journal of Pharmaceutics*, **471**, 498-506.

Serra, L., Doménech, J. and Peppas, A. (2009). Engineering design and molecular dynamics of mucoadhesive drug delivery systems as targeting agents. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **71**, 519-528.

Shanker, G., Kumar, C.K., Gonugunta, C.S.R., Kumar, B.V. and Veerareddy, P.R. (2009). Formulation and evaluation of bioadhesive buccal drug delivery of tizanidine hydrochloride tablets. *Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, **10(2)**, 530-539.

Shiledar, R.R., Tagalpallewar, A.A. and Kokare, C.R. (2014). Formulation and *in vitro* evaluation of xanthan gum-based bilayered mucoadhesive buccal patches of zolmitriptan. *Carbohydrate Polymers*, **101**, 1234- 1242.

Shirsand, S.B., Wadageri, G.V., Raju, S.A. Kolli, G. and Reddy, P.V.P. (2013). Design and evaluation of mucoadhesive bilayer buccal tablets of nebivolol. *RGUHS Journal of Pharmaceutical Sciences*, **3(1)**, 40-47.

Silva, B.M.A., Borges, A.F., Silva, C. and Coelho, J.F.J. (2015). Mucoadhesive oral films: The potential for unmet needs. *International Journal of Pharmaceutics*, **494**, 537-551.

Simons, W.W. (1978). *The Sadtler Handbook of Infrared Spectra*. Philadelphia: Sadtler Research Laboratories.

Singh, I. and Rana, V. (2012). Techniques for the assessment of mucoadhesion in drug delivery systems: An overview. *Journal of Adhesion Science and Technology*, **26**, 2251-2267.

Singh, J., Dutta, P.K., Hunt, A.J., Macquarrie, D.J. and Clark, J.H. (2009). Preparation and properties of highly soluble chitosan-L-glutamic acid aerogel derivate. *Carbohydrate Polymers*, **76**, 188-195.

Singh, S., Soni, R., Rawat, M.K., Jain, A., Deshpande, S.B., Singh, S.K. et. al. (2010). *In vitro* and *in vivo* evaluation of buccal bioadhesive films containing salbutamol sulphate, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **58(3)**, 307-311.

Shaikh, R., Singh, T.R.R., Garland, M.J., Woolfson, A.D. and Donnelly, R.F. (2011). Mucoadhesive drug delivery systems. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, **3(1)**, 89-100.

Shinde, U.A., Nagarsenker, M.S. (2009). Characterization of gelatin-sodium alginate complex coacervation system. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **71(3)**, 313-317.

Shivanand, K., Raju, S.A. and Jaykar, B. (2010). Mucoadhesive bilayered buccal tablets of tizanidine hydrochloride. *International Journal of PharmTech Research*, **2(3)**, 1861-1869.

Smart, J.D. (2005). The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **57**, 1556-1568.

Smith, K., Robertson, D.P., Lappin, D.F. and Ramage, G. (2013). Commercial mouthwashes are ineffective against oral MRSA biofilms. *Oral Medicine*. **115(5)**, 624-629.

Söğüt Ertaş, Ö. ve Kayalı, A. (2005). Analitik yöntem geçerliliğine genel bir bakış. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, **34(1)**, 41-57.

Standaert, D.G. and Roberson, E.D. (2011). Treatment of central nervous system degenerative disorders. İçinde Brunton, L.L., Chanber, B. and Knollman, B. (Ed.) *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. (12th ed.). New York: McGraw-Hill; 609-628.

Sudhakar, Y., Kuotsu, K. and Bandyopadhyay, A.K. (2006). Buccal bioadhesive drug delivery – A promising option for orally less efficient drugs. *Journal of Controlled Release*, **114**, 15-40.

Swamy, P.V., Amitkumar, T., Shirsand, S.B., Patil, A.N. and Laeeq, F. (2010). Design and evaluation of buccal patches of granisetron hydrochloride. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, **44**(1), 95-101.

Şenel, S. (2010). Potential applications of chitosan in oral mucosal delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **20**(1), 23-32.

