

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

DERİDEN GEÇİŞİN TAHMİN EDİLMESİNDE KULLANILABİLECEK KARBON
NANOTÜP YAPILI MEMBRAN SİSTEMİ GELİŞTİRME ÜZERİNE
ÇALIŞMALAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ECZ. Mustafa TAKSİR

Tez Danışmanı
Prof. Dr. İ. Tuncer DEĞİM

Şubat 2012
Ankara

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

DERİDEN GEÇİŞİN TAHMİN EDİLMESİNDE KULLANILABİLECEK KARBON
NANOTÜP YAPILI MEMBRAN SİSTEMİ GELİŞTİRME ÜZERİNE
ÇALIŞMALAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ECZ. Mustafa TAKSİR

Tez Danışmanı
Prof. Dr. İ. Tuncer DEĞİM

Şubat 2012
Ankara

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

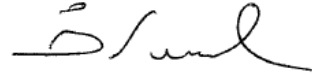
Tez Savunma Tarihi : 14/03/2002



İmza
Prof. Dr. Füsün ACARTÜRK
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı



İmza
Prof. Dr. İ. Tuncer DEĞİM
Gazi Üniversitesi



İmza
Doç. Dr. İmran VURAL
Hacettepe Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ VE AMAÇ	- 1 -
2. GENEL BİLGİLER	- 2 -
2.1 DERİDEN İLAÇ GEÇİŞİ VE İNSAN DERİSİNİN FONKSİYONLARI	- 2 -
2.1.1 Derinin Bariyer Fonksiyonu	- 2 -
2.1.2 Deriden İlaç Moleküllerinin Geçişİ İçin Modern Yaklaşımlar	- 3 -
2.1.3 Deriden İlaç Geçişine İlacın Fizikokimyasal Parametrelerinin Etkisi	- 4 -
2.1.3.1 İlaç Lipofilitesi	- 4 -
2.1.3.2 İlaç Molekülünün Hareket Kabiliyeti (Mobilitesi)	- 5 -
2.1.3.3 Pasif İlaç Difüzyonunun Optimizasyonu	- 5 -
2.1.3.4. Deriden geçiş için formülasyon geliştirme	- 7 -
2.1.3.5 İlaç molekülünde yapılan değişiklikler	- 7 -
2.1.3.6 Kimyasal maddeler kullanarak deriden geçişİ artırma	- 7 -
2.2 İNSAN DERİSİNDEN GEÇİŞİN TAHMİN EDİLMESİNDE KULLANILABİLECEK MEMBRANLAR	- 9 -
2.2.1 HAYVANSAL MEMBRANLAR	- 9 -
2.2.1.1 Domuz derisi	- 9 -
2.2.1.2 Fare ve sıçan derisi	- 12 -
2.2.1.3 Yılan derisi	- 13 -
2.2.2 SENTETİK MEMBRANLAR	- 14 -
2.3 KARBON NANOTÜPLER	- 20 -
2.3.1 Karbonun değişik formları (allatropı):	- 21 -
2.3.2 Yapısal Özellikleri	- 22 -

2.3.3 Karbon Nanotüplerin Sentezi	- 23 -
2.3.4 KNT Sentez Yöntemlerinin İncelenmesi	- 24 -
2.3.4.1 Kıvılcım boşalma metodu	- 24 -
2.3.4.2 Lazer Kesme Yöntemi	- 25 -
2.3.4.3 Sıcakta Sentez Yöntemleri	- 25 -
2.3.4.3.1 Kimyasal Buhar Yoğunlaştırma (Chemical vapour disposition- CVD)	- 25 -
2.3.4.3.2 Yüksek Basıncılı Karbon Monoksit Yöntemi (High Pressure Carbon Monoxide Synthesis (HiPCO))	- 25 -
2.3.4.3.3 Alev Yöntemi	- 26 -
2.3.4.3.4 Plazma Artırmalı Kimyasal Buhar Yoğunlaştırma Yöntemi (Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition(PECVD))	- 26 -
2.3.5 Karbon Nanotüp Kullanılarak Hazırlanan Materyaller	- 26 -
2.3.6 Karbon Nanotüplerin Farmasötik Alanda Kullanımları	- 27 -
2.3.6.1 İlaç Taşıyıcı Sistem Olarak Kullanımları	- 27 -
2.3.6.2 Karbon Nanotüplerin Fonksiyonlanması	- 28 -
2.3.6.3 Karbon Nanotüp Nanotaşıyıcılar	- 29 -
2.3.6.4 Fonksiyonlanmış Karbon Nanotüplerin Farmasötik Ve Diagnostik Kullanımları	- 29 -
2.3.6.5 Karbon Nanotüplerin Gen Transferi İçin Fonksiyonlanması	- 34 -
2.3.6.6 Karbon Nanotüplerin Enfeksiyon Hastalıkları İçin Fonksiyonlanması	- 35 -
2.3.6.7 Karbon Nanotüplerin Antikanser Bileşiklerle Fonksiyonlanması	- 35 -
2.3.6.8 Karbon Nanotüplerin Aşılama İçin Modifiye Edilmesi	- 36 -
3. GEREÇ VE YÖNTEM	- 37 -

AKIŞ ŞEMASI	- 37 -
3.1 Gereç	- 39 -
3.1.1 Etken Maddeler:	- 39 -
3.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler:	- 39 -
3.1.3 Kullanılan Aletler ve Malzemeler:	- 40 -
3.2 Yöntem	- 41 -
3.2.1 Kullanılan ÇTKNT Membranların Hazırlanışı:	- 41 -
3.2.1.1 ÇTKNT Membran Hazırlanışı:	- 41 -
3.2.1.2 Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membran Hazırlanışı:	- 42 -
3.2.1.3 İsopropil Miristat Kaplı ÇTKNT Membran Hazırlanışı	- 42 -
3.2.1.4 Kolesterol Kaplı ÇTKNT Membran Hazırlanışı	- 42 -
3.2.1.5 İsopropil Miristat Kaplı Selülozik Filtre Destekli ÇTKNT Membran Hazırlanışı	- 43 -
3.2.1.6 Kolesterol Kaplı Selülozik Filtre Destekli ÇTKNT Membran Hazırlanışı	- 43 -
3.2.1.7 Kolesterol ve %1 BSA Kaplı Selülozik Filtre Destekli ÇTKNT Membran Hazırlanışı	- 43 -
3.2.1.8 İki Selofan Filtre Arasında ÇTKNT İçeren Membranın Hazırlanışı	- 43 -
3.2.1.9 İki Selofan Arasında ÇTKNT ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membranın Hazırlanışı	- 44 -
3.2.1.10 İki Selofan Arasında ÇTKNT ve %2 BSA Dispersiyonu İçeren Membranın Hazırlanışı	- 44 -
3.2.1.11 İki Selofan Arasında ÇTKNT ve %3 BSA Dispersiyonu İçeren Membranın Hazırlanışı	- 45 -

3.2.1.12 İki Selofan Filtre Arasında ÇTKNT ve Kolesterol Dispersiyonu İçeren Membranın Hazırlanışı	- 45 -
3.2.1.13 İki Selofan Arasında ÇTKNT, %1 BSA ve Kolesterol Dispersiyonu İçeren Membranın Hazırlanışı	- 45 -
3.2.2 KNT membranlar ile yapılan in-vitro çalışmalar	- 46 -
3.2.2.1 UV spektrofotometre yöntem geliştirme ve validasyonları	- 46 -
3.2.2.1.1 İbuprofenin UV Spektrofotometre Yöntemi Miktar Tayini:	- 46 -
3.2.2.1.2 İbuprofenin UV Spektrofotometre yöntemi ile miktar tayini validasyonu:	- 47 -
3.2.2.1.2.1 UV Spektrofotometre İle İbuprofenin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:	- 47 -
3.2.2.1.2.2 Doğrusallık	- 47 -
3.2.2.1.2.3 Doğruluk ve Geri Elde	- 47 -
3.2.2.1.2.4 Kesinlik	- 48 -
a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)	- 48 -
b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)	- 48 -
3.2.2.1.2.5 Duyarlılık ve saptama sınırı	- 48 -
3.2.2.1.2.6 Özgünlük ve Seçicilik	- 49 -
3.2.2.1.3 Naproksenin UV Spektrofotometre ile Miktar Tayini:	- 49 -
3.2.2.1.4 Naproksenin UV Spektrofotometre yöntemi ile miktar tayini validasyonu:	- 50 -
3.2.2.1.4.1 UV Spektrofotometre İle Naproksenin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:	- 50 -
3.2.2.1.4.2 Doğrusallık	- 50 -
3.2.2.1.4.3 Doğruluk ve Geri Elde	- 50 -
3.2.2.1.4.4 Kesinlik	- 51 -

a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)	- 51 -
b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)	- 51 -
3.2.2.1.4.5 Duyarlılık ve saptama sınırı	- 51 -
3.2.2.1.4.6 Özgünlük ve Seçicilik	- 52 -
3.2.2.1.5 Salisilik Asitin UV Spektrofotometre Yöntemi İle Analizi:	- 52 -
3.2.2.1.6 Salisilik asitin UV Spektrofotometre yöntemi ile distile suda miktar tayini validasyonu:	- 52 -
3.2.2.1.6.1 UV Spektrofotometre İle Salisilik asitin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:	- 53 -
3.2.2.1.6.2 Doğrusallık	- 53 -
3.2.2.1.6.3 Doğruluk ve Geri Elde	- 53 -
3.2.2.1.6.4 Kesinlik	- 53 -
a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)	- 54 -
b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)	- 54 -
3.2.2.1.6.5 Duyarlılık ve saptama sınırı	- 54 -
3.2.2.1.6.6 Özgünlük ve Seçicilik	- 54 -
3.2.2.1.7 Ketoprofenin UV Spektrofotometre İle Miktar Tayini:	- 55 -
3.2.2.1.8 Ketoprofenin UV Spektrofotometre yöntemi ile miktar tayini validasyonu:	- 55 -
3.2.2.1.8.1 UV Spektrofotometre İle Ketoprofenin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:	- 55 -
3.2.2.1.8.2 Doğrusallık	- 56 -
3.2.2.1.8.3 Doğruluk ve Geri Elde	- 56 -
3.2.2.1.8.4 Kesinlik	- 56 -
a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)	- 56 -
b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)	- 57 -

3.2.2.1.8.5 Duyarlılık ve saptama sınırı	- 57 -
3.2.2.1.8.6 Özgünlük ve Seçicilik	- 57 -
3.2.2.1.9 Etodolağın UV Spektrofotometre Yöntemi İle Miktar Tayini:	- 58 -
3.2.2.1.10 Etodolağın UV Spektrofotometre yöntemi ile distile suda miktar tayini validasyonu:	- 58 -
3.2.2.1.10.1 UV Spektrofotometre İle Etodolağın Kalibrasyon Denklemının Elde Edilmesi:	- 58 -
3.2.2.1.10.2 Doğrusallık	- 59 -
3.2.2.1.10.3 Doğruluk ve Geri Elde	- 59 -
3.2.2.1.10.4 Kesinlik	- 59 -
a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)	- 59 -
b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)	- 60 -
3.2.2.1.10.5 Duyarlılık ve saptama sınırı	- 60 -
3.2.2.1.10.6 Özgünlük ve Seçicilik	- 60 -
3.2.2.1.11 Sildenafilin UV Spektrofotometre Yöntemi İle Miktar Tayini:	- 60 -
3.2.2.1.12 Sildenafilin UV Spektrofotometre yöntemi ile miktar tayini validasyonu:	- 61 -
3.2.2.1.12.1 UV Spektrofotometre İle Sildenafilin Kalibrasyon Denklemının Elde Edilmesi:	- 61 -
3.2.2.1.12.2 Doğrusallık	- 61 -
3.2.2.1.12.4 Kesinlik	- 62 -
a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)	- 62 -
b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)	- 62 -
3.2.2.1.12.5 Duyarlılık ve saptama sınırı	- 63 -
3.2.2.1.12.6 Özgünlük ve Seçicilik	- 63 -

3.2.2.2 İn vitro Geçiş Çalışmaları	- 63 -
3.2.2.2.1 İbuprofen İle Yapılan İn vitro Deriden Geçiş Çalışmaları	- 63 -
3.2.2.2.1.1 İbuprofenin Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 30 Dakikalık Geçiş Çalışması	- 63 -
3.2.2.2.1.2 İbuprofenin Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 3 Saatlik Geçiş Çalışması	- 64 -
3.2.2.2.1.3 İbuprofenin İsopropil Miristat Kaplı Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 3 Saatlik Geçiş Çalışması	- 65 -
3.2.2.2.1.4 İbuprofenin 2 Katlı Selofan Membrandan 3 Saatlik Geçiş Çalışması	- 65 -
3.2.2.2.1.5 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Dispersiyonu İçeren Membrandan 3 saatlik Geçiş Çalışması	- 66 -
3.2.2.2.1.6 İbuprofenin Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 67 -
3.2.2.2.1.7 İbuprofenin Kolesterol Kaplı Selülozik Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 67 -
3.2.2.2.1.8 İbuprofenin Kolesterol Ve %1 BSA Kaplı Selülozik Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 68 -
3.2.2.2.1.9 İbuprofenin İki Katlı Selofan Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 69 -
3.2.2.2.1.10 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 69 -
3.2.2.2.1.11 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Ve Kolesterol Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 70 -
3.2.2.2.1.12 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 71 -
3.2.2.2.1.13 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %2 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 71 -

3.2.2.2.1.14 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %3 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 72 -
3.2.2.2.1.15 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Ve Kolesterol Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 73 -
3.2.2.2.2 Naproksen İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları	- 73 -
3.2.2.2.2.1 Naproksenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 73 -
3.2.2.2.3 Salisilik Asit İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları	- 74 -
3.2.2.2.3.1 Salisilik Asitin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 74 -
3.2.2.2.3.2 Salisilik Asitin İnsan Derisinden Geçiş Çalışması	- 75 -
3.2.2.2.4 Ketoprofen İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları	- 76 -
3.2.2.2.4.1 Ketoprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 76 -
3.2.2.2.5 Etodolak İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları	- 76 -
3.2.2.2.5.1 Etodolak'ın İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 76 -
3.2.2.2.6 Sildenafil İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları	- 77 -
3.2.2.2.6.1 Sildenafilin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 77 -
3.2.2.2.6.2 Sildenafilin İnsan Derisinden Geçiş Çalışması	- 78 -

3.2.2.3 İn vitro Geçiş Deneyleri Verileri İle Permeabilite Katsayısı ($\log K_p$) Hesaplanması	- 79 -
3.2.2.4. Elde Edilen Sonuçlara Göre Yapay Membranların Uygunluğunun Değerlendirilmesi	- 79 -
4. BULGULAR	- 80 -
4.1 Miktar Tayinleri Validasyon Bulguları	- 80 -
4.1.1 İbuprofenin UV Spektrofotometre ile miktar tayini validasyonu:	- 80 -
4.1.1.1 UV Spektrofotometre İle İbuprofenin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:	- 80 -
4.1.1.2 Doğrusallık	- 81 -
4.1.1.3 Doğruluk ve Geri Elde	- 81 -
4.1.1.4 Kesinlik	- 82 -
a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)	- 82 -
b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)	- 82 -
4.1.1.5 Duyarlılık ve saptama sınırı	- 83 -
4.1.1.6 Özgünlük ve Seçicilik	- 83 -
4.1.2 Naproksenin UV Spektrofotometre ile miktar tayini validasyonu:	- 84 -
4.1.2.1 UV Spektrofotometre İle Naproksenin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:	- 84 -
4.1.2.2 Doğrusallık	- 84 -
4.1.2.3 Doğruluk ve Geri Elde	- 84 -
4.1.2.4 Kesinlik	- 85 -
a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)	- 85 -
b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)	- 86 -

4.1.2.6 Özgünlük ve Seçicilik	- 87 -
4.1.3 Salisilik asitin UV Spektrofotometre ile miktar tayini validasyonu:	- 87 -
4.1.3.1 UV Spektrofotometre İle Salisilik asitin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:	- 87 -
4.1.3.2 Doğrusallık	- 88 -
4.1.3.3 Doğruluk ve Geri Elde	- 88 -
4.1.3.4 Kesinlik	- 88 -
a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)	- 89 -
b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)	- 89 -
4.1.3.5 Duyarlılık ve saptama sınırı	- 90 -
4.1.3.6 Özgünlük ve Seçicilik	- 90 -
4.1.4 Ketoprofenin UV Spektrofotometre ile miktar tayini validasyonu:	- 91 -
4.1.4.1 UV Spektrofotometre İle Ketoprofenin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:	- 91 -
4.1.4.2 Doğrusallık	- 91 -
4.1.4.3 Doğruluk ve Geri Elde	- 91 -
4.1.4.4 Kesinlik	- 92 -
a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)	- 92 -
b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)	- 93 -
4.1.4.5 Duyarlılık ve saptama sınırı	- 93 -
4.1.4.6 Özgünlük ve Seçicilik	- 94 -
4.1.5 Etodolak'ın UV Spektrofotometre ile miktar tayini validasyonu:	- 94 -
4.1.5.1 UV Spektrofotometre İle Etodolak'ın Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:	- 94 -
4.1.5.2 Doğrusallık	- 94 -

4.1.5.3 Doğruluk ve Geri Elde	- 95 -
4.1.5.4 Kesinlik	- 95 -
a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)	- 95 -
b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)	- 96 -
4.1.5.5 Duyarlılık ve saptama sınırı	- 97 -
4.1.5.6 Özgünlük ve Seçicilik	- 97 -
4.1.6 Sildenafilin UV Spektrofotometre ile miktar tayini validasyonu:	- 97 -
4.1.6.1 UV Spektrofotometre İle Sildenafilin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:	- 97 -
4.1.6.2 Doğrusallık	- 98 -
4.1.6.3 Doğruluk ve Geri Elde	- 98 -
4.1.6.4 Kesinlik	- 98 -
a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)	- 99 -
b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)	- 99 -
4.1.6.5 Duyarlılık ve saptama sınırı	- 100 -
4.1.6.6 Özgünlük ve Seçicilik	- 100 -
4.2 İn vitro Geçiş Çalışmaları	- 101 -
4.2.1 İbuprofen İle Yapılan İn vitro Geçiş Çalışmaları	- 101 -
4.2.1.1 İbuprofenin Selüloz Filtreli Destekli ÇTKNT Membrandan Geçiş Çalışması	- 101 -
4.2.1.2 İbuprofenin Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan Geçiş Çalışması	- 101 -
4.2.1.3 İbuprofenin İsopropil Miristat Kaplı Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan Geçiş Çalışması	- 102 -

4.2.1.4 İbuprofenin 2 Katlı Selofan Membrandan 3 Saatlik Geçiş Çalışması-	
103 -	
4.2.1.5 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Dispersiyonu İçeren Membrandan 3 saatlik Geçiş Çalışması	- 103 -
4.2.1.6 İbuprofenin Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 104 -
4.2.1.7 İbuprofenin Kolesterol Kaplı Selülozik Filtreli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 105 -
4.2.1.8 İbuprofenin Kolesterol Ve %1 BSA Kaplı Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 105 -
4.2.1.9 İbuprofenin İki Katlı Selofan Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 106 -
4.2.1.10 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 107 -
4.2.1.11 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Ve Kolesterol Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 107 -
4.2.1.12 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 108 -
4.2.1.13 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT ve %2 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 109 -
4.2.1.14 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT ve %3 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 109 -
4.2.1.15 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT ve %1 BSA Ve Kolesterol Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 110 -
4.2.2 Naproksen İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları	- 110 -
4.2.2.1 Naproksenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 110 -

4.2.3 Salisilik Asit İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları-	111 -
4.2.3.1 Salisilik Asitin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 111 -
4.2.3.2 Salisilik Asitin İnsan Derisinden Geçiş Çalışması	- 112 -
4.2.4 Ketoprofen İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları	- 112 -
4.2.4.1 Ketoprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 112 -
4.2.5 Etodolak İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları	- 113 -
4.2.5.1 Etodolak'ın İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 113 -
4.2.6 Sildenafil İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları	- 114 -
4.2.6.1 Sildenafilin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 114 -
4.2.6.2 Sildenafilin İnsan Derisinden Geçiş Çalışması	- 114 -
5. TARTIŞMA	- 115 -
5.1 İN VİTRO GEÇİŞ ÇALIŞMALARININ DEĞERLENDİRİLMESİ	- 115 -
5.1.1 İbuprofen İle Yapılan Geçiş Çalışmalarının Değerlendirilmesi	- 117 -
5.1.1.1 İbuprofenin Distile Suda UV Spektrofotometre Yöntemi İle Analizi İle İlgili Bulguların Değerlendirilmesi	- 117 -
5.1.1.2. İbuprofenin Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 30 Dakikalık Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi	- 117 -
5.1.1.3 İbuprofenin Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 6 Saatlik Geçiş Deneyinin Değerlendirilmesi	- 118 -
5.1.1.4 İbuprofenin İsopropil Miristat Kaplı Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 6 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi	- 118 -

5.1.1.5 İbuprofenin 2 Katlı Selofan Membrandan 3 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi	- 119 -
5.1.1.6 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Dispersiyonu İçeren Membrandan 6 saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi	- 119 -
5.1.1.7 İbuprofenin Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi	- 120 -
5.1.1.8 İbuprofenin Kolesterol Kaplı Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi	- 120 -
5.1.1.9 İbuprofenin Kolesterol Ve %1 BSA Kaplı Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi	- 121 -
5.1.1.10 İki Katlı Selofan Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi	- 121 -
5.1.1.11 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 122 -
5.1.1.12 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Ve Kolesterol Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi	- 122 -
5.1.1.13 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi-	122 -
5.1.1.14 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %2 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi-	123 -
5.1.1.15 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %3 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi-	123 -
5.1.1.16 İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA ve Kolesterol Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması	- 123 -
5.1.2 Naproksen ile Yapılan Geçiş Çalışmalarının Değerlendirilmesi	- 124 -

5.1.2.1 Naproksen Distile Suda UV Spektrofotometre Yöntemi İle Analizi İli İlgili Bulguların Değerlendirilmesi	- 124 -
5.1.2.2. Naproksenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi	- 124 -
5.1.3 Salisilik Asit ile Yapılan Geçiş Çalışmalarının Değerlendirilmesi	- 125 -
5.1.3.1 Salisilik asitin Distile Suda UV Spektrofotometre Yöntemi İle Analizi İli İlgili Bulguların Değerlendirilmesi	- 125 -
5.1.3.2. Salisilik asitin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi	- 125 -
5.1.3.3. Salisilik Asitin İnsan Derisinden Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi	- 125 -
5.1.4 Ketoprofen ile yapılan geçiş çalışmalarının değerlendirilmesi	- 126 -
5.1.4.1. Ketoprofenin Distile Suda UV Spektrofotometre Yöntemi İle Analizi İli İlgili Bulguların Değerlendirilmesi	- 126 -
5.1.4.2. Ketoprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi	- 126 -
5.1.5 Etodolak ile yapılan geçiş çalışmalarının değerlendirilmesi	- 126 -
5.1.5.1. Etodolak'ın Distile Suda UV Spektrofotometre Yöntemi İle Analizi İli İlgili Bulguların Değerlendirilmesi	- 126 -
5.1.5.2. Etodolak'ın İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi-	127 -
5.1.6 Sildenafil İle Yapılan Geçiş Çalışmalarının Değerlendirilmesi	- 127 -
5.1.6.1. Sildenafilin Distile Suda UV Spektrofotometre Yöntemi İle Analizi İli İlgili Bulguların Değerlendirilmesi	- 127 -

5.1.6.2. Sildenafil'in İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi-	127 -
5.1.6.3. Sildenafil'in İnsan Derisinden Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi-	128 -
5.2 Verilerin Karşılaştırılması	- 128 -
6. SONUÇ	- 130 -
7. ÖZET	- 135 -
8. SUMMARY	- 136 -
10. TEŞEKKÜRLER	- 152 -
11. ÖZGEÇMİŞ	- 154 -

TABLÖLAR

Tablo1: İnsan ve domuz derisinin etkin maddelere göre karşılaştırılması	-11-
Tablo2: çalışmada kullanılan membranların madde geçirgenlik parametreleri	-19-
Tablo3: Sentezlenmiş ilaç taşıyıcı CNT sistemlerinden örnekler	-31-
Tablo4: İbuprofen UV spektrofotometre analiz parametreleri	-46-
Tablo5: Naproksen UV spektrofotometre analiz parametreleri	-49-
Tablo6: Salisilik asit UV spektrofotometre analiz parametreleri	-52-
Tablo7: Ketoprofen UV spektrofotometre analiz parametreleri	-55-
Tablo8: Etodolak UV spektrofotometre analiz parametreleri	-58-
Tablo9: Sildenafil UV spektrofotometre analiz parametreleri	-61-
Tablo10: Kullanılan etkin maddelerin literatür verileri	-80-
Tablo11: İbuprofen doğruluk tayini sonuçları	-81-
Tablo12: İbuprofen deney içi kesinlik sonuçları	-82-
Tablo13: İbuprofen deneyler arası kesinlik sonuçları	-83-
Tablo14: Naproksen doğruluk ve geri elde verileri	-85-
Tablo15: Naproksen tekrar edilebilirlik verileri	-86-
Tablo16: Naproksen tekrar elde edilebilirlik verileri	-86-
Tablo17: Salisilik asit doğruluk ve geri elde verileri	-88-
Tablo18: Salisilik asitin tekrar edilebilirlik verileri	-89-
Tablo19: Salisilik asitin tekrar elde edilebilirlik verileri	-90-
Tablo20: Ketoprofen doğruluk ve geri elde verileri	-92-
Tablo21: Ketoprofenin tekrar edilebilirlik verileri	-92-
Tablo22: Ketoprofen tekrar elde edilebilirlik verileri	-93-
Tablo23: Etodolak'ın doğruluk ve geri elde verileri	-95-
Tablo24: Etodolak'ın tekrar edilebilirlik verileri	-96-
Tablo25: Etodolağın tekrar elde edilebilirlik verileri	-96-
Tablo26: Sildenafilin Doğruluk ve geri elde verileri	-98-
Tablo27: Sildenafilin tekrar edilebilirlik verileri	-99-

Tablo28: Sildenafilin tekrar elde edilebilirlik verileri

-100-

Tablo29: Deney sonuçlarına göre hesaplanan ve literatürden alınan $\log K_p$ değerleri

-128-

ŞEKİLLER

Şekil1: Franz hücrelerinin MWCNT konacak şekilde modifiye edilmiş membran uygulama sistemi ile kullanılması	-44-
Şekil 2: İbuprofen kalibrasyon grafiği	-81-
Şekil 3: Naprosen kalibrasyon grafiği	-84-
Şekil 4: Salisilik asitin kalibrasyon grafiği	-87-
Şekil 5: Ketoprofenin kalibrasyon grafiği	-91-
Şekil 6: Etodolak'ın kalibrasyon grafiği	-94-
Şekil 7: Sildenafilin kalibrasyon grafiği	-97-
Şekil 8: İbuprofenin CNT membranla yapılan geçiş deneyi	-102-
Şekil 9: İbuprofenin KNT membranla yapılan geçiş deneyinin 3 saatlik profili	-102-
Şekil 10: İbuprofenin isopropil miristat kaplı CNT membranla yapılan geçiş deneyinin profili	-102-
Şekil 11: İbuprofenin 2 katlı selofan membranla yapılan geçiş deneyinin profili	-103-
Şekil 12: İbuprofenin iki selofan arası 2mg/ml MWCNT dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili	-104-
Şekil 13: İbuprofenin CNT membrandan yapılan geçiş deneyinin profili	-104-
Şekil 14: İbuprofenin kolesterol kaplı CNT membrandan yapılan geçiş deneyinin profili	-105-
Şekil 15: İbuprofenin kolesterol ve %1 BSA kaplı CNT membrandan yapılan geçiş deneyinin profili	-106-
Şekil 16: İbuprofenin 2 katlı selofan membrandan yapılan geçiş deneyinin profili	-106-
Şekil 17: İbuprofenin iki selofan arası 2mg/ml MWCNT dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili	-107-
Şekil18: İbuprofenin iki selofan arası 2 mg/ml MWCNT ve kolesterol dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili	-108-

- Şekil 19:** İbuprofenin iki selofan arası 2 mg/ml MWCNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili -108-
- Şekil 20** İbuprofenin iki selofan arası 2 mg/ml MWCNT ve %2 BSA dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili -109-
- Şekil 21:** İbuprofenin iki selofan arası 2 mg/ml MWCNT ve %3 BSA dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili -109-
- Şekil 22:** İbuprofenin iki selofan arası 2 mg/ml MWCNT ve %1 BSA ve Kolesterol dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili -110-
- Şekil 23:** Naproksenin iki selofan arası 2 mg/ml MWCNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili -111-
- Şekil 24:** Salisilik asitin iki selofan arası 2 mg/ml MWCNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili -111-
- Şekil 25:** Salisilik asitin insan derisiyle yapılan geçiş deneyinin profili -112-
- Şekil 26:** Ketoprofenin iki selofan arası 2 mg/ml MWCNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili -113-
- Şekil 27:** Etodolak'ın iki selofan arası 2 mg/ml MWCNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin 48 profili -113-
- Şekil 28:** Sildenafilin iki selofan arası 2 mg/ml MWCNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili -114-
- Şekil 29:** Sildenafilin insan derisiyle yapılan geçiş deneyinin 48 saatlik salım profili -114-
- Şekil30:** $\log K_p$ değerlerinin karşılaştırılması ve kalibrasyon denklemi -129-

KISALTMALAR

FDA: Amerikan İlaç Ve Gıda Dairesi

SC: Stratum Corneum

SEM: Taramalı Elektron Mikroskopu

ANOVA: Varyans Analizi

PDMC: Polidimetilsiloksan

PA: Poliakrilat

MCF: Membrane-Coated Fiber

HC: Hidrokortizon

ÇTKNT: Çok Tabakalı Karbon Nanotüp

TTKNT: Tek Tabakalı Karbon Nanotüp

ÇİTKNT: Çift Tabakalı Karbon Nanotüp

CVD: Kimyasal Buhar Çöktürme Yöntemi (Chemical Vapour Disposition)

HiPco: Yüksek Basıncılı Karbon Monoksit Yöntemi (High Pressure Carbon Monoxide Synthesis)

PECVD: Plazma Artırmalı Kimyasal Buhar Yoğunlaştırma Yöntemi (Plasma Enhanced Chemical Vapour Deposition)

FITC: Florosan İsotiyosiyanat

TEM: Transmisyon Elektron Mikroskopu

siRNA: Küçük Haberci RNA (Small Interference RNA)

FMVD: Ayak Ve Ağız Hastalık Virüsü

AFM: Atomik Kütle Mikroskopu (Atomic Forced Microscope)

DSC: Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (Differential Scanning Calorimetry)

TGA: Termo Gravimetrik Analiz

BSA: Sığır Serum Albumini

LOD: Duyarlılık Sınırı

LOQ: Saptama Sınırı

K_p: Permeabilite Katsayısı

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Deriden ilaç verilili hasta uyuncunun yüksek olması, mide-barsak sistemi yan etkileri oluşturmaması, verilen etkin maddenin karaciğerden ilk geçiş etkisine maruz kalmaması, tedavinin istenen herhangi bir anda kesilebilmesi, hedefleme ve kontrollü salıma olanak sağlaması gibi avantajlarından dolayı uzun yıllardan beri tercih edilen ve üzerinde pek çok çalışma yapılan güncel bir konudur. Deriden etkin madde geçişinde temel bariyer epidermisin en dış tabakası olan Stratum Corneum'dur (SC). Deriden geçişe uygun formülasyon geliştirme çalışmalarında son yıllara kadar genellikle ex vivo insan ve hayvan deneyleri yapılmıştır. Son yıllarda ise insan ve hayvan derileri ile maliyetli ve zor olmasından dolayı SC'a model oluşturabilecek standart özellikte, formülasyon geliştirme ve kalite kontrolünde kullanılabilecek sentetik membran geliştirme çalışmaları önem kazanmıştır.

Yaptığımız çalışmada insan SC'unun bariyer özelliklerini taklit edebilecek, dolayısıyla deriden geçişin tahmin edilmesinde kullanılabilecek sentetik membran geliştirilmesi amaçlanmıştır. SC benzeri, yağı seven özellikte olması, SC'un yapısına benzer şekilde dolambaçlı geçiş yolları oluşturabileceği ve SC'nin yapısına benzer şekilde bazı maddelerin (Yağ ve protein karakterli maddeler) kolaylıkla ilave edebileceği bir sistemin uygun olduğu düşünülerek SC'dan etkin madde geçişinin tahmin edilmesi için karbon nanotüp (KNT) yapılı membranlar hazırlanmıştır.

Hazırlanan membranlardan deriden geçişi bilinen ve kimyasal yapı olarak benzer fizikokimyasal özelliklere sahip ibuprofen, naproksen, salisilik asit, ketoprofen, etodolak ve farklı fizikokimyasal ve teropötik özelliklere sahip sildenafil sitrat model madde olarak sečilerek, geçiş deneyleri yapılmış ve elde edilen verile literatür verileri ile karşılaştırılmıştır ve bu şekilde hazırlanan membranların doğruluğunu test edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 DERİDEN İLAÇ GEÇİŞİ VE İNSAN DERİSİNİN FONKSİYONLARI

Dünyada transdermal ilaç pazarı yıllık 2 milyar doları bulmaktadır ve yıldan yıla artış göstermektedir, çünkü deriden ilaç verilmesi hasta uyuncu açısından oldukça başarılıdır, karaciğerde ilk geçiş etkisi görülmez, daha düşük dozlarda daha etkin tedavi sağlanması mümkün olabilmektedir. İstenmeyen bir etki görüldüğünde veya istenen herhangi bir anda tedavi kesilebilir, mide-barsak sistemi üzerinde iritasyon ve yan etki oluşturmaz. Ayrıca hedeflendirme mümkün olabilir ve bunlar transdermal yoldan ilaç verilmesinin avantajları olarak sayılabilir. Bunun yanında büyük molekülü etkin maddelerin deriden geçişinin zor olması, deride etkin maddenin veya yardımcı maddelerin iritasyon yapma ihtimali, vücudun bazı bölgelerinde deri kalınlığı ve yapısının farklı olması, derinin insandan insana genetik faktörlerden etkilenecek farklılık göstermesi gibi dezavantajların da göz ardı edilmemesi gerekir. Dolayısıyla deriden geçerek etki göstermesi için tasarlanan ilaç pazarı Amerika ilaç otoritesinin (FDA) kabul ettiği sekiz etken madde için daha fazla formülasyon geliştirmek istemektedir. Bunlar skopolamin, nitrogliserin, klonidin, estradiol, fentanil, nikotin, testosteron ve nordisterondur. Bilindiği gibi deriden geçiş her ilaç molekülü için uygun değildir. Etkin maddenin fizikokimyasal özelliklerinin ve derinin özellikleri ve bunların uyumu, derideki porların çapı, etkin maddenin lipofilisitesi gibi birçok özellik deriden geçişin miktarında ve geçiş mekanizması üzerinde etkin rol oynar.

2.1.1 Derinin Bariyer Fonksiyonu

Derinin etkin madde geçişi açısından bariyer fonksiyonu, derinin yüzeyini mikrometre kalınlığında, bir film gibi saran Stratum Corneum'dan

(SC) kaynaklanır. SC içeriği ve morfolojisi açısından bir çok bileşenden oluşan karışık (kompozit) yapıya bir biomembrandır¹. Milimetrenin binde biri ölçeğinde incelikte olan SC deriden geçiş olayında az geçirgen olan tabakayı oluşturur. Bunun nedeni ise SC'un keratin yapıya kornositlerden oluşan lipofilik matris yapısında olması ve madde difüzyonu için dolambaçlı yollar içermesidir²⁻⁴. Bu ekstrasellüler lipit matrisin bir takım farklı özellikleri vardır. Bu lipitler sadece deri yüzeyinden SC altına pasif difüzyonla madde geçişine izin verirler. SC'un bileşimi (seramidler, serbest yağ asitleri ve kolesterol gibi) diğer biomembranlardan oldukça farklıdır. SC'un yapı taşları (kornositler, SC'u oluşturan hücreler) çok katlı tabakalar halinde dizilmiştir, uzun zincirli hidrokarbonlar genel yapı içerisinde jelleştirici/birleştirici etki göstererek diğer yapı taşlarını birbirine bağlar ve arada destek bir katman oluşturur. Bu sayede SC sıvı kristal bir membran teşkil eder ve bu da sıvı kristal membran sistemlerine mükemmel bir örnek teşkil eder^{5,6}.

SC'un tuğla-harç olarak isimlendirilen yapısı bariyer fonksiyonu içinde fiziksel öneme sahiptir³. Çünkü bu yapı sayesinde kıvrımlı geçiş yolları oluşur.

2.1.2 Deriden İlaç Moleküllerinin Geçiş İçin Modern Yaklaşımlar

Deri, madde geçişine mükemmel bir bariyer oluşturmaktadır, bu yüzden deriden etkin maddelerin verilışı için tasarlanan sistemlerde mantıklı stratejiler geliştirilmelidir. Bilindiğı üzere oral ilaç verilışinin mümkün olmadığı pek çok durum mevcuttur. Ayrıca intravenöz verilışte de sıkıntı yaratan pek çok durum da vardır. Klasik ilaç verilış yollarına (oral ve IV) alternatif stratejiler olarak transdermal sistemler geliştirilmiştir. Deriden geçiş klasik yollara göre belli noktalarda avantajlıdır. Deri absorpsiyona hazır durumda toplam 1-2 m²'lik büyük bir alandır, ancak ilaç verilışı için tüm bu alan kullanılamaz. Deri üzerine uygulanan flaster benzeri sistemler, sürekli salım sağlayabilirken, aynı zamanda eğer gerekirse istenen anda sökülerek tedavi sonlandırılabilir. Ayrıca deriden ilaç verilış sistemlerinde son yıllarda yaşanan gelişmeler sonucu oral alımda yarı ömrü çok kısa olan veya etkinliğı çok

yüksek olan etkin maddeler için yavaş salımlı sistemler de geliştirilebilmektedir, dolayısıyla hastayı sık dozlama gerekliliğinden kurtararak bu tip ilaçlarda hasta uyuncu artırılabilir.

Deriden ilaç geçiş sistemleri de diğer sistemler gibi terapötik olarak güvenli olmak zorundadır. Deriden geçiş sistemleri hızlı (bolus) ilaç verilmesine uygun değildir. Deriden geçiş sistemleri daha ziyade yavaş, sürekli salım yapan ve uzun doz aralıklarında verilmek üzere tasarlanmışlardır, çünkü bir günden az süren dozlamalar hastalar açısından rahatsız edici bulunmaktadır⁷. Ayrıca deriden geçiş sistemlerinde büyük madde depoları yapılamadığı için az miktardaki dozlarda etki gösterebilecek ve biyolojik yarı ömrü uzun (hormonlar gibi) etkin maddeler de deriden verilme uygundur. SC'un etkin madde geçişine/difüzyona direncinden dolayı, günlük dozu 10 mg altında olan maddeler deriden geçişe daha uygundur⁸. Deriden ilaç geçişi için ilk kriterlerden biri budur. İkinci kriter ise, maddelerin SC'ü geçebilmesi için gerekli olan fizikokimyasal parametrelerinin uygunluğudur çünkü SC çok dar bir çerçevede madde geçişine izin verir.

