

1. GİRİŞ

Bu araştırmada, AIDS tedavisinde kullanılan bir etkin madde olan Zidovudin'in (AZT) transdermal uygulanması sırasında penetrasyon arttırıcılar yardımıyla deriden geçişinin arttırılması üzerinde çalışılmıştır.

AZT, oral yolla uygulandığında, ilacın yan etkileri belirgin bir biçimde ortaya çıkmaktadır. Bu etkin maddenin oral yol dışında transdermal yol ile verilmesinin bu yan etkilerin şiddetini ve/veya görülme sıklığını azaltacağı ve transdermal yol ile uzatılmış salım sağlanabileceği düşünülmektedir. Ancak AZT'nin hidrofilik özelliği nedeni ile deriden pasif difüzyonla geçişi zayıftır ve transdermal yolla terapötik dzeeye ulaşmak zordur. Uygun bir taşıyıcı ya da penetrasyon arttırıcı kullanımı ile deriden geçişin arttırılması mümkündür. AZT'nin deriden geçişinin arttırılması amacıyla kullanılacak yöntemler arasında kimyasal penetrasyon arttırıcılardan veya iyontoforez mekanizmasından yararlanılabileceği bildirilmiştir (Narishetty ve Panchagnula, 2004; Oh ve ark., 1998).

Bu nedenle çalışmamızda iki farklı penetrasyon arttırma mekanizması kullanılarak AZT'nin deriden geçişi arttırılmaya çalışılmıştır.

1.1. Derinin zellikleri

1.1.1. Derinin Anatomik Yapısı

Deri, 2 m²'lik yüzey alanı ile insan vücudunun en geniş yüzey alanlı organıdır. Toplam vücut ağırlığının % 3,7'lik bölümünü oluşturmaktadır. Deri, vücudumuzda güneş işınlarının zararlı radyasyonundan ve dış etkenlerden koruyuculuk, ısı dengesinin sağlanması ve su kaybının dengelenmesi gibi temel görevleri üstlenmektedir (Poet ve McDougal, 2002; Hadgraft, 2004). Deri zerine uygulanan ilaç formlarının deri ile uzun süreli temasta bulunabilme özellikleri nedeni ile hem sistemik hem de lokal etki oluşturmak için deri yoluyla ilaç kullanımı yaygındır

(Mullins, 1980). Uygulanan ilacın deriden emilmesi epidermis tabakasından, kıl foliküllerinden ya da ter bezi kanallarından pasif difüzyon ile olmaktadır (Tarımcı ve Yüksel, 1988).

Derinin anatomik yapısı incelendiğinde genel olarak üç ana tabakaya ayrıldığı görülmektedir: (Tarımcı ve Yüksel, 1988; Wang ve ark., 2005; Mullins, 1980)

- 1- Epidermis tabakası
- 2- Dermis tabakası
- 3- Hipodermis tabakası

Bu tabakalar arasında en kalın olanı 3-5 mm kalınlığa sahip olan dermistir. Dermis ter bezleri, kıl folikülleri, sinir sonları ve lenf kanallarını barındırmaktadır. Deri yoluyla uygulanan ilaçlar dermiste absorbe olmaktadır (Wang ve ark., 2005).

Epidermis tabakasının kalınlığı 0,06-0,8 mm'dir ve vücudun çeşitli bölgelerinde kalınlığı değişiklik göstermektedir. Epidermis tabakası etkin maddelerin transdermal absorpsiyonları için hız kısıtlayıcı bir tabaka özelliği göstermektedir (Wang ve ark., 2005).

İlaçların deriden penetrasyonunda en etkili bariyer özelliğini epidermiste yer alan katmanların en üstünde yer alan stratum korneum göstermektedir (Lee ve ark., 1997). Stratum korneumun tabakasının farklı kaynaklardan edinilen kalınlık değerleri 10-20 μm (Hadgraft, 2004), 10-15 μm (Lee ve ark., 1997), 5-400 μm (Poet ve McDogal, 2002) olarak verilmektedir. Stratum korneum derinin su kaybının önlenmesini ve koruma görevini üstlenmektedir. Stratum corneum % 20 oranında su içeriği ile lipofilitesi yüksek bir katman özelliği göstermektedir (Wang ve ark., 2005). Yapılan araştırmalar stratum korneum tabakasından yoksun olan deriden su kaybının 61 kata kadar artış gösterdiğini belirtmektedir (Hadgraft, 2004).