Şenel, S. and Hincal, A.A. (2001). Drug permeation enhancement via buccal route: Possibilities and limitations. *Journal of Controlled Release*, **72**, 133-144.

Tejada, G., Piccirilli, G.N., Sortino, M., Salomón, C.J., Lamas, M.C. and Leonardi, D. (2017). Formulation and *in-vitro* efficacy of antifungal mucoadhesive polymeric matrices for delivery of miconazole nitrate. *Materials Science and Engineering C*, **79**, 140-150.

Tiwari, D., Sause, R. and Madan, P.L. (1999). Evaluation of polyoxyethylene homopolymers for buccal bioadhesive drug delivery device formulations. *AAPS Pharmsci*, **1**(3), 1-8.

Trastullo, R., Abruzzo, A., Saladini, B., Gallucci, M.C., Cerchiara, T., Luppi, B. et. al. (2016). Design and evaluation of buccal films as pediatric dosage form for transmucosal delivery of ondansetron. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **105**, 115-121.

Türk Farmakopesi-II, Monograflar, Avrupa Farmakopesi Adaptasyonu. (2016). Ankara: Anıl Reklam Matbaa Ltd Şti; 3297-3299.

Türkoğlu, M. (2012). Tabletler. İçinde Zırh Gürsoy, A. (Ed.). *Farmasötik Teknoloji Temel Konular ve Dozaj Şekilleri*. (2nd ed.) İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği; 349-362.

Üstündağ Okur, N. (2012). *Antibiyotik İçeren Çeşitli Oküler Nano-taşıyıcı Sistemlerin İn vitro-İn vivo Değerlendirilmesi Üzerine Çalışmalar*. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji Programı, Doktora Tezi.

Üstündağ Okur, N., Çağlar, E.Ş., Arpa, M.D. and Karasulu, H.Y. (2017). Preparation and evaluation of novel microemulsion-based hydrogel for dermal delivery of benzocaine. *Pharmaceutical Development and Technology*, **22(4)**, 500-510.

Üstünes, L. (2016). Rx Media Pharma İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı. İzmir.

Vasanth, P.V., Puratchikody, A., Thomarayil, M. and Balaraman, A.K. (2011). Development and characterization of Eudragit based mucoadhesive buccal patches of salbutamol sulfate. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **19**, 207-214.

Vetchy, D., Landova, H., Gajdziok, J., Dolezel, P., Danek, Z. and Stembirek, J. (2014). Determination of dependencies among *in vitro* and *in vivo* properties of prepared mucoadhesive buccal films using multivariate data analysis. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **86**, 498-506.

Vinod, K.R., Rohit, R.T., Sandhya, S., David, B. and Venkatram, R.B. (2012). Critical review on mucoadhesive drug delivery systems. *HYGEIA - Journal for Drugs and Medicines*, **4(1)**, 7-28.

Walicova, V., Gajdziok, J., Pavloková, S. and Vetchy, D. (2017). Design and evaluation of mucoadhesive oral films containing sodium hyaluronate using multivariate data analysis. *Pharmaceutical Development and Technology*, **22(2)**, 229-236.

Woertz, C., Preis, M., Breitzkreutz, J. and Kleinebudde, P. (2013). Assessment of test methods evaluating mucoadhesive polymers and dosage forms: An overview. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **85**, 843-853.

Xu, J., Strandman, S., Zhu, J.X.X., Barralet, J. and Cerruti, M. (2015). Genipin-crosslinked catechol-chitosan mucoadhesive hydrogels for buccal drug delivery. *Biomaterials*, **37**, 395-404.

Yildiz Pekoz, A., Erdal, M.S., Okyar, A., Ocak, M., Tekeli, F., Kaptan, E. et. al. (2016). Preparation and *in-vivo* evaluation of dimenhydrinate buccal mucoadhesive films with enhanced bioavailability. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **42(6)**, 916-925.

Yu, T., Andrews, G.P. and Jones, D.S. (2014). Mucoadhesion and characterization of mucoadhesive properties. İçinde Neves, J., Sarmiento, B. (Ed.). *Mucosal Delivery of Biopharmaceuticals*. New York: Springer; 35-44.