2.1.3 Deriden İlaç Geçişine İlacın Fizikokimyasal Parametrelerinin Etkisi

2.1.3.1 İlaç Lipofilitesi

SC yapısal olarak lipofilik bir membrandır. Bu yüzden etkin maddelerin deriyi geçip vasküler dolaşıma oradan da sistemik dolaşıma geçebilmeleri için yağı sever bir özellikte olmaları gerekmektedir. Fakat ideal olan ilacın hem yağda hem suda belli bir çözünürlüğü olmasıdır. Çünkü suda çok çözünen etkin maddeler SC'ü hızla geçemez, yağda çok çözünen maddeler ise SC tarafından tutulur ve bu tabakayı geçerek sistemik dolaşıma geçemezler³.

2.1.3.2 İlaç Molekülünün Hareket Kabiliyeti (Mobilitesi)

İlaç SC'da dağıldıktan sonra, SC'ü difüzyonla geçebilmesi için yeteri kadar hareket kabiliyetine sahip olması gerekmektedir. Biyolojik membranlarda difüzyon Stokes-Einstein eşitliği⁹ ile açıklanamaz bu olayı

$$D = \frac{RT}{6\pi\eta rN}$$

Eşitlik1: Stokes-Einstein eşitliği

R, molar gaz sabiti(8,31 erg/mol/derece); T, mutlak sıcaklık(⁰K); η , çözeltinin viskozitesi (poise, g/cm/saniye); r, parçacığın yarı çapı; N, Avogadro sayısı

bu olayı açıklamak için küresel moleküllerin sürekli akış hücrelerinde hareketleri teorisi geliştirilmiştir. SC ise jel benzeri viskoziteye sahip lipid membran olmasından ötürü difüzyon daha da karmaşıktır ve bu denklemle tamamen açıklanamaz. Stokes teorisine uymayan difüzyonlarda, difüzyon membran yapısındaki boşluklardaki moleküllerle yer değiştirmesi ile gerçekleşir¹⁰. Bütün bu olaylarda difüzyon, molekül boyutu ile ilgilidir. Molekül boyutu arttıkça, yani molekül büyüdükçe difüzyon önemli ölçüde azalır. Molekül boyutu tam olarak bilinebilirse deriden geçiş matematiksel olarak tahmin edilebilir. Membran küçük molekül boyutuna sahip yüksüz moleküller için ilginç bir şekilde alışılmışın dışında fazla geçirgenlik gösterir^{10,11}.

2.1.3.3 Pasif İlaç Difüzyonunun Optimizasyonu

SC'un katıların pasif difüzyonunun hız kesici etkisi ile deriden geçişin biyoyararlanımı arasındaki ilişki Fick'in kanunları ile açıklanabilir¹². Bu durum deriden geçişin mekanizmasının anlaşılmasında ve optimize edilmesinde kullanışlı olabilir. Denge durumunda deriden madde akışı aşağıdaki Eşitlik ile hesaplanabilir:

$$J_{ss} = \left(\frac{D \times K_{sc}}{h} \right) \times C_{veh} = K_p \times C_{veh}$$

Eşitlik2: Denge durumunda deriden madde akısı

J_{ss} denge durumundaki akı, h membran kalınlığı, $K_{sc/veh}$ maddenin SC partision katsayısı, C_{veh} ilaç konsantrasyonu, K_p formülasyonun permeabilite katsayısını ifade eder.

Dolayısıyla akı, katının difüze olabilirliğinin artırılması ile ve formülasyondaki katı konsantrasyonunun artırılması ile artırılabilir. Bununla birlikte SC'un katmanlı lipit yapısı yanında, epidermisin su bazlı yapısı da difüzyon olayına katkı sağlamaktadır.

Maddenin çözünürlüğüne ve taşıyıcıya bakılmaksızın doygun etkin madde içeren formülasyonlar genelde yüksek akı sağlar. Takeru Higuchi ideal şartlarda tüm doygun çözelti içeren formülasyonların deride aynı denge durumu akısına sahip olacaklarını ifade etmiştir¹³. Yani X maddesinin Y ve Z taşıyıcılarında 2 mg/ml ve 20 mg/ml çözünürlüğe sahip olduklarını düşünelim. Doygun çözeltili formülasyonları hazırlandığında deride aynı maksimum penetrasyon hızına sahip olurlar, dolayısıyla bu durumda membran özelliklerinden çok fazla etkilenmezler. Doygun çözelti uygulamak istenen sürede deriden geçişin devam etmesini sağlamazsa, süspansiyon tarzında bir formülasyon çözeltiden madde eksildikçe yenisinin çözünerek çözeltiye geçmesini sağlaması bakımından faydalı olabilir.

Piyasa preparatları incelendiğinde, birçok başarılı ürünün penetrasyon hızının ulaşabileceği en üst değerden pek de farklı olmadığı gözlenmektedir. Sonuçta derinin bariyer fonksiyonu kimyasal veya fiziksel penetrasyon artırıcı bir teknik kullanılmaz ise şu şekillerde aşılabilmektedir, (1) ilacın deriden permeabilitesi artırılarak (2) deriden geçiş alanı büyütülerek.

2.1.3.4. Deriden geçiş için formülasyon geliştirme

Deriden geçişi optimize etmenin en kolay yolu formülasyonu uygun hale getirmektir. Bu konudaki bir yaklaşım aşırı doygun özelti¹⁴, mikroemlsiyon¹⁵ ve lipozom¹⁶ sistemlerinin kullanılmasıdır. Fakat bu çalışmalar zaman zaman deriden ilaç verililişinde beklenmeyen sorunlar da yaratabilmektedir.

2.1.3.5 İlaç molekülünde yapılan değişiklikler

İlaç molekülünün lipofilik özellikleri türevlendirme ile modifiye edilebilmektedir. Bu türevlendirme etkin maddenin ön ilacı hazırlanarak yapılmıştır ve farmakolojik potensi topikal etkinliğini değiştirmeden topikal steroidal antienflamatuvar ilaçlarda başarı ile uygulanmıřtır¹⁷. Örneğin triamsinolonun sistemik aktivitesi hidrokortizole göre beş kat daha fazladır fakat topikal verililişe yalnızca %10u etki gösterir. Bu yüzden triamsinol asetonid ile modifiye edilerek lipid çözünürlüğü düzenlenmiş böylece topikal aktivitesi 1000 kat artırılmıştır. Aynı şekilde betametazonun 17-valerat analogu hazırlanarak topikal potensi 17 kat artırılmıřtır¹⁷.

2.1.3.6 Kimyasal maddeler kullanarak deriden geçişi artırma

Bir takım penetrasyon artırıcı maddeler (penetration enhancer) kullanarak deriden geçişi az olan maddelerin deriden geçişleri ve dolayısıyla sistemik dolaşıma geçen miktarları artırılabilir. Alkoller, polialkoller, aminler, amitler, yağ asitleri, sülfoksitler, esterler, terpenler, alkanlar, sürfaktanlar ve fosfolipitlerin SC'un bariyer özelliğini azalttığı yayınlanmıştır^{18,19}.

Fakat bu maddelerin bir çoğunun deride iritasyon özelliğine sahip olması ve bazı toksik etkilerinden dolayı formülasyonlarda yer alması sakıncalı olabilmektedir. Bir takım özel tasarlanmış penetrasyon artırıcı ise deri yapısını geri dönüşümsüz olarak bozduğundan dolayı kullanımının riskli olduğu bildirilmiştir. Fakat toksik etkisi olmayan ve deriyi irrite etmeyen yeni moleküller araştırılmaktadır.

Deriden ilaç geçişi uzun süreden beri güncel bir konudur ve bundan sonrada güncel kalacağı tahmin edilmektedir. Pasif olarak verilifle yeter konsantrasyona ulaşılamayan maddeler içinse iyontoforez, elektroforez ve ultrason gibi deriden etkin madde geçişini artıran bazı elektriksel yöntemler geliştirilmiştir. Deriden ilaç verilifi konusunda oldukça fazla çalışma olması etik kaygılar, deneysel maddelerin advers etkilerinin tam olarak bilinmemesi, in vivo çalışmaların oldukça fazla olan maliyetleri ve in vivo çalışmalarda oluşan çeşitli bireylerden kaynaklanan hatalardan dolayı araştırmacılar insan derisi yerine kullanılabilecek yapay veya organik membran geliştirmek için çalışmaktadırlar²⁰. Bu çalışmalar geliştirilen membranların hali hazırda bilinen veya deneysel olarak tespit edilen in vivo veya ex vivo deney sonuçlarının karşılaştırılması esasına dayanmaktadır.

SC'un bariyer özelliğini taklit edebilecek benzer sonuçları verebilecek yapay membran geliştirilmesi durumunda, deriye uygulanmak üzere geliştirilen formülasyonların in vivo koşullardaki davranışları önceden tahmin edilebilir ve dolayısıyla araştırmacılar daha hızlı sonuçlar alabilir. Bunun yanında gönüllü deneklerle yapılan deneylere gerek olmadığından, denekler gereksiz ilaç almaktan kurtulur yapılan deneylerdeki ekstra maliyetler azalır. Geliştirilen membranlar organik (hayvansal kaynaklı) ve yapay membranlar olarak ikiye ayrılabilir. Hayvansal kaynaklı membranlar yapay membranlara göre insan SC'una daha uygun sonuçlar vermektedir fakat hayvansal derilerle çalışmak zordur ve bazı durumlarda gereksiz hayvan telefine sebep olmaktadır. Yapay membranlar ise hazırlaması kolay hatta piyasada satılan türleri bile olan membranlardır. Çalışılması kolaydır ve stabilite problemi yaratmazlar. Bundan sonraki bölümde insan derisi yerine kullanılabilecek membranlar incelenecektir.

2.2 İNSAN DERİSİNDEN GEÇİŞİN TAHMİN EDİLMESİNDE KULLANILABİLECEK MEMBRANLAR

2.2.1 HAYVANSAL MEMBRANLAR

2.2.1.1 Domuz derisi

Domuz biyomedikal deneylerde kullanışlı bulunan bir hayvandır. Yapılan araştırmalar sonucu 12. ve 14. yüzyıllarda^{21,22} ve 16. yüzyılda Leonardo Da Vinci tarafından bile kullanıldığı tespit edilmiştir²³. İnsanla domuz derisi arasında pek çok ortak anatomik ve fiziksel özellik mevcuttur. Dolayısıyla domuz, deneysel çalışmalarda insan modeli olarak kullanılabilir. Domuzun vücut kütlesi ve derisi insan ile benzerlik gösterir ve çoğul örneklemeye (vücut sıvıları, biyopsiler) olanak sağlar. Aynı zamanda standart laboratuvar şartlarında çalışılamayacak kadar büyük bir canlı değildir. Domuz derisinde insan derisi gibi seyrek kıl folikülleri ile kaplıdır ve pigmentasyon açısından bazı bölgelerde zengin bazı bölgelerde fakirdir²⁴.

Deriden geçiş çalışmalarında da deney hayvanı kullanımı yaygındır, çünkü deney hayvanları ile çalışmak daha kolaydır 1960'larda Montagna domuz ile insan derisi arasındaki benzerlikleri ve farkları yayınlamıştır^{25,26}. Bu çalışmalara göre her iki deri de dermis tabakası papiller yapılı ve elastiktir. İnsan ve domuz derileri damarlanma (insanda zengin domuzda fakir) ve sebase bezleri açısından bazı farklar gösterir. İnsan derisinde bol miktarda ekrin ter bezi bulunurken, domuz derisinde yalnızca epokrin bezler bulunmaktadır²⁷. Farklılıklara rağmen iki deri arasındaki benzerlikler geçiş çalışmalarında domuz derisi diğer gelişmiş memeli derilerine göre insan derisine daha iyi bir model oluşturmaktadır²⁷.

Başka çalışmalarda ise insan ve domuz derisinin SC açısından benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir²⁸. Domuz ve insan epidermisi yenilenme süresi (rejenerasyon) ve keratin proteinlerinin oran ve karakteri açısından çok benzerdir. Domuz SC'unun protein çeşitliliği insan epidermis içeriği ile

oldukça benzerdir. Açıkçası domuz SC'u lif yoğunluğu ve hücre tabakalanması açısından insan derisi ile hemen hemen aynıdır²⁹.

Domuz derisinin termal yaralanmaları üzerine çalışılırken insan derisinin damar sistemi ile benzerliği fark edilmiştir. Hatta araştırmacı yayınında bu durum hakkında “insan ve domuz derisi kan damarları açısından o kadar benzer ki sadece bu faktöre bakarak birbirinden ayırmak imkansız” diye bahsetmiştir³⁰. Bir başka çalışmada ise insan ve domuz derisi epidermis ve dermis kan damarlarının benzerliği araştırılırken her iki deride endotelial hücrelerin benzer platinijen aktivatör fonksiyonuna sahip olduğu bulunmuştur³¹.

Dermis kollojen fiber yapısı araştırmalarında ışık ve elektron mikroskobu kullanılmıştır³². Sonuçta domuz derisi kollajen fibrillerinin kalınlığı bakımından insan derisi ile benzerlik göstermektedir. Hatta ergen domuz derisinin insan derisine genç domuzdan daha benzer olduğu bulunmuştur³³.

Başka bir çalışmada ise domuz derisinin epidermal-dermal birleşme bölgesi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiş ve insan derisi ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.²⁶

Glikosfingolipit ve keratinlerin incelendiği bir çalışmada ise insan ve domuz derisinin biyokimyasal benzerlikleri yayınlanmıştır³⁴. Çalışmaya göre domuz epidermis enzim içerikleri insan enzimleri ile ayna benzerliği göstermiştir.

İnsanda ilk perkütan absorpsiyon çalışması kortisol ile yapılmıştır ve cinsiyet, anatomik bölge ve yaş farklılıklarından dolayı varyasyonlar yayınlanmıştır³⁵. Tabii ki hayvanlarda da böyle bölgesel farklılıklar vardır fakat domuzlarda bu farklılık daha azdır. Domuzlarda perkütan absorpsiyon çalışmaları genelde sırt bölgesi, bacak derisi veya kulak derisi ile yapılmıştır.

Bir başka çalışmada ise domuzların arka, omuz ve kalça derilerinin enzimatik içerikleri araştırılmıştır²⁷. Su ve bir takım etkin maddelerle yapılan deriden geçiş çalışmalarının sonuçlarına göre, insan ve domuz derileri su geçirgenliği açısından aynıdır. Başka kimyasal ürünlerle yapılan çalışmalarda domuz derisi ile insan derisi birbirine çok yakın sonuçlar vermiştir. İnsan

derisinden geçişin tahmin edilmesi için parakuat, karbosil, aldrin ve fluazitobutil etkin maddeleri ile in vitro çalışmalar yapılmış ve insan derisinden alınan sonuçlara yakın sonuçlar elde edilmiřtir³⁶.

Heksaklorofenin deriden sistemik dolaşıma geçişi ile ilgili yapılan diğerk çalışmalarda insan ve domuzda birbirine yakın konsantrasyonlar bulunmuş fakat maymun ve sıçan kanında çok farklı konsantrasyonlarda madde tespit edilmiřtir³⁷ . .

Deney domuzlarının arka bacak derileri ve insan önkol derilerinin karşılaştırılması in vivo olarak çeşitli kimyasallar ile denenmiş ve birbirine çok yakın sonuçlar elde edilmiřtir³⁸.

İnsan ve domuz derisi ile karşılaştırmalı olarak yapılan deneylerde maddelerin geçiş zellikleri Tablo1 de gösterilmiştir

Tablo1: İnsan ve domuz derisinin etkin maddelere göre karřılařtırılması²⁴.

.Madde	In vivo	In vitro	Kaynak
Su	+		Galey W.R. 1976
Benzoik Asit		+	Reifenrath W.G. 1984
Asetil Salisilik Asit	+		Bronaugh R.I. 1982
Haloprojin		+	Bartek M.J. 1972
Takrin	+		Gore A.V. 1998
Heksaklorofen		+	Chow C. 1978
Kortizon		+	Bartek M.J. 1972
Progesteron		+	Chow C. 1978
Flokinolon asetinit		+	Reifenrath W.G. 1984

Literatürdeki sonuçlarına dayanarak domuz derisinin insan derisi geçiş çalışmalarına benzer sonuçlar vermesi göz önüne alındığında domuz derisinin insan derisinden geçiş çalışmalarına örnek oluşturabilecek bir hayvan modeli olduğu söylenebilir. Yinede bütün araştırmacıların da yayınlarında yinelediği gibi farklı kimyasallarla farklı tepkiler verdiği de

görülmektedir, ayrıca gelişmiş organizmalarda çalışıldığı için tür içi genetik varyasyondan kaynaklı hataları da göz ardı etmemek gerekir.

Yayınlarda aynı şartlar altında genç hayvanlarda yaşlı hayvanlara göre daha hızlı ilaç geçişi olduğu her zaman vurgulanmıştır. Araştırmacıların deneylerinde kullandıkları domuz derisi çoğunlukla aynı hayvanlardandır ve her zaman aynı yaş, büyüklük ve ağırlıkta sağlamak mümkün değildir. Dolayısıyla bireysel ve genetik farklardan ötürü hayvansal kaynaklar istenen standardizasyon ve objektif yaklaşım sunulamamaktadır. Deriden geçişin tahmin edilmesi için yapay membranların kullanımı daha kesin ve doğru sonuçlar elde edilmesini sağlayabilir.

2.2.1.2 Fare ve sıçan derisi

Fare ve sıçanlar kolay yetişen, ekonomik, bakımı kolay, laboratuvar ölçeğinde çalışılması kolay, metabolizması hızlı dolayısıyla deneylerde hızlı sonuç alınabilen ve ekonomik hayvanlar olduğu için in vivo çalışmalarda sıkça kullanılmaktadır³⁹.

Yukarıda sıralanan avantajlarından dolayı fare ve sıçan derileri deriden geçiş çalışmalarında insan derisine alternatif olarak ta kullanılmaktadır fakat fare ve sıçan derilerinde kıl folikülü sayısının fazla olması, malonositlerin yüzeye yakın olması, SC'un daha ince olması, lipid yoğunluğunun ve yapısının farklı olması gibi insan derisinden bir takım farklılıkları vardır⁴⁰.

2001 yılında yapılan karşılaştırılmalı çalışmada sıçan derisi ve domuz derisi kullanılmıştır. Deriden geçiş özellikleri bilinen topikal dermatolojik ajanlar (salisilik asit, hidrokortizon, klotrimazol ve terbinafin) kullanılmıştır. Sıçan derisi 8-12 haftalık tüysüz hayvanlardan alınmıştır. Sonuçta tüm maddelerde sıçan derisi domuz derisine göre 2-5 kat, insan derisine göre ise 40-50 kat daha geçirgen bulunmuştur⁴¹.

1990 yılında P.C. Rigg ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada yılan ve tüysüz fare derileri insan derisine model olarak kullanılmıştır⁴². Deneyde 60-80 günlük farelerin sırt derisi kullanılmıştır. Sonuç olarak fare derisinin su

geçirgenliği insan derisine göre günden güne artmış 8. gün insan derisine göre 60 kat fazla suya geçirgen hale gelmiştir dolayısıyla yapısı bozulmuştur. 5-florourasil ile yapılan başka bir deneyde ise 3 ila 17 kat fazla permeabilite katsayısı vermiştir⁴².

Yapılan çalışmaların ışığında fare ve sıçanın deney hayvanı olarak çok kullanışlı olması ve laboratuar şartlarında in vivo çalışmalar açısından vazgeçilmez olmasına rağmen derilerinin insan derisine çok uygun bir model oluşturamayacağı sonucuna varılmıştır.

2.2.1.3 Yılan derisi

Doğada değiştirilerek atılan yılan derileri in vitro madde geçiş çalışmalarında insan derisine model olarak kullanılmaktadır. İnsan derisine benzer geçirgenlik özellikleri gösterdiği iddia edilmektedir^{43,44}. Yetişkin yılanların 2-3 ayda bir deri değiştirmesinden dolayı öldürmeye gerek kalmadan deri toplanabilmesine olanak sağlamaktadır. Membranlar bozulmadan oda sıcaklığında saklanabilir. İnsan ve fare derileri gibi aşırı yağlı olmayıp UV spektrofotometrede analize olanak sağlamaktadır⁴³.

Deri değiştiren sürüngenlerde deriden su kaydını önleyen bariyer epidermisin mesos tabakasıdır. Bu tabaka α ve β keratin tabakaları arasında oldukça yayvan hücreler, ekstrasellüler lipitler ve moses granüllerinden oluşur. Lipit yapısı ve yoğunluğu ekolojik şartlara göre değişir ve deriden su geçişi bu özelliklere göre belirlenir. Yılan derisinde fosfolipitler insan derisinde ki spingolipit ve yağ asitlerinin görevini üstlenmiştir^{45,46}.

Rigg ve ark. yaptığı karşılaştırılmalı çalışmada Hindistan pitonu ve Amerikan siyah sıçan yılanı derisi ile tüysüz fare derisi geçirgenlik açısından insan derisine model olarak incelenmiştir. İlk çalışmada uzun hidrasyon ardından su ve heksonat geçirgenliği test edilmiştir. İkinci çalışmada ise model ilaç 5-florourasilin membrandan geçişi test edilmiştir. Son olarak ise membranlar asetona maruz bırakılmış (yağlardan arındırmak için) ve ardından 5-florourasil geçirgenliği test edilmiştir. Sonuçta 8 günlük hidrasyon

alışmasında yılan derileri tüysüz tavşan derisine göre daha uygun bir model oluşturmuştur. 5-florourasil ile yapılan çalışmada hidrasyon çalışmaları gibi piton derisi insan derisi ile neredeyse aynı permeabilite kat sayısı (k_p) değerlerini vermiştir⁴².

Aseton maruziyetinden sonra 5-florourasil geçişinde ise tüysüz fare derisi neredeyse tamamen geçirgen hale geldiği halde yılan derileri nispeten insan derilerine uygun k_p değerleri vermiştir. Bu da deride bulunan yağların bariyer özelliğini göstermektedir.

Yapılan araştırmalar ışığında söylenebilir ki piton derisi insan derisine uygun bir model oluşturmaktadır ve hayvan öldürülmesine gerek kalmadan membranın oda sıcaklığında saklanabilir olması gibi avantajlarından dolayı tercih edilebilir, fakat piton derisinde çok az çalışma yapılmış olmasından dolayı farklı özellikteki diğer maddelerle nasıl sonuçlar vereceği bilinmemektedir. Bu yüzden daha çok madde ile çalışılması gerekmektedir. Yine benzer şekilde yılan derisinin bir hayvansal ürün olmasından ötürü türsel ve genetik farklılıkların etkisinin araştırılması için daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bu yüzden yapılan çalışmalarda olumlu sonuçlar alınmış olsa da farmasötik endüstride kullanılabilecek uygun model membran olarak nitelendirilmesi şu anda olanaksız görünmektedir.

2.2.2 SENTETİK MEMBRANLAR

Deriden ilaç geçişinin modellenmesinde ideal olan insan derisi ile yapılan çalışmalardır fakat yeni geliştirilen moleküllerin olası yan etkileri bilinemeyeceği için in vitro çalışmalar bitmiş ürün veya sistemlerde yapılmaktadır. Dolayısıyla ilaç geliştirme işleminin ilk basamaklarında in vitro geçiş deneylerinde kullanılabilecek uygun model membran ihtiyacı vardır. Ex vivo çalışmalarda kullanılabilecek ideal membran ise insan derisidir fakat insan derisinin temininin zor olması, saklama koşullarının çok hassas olması, dondurulduğu veya esnetildiği taktirde yapısının ve geçiş özelliklerinin bozulması, vücudun farklı bölgelerinden alınan derinin farklı geçiş özellikleri göstermesi gibi dezavantajlarından dolayı araştırmacılar model membran

arayışına girmişlerdir. Yapılan araştırma ve denemeler sonucu daha önce de bahsedildiği gibi, son yıllara kadar model membran olarak domuz derisi, sıçan ve tüysüz fare derisi, tavşan kulak derisi ve yılan döküntü derisi gibi hayvansal membranlar kullanılmıştır. Deriden ilaç geçiş sistemlerinin geliştirme işlemlerinin ilk basamaklarında hayvan çalışmalarının gereksiz hayvan ölümlerine sebep olması, genetik faktörlerden dolayı standart membran özellikleri göstermemeleri, deney maliyetlerinin artması, hayvan çalışmalarının zor olması nedeniyle araştırmacılar deriden ilaç geçiş sistemi geliştirmenin ilk basamaklarında kullanılabilecek ve hazırlanan ilaç veya sistemin insan derisinden geçişiyle ilgili fikir verebilecek düşük maliyetli, hızlı sonuç verebilecek, standart özelliklerde model membran geliştirme çalışmaları yapmaktadırlar.

Feldstein ve ark. tarafından yapılan çalışmada insan derisi ve polidimetilsiloksan-polikarbonat kopolimer karbosil membrandan 14 etken madde ile karşılaştırmalı geçiş deneyi yapılmıştır. Deneyde anabisin, isosorbit dinitrat, aminostigmin, gliseril trinitrat, verapamil, propranolol, silobolin, faridone, klonidin, sitizin, fenazepam, nifedipin, fluorizin, salbutamol kullanılmıştır. Geçiş deneylerinde kullanılacak etkin maddeler özellikle geniş farmasötik etki ve fizikokimyasal özellik oluşturacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan membranlardan geçiş çalışmaları yapılmıştır. Çalışmalar sonucu bulunan maddeye özgü geçiş katsayıları insan derisinden yapılan geçiş çalışmalarından elde edilen penetrasyon katsayıları ve oktanol-su partiyon katsayıları ile karşılaştırılmıştır. Karbosil membranlar insan derisi gibi heterofaz ve heteropolar yapıdadır. Dolayısıyla her ikisinde de madde geçiş mekanizması çözünürlük-difüzyon prosesi ile açıklanır. Çalışmada çok farklı terapötik, fizikokimyasal ve yapısal özelliklere sahip maddelerle çalışılmıştır ve birbirine yakın sonuçlar alınmıştır. Böylece yapılan hesaplamaların ışığında araştırmacılar hazırlanan karbosil membranın deriden geçişin kantitatif tahmininde kullanılabilecek model membran olabileceğini belirtmişlerdir⁴⁷.

Kock ve ark. tarafından yapılan çalışmada zwitteriyonik sürfaktan 6-eikosildimetil aminoheksonat ile domuz ve insan stratum korneumları hücrelerine ayrılarak yeniden düzenlenmiştir. Hazırlanan membranlar insan stratum korneumu ile bariyer fonksiyonu, mekanik özellikleri ve mikroskopik özellikleri bakımından karşılaştırılmıştır. Sonuçta hazırlanan membranlar su geçirgenliği, mekanik ve mikroskopik özellikleri bakımından insan derisi ile benzer özellikler göstermektedir⁴⁸.

Duraje ve ark. kitozan kaynaklı membranların geliştirilmesi ve permeabilitesi ile ilgili çalışma yapmışlardır⁴⁹. Çalışma için üretilen kitozan bazlı membranlarla yapılan penetrasyon çalışmalarından elde edilen sonuçlar sıçan derisinin permasyon sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Kitozanın çapraz bağlanması için kullanılan sodyum tri fosfat (NaTTP) derişiminin, kurutma sıcaklığının, kurutma süresinin ve kitozan derişiminin gecikme zamanı ve permasyon katsayısı üzerinde etkisi olduğu düşünülmektedir. Bu yüzden çalışmaları için farklı kalınlık ve çapraz bağlara sahip 18 model membran hazırlanmıştır. Hazırlanan membranlar ve sıçan derisi ile model ilaç olarak diklofenak sodyum ile permasyon çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar istatistik analizler ile (ANOVA) değerlendirilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde 3S(%3,5 kitozan %11,7 NaTTP içeren membran) kodlu hazırlanan membranın matematik modelleme ile domuz derisinin geçirgenlik özelliklerini diklofenak sodyum için matematik modelleme ile taklit edebildiği sonucuna varılmıştır. Fakat insan derisinin modellenmesi ve deriden geçişin önceden tahmin edilebilmesi için membran geliştirme ve farklı özellikteki etkin maddelerle denemeler yapılmasının gerekliliği araştırmacılar tarafından da belirtilmiştir⁴⁹.

Başka bir çalışmada ise kaplanmış fiberden hazırlanan membranlar ile deriden geçişin tahmin edilmesi için çalışmalar yapılmıştır. Çalışma membran ile molekül arasındaki ilişkinin gücünün kantitatif incelenmesi esasına dayanmaktadır⁵⁰. Araştırmacılar kaplanmış fiberlerin moleküler ilişkileri karakterize edildiğinde membran haline getirilmiş fiberler topluluğunun deriden geçişi taklit edebilecek özellikleri taşıyabileceğini düşünmektedir.

Deneyler geniş fizikokimyasal ve terapötik özellikte seçilen 32 model madde ile yapılmıştır. Absorbsiyonun tam olarak simule edilebilmesi için üç çeşit fiberden hazırlanan membranlar kullanılmıştır. Polidimetilsiloksan (PDMC) lipofilik, CarboWax (mum) hidrojen bağları için ve poliakrilat (PA) elektron bağları için kullanılmıştır. Çalışmalar sürekli akış hücresi ve GC/MS sistemi ile yapılmıştır. Çalışmalarda geçiş membranı olarak hazırlanan üç kaplı fiber membran ve domuz derisi kullanılmış ayrıca veriler literatürden elde edilen insan derisinden geçiş sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Sonuçta PA mum kombinasyonu moleküler bağlar açısından deri permeabilitesi ile daha uyumlu sonuçlar vermişlerdir. PDMS ve mum veya PDMS ve PA kombinasyonları ise insan ve hayvan derileri ile düşük korelasyon sağlamışlardır. Bu veriler ışığında MCF sisteminin deri permeabilitesinin önceden tahmin edilmesinde hayvansal derilerin yerine kullanılabileceği belirtilmiştir⁵⁰.

Sentetik membranlardan madde geçişi ile yapılan bir çalışmada hidrokortizonun (HC) iki krem formülasyonunun aynı por çapı ve kalınlıkta selüloz asetat, selüloz ve polisülfon membranlardan geçiş özellikleri incelenmiştir. Sonuçta HC'nin membrandan akısının sentetik membranın tipinden etkilenmediği sonucuna varılmıştır⁵¹.

Başka bir çalışmada ise polisülfon, selüloz esterleri, politetrafloroetilen, ve polipropilen yapıları farklı por çapı ve kalınlıkta on farklı membran ile nitrogliserin merheminden ilaç geçiş deneyleri yapılmıştır. Deney sonuçlarına göre çalışılan membranlar iki gruba ayrılmıştır. Birinci grupta daha yüksek ilaç geçişi sağlayan membranlar toplamıştır. Birinci gruptaki membranlar polisülfon, akrilik polimer, fiber glass, silikon ve selüloz ester. İkinci grupta ise daha az geçirgen membranlar toplanmıştır, ikinci gruptaki membranlar ise PTFE-polietilen, selüloz ester(büyük membran kalınlığında) polipropilen ve PTFE dir⁵².

Sentetik membranların bariyer özellikleri ile yapılan başka bir çalışmada ketoprofenin jel formülasyonunun membranlardan geçiş özellikleri

test edilmiştir. Çalışmada naylon (0,2 µm por çapı ve 129,3 µm kalınlıkta) Celgrad propilen (0,05µm por çapı ve 26µm kalınlıkta) ve poröz olmayan silikon membran (57µm kalınlıkta) kullanılmıştır. Sonuçta naylon membran en az bariyer özelliğe sahip olan membran olarak belirlenmiştir. Diğer membranlar hakkında detaylı açıklama yapılmamıştır⁵³.

Sentetik membranların bariyer özellikleri ile ilgili yapılan en kapsamlı çalışmada ise selülozik ve polimerik bazlı onüç membran ibuprofenin doymuş çözeltisi ile test edilmiştir²⁰. Kullanılan selülozik membranlar visking, suprofan, benzoylated tubing, selüloz ester ve selüloz nitrat; polimerik membranlar ise AN 69, Biyodin, Supor, Tuffrin, Nuclepor, Cyclopore, Celgard 3500 ve silikondur. Membranların etkin madde geçişine karşı gösterdiği bariyer özelliği ile ilgili parametreler Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo2: çalışmada kullanılan membranların madde geçirgenlik parametreleri²⁰.

Membran	Akı (mg/cm ² /saat)	6 saatlik kümülatif difüzyon (mg/cm ²)	Varyasyon Katsayısı %
Selüloz Nitrat	17,65±2,06	97,89±5,79	11,7
Nuclepore	17,38±0,79	97,75±4,01	4,6
Celgard	15,45±1,02	67,28±3,66	6,6
Siklopore	14,87±0,50	86,32±2,77	3,4
Tuffrin	13,54±0,49	77,23±4,80	3,6
Supor	10,48±0,31	63,63±2,08	2,9
AN69	8,14±0,38	47,84±2,25	4,7
Selüloz ester	2,66±0,19	16,30±0,84	7,3
Biodyne B	1,96±0,07	19,32±0,62	3,6
Biodyne C	1,77±0,17	18,44±0,59	4,4
Cuprophane	1,57±0,15	17,94±0,69	4,7
Benzoylated selüloz	1,51±0,04	13,32±0,24	2,9
Visking	1,39±0,09	9,88±0,37	6,2
PDMS	0,09±0,01	0,45±0,002	6,0

Çalışma sonucunda membranlar yüksek ve düşük akılı olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Tipik mikroporöz membranlar yüksek akılı ultrafiltrasyon membranları ise düşük akılı olarak belirlenmiştir. Topikal ürünlerin kalite

kontrolünde kullanılmak üzere membran seçilirken aşağıdaki etmenlere dikkat edilmesi gerektiği belirtilmiştir.

1. Formülasyon analizlerinde kullanılacak yüksek akıllı membran en az %60 poröziteye sahip ve 10 µm kalınlıkta olmalıdır.
2. Franz hücreleri ile çalışılacak membranların diğer uygulamalardaki özellikleri incelenmelidir.
3. Kaplı membranlar kullanışlı değildir.
4. Membran içeriğinin çalışılacak etkin madde ile uyumlu olmasına dikkat edilmelidir.
5. Donor ve reseptör içerikleri membran ile uyumluluğuna dikkat edilmelidir.

Sonuçta piyasada bulunan sentetik poröz membranların hepsi farklı difüzyon özellikleri göstermiştir ve topikal preparatların kalite kontrolü için membran seçiminde test edilecek etkin maddeye göre çalışma yapılması ve çalışmanın sonucuna göre teste en uygun membranın seçilmesi tavsiye edilmiştir²⁰

2.3 KARBON NANOTÜPLER

Karbon element tipi, gücü, bağ yapma yetenekleri dolayısıyla periyodik tablonun en farklı özellikler taşıyan elementlerindendir. Yaptığı bağların çeşitliliği ve ilgili geometrik yapıları nedeniyle yapısal izomerler, geometrik izomerler ve enantiyomerler meydana gelir. Bunlar büyük, kompleks, farklı yapıda ve sonsuz çeşitlilikte organik moleküllerin oluşabilmesinin temel nedenidir.

2.3.1 Karbonun değişik formları (allatropoları):

Katı karbonun üç değişik formu vardır. Bunlar; grafit, elmas ve buckminster fullerendir. Elmasın kristal yapısında molekülün sp^3 hibritleşmesi her karbon atomu 4 farklı karbon atomu ile bağ yapıp tetrahedral bir yapı oluşturur. Bu kristal yapısı elmasa sertlik (bilinen en sert madde elmadır) ve mükemmel ısı iletimi özelliği sağlar (bakırdan 5 kat daha iyi)⁵⁴. Sp^3 hibridize bağlar elektrik yalıtım özelliklerini ve şeffaflığı sağlar. Grafit ise düzlemsel tabakalar halinde sp^2 hibridize karbon atomlarının birbiriyle bağ yapması sonucu heksagonal bir yapı oluşturmuştur. Kimyasal bağların farklı geometrileri grafitte yumuşak, kaygan, opak ve elektriksel iletken özellik kazandırmıştır.

Buckminster fullerenler veya fulleren üçüncü karbon formudur. Tüm karbon atomları sp^3 hibridize sferoidal veya yapılı moleküllerdir⁵⁵.

Flurenler 1985 yılında Kroto ve ark. tarafından ilk kez keşfedilmiştir⁵⁵. İlk keşfedilen fluren C_{60} veya "bukky ball" futbol topu (ikozahedral) yapılıdır. 60 karbon atomunun pentagon ve heksagonlar halinde bağlanmaları ile oluşmaktadır. Karbon atomları sp^2 hibridizedir fakat grafitten farklı olarak düzlemsel tabaka halinde değillerdir. C_{60} 'ın sp^2 hibridize karbon atomlarının bağ yapılarından kaynaklanan geometrisi C_{60} a yeni özellikler kazandırmıştır. Grafit yarı metalken, C_{60} ayrı iletkendir^{55,56}.

1990 yılında karbon kompozitleri çalışmasında Rick Smalley tübüler – tüp şeklinde- fulleren oluşturmayı planlamıştır⁵⁷. Bunu Bucky tüp olarak tanımlamış ve C_{60} molekülünü uzatarak yapılabileceğini belirtmiştir. Ağustos 1991 de Dresselhaus karbon nanotüplerin fulleren hemisferlerine benzer şekilde kapaklı olacağı belirtmiştir⁵⁸. Karbon nanotüplerin deneysel üretimleri 1991 yılında İijima ve ark. tarafından çok tabakalı (ÇTKNT) olarak gerçekleştirilmiştir⁵⁹. İki yıl sonra ise Bethune ve ark. tarafından tek tabakalı karbon nanotüp (TTKNT) üretimi gerçekleştirilmiştir⁶⁰.

Fakat incelenen araştırmalara bakıldığında karbon nanotüplerin yaklaşık 40 yıldır bilindiği ortaya çıkmaktadır⁶¹. Fakat C_{60} 'ın keşfiyle ve diğer

fulleren yapılarının teorik çalışmaları ile bilim dünyasının ilgisini çekmiştir. Bu öncü çalışmalardan sonra karbon nanotüpler nanoteknoloji alanında incelenmektedir ve çalışmalar büyük bir hızla devam etmektedir. 1992 yılında "karbon nanotüp" kelimesini içeren yalnız 9 makale yayınlanmışken 2004 yılında bu sayı 5000 in üzerine çıkmıştır.

2.3.2 Yapısal Özellikleri

Grafitin tabakalarında çok sayıda dönme ve kiralite bulunmasından dolayı karbon nanotüplerin grafit tabakalarının yuvarlatılarak yapılabileceği ilk kez Bacon tarafından farkedilmiştir⁶¹. Bunun ardından grafit tabakaların yuvarlatılıp nanotüp oluşturma fikri Iijima tarafından belirtilmiştir⁶¹. Iijima ilk etapta 2 ila 20 tabakalı ÇTKNT'ler üretmiştir fakat 1993 yılındaki çalışmasında TTKNT'leri üretmiş ve bunların özelliklerini tanımlamıştır⁵⁹. TTKNT yuvarlanmış tek grafit tabakasıdır. Dolayısıyla büyüme mekanizmaları ÇTKNT ler ile birebir uyuşmaz daha çok halkaya benzerler ve grafit tabakasının yuvarlanması tüpün temel özellikleri belirler.

C_h nanotüpün temel özelliklerini belirleyen parametredir. C_h nanotüpün yüzeyinde iki ekivalen atomun oluşturduğu çember olarak tarif edilir⁶³:

$$C_h = n\vec{a}_1 + m\vec{a}_2 \quad \text{Eşitlik3}$$

$\vec{a}_1$ ve $\vec{a}_2$ grafitin iki temel vektörüdür ve n ve m ise tamsayılardır. n ve m değerleri indekslerde bulunabilir kiral açısı⁶³ :

$$\theta = \tan^{-1} \left[\sqrt{\frac{n}{2m+n}} \right] \quad \text{Eşitlik4}$$

formülünden hesaplanır.