Deriden kimyasal maddelerin geçişi 3 temel yoldan olmaktadır (Œekil 1.1);

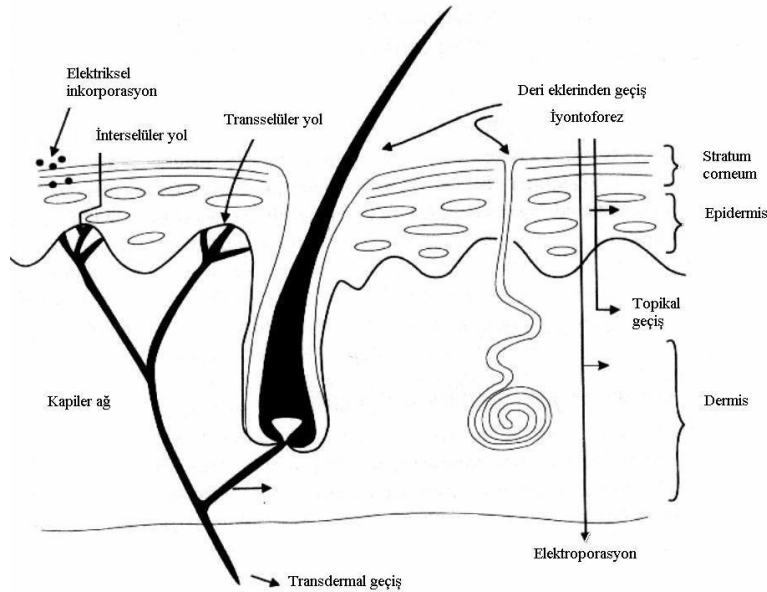
a-Maddenin intraselüler/transselüler sıvıda çözünenek difüzyonu

b-İnterselüler/paraselüler sıvıda difüzyon

c-Deri eklerinden (kıl folikülleri, ter bezleri ve yağ bezleri gibi) geçiş (Tarımcı ve Yüksel, 1988; Wang ve ark., 2005; Hekimoğlu, 1987).

Deri, 1 cm²'lik bölümünde ortalama olarak 40-70 adet kıl folikülü ve 200-250 adet ter bezi kanalı bulundurmaktadır. Deri ekleri olarak da bilinen bu yapılar suda çözünen ve iyonik karakterdeki etkin maddelerin deriden geçişlerinde önemli rol oynamaktadırlar. Deri ekleri ortalama deri yüzeyinin yaklaşık % 0,1'lik bir bölümünü oluşturmaktadır (Wang ve ark., 2005).

Deri eklerinden etkin madde geçişi fiziksel veya kimyasal mekanizmalarla arttırılabilir ya da kontrol edilebilir. Fiziksel mekanizmalardan biri olan iyontoforez ile etkin maddenin taşınması genel olarak deri eklerinden taşınma şeklinde gerçekteşmektedir, bu teknikle moleküller kıl folikülleri veya terbezi kanalları üzerinden taşınmaktadırlar (Wang ve ark., 2005; Lee ve ark., 1996).



Œekil 1.1. Derinin Œematik gösterimi ve iyontoforetik geçiş yolları (Banga, 1998).