Zheng, Z.C., Wang, X.Y. and Du, X.J. (2015). Preparation and characterization of sustained release matrix tablets of tizanidine hydrochloride for spinal injuries. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **14(10)**, 1749-1754.

ETİK KURUL KARARI



T.C.

**İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ,
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (İMÜ-HADYEK)
ETİK KURULU KARARI**

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
24/11/2015	78		Doç. Dr. Erdal CEVHER

“Kitozan Bazlı Bukkal Biyoadeziv İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Geliştirilmesi ve İn vitro-İn vivo Değerlendirilmesi” başlıklı bilimsel araştırma Etik Kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna “oybirliği” ile karar verilmiştir. Etik Onay Geçerlilik Süresi: 6 ay
--

GÖREVİ	ADI SOYADI	İMZA
Başkan	Doç. Dr. Haneî ÖZBEK	
Başkan Yardımcısı	Prof. Dr. Dr. Ertuğrul KILIÇ	
Üye	Prof. Dr. Mustafa ÖZTÜRK	
Üye	Yrd. Doç. Dr. H. Emir YÜZBAŞIOĞLU	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Sine Özmen TOĞAY	
Üye	Taha KELEŞTEMUR	
Üye	Ekrem Musa ÖZDEMİR	
Üye	Özge Şeyda DURGUT	
Üye	Fahriye ŞENBAHÇE	



T.C.
İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

E-İmzalıdır

Sayı : 38828770-604.01.01-E.23300
Konu : Etik Kurulu Hk.

21/07/2017

Sayın Prof. Dr. Erdal CEVHER

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 24.11.2015 tarihli 78 karar no ile onay verilen “Kitozan Bazlı Bukkal Biyoadeziv İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Geliştirilmesi ve *In vitro* – *In vivo* Değerlendirilmesi” isimli çalışmanın etik kurul onayı 17.07.2018 tarihine kadar uzatılması isteğiniz uygun bulunmuş olup kayıt altına alınmıştır.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(İMÜ-HADYEK) Başkanı

Bu belge 5070 sayılı e-İmza Kanununa göre Prof. Dr. Hanefi ÖZBEK tarafından 21.07.2017 tarihinde e-imzalanmıştır. Evrağınızı <https://ebys.medipol.edu.tr/e-imza> linkinden E04D8B7FN5 kodu ile doğrulayabilirsiniz.

İstanbul Medipol Üniversitesi

Kavacık Mah. Ekinçiler Cad.No:19 Kavacık Kavşağı 34810
Beykoz/İSTANBUL

Tel: 444 85 44

İnternet: www.medipol.edu.tr
Ayrıntılı Bilgi İçin : bilgi@medipol.edu.tr

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

KİTOSAN BAZLI BUKKAL
BİYOADEZİF İLAÇ TAŞIYICI
SİSTEMLERİN
GELİŞTİRİLMESİ VE İN VİTRO-
İN VİVO DEĞERLENDİRİLMESİ

Yazar Muhammet Davut Arpa

Gönderim Tarihi: 24-Oca-2018 11:57AM (UTC+0200)

Gönderim Numarası: 906173917

Dosya adı: STEMLER_N_GEL_T_R_LMES_VE_N_V_TRO-_N_V_VO_DE_ERLENDIR_LMES.docx (229.23K)

Kelime sayısı: 35378

Karakter sayısı: 233968

KİTOSAN BAZLI BUKKAL BİYOADEZİF İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE İN VİTRO-İN VİVO DEĞERLENDİRİLMESİ

ORIJINALLIK RAPORU

% 2	% 1	% 0	% 1
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	polen.itu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
2	pdf.ilacprospektusu.com İnternet Kaynağı	<% 1
3	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<% 1
4	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<% 1
5	Submitted to Pamukkale Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
6	issuu.com İnternet Kaynağı	<% 1
7	kub.ilacprospektusu.com İnternet Kaynağı	<% 1
8	Submitted to Sağlık Bilimleri Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1