Kiral açısı karbon nanotüplerin elektronik özellikleri bakımından 3 sınıfa ayrılır

- 1) sandalye (armchair) ($m=n$ $\emptyset=30$),
- 2) zig-zag ($m=0$ $n>0$ $\emptyset=0$)
- 3) kiral (chiral) ($0<|m|<n$ $0<\emptyset<30$).

Sandalye karbon nanotüpler metaliktir (sıfır bant boşluğu metali yarı dejenere etmiştir). Zig-zag ve kiral nanotüplerde sonlu bant boşluğu eğer $n-m/3=i$ (i tam sayısı ve $m \neq n$) ise yarı metal diğer durumlarda ise yarı iletken kabul edilmiştir. Yarı metalik ve yarı iletken karbon nanotüplerde bant boşluğu ölçüsü yaklaşık tüp çapının tersidir ve her nanotüp için farklı elektronik özellik verir⁶⁴.

Nanotüpün çapı aşağıdaki denklemle tanırlanır⁶⁴:

$$d_t = \sqrt{\frac{3}{\pi} \left(a_{c-c} (m^2 + mn + n^2)^{\frac{1}{2}} \right)} = C_h / \pi \quad \text{Eşitlik5}$$

Burada C_h uzunluğu, a_{c-c} karbon karbon bağının uzunluğu (1,42Å) ifade eder. Farklı çap ve kiraliteler sonucu kendine özel mekanik, elektriksel, piezoelektrik ve optik özelliklerde yüz değişik farklı nanotüp tanımlanabilir.

2.3.3 Karbon Nanotüplerin Sentezi

ÇTKNTler mekanik, termal ve elektrikli aletlerde TTKNTlerden çok daha önce kullanılmaya başlamıştır. Çünkü ÇTKNT'lerin üretimi TTKNT'lerden çok daha kolay ve verimlidir ayrıca verimli üretimleri için uzun süre alet geliştirilememiştir. ÇTKNT'nin ilk üretimi Iijimanın 1991 yılındaki yayınından 1 yıl sonra Ebbessen ve Ajayan tarafından yayınlanmıştır⁶⁵. Iijima ve Bacon kıvılcım boşalma (Arc Discharge) sentez metodunu ayarlayarak %75 verimle birkaç gram ÇTKNT elde etmeyi başarmışlardır⁶⁶. Bu çalışma büyük ölçekli çalışmalara ön ayak olmuştur ve ÇTKNT'nin emisyon alanı özellikleri nedeniyle birçok alanda kullanılabilecek konvensiyonel bir materyal olduğu kanıtlanmıştır. Şu anda Motorola ÇTKNT kullanarak bir televizyon geliştirmektedir. ÇTKNT birçok polimer yapısında güçlendirici olarak kullanılmaktadır. Karbon fibere göre daha etkili ve düşük konsantrasyonda

etki göstermektedir. Şu anda ÇTKNT'nin bedeli oldukça düşüktür ve pek çok kimya firması tarafından üretilmektedir.

TTKNT ÇTKNT'lere göre kristal kalitesi daha yüksektir ve ucuz olarak üretilmeye başladığından beri araştırmacılar TTKNT'nin üzerine yoğunlaşmaya başlamıştır. Materyal teorik olarak tahmin edilen mekanik kuvvet ve termal ve elektriksel iletkenliği karşılamaktadır. Sonuçta vertikal TTKNT yapıları ÇTKNT'ye göre daha iyi saha emisyonu sağlamaktadır. Son 10 yıllık geliştirmelerle TTKNT'nin fiyatı ÇTKNT'ye göre oldukça pahalı hale gelmiştir. Fakat Hata ve ark. birkaç sefer %99,97 saflıkta TTKNT yi kimyasal buhar çöktürme reaktörü(CVD) ucuza üretmeyi başarmıştır⁶⁷.

TTKNT olağanüstü özellikleri nedeniyle ultra hızlı elektronik malzemelerin ve yüksek hassasiyetli kimyasal ve biyolojik sensörlerin üretiminde kullanılabilir⁶⁸⁻⁷⁰.

2.3.4 KNT Sentez Yöntemlerinin İncelenmesi

KNT sentezi çok çeşitli çevre koşullarında bile doğal olarak meydana gelebilir. Mesela, yüksek güçlü lazer odağının yakınında iki grafit elektrodunun arasında hidrokarbon gaz ocağından düzgün nanotüp formu oluşturulabilir. Sentez prosedürleri aşağıda verilmiştir:

2.3.4.1 Kıvılcım boşalma metodu

Kıvılcım boşalma metodu ÇTKNT ve TTKNT üretmek için geliştirilen ilk yöntemdir. Kıvılcım boşalma yönteminde düşük voltajlı (12-25V) ve yüksek akımlı (50-200 amper) güç kaynağı kullanılır. Şelale/kıvılcım 5 ila 20 mm alana sahip iki grafit levha arasındaki 1 mm'lik açıklıkta oluşur. Ortam atmosferini helyum veya argon gibi inert bir gaz oluşturur. Iijima ve Ichihashi ilk ÇTKNT sentezini bu yöntemle yapmıştır⁵⁹.

2.3.4.2 Lazer Kesme Yöntemi

İlk büyük ölçekli TTKNT üretimi 1996 yılında Rice Üniversitesinde Thess ve ark. tarafından yapılmıştır⁷¹. Lazer kesme tekniği 1200°C'de kuvarz tüp fırında ~500 Torr basınçlı argon veya helyum ortamında lazer ışınının %1,2 kobalt/nikel %98,8 grafit karışımına uygulanmasıdır. Nanometre boyutunda metal katalize ürünler grafit buharı içinde kendiliğinden oluşur. Ürünler çıkış kanalı yakınındaki soğuk yüzeyde toplanır. Üretilen ürünler %20 ile 80 verimle gerçekleşir. Teorikte kıvılcım boşalma ve lazer kesme aynı yöntemdir fakat metal alaşımlı grafit anotta TTKNT üretimi yapılabilir⁷².

2.3.4.3 Sıcakta Sentez Yöntemleri

2.3.4.3.1 Kimyasal Buhar Yoğunlaştırma (Chemical vapour disposition- CVD)

CVD ile ilk ÇTKNT sentezi Height ve ark. tarafından, ilk TTKNT sentezi ise Endo ve ark. tarafından yapılmıştır^{73,74}. CVD gram ölçeğindeki üretimlerden, elektronik devrelerde kullanım için üretilen SiO₂ üzerine sıralanmış TTKNT'lere kadar geniş bir ölçekte üretim yapılmasına olanak sağlar. Üretim geniş bir ortam sıcaklığı aralığında (550-1200°C) yüksek kalitede yapılabilir. Yöntem karbon buharını yüksek sıcaklıkta katalizör içeren substratta yoğunlaştırılması esasına dayanır.

2.3.4.3.2 Yüksek Basınçlı Karbon Monoksit Yöntemi (High Pressure Carbon Monoxide Synthesis (HiPCO))

HiPCO yöntemi ile gramdan kilografa kadar skalada TTKNT sentezi yapmak mümkündür^{75,76}. Son yıllarda yüksek kaliteli ve geniş ölçek aralıklı TTKNT sentezi için bütün dünya bu yöntemi kullanmaktadır. Reaktördeki 900-1100°C ve 30-50 atmosfer basınç ortamında CO gazına metal katalizör Fe(CO)₅ veya Ni(CO)₄ enjekte edilerek sentezlenir. TTKNT nanometre boyutunda metal katalize ürün olarak alınır. Sentez şartlarına göre %97

atomik saflıkta TTKNT elde edilir. Sentezlenen TTKNT 0,7-1,1 nm boyutunda olur⁷⁷.

2.3.4.3.3 Alev Yöntemi

Yüksek kaliteli TTKNT üretimi için uygun bir yöntem değildi. Genelde çok ucuz KNT üretimi için kullanılır. ÇTKNT üretimi için 1990 lardan beri kullanılmaktadır⁷⁸. Alev yönteminde genellikle metan(CH_4), etilen(C_2H_4) ve asetilen(C_2H_2) gibi hidrokarbon yakıtlarla oksidan (O_2) reaksiyona sokularak karbon dioksit(CO_2), su buharı(H_2O), karbon monoksit(CO), hidrojen(H_2) ve hidrokarbonlardan (C_2H_2 , C_2H_4 , C_2H_6 , gibi) oluşan gaz karışımı elde edilir. Oluşan hidrokarbonlar ve karbon monoksit karbon nanotüplerin üretiminde başlangıç maddesi olarak işlev görür. Metal katalizör alev merkezine başlık olarak yerleştirilir veya ortamda zerrecik olarak bulunur. Reaksiyon sırasında metal katalizör etkisiyle karbon nanotüpler ÇTKNT veya TTKNT olarak oluşur⁷⁹.

2.3.4.3.4 Plazma Artırmalı Kimyasal Buhar Yoğunlaştırma Yöntemi (Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition(PECVD))

Plazma artırmalı kimyasal buhar yoğunlaştırma (PECVD) sistemi TTKNT ve ÇTKNT üretimi için kullanılabilir⁸⁰. PECVD bir takım benzer sentez yöntemlerinin genel ismidir. Doğrudan PECVD ÇTKNT üretiminde kullanılabilir⁸¹. Uzak PECVD ise hem ÇTKNT hem TTKNT üretiminde kullanılabilir⁸². Uzak PECVD de ürün değişikliği için ortam ve girdi değişikliğine gidilir. Ortam şartlarına bağlı çok kaliteli ve verimli üretime olanak sağlar.

2.3.5 Karbon Nanotüp Kullanılarak Hazırlanan Materyaller

KNT 1990 yıllardan beri TTKNT, ÇTKNT ve ÇTKNT olarak kullanılmaktadır. 5-10 μm boyutunda karbon fiberler 1960'larda üretilmiş

buhar kaynaklı karbon nanofiberler ise 1980'lerde bulunmuştur. KNT'nin majör üretim yöntemleri kıvılcım boşalma, lazer kesme, HiPCO ve CVD dir. Bu yöntemler kabul edilebilir mekanik, elektriksel, termal ve optik özelliklerde ürün verdiği için kabul edilmiştir. KNT nin keşfi sıra dışı sağlam sistemlerin yapımına olanak sağlamıştır. KNT oluşturma metotlarında, polimer/KNT kompozit filmler yapımında ve fiberlerde anlamlı gelişmeler yayınlanmıştır. Karışık yapıların (kompozit) yapılması çalışmaları yarı kristal maddeler, amorf yapılar, termoplastikler, ısıya duyarlı reçeneler, suda çözünen polimerler, sıvı kristalin polimerler ve konjuge polimerleri içerir. Ayrıca KNT hali hazırda güçlendirilmiş seramik ve metal matris yapımında kullanılmaktadır. Sonuçta polimerler ve nanotüplerin beraber kullanımı ile gerilim direnci, gerilim kuvveti, dönme direnci, cam geçirgenlik ısısı, elektriksel öz iletkenliği, ısı iletkenliği, solvan direnci ve optik özellikleri iyileştirilebilir. Karbon nanotüpler pek çok endüstriyel üründe kullanılmaktadır.

2.3.6 Karbon Nanotüplerin Farmasötik Alanda Kullanımları

2.3.6.1 İlaç Taşıyıcı Sistem Olarak Kullanımları

Birçok düşük molekül ağırlıklı etkin madde farmakolojik profillerindeki biyoyararlanım ve intrinsik toksisite etkisinin terapötik etkisini tehlikeye atması dolayısıyla piyasaya sürülemeden reddedilmiştir. İlaç üretim basamağındaki bu olay bütün ilaç firmalarının etkisinden emin oldukları bir takım etkin maddeleri içeren formülasyonları piyasaya sürememelerine neden olmaktadır.

Bu durumun neden olduğu en önemli gelişme ise nanoteknolojinin ilaç üretiminin ilk basamaklarında kullanılmaya başlamasıdır. Benzer şekilde küçük molekülü ilaçlar için ortaya çıkan alternatif teknolojiler (lipozom, polimerler vb.) kanser ve enfektif hastalıkların tedavileri için hali hazırda piyasada vardır. Polimer veya lipit bazlı konjuge sistemlere hapsedilmiş doksorubisin ve amfoterisin-B de terapötik etkinlik artarken toksik etkileri

azalmıştır^{83,84}. Fakat bunlar gibi ilaç sistemleri çok pahalıdır ve daha ucuz ve tercih edilebilir ürünler tasarlanmaya çalışılmaktadır.

Yeni geliştirilen stratejilerden biri de ilaç taşıyıcı olarak nanoteknoloji kullanılarak geliştirilen fonksiyonlanmış karbon nanotüp ürünlerinin kullanımınıdır⁸⁵. Fonksiyonlanmış karbon nanotüpler (f-KNT) ilaç taşımak için çok geniş bir yüzey alanı sunarlar ve pek çok çeşit ilaç KNT'lere bağlanabilir ayrıca f-KNT konjuge ilaçlarla yapılan deney sonuçlarına göre terapötik ve diagnostik özelliklerinde pozitif değişimler gözlenmektedir^{86,87}.

KNT iskelet yapısı KNT'nin ilaç geçişindeki başarısının kilit noktasıdır. Çok geniş yüzey alanı sayesinde yüzeyinde birçok moleküllü yapısına bağlayabilir. Ayrıca teorik olarak birkaç çeşit molekülün (polar ve nonpolar gibi) bağlanabilir olmasından dolayı araştırmacısına sınırsız çalışma alanı sunar⁸⁸.

2.3.6.2 Karbon Nanotüplerin Fonksiyonlanması

Karbon nanotüpler tüp yapılı, büyük yüzey alanlı nano boyutlu yapılardır. Karbon nanotüpler yapısal olarak iki tiptedir. Birincisi tek katmanlı karbon nanotüplerdir (TTKNT) tek tabaka grafit yaprağının silindirik bağlanması ile oluşur. İkincisi ise çok tabakalı karbon nanotüp (ÇTKNT) olarak tarif edilir silindirik çoğul tabakalar arasında 0,34 nm civarında boşluklar vardır⁶².

KNT iki tip boşluk içermektedir. Bunlar uçlar ve yüzey gruplarıdır. Uçlar yapısal olarak fulleren hemisfere benzer, yüzey grupları ise grafit yapısına benzer ve tüpün genişliğine göre belli bir eğime sahiptir⁸⁵. Genelde reaksiyonlar uçlarda başlar ve yüzey gruplarında devam eder. Reaksiyon kapasitesi açısından selektif oksidasyonla uçlar fonksiyonlanırken yüzey grupları da inert yapılara dönüştürülebilir⁸⁹.

KNT üretiminde amorf karbon grupları ve metalik nanopartiküller gibi safsızlıklar yapıya yerleşebilir bunlar selektif oksidasyonla temizlenir ise kimyasal olarak daha inert KNT yapısı sağlanır⁹⁰. Saflaştırma işlemi

sırasında konsantre nitrik asit gibi güçlü oksidanlar kullanıldığında tüplerin uçları açılır ve oksijen fonksiyonlanmış gruplar oluşur ardından karboksilik asit gibi oksijene gruplar ile fonksiyonlanır⁹¹.

Başka bir seçenek ise yüzey grupları oluşturmaktadır. Yüzeye kovalan bağlarla çeşitli guruplar bağlanabilir ve KNT yüzey grupları oluşturulur⁸⁵

2.3.6.3 Karbon Nanotüp Nanotaşıyıcılar

Uçları açıldığında karbon nanotüpler nanokonteynerlara dönüşürler. Ortamdaki pek çok molekül, iyon metal yapının içerisine ve yüzeyine adsorblanır⁹². Fullerenler porfirinler, metaller KNT merkez boşluğundaki aşırı hidrofobik özellikten dolayı yapının içerisine dolar. İçerisine metal veya metal kompleksleri dolmuş KNT kontrast ajanların hücreye taşınması açısından yeni ve farklı bir yaklaşımdır.

2.3.6.4 Fonksiyonlanmış Karbon Nanotüplerin Farmasötik Ve Diagnostik Kullanımları

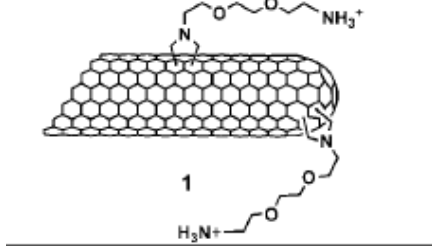
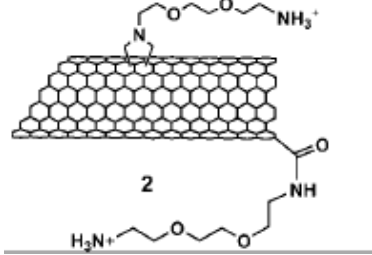
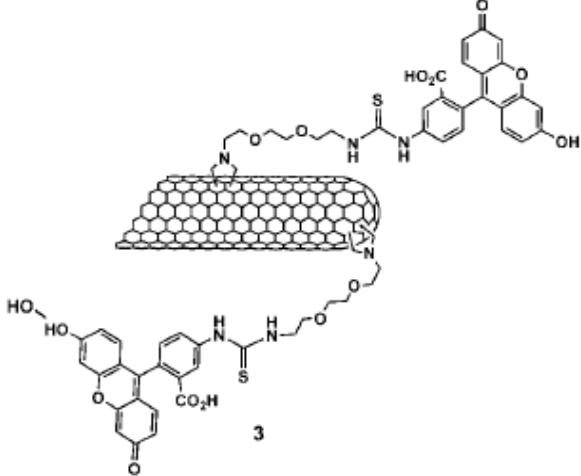
KNT amacına göre tanı, ilaç taşıyıcı ve hedefleme olarak üç farklı şekilde fonksiyonlanabilir. Her yeni fonksiyonel grup terapötik ajanlarla modifiye edilebilecek amin ve karboksil grupları içerir bunlar sayesinde çeşitli farmasötik aktiviteye sahip KNT konjugatları oluşturulur. KNT görüntüleme için optik (veya manyetik) uçları ve/veya kanser gibi kompleks hastalıkların tedavisinde kullanılabilecek vücudun belli bölgelerini hedefleyen moleküllerin bir veya birkaçını taşıyabilir⁹³. Tabi ki bu tip sentetik komplekslerin hepsinde görülebilecek in vivo stabilite sorunları ve birleşerek çökme (agregasyon) potansiyelleri bu tip teknolojilerin tedavide etkin kullanımlarında karşılaşılan en büyük problemdir. Yinede KNT aynı anda teşhis, tedavi ve taşıma özelliğine sahip kombinasyonların üretilebileceği önemli bir platformdur^{86,87}.

Karbon nanotüp fonksiyonlanması için yöntemlerin geliştirilmesiyle biyomedikal ürün olarak kullanım imkanı oluşmuştur. KNT yi çözünür hale

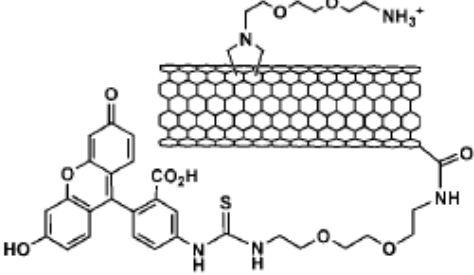
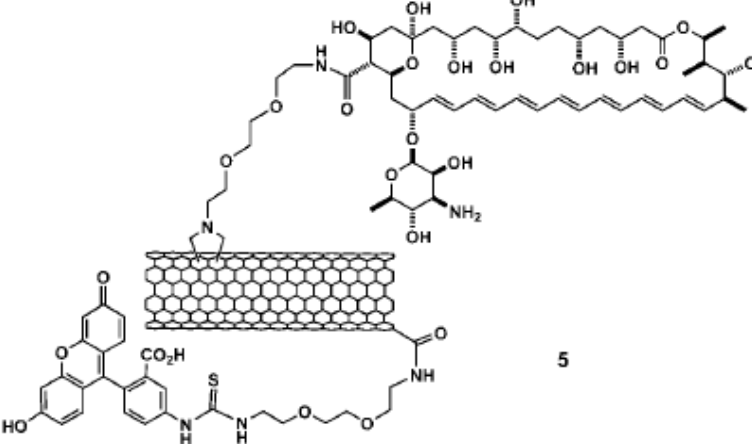
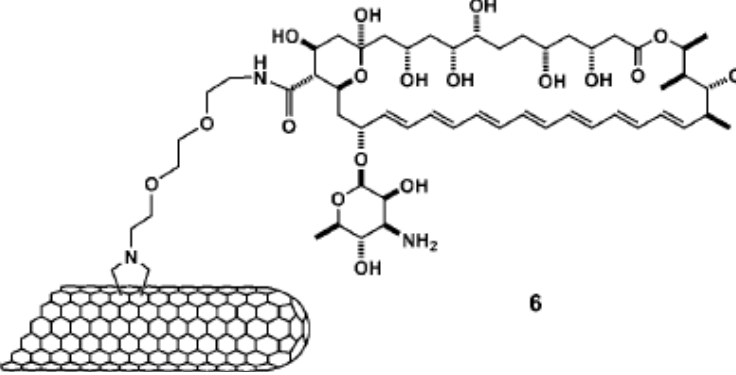
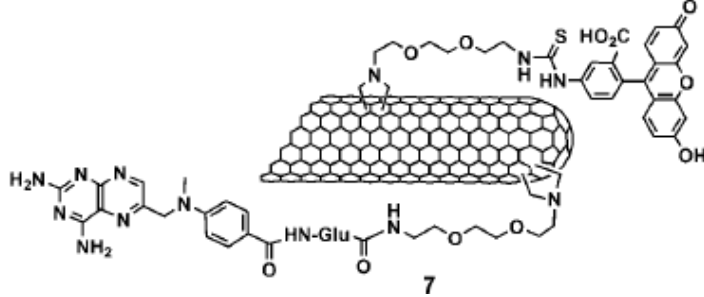
getirebilmek ve fizyolojik özellik kazandırabilmek içinde birtakım yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bunlar KNT'nin yaşayan sistemlere kabulü için en önemli noktadır. Ayrıca KNT li ürünlerde toksisite derecesi en önemli parametredir. Fonksiyonlamanın KNT nin sitotoksitesini azalttığı⁹⁴ ve biyouyumluluğunu artırdığı yayınlanmıştır⁹⁵. Fonksiyonlama KNTyi güvenli hale getirir, saflaştırır ve ilaç bağlanmasına hazır hale getirir⁹⁶.

Son zamanlarda araştırmacıların geliştirdiği azomentin ile 1-3 dipolar sikloadezyon reaksiyonu dikkat çekicidir⁹⁷. Oksidasyon ve amidasyon reaksiyonu ardından sikloadezyon reaksiyonu ile çifte fonksiyonlanmış KNT üretimi mümkündür⁹⁸.

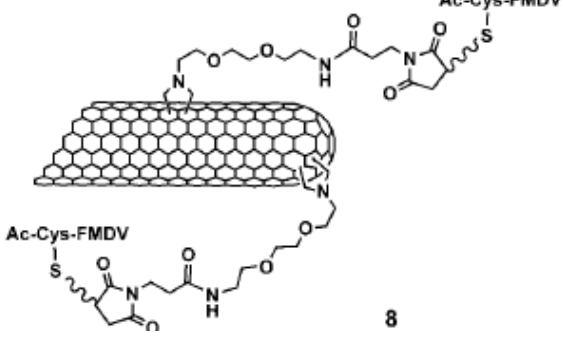
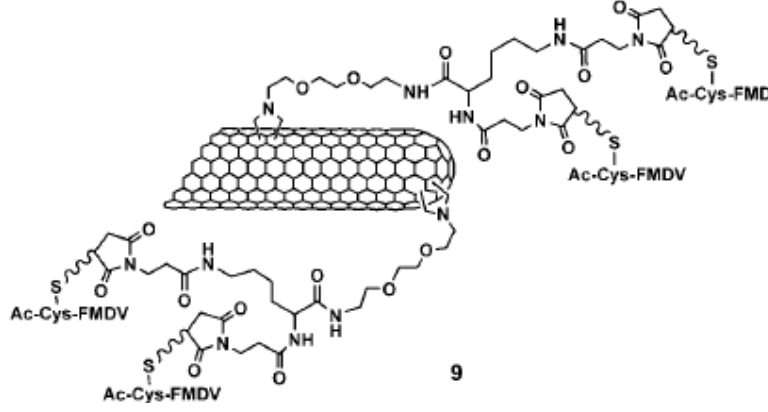
Tablo3: Sentezlenmiş ilaç taşıyıcı KNT sistemlerinden örnekler⁹³

Ürün	Biyolojik etki
 1	-Hücre içine girebilme -Hücreye madde taşıma -Hücre görünürleştirme -Plazmid DNA taşıma
 2	- KNT 4 ve 5 için ön hazırlık molekülü
 3	-Hücre içine girebilme -Hücreye madde taşıma -Hücre görünürleştirme

Tablo3: Sentezlenmiş ilaç taşıyıcı KNT sistemlerinden örnekler⁹³ (Devamı)

 4	-Hücre içine girebilme
 5	-Hücre içine girebilme -Hücre görünürleştirme
 6	-Hücreye antibiyotik taşıma
 7	-Hücre içine girebilme -Hücre görünürleştirme - Antikanser aktivite

Tablo3: Sentezlenmiş ilaç taşıyıcı KNT sistemlerinden örnekler⁹³ (Devamı)

 8	-İmmunojenik aktivite
 9	-İmmunojenik aktivite

Tabloda sentezlenen bir takım KNT sistemi gösterilmiştir. Bu ilaç sistemlerinin temel özellikleri aşağıda özetlenmiştir⁹³.

1. Hidrofilik zincirli yapılar: Tüm bağlantı noktaları çözünürlüğü artırıcı aminotrietilenglikol ile doldurulmuştur.
2. Floresan probalar içeren yapılar: Tablo 3'te 3, 4, 5, 7'de gösterilmiştir.
f- KNT 1 veya 2 ye floresan isotiyosiyanat (FITC) bağlanması ile biyolojik görünürlük sağlayan 3 ve 4 elde edilir. Sudaki çözünürlüğü sağlamak için amino grupları ayrılırken biyolojik görünürlüğün etkilenmemesi için ortagonal fonksiyon gruplarının korunması gerekmektedir.
3. Amfoterisin-B içeren yapı Tablo 3'te 5 ve 6'da gösterilmiştir. Amfoterisin-B antifungal bir ajandır.
4. Antikanserojen ajan metotreksat bağlanmış yapı Tablo3'te 7 ile gösterilmiştir.

5. İmmunojen peptit bağlanmış yapılar ise Tablo 3'te 8 ve 9 nolu bileşiklerdir.

Tabloda verilen tüm bileşiklerin yapısal özelliklerinden kaynaklı biyolojik tepkileri test edilmiş ve Tablo 3 de gösterilmiştir.

1 numaralı bileşik ile biyouygunluk ve hücresel ilişki testleri yapılmıştır. Bu testlerde çeşitli insan ve mürin hücreleri lenfositler ve makrofaj kültürlerine f- KNT verilmiştir. Amonyum ile fonksiyonlanmış KNT1 TEM ile incelendiğinde hücrelerin içerisinde lokalize olduğu bulunmuştur. Radyoaktif görünür KNT intravenöz yoldan farelere verildiğinde idrarla atıldığı tespit edilmiştir⁹⁵. Bu da fonksiyonlanmış suda çözünür KNT nin in-vivo iyi tolere edildiğini gösterir^{93,99,100}.

Nanotüpler kullanılarak değişik hücre içi veriliş yolları geliştirilebileceği bilinmektedir. Örneğin nanotüplerin içerisine veya yüzeyine kovalen bağlanan küçük molekülleri nanotüpler hücrelere kadar taşıyarak hücre içerisine küçük bir enjektör gibi verdiği ve bu olayın hücresel enerji gerektirmeksizin pasif yoldan olduğu bilinmektedir^{93,99}.

2.3.6.5 Karbon Nanotüplerin Gen Transferi İçin Fonksiyonlanması

KNT'nin fizyolojik şartlarda katyonik olduğu farkedildikten sonra hücre içi gen transferi için kullanılması için çalışılmıştır^{99,101}. İlk çalışma için KNT ile β -galaktozidaz enzimi birleştirilerek supramoleküler kompleks yapılmıştır⁹³. Yapılan denemeler sonucunda gen plazmid DNA'sına başarıyla yerleştirilmiştir. KNT bazlı genetik terapötikler gen transferi açısından potansiyel ürünlerdir. Hidrokarbonlarla modifiye edilmiş TTKNT-siRNA kompleksleri kanser tedavisinde kanser hücrelerine hedeflenmiş spesifik kanser hücre öldürücü olarak kullanılabilir^{102,103}. Fakat bu komplekslerin etkin kullanımının mümkün olabilmesi için in vivo validasyonlarının geliştirilmesi gerekmektedir.

2.3.6.6 Karbon Nanotüplerin Enfeksiyon Hastalıkları İçin Fonksiyonlanması

KNT antibiyotiklerle de fonksiyonlanabilir. Amfoterisin-B antifungallere dirençli mantar enfeksiyonları için kullanılan bir etken maddedir¹⁰⁴. Fakat memeli hücrelerinde aşırı derecede toksik olduğu için kullanımı sınırlıdır ayrıca suda çok çözünür ve hücre membran porlarında agregre olma eğilimindedir. KNT ile konjuge edildiği takdirde antimikotik aktivitesi bozulmadan toksisitesinin azalacağı düşünülmektedir. f- KNT'ün memeli hücrelerinde sitotoksik etkisinin olmadığı bilinmektedir. Amfoterisin-B ise 10µg/ml konsantrasyonda oldukça toksiktir ve verilen hücrelerin %40 ının ölümüne neden olmaktadır. KNT konjuge Amfoterisin-B ise 40µg/ml konsantrasyona yükseltildiğinde dahi toksik etki göstermemiştir. KNT ve Amfoterisin-B ve florosan madde bağlanarak hücre içerisinde görünürlüğü sağlanmış aynı zamanda antifungal etkide devam etmiştir⁹⁸.

Benincasa ve ark yaptığı bir çalışmada KNT ve Amfoterisin-B kojuje edilmiş ve amfoterisin-B ye dirençli kültürler üzerinde başarılı antifungal etki göstermiştir¹⁰⁴. Son yapılan çalışmalardan birinde ise KNT'ün Amfoterisin-B ile aynı farmasötik aktiviteyi gösterdiği fakat memeli hücrelerinde toksisitesinin azaldığı kanıtlanmıştır.

2.3.6.7 Karbon Nanotüplerin Antikanser Bileşiklerle Fonksiyonlanması

f- KNT ve metotraksat ve florosan uç içerir. Metotraksat etkisi iyi bilinen antikanser ajandır ve ayrıca otoimmün hastalıklarda kullanılır¹⁰⁵. Fakat metotraksat düşük biyoaktiviteye ve toksik yan etkilere sahiptir. f- KNT 7 metotraksatın biyoaktivitesinde iyileşmelere sebep olabilir ayrıca hedefleme çalışmaları ile metotraksatı kanser hücrelerine taşıyabilir¹⁰⁶. Junket hücrelerinde daha önce yapılan çalışmaya göre KNT ile konjuge edilen metotraksat ile serbest metotraksatın hücre içerisinde aynı etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Metotraksatın etkinliğini düzenlemek için KNT ve metotraksat serbest amid bağı ile birbirine bağlanmıştır. Sonuçta metotraksat sitoplazmada reseptörüne bağlanmak için oldukça yavaş salınmıştır.

Çalışmada KNT'ün enzime hassas bağlarla yapışmasının salımın daha da geliştirilmesi açısından önemli olduğu belirtilmiştir. Takip eden çalışmalarda alternatif kanser ürünü olarak KNT, karboran ile modifiye edilmiştir. Biyodağılım çalışmaları ile suda çözünebilen karboran nanotüplerinin intravenöz verildiğinde kanserli dokularda normal dokulara göre daha fazla biriktiği tespit edilmiştir. Dolayısıyla ileride tasarlanacak ürünlerde karboran karbon nanotüpleri kullanıldığı takdirde kanser tedavisi için daha iyi sonuçlar alınabileceği sonucuna varılmıştır.

Bir başka çalışmada ise antikanser ilaçların deriden geçişini artırmak için fulleren ve KNT ile oksaliptatin ve paklitakseli kombine ederek insan ve hayvan derisinden geçiş çalışmaları ve fareler üzerinde in vivo çalışmalar yapılmıştır. Alınan sonuçlarda jel yapısına KNT giren durumlarda hayvanlarda tümör küçülmesinin daha başarılı olduğu saptanmıştır¹⁰⁷.

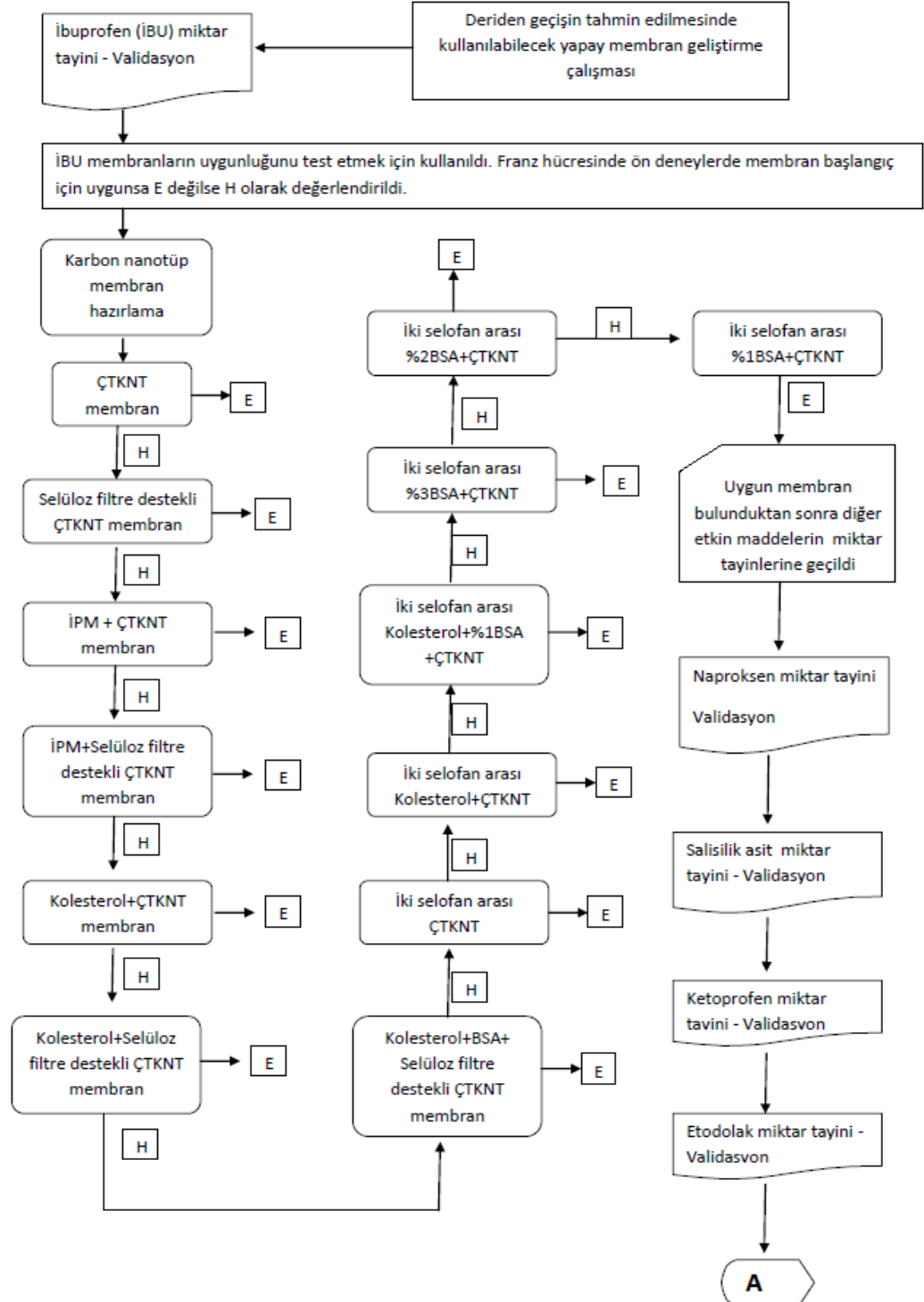
2.3.6.8 Karbon Nanotüplerin Aşılama İçin Modifiye Edilmesi

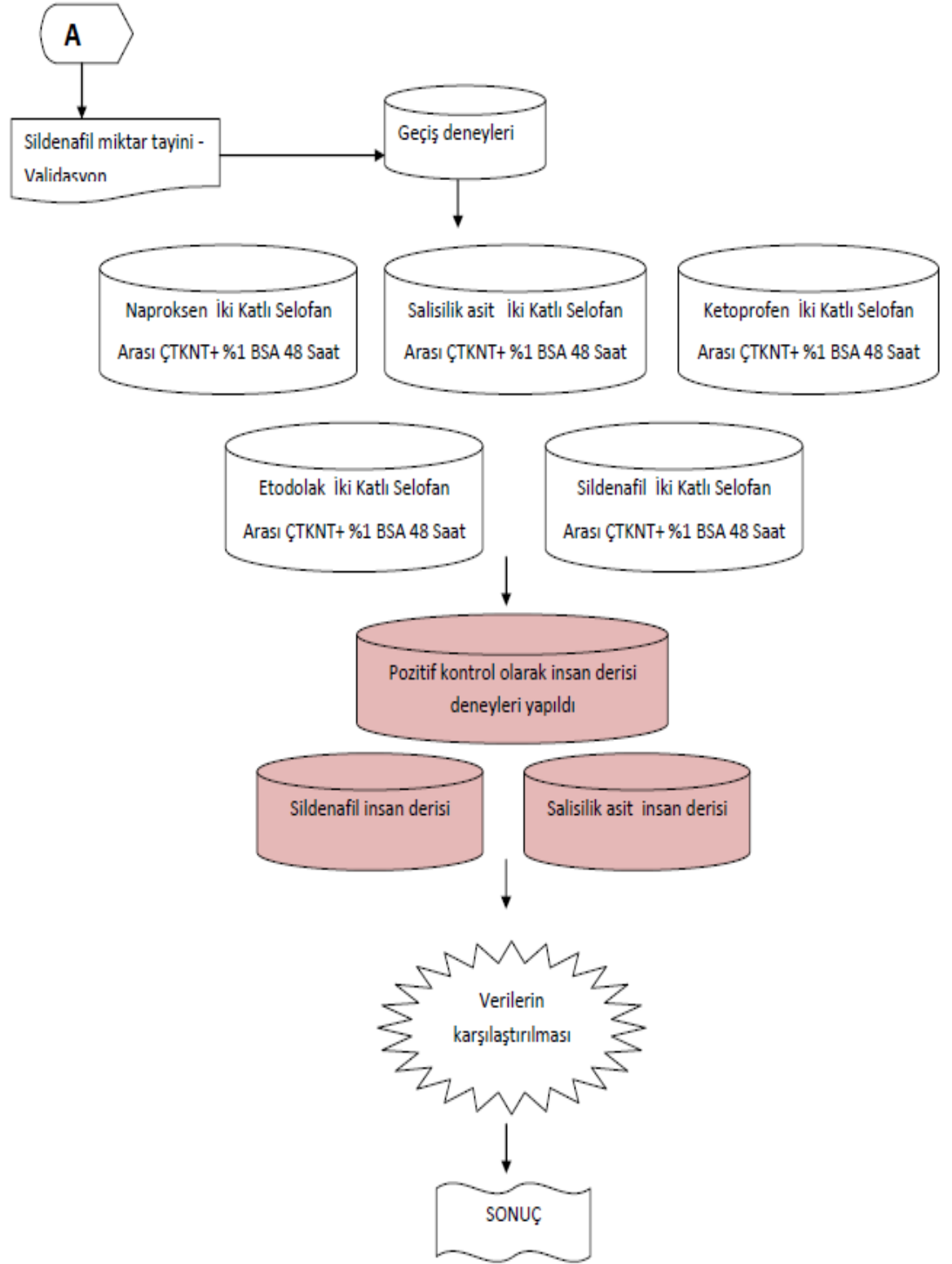
Karbon nanotüplerle yapılabilecek terapötik uygulamalardan bir diğeri ise immun sistem aktivasyonu için sentetik peptitler ile konjuge edilmeleri esasına dayanır. Fonksiyonlanmış KNTnin B ve T hücre peptitleri ile konjuge edilmesi halinde oluşan multivalan sistemin çok güçlü immun yanıt oluşturabileceği varsayılmaktadır^{108,109}. Peptitler KNTye kimyasal seçici uygulama ile bağlanır. KNT malamid grupları ile fonksiyonlandığı takdirde peptit sonundaki sistin ile bağlanır. Sistindeki tiyol seçici olarak malamid ile kovalen bağ yapar¹¹⁰.