1.1.2. Derinin Elektriksel Özellikleri

Stratum korneumun yüksek lipit düşük su oranına sahip olması, derinin elektriksel direncinde önemli rol oynamaktadır. Yapılan araştırmalar elektriksel direncin stratum corneumun su içeriği ile ters orantılı olduğunu göstermektedir (Riviere ve Heit, 1997). Stratum corneum 10^4 - $10^6 \Omega \cdot \text{cm}^2$ 'lik bir dirence sahiptir. Stratum korneumun elektriksel özellikleri, hidrasyon, kimyasalların kullanımı, sıcaklık, zaman, deri hastalıkları, tiroit aktivitesi veya dışardan uygulanacak elektrik akımı uygulaması ile değişebilmektedir. Elektriksel uygulama sırasında uygulanan lokal elektrik akımının etkisiyle stratum corneum lipitlerinin daha akışkan ve geçirgen özellik kazandığı düşünülmektedir (Prausnitz, 1996). Deri kendini oluşturan yapı taşlarının özellikleri nedeniyle negatif yük barındırmaktadır. Bu özelliği deriye katyon seçici geçirgenlik özelliği kazandırmaktadır. Deri pH 3-4 arasında izoelektrik noktaya sahiptir bu nedenle deri üzerine uygulama yaparken optimum pH seçimi önemlidir. (Prausnitz, 1996; Riviere ve Heit, 1997).

1.1.3. Deriden Emilme (Perkütan Absorpsiyon):

Perkütan absorpsiyon (deriden emilme), yerel uygulanan bir dozaj şeklinden ilacın salınması, deriye penetrasyonu ve daha sonra kılcallar vasıtası ile kan dolaşımına katılmasıdır (Branough ve Stewart, 1985).

Perkütan absorpsiyon genel olarak üç aşamada gerçekleşir; (Hekimoğlu, 1987).

- İlacın sıvağ/taşıyıcı sistemde çözünmesi,
- Çözünmüş ilacın sıvağdan/taşıyıcı sistemden deri yüzeyine difüzyonu,
- İlacın deri tabakalarından geçerek kan dolaşımına katılması.

İlacın deriden geçişi bölüm 1.1.1.'de anlatıldığı gibi 3 farklı mekanizma ile gerçekleşir:

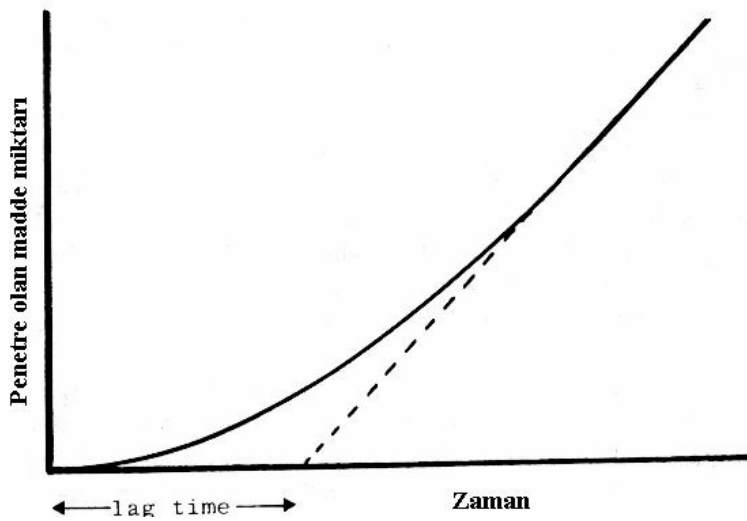
- a-Maddenin intraselüler/transselüler sıvıda çözünerek difüzyonu
- b-Interselüler/paraselüler sıvıda difüzyon

c-Deri eklerinden geçiş (Tarımcı ve Yüksel, 1988; Wang ve ark., 2005; Hekimoğlu, 1987).

Bir maddenin perkütan absorpsiyonunda bu yollardan sadece biri etkili olmaz birkaçı bir arada görülebilir. Geçiş yapacak olan molekülün tabiatına göre bu yollardan biri veya birkaçı etkili olmaktadır. Intraselüler sıvıdan difüzyon, daha çok aktivitesi yüksek moleküller için geçerlidir. Interselüler sıvıdan geçiş ise alanın küçük olması nedeniyle daha etkisiz kalmaktadır (Tarımcı ve Yüksel, 1988).

Deriden etkin maddelerin perkütan geçişi pasif difüzyon ile gerçekleşir. Difüzyon, madde moleküllerinin yüksek konsantrasyonlu bölgeden düşük konsantrasyonlu bölgeye göçüdür ve matematiksel olarak Fick'in 1. ve 2. yasaları ile açıklanmaktadır (Guy ve Hadgraft, 1985; Shah ve ark, 1994; Block, 2000; Hadgraft, 2004).

Difüzyonla epidermis tabakasından geçen etkin madde konsantrasyonunun zamana karşı grafiklendirilmesi ile deriden emilim dengeye gelene kadar parabolik bir ilişki görülür, bu ilişki Fick'in 2. kanunu ile açıklanır. Dengeye ulaşıldığında ise Fick'in 1. kanunu ile açıklanan doğrusal bir ilişki söz konusudur. Dengeye ulaşana kadar geçen süreye gecikme süresi denir (Guy ve Hadgraft, 1985).



Şekil 1.2. Epidermisten etkin madde difüzyon profili.

1.Fick kanunu;

$$dQ/dt = K_p \cdot D \cdot (C_{\text{taşıyıcı}} - C_{\text{reseptör}}) / h \quad \text{Denklem 1.1.}$$

dQ/dt : Etkin maddenin deriden penetrasyon hızı ($\text{mg}/\text{cm}^2 \cdot \text{1/sn}$)

D : Etkin maddenin deriden difüzyon katsayısı (cm^2/sn)

K_p : Etkin maddenin deri ve taşıyıcı sistem arasındaki partiyon katsayısı

$C_{\text{taşıyıcı}}$: Etkin maddenin taşıyıcı içindeki konsantrasyonu (mg)

$C_{\text{reseptör}}$: Etkin maddenin alıcı (reseptör) kompartıman içindeki konsantrasyonu

h : Deri bariyerinin etkili kalınlığı (cm)

Genellikle $C_{\text{reseptör}} \ll C_{\text{taşıyıcı}}$ olduğundan formül kısaltılarak verilebilir.

$$dQ/dt = K_p \cdot D \cdot C_{\text{taşıyıcı}} / h \quad \text{Denklem 1.2.}$$

2.Fick kanunu;

$$\delta c / \delta t = D \cdot (\delta^2 c) / (\delta x^2) \quad \text{Denklem 1.3.}$$

c : Madde konsantrasyonu

t : Geçiş süresi

x : Katedilen yol

Etkin maddenin sıvağ/taşıyıcı/homojen filmde çıkış matematiği Higuchi denklemi ile açıklanır. Denklem çözelti tipi preparattan çıkış ve süspansiyon tipi preparattan çıkış için iki farklı şekilde verilmektedir (Yüksel, 1992).

Çözelti tipi preparattan çıkış için,

$$Q = (2 \cdot C_0 \cdot D \cdot t / \pi)^{1/2} \quad \text{Denklem 1.4.}$$

Q : t anında birim alandan salınan yığılmalı etkin madde miktarı (mg)

C_0 : Etkin maddenin başlangıç konsantrasyonu (mg/ml)

D : Etkin maddenin preparattaki difüzyon katsayısı (cm^2/sn)

t : Zaman (sn)

Süspansiyon tipi preparattan çıkış için,

$$Q = (2.A. D. C_s. t)^{1/2}$$

Denklem 1.5.

A : Etkin maddenin preparattaki konsantrasyonu (mg/ml)

C_s : Etkin maddenin ortam sıvısında çözünürlüğü (mg/ml)

D : Etkin maddenin ortam sıvısında difüzyon katsayısı

1.2. Transdermal Yolla İlaç Uygulaması

Transdermal yolla ilaç uygulaması 1979 yılında skopolamin yamalarının kullanıma girmesi ile klinik açıdan önemli bir konuma gelmiştir. Bununla beraber uygulama alanı olan derinin etkin madde geçişini kısıtlayıcı özelliği nedeni ile transdermal amaçla kullanılacak sınırlı sayıda etkin madde bulunmaktadır. Bu nedenle araştırmalar daha fazla etkin maddenin transdermal kullanımına yönelik olarak devam etmektedir (Langer, 2004).