Bu yöntemin avantajı ise katı faz sentezlenen nanotüplere korumasız ve karakterize halde bağlanabilir. KNT anlatılan yöntemle ayak ve ağız hastalık virüsü (FMDV) kabuk proteini ile bağlanarak hazırlanmıştır. İki konjugat arasındaki farklılık ise KNT lizin dallanması ile etrafında ikişer peptit içerir. KNT'ün immunojenik özellikleri incelendiğinde konjuge olmamış peptitlere göre daha yüksek antikor yanıt ortaya çıkardığı saptanmıştır. Oluşan antikorlar virüsü nötralize edebilmiştir dolayısıyla KNT sentetik aşı üretimi için potansiyel platformdur⁹³.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

AKIŞ ŞEMASI





3.1 Gereç

3.1.1 Etken Maddeler:

- İbuprofen Fargem Farmasötik Araştırma Geliştirme Merkezi San. Ve Tic. A.Ş.,Türkiye
- Naproksen sodyum Fargem Farmasötik Araştırma Geliştirme Merkezi San. Ve Tic. A.Ş.,Türkiye
- Ketoprofen Sigma Chemical Co. (Poole, İngiltere).
- Naproksen Sigma Chemical Co. (Poole, İngiltere).
- Etodolak Fargem Farmasötik Araştırma Geliştirme Merkezi San. Ve Tic. A.Ş.,Türkiye
- Salisilik asit Merck, Almanya
- Sildenafil Fako İlaç Sanayi, Sanayi, Türkiye

3.1.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler:

- Metanol Merck, Almanya
- Asetonitril (HPLC Grade) Merck, Almanya
- Sodyum hidroksit Merck, Almanya
- ÇTKNT (Nanocyl 3101) Nanocyl (Belçika)
- Kolesterol Sigma, ABD
- Aseton Merck, Almanya
- Selofan membran Papermart, California,

- | | |
|-----------------------------|----------------|
| | Amerika |
| • Triton X | Sigma, ABD |
| • BSA (Bovin Serum Albumin) | Merck, Almanya |

3.1.3 Kullanılan Aletler ve Malzemeler:

- | | |
|----------------------------------|--|
| • AFM (Atomik kuvvet mikroskobu) | Nanomanyetik Cih., Türkiye |
| • DSC | Shimadzu, Japonya |
| • TGA | Shimadzu, Japonya |
| • Cam malzeme yıkayıcısı | Lancer 820 LX, Amerika |
| • Ultrasonik homojenizatör | Sonics Vibra Cell 500 W,
Amerika |
| • pH-metre | pH Meter CG 840, Amerika |
| • Terazî | Shimadzu AW 320, Japonya |
| • Termostatlı ısıtıcı | Heto DT Hetotherm, Almanya |
| • Ultrasonik banyo | Brainsonic 221. Almanya |
| • UV Spektrofotometresi | Shimadzu UV-1700. Pharma
Spec., Japonya |
| • Vorteks | Nüve-NM 110, Türkiye |
| • Vakum Pompası | Laborbedorf Erich Wiegand,
Almanya |
| • Etüv (CO ₂ 'li) | Heraeus, Almanya |
| • Franz Difüzyon Hücresi | Çalışkan Cam, Ankara |
| • Membran Filtre, 0.45µm'lik, | Sigma, USA |
| • Magnetik Karıştırıcı | Snijders, Hollanda |
| • Distile Su Ünitesi | Nüve marka, NS serisi |
| • Bidistile Su Ünitesi | Nanopure Diamond,
Barnstead, Almanya |
| • HPLC (Süzme Aleti) | Alltech, ALMANYA |
| • Otomatik pipet, 20-200µl | Eppendorf, Almanya |
| • Otomatik pipet, 100-1000µl | Eppendorf, Almanya |

- Otomatik pipet, 1000-5000µl Eppendorf, Almanya
- Altılı göz plate Grainer GmbH, Almanya
- Selüloz asetat filtre Alltech, ALMANYA
- Yağlı fırın kağıdı Koroplast, Türkiye

3.2 Yöntem

Deriyi taklit edebilecek bir membran geliştirmek amacıyla ÇTKNT içeren bir seri membran hazırlanmıştır. Bu membranların yapısını deriye benzetebilmek amacıyla lipofilik/yağlı madde olarak kolesterol, protein yapısına benzerlik sağlamak amacıyla da sığır serum albumini kullanılmıştır. Bu şekilde insan derisinin yağlı maddeler ve proteinlerden oluşan mozaik yapısı taklit edilmek istenmiştir. Hazırlanan membranlar ve hazırlanışları aşağıda verilmiştir.

Deneylerde karbon nanotüplerin adsorblama özelliğinden dolayı etkin maddelerin geçiş özelliklerini değiştirebileceği için tampon kullanılmamıştır. Çözücü ve geçiş deneylerinde donör faz çözücüsü ve reseptör faz olarak bidistile su kullanılmıştır.

3.2.1 Kullanılan ÇTKNT Membranların Hazırlanışı:

3.2.1.1 ÇTKNT Membran Hazırlanışı:

100 ml bidistile suyun pH'sı 11'e NaOH ile ayarlanmıştır, ardından 1 ml yüzey etkin madde Triton X çözünmüştür. 10 mg ÇTKNT tartılarak Triton X çözeltisinde önce 1 saat ultrasonik banyoda bırakılarak ardından 5 dakika ultrasonik homojenizatör uygulanarak dağıtılmıştır. ÇTKNT dispersiyonu vakumla selüloz asetat filtreden süzölmüştür. Selüloz asetat membran ve üzerinde biriken ÇTKNT tabakası temizlenmek için 200 ml bidistile su ile yıkanmıştır. Selüloz asetat filtre ve ÇTKNT tabakası 40°C'de 1 saat

kurutulmuştur. Kuruyan ÇTKNT membranı filtreden ayırmak için aseton banyosunda filtre tamamen eriyene kadar bekletilmiştir. ÇTKNT membran aseton banyosundan yağlı fırın kağıdı yardımıyla alınıp asetonun uçurulması için 40°C'de 1 saat kurutulmuştur.

3.2.1.2 Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membran Hazırlanışı:

100 ml bidistile suyun pH'sı 11'e NaOH ile ayarlanmıştır, ardından 1 ml yüzey etkin madde Triton X çözünmüştür. 10 mg ÇTKNT tartılarak Triton X çözeltisinde önce 1 saat ultrasonik banyoda bırakılarak ardından 5 dakika ultrasonik homojenizatör uygulanarak dağıtılmıştır. ÇTKNT dispersiyonu vakumla selüloz asetat filtreden süzölmüştür. Selüloz asetat membran ve üzerinde biriken ÇTKNT tabakası temizlenmek için 200 ml bidistile su ile yıkanmıştır. Filtre destekli ÇTKNT membran 40°C'de 1 saat kurutulmuştur.

3.2.1.3 İsoöpropil Miristat Kaplı ÇTKNT Membran Hazırlanışı

200 µl isopropil miristat otomatik pipet ile ölçölmüştür. Bölüm 3.2.1.1 da anlatılan şekilde ÇTKNT membran hazırlanmıştır. ÇTKNT membran 200 µl isopropil miristat ile damlatıp kurutarak (İsoöpropil miristat damlatılıp bekletilince hızla kurumakta ve donuk bir tabaka oluşturmaktadır) kaplanmıştır.

3.2.1.4 Kolesterol Kaplı ÇTKNT Membran Hazırlanışı

100 µg Kolesterol 1ml metanolde çözölmüştür. Membran Bölüm 3.2.1.1 da anlatıldığı şekilde hazırlandıktan sonra gibi damla damla ilave edilip metanolün buharlaşması sağlanarak hazırlanmıştır.

3.2.1.5 İsopropil Miristat Kaplı Selülozik Filtre Destekli ÇTKNT Membran Hazırlanışı

200 µl isopropil miristat Bölüm 3.2.1.2 da anlatılan şekilde hazırlanan ÇTKNT membrana damla damla ilave edilip metanolün buharlaşması sağlanarak hazırlanmıştır.

3.2.1.6 Kolesterol Kaplı Selülozik Filtre Destekli ÇTKNT Membran Hazırlanışı

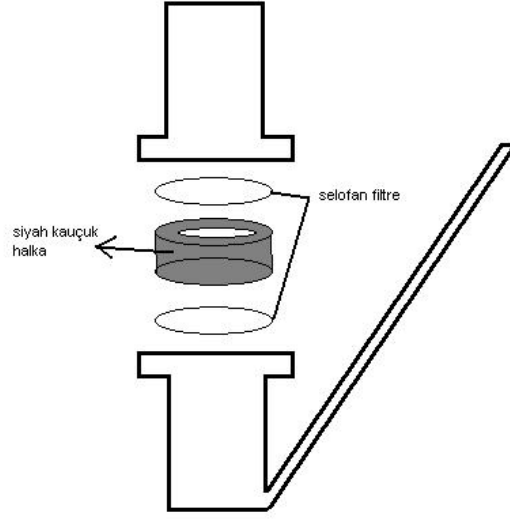
100 µg Kolesterol bölüm 3.2.1.2 da anlatılan şekilde hazırlanan ÇTKNT membrana damla damla ilave edilip metanolün buharlaşması sağlanarak hazırlanmıştır.

3.2.1.7 Kolesterol ve %1 BSA Kaplı Selülozik Filtre Destekli ÇTKNT Membran Hazırlanışı

Önce 100 µg Kolesterol ve daha sonra 200 µg BSA yukarıda anlatıldığı gibi. Bölüm 3.2.1.2 da anlatılan şekilde ÇTKNT membrana damla damla ilave edilip çözücünün buharlaşması sağlanarak hazırlanmıştır.

3.2.1.8 İki Selofan Filtre Arasında ÇTKNT İçeren Membranın Hazırlanışı

10 ml bidistile suya 20 mg ÇTKNT ilave edilerek 5 dakika ultrasonik homojenizatörde homojenize edilmiştir. Franz hücresinde donör ve reseptör kompartman arasına iki kat selofan filtre ortalarında kauçuk bir conta olacak şekilde koyulmuştur. Selofanlar arasında kalan hücreye kauçuk contanın yan (Şekil1) kısmından batırarak 2mg/ml ÇTKNT çözeltisinden 1ml enjekte edilmiştir. Hazırlanan sistem geçiş deneylerinde kullanılmıştır.



Şekil1: Franz hücrelerinin ÇTKNT konacak şekilde modifiye edilmiş membran uygulama sistemi ile kullanılması

3.2.1.9 İki Selofan Arasında ÇTKNT ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membranın Hazırlanışı

10 ml bidistile suya 20 mg ÇTKNT ilave edilmiş ve 1 ml 200 µg/ml BSA çözeltisi ile karıştırılmıştır. Karışım 5 dakika ultrasonik homojenizatörde homojenize edilmiştir. Franz hücresi arasına iki kat selofan filtre koyulmuştur. Selofan filtrelerin arasına ÇTKNT dispersiyonu enjekte edilebilecek hücre oluşturması için kauçuk conta yerleştirilmiştir. Selofanlar arasında kalan hücreye 2mg/ml ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonundan 1ml enjekte edilmiştir. Hazırlanan sistem geçiş deneylerinde kullanılmıştır.

3.2.1.10 İki Selofan Arasında ÇTKNT ve %2 BSA Dispersiyonu İçeren Membranın Hazırlanışı

10 ml bidistile suya 20 mg ÇTKNT ilave edilmiş ve 1 ml 200 µg/ml BSA çözeltisi ile karıştırılmıştır. Karışım 5 dakika ultrasonik homojenizatörde homojenize edilmiştir. Franz hücresi arasına iki kat selofan filtre koyulmuştur.

Selofan filtrelerin arasına ÇTKNT dispersiyonu enjekte edilebilecek hücre oluşturması için kauçuk halka yerleştirilmiştir. Selofanlar arasında kalan hücreye 2mg/ml ÇTKNT ve %2 BSA dispersiyonundan 1ml enjekte edilmiştir. Hazırlanan sistem geçiş deneylerinde kullanılmıştır.

3.2.1.11 İki Selofan Arasında ÇTKNT ve %3 BSA Dispersiyonu İçeren Membranın Hazırlanışı

10 ml bidistile suya 20 mg ÇTKNT ilave edilmiş ve 1 ml 600 µg/ml BSA çözeltisi ile karıştırılmıştır. Karışım 5 dakika ultrasonik homojenizatörde homojenize edilmiştir. Franz hücresi arasına iki kat selofan filtre koyulmuştur. Selofan filtrelerin arasına ÇTKNT dispersiyonu enjekte edilebilecek hücre oluşturması için kauçuk halka yerleştirilmiştir. Selofanlar arasında kalan hücreye 2mg/ml ÇTKNT ve %3 BSA dispersiyonundan 1ml enjekte edilmiştir. Hazırlanan sistem geçiş deneylerinde kullanılmıştır.

3.2.1.12 İki Selofan Filtre Arasında ÇTKNT ve Kolesterol Dispersiyonu İçeren Membranın Hazırlanışı

10 ml bidistile suya 20 mg ÇTKNT ilave edilmiş ve 1mg kolesterol ile karıştırılmıştır. Karışım 5 dakika ultrasonik homojenizatörde homojenize edilmiştir. Franz hücresi arasına iki kat selofan filtre koyulmuştur. Selofan filtrelerin arasına ÇTKNT dispersiyonu enjekte edilebilecek hücre oluşturması için kauçuk halka yerleştirilmiştir. Selofanlar arasında kalan hücreye 2mg/ml ÇTKNT ve kolesterol içeren dispersiyondan 1ml enjekte edilmiştir. Hazırlanan sistem geçiş deneylerinde kullanılmıştır.

3.2.1.13 İki Selofan Arasında ÇTKNT, %1 BSA ve Kolesterol Dispersiyonu İçeren Membranın Hazırlanışı

10 ml bidistile suya 20 mg ÇTKNT ve 1mg kolesterol ilave edilerek. 1 ml 200µg/ml BSA stok çözeltisi karıştırılmıştır. Hazırlanan karışım 5 dakika ultrasonik homojenizatörde homojenize edilmiştir. Franz hücresi arasına iki

kat selofan filtre koyulmuştur. Selofan filtrelerin arasına ÇTKNT dispersiyonu enjekte edilebilecek hücre oluşturması için kauçuk conta yerleştirilmiştir. Selofanlar arasında kalan hücreye hazırlanan dispersiyondan 1ml enjekte edilmiştir. Hazırlanan sistem geçiş deneylerinde kullanılmıştır.

3.2.2 KNT membranlar ile yapılan in-vitro çalışmalar

KNT membranlar geçiş çalışmalarının yapılabilmesi için öncelikle geçişi incelenecek etkin maddenin miktar tayini yönteminin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu nedenle miktar tayin yöntemleri geliştirilmiş ve valide edilmiştir.

3.2.2.1 UV spektrofotometre yöntem geliştirme ve validasyonları

3.2.2.1.1 İbuprofenin UV Spektrofotometre Yöntemi Miktar Tayini:

İbuprofenin miktar tayini için UV spektrofotometrik analizi kullanılmıştır. UV Spektrofotometre yöntemi, ibuprofenin ÇTKNT membran, kolesterol ile modifiye edilmiş ÇTKNT membran, iki selofan tabakası arasında ÇTKNT dispersiyonu içeren ÇTKNT membran ile yapılan geçiş deneylerinde kullanılmıştır.

Tablo 4: İbuprofen UV spektrofotometre analiz parametreleri

UV Spektrofotometre cihazı	ShimadzuUV-1700.Pharma Spec
Spektrofotometre küvetleri	1cm ışık yollu quartz küvet
Örnek hacmi	2ml
Örnek sıcaklığı	37°C
Dalga boyu	221 nm

3.2.2.1.2 İbuprofenin UV Spektrofotometre yöntemi ile miktar tayini validasyonu:

Validasyon, kullanılan yöntemin devamlı olarak doğru ve güvenilir bir şekilde beklenen sonuçları verdiğinin kanıtlanması için yapılması gereken işlemler bütünüdür. Validasyon işlemleri ile yöntemin geçerliliği ve güvenilirliği kanıtlanmış olur. Validasyon için yapılan işlemler aşağıda verilmiştir.

3.2.2.1.2.1 UV Spektrofotometre İle İbuprofenin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:

İbuprofenin distile sudaki çeşitli derişimlerde çözeltileri (0.78, 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µg/ml) hazırlanarak UV Spektrofotometre cihazında 221 nm'de absorbanları ölçülmüştür. Elde edilen absorban değerleri derişimlere karşı regresyona tabi tutulmuştur. Çalışma üç defa tekrarlanmış ve ortalama değerleri hesaplanmıştır. Sonuçta doğru denklemi elde edilmiştir.

3.2.2.1.2.2 Doğrusallık

Hazırlanan numunedeki etkin madde miktarının belli bir aralığı içerisindeki derişimi ile elde edilen yanıtın orantılı olduğunun ifadesidir.

İbuprofenin 3 farklı stokta olmak üzere 8 farklı derişimde (100-0,78 µg/mL) çözeltileri hazırlanmıştır ve UV spektrofotometrede absorbanları ölçülmüştür.

3.2.2.1.2.3 Doğruluk ve Geri Elde

Doğruluk, saptanan madde miktarının numune içerisindeki gerçek etkin madde miktarına yakınlığıdır. Miktar tayini yönteminin doğruluğu geri elde etme yüzdesine bağlıdır. %95 olasılıkla daha önceden kabul edilen ölçüler arasında kalmalıdır.

İbuprofenin distile suda 50µg/ml derişimdeki çözeltilisi hazırlanmıştır ve UV spektrofotometrede absorbansları ölçülmüştür.

3.2.2.1.2.4 Kesinlik

Miktar tayininde kullanılan analiz yöntemiyle, aynı derişimdeki numunenin birbiri ardına yapılan ölçümlerinin birbirine olan yakınlığı yöntemin kesinliğinin, kesinlik ise tekrar edilebilirliğinin ölçüsüdür. Kesinlik standart sapma ve bağıl sapma değerleri ile değerlendirilmiştir.

a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)

İbuprofenin kalibrasyon doğru denklemini oluşturmak için distile sudaki 100 µg/mL stok çözeltisinden uygun seyreltmeler yapılarak hazırlanan çeşitli derişimdeki çözeltilerin, herhangi bir derişimdeki olan örneklerinden biri 6,25 µg/mL derişimdeki hazırlanan çözeltisinin absorbansı UV spektrofotometrede 6 kere ardı ardına ölçülmüştür.

b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)

İbuprofenin distile suda 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56 µg/mL derişimlerde çözeltileri hazırlanmıştır. Bu numuneler birbirini takip eden 3 gün içerisinde 3'er kez UV spektrofotometrede absorbansları ölçülmüştür.

3.2.2.1.2.5 Duyarlılık ve saptama sınırı

Kullanılan analiz yönteminin güvenilir bir şekilde analiz edebildiği en düşük derişimi belirlemek amacıyla yapılan işlemlerdir. Duyarlılık ve saptama sınırı aşağıdaki denklemlerle hesaplanır.

$$\text{Duyarlılık sınırı (LOD)} = (3.3 \times \sigma) / S$$

Eşitlik 6

Saptama sınırı (LOQ)= (10 x σ) / S

Eşitlik 7

σ :kalibrasyon aralığındaki en düşük derişimin standart sapması

S:kalibrasyon eğrisinin eğimi

Kalibrasyon eğrisinin eğimi için 3 tane olan kalibrasyon grafiğinin ortak kalibrasyon denklemi bulunur ve onun eğimi alınır. İbuprofenin distile sudaki duyarlılık ve saptama sınırı hesaplamaları bu denklemlere göre yapılmıştır.

3.2.2.1.2.6 Özgünlük ve Seçicilik

Kullanılan analiz yönteminin sadece analiz etmek istenilen maddeyi saptanması gerekmektedir. Numune içinde var olan diğer maddelerin aynı dalga boyunda saptanıp saptanmadığının kontrolü yapılmalıdır. Bu amaçla bidistile suyun, UV Spektrofotometrede 221 nm'deki absorbasına bakılmış . İbuprofenin pik verdiği dalga boyunda distile suyun pik vermediği gösterilmiştir. Yöntemin ibuprofen tayinine uygun olduğuna karar verilmiştir.

3.2.2.1.3 Naproksenin UV Spektrofotometre ile Miktar Tayini:

Naproksenin miktar tayini için UV Spektrofotometre analizi kullanılmıştır. UV Spektrofotometre yöntemi, naproksenin iki selofan tabakası arasında ÇTKNT dispersiyonu içeren ÇTKNT membran ile yapılan geçiş deneylerinde kullanılmıştır.

Tablo 5: Naproksen UV spektrofotometre analiz parametreleri

UV Spektrofotometre cihazı	ShimadzuUV-1700.Pharma Spec
Spektrofotometre küvetleri	1cm ışıık yollu quartz küvet
Örnek hacmi	2ml
Örnek sıcaklığı	37°C
Dalga boyu	230 nm

3.2.2.1.4 Naproksenin UV Spektrofotometre yöntemi ile miktar tayini validasyonu:

Validasyon, kullanılan yöntemin devamlı olarak doğru ve güvenilir bir şekilde beklenen sonuçları verdiğinin kanıtlanması için yapılması gereken işlemler bütünüdür. Validasyon işlemleri ile yöntemin geçerliliği ve güvenilirliği kanıtlanmış olur.

3.2.2.1.4.1 UV Spektrofotometre İle Naproksenin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:

Naproksenin distile sudaki çeşitli derişimlerde çözeltileri (0,078, 0,156, 0,3125, 0,625, 1,25, 2,5, 5, 10 µg/ml) hazırlanarak UV Spektrofotometre cihazında 230 nm'de absorpsanları ölçülmüştür. Elde edilen absorpsan değerleri regresyona tabi tutulmuştur. Çalışma üç defa tekrarlanmış ve ortalama değerleri hesaplanmıştır. Sonuçta doğru denklemi elde edilmiştir.

3.2.2.1.4.2 Doğrusallık

Hazırlanan numunedeki etkin madde miktarının belli bir aralığı içerisindeki derişimi ile elde edilen yanıtın orantılı olduğunun ifadesidir.

Naproksenin 3 farklı stokta olmak üzere 8 farklı derişimde (10-0,078 µg/mL) çözeltisi hazırlanmıştır ve UV spektrofotometrede absorpsanları ölçülmüştür.

3.2.2.1.4.3 Doğruluk ve Geri Elde

Doğruluk, saptanan madde miktarının numune içerisindeki gerçek etkin madde miktarına yakınlığıdır. Miktar tayini yönteminin doğruluğu geri elde etme yüzdesine bağlıdır. %95 olasılıkla daha önceden kabul edilen ölçüler arasında kalmalıdır.

Naproksenin distile suda 1,25µg/ml derişimdeki çözeltisi hazırlanmıştır ve UV spektrofotometrede absorpsanları ölçülmüştür.

3.2.2.1.4.4 Kesinlik

Miktar tayininde kullanılan analiz yöntemiyle, aynı derişimdeki numunenin birbiri ardına yapılan ölçümlerinin birbirine olan yakınlığı yöntemin kesinliğinin, kesinlik ise tekrar edilebilirliğinin ölçüsüdür. Kesinlik standart sapma ve bağıl sapma değerleri ile değerlendirilmiştir.

a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)

Naproksenin kalibrasyon doğru denklemini oluşturmak için distile sudaki 10 µg/mL stok çözeltisinden uygun seyretmeler yapılarak hazırlanan çeşitli derişimdeki çözeltilerin, herhangi bir derişimdeki olan örneklerinden biri 0,625 µg/mL derişimdeki hazırlanan çözeltisinin absorbansı UV spektrofotometrede 6 kere ardı ardına ölçülmüştür.

b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)

Naproksenin distile suda 5, 2,5, 1,25, 0,625, 0,313, 0,156 µg/mL derişimlerde çözeltileri hazırlanmıştır. Bu numuneler birbirini takip eden 3 gün içerisinde 3'er kez UV spektrofotometrede absorbansları ölçülmüştür.

3.2.2.1.4.5 Duyarlılık ve saptama sınırı

Kullanılan analiz yönteminin güvenilir bir şekilde analiz edebildiği en düşük derişimi belirlemek amacıyla yapılan işlemlerdir. Duyarlılık ve saptama sınırı daha önce verilen denklemlerden (Bölüm 3.2.2.1.2.5 , Eşitlik 6 ve 7) hesaplanmıştır.

Kalibrasyon eğrisinin eğimi için 3 tane olan kalibrasyon grafiğinin ortak kalibrasyon denklemi bulunur ve onun eğimi alınır. Naproksenin distile sudaki duyarlılık ve saptama sınırı hesaplamaları bu denklemlere göre yapılmıştır.

3.2.2.1.4.6 Özgünlük ve Seçicilik

Kullanılan analiz yönteminin sadece analiz etmek istenilen maddeyi saptaması gerekmektedir. Numune içinde var olan diğer maddelerin aynı dalga boyunda saptanıp saptanmadığının kontrolü yapılmalıdır. Bu amaçla bidistile suyun, UV Spektrofotometrede 230 nm'deki absorbasına bakılmış . İbuprofenin pik verdiği dalga boyunda distile suyun pik vermediği gösterilmiştir. Yöntemin Naproksen tayinine uygun oluşuna karar verilmiştir.

3.2.2.1.5 Salisilik Asitin UV Spektrofotometre Yöntemi İle Analizi:

Salisilik asitin miktar tayini için UV Spektrofotometre analizi kullanılmıştır. UV Spektrofotometre yöntemi, salisilik asitin, iki selofan tabakası arasında ÇTKNT dispersiyonu içeren ÇTKNT membran ile yapılan geçiş deneylerinde kullanılmıştır.

Tablo6: Salisilik asit UV spektrofotometre analiz parametreleri

UV Spektrofotometre cihazı	ShimadzuUV-1700.Pharma Spec
Spektrofotometre küvetleri	1cm ışık yollu quartz küvet
Örnek hacmi	2ml
Örnek sıcaklığı	37°C
Dalga boyu	236 nm

3.2.2.1.6 Salisilik asitin UV Spektrofotometre yöntemi ile distile suda miktar tayini validasyonu:

Validasyon, kullanılan yöntemin devamlı olarak doğru ve güvenilir bir şekilde beklenen sonuçları verdiğinin kanıtlanması için yapılması gereken işlemler bütünüdür. Validasyon işlemleri ile yöntemin geçerliliği ve güvenilirliği kanıtlanmış olur.

3.2.2.1.6.1 UV Spektrofotometre İle Salisilik asitin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:

Salisilik asitin distile sudaki çeşitli derişimlerde çözeltileri (0,459, 0,906, 1,8125, 3,625, 7,25, 14,5, 29, 58 µg/ml) hazırlanarak UV Spektrofotometre 236 nm'de cihazında absorbansları ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri regresyona tabi tutulmuştur. Çalışma üç defa tekrarlanmış ve ortalama değerleri hesaplanmıştır. Sonuçta doğru denklemi elde edilmiştir.

3.2.2.1.6.2 Doğrusallık

Hazırlanan numunedeki etkin madde miktarının belli bir aralığı içerisindeki derişimi ile elde edilen yanıtın orantılı olduğunun ifadesidir.

Salisilik asitin 3 farklı stokta olmak üzere 8 farklı derişimde (58-0,459 µg/mL) çözeltisi hazırlanmıştır ve UV spektrofotometrede absorbansları ölçülmüştür.

3.2.2.1.6.3 Doğruluk ve Geri Elde

Doğruluk, saptanan madde miktarının numune içerisindeki gerçek etkin madde miktarına yakınlığıdır. Miktar tayini yönteminin doğruluğu geri elde etme yüzdesine bağlıdır. %95 olasılıkla daha önceden kabul edilen ölçüler arasında kalmalıdır.

Salisilik asitin distile suda 14,5 µg/ml derişimdeki çözeltisi hazırlanmıştır ve UV spektrofotometrede absorbansları ölçülmüştür.

3.2.2.1.6.4 Kesinlik

Miktar tayininde kullanılan analiz yöntemiyle, aynı derişimdeki numunenin birbiri ardına yapılan ölçümlerinin birbirine olan yakınlığı yöntemin

kesinliğinin, kesinlik ise tekrar edilebilirliğinin ölçüsüdür. Kesinlik standart sapma ve bağıl sapma değerleri ile değerlendirilmiştir.

a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)

Salisilik asitin kalibrasyon doğru denklemini oluşturmak için distile sudaki 1,82 mg/mL stok çözeltisinden uygun seyretmeler yapılarak hazırlanan çeşitli derişimdeki çözeltilerin, herhangi bir derişimdeki olan örneklerinden biri 6,25 µg/mL derişimdeki hazırlanan çözeltisinin absorbanısı UV spektrofotometrede 6 kere ardı ardına ölçölmüştür.

b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)

Salisilik asitin distile suda 0,906, 1,8125, 3,625, 7,25, 14,5, 29 µg/mL derişimlerde çözeltileri hazırlanmıştır. Bu numuneler birbirini takip eden 3 gün içerisinde 3'er kez UV spektrofotometrede absorbanıları ölçölmüştür.

3.2.2.1.6.5 Duyarlılık ve saptama sınırı

Kullanılan analiz yönteminin güvenilir bir şekilde analiz edebildiği en düşük derişimi belirlemek amacıyla yapılan işlemlerdir. Duyarlılık ve saptama sınırı daha önce verilen denklemlerden (Bölüm 3.2.2.1.2.5 , Eşitlik 6 ve 7) hesaplanmıştır.

Kalibrasyon eğrisinin eğimi için 3 tane olan kalibrasyon grafiğinin ortak kalibrasyon denklemi bulunur ve onun eğimi alınır. Salisilik asitin distile sudaki duyarlılık ve saptama sınırı hesaplamaları bu denklemlere göre yapılmıştır.

3.2.2.1.6.6 Özgönlük ve Seçicilik

Kullanılan analiz yönteminin sadece analiz etmek istenilen maddeyi saptaması gerekmektedir. Numune içinde var olan diğer maddelerin aynı dalga boyunda saptanıp saptanmadığının kontrolö yapılmalıdır. Bu amaçla

bidistile suyun, UV Spektrofotometrede 236 nm'deki absorbasına bakılmış. Salisilik asitin pik verdiği dalga boyunda distile suyun pik vermediği gösterilmiştir. Yöntemin salisilik asit tayinine uygun oluğuna karar verilmiştir.

3.2.2.1.7 Ketoprofenin UV Spektrofotometre İle Miktar Tayini:

Ketoprofenin miktar tayini için UV Spektrofotometre analizi kullanılmıştır. UV Spektrofotometre yöntemi, ketoprofenin iki selofan tabakası arasında ÇTKNT dispersiyonu içeren ÇTKNT membran ile yapılan geçiş deneylerinde kullanılmıştır.

Tablo7: Ketoprofen UV spektrofotometre analiz parametreleri

UV Spektrofotometre cihazı	ShimadzuUV-1700.Pharma Spec
Spektrofotometre küvetleri	1cm ışık yollu quartz küvet
Örnek hacmi	2ml
Örnek sıcaklığı	37°C
Dalga boyu	244 nm

3.2.2.1.8 Ketoprofenin UV Spektrofotometre yöntemi ile miktar tayini validasyonu:

Validasyon, kullanılan yöntemin devamlı olarak doğru ve güvenilir bir şekilde beklenen sonuçları verdiğinin kanıtlanması için yapılması gereken işlemler bütünüdür. Validasyon işlemleri ile yöntemin geçerliliği ve güvenilirliği kanıtlanmış olur.

3.2.2.1.8.1 UV Spektrofotometre İle Ketoprofenin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:

Ketoprofenin distile sudaki çeşitli derişimlerde çözeltileri (0,0978, 0,1955, 0,391, 0,781, 1,562, 3,125, 6,25, 12,5 µg/ml) hazırlanarak UV Spektrofotometre 244 nm'de cihazında absorbansları ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri regresyona tabi tutulmuştur. Çalışma üç defa

tekrarlanmış ve ortalama değerleri hesaplanmıştır. Sonuçta doğru denklemi elde edilmiştir.

3.2.2.1.8.2 Doğrusallık

Hazırlanan numunedeki etkin madde miktarının belli bir aralığı içerisindeki derişimi ile elde edilen yanıtın orantılı olduğunun ifadesidir.

Ketoprofenin 3 farklı stokta olmak üzere 8 farklı derişimde (6,25-0,1955 µg/mL) zeltisi hazırlanmıştır ve UV spektrofotometrede absorbansları ölçülmüştür.

3.2.2.1.8.3 Doğruluk ve Geri Elde

Doğruluk, saptanan madde miktarının numune içerisindeki gerçek etkin madde miktarına yakınlığıdır. Miktar tayini yönteminin doğruluğu geri elde etme yüzdesine bağlıdır. %95 olasılıkla daha önceden kabul edilen ölçüler arasında kalmalıdır.

Ketoprofenin distile suda 2 µg/ml derişimdeki çözeltisi hazırlanmıştır ve UV spektrofotometrede absorbansları ölçülmüştür.

3.2.2.1.8.4 Kesinlik

Miktar tayininde kullanılan analiz yöntemiyle, aynı derişimdeki numunenin birbiri ardına yapılan ölçümlerinin birbirine olan yakınlığı yöntemin kesinliğinin, kesinlik ise tekrar edilebilirliğinin ölçüsüdür. Kesinlik standart sapma ve bağıl sapma değerleri ile değerlendirilmiştir.

a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)

Ketoprofenin kalibrasyon doğru denklemine oluşturmak için distile sudaki 50 µg/mL stok çözeltisinden uygun seyretmeler yapılarak hazırlanan şitli derişimdeki çözeltilerin, herhangi bir derişimdeki olan örneklerinden biri

2 µg/mL derişimdeki hazırlanan çözeltisinin absorbansı UV spektrofotometrede 6 kere ardı ardına ölçülmüştür.

b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)

Ketoprofenin distile suda 0,1955, 0,391, 0,781, 1,562, 3,125, 6,25 µg/mL derişimlerde çözeltileri hazırlanmıştır. Bu numuneler birbirini takip eden 3 gün içerisinde 3'er kez UV spektrofotometrede absorbansları ölçülmüştür.

3.2.2.1.8.5 Duyarlılık ve saptama sınırı

Kullanılan analiz yönteminin güvenilir bir şekilde analiz edebildiği en düşük derişimi belirlemek amacıyla yapılan işlemlerdir. Duyarlılık ve saptama sınırı daha önce verilen denklemlerden (Bölüm 3.2.2.1.2.5, Eşitlik 6 ve 7) hesaplanmıştır.

Kalibrasyon eğrisinin eğimi için 3 tane olan kalibrasyon grafiğinin ortak kalibrasyon denklemi bulunur ve onun eğimi alınır. Ketoprofenin distile sudaki duyarlılık ve saptama sınırı hesaplamaları bu denklemlere göre yapılmıştır.

3.2.2.1.8.6 Özgünlük ve Seçicilik

Kullanılan analiz yönteminin sadece analiz etmek istenilen maddeyi saptaması gerekmektedir. Numune içinde var olan diğer maddelerin aynı dalga boyunda saptanıp saptanmadığının kontrolü yapılmalıdır. Bu amaçla bidistile suyun, UV Spektrofotometrede 244 nm'deki absorbansına bakılmış. Ketoprofenin pik verdiği dalga boyunda distile suyun pik vermediği gösterilmiştir. Yöntemin Ketoprofenin tayinine uygun oluğuna karar verilmiştir.

3.2.2.1.9 Etodolağın UV Spektrofotometre Yöntemi İle Miktar Tayini:

Etodolağın miktar tayini için UV Spektrofotometre analizi kullanılmıştır. UV Spektrofotometre yöntemi, etodolağın iki selofan tabakası arasında ÇTKNT dispersiyonu içeren ÇTKNT membran ile yapılan geçiş deneylerinde kullanılmıştır.

Tablo8: Etodolak UV spektrofotometre analiz parametreleri

UV Spektrofotometre cihazı	ShimadzuUV-1700.Pharma Spec
Spektrofotometre küvetleri	1cm ışık yollu quartz küvet
Örnek hacmi	2ml
Örnek sıcaklığı	37°C
Dalga boyu	224 nm

3.2.2.1.10 Etodolağın UV Spektrofotometre yöntemi ile distile suda miktar tayini validasyonu:

Validasyon, kullanılan yöntemin devamlı olarak doğru ve güvenilir bir şekilde beklenen sonuçları verdiğinin kanıtlanması için yapılması gereken işlemler bütünüdür. Validasyon işlemleri ile yöntemin geçerliliği ve güvenilirliği kanıtlanmış olur.

3.2.2.1.10.1 UV Spektrofotometre İle Etodolağın Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:

Etodolağın distile sudaki çeşitli derişimlerde çözeltileri (0,125, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16 µg/ml) hazırlanarak UV Spektrofotometre 224 nm'de cihazında absorbanları ölçülmüştür. Elde edilen absorban değerleri regresyona tabi tutulmuştur. Çalışma üç defa tekrarlanmış ve ortalama değerleri hesaplanmıştır. Sonuçta doğru denklemi elde edilmiştir.

3.2.2.1.10.2 Doğrusallık

Hazırlanan numunedeki etkin madde miktarının belli bir aralığı içerisindeki değişimi ile elde edilen yanıtın orantılı olduğunun ifadesidir.

Etodolağın 3 farklı stokta olmak üzere 8 farklı derişimde (0,25-8 µg/mL) çözeltisi hazırlanmıştır ve UV spektrofotometrede absorpsansları ölçülmüştür.

3.2.2.1.10.3 Doğruluk ve Geri Elde

Doğruluk, saptanan madde miktarının numune içerisindeki gerçek etkin madde miktarına yakınlığıdır. Miktar tayini yönteminin doğruluğu geri elde etme yüzdesine bağlıdır. %95 olasılıkla daha önceden kabul edilen ölçüler arasında kalmalıdır.

Etodolağın suda 4 µg/ml derişimdeki çözeltisi hazırlanmıştır ve UV spektrofotometrede absorpsansları ölçülmüştür.