Yapılan çalışmalar deriden etkin madde geçişini önleyen faktörlerin anlaşılmasına ışık tutmuştur. Rein, 1924 yılında yaptığı çalışmayla deriden ilaç geçişini engelleyen ana unsurun epidermiste bulunan stratum korneum tabakası olduğunu hipotezinde ortaya koymuştur.

Blank, 1964 yılında yaptığı çalışmada stratum korneumu soyarak uzaklaştırılmış deriden su kaybının fonksiyonları tam olan deriye nazaran daha fazla olduğunu ortaya koymuştur.

Scheuplin, 1965 yılında yaptığı çalışmada deriden transdermal penetrasyonu sınırlayan yegane unsurun stratum korneum tabakası olduğunu ortaya koymuştur.

Michaels, 1975 yılında yaptığı çalışmada farklı etkin maddelerin stratum korneumdan geçişlerini inceleyerek bu etkin maddelere ait difüzyon katsayılarını belirlemiştir.

Günümüzde ise piyasada skopolamin, nitrogliserin, nikotin, klonidin, fentanil, estradiol, testosteron, lidokain, oksibutin gibi etkin maddelerin transdermal preparatları bulunmaktadır. Transdermal yolla ilaç uygulamasının en önemli avantajı; ilaçların karaciğerdeki ilk geçiş eliminasyonuna uğramamalarıdır. Ayrıca klonidin, nitrogliserin ve fentanilin piyasada bulunan preparatları üzerinde yapılan araştırmalarda oral uygulamaya nazaran transdermal uygulanmalarının daha az yan etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Bütün avantajlarına rağmen günümüzde sadece belirli sayıdaki etkin madde transdermal yolla uygulanabilmektedir. Bu nedenle günümüzde daha çok etkin maddenin transdermal olarak uygulanabilirliğini sağlamak amacıyla değişik yöntemlerden yararlanılmaktadır. Bu yöntemler arasında fiziksel ve kimyasal penetrasyon artırıcı yöntemler bulunmaktadır. Fiziksel yöntemlerin başında iyontoforez uygulaması gelmektedir ve yapılan araştırmalarda bu yöntemle pek çok etkin maddenin transdermal geçişinin artırılacağı bildirilmiştir (Langer, 2004).

1.3. Transdermal Yolla İlaç Uygulanmasında Kullanılan Geçiş Arttırma Yöntemleri

İnsan derisi etkin madde penetrasyonu için seçici geçirgen özellikte bir bariyerdir. Seçici geçirgen özelliği nedeniyle ancak uygun fizikokimyasal özelliğe sahip etkin maddeler deri yolu ile kendiliğinden geçiş yapabilecek niteliktedir. Bu nedenle deriden geçişe uygun fizikokimyasal özelliğe sahip olmayan etkin maddeler için fiziksel ve kimyasal penetrasyon arttırma yöntemleri kullanılmaktadır (Barry, 2001a; Barry, 2002).

1.3.1. Taşıyıcı ve Etkin Madde Etkileşimi

1.3.1.1. Uygun Etkin Madde veya Prodroğun Seçimi

En basit yaklaşım aynı farmakolojik sınıftan stratum korneum bariyerini aşabilecek uygun fizikokimyasal özelliğe sahip etkin maddelerin seçilmesidir. Eğer etkin madde

stratum korneum bariyerini aşabilecek uygun özelliklere sahip değilse bu etkin maddelerin prodruglarının (ön ilaç) sentezlenmesi yoluna gidilebilir. Prodrug stratum korneum bariyerini aşabilecek uygun fizikokimyasal özelliğe sahip olmalıdır. Prodruglar stratum korneum bariyerini geçip canlı dokuya ulaştıklarında canlı dokuda yer alan enzimler tarafından etkili formlarına dönüştürülürler (Barry, 2001b; Barry 2002).