3.2.2.1.10.4 Kesinlik

Miktar tayininde kullanılan analiz yöntemiyle, aynı derişimdeki numunenin birbiri ardına yapılan ölçümlerinin birbirine olan yakınlığı yöntemin kesinliğinin, kesinlik ise tekrar edilebilirliğinin ölçüsüdür. Kesinlik standart sapma ve bağıl sapma değerleri ile değerlendirilmiştir.

a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)

Etodolağın kalibrasyon doğru denklemini oluşturmak için distile sudaki 16 µg/mL stok çözeltisinden uygun seyretmeler yapılarak hazırlanan çeşitli derişimdeki çözeltilerin, herhangi bir derişimdeki olan örneklerinden biri 4 µg/mL derişimdeki hazırlanan çözeltisinin absorpsansı UV spektrofotometrede 6 kere ardı ardına ölçülmüştür.

b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)

Etodolağın distile suda 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8 µg/mL derişimlerde çözeltileri hazırlanmıştır. Bu numuneler birbirini takip eden 3 gün içerisinde 3'er kez UV spektrofotometrede absorbansları ölçülmüştür.

3.2.2.1.10.5 Duyarlılık ve saptama sınırı

Kullanılan analiz yönteminin güvenilir bir şekilde analiz edebildiği en düşük derişimi belirlemek amacıyla yapılan işlemlerdir. Duyarlılık ve saptama sınırı daha önce verilen denklemlerden (Bölüm 3.2.2.1.2.5, Eşitlik 6 ve 7) hesaplanmıştır.

Kalibrasyon eğrisinin eğimi için 3 tane olan kalibrasyon grafiğinin ortak kalibrasyon denklemi bulunup eğimi alınarak. Etodolağın distile sudaki duyarlılık ve saptama sınırı hesaplamaları bu denklemlere göre yapılmıştır.

3.2.2.1.10.6 Özgünlük ve Seçicilik

Kullanılan analiz yönteminin sadece analiz etmek istenilen maddeyi saptaması gerekmektedir. Numune içinde var olan diğer maddelerin aynı dalga boyunda saptanıp saptanmadığının kontrolü yapılmalıdır. Bu amaçla bidistile suyun, UV Spektrofotometrede 224 nm'deki absorbasına bakılmış. Etodolağın pik verdiği dalga boyunda distile suyun pik vermediği gösterilmiştir. Yöntemin Etodolağın tayinine uygun olduğuna karar verilmiştir.

3.2.2.1.11 Sildenafilin UV Spektrofotometre Yöntemi İle Miktar Tayini:

Sildenafilin miktar tayini için UV Spektrofotometre analizi kullanılmıştır. UV Spektrofotometre yöntemi, sildenafilin iki selofan tabakası arasında ÇTKNT dispersiyonu içeren ÇTKNT membran ile yapılan geçiş deneylerinde kullanılmıştır.

Tablo9: Sildenafil UV spektrofotometre analiz parametreleri

UV Spektrofotometre cihazı	ShimadzuUV-1700.Pharma Spec
Spektrofotometre küvetleri	1cm ışık yollu quartz küvet
Örnek hacmi	2ml
Örnek sıcaklığı	37°C
Dalga boyu	225 nm

3.2.2.1.12 Sildenafil UV Spektrofotometre yöntemi ile miktar tayini validasyonu:

Validasyon, kullanılan yöntemin devamlı olarak doğru ve güvenilir bir şekilde beklenen sonuçları verdiğinin kanıtlanması için yapılması gereken işlemler bütünüdür. Validasyon işlemleri ile yöntemin geçerliliği ve güvenilirliği kanıtlanmış olur.

3.2.2.1.12.1 UV Spektrofotometre İle Sildenafil Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:

Sildenafil distile sudaki çeşitli derişimlerde çözeltileri (0,2136, 0,4273, 0,8545, 1,709, 3,418, 6,836, 13,6719, 27,3438 µg/ml) hazırlanarak UV Spektrofotometre 225 nm'de cihazında absorbansları ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri regresyona tabi tutulmuştur. Çalışma üç defa tekrarlanmış ve ortalama değerleri hesaplanmıştır. Sonuçta doğru denklemi elde edilmiştir.

3.2.2.1.12.2 Doğrusallık

Hazırlanan numunedeki etkin madde miktarının belli bir aralığı içerisindeki derişimi ile elde edilen yanıtın orantılı olduğunun ifadesidir.

Sildenafil 3 farklı stokta olmak üzere 6 farklı derişimde (0,4273-13,6719 µg/mL) çözeltileri hazırlanmıştır ve UV spektrofotometrede absorbansları ölçülmüştür.

3.2.2.1.12.3 Doğruluk ve Geri Elde

Doğruluk, saptanan madde miktarının numune içerisindeki gerçek etkin madde miktarına yakınlığıdır. Miktar tayini yönteminin doğruluğu geri elde etme yüzdesine bağlıdır. %95 olasılıkla daha önceden kabul edilen ölçüler arasında kalmalıdır.

Sildenafil suda 10 µg/ml derişimdeki çözeltisi hazırlanmıştır ve UV spektrofotometrede absorbanları ölçülmüştür.

3.2.2.1.12.4 Kesinlik

Miktar tayininde kullanılan analiz yöntemiyle, aynı derişimdeki numunenin birbiri ardına yapılan ölçümlerinin birbirine olan yakınlığı yöntemin kesinliğinin, kesinlik ise tekrar edilebilirliğinin ölçüsüdür. Kesinlik standart sapma ve bağıl sapma değerleri ile değerlendirilmiştir.

a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)

Sildenafil kalibrasyon doğru denklemini oluşturmak için distile sudaki 3,5 mg/mL stok çözeltisinden uygun seyreltmeler yapılarak hazırlanan çeşitli derişimdeki çözeltilerin, herhangi bir derişimdeki olan örneklerinden biri 10 µg/mL derişimdeki hazırlanan çözeltisinin absorbanı UV spektrofotometrede 6 kere ardı ardına ölçülmüştür.

b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)

Sildenafil distile suda 0,4273, 0,8545, 1,709, 3,418, 6,836, 13,6719 µg/mL derişimlerde çözeltileri hazırlanmıştır. Bu numuneler birbirini takip eden 3 gün içerisinde 3'er kez UV spektrofotometrede absorbanları ölçülmüştür.

3.2.2.1.12.5 Duyarlılık ve saptama sınırı

Kullanılan analiz yönteminin güvenilir bir şekilde analiz edebildiği en düşük derişimi belirlemek amacıyla yapılan işlemlerdir. Duyarlılık ve saptama sınırı daha önce verilen denklemlerden (Bölüm 3.2.2.1.2.5, Eşitlik 6 ve 7) hesaplanmıştır.

Kalibrasyon eğrisinin eğimi için 3 tane olan kalibrasyon grafiğinin ortak kalibrasyon denklemi bulunur ve onun eğimi alınır. Sildenafilin distile sudaki duyarlılık ve saptama sınırı hesaplamaları bu denklemlere göre yapılmıştır.

3.2.2.1.12.6 Özgünlük ve Seçicilik

Kullanılan analiz yönteminin sadece analiz etmek istenilen maddeyi saptaması gerekmektedir. Numune içinde var olan diğer maddelerin aynı dalga boyunda saptanıp saptanmadığının kontrolü yapılmalıdır. Bu amaçla bidistile suyun, UV Spektrofotometrede 225 nm'deki absorbansına bakılmış. Sildenafilin pik verdiği dalga boyunda distile suyun pik vermediği gösterilmiştir. Yöntemin Sildenafilin tayinine uygun oluşuna karar verilmiştir.

3.2.2.2 İn vitro Geçiş Çalışmaları

3.2.2.2.1 İbuprofen İle Yapılan İn vitro Deriden Geçiş Çalışmaları

3.2.2.2.1.1 İbuprofenin Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 30 Dakikalık Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması selülozik filtreli ÇTKNT membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan ÇTKNT membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. Selüloz filtrenin geçiş özelliklerine etkisini görmek için selülozik filtreden aynı şartlarda eşzamanlı olarak geçiş çalışması yapılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. ÇTKNT membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir.

Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise ibuprofen çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 100µg/ml ibuprofen çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: Selüloz filtre destekli ÇTKNT membran
- Örnek alma zamanları: 0, 1, 3, 5, 10, 15, 30 dakikalarda reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.1.2 İbuprofenin Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 3 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması selüloz filtre destekli ÇTKNT membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan ÇTKNT membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. Selüloz filtrenin geçiş özelliklerine etkisi görmek için selülozik filtreden aynı şartlarda eşzamanlı olarak geçiş çalışması yapılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. ÇTKNT membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise ibuprofen çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 100µg/ml ibuprofen çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: Selüloz filtre destekli ÇTKNT membran
- Örnek alma zamanları: 0, 30, 60, 90, 120, 180, 360 dakikalarda reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.1.3 İbuprofenin İsopropil Miristat Kaplı Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 3 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması selüloz filtre destekli ÇTKNT membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan ÇTKNT membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. Selüloz filtrenin geçiş özelliklerine etkisi görmek için iso-propil miristat emdirilmiş selüloz filtreden aynı şartlarda eşzamanlı olarak geçiş çalışması yapılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. İso-propil miristat ile kaplanmış ÇTKNT membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise ibuprofen çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 100µg/ml ibuprofen çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: iso-propil miristat ile kaplanmış selüloz filtre destekli ÇTKNT membran
- Örnek alma zamanları: 0, 30, 60, 90, 120, 180, 360 dakikalarda reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.1.4 İbuprofenin 2 Katlı Selofan Membrandan 3 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması iki katlı selofan membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan selofan membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. İki katlı selofan membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise ibuprofen çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 100µg/ml ibuprofen çözeltisi

- Reseptör faz: Distile su
- Membran: İki katlı selofan membran
- Örnek alma zamanları: 0, 30, 60, 90, 120, 180, 360 dakikalarda reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.1.5 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Dispersiyonu İçeren Membrandan 3 saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması iki selofan arası ÇTKNT çözeltisi içeren membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan selofan membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. İki selofan arası ÇTKNT dispersiyonu içeren membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise ibuprofen çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 100µg/ml ibuprofen çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: İki selofan arası ÇTKNT dispersiyonu içeren membran
- Örnek alma zamanları: 0, 30, 60, 90, 120, 180, 360 dakikalarda reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.1.6 İbuprofenin Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması selüloz filtre destekli ÇTKNT membran ile gerçekleştirilmiştir bunun için Franz Difüzyon Hücreleri kullanılmıştır.

Kullanılan ÇTKNT membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. Selüloz filtrenin geçiş özelliklerine etkisi görmek için selülozik filtreden aynı şartlarda eşzamanlı olarak geçiş çalışması yapılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. ÇTKNT membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise ibuprofen çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 100µg/ml ibuprofen çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: Selüloz filtre destekli ÇTKNT membran
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.1.7 İbuprofenin Kolesterol Kaplı Selülozik Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması kolesterol kaplı selülozik filtreli ÇTKNT membran.

Kullanılan kolesterol kaplı selülozik filtreli ÇTKNT membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. Selüloz filtrenin geçiş özelliklerine etkisi görmek için kolesterol kaplı selülozik filtreden aynı şartlarda eşzamanlı olarak geçiş çalışması yapılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. kolesterol kaplı selülozik filtreli ÇTKNT membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise

ibuprofen çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 100µg/ml ibuprofen çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: Kolesterol kaplı selülozik filtreli ÇTKNT membran
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.1.8 İbuprofenin Kolesterol Ve %1 BSA Kaplı Selülozik Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması kolesterol ve %1 BSA kaplı selülozik filtre destekli ÇTKNT membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan kolesterol ve %1 BSA kaplı selüloz filtre destekli ÇTKNT membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. Selüloz filtrenin geçiş özelliklerine etkisi görmek için kolesterol ve %1 BSA kaplı selülozik filtreden aynı şartlarda eşzamanlı olarak geçiş çalışması yapılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. kolesterol ve %1 BSA kaplı selüloz filtre destekli ÇTKNT membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise ibuprofen çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 100µg/ml ibuprofen çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: Kolesterol kaplı ve %1 BSA selüloz filtre destekli ÇTKNT membran
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.

Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir

3.2.2.2.1.9 İbuprofenin İki Katlı Selofan Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması iki katlı selofan membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan selofan membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır.

Deney 3 paralel yapılmıştır. İki katlı selofan membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise ibuprofen çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 100µg/ml ibuprofen çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: İki katlı selofan membran
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 inci saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.1.10 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması iki selofan arası ÇTKNT dispersiyonu içeren membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan selofan membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır.

Deney 3 paralel yapılmıştır. İki selofan arası ÇTKNT dispersiyonu içeren membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise ibuprofen çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 100µg/ml ibuprofen çözeltisi

- Reseptör faz: Distile su
- Membran: iki selofan arası ÇTKNT dispersiyonu içeren membran
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 inci saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.1.11 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Ve Kolesterol Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması iki selofan arası ÇTKNT dispersiyonu içeren membran.

Kullanılan selofan membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. İki selofan arası ÇTKNT dispersiyonu içeren membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise ibuprofen çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 100µg/ml ibuprofen çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: İki selofan arası ÇTKNT dispersiyonu içeren membran
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 inci saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.1.12 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması iki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan selofan membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise ibuprofen çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 100µg/ml ibuprofen çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 inci saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.1.13 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %2 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması iki selofan arası ÇTKNT ve %2 BSA dispersiyonu içeren membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan selofan membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. İki selofan arası ÇTKNT ve %2 BSA dispersiyonu içeren membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise ibuprofen çözeltisi ilave

edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 100µg/ml ibuprofen çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: İki selofan arası ÇTKNT ve %2 BSA dispersiyonu içeren membran
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 inci saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.1.14 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %3 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması iki selofan arası ÇTKNT ve %3 BSA dispersiyonu içeren membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan selofan membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. İki selofan arası ÇTKNT ve %3 BSA dispersiyonu içeren membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise ibuprofen çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 100µg/ml ibuprofen çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: İki selofan arası ÇTKNT ve %3 BSA dispersiyonu içeren membran
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 inci saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.1.15 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Ve Kolesterol Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması iki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA ve kolesterol dispersiyonu içeren membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan selofan membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA ve kolesterol dispersiyonu içeren membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise ibuprofen çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 100µg/ml ibuprofen çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA ve kolesterol içeren dispersiyonu membran
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 inci saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.2 Naproksen İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları

3.2.2.2.2.1 Naproksenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması iki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan selofan membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise naproksen çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C’de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 10µg/ml Naproksen çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 inci saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.3 Salisilik Asit İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları

3.2.2.2.3.1 Salisilik Asitin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması iki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan selofan membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise salisilik asit çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C’de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 1.82 mg/ml salisilik asit çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 inci saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.3.2 Salisilik Asitin İnsan Derisinden Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması insan abdominal derisi ile gerçekleştirilmiştir.

Deney 3 paralel yapılmıştır. İnsan derisi Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise salisilik asit çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 1.82 mg/ml salisilik asit çözeltisi
- Reseptör faz: pH 7.4 izotonik fosfat tamponu
- Membran: İnsan abdominal derisi
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 inci saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler 0,2 mikron porlu filtreden 3 kez süzülerek bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir. Spektrofotometrede örnekler kontrol edilmiş ve su ile aynı absorbansları verdiği tespit edildiğinden aynı kalibrasyon denklemi kullanılmıştır.

3.2.2.2.4 Ketoprofen İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları

3.2.2.2.4.1 Ketoprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması iki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan selofan membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise ketoprofen çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 50 µg/ml ketoprofen çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 inci saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.5 Etodolak İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları

3.2.2.2.5.1 Etodolak'ın İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması iki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan selofan membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran geçiş çalışmaları Franz difüzyon hücreleri kullanılarak yapılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise etodolak çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 16 µg/ml ketoprofen çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 inci saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.6 Sildenafil İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları

3.2.2.2.6.1 Sildenafilin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması iki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran ile gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan selofan membran 24 saat boyunca distile su ile ıslatılmıştır. İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran geçiş çalışmaları Franz difüzyon hücreleri kullanılarak yapılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt

kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise sildenafil çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 3,5 mg/ml sildenafil çözeltisi
- Reseptör faz: Distile su
- Membran: İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membran
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 inci saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir.

3.2.2.2.6.2 Sildenafilin İnsan Derisinden Geçiş Çalışması

İn vitro geçiş çalışması insan abdominal derisi ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada distile su kullanılmıştır.

Sildenafilin insan derisinden geçiş çalışmaları Franz difüzyon hücreleri kullanılarak yapılmıştır. Deney 3 paralel yapılmıştır. İnsan derisi Franz hücrelerinin orta kısmına yerleştirilmiştir. Hücrelerin alt kısmına distile su (2 mL), üst kısmına ise sildenafil çözeltisi ilave edilmiştir. Ortam sıcaklığı 37°C'de tutulmuştur, sabit hızda karıştırma deney süresince devam etmiştir.

- Donör faz: 3.5 mg/ml sildenafil çözeltisi
- Reseptör faz: pH 7.4 fosfat tamponu
- Membran: İnsan abdominal derisi
- Örnek alma zamanları: 0, 4, 8, 12, 24, 48 inci saatlerde reseptör fazın tamamı alınmış ve distile su ile yer değiştirmiştir.
- 37°C su banyosunda manyetik karıştırıcı ile deney yapılmıştır.
- Alınan örnekler 0,2 mikron porlu filtreden 3 kez süzülerek bekletilmeden UV spektrofotometrede analiz edilmiştir. Spektrofotometrede örnekler kontrol edilmiş ve su ile aynı

absorbansları verdiği tespit edildiğinden aynı kalibrasyon denklemi kullanılmıştır.

3.2.2.3 İn vitro Geçiş Deneyleri Verileri İle Permeabilite Katsayısı (log K_p) Hesaplanması

İn vitro geçiş deneyleri sonucu elde edilen salım grafikleri değerlendirilerek salımın en hızlı olduğu bölgenin eğimi hesaplanmıştır. Hesaplanan eğim geçiş deneyi yapılan maddenin doymuş çözeltisinin derişimine bölünüp etkin maddenin permeabilite katsayısı (K_p) hesaplanmıştır. Hesaplanan permeabilite katsayısının logaritması alınarak LogK_p hesaplanmıştır. LogK_p hesabıyla ilgili denklem aşağıda verilmiştir.

$$\log K_p = \log \left(\frac{m}{C_d / S} \right)$$

Eşitlik 8

K_p ilgili etken maddenin permeabilite katsayısı; *m* salım grafiğinde geçişin en hızlı olduğu bölgenin eğimi; C_d etken maddenin doymuş çözeltisinin derişimi; S yüzey alanıdır.

3.2.2.4. Elde Edilen Sonuçlara Göre Yapay Membranların Uygunluğunun Değerlendirilmesi

Bunun için kullanılan etkin maddelerin literatürden deriden geçiş permeabilite kat sayıları elde edilmiştir.

Tablo10: Kullanılan etkin maddelerin literatür verileri

Etkin madde	Log kp (İnsan derisi)	Kaynak
İbuprofen	-2,081	11,111,112
Naproksen	-2,137	11,111,112
Ketoprofen	-2,3342	112
Salisilik Asit	-3,4562	112
Etodolak	-3,7609	11,111,112
Sildenafil	-2,995	123

Kullandığımız membranın uygunluğunu değerlendirebilmek için literatürdeki insan derisine ait permeabilite katsayıları ile hazırlanan model membranlardan elde edilen permeabilite kat sayıları karşılaştırılmıştır

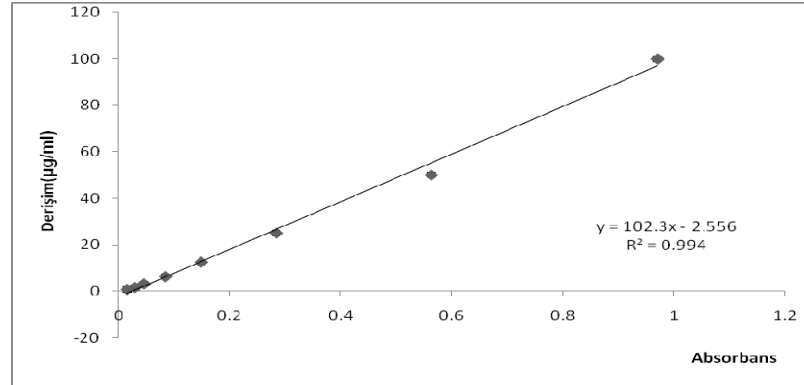
4. BULGULAR

4.1 Miktar Tayinleri Validasyon Bulguları

4.1.1 İbuprofenin UV Spektrofotometre ile miktar tayini validasyonu:

4.1.1.1 UV Spektrofotometre İle İbuprofenin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.2.1 de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Elde edilen doğru denklemi ve kalibrasyon grafiği Şekil 2’de görülmektedir.



Şekil 2: İbuprofen kalibrasyon grafiği

4.1.1.2 Doğrusallık

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.2.2'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Ölçülen absorbanslara karşılık hazırlanan derişimler grafiğe geçirilmiş ve en küçük kareler yöntemine göre değerlendirilip, standart doğru denklemi bulunmuştur.

UV spektrofotometre ölçümleri sonucu elde edilen kalibrasyon grafiği şekil 2'de görülmektedir.

4.1.1.3 Doğruluk ve Geri Elde

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.2.3'te anlatıldığı şekilde yapılmıştır. İbuprofenin suda doğruluk sonuçları Tablo11'de gösterilmiştir.

Tablo11: İbuprofen doğruluk tayini sonuçları

Hazırlanan konsantrasyon(µg/mL)	Konsantrasyon (µg/mL)	% Geri elde edilen miktar (µg/mL)
50	51,09032	102,6
50	48,94034	97,9
50	50,47604	100,9
50	49,1451	98,3
50	50,78318	101,6
50	48,73558	97,5
Ortalama		99,7
SD		2,07
Varyasyon Katsayısı		2,07

4.1.1.4 Kesinlik

Çalışmalar Bölüm 3.2.2.1.2.4'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. İbuprofenin geri elde sonuçları Tablo12 ve Tablo13'te verilmiştir.

a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)

İbuprofenin 6,25 µg/ml derişiminde hazırlanan çözeltisi UV spektrofotometrede ardarda 6 kez ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar Tablo12'de verilmiştir.

Tablo12: İbuprofen deney içi kesinlik sonuçları

Örnek No	İbuprofenin çözeltilisinin derişimi (µg/mL)	Hesapla bulunan derişimler (µg/mL)
1	6,25	6,25
2	6,25	5,84
3	6,25	6,45
4	6,25	5,84
5	6,25	6,55
6	6,25	6,35
Ortalama		6,22
SD		0,31
Varyasyon Katsayısı (Yüzde sapma)		4,92

b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)

Bölüm 3.2.2.1.2.4.'da anlatıldığı gibi yapılmıştır. Birbirini takip eden 3 gün içinde aynı şekilde hazırlanan stok çözeltilerin analizi yapılmıştır. Sonuçlar Tablo13'te verilmiştir. Yöntemin günden güne değişik sonuçlar vermediği anlaşılmıştır.

Tablo13: İbuprofen deneyler arası kesinlik sonuçları

Konsantrasyon (µg/mL)	1. gün	2.gün	3.gün
100	96,0	98,5	95,4
50	109,8	113,9	106,9
25	107,7	101,9	109,4
12,5	101,6	97,5	107,3
6,25	99,9	93,4	104,9
Ortalama	103	101	105
SD	5,65	7,78	5,46
SEM	3,26	4,49	3,15

4.1.1.5 Duyarlılık ve saptama sınırı

Kalibrasyon eğrisinin eğimi için 3 tane olan kalibrasyon grafiğinin ortak kalibrasyon denklemi bulunmuş ve onun eğimi alınmıştır. Ortak denklemin eğimi:102,38'dir.

İbuprofenin saptanabilen en düşük derişimi: 0,78 µg/ml

Duyarlık sınırı: 0,00846 µg/ml

Saptama sınırı: 0,0256 µg/ml

4.1.1.6 Özgünlük ve Seçicilik

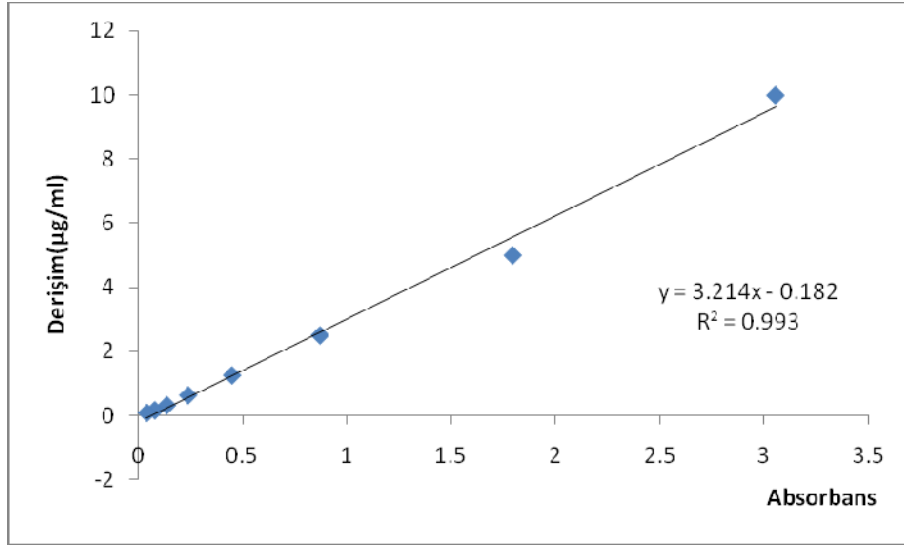
Çalışma Bölüm 3.2.2.1.2.6'da anlatıldığı gibi yapılmıştır.

İbuprofenin pik verdiği dalga boyunda distile suyun absorbansına bakılmış, pik vermediği gösterilmiştir. Yöntemin ibuprofen tayinine uygun olduğuna karar verilmiştir.

4.1.2 Naproksenin UV Spektrofotometre ile miktar tayini validasyonu:

4.1.2.1 UV Spektrofotometre İle Naproksenin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.4.1’de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Elde edilen doğru denklemi ve kalibrasyon grafiği Şekil 3’de görülmektedir.



Şekil 3: Naproksen kalibrasyon grafiği

4.1.2.2 Doğrusallık

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.4.2’de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Ölçülen absorbanslara karşılık hazırlanan derişimler grafiğe geçirilmiş ve en küçük kareler yöntemine göre değerlendirilip, standart doğru denklemi bulunmuştur.

UV spektrofotometre ölçümleri sonucu elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 3’de görülmektedir.

4.1.2.3 Doğruluk ve Geri Elde

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.2.3’te anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Naproksenin suda doğruluk sonuçları Tablo14’de gösterilmiştir.

Tablo14: Naproksen doğruluk ve geri elde verileri

Hazırlanan konsantrasyon($\mu\text{g/mL}$)	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	% Geri elde edilen miktar ($\mu\text{g/mL}$)
1,25	1,270	101,7
1,25	1,264	101,1
1,25	1,284	102,7
1,25	1,257	100,6
1,25	1,268	101,4
1,25	1.270	101,7
Ortalama		101,53
SD		0,706
Varyasyon Katsayısı		0,695

4.1.2.4 Kesinlik

Çalışmalar Bölüm 3.2.2.1.4.4'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Naproksenin geri elde sonuçları Tablo15 ve Tablo 16'da verilmiştir.

a.Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)

Naproksenin suda 0,625 $\mu\text{g/mL}$ derişiminde hazırlanan çözeltisi UV spektrofotometrede ardarda 6 kez ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar Tablo15'de verilmiştir.

Tablo15: Naproksen tekrar edilebilirlik verileri

Örnek No	Naproksen çözeltilisinin derişimi (µg/mL)	Hesapla bulunan derişimler (µg/mL)
1	0,625	0,666
2	0,625	0,653
3	0,625	0,647
4	0,625	0,627
5	0,625	0,666
6	0,625	0,653
Ortalama		0,652
SD		0,015
Varyasyon Katsayısı (Yüzde sapma)		2,22

b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)

Bölüm 3.2.2.1.4.4.'da anlatıldığı gibi yapılmıştır. Birbirini takip eden 3 gün içinde aynı şekilde hazırlanan stok çözeltilerin analizi yapılmıştır. Sonuçlar Tablo16'da verilmiştir. Yöntemin günden güne değişik sonuçlar vermediği anlaşılmıştır.

Tablo16: Naproksen tekrar elde edilebilirlik verileri

Konsantrasyon (µg/mL)	1. gün	2.gün	3.gün
10	93,3	96,8	98,4
5	103	104,4	101,6
2,5	107,6	107,4	96,8
1,25	10,7	102,7	96,8
0,625	89,7	103	85
Ortalama	99,1	103	96,2
SD	7,4	3,9	6,5
SEM	4,26	2,24	3,7

4.1.2.5 Duyarlılık ve saptama sınırı

Kalibrasyon eğrisinin eğimi için 3 tane olan kalibrasyon grafiğinin ortak kalibrasyon denklemi bulunmuş ve onun eğimi alınmıştır. Ortak denklemin eğimi:3,2141'dir

Naproksenin sudaki en düşük derişimi: 0,78 µg/ml

Duyarlık sınırı : 0,007404 µg/ml

Saptama sınırı: 0,022436 µg/ml

4.1.2.6 Özgünlük ve Seçicilik

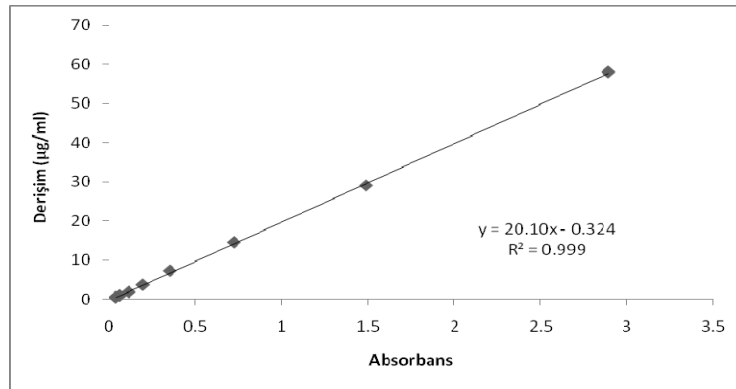
Çalışma 3.2.2.1.4.6'da anlatıldığı gibi yapılmıştır.

Naproksenin pik verdiği dalga boyunda distile suyun absorbansına bakılmış, pik vermediği gösterilmiştir. Yöntemin naproksen tayinine uygun olduğuna karar verilmiştir.

4.1.3 Salisilik asitin UV Spektrofotometre ile miktar tayini validasyonu:

4.1.3.1 UV Spektrofotometre İle Salisilik asitin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.6.1'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Elde edilen doğru denklemi ve kalibrasyon grafiği şekil 4'de görülmektedir.



Şekil 4: Salisilik asitin kalibrasyon grafiği

4.1.3.2 Doğrusallık

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.6.2’de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Ölçülen absorbanlara karşılık hazırlanan derişimler grafiğe geçirildi. En küçük kareler yöntemine göre değerlendirilip, standart doğru denklemi bulundu ve doğrusallığı kanıtlandı.

UV spektrofotometre ölçümleri sonucu elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 4’de görülmektedir.

4.1.3.3 Doğruluk ve Geri Elde

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.6.3’te anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Salisilik asitin suda doğruluk sonuçları Tablo17’de gösterilmiştir.

Tablo17: Salisilik asit doğruluk ve geri elde verileri

Hazırlanan konsantrasyon($\mu\text{g/mL}$)	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	% Geri elde edilen miktar ($\mu\text{g/mL}$)
14,5	14,27	98,41
14,5	15,13	104,3
14,5	14,59	100,6
14,5	14,73	101,6
14,5	15,05	109,8
14,5	14,51	100
Ortalama		102
SD		2,27
Varyasyon Katsayısı		2,23

4.1.3.4 Kesinlik

Çalışmalar Bölüm 3.2.2.1.6.4’de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Salisilik asitin geri elde sonuçları Tablo 18 ve Tablo19’da verilmiştir.

a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)

Salisilik asitin suda 14,5 µg/ml derişiminde hazırlanan çözeltisi UV Spektrofotometrede ardarda 6 kez ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar Tablo18'de verilmiştir.

Tablo18: Salisilik asitin tekrar edilebilirlik verileri

Örnek No	Salisilik asit çözeltisinin derişimi (µg/mL)	Hesapla bulunan derişimler (µg/mL)
1	14,5	14,27
2	14,5	15,13
3	14,5	14,59
4	14,5	14,73
5	14,5	15,05
6	14,5	14,51
Ortalama		14,7
SD		0,33
Varyasyon Katsayısı (Yüzde sapma)		2,23

b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)

Bölüm 3.2.2.1.6.4'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Birbirini takip eden 3 gün içinde aynı şekilde hazırlanan stok çözeltilerin analizi yapılmıştır. Sonuçlar Tablo19'da verilmiştir. Yöntemin günden güne değişik sonuçlar vermediği anlaşılmıştır.

Tablo19: Salisilik asitin tekrar elde edilebilirlik verileri

Konsantrasyon (µg/mL)	1. gün	2.gün	3.gün
58	102	100,4	96,5
29	109,6	101,5	95,3
14,5	106	95,5	93,4
7,25	100,9	90,6	89,8
3,165	101,4	115,3	84,2
Ortalama	104	101	91,8
SD	3,73	9,24	5
SEM	2,15	5,34	2,86

4.1.3.5 Duyarlılık ve saptama sınırı

Kalibrasyon eğrisinin eğimi için 3 tane olan kalibrasyon grafiğinin ortak kalibrasyon denklemi bulunmuş ve onun eğimi alınmıştır. Ortak denklemin eğimi:20,10'dır

Salisilik asitin sudaki en düşük derişimi: 0,459 µg/ml

Duyarlık sınırı: 0,000434 µg/ml

Saptama sınırı: 0,001316 µg/ml

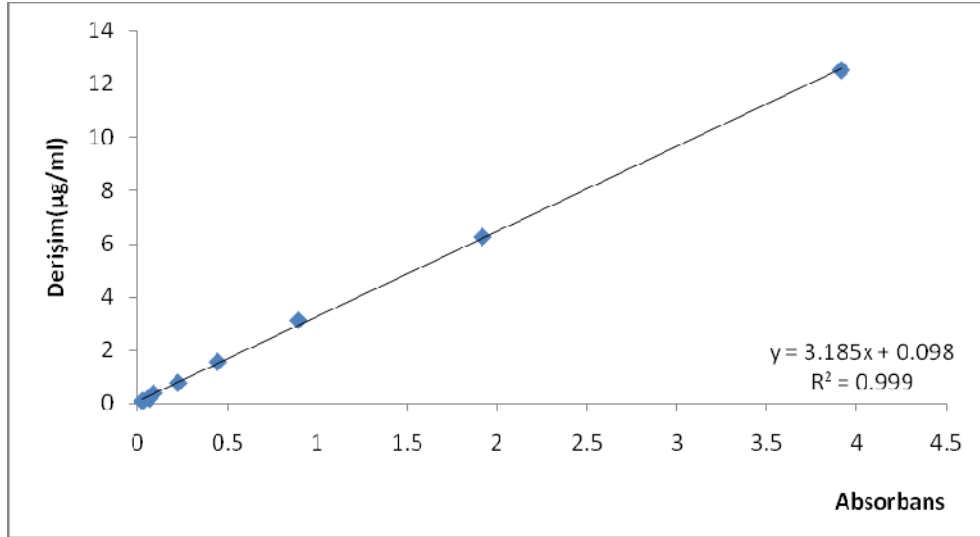
4.1.3.6 Özgünlük ve Seçicilik

Çalışma 3.2.2.1.6.6'da anlatıldığı gibi yapılmıştır. Salisilik asitin pik verdiği dalga boyunda distile suyun absorbansına bakılmış, pik vermediği gösterilmiştir. Yöntemin salisilik asit tayinine uygun olduğuna karar verilmiştir.

4.1.4 Ketoprofenin UV Spektrofotometre ile miktar tayini validasyonu:

4.1.4.1 UV Spektrofotometre İle Ketoprofenin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.8.1’de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Elde edilen doğru denklemi ve kalibrasyon grafiği Şekil 5’de görülmektedir.



Şekil 5: Ketoprofenin kalibrasyon grafiği

4.1.4.2 Doğrusallık

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.8.2’de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Ölçülen absorbanslara karşılık hazırlanan derişimler grafiğe geçirilmiştir. En küçük kareler yöntemine göre değerlendirilip, standart doğru denklemi bulunmuştur.

UV spektrofotometre ölçümleri sonucu elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 5’de görülmektedir.

4.1.4.3 Doğruluk ve Geri Elde

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.8.3’te anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Ketoprofenin suda doğruluk sonuçları Tablo20’de gösterilmiştir.

Tablo20: Ketoprofen doğruluk ve geri elde verileri

Hazırlanan konsantrasyon($\mu\text{g/mL}$)	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	% Geri elde edilen miktar ($\mu\text{g/mL}$)
2	2,090	104,5
2	1,982	99,1
2	1,994	99,7
2	2,010	100,5
2	2,067	103,35
2	2,026	101,3
Ortalama		101
SD		2,12
Varyasyon Katsayısı		2,09

4.1.4.4 Kesinlik

Çalışmalar Bölüm 3.2.2.1.8.4'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Ketoprofenin geri elde sonuçları Tablo21 ve Tablo22'de verilmiştir.

a.Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)

Ketoprofenin suda 2 $\mu\text{g/ml}$ derişiminde hazırlanan çözeltisi UV spektrofotometrede ardarda 6 kez ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar Tablo21'de verilmiştir.

Tablo21: Ketoprofenin tekrar edilebilirlik verileri

Örnek No	Ketoprofen çözeltisinin derişimi ($\mu\text{g/mL}$)	Hesapla bulunan derişimler ($\mu\text{g/mL}$)
1	2	2,092
2	2	1,955
3	2	1,996
4	2	2,012
5	2	2,070
6	2	2,028
Ortalama		2,03
SD		0,05
Varyasyon Katsayısı (Yüzde sapma)		2,46

b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)

Bölüm 3.2.2.1.8.4.'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Birbirini takip eden 3 gün içinde aynı şekilde hazırlanan stok çözeltilerin analizi yapılmıştır. Sonuçlar Tablo22'de verilmiştir. Yöntemin günden güne değişik sonuçlar vermediği anlaşılmıştır.