1.3.1.2. Kimyasal Potansiyelin Ayarlanması

Higuchi'nin termodinamik aktiviteye ilişkin denkleminde yararlanarak etkin maddenin taşıyıcı sistem içerisindeki termodinamik aktivitesine bağlı olarak penetrasyon oranının değiştiği anlaşılmaktadır.

$$dm/dt = a.D/\gamma.h$$

Denklem 1.6.

a: Termodinamik aktivite

γ : Deri içindeki aktivite katsayısı

h: Uygulama alanının kalınlığı

D:Difüzyon katsayısı

dm/dt: Zamana bağlı olarak deriden geçiş yapan etkin madde miktarı

D, h, γ değerleri sabit değerler olduğundan, deriden geçiş yapacak olan etkin madde miktarı etkin maddenin taşıyıcı sistem içindeki termodinamik aktivitesi ile doğru orantılıdır. Bu nedenle etkin madde yüksek termodinamik aktivite göstereceği taşıyıcı sistemde yer almalıdır. Yapılan çalışmalarda doymuş çözeltilerde etkin maddelerin yüksek termodinamik aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (Hadgraft, 2004; Barry, 2002).

1.3.1.3. İyon Çifti ve Koaservatlar

Yüklü moleküllerin stratum korneumun elektriksel özellikleri nedeniyle bu tabakadan geçiş yapmaya uygun olmadıkları belirtilmektedir. Bu nedenle geliştirilen

tekniklerden biri etkin maddeyle zıt yüklü bir iyonun oluşturduğu lipofilik iyon çiftleridir. İyon çiftleri canlı epidermise difüze olur ve bu tabakada kendilerini oluşturan iyonlara ayrılır (Hadgraft, 2004; Fini ve ark.,1999; Trotta ve ark., 2003).

Koaservat sistemleri ise zıt yüklü iyon çiftlerinin koaservatı oluşturan yağ fazında ayrıştırılması ile elde edilirler. Koaservatlar canlı dokuya difüze olarak kendilerini oluşturan iyonlara ayrılırlar (Barry, 2002).

1.3.1.4. Ötektik Sistemler

Emla® Krem adı ile bilinen ticari preparatta lidokain ve prilokain ile hazırlanan ötektik karışımın sağladığı avantajlar yeni etkin maddeler için de ötektik sistem oluşumu ile benzer faydalar elde etme düşüncesinin gelişimine neden olmuştur (Barry, 2001a; Barry, 2002).

Araştırmacılar, lidokain ve mentol ile hazırlanan ötektik sistemde yılan derisinden penetrasyonun arttığını ortaya koymuşlardır. İbuprofenin 7 terpen ve propranololün yağ asidi esterleri ile hazırlanan ötektik sistemleri üzerinde yapılan araştırmalarda da transdermal penetrasyonda artış sağlandığını belirtmişlerdir (Barry, 2001a; Barry, 2002).

1.3.2. Veziküller ve Partiküller

1.3.2.1. Lipozomlar ve Analogları

Lipozomlar genellikle kolesterol ve fosfolipitlerden oluşan koloidal partiküllerdir. Eş merkezli biyomoleküler bir tabaka formundaki lipozomlar etkin maddeleri içlerinde hapsederek deriden geçişlerini sağlarlar (Jia-You ve ark., 2001).

Lipozomların sodyum kolat gibi sürfaktan maddeleri içeren yüksek elastikiyet özelliği gösteren transferzomlar (Kim ve ark., 2004; Elsayed ve ark., 2006), yüksek

konsantrasyonda etanol içeren etozomlar (Touitou ve ark., 2000), noniyonik sürfaktanları içeren ve lipozomların kimyasal instabilite, fosfolipit kaynaklı pürite ve yüksek maliyet gibi dezavantajlarını ortadan kaldıran niozomlar gibi türleri vardır (Elsayed ve ark., 2006; Jia-You ve ark., 2001).

1.3.2.2. Partiküllere Hız Kazandırılması

Hankin (2007), Powderject sistemi 20-100 µm partikül boyutundaki etkin maddelerin helyum gazıyla oluşturulan süpersonik şok dalgaları yardımıyla stratum korneum bariyerinden geçirek deri derinliklerine iletilmesini sağlamaktadır. Ancak bu sistem henüz FDA tarafından onay alamamıştır.