Tablo22: Ketoprofen tekrar elde edilebilirlik verileri

Konsantrasyon (µg/mL)	1. gün	2.gün	3.gün
12,5	100,5	100,5	100,5
6,25	100,9	102	94,9
3,125	88,2	98,8	95,5
1,562	96,1	101,6	92,8
0,781	100,4	106,9	104,4
0,391	91,3	101,9	96,2
Ortalama	96,2	102	97,4
SD	5,43	2,71	4,3
SEM	3,13	1,56	2,48

4.1.4.5 Duyarlılık ve saptama sınırı

Kalibrasyon eğrisinin eğimi için 3 tane olan kalibrasyon grafiğinin ortak kalibrasyon denklemi bulunmuş ve onun eğimi alınmıştır. Ortak denklemin eğimi:3,185'dir

Ketoprofenin sudaki en düşük derişimi: 0,0978 µg/ml

Duyarlık sınırı: 0,002072 µg/ml

Saptama sınırı: 0,006278 µg/ml

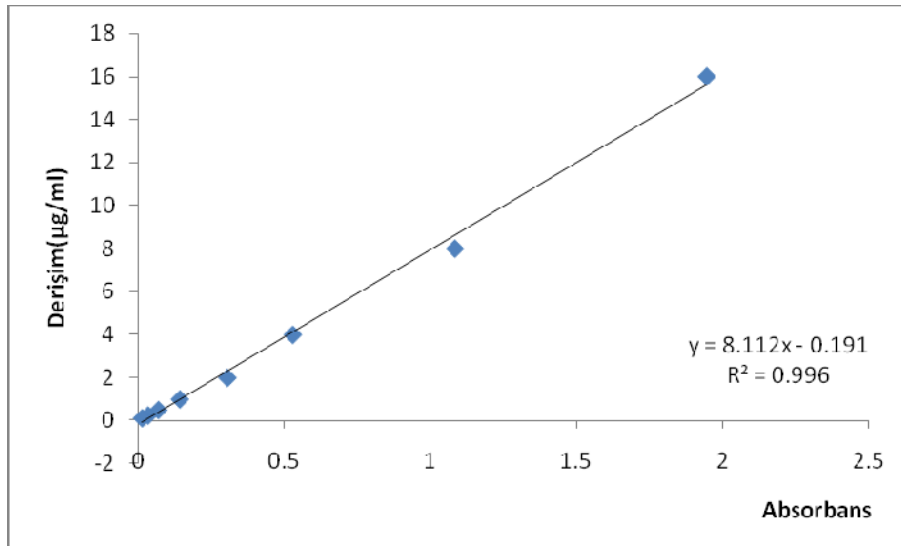
4.1.4.6 Özgünlük ve Seçicilik

Çalışma 3.2.2.1.8.6'da anlatıldığı gibi yapılmıştır. Ketoprofenin pik verdiği dalga boyunda distile suyun absorpsiyonuna bakılmış, pik vermediği gösterilmiştir. Yöntemin ketoprofen tayinine uygun olduğuna karar verilmiştir.

4.1.5 Etodolak'ın UV Spektrofotometre ile miktar tayini validasyonu:

4.1.5.1 UV Spektrofotometre İle Etodolak'ın Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.10.1'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Elde edilen doğru denklemi ve kalibrasyon grafiği Şekil 6'da görülmektedir.



Şekil 6: Etodolak'ın kalibrasyon grafiği

4.1.5.2 Doğrusallık

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.10.2'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Ölçülen absorpsiyonlara karşılık hazırlanan derişimler grafiğe geçirildi. En küçük kareler yöntemine göre değerlendirilip, standart doğru denklemi bulunmuştur.

UV Spektrofotometre ölçümleri sonucu elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 6'da görülmektedir.

4.1.5.3 Doğruluk ve Geri Elde

Çalışma bölüm 3.2.2.1.10.3'te anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Etodolak'ın suda doğruluk sonuçları Tablo23'de gösterilmiştir.

Tablo23: Etodolak'ın doğruluk ve geri elde verileri

Hazırlanan konsantrasyon($\mu\text{g/mL}$)	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	% Geri elde edilen miktar ($\mu\text{g/mL}$)
4	4,092	102,3
4	4,027	100,7
4	4,124	103,1
4	4,068	101,7
4	4,165	104,1
4	3,986	99,65
Ortalama		102
SD		1,62
Varyasyon Katsayısı		1,59

4.1.5.4 Kesinlik

Çalışmalar Bölüm 3.2.2.1.10.4'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Etodolağın geri elde sonuçları Tablo 24 ve Tablo25'te verilmiştir.

a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)

Etodolak'ın suda 4 $\mu\text{g/ml}$ derişiminde hazırlanan çözeltisi UV Spektrofotometrede ardarda 6 kez ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar Tablo 24'de verilmiştir.

Tablo24: Etodolak'ın tekrar edilebilirlik verileri

Örnek No	Etodolak çözeltisinin derişimi (µg/mL)	Hesapla bulunan derişimler (µg/mL)
1	4	4,092
2	4	4,027
3	4	4,124
4	4	4,068
5	4	4,165
6	4	3,986
Ortalama		4,08
SD		0,07
Varyasyon Katsayısı (Yüzde sapma)		1,59

b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)

Bölüm 3.2.2.1.10.4'de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Birbirini takip eden 3 gün içinde aynı şekilde hazırlanan stok çözeltilerin analizi yapılmıştır. Sonuçlar Tablo25'te verilmiştir. Yöntemin günden güne değişik sonuçlar vermediği anlaşılmıştır.

Tablo25: Etodolağın tekrar elde edilebilirlik verileri

Konsantrasyon (µg/mL)	1. gün	2.gün	3.gün
12,5	96,7	95,1	100,8
6,25	109,6	102,5	110,7
3,125	100,3	98,4	108,4
1,562	97,1	98,3	98,3
0,781	106,6	86,3	93,6
Ortalama	102	96,1	102
SD	5,769	6,074	7,1
SEM	3,331	3,507	4,09

4.1.5.5 Duyarlılık ve saptama sınırı

Kalibrasyon eğrisinin eğimi için 3 tane olan kalibrasyon grafiğinin ortak kalibrasyon denklemi bulunmuş ve onun eğimi alınmıştır. Ortak denklemin eğimi:8,112'dir.

Etodolak'ın sudaki en düşük derişimi: 0,125 µg/ml

Duyarlılık sınırı: 0,001467 µg/ml

Saptama sınırı: 0,004444 µg/ml

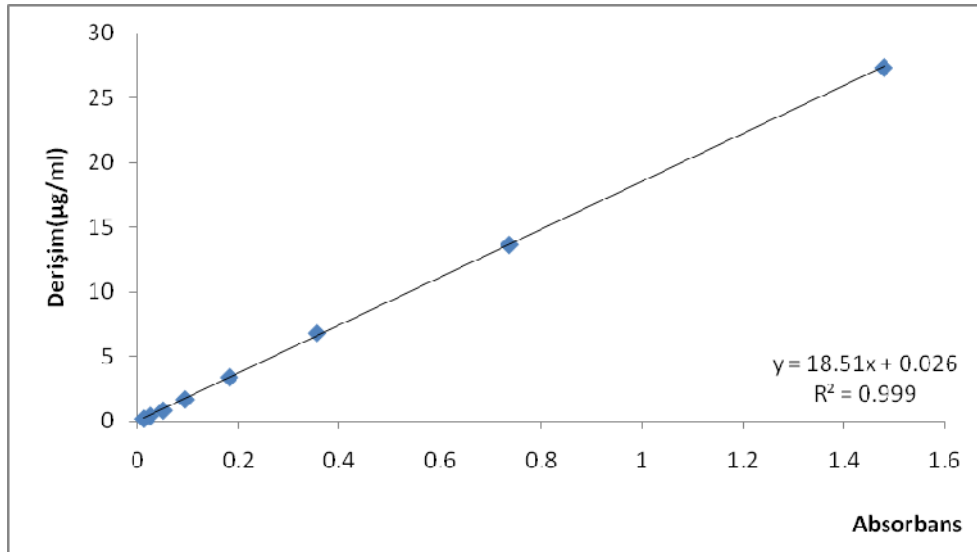
4.1.5.6 Özgünlük ve Seçicilik

Çalışma 3.2.2.1.10.6'da anlatıldığı gibi yapılmıştır. Etodolak'ın pik verdiği dalga boyunda distile suyun absorbansına bakılmış, pik vermediği gösterilmiştir. Yöntemin etodolak tayinine uygun olduğuna karar verilmiştir.

4.1.6 Sildenafilin UV Spektrofotometre ile miktar tayini validasyonu:

4.1.6.1 UV Spektrofotometre İle Sildenafilin Kalibrasyon Denkleminin Elde Edilmesi:

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.12.1'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Elde edilen doğru denklemi ve kalibrasyon grafiği Şekil 7'de görölmektedir.



Şekil 7: Sildenafilin kalibrasyon grafiği

4.1.6.2 Doğrusallık

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.12.2 de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Ölçülen absorbanslara karşılık hazırlanan derişimler grafiğe geçirilmiş ve en küçük kareler yöntemine göre değerlendirilip, standart doğru denklemi bulunmuştur. UV Spektrofotometre ölçümleri sonucu elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 7’de görülmektedir.

4.1.6.3 Doğruluk ve Geri Elde

Çalışma Bölüm 3.2.2.1.12.3’e anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Sildenafil in suda doğruluk sonuçları Tablo 26 ‘da gösterilmiştir.

Tablo26: Sildenafil in Doğruluk ve geri elde verileri

Hazırlanan konsantrasyon($\mu\text{g/mL}$)	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	% Geri elde edilen miktar ($\mu\text{g/mL}$)
10	9,80	98
10	9,99	99,9
10	10,13	101,3
10	10,12	101,2
10	10,41	104,1
10	9,56	95,6
Ortalama		100
SD		2,94
Varyasyon Katsayısı		2,94

4.1.6.4 Kesinlik

Çalışmalar Bölüm 3.2.2.1.12.4’de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Sildenafil in geri elde sonuçları Tablo27 ve Tablo28’de verilmiştir.

a. Deney İçi Kesinlik (Tekrar Edilebilirlik)

Sildenafil suda 4 µg/ml derişiminde hazırlanan çözeltisi UV spektrofotometrede ardarda 6 kez ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar Tablo 27’de verilmiştir.

Tablo27: Sildenafil tekrar edilebilirlik verileri

Örnek No	Sildenafil çözeltisinin derişimi (µg/mL)	Hesapla bulunan derişimler (µg/mL)
1	10	9,80
2	10	9,99
3	10	10,13
4	10	10,12
5	10	10,41
6	10	9,56
Ortalama		10
SD		0,29
Varyasyon Katsayısı (Yüzde sapma)		2,94

b. Deneyler Arası Kesinlik (Tekrar Elde Edilebilirlik)

Bölüm 3.2.2.1.12.4’de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Birbirini takip eden 3 gün içinde aynı şekilde hazırlanan stok çözeltilerin analizi yapılmıştır. Sonuçlar Tablo28’te verilmiştir. Yöntemin günden güne değişik sonuçlar vermediği anlaşılmıştır.

Tablo28: Sildenafil'in tekrar elde edilebilirlik verileri

Konsantrasyon (µg/mL)	1. gün	2.gün	3.gün
27,3438	98,1	100,9	101,7
13,6719	98,2	102,6	98,8
6,836	96,3	100,3	93
3,418	98,8	95,6	103,2
1,709	106,6	102,3	99,1
0,8545	105	103,7	102,9
Ortalama	100,5	100,9	99,8
SD	4,22	2,87	3,79
SEM	2,44	1,66	2,19

4.1.6.5 Duyarlılık ve saptama sınırı

Kalibrasyon eğrisinin eğimi için 3 tane olan kalibrasyon grafiğinin ortak kalibrasyon denklemi bulunmuş ve onun eğimi alınmıştır. Ortak denklemin eğimi:18,51'dir.

Sildenafil'in sudaki en düşük derişimi: 0,2136 µg/ml

Duyarlık sınırı: 0,000472 µg/ml

Saptama sınırı: 0,001429 µg/ml

4.1.6.6 Özgünlük ve Seçicilik

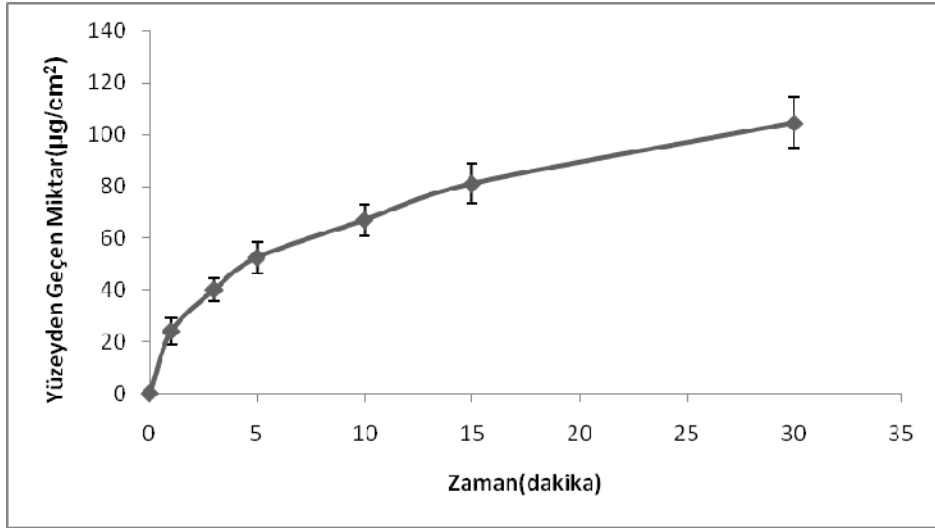
Çalışma 3.2.2.1.10.6'da anlatıldığı gibi yapılmıştır. Sildenafil'in pik verdiği dalga boyunda distile suyun absorbansına bakılmış, pik vermediği gösterilmiştir. Yöntemin Sildenafil'in tayinine uygun olduğuna karar verilmiştir.

4.2 İn vitro Geçiş Çalışmaları

4.2.1 İbuprofen İle Yapılan İn vitro Geçiş Çalışmaları

4.2.1.1 İbuprofenin Selüloz Filtreli Destekli ÇTKNT Membrandan Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.1.1’de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. İbuprofene ait salım grafiği ise Şekil 8’ de verilmiştir.

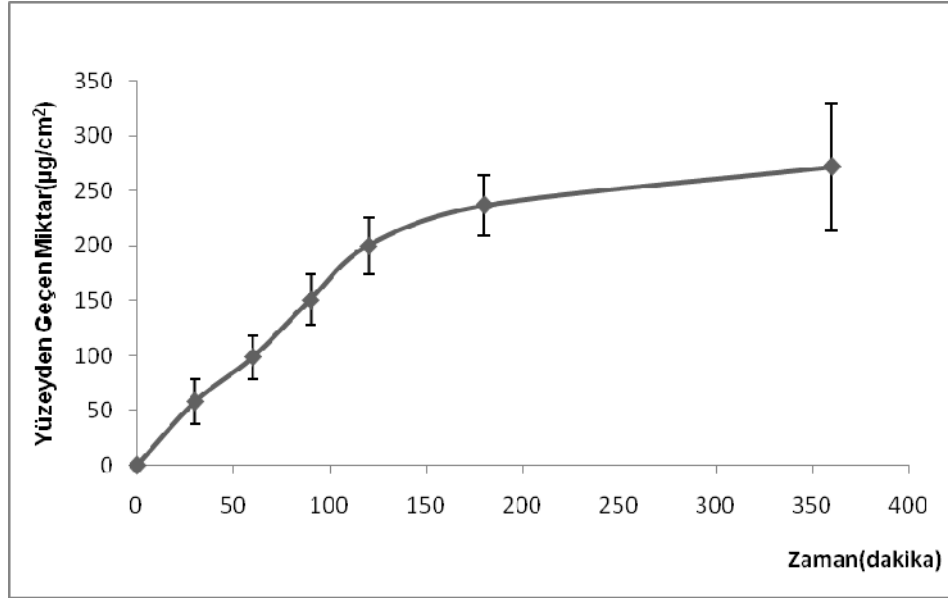


Şekil 8: İbuprofenin KNT membranla yapılan geçiş deneyi

$\log K_p$ değeri -1,8817 olarak hesaplanmıştır.

4.2.1.2 İbuprofenin Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.1.2 ‘de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. İbuprofene geçiş grafiği ise Şekil 9 ‘da verilmiştir.

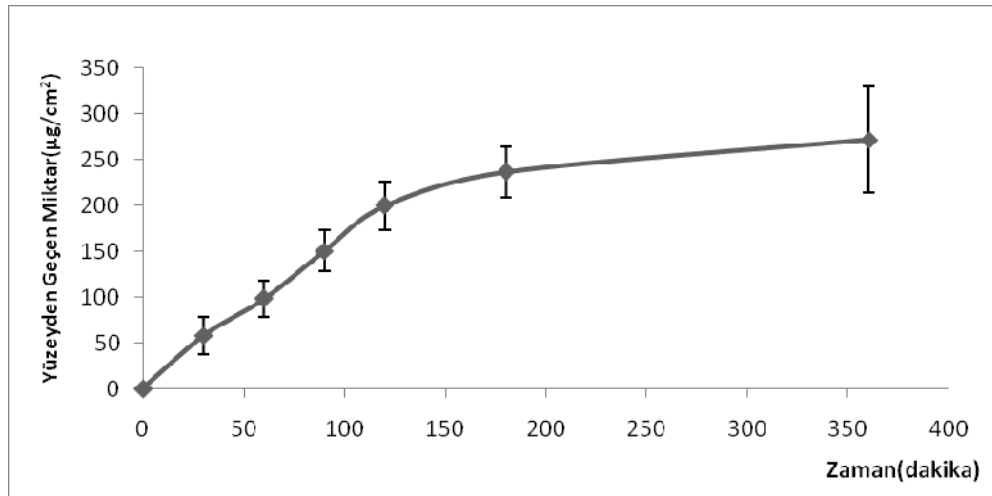


Şekil 9: İbuprofenin KNT membranla yapılan geçiş deneyinin 360 dakikalık profili

$\log K_p$ değeri -2,5252 olarak hesaplanmıştır.

4.2.1.3 İbuprofenin İsoYpropil Miristat Kaplı Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.1.3'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. İbuprofene ait geçiş grafiğı ise Şekil 10 'da verilmiştir.

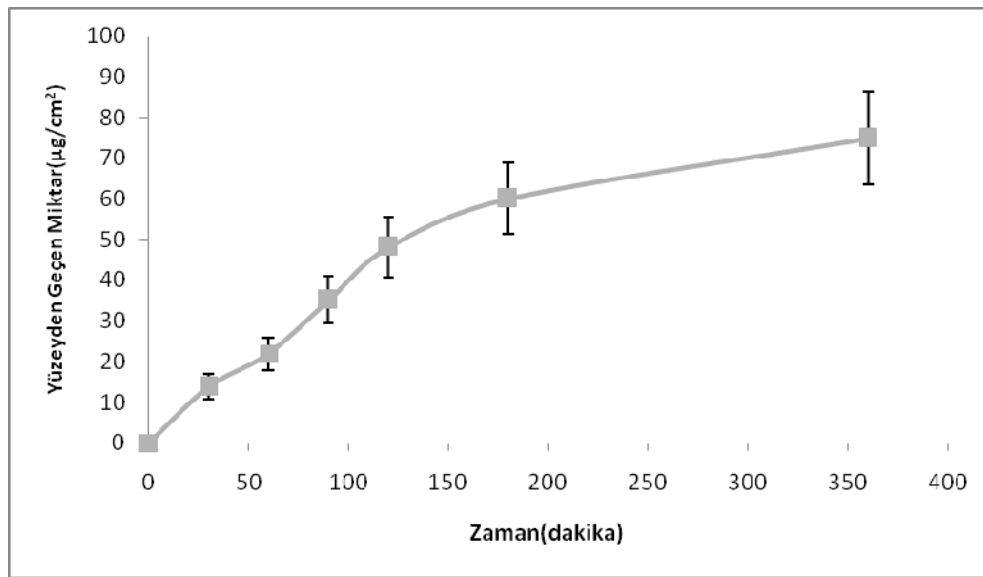


Şekil 10: İbuprofenin isopropil miristat kaplı KNT membranla yapılan geçiş deneyinin profili

$\log K_p$ değeri -2,6685 olarak hesaplanmıştır.

4.2.1.4 İbuprofenin 2 Katlı Selofan Membrandan 3 Saatlik Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.1.4'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. İbuprofene ait salım grafiği ise Şekil 11'de verilmiştir.

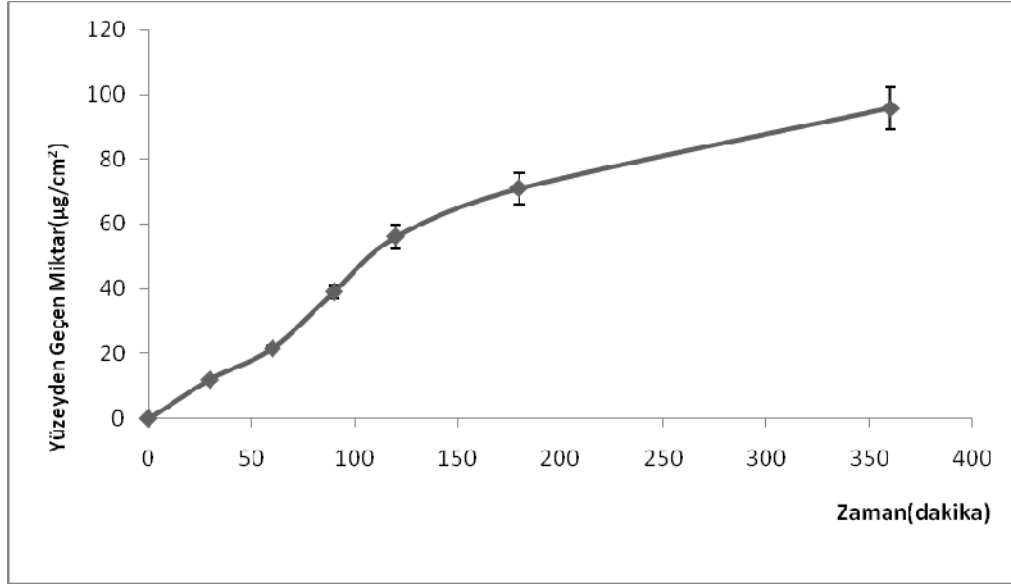


Şekil 11: İbuprofenin 2 katlı selofan membranla yapılan geçiş deneyinin profili

$\log K_p$ değeri -3,0999 olarak hesaplanmıştır.

4.2.1.5 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Dispersiyonu İçeren Membrandan 3 saatlik Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.1.5'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. İbuprofene ait salım grafiği ise Şekil 12'de verilmiştir.

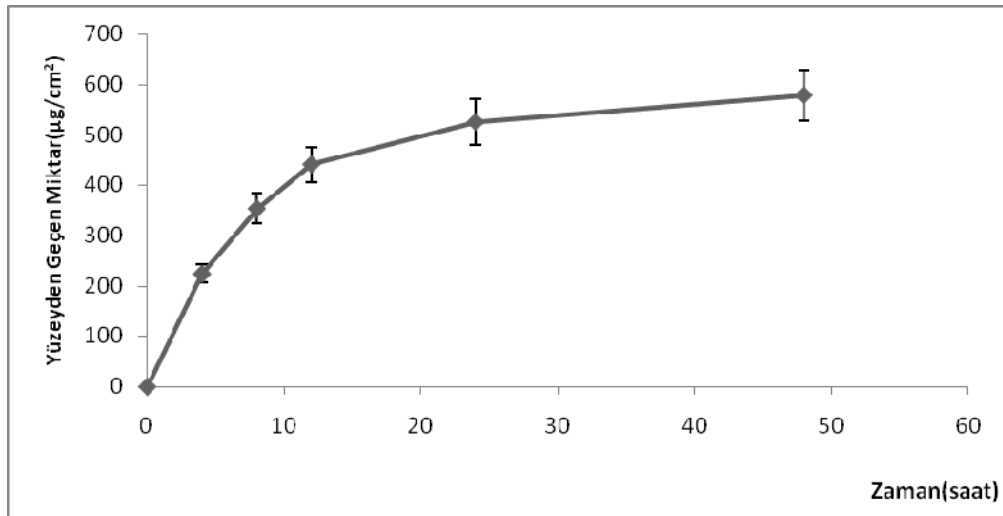


Şekil 12: İbuprofenin iki selofan arası 2mg/ml ÇTKNT dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili

$\log K_p$ değeri -2,9815 olarak hesaplanmıştır.

4.2.1.6 İbuprofenin Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.1.6'da anlatıldığı şekilde yapılmıştır. İbuprofene ait salım grafiği ise Şekil 13'de verilmiştir.

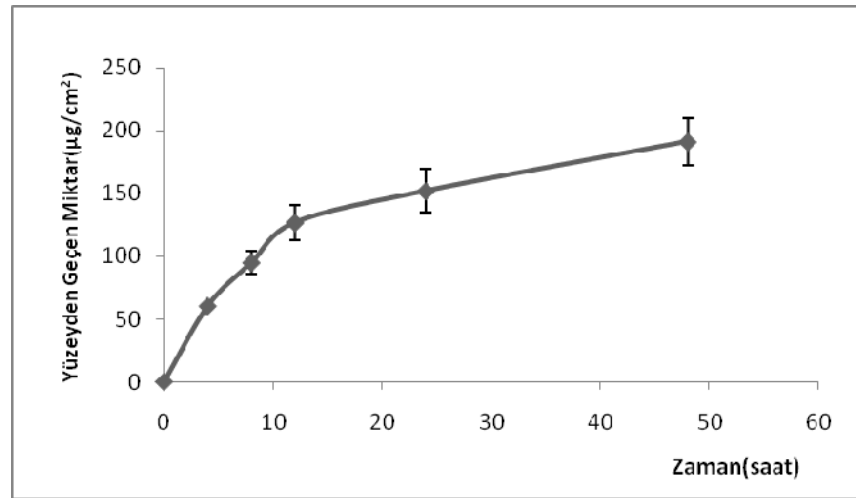


Şekil 13: İbuprofenin KNT membrandan yapılan geçiş deneyinin profili

$\log K_p$ değeri -1,0956 olarak hesaplanmıştır.

4.2.1.7 İbuprofenin Kolesterol Kaplı Selülozik Filtreli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.1.7’de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. İbuprofene ait salım grafiği ise Şekil 14’de verilmiştir.

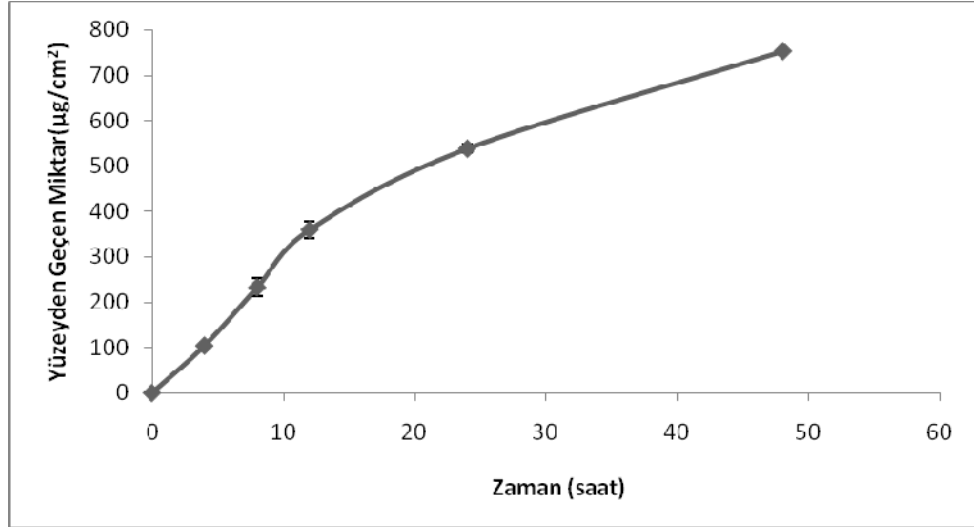


Şekil 14: İbuprofenin kolesterol kaplı KNT membrandan yapılan geçiş deneyinin profili

$\log K_p$ değeri -1,7246 olarak hesaplanmıştır.

4.2.1.8 İbuprofenin Kolesterol Ve %1 BSA Kaplı Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.1.8’de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. İbuprofene ait salım grafiği ise Şekil 15’de verilmiştir.

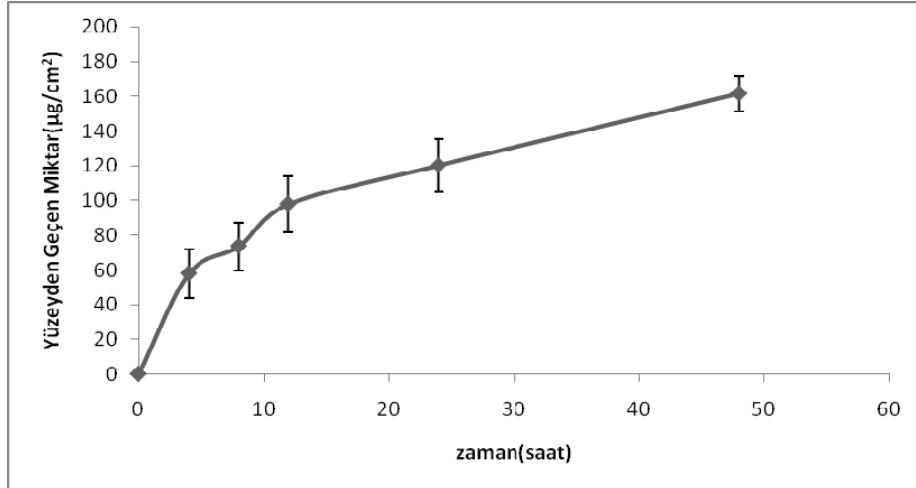


Şekil 15: İbuprofenin kolesterol ve %1 BSA kaplı KNT membrandan yapılan geçiş deneyinin profili

$\log K_p$ değeri -1,2366 olarak hesaplanmıştır.

4.2.1.9 İbuprofenin İki Katlı Selofan Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.1.9'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. İbuprofene ait salım grafiğı ise Şekil 16'da verilmiştir.

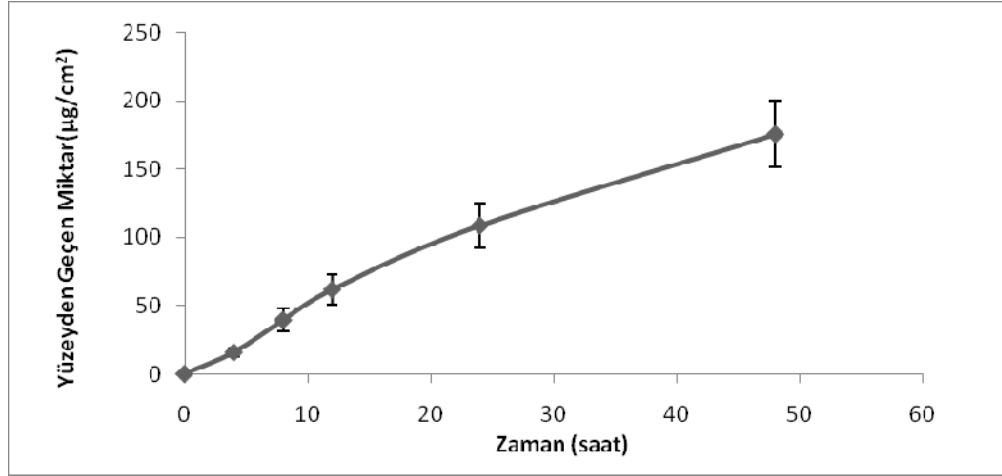


Şekil 16: İbuprofenin 2 katlı selofan membrandan yapılan geçiş deneyinin profili

$\log K_p$ değeri -1,8519 olarak hesaplanmıştır.

4.2.1.10 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

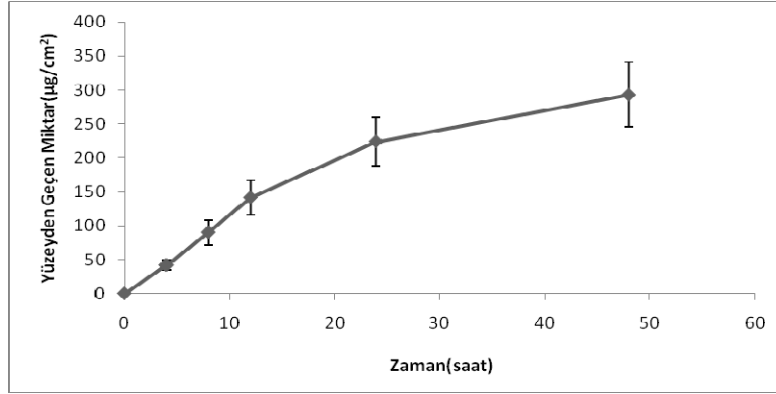
Çalışma Bölüm 3.2.2.2.1.10'da anlatıldığı şekilde yapılmıştır. İbuprofene ait salım grafiği ise Şekil 17'de verilmiştir.



Şekil 17: İbuprofenin iki selofan arası 2mg/ml ÇTKNT dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili
logK_p değeri -1,9807 olarak hesaplanmıştır.

4.2.1.11 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Ve Kolesterol Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.1.11'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. İbuprofene ait salım grafiği ise Şekil 18'de verilmiştir.

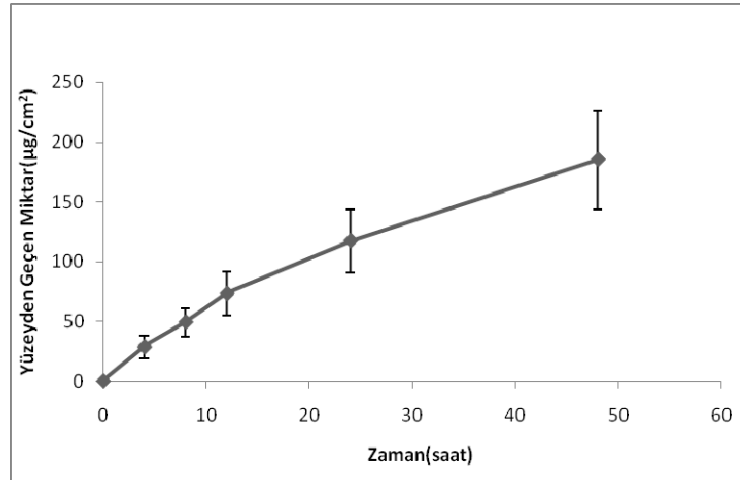


Şekil 18: İbuprofenin iki selofan arası 2 mg/ml ÇTKNT ve kolesterol dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili

$\log K_p$ değeri -1,6674 olarak hesaplanmıştır.

4.2.1.12 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.1.12'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. İbuprofene ait salım grafiğı ise Şekil 19'da verilmiştir.

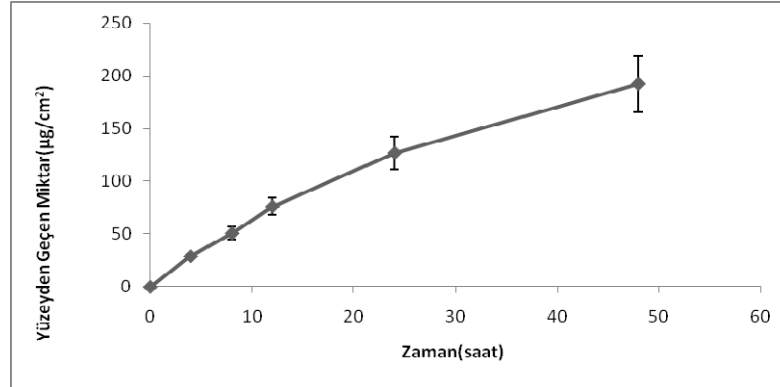


Şekil 19: İbuprofenin iki selofan arası 2 mg/ml ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili

$\log K_p$ değeri -1,9619 olarak hesaplanmıştır.

4.2.1.13 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT ve %2 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

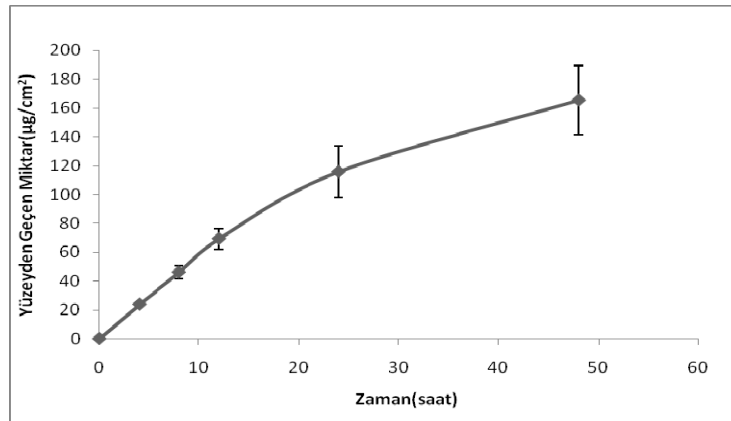
Çalışma Bölüm 3.2.2.2.1.13'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. İbuprofene ait salım grafiği ise Şekil 20'de verilmiştir.



Şekil 20 İbuprofenin iki selofan arası 2 mg/ml ÇTKNT ve %2 BSA dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili $\log K_p$ değeri -1,9439 olarak hesaplanmıştır.

4.2.1.14 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT ve %3 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.1.14'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. İbuprofene ait salım grafiği ise Şekil 21'de verilmiştir.



Şekil 21: İbuprofenin iki selofan arası 2 mg/ml ÇTKNT ve %3 BSA dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili $\log K_p$ değeri -1,9804 olarak hesaplanmıştır.

4.2.1.15 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT ve %1 BSA Ve Kolesterol Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.1.15'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. İbuprofene ait salım grafiği ise Şekil 22'de verilmiştir.



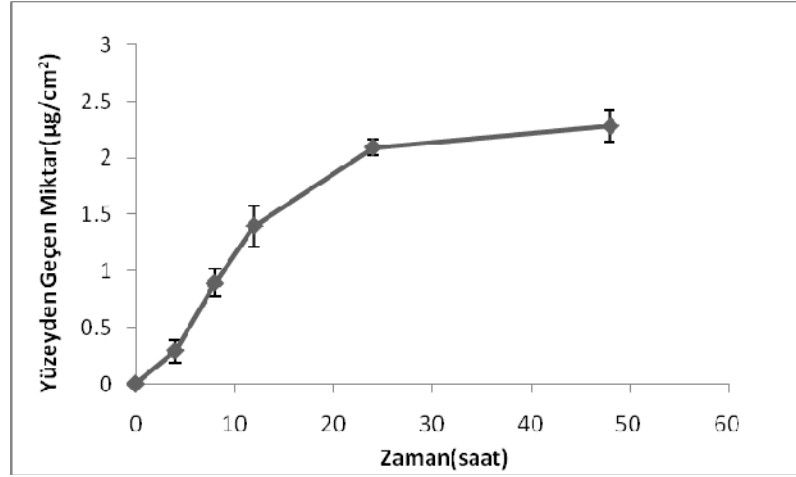
Şekil 22: İbuprofenin iki selofan arası 2 mg/ml ÇTKNT ve %1 BSA ve Kolesterol dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili

$\log K_p$ değeri -1,2949 olarak hesaplanmıştır.

4.2.2 Naproksen İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları

4.2.2.1 Naproksenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.2.1'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Naproksene ait salım grafiği ise Şekil 23'de verilmiştir.

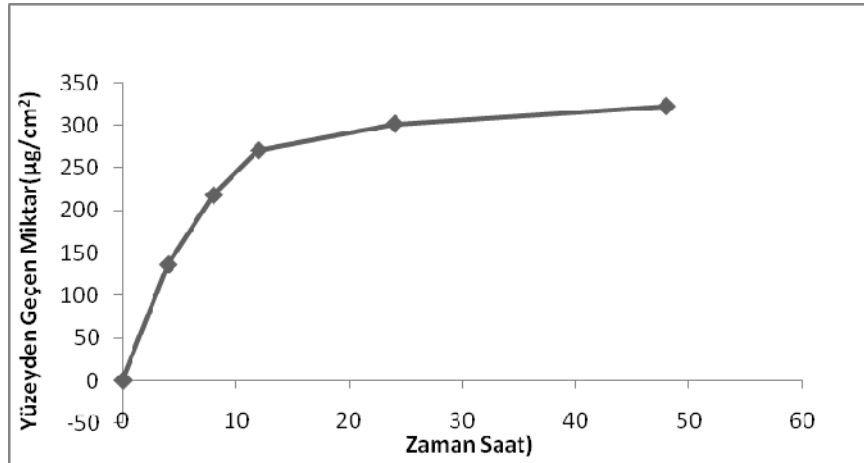


Şekil 23: Naproksenin iki selofan arası 2 mg/ml ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili $\log K_p$ değeri -1,8589 olarak hesaplanmıştır.

4.2.3 Salisilik Asit İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları

4.2.3.1 Salisilik Asitin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

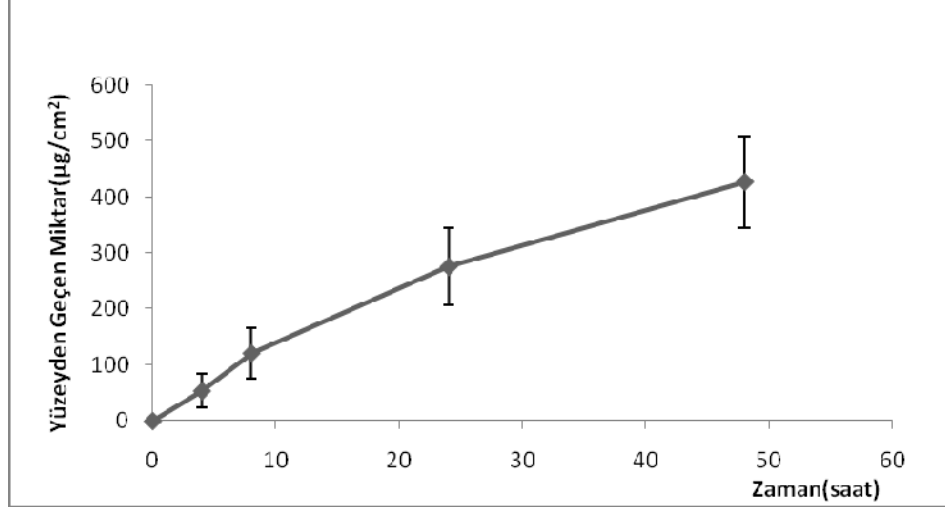
Çalışma Bölüm 3.2.2.2.3.1’de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Salisilik asite ait salım grafiğı ise Şekil 24’de verilmiştir.



Şekil 24: Salisilik asitin iki selofan arası 2 mg/ml ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili $\log K_p$ değeri -1,9175 olarak hesaplanmıştır.

4.2.3.2 Salisilik Asitin İnsan Derisinden Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.3.2'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Salisilik asite ait salım grafiği ise Şekil 25'de verilmiştir.



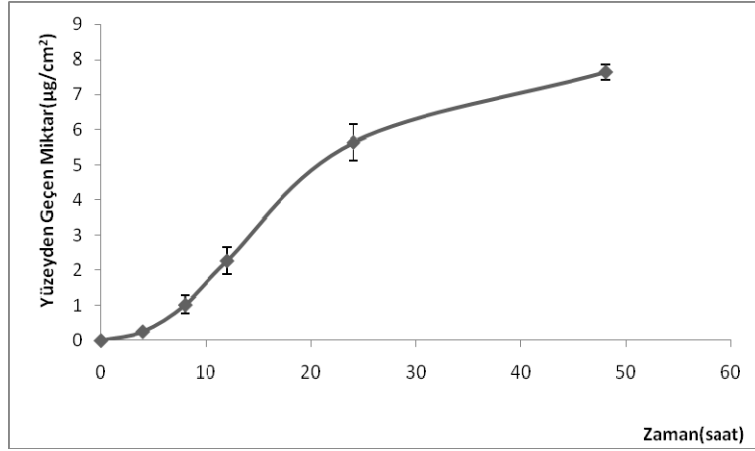
Şekil 25: Salisilik asitin insan derisiyle yapılan geçiş deneyinin profili

$\log K_p$ değeri -2,2143 olarak hesaplanmıştır.

4.2.4 Ketoprofen İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları

4.2.4.1 Ketoprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

Çalışma bölüm 3.2.2.2.4.1'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Ketopropene ait salım grafiği ise Şekil 26'da verilmiştir.

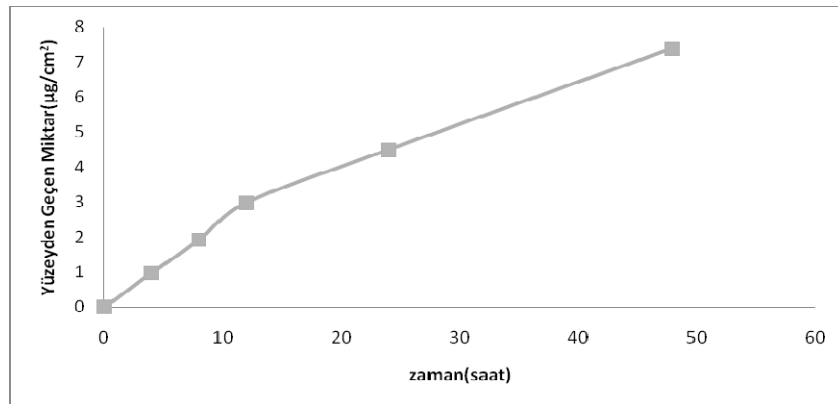


Şekil 26: Ketoprofenin iki selofan arası 2 mg/ml ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili $\log K_p$ değeri -2,5426 olarak hesaplanmıştır.

4.2.5 Etodolak İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları

4.2.5.1 Etodolak'ın İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.5.1'de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Etodolak'a ait salım grafiği ise Şekil 27'de verilmiştir.

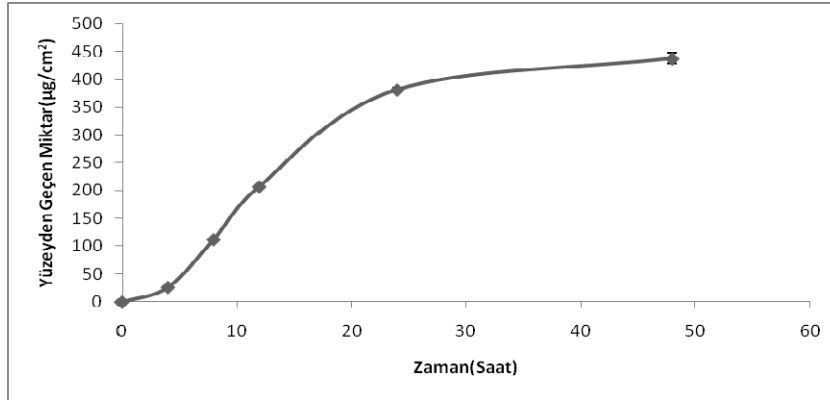


Şekil 27: Etodolak'ın iki selofan arası 2 mg/ml ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin 48 profili $\log K_p$ değeri -2,4815 olarak hesaplanmıştır.

4.2.6 Sildenafil İle Yapılan İn Vitro Membrandan Geçiş Çalışmaları

4.2.6.1 Sildenafilin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

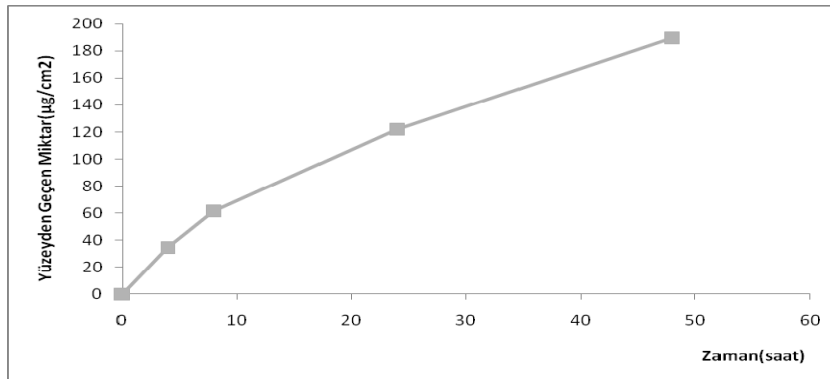
Çalışma Bölüm 3.2.2.2.6.1’de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Sildenafil’e ait salım grafiği ise Şekil 28’de verilmiştir.



Şekil 28: Sildenafilin iki selofan arası 2 mg/ml ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membrandan yapılan geçiş deneyinin profili $\log K_p$ değeri -2,3015 olarak hesaplanmıştır.

4.2.6.2 Sildenafilin İnsan Derisinden Geçiş Çalışması

Çalışma Bölüm 3.2.2.2.6.2’de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Sildenafil’e ait salım grafiği ise Şekil 29’da verilmiştir.



Şekil 29: Sildenafilin insan derisiyle yapılan geçiş deneyinin 48 saatlik salım profili

$\log K_p$ değeri -2,6574 olarak hesaplanmıştır.

5. TARTIŞMA

5.1 İN VİTRO GEÇİŞ ÇALIŞMALARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Deriden madde geçişinde birincil engel SC dir. SC den madde geçişi pasif difüzyonla gerçekleşmektedir¹⁰.

Pasif difüzyonda akı şu formül ile verilmektedir.

$$J = P.C = C \cdot K_{sc/v} \cdot D_{sc} / \delta \quad \text{Eşitlik9}$$

Burada,

$J \rightarrow$ (Flux) akı ($\text{mg.cm}^{-2}.\text{sa}^{-1}$)

$P (k_p) \rightarrow$ permeabilite katsayısı (cm.sa^{-1})

$C \rightarrow$ taşıyıcı içine geçecek maddenin konsantrasyonu (Donör kısımdaki madde konsantrasyonu) (mg.cm^{-3})

$K_{sc/v}(K) \rightarrow$ maddenin stratum korneum – taşıyıcıdaki partisyon katsayısı (geçen madde için membran ile (maddenin molekül büyüklüğüne göre) çözelti arasındaki partisyon katsayısı)

$D_{sc}(D) \rightarrow$ stratum korneum içine geçecek maddenin difüzyon katsayısı ($\text{cm}^2.\text{sa}^{-1}$)

$\delta (h) \rightarrow$ membran kalınlığı (cm)

Buradan permeabilite katsayısı değeri:

$$k_p = (D \times K)/h \quad \text{Eşitlik10}$$

şeklinde elde edilmektedir.

Formülden, permeabilitenin difüzyon katsayısı ve membrana olan partisyon katsayısı ile doğru orantılı olduğu anlaşılmaktadır. Bu olay Fick'in

ikinci kanunu ile ifade edilmektedir. Bundan başka verilen bir başka formüle göre:

$$J = (A \times \alpha \times D) / (\gamma \times h)$$

Eşitlik11

Burada A: alan, α :termodinamik aktivite katsayısı, D: difüzyon katsayısı, γ : maddenin membrandaki efektif aktivite katsayısı, h: membran kalınlığıdır.

Buradan da anlaşıldığı üzere, etkin madde molekülünün membran içindeki hareket kabiliyeti dolayısı ile membrandan geçişi onun termodinamik aktivitesi ve membrandaki efektif aktivitesi ile ilgilidir. Molekülün termodinamik aktivitesi membrandan geçişi artırmaktadır. Bu özellik maddenin temel olarak yapısı ile diğer bir deyişle maddenin fizikokimyasal özellikleri ile ilgilidir. Dolayısı ile bunun etkisini inceleyebilmek için değişik termodinamik aktiviteye sahip moleküllerin membrandan geçişinin incelenmesi gerekmektedir. Bu nedenle benzer kimyasal gruptan değişik maddeler seçilerek deneyler yapılmıştır. Literatürde benzer şekilde yapılan deneylerde çeşitli maddelerin membranlardan ve deriden geçişi incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda özellikle benzer kimyasal yapı ile deneyler yapıldığında in vitro testler ile ex vivo testler arasında daha yüksek ilişki bulunmuştur. Flynn yaptığı çalışmada deriden geçiş ile benzer kimyasal maddeler arasında daha yüksek in vitro ex vivo korelasyon bulmuştur ¹¹¹. Ancak farklı kimyasal maddelerle hep birlikte inceleme yapıldığında ilişkinin gücü düşmüştür. Bu nedenle deriyi taklit edebilecek yapay membran arama çalışmalarında ilk önce benzer kimyasal madde gruplarının incelenmesi ön görülmektedir ^{113,114}. Bu çalışmada da benzer kimyasal yapıdan ketoprofen, ibuprofen, naproksen, etodolak ve salisilik asit model madde olarak seçilmiştir. Farklı kimyasal yapıya sahip olan sildenafil ise hem farkı görebilmek hem de deneylerin literatürde var olan sonuçları ile karşılaştırmak için pozitif kontrol amaçlı model madde olarak seçilmiştir.

Yapılan ön deneylerde insan derisine en uygun K_p değerini ve salım profilini veren iki selofan arasında %1BSA ve ÇTKNT çözeltisi içeren

membran model membran olarak seçilerek geçiş deneylerine devam edilmiştir. Seçilen membran hem insan derisinin K_p değeri ile korele edilebilen K_p değeri vermiştir ayrıca proteinle modifiye edildiğinden dolayı başka maddelerle çalışma yapıldığında uygun sonuçlar vereceği düşünülmüştür.

5.1.1 İbuprofen İle Yapılan Geçiş Çalışmalarının Değerlendirilmesi

5.1.1.1 İbuprofenin Distile Suda UV Spektrofotometre Yöntemi İle Analizi İle İlgili Bulguların Değerlendirilmesi

İbuprofenin UV spektrofotometrede analiz yönteminin geliştirilmesi için ibuprofenin sudaki çözeltisinin UV spektrumu çekilmiş ve maksimum absorbans verdiği dalga boyu 221 nm olarak belirlenmiştir. Ayrıca literatür taramaları yapılarak dalga boyunun doğruluğu kontrol edilmiştir¹¹⁵

İbuprofen ÇTKNT kaynaklı insan derisi modeli geliştirme aşamasında model madde olarak kullanılmıştır. Tüm hazırlanan membranlar ilk önce ibuprofenle test edilmiştir. Sonra salım profilleri çizilmiş, log K_p değerleri hesaplanmış ve ibuprofenin insan derisinden geçişinde elde edilen profile en yakın sonuç veren membran model membran olarak seçilerek in vitro geçiş çalışmalarına devam edilmiştir.

5.1.1.2. İbuprofenin Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 30 Dakikalık Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

Çalışmadan elde edilen absorbans değerleri kalibrasyon grafiği ile derişimleri hesaplanmış ve grafiğe geçilmiştir. İbuprofenin selüloz filtre destekli ÇTKNT membranla yapılan 30 dakikalık geçiş profili şekil 8'de verilmiştir. Kısa süreli çalışma membran yapım yönteminin denetlenmesi için yapılmıştır. Bütünlüğü bozulmuş ÇTKNT membranda ani ve derişim artışı membranın hatalı yapıldığını göstermektedir. Fakat şekil 8'de de görüldüğü üzere reseptör fazın konsantrasyonu yavaş yavaş artmıştır. Bu da pasif difüzyonun ÇTKNT membrandan olduğunu ve membran bütünlüğünü kanıtlar

niteliktedir. Dolayısıyla membran hazırlama yöntemi ileriki deneyler için uygun bulunmuştur.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -1,8817 olarak hesaplanmıştır. Literatürde bulunan insan derisinden ibuprofenin geçişi için $\log K_p$ değeri -2,3342 dir¹¹².

5.1.1.3 İbuprofenin Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 6 Saatlik Geçiş Deneyinin Değerlendirilmesi

İbuprofenin selüloz filtre destekli ÇTKNT membranla yapılan 360 dakikalık geçiş profili Şekil 9'de verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -2,5252 olarak hesaplanmıştır. Literatürde bulunan insan derisinden geçiş için $\log K_p$ değeri -2,3342 dir¹¹². $\log K_p$ değerleri ve salım profiline bakıldığında insan derisi ile karşılaştırılabilir sonuç vermiştir. Fakat 360 dakikalık salım deneyi insan derisi ile yapılan ex vivo ve in vitro çalışmalara göre çok kısadır ve. 48 saatlik deney yapılmasına karar verilmiştir.

5.1.1.4 İbuprofenin İzopropil Miristat Kaplı Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 6 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

İbuprofenin izopropil miristat kaplı selülozik filtreli ÇTKNT membranla yapılan 360 dakikalık geçiş profili Şekil10'da verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -2,6685 olarak hesaplanmıştır. Literatürde bulunan insan derisinden geçiş için $\log K_p$ değeri -2,3342 dir¹¹². $\log K_p$ değeri insan stratum corneumundan ibuprofen geçişinin $\log K_p$ değeri ile benzerlik göstermektedir fakat salım profilinde dalgalı ve gecikmiş bir salım göstermiştir. Bunun nedeni membranın etken maddeye erken doyması yeteri kadar madde adsorblayamaması olarak yorumlanabilir. Ayrıca izopropil miristat membran üzerinde zararlı etki göstermiş ve membran yapısının bozulmasına neden olmuştur. Bu nedenlerden dolayı izopropil miristat kaplı selülozik filtreli ÇTKNT membran SC'a iyi bir model oluşturamayacağı kararına varılmıştır.

5.1.1.5 İbuprofenin 2 Katlı Selofan Membrandan 3 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

İbuprofenin iki katlı selofan membranla yapılan 360 dakikalık geçiş profili Şekil11'de verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -3,0999 olarak hesaplanmıştır. Yapılan literatür taramalarında bulunan insan derisinden geçiş için $\log K_p$ değeri -2,3342 dir¹¹². Deney ilerleyen deneylerde membranda bariyer görevi yapabilecek olan selofanın tek başına nasıl tepkiler gösterdiğini anlamak için yapılmıştır. Grafikte de görüldüğü gibi selofandan geçiş tüm deney boyunca aynı akı ile gerçekleşmiştir. Dolayısıyla selofanın etken madde açısından doygunluğu ulaştıktan sonra tahmin edilemeyen bir engel oluşturmadığı yalnızca difüzyon bariyeri gibi etki gösterdiği söylenebilir. Buna rağmen nispeten yavaş geçirme özellikleri göstermiştir. Bu durum 2 katlı membran olması ve etken maddeyi absorblaması ile açıklanabilir. ÇTKNT çözeltisine ayırıcı bir membran olarak kullanıldığı takdirde maddenin geçişinde ÇTKNT ile beraber kullanıldığında esas engelin ÇTKNT'den kaynaklanacağı düşünülebilir ve bunun da yüzeyden adsorbsiyonla ve ÇTKNT'lerin orta boşluğundan olacağı düşünülebilir¹¹⁶ Dolayısıyla selofanın etken maddeyi absorblaması ile oluşan gecikmenin deneylerde sorun yaratmayacağı kanaatine varılmıştır.

5.1.1.6 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Dispersiyonu İçeren Membrandan 6 saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

İbuprofenin iki selofan arasında ÇTKNT çözeltisi içeren membranla yapılan 360 dakikalık geçiş profili Şekil12'de verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -2,9815 olarak hesaplanmıştır. Literatürde bulunan insan derisinden geçiş için $\log K_p$ değeri -2,3342 dir¹¹². Deneyin geçiş profili ve $\log K_p$ değeri açısından SC'dan madde geçişiyle uyumlu salım profili oluşturduğu gözlenmiştir. Ancak insan derisine daha fazla benzetebilmek amacıyla daha uzun süreli geçiş deneyleri

yapılmasına ve membranin lipitlerle modifiye edilerek biyomembranların lipid yapısına yatkınlık sağlama yapacak değişikliklerin yapılmasına karar verilmiştir.

5.1.1.7 İbuprofenin Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

Kalibrasyon denklemi ile derişimleri hesaplanmış ve grafiğe geçilmiştir. İbuprofenin selüloz filtre destekli ÇTKNT membranla yapılan 48 saatlik geçiş profili Şekil13'de verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -1,0956 olarak hesaplanmıştır. Literatürden bulunan insan derisinden geçiş için $\log K_p$ değeri -2,3342 dir¹¹². Yapılan çalışmadan salım profili SC ile yapılan in vitro çalışmalarla karşılaştırıldığında selüloz filtre destekli ÇTKNT membrandan madde geçişinin çok hızlı ve geçen madde miktarının da oldukça fazla olduğu anlaşılmaktadır. Madde geçiş hızının 12. saatten sonra artmadığı görülmektedir SC ile yapılan deneylerde de benzer durum gözlenmektedir. Salımın yavaşlatılması için yine lipitlerle modifiye edilmesine karar verilmiştir.

5.1.1.8 İbuprofenin Kolesterol Kaplı Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

İbuprofenin kolesterol ilave edilmiş selüloz filtre destekli ÇTKNT membranla yapılan 48 saatlik geçiş profili Şekil 14'de verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -1,7246 olarak hesaplanmıştır. $\log K_p$ değeri -2,3342 dir ¹¹². Membranın kolesterolle kaplanması ardından geçiş önemli ölçüde yavaşlamıştır. Yavaşlamanın kolesterolün lipit özelliğinden ayrıca KNT'lerin orta boşluklarına adsorblanmış olmasından dolayı olduğu düşünülmektedir. Çünkü KNT'lerin orta boşluklarından maddenin geçerken hızlandığı yapılan literatür taramalarında görülmüştür¹¹⁶. KNTlerin orta boşlukları doldurulduğunda etkin maddenin KNT'lerin yüzeyine de adsorblandığı ve buradan konsantrasyona bağlı kontrollü geçiş gerçekleştiği düşünülmüştür.

5.1.1.9 İbuprofenin Kolesterol Ve %1 BSA Kaplı Selüloz Filtre Destekli ÇTKNT Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

İbuprofenin kolesterol ve %1BSA ile kaplanmış selüloz filtre destekli ÇTKNT membranla yapılan 48 saatlik salım profili Şekil 15'te verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -1,2366 olarak hesaplanmıştır. Literatürdeki insan derisinden geçiş için $\log K_p$ değeri -2,3342 dir¹¹². Bölüm 5.1.1.7 de çalışılan membranın geçiş hızını yavaşlatmak için membran ayrıca %1 BSA çözeltisi ile muamele edilmiştir. Fakat bu halde madde geçişinin yavaşlamak yerine daha da hızlandığı geçiş profili ve $\log K_p$ değerinden anlaşılmaktadır. Madde geçişinin hızlanmasını BSA'nın KNT'lerin yüzeyine sarmal şekilde adsorblanması ile açıklamak mümkündür¹¹⁷. Yani BSA molekülleri KNT'lerin yüzeyine adsorblanmış ve KNT'nin yüzeyinde etken madde için adsorblanacak alan azalmıştır toplamda membran daha az etken madde adsorblamıştır. Dolayısıyla etken maddenin membranda tutulmadan reseptör faza hızlı bir difüzyonla geçmiştir.

5.1.1.10 İki Katlı Selofan Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

İbuprofenin iki katlı selofan membranla yapılan 48 saatlik geçiş profili Şekil 16'da verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -1,8519 olarak hesaplanmıştır. Literatürdeki $\log K_p$ değeri -2,3342 dir¹¹². Deney iki katlı selofan arasına ÇTKNT dispersiyonu içeren mütakip çalışmalarda selofanın madde geçişine etkisinin incelenmesi için yapılmıştır. Madde geçişi selüloz filtre destekli ÇTKNT membranlara göre biraz daha yavaştır. Bu durum hazırlama esnasında selüloz filtre destekli ÇTKNT membranlarda KNT'lerin selüloz filtreyi dikine delerek madde geçişini hızlandırması ile açıklanabilir¹¹⁶. KNT'ler sert olduğundan mikroskobik olarak filtreyi delebilmektedirler. Bunlar da filtreden geçiş için kısa yollar (shunt) oluşturmaktadır.

5.1.1.11 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İbuprofenin iki selofan arası ÇTKNT dispersiyonu içeren membranla yapılan 48 saatlik salım profili Şekil 17’de verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -1,9807 olarak hesaplanmıştır. Literatür $\log K_p$ değeri -2,3342 dir¹¹².

5.1.1.12 İbuprofenin İki Selofan Arası ÇTKNT Ve Kolesterol Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

İbuprofenin iki selofan arası ÇTKNT ve kolesterol dispersiyonu içeren membranla yapılan 48 saatlik geçiş profili Şekil 18’de verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -1,6674 olarak hesaplanmıştır. Literatürdeki $\log K_p$ değeri -2,3342 dir¹¹². Çalışılan membrandan madde geçişi iki selofan arası ÇTKNT çözeltisi içeren membrana nazaran biraz hızlandığı tespit edilmiştir. Bunun nedeninin kolesterolün ÇTKNTlerin agregasyonuna neden olduğu düşünülmektedir. Kolesterolün membran hazırlamada pozitif bir etkisi görülmemiştir.

5.1.1.13 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

İbuprofenin iki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membranla yapılan 48 saatlik geçiş profili Şekil 19’da verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -1,9619 olarak hesaplanmıştır. Literatürde bulunan insan derisinden geçiş için $\log K_p$ değeri -2,3342 dir¹¹². Yapılan çalışmaların içerisinde salım grafiği in vivo verilere en uygun olan membran sistemi bu çalışmada kullanılan membrandır. Bunun nedeni BSA’nın kolesterol gibi agregasyona neden olmaması ve etken maddenin ÇTKNT ye kontrollü olarak adsorbe ve desorbe olmasına neden olduğu düşünülmektedir. Ayrıca “İki Selofan Arası ÇTKNT Dispersiyonu

İçeren Membran” insan derisine daha yakın sonuç verdiği görülmüştür fakat diğer maddeler ile yapılacak geçiş çalışmalarında protein ile modifiye edilmiş membranın teorik olarak daha uygun sonuçlar vereceği düşünülmektedir. Daha sonra farklı etken maddelerle yapılacak geçiş çalışmalarında bu membran sisteminin kullanılmasına karar verilmiştir.

5.1.1.14 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %2 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

İbuprofenin iki selofan arası ÇTKNT ve %2 BSA dispersiyonu içeren membranla yapılan 48 saatlik geçiş profili Şekil 20’de verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -1,9439 olarak hesaplanmıştır. Literatürdeki $\log K_p$ değeri -2,3342 dir¹¹². %2 BSA kullanmanın geçiş profilinin insan derisi sonuçlarına yakın sonuçlar alma açısından ayrıca bir olumlu etkisi tespit edilmemiştir.

5.1.1.15 İbuprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %3 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

İbuprofenin iki selofan arası ÇTKNT ve %3 BSA dispersiyonu içeren membranla yapılan 48 saatlik geçiş profili Şekil 21’de verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -1,9804 olarak hesaplanmıştır. Literatürdeki $\log K_p$ değeri -2,3342 dir¹¹². %3 BSA kullanmanın geçiş profilinin insan derisi sonuçlarına yakın sonuçlar alma açısından ayrıca olumlu bir etkisi tespit edilmemiştir.

5.1.1.16 İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA ve Kolesterol Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışması

İbuprofenin iki selofan arası ÇTKNT ve %3 BSA dispersiyonu içeren membranla yapılan 48 saatlik geçiş profili Şekil 22’de verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -1,2949 olarak hesaplanmıştır. %1 BSA içeren membran içeriğine kolesterol eklendiği

taktirde geçişin hızlanması ve artmasının nedeni kolesterolün KNTleri agra e etmesi ve BSA nında azalan yüzey alanına adsorbe olmasıyla etken madde molekülleri için adsorbe olabilecek yüzeyin azalması ve membran içeriğinde oluşan büyük su boşluklarından kolaylıkla difüze olmaları ile açıklanmıştır. Kolesterol kullanımı olumlu netice vermemiştir.

5.1.2 Naproksen ile Yapılan Geçiş Çalışmalarının Değerlendirilmesi

5.1.2.1 Naproksen Distile Suda UV Spektrofotometre Yöntemi İle Analizi İli İlgili Bulguların Değerlendirilmesi

Naproksenin UV spektrofotometrede analiz yönteminin geliştirilmesi için naproksenin sudaki çözeltisinin UV spektrumu çekilmiş ve maksimum absorbans verdiği dalga boyu 230 nm olarak belirlenmiştir. Ayrıca literatür taramaları yapılarak dalga boyunun doğruluğu teyit edilmiştir¹¹⁸.

5.1.2.2. Naproksenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT Ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

Naproksenin iki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membranla yapılan 48 saatlik geçiş profili Şekil 23'de verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre log K_p değeri -1,8589 olarak hesaplanmıştır. Literatürde bulunan insan derisinden geçiş için log K_p değeri -2,081 dir¹¹². Deneysel verilerden elde edilen profil daha önce yapılan in vivo çalışmalarda elde edilen profil ile uyumlu bulunmuştur¹¹⁹. Log K_p değeri açısından değerlendirildiğinde ise insan derisi ile yapılan geçmiş çalışmalarda elde edilen veriler ile uyum sağladığı görülmektedir.

5.1.3 Salisilik Asit ile Yapılan Geçiş Çalışmalarının Değerlendirilmesi

5.1.3.1 Salisilik asitin Distile Suda UV Spektrofotometre Yöntemi İle Analizi İli İlgili Bulguların Değerlendirilmesi

Salisilik Asitin UV spektrofotometrede analiz yönteminin geliştirilmesi için salisilik asitin sudaki çözeltisinin UV spektrumu çekilmiş ve maksimum absorbands verdiği dalga boyu 236 nm olarak belirlenmiştir.

5.1.3.2. Salisilik asitin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

Salisilik asitin iki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membranla yapılan 48 saatlik geçiş profili Şekil 24'de verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -1,9175 olarak hesaplanmıştır. Literatürde bulunan insan derisinden geçiş için $\log K_p$ değeri -2,137 dir¹¹². Deneyde elde edilen $\log K_p$ değeri literatür verisine uygundur. Salım grafiği de incelendiğinde in vivo çalışmalarda elde edilen grafiğe benzer özelliklerde olduğu tespit edilmiştir¹²⁰. Bu durumda hazırlanan membranın salisilik asit açısından da insan derisine benzer özellikler gösterdiği söylenebilir.

5.1.3.3. Salisilik Asitin İnsan Derisinden Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

Salisilik asitin insan derisi ile yapılan 48 saatlik geçiş profili Şekil 25'de verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -2.2143 olarak hesaplanmıştır. Literatürde bulunan insan derisinden geçiş için $\log K_p$ değeri -2,137 dir¹¹². Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre hesaplanan $\log K_p$ değeri ile literatür verisi birbiri ile oldukça uyumludur. Arada küçük farklılığın konsantrasyon farkları, deney şartlarının ve analiz yöntemlerinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca çalışma yönteminin doğruluğu da literatür verisi ile kanıtlanmıştır.

5.1.4 Ketoprofen ile yapılan geçiş çalışmalarının değerlendirilmesi

5.1.4.1. Ketoprofenin Distile Suda UV Spektrofotometre Yöntemi İle Analizi İli İlgili Bulguların Değerlendirilmesi

Ketoprofenin UV spektrofotometrede analiz yönteminin geliştirilmesi için ketoprofenin sudaki çözeltisinin UV spektrumu çekilmiş ve maksimum absorbans verdiği dalga boyu 260 nm olarak belirlenmiştir.

5.1.4.2. Ketoprofenin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş alışmasının Değerlendirilmesi

Ketoprofenin iki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membranla yapılan 48 saatlik geçiş profili Şekil 26'da verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -2,5426 olarak hesaplanmıştır. Literatürde bulunan insan derisinden geçiş için $\log K_p$ değeri -3,7609 dur¹¹². Deney verileri ile hesaplanan $\log K_p$ değeri ile ex vivo çalışmalar ile hesaplanan $\log K_p$ değeri tam aynı değildir. Fakat geçiş profili düzgün elde edilmiştir dolayısıyla elde edilen değeri matematiksel işlemlere tabii tutularak önceden tahmin için kullanılabilir.

5.1.5 Etodolak ile yapılan geçiş çalışmalarının değerlendirilmesi

5.1.5.1. Etodolak'ın Distile Suda UV Spektrofotometre Yöntemi İle Analizi İli İlgili Bulguların Değerlendirilmesi

Etodolağın UV spektrofotometrede analiz yönteminin geliştirilmesi için etodolağın sudaki çözeltisinin UV spektrumu çekilmiş ve maksimum absorbans verdiği dalga boyu 224 nm olarak belirlenmiştir. Ayrıca literatür taramaları yapılarak dalga boyunun doğruluğı teyit edilmiştir¹²¹.

5.1.5.2. Etodolak'ın İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

Etodolağın iki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membranla yapılan 48 saatlik geçiş profili Şekil 27'de verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -2,4815 olarak hesaplanmıştır. Literatürde bulunan insan derisinden geçiş için $\log K_p$ değeri -3,4562 dur¹¹². Literatür verileri ile deneysel veriler arasında çalışmanın karşılaştırma grafiğinin kalibrasyonuna uygun ilişki gözlenmiştir. Dolayısıyla deneysel veriler çeşitli uyumlandırma/matematik dönüştürme işlemlerine tabii tutulursa insan derisinden geçişin tahmin edilmesi için kullanılabilir. Daha önceden yapılan model membran çalışmalarında da buna benzer yaklaşımlar uygulanmıştır⁴⁷.

5.1.6 Sildenafil ile Yapılan Geçiş Çalışmalarının Değerlendirilmesi

5.1.6.1. Sildenafilin Distile Suda UV Spektrofotometre Yöntemi İle Analizi İli İlgili Bulguların Değerlendirilmesi

Sildenafilin UV spektrofotometrede analiz yönteminin geliştirilmesi için sildenafilin sudaki çözeltisinin UV spektrumu çekilmiş ve maksimum absorbans verdiği dalga boyu 225 nm olarak belirlenmiştir. Ayrıca literatür taramaları yapılarak dalga boyunun doğruluğu teyit edilmiştir¹²².

5.1.6.2. Sildenafilin İki Katlı Selofan Arası ÇTKNT ve %1 BSA Dispersiyonu İçeren Membrandan 48 Saatlik Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

Sildenafilin iki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA dispersiyonu içeren membranla yapılan 48 saatlik geçiş profili Şekil 28'de verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -2,3015 olarak hesaplanmıştır. Literatürde bulunan insan derisinden geçiş için $\log K_p$ değeri -2,995 dur¹²³. Literatür verileri ile deneysel veriler arasında uygunluk

saptanmıştır. Dolayısıyla hazırlanan membranın sildenafilin deriden geçişinin önceden tahmin edilmesinde kullanılabileceği düşünülmüştür.

5.1.6.3. Sildenafilin İnsan Derisinden Geçiş Çalışmasının Değerlendirilmesi

Sildenafilin insan derisi ile yapılan 48 saatlik geçiş profili Şekil 29'da verilmiştir.

Yapılan hesaplamalara göre $\log K_p$ değeri -2.6574 olarak hesaplanmıştır. Literatürde bulunan insan derisinden geçiş için $\log K_p$ değeri -2,995 dir¹²³. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre hesaplanan $\log K_p$ değeri ile literatür verisi birbiri ile oldukça uyumludur. Arada küçük farklılığın konsantrasyon farkları, deney şartlarının ve analiz yöntemlerinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca çalışma yönteminin doğruluğuda literatür verisi ile kanıtlanmıştır.

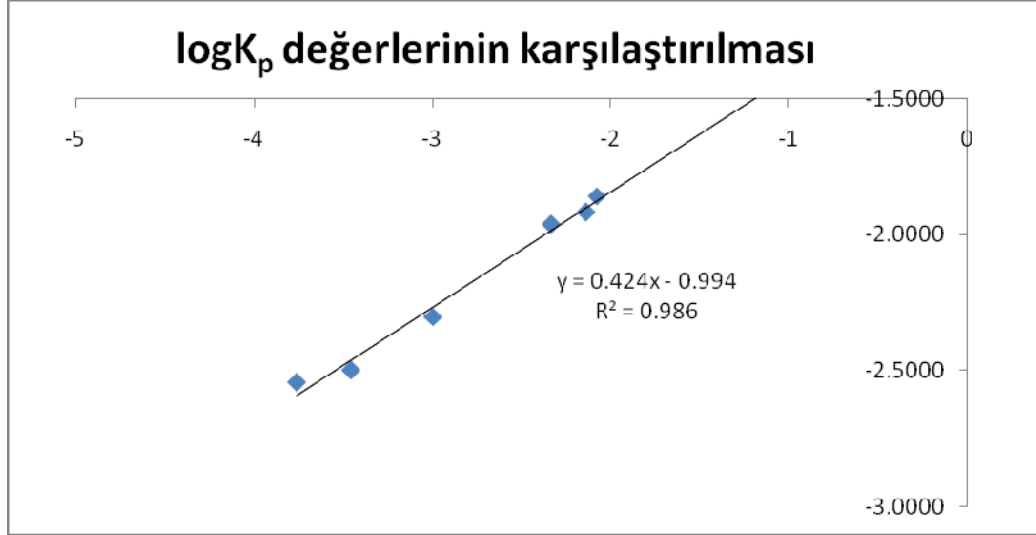
5.2 Verilerin Karşılaştırılması

Hazırlanan membranlarla yapılan geçiş çalışmaları sonuçlarından hareketle elde edilen $\log K_p$ değerleri ile literatürden alınan değerler Tablo 29 da gösterilmiştir.

Tablo 29: Deney sonuçlarına göre hesaplanan ve literatürden alınan $\log K_p$ değerleri

	ÇTKNT membran ($\log K_p$)	İnsan derisi (Ex Vivo) ($\log K_p$)	Literatür ($\log K_p$)	Literatür
Naproksen	-1,8589		-2,081	11,111,112
Salisilik asit	-1,9175	-2,21425	-2,137	11,111,112
İbuprofen	-1,9620		-2,3342	112
Etodolak	-2,5000		-3,4562	112
Ketoprofen	-2,5426		-3,7609	11,111,112
Sildenafil Sitrat	-2,3015	-2,65743	-2,995	123

Deney sonuçlarına göre hesaplanan $\log K_p$ değerleri ile literatürden alınan $\log K_p$ değerlerinin grafik gösterimi ve kalibrasyon denklemi Şekil 30'da gösterilmiştir.



Şekil 30: $\log K_p$ değerlerinin karşılaştırılması ve kalibrasyon denklemi

Şekil 30'dan da anıldığı gibi geliştirilen KNT yapılı protein içeren membran derinin bariyer özelliğine çok benzer geçirgenlik özelliği göstermiş ve çalışılan etkin maddeler için insan derisine benzer sonuçlar üretmiştir. Hazırlanan bu membranın bu özelliği nedeni ile insan derisi yerine kullanılabileceği açıkça görülmektedir. Ancak çalışılan etkin maddelerin sayısının artırılarak deneylerin daha da geliştirilmesi ve veri sayısının artırılması gereklidir. Literatürde yapılan çalışmalarda da benzer şekilde membranlar geliştirilmiş ve etkinliği incelenmiştir. Bu çalışmalarda da incelenen madde sayısı çoğunlukla kısıtlı olmaktadır^{112,124,125}.

6. SONUÇ

Deriden geçişin tahmin edilmesinde kullanılabilecek karbon nanotüp yapılı sentetik membran geliştirme isimli çalışmada:

- Selülozik filtreli ÇTKNT membran
- Kolesterol kaplı selülozik filtreli ÇTKNT membran
- Kolesterol ve %1 BSA kaplı ÇTKNT membran
- İki selofan arasında ÇTKNT çözeltisi içeren membran
- İki selofan arasında ÇTKNT ve kolesterol çözeltisi içeren membran
- İki selofan arasında ÇTKNT ve %1 BSA çözeltisi içeren membran
- İki selofan arasında ÇTKNT ve %2 BSA çözeltisi içeren membran
- İki selofan arasında ÇTKNT ve %3 BSA çözeltisi içeren membran
- İki selofan arasında ÇTKNT ve %1 BSA ve kolesterol çözeltisi içeren membran

isimli membranlar tasarlanarak üretilmiştir. Bu membranlar ile önce model madde olarak ibuprofen ile geçiş çalışmaları yapılmış veriler grafiğe geçilip $\log K_p$ değerleri hesaplanmıştır. Hesaplanan $\log K_p$ değerleri insan derisinden ex vivo geçiş çalışmalarında elde edilen değerlerle karşılaştırılıp " İki selofan arası ÇTKNT ve %1 BSA çözeltisi içeren membran" model membran olarak seçilmiştir. Seçilen membrandan benzer özelliklerle etkin maddeler ketoprofen, salisilik asit, naproksen, etodolak ve farkı fizikokimyasal özelliklere sahip sildenafil ile geçiş deneyleri yapıp elde edilen verilerden $\log K_p$ değerleri hesaplanmış ve insan derisi literatür verileri ile karşılaştırılmıştır. salisilik asit ve sildenafil kullanılarak insan derisi ile ex vivo geçiş çalışmaları laboratuvarımızda tekrarlanarak çalışmanın pozitif kontrolü sağlanmıştır. Elde edilen $\log K_p$ değerleri literatür verileri ile karşılıklı

grafiğe geçilerek doğruluk denklemleri hesaplanmıştır. Yapılan in vitro ve ex vivo deneylerden elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibidir.

➤ **Etken maddelerin UV spektrofotometrede miktar tayini geliştirme çalışmalarına ait sonuçlar**

İbuprofen, ketoprofen, naproksen, etodolak, salisilik asit ve sildenafilin distile suda miktar tayini yöntemleri geliştirilmiş ve valide edilmiştir. Geliştirilen yöntemler tüm etken maddeler için doğru, kesin, tekrar edilebilir ve stabil bulunmuştur.

➤ **TKNT yapılı insan derisini taklit edebilecek sentetik membran geliştirme alışmaları**

İlk olarak TKNT dispersiyonu selülozik filtre üzerinde szlp kurutularak membranlar hazırlanmış ve lipit ve proteinle kaplanmıştır. Hazırlanan membranlardan model madde olarak ibuprofen ile etken madde geçiş deneyleri yapılmıştır. Model madde olarak ibuprofenin seçilmesinin nedeni deriden geçişinin çok iyi bilinmesi, suda az çözündüğü için yüksek konsantrasyona bağlı hatalara mahl vermemesi ve membran geliştirme aşamasında çok fazla deney yapılması gerektiğinden ucuz olmasıdır. Hazırlanan TKNT yapılı membranlardan ibuprofen geçiş deneylerinde membranlardan madde geçişinin istenenden çok daha hızlı olması ve geçiş profilinin insan derisi ex vivo geçiş profili ile uyumsuz olması sonucu iki selofan tabakası arasında TKNT zeltisi ve yağlar ve proteinden oluşan membranlar geliştirilmiştir. Bu membranla yapılan deneylerin verileri incelendiğinde SC'dan geçişe en uygun profil ve logK_p değerine sahip membran "iki selofan arasında TKNT ve %1 BSA zeltisi içeren membran" olarak tespit edilmiştir. Diğer etken maddelerle yapılacak geçiş çalışmalarında bu membran sisteminin kullanılmasına karar verilmiştir.

➤ **Geliştirilen ÇTKNT yapılı sentetik membran ile yapılan etken madde geçiş çalışmalarının sonuçları**

İbuprofen, naproksen, ketoprofen, salisilik asit, etodolak ve sildenafil ile yapılan geçiş deneylerinde iki selofan arasında ÇTKNT ve %1 BSA çözeltisi içeren membran kullanılmıştır elde edilen verilerden hesaplanan $\log K_p$ değeri literatürden alınan insan derisi ile yapılan ex vivo deneylerin $\log K_p$ değeri ile uyumludur. Ayrıca geçiş profillerinin istenen in vivo deriden etken madde geçiş profilleri uyumlu olduğuna karar verilmiştir. Deneylerden hesaplanan $\log K_p$ değeri ile literatürden alınan $\log K_p$ karşılaştırmalı olarak grafiğe geçilmiştir.

Membranın başarılı sonuçlar vermesinin nedeni ÇTKNT üzerine etkin maddenin geçiş esnasında adsorbe kontrollü olarak salım sağlanması, selofan arasında ÇTKNT çözeltisinin SC'da olduğu gibi dolambaçlı geçiş yolları oluşturması, ÇTKNT ve BSA çözeltisinin SC tuğla harç yapısına benzer yapı oluşturması, BSA'nın ÇTKNT üzerine agregasyon etkisi göstermemesi dolayısıyla ÇTKNT'nin distile suda nispeten iyi dağılması, ÇTKNT üzerine sarmal adsorblandığı varsayılan BSA'nın ÇTKNT açık uçlarında sterik engel oluşturarak etken maddelerin ÇTKNT merkez boşluklarına girmelerine dolayısıyla hızlandırıcı etkiye maruz kalmalarına engel olması olarak düşünülmüştür. $\log K_p$ değerlerinin karşılaştırmalı olarak grafiğe geçilmesi sonucu doğruluk denkleminin R^2 si 0,9867 hesaplanmıştır.

➤ **İnsan derisi ile yapılan ex vivo geçiş çalışmalarının değerlendirilmesi**

Salisilik asit ve sildenafil ile deneylerin pozitif kontrolünün sağlanması açısından insan derisi ile ex vivo geçiş deneyleri yapılmıştır. Deneylerden elde edilen $\log K_p$ değerleri literatürlerden alınan $\log K_p$ değerleri ile karşılaştırmalı grafiğe geçilmiştir. Her iki maddede deneysel hatalar ve organik membran ile çalışılmasından kaynaklanabilecek hatalardan kaynaklanabilecek hata sınırının dışında uyumsuzluk gözlenmemiştir. Elde edilen veriler ışığında ÇTKNT yapılı membran ve insan derisi ile yapılan

deneylerin literatüre geçen deneyler ile uyumlu deneysel açıdan doğru olduğuna karar verilmiştir.

GENEL SONUÇ

Çalışma esnasında değişik özellikte membranlar geliştirilmiş ve bazıları benzer gruptan olmak üzere farklı etken maddeler ile geçiş deneyleri yapılmıştır. Ayrıca yöntemin pozitif kontrolü olması açısından iki etken madde ile insan derisinden ex vivo geçiş deneyleri yapılmıştır ve yöntemin doğruluğu elde edilen veriler ile kanıtlanmıştır. Hazırlanan membranlardan iki selofan arasında ÇTKNT ve %1BSA içeren membran literatürlerden alınan ex vivo insan derisi ile yapılan deneylerin sonuçları ile uyum sağlamıştır. Eldeki veriler ışığında hazırlanan membranın insan derisinden geçişin tahmin edilmesinde kullanılabileceği söylenebilir. Fakat deneylerin farklı kimyasal gruplardan maddelerle çeşitlendirilmesi gerekmektedir. İleride bu deneylerin yapılması planlanmış ve madde sayısının artırılmasına karar verilmiştir.

7. ÖZET

Çalışmanın amacı deriden etkin madde geçişini tahmin etmek için kullanılabilecek karbon nanotüp (KNT) yapılı sentetik yapay membran sistemi geliştirmektir.

Membran geliştirme çalışmalarında “Çok Tabakalı Karbon Nanotüp” (ÇTKNT) yapı maddesi olarak kullanılmıştır.

Hazırlanan membranların uygunluğu model molekül olarak ibuprofen ile geçiş deneyleri yapılarak sınanmıştır. Elde edilen verilerden hareketle $\log K_p$ değerleri hesaplanmıştır. $\log K_p$ değerleri literatürlerdeki insan derisinden geçiş deneylerinden hesaplanan $\log K_p$ değerleri ile karşılaştırılarak insan derisine model oluşturabilecek en uygun membran sisteminin "iki selofan arası %1BSA ve ÇTKNT dispersiyonu içeren membran" olduğuna karar verilmiştir. Bu geliştirilen membran daha sonraki deneylerde kullanılmıştır.

İki selofan arası %1BSA ve ÇTKNT dispersiyonu içeren membran ile benzer fizikokimyasal özellikte olan naproksen, salisilik asit, ketoprofen, etodolak ve farklı fizikokimyasal ve teropötik özelliklerde sildenafil seçilerek geçiş deneyleri yapılmıştır.

Geçiş deneylerinden hesaplanan $\log K_p$ değerleri ile literatür verileri karşılaştırılmış, grafiğe geçilmiş ve geliştirilen bu membranın uygunluğu incelenmiştir.

Sonuçta "iki selofan arası %1BSA ve ÇTKNT dispersiyonu içeren membran" sisteminin deriden geçişin tahmin edilmesinde kullanılabileceğine karar verilmiştir. Gelecek çalışmalarda membran ile farklı fizikokimyasal özellikte etkin maddelerle de geçiş deneyleri yapılarak verilerin çeşitlendirilmesi planlanmıştır.

8. SUMMARY

The aim of this study is to develop a synthetic artificial membrane system developed using carbon nanotubes (CNT) which can be used to predict skin permeability of compounds.

Multi walled carbon nanotubes (MWCNT) were used to develop these membrane systems.

Initially, the suitability of the prepared membranes were tested by performing penetration experiments with model molecule ibuprofen. The $\log K_p$ values were then calculated. The calculated $\log K_p$ values were compared with the $\log K_p$ values from the literature obtained using human excised skin. This comparison showed that the best membrane system that can be a model for the human skin is a prepared membrane system with MWCNT containing 1% bovine serum albumine placed in double layer cellophane membrane. This membrane was used for further experiments.

Penetration experiments using developed membrane system have been carried out using naproxen, salicylic acid, ketoprofen, etodolac which have similar physicochemical properties and sildenafil which has different physicochemical and therapeutic properties.

The $\log K_p$ values were calculated by using developed membrane after penetration experiments and compared with the $\log K_p$ values from the literature obtained using human skin. The suitability of the produced data have been investigated.

In conclusion, it has been shown that, the developed membrane system with MWCNT containing 1% bovine serum albumine placed in double layer cellophane membrane can be used to predict penetration of compounds through the skin. It is already planned to carry out similar penetration experiments with other active substances that have different physicochemical properties from the membrane and experimental data has been planned to be enhanced more.

9.KAYNAKLAR

1. Scheuplein R.J. Blank L.H. Permeability of the skin. *Physiol Rev.* 1971 53, 702-747.
2. Christophers E. Cellular architecture of stratum corneum *J. Invest. Dermatol.* 1971,56,165-169
3. Elias PM. Lipids and the epidermal permeability barrier. *Arch. Dermatol. Res.* 1981, 270, 95-117
4. Elias PM. Epidermal lipids, barrier function and dequamation *J. Inv. Dermatol.* 1983, 80, 44-49.
5. Gray G. Lipid composition of the superficial stratum corneum cells of the epidermis. *Br. J. Dermatol.* 1982, 106, 59-63.
6. Williams M. Elias PM. The extracellular matrix of stratum corneum: role of lipids normal and pathological function. *CRC Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 1987, 3, 95-122.
7. Naik A. Kalia YN Guy R. H. 2000 Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function *PSTT Vol.3* 318-326
8. Alberty WJ, Hadgraft J Percutaneous absorption: in vivo experiments. *J. Pharm. Pharmacol.* 1979, 31, 140-147.
9. Martin A, Bustamante P, Chun AHC, "Diffusion and dissolution", *Physical Pharmacy*, 4th Ed., (Ed: A Martin, P Bustamante, AHC Chun), Lea-Febiger, London, 1993, s. 324-361.
10. Stein W. Transport and Diffusion Across Cell Membranes. Academic Press 1986.
11. Potts RO and Guy RH Predicting skin permeability. *Pharm. Res.* 1992, 9, 663-669.

12. Flynn GL. *et al.* Mass transport phenomena and models: therapeutical concepts. J. Pharm. Sci. 1974, 63, 479-510.
13. Higuchi T. Physical chemical analyses of percutaneous absorption processes from creams and ointments. J. Soc. Cosmet. Chem. 1993, 11, 83-97.
14. Davis A. , Hadgraft J, Supersaturated solutions as topical drug delivery systems. Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement. London: IBC Technical Services 1993, 243-267.
15. Osborne D *et al.* Surfactant association colloids as topical drug delivery vehicles. In *Topical Drug Delivery Formulations*. 1990 pp. 349-379
16. Uster P. Liposome-based vehicles for topical delivery. In *Topical Drug Delivery Formulations*. 1990 pp. 327-348.
17. Sloan K. Prodrugs Topical and Ocular Delivery. Marcel Dekker 1992.
18. Walters E.A. Hadgraft J. Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement Marcel Dekker New York 1993.
19. Smith E.W. , Maibach H.I. Percutaneous Penetration Enhancers CRC Press Boca Raton, FL 1995.
20. Shiu-Fern NG, Rouse J., Sanderson D., Eccleston G. A comparative study of transmembrane diffusion and permeation of ibuprofen across synthetic membranes using Franz Diffusion cells. *Pharmaceutics* 2010, 2, 209-223.
21. Corner GW The anatomy of the pig attributed to Copland. Anatomical Tests Of The Earlier Middle Ages. Carnegie Institution of Washington. 1927, 51.
22. Ketham J. The fasciculus di medicina; in Sigerist HE; Monumenta Medicina Libr & Co, 1925, 2, 33.

23. MacCurdy E. The Notebook of Leonardo da Vinci. Reyna & Hitchcock, 1938.
24. Simon GA , Maibach H, The pig as an experimental animal model of percutaneous permeation in man: Quantitative observations an overview. Sk. Pharmacol. Appl. Skin Physiol. 2000, 13, 229-234.
25. Montagna W, Yun JS The skin of the domestic pig. J Invest Dermatol. 1964, 43, 11-21.
26. Montagna W. The microscopic anatomy of the skin of swine and man. In Busted LK Swine in Biomedical Research. Seattle, Frayn Printing Co. 1966 285-286.
27. Meyer W, Neurand K, The distribution of enzymes in the skin of the domestic pig. Lab. Anim. 1976, 10, 237-247
28. Weinstein GD Comparison of turnover time an of keratinous protein fractions in swine and human epidermis. Swine in Biomedical Research. Seattle. Frayn Printing Co. 1966, 287-297.
29. Montairo-Riviere NA Ultrastructure evalution of the porcine integument. Swine in Biomedical Research. New York. Plenum Press. 1986, 1,641-655.
30. Moritz AR, Henriques FC Studies of thermal injury. II. The relative importance of time and surface temperature in the causation of cutaneus burns. Am. J. Pathol. 1947, 23, 695-720.
31. Ryan, TJ, Morphosis, occult forces and ectoplasm—the role of glues and proteolysis in skin disease. Clin. Expe. Derma.,1985 10: 509–522.
32. Meyer W, Neurand K, Radke B. Elastic fiber arrangement in the skin of the pig. Arc. Dermatol. Res. 1981, 270, 391-401.
33. Meyer W. , Neurand K. , Radke B. Collagan fiber arrangement in the skin of the pig. J. Anat. 1982, 134, 139-148.

34. Gray GM , White RJ Glicosphingo lipids and ceramides in human and pig epidermis. J. Invest. Dermatol. 1978, 70, 336-341.
35. Feldmann RJ Maibach HI Regional variations in percutaneous penetration of ^{14}C cortisol in man. J. Invest. Dermatol. 1967, 48, 181-183.
36. Dick IP, Scott RC, Pig ear skin as an in vitro model for human skin permeability. J. Pharm. Pharmacol. 1992, 44, 640-645.
37. Marzulli FN, Maibach HI Relevance of animal models: The hexachlorophene story; in Maibach HI Animal Models Dermatology. Edinburgh. Churchill-Livingstone. 1975, 156-167.
38. Marzulli FN, Brown DWC, Maibach HI Techniques of studying skin penetration. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1969, 3, 76-83.
39. Susten AS, Demas BL, Niemeyer RW. In vivo percutaneous absorption studies of volatile solvents in hairless mice 1. Description of skin depot. J. Toxicol. 1986, 6 43-46.
40. Bond JR, Barry BW. Limitations of hairless mouse skin as a model for in vitro permeation studies through human skin: hydration damage. J. Invest. Dermatol. 1988, 90, 486-489.
41. Schmook FP. Meingassner JG. Billich A. Comparison of human skin or epidermis models with human and animal skin in in vitro percutaneous absorption. Int. J. Pharm. 2001, 215, 51-56.
42. Rigg PC, Barry BW. Shed snake skin and hairless mouse skin model membranes for human skin during permeation studies. J. Invest. Dermatol. 1990, 94, 235-240.
43. Higuchi T, Konishi R, Proceedings of the 2nd Transdermal Therapeutic Symposium. Therapeutic Res. 1978, 6, 280-288.

44. Roberts JB. Use of spumate epidermis in percutaneous absorption studies. A. Review. J. Toxicol. - Cut&ocular toxicol. 1986, 5, 319-324.
45. Roberts JB, Lillywhite HB, Lipids and the permeability of epidermis from snakes. J. Exp. Zool. 1983, 228, 1-9.
46. Burken RR, Wertz PW, Downing DT. The effects of lipids on transepidermal water permeation in snakes. Comp. Biochem. Physiol. 1985, 81A, 213-216.
47. Feldstein MM, Raigorodskii IM, Iordanskii AL, Hadgraft J. Modelling of percutaneous drug transport in vitro using skin-imitating Carbosil membrane. J. Cont. Rel. 1998, 52, 25-40.
48. Kock WR, Berner B, Burns JL, Bissett DL. Preparation and characterization of a reconstituted stratum corneum film as a model membrane for skin transport. Arch. Dermatol. Res. 1988, 280, 252-256.
49. Duraje H, Tiwary AK, Gupta S. Simulation of skin permeability in chitosan membranes. Inter. J. Pharma. 2001, 213, 193-198.
50. Xia RX, Baynes RE, Montaire-Riviere NA, Riviere JE. An experimentally based approach for predicting skin permeability of chemical and drugs using a membrane-coated fiber array. Toxicol. Appl. Pharma. 2007, 221, 320-328.
51. Shah VP, Elkins JS, Lam SY, Skelly JP. Determination of in vitro drug release from hydrocortisone creams. Int. J. Pharm. 1989, 53, 53-59.
52. Wu ST, Shiu GK, Simmons JE, Bronaugh RL, Skelly JP. In vitro release of nitroglycerin from topical products by use artificial membranes. J. Pharm. Sci. 1992, 81, 1153-1156.
53. Gallagher SJ, Trotter L, Carter TP, Heard CM, Effects of membrane type and liquid/liquid phase boundary on in vitro release of ketoprofen from gel formulations. J. Drug Target. 2003, 11, 373-379.

54. http://smalley.rice.edu/smalley.cfm?doc_id=4866
55. Kroto HW, Heath JR, O'Brien SC, Curl RF, Smalley RE. C-60-Buckminsterfullerene. *Nature*. 1985, 318, 162-163.
56. Dresselhaus MS, Dresselhaus G, Saito R. Physics of carbon nanotubes. *Carbon*. 1995, 33, 83-91.
57. Smalley RE, Formation and properties of C₆₀ and fullerenes. National Institute of Standards and Technology. 1990 Dec. 6-7
58. Dresselhaus MS. Oral presentation at fullerene workshop. University of Pennsylvania. 1991.
59. Iijima S, Ichihashi T, Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter. *Nature*. 1993, 363, 603-605.
60. Bethune DS, Klang CH, de Vries MS, Gorman G, Savoy R, Vanques J, Byers R. Cobalt-catalysed growth of carbon nanotubes with single-atomic-layer walls. *Nature*. 1993, 363, 605-607
61. Bacon R, Growth, Structure, and properties of graphite whiskers. *J. Appl. Physics*. 1960, 31, 283-290.
62. Iijima S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*. 1991, 354, 56-58.
63. Rao AM, Richter E, Bandow S, Chase B, Eklund PC, Williams KA, Fang S, Subbaswamy KR, Menon M, Thess A, Smalley RA, Dresselhaus G, Dresselhaus MS. Diameter-selective raman scattering from vibrational modes in carbon nanotubes. *Science*. 1997, 275, 187-191.
64. Kataura H, Kumazawa Y, Maniwa Y, Umeza I, Suzuki S, Ohtsuka Y, et al. Achiba. Optical properties of single-wall carbon nanotubes. *Synthetic Metals*. 1991, 103, 2555-2558.

65. Ebbessen TW, Ajayan PM, Large-scale synthesis of carbon nanotubes. *Nature*. 1992, 358, 220-222.
66. Fan SS, Chapline MG, Franklin NR, Tomblor TW, Cassell AM, Dai HJ, Self-oriented regular arrays of carbon nanotubes and their field emission properties. *Science*. 1999, 283, 512-514.
67. Hata K, Futaba DN, Mizuno K, Namai T, Yumura M, Iijima S. Water-assisted highly efficient synthesis of impurity-free single-walled carbon nanotubes. *Science*. 2004, 306, 1362-1364.
68. Wang J. Nanomaterial-based electrochemical biosensors. *Analyst*. 2005, 130, 421.
69. Pengfei QF, Vermesh O, Grecu M, Javey A, Wang O, Dai HJ, Peng S, Cho KJ. Toward large arrays of multiplex functionalized carbon nanotube sensors for highly sensitive and selective molecular detection. *Nano letters*. 2000, 3, 347.
70. Kong J, Franklin NR, Zhou CW, Chaplin MG, Peng S, Cho KJ, Dai HJ, Nanotube molecular wires as chemical sensors. *Science*. 2000, 287, 622.
71. Thess A, Lee R, Nikolaev P, Dai HJ, Petit P, Rbert J, Xu CH, Lee YH, Kim SG, Rinzler AG, Colbert DT, Scuseria GE, Tomanek D, Fischer JE, Smalley RE Crystalline rods of metallic carbon nanotubes. *Science*. 1996, 273, 483-487.
72. Farhat S, de La Chapelle ML, Loiseau A, Scott CD, Lefrant S, Journet C, Bernier P. Diameter control of single-walled carbon nanotubes using argon-helium mixture gases. *J. Chem. Phys.* 2001, 115, 6752-6759.
73. Height MJ, Howard JB, Tester JW, Sande JBV. Flame synthesis on single-walled carbon nanotubes. *Carbon*. 2004, 24, 2295.

74. Endo M, Takeuchi K, Igarashi S, Kobori K, Shirashi M, Kroto HW, The production and structure of pyrolytic carbon nanotubes. *J. Physic. Chem. Solids.* 1993, 54, 1841-1848.
75. Nikolaev P, Bronikowski MJ, Bradley RK, Rohmund F, Colbert DT, Smith KA, Smalley RE, Gas-phase catalytic growth of single-walled carbon nanotubes from carbon monoxide. *Chem. Phys. Let.* 1999, 313, 91-97.
76. Bronikowski MJ, Willis PA, Colbert DT, Smith KA, Smalley RE, Gas-phase production of carbon single-walled nanotubes from carbon monoxide via the HiPco process: a parametric study. *J Vac. Sci. Tech. A: Vacuum, Surface and Films.* 2001, 19, 1800-1802.
77. O'Connell MJ, Bachilo SM, Huffman CB, Moore VC, Strano MS, Haroz EH, Rialon KL, Boul PJ, Noon WH, Kittrell C, Ma JP, Hauge RH, Weismann RB, Smalley RE. Band gap fluorescence from individual single-walled carbon nanotubes. *Science.* 2002, 297, 593-596.
78. Richter H, Hernadi K, Caudano R, Fonseca A, Migeon H, Nagy JB, Schnaider S, Vandooren J, VanTiggelen PJ, Formation of nanotubes in low pressure hydrocarbon flames. *Carbon.* 1996, 34, 427.
79. Gore and Anup Sane. *Flame synthesis of Carbon Nanotubes, Carbon Nanotubes - synthesis, characterization, applications*, Siva Yellampalli (Ed.), ISBN: 978-953-307-497-9, InTech.
80. Li YM, Mann D, Ronaldi M, Kim W, Ural A, Hung S, Javey A, Cao J, Wang DW, Yenilmez E, Wang Q, Gibbons JF, Nishi Y, Dai HJ, Preferential growth of semiconducting single-walled carbon nanotubes by a plasma enhanced CVD method. *Nano Letters.* 2004, 4, 317-321.
81. Meyyappan M, Delzeit L, Cassell A, Hash D. Carbon nanotube growth by PECVD: a review. *Plasma Source, Science and Technology.* 2003, 12, 205-216.

82. Kato T, Jeong G, Hirata T, Hatakeyama R, Tohji K, Motomiya K, Singele-walled carbon nanotubes produced by plasma-enhanced chemical vapor deposition. *Chemical Physics Letters*. 2003, 381, 422-426.
83. Duncan R. Polymer conjugates as anticancer nanomedicines. *Nat. Rev. Cancer*. 2006, 6, 688-701.
84. Torchillin VP. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. *Nat. Rev. Drug Discovery*. 2005, 4, 145-160.
85. Tasis D, Tagmatarchis N, Bianco A, Prato M. Chemistry carbon nanotubes. *Chem. Rev.* 2006, 106, 1105-1136.
86. Bianco A, Kostarelos K, Partidos CD, Prato M. Biomedical applications of functionalised carbon nanotubes. *Chem. Commun.* 2005, 571-575.
87. Bianco A, Kostarelos K, Prato M. Application of carbon nanotubes in drug delivery. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2005, 9, 674-679.
88. Mammen M, Choi Sk, Whitesides GM, polyvalent interaction in biological systems: implication for design and use of multivalent ligands and inhibitors. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1998, 37, 2754-2794.
89. Niyagi S, Harmon MA, Hu H, Zhao B, Bhowmik P, Sen R, Itkis ME, Haddon RC,. Chemistry of single walled carbon nanotubes. *Acc. Chem. Res.* 2002, 35, 1105-1113.
90. Liu J, Rinzler AG, Dai H, Hafner JH, Bradley RK, Boul PJ, Lu A, Merson T, Shelimov K, Huffman CB, Rodrigez-Macias F, Shon YS, Lee TR, Colbert DT, Smalley RE. Fullerene pipes. *Science*. 1998, 280, 1253-1256.

91. Bonifazi D, Nacci C, Meraga R, Campidelli S, Ceballos C, Modesti S, Meneghetti M, Prato M. Microscopic and spectroscopic characterization of paintbrush-like single walled carbon nanotubes. *Nano. Lett.* 2006, 6, 1408-1414.
92. Koshino M, Tanaka T, Solin N, Suenaga K, Isobe H, Nakamura E. Imaging of single organic molecules in motion. *Science.* 2007, 316, 853.
93. Kostarelos K, Lacerda L, Pastorin G, Wu W, Wieckowski S, Luangsivilay J, Godefroy S, Pantarotto D, Briand JP, Müller S, Prato M, Bianco A. Functionalised carbon nanotube cellular uptake and internalisation mechanism is independent of functional group and cell type. *Nat. Nanotechnol.* 2007, 2, 108-113.
94. Sayes CM, Liang F, Hudson JL, Mendez J, Guo W, Beach JM, Moore VC, Doyle CD, West JL, Billups WE, Ausman KD, Colvin VL. Functionalization density dependence of single-walled carbon nanotubes cytotoxicity invitro. *Toxicol. Lett.* 2006, 16, 135-142.
95. Singh R, Pantarotto D, Lacerda L, Pastorin G, Klumpp C, Prato M, Bianco A, Kostarelos K. Tissue biodistribution and blood clearance rates of intravenously administered carbon nanotube radiotracers. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 2006, 103, 3357-3362.
96. Georgakilas V, Tagmatarchis N, Pantarotto D, Bianco A, Briand JP, Prato M. Amino acid functionalization of water soluble carbon nanotubes. *Chem. Commun.* 2002, 3050-3051.
97. Georgakilas V, Kordatos K, Prato M, Guldi DM, Holzinger M, Hirsch A. Organic functionalization of carbon nanotubes. *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 760-761.
98. Wu W, Wieckowski S, Pastorin G, Benincasa M, Klumpp C, Briand J, Gennaro R, Prato M, Bianco A. Targeted delivery of Amfotericin B to cells

using functionalized carbon nanotubes. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, 44, 6358-6362.

99. Pantarotto D, Singh R, McCarthy D, Erhardt M, Briand JP, Kosteralos K, Bianco A. Functionalised carbon nanotubes for plasmid DNA gene delivery. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2004, 43, 5242-5246.

100. Dumortier K, Iacotte S, Pastorin G, Marega R, Wu W, Bonitazi D, Briand JP, Muller S, Prato M, Bianco A. Functionalized carbon nanotube and non-cytotoxic and preserve the functionality of primary immun cells. *Nano. Lett.* 2006, 6, 1522-1528.

101. Singh R, Pantarotto D, McCarthy D, Chaloin O, Hoebeke J, Partidos CD, Briand PJ, Prato M, Bianco A, Kosteralos K. Binding and condensation of plasmid DNA onto functionalised carbon nanotubes: towards the construction of nanotube based gene delivery vectors. *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 4388-4396.

102. Kam NWS, Liu Z, Dai H, functionalization of carbon nanotubes via cleavable disulfide bonds for efficient intracellular delivery of siRNA and potent gene silencing. *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 12492-12493.

103. Zhang Z, Yang Y, Zhang Y, Yeng B, Wang Z, Zhu T, Roden RB, Chen Y, Yang R, delivery telomerase reverse transcriptase small interfering RNA in complex with positively charged single-walled carbon nanotubes suppresses tumor growth. *Clin. Cancer. Med. Chem.* 2003, 12, 4933-4939.

104. Benincasa M, Pacor S, Wu W, Prato M, Bianco A, Gennaro R, antifungal activity of amphotericin B conjugated to carbon nanotubes. *ACS. Nano.* 2001, 5(1), 199-208.

105. Wong JM, Esdaile JM,. Methotrexate in systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2005, 14, 101-105.

106. Pignatello R, Guccione S, Forte S, Di Giacomo C, Sorrenti V, Vicari L, Ucello Barretta G, Balzano F, Puglisi G. Lipophilic conjugates of methotrexate with short-chain alkylamino acids as DHFR inhibitors. Synthesis, biological evaluation, and molecular modelling. *Bioorg. Med. Chem.* 2004, 12, 2951-2964.
107. İlbasım Tamer S. Karbon Nanotüp içeren ilaç taşıyıcı sistemler üzerine çalışmalar. 2011 Doktora Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji, Ana Bilim Dalı.
108. Pantarotto D, Partidos CD, Hoebeke J, Brown F, Kramer E, Briand JP, Muller S, Prato M, Bianco A. Immunization with peptide-functionalized carbon nanotubes enhances virus-specific neutralizing antibody responses. *Chem. Biol.* 2003, 10, 961-966.
109. Pantarotto D, Hoebeke J, Graff R, Partidos CD, Briand JP, Prato M, Bianco A. Synthesis, structural characterization and immunological properties of carbon nanotubes functionalized with peptides. *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 6160-6164.
111. Flynn GL. Physicochemical determinants of skin absorption, In *Principles of route-to-route extrapolation for risk assessment*, (ed. Gerrity, T. R., Henry, C. J.), Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York. 1990, 93-127.
112. Değim T, Hadgraft J, İlbasım S, Özkan Y. Prediction of skin penetration using artificial neural network (ANN) modelling. *J. Pharm. Sci.* 2003, 92, 656-664.
113. Degim İ.T., New tools and approaches for predicting skin permeability. *Drug Discovery Today*. 2006 11: 517-521.
114. Degim T. Physicochemical determinants of skin penetration. Doktora tezi, University of Wales, College of Cardiff, UK, 1996.

115. Gopi C. Vijiya Kumar T.M., Dhanaraju M.D. Design and evaluation of novel ibuprofen gel and its permeability studies Int. J. Biopharm. 2010; 1(2):82-84
116. Majumder M. Stinchcomb A. Hinds B. Towards mimicking natural protein channels with aligned CNT membranes for active drug delivery. 2009 LFS-12467.
117. Dai H. Wonder P.A. Jessop T.C. Kam S.W.M. Nanotube molecular transporters- Internalization of CNT-Protein conjugates into mammalian cells j.am. chem. Soc. 2004, 126, 6850-6851
118. Packer J. Werner J. Latch D. McNeil K. William A. Photochemical fate of pharmaceuticals in environment: Naproxen, diclofenac, clofibrilic acid and ibuprofen. Aquat. Sci. Vol 65 2003 342-351.
119. Van den Ouweland F.A. Eenhoorn P.C. Tan Y. Gribnau F.W.J. Transcutaneous absorption of naproxen gel. Eur. J. Clin. Pharmacol. Vol 36 1989 209-211.
120. Benfeldt E. Serup J. Menne T. Effect of barrier perturbation on cutaneous salicylic acid penetration in human skin in vivo pharmacokinetics using microdialysis and non-invasive quantification of barrier function. Br. J. Derm. 1999 Vol 140 739-748.
121. Brittain H.G. Analytical profiles of drug substances and excipients Elsevier Sci. USA 2002 128
122. Mallu UR, Reddy KH, Bobbaralla V, Pennumajji S. RP-HPLC method development and validation for determination of dissolution and assay of sildenafil citrate tablets. J. Pharm. Res. 2010, 3(3), 631-635.
123. Değim T, Demiröz FT, Tamer-İlbasmış S, Acartürk F. development of controlled release sildenafil formulations for vaginal administration. Drug Delivery. 2008, 15(2598211;265).

124. Baynes RE. Brooks JD. Riviere JE. Membrane transport of naphthalene and dodecane in jet fuel mixture. *Toxicol. Ind. Health*. 2000, 16, 225-229.
125. Jetzer WE. Hug AS. Ho MFH. Flynn GL. *J. Pharm. Sci.* 1986, 75, 1098-1103.
126. Bartek M.J. , LaBudde JA Maibach HI Skin permeability in vivo: Comparison in rat, rabbit, pig and man. *J. Invest. Dermatol.* 1972, 58, 114-123.
127. Bronaugh RI, Stewart RF, Congdon ER. Methods for the percutaneous absorption studies. II. Animal models for human skin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1982, 46, 16-23.
128. Chow C. , Chow A.Y.K. , Downie R.H. , Bettar H.S. Percutaneous absorption of hexachlorophene in rats, guinea pigs, and pigs. *Toxicology*. 1978, 9, 147-154.
129. Galey W.R. , Lonsdale H.K. , Nacht S. In vitro permeation of skin and buccal mucosa selected drugs and tritiated water. *J. Invest. Dermatol.* 1976, 67, 713-717
130. Gore A.V. , Liang A.C. Chien Y.W. Comparative biomembrane permeation of the tacrine using Yucatan micropigs and the domestic pigs as the animal model. *J. Pharm. Sci.* 1998, 87, 441-447
131. Goodman M, Felix A, Moroder L. Toniolo C. *Methods Of Organic Chemistry, Houben-Weyl*: Thieme, Stuttgart 2002. Vol22b.
132. Reifentant W.G. , Chellquist E.M. , Shipwash E.A. Jederberg W.W. Krueger G.G. Percutaneous penetration in the hairless dog, weanling pig and grafted athymic nude mouse: Evaluation of models for predicting skin penetration in man. *Br. J. Dermatol.* 1984, 111, 123-135.

133. Meyer W, Neurand K, Schwarz R. Die Hunt Der Haussäugetiere 2. Ihre Bedeutung Für Die Dermatologische Forschung: Hinwiese Zur Speziellen Kunktion Einzelner Hautanteile . Tierärztl Prax. 1978, 6, 289-298.

134. Pantarotto D, Briand JP. Prato M, Bianco A. A translocation of bioactive peptides across cell membranes by carbon nanotubes. Chem. Commun. 2004, 16-17.

10. TEŞEKKÜRLER

Yüksek lisans tezimi planlayıp yöneten, engin bilgi ve tecrübesini hiç bir zaman esirgemeyen, karşılaştığım tüm sorunlarda çözüm üreten, anlayışını ve desteğini her zaman hissettiğim değerli hocam **Prof. Dr. Tuncer DEĞİM'e,**

Laboratuarda bildiğim her şeyi öğrenmemi sağlayan, bitmez sorularıma sabırla cevap veren, her zaman yanımda olup sonsuz destek veren, ablam **Dr. Ecz. Sibel İLBASMIŞ TAMER'e,**

Tecrübeleri ile her zaman yardıma hazır olan Eczacılık Teknolojisi Bölüm Başkanı **Sayın Prof. Dr. Nevin ÇELEBİ'ye**

Tecrübeleriyle ve bilgisiyle bana her zaman destek olan Anabilim Dalı Başkanım **Sayın Prof. Dr. Füsun ACARTÜRK'e,**

Gösterdikleri yakın ilgi ve yardımlarında dolayı Sayın **Prof. Dr. İlbeyi AĞABEYOĞLU'na,**

Her türlü soruma yanıt veren ve bana zaman ayıran **Sayın Prof. Dr. Tanver DOĞANAY'a,**

Çalışmalarım sırasında karşılaştığım her türlü sorunla yakından ilgilenip çözüm getiren **Sayın Prof. Dr. Zelihagül DEĞİM'e,**

Çalışmalarım sırasında göstermiş olduğu yakın ilgi, destek ve yardımlarından dolayı **Sayın Prof. Dr. Sevgi TAKKA'ya,**

Güler yüzünü eksik etmeyen **Sayın Doç. Dr. Figen TIRNAKSIZ'a,**

Her zaman yanımda olarak bana destek olan ve yardımını esirgemeyen **Doç. Dr. Zeynep Şafak TEKSİN'e,**

Laboratuvar deneylerimde beni yalnız bırakmayan, dostluğunu ve yardımını esirgemeyen arkadaşım **Uzm. Ecz. Başaran MUTLU AĞARDAN'a**

Çalışmalarım esnasında bana anlayışla davranan arkadaşlarım **Dr. Ecz. Fatmanur TUĞCU-DEMİRÖZ, Dr. Ecz. Tuba İNCEÇAYIR, Uzm. Ecz. Şeyda AKKUŞ'a,**

Katkılarından dolayı **Fatma Çelik'e**

En kötü anlarımda beni gülümsetebilen, canlarım, kardeşlerim **Berat ve Rüveyda TAKSİR'a**

Tüm hayatım boyunca sevgisini, hoşgörüsünü, sabrını hiç eksik etmeyen, hayatım boyunca tüm başarılarımda katkısı olan canım **Annem'e**

Tüm kararlarımı koşulsuz destekleyen, en sıkıntılı anlarımda bana mutluluk veren, evde harikalar yaratırken iş hayatında da en büyük destekçim olan, dünyanın en güzel bebeğini dünyaya getiren, hayatımın anlamı sevgili eşim **Ecz. Funda TAKSİR'a**

Mutluluk kaynağım, hayatımızın neşesi, sevgili bebeğim **Duru TAKSİR'a**

SONSUZ TEŞEKKÜRLER EDERİM....

İnşallah sende bunları görüp mutlu olmuşsundur, mekanın cennet olsun sevgili **Babacığım....**

11. ÖZGEÇMİŞ

ADI SOYADI:	MUSTAFA TAKSİR
DOĞUM TARİHİ VE YERİ:	24/05/1985 ANKARA
MEDENİ DURUMU:	EVLİ
ÇOCUK SAYISI:	1
YABANCI DİL:	İNGİLİZCE
E-MAİL:	mustafa.taksir@gmail.com.tr
GÖREVİ:	ECZACI
KARİYERİ:	
YÜKSEK LİSANS:	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı, Ankara 2008-
LİSANS:	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara 2003-2007