Intraject[®], J-Tip[®], Biojector[®] 2000 ve Medi-ject Vision[®] adıyla bilinen sistemler iğne kullanmadan sıvı ilaç şekillerini 0,1-0,5 mm çapındaki bir uygulama alanında stratum korneum bariyerinden geçirek deri derinlerine iletmektedir. Bu sistemler Vietnam'da Amerikan askerlerinde kullanılan aşı tabancasından hareketle hazırlanmış, iğnesiz injeksiyon özelliği gösteren sistemlerdir (Shergold ve ark., 2006).

1.3.3. Stratum Korneumun Modifiye Edilmesi

1.3.3.1. Hidratasyon

Stratum korneumun hidratasyonu çoğu etkin maddenin penetrasyonunu arttırmaktadır. Su stratum korneumun sıkı yapısında açılmaları neden olarak etkin maddelerin penetrasyonunda artışa neden olmaktadır. Nemlendirme faktörleri, oklüzif filmler, transdermal patchler (yama) ve lipofilik merhemler deride hidratasyonu sağlamakta ve bu sayede etkin maddelerin deriden penetrasyonu artmaktadır (Williams ve Barry, 2004, Barry 2002).

1.3.3.2. Kimyasal Penetrasyon Arttırıcılar

Kimyasal penetrasyon arttırıcılar stratum korneum lipit yapısına etki ederek, stratum korneum proteinlerini modifiye ederek ve etkin maddenin stratum korneumdaki partisionunu arttırarak etki gösterirler (Hadgraft, 2004; Williams ve Barry, 2004, Barry 2002).

Azon, terpenler, alkoller, yağ asitleri ve dimetilsülfoksit (DMSO) gibi kimyasal penetrasyon arttırıcılar stratum corneumun lipit organizasyonunu bozarak stratum korneumu etkin maddelere karşı daha geçirgen bir hale getirirler (Hadgraft, 2004; Williams ve Barry, 2004, Barry 2001a).

İyonik sürfaktanlar, DMSO, desilmetilsülfoksit gibi kimyasal penetrasyon arttırıcılar korneositlerde yer alan keratin ile etkileşime girerek sıkı protein yapılarının açılmasını sağlar ve stratum korneumu etkin maddelere karşı daha geçirgen bir hale getirirler (Hadgraft, 2004; Williams ve Barry, 2004, Barry 2001a).

Çoğu çözücü (Etanol, Transkutol, DMSO) de stratum korneumun çözücü özelliklerini değiştirmektedir. Bunun sonucu olarak etkin maddelerin stratum korneuma partisionunu arttırmaktadır (Seki ve ark., 1991; Hadgraft, 2004; Williams ve Barry, 2004).

1.3.4. Stratum Korneumun Atlatılması veya Uzaklaştırılması

1.3.4.1. Foliküler Geçiş

Deri üzerinde yer alan kıl folikülleri ve yağ bezi kanalları etkin maddelere stratum korneum bariyerinin kısıtlayıcı etkisine uğramadan geçiş yapabilecekleri alternatif bir yol oluşturmaktadırlar (Meidan ve ark., 2005; Williams ve Barry, 2004, Barry 2002).

Toutou ve ark. (2000) çalışmalarında koloidal yapıdaki lipozom ve analoglarının içerdikleri etkin maddelerin foliküler yolla deriden geçişlerini arttırılabileceğini bildirmektedirler. Bu yolla yüksek molekül ağırlığa sahip etkin maddelerin foliküler yolla verilebileceği düşünülmektedir.

1.3.4.2. Stratum Korneumun Uzaklaştırılması

Aluminyum oksit kristalleri kullanılarak yapılan kimyasal soyma yöntemi, lazer uygulaması, şerit soyma yöntemi gibi fiziksel, kimyasal veya mekanik yöntemlerle stratum korneum tabakası uzaklaştırılarak derinin bariyer özelliği ortadan kaldırılır ve deri etkin maddelere daha geçirgen bir hale gelir (Barry, 2002; Barry, 2001a).

1.3.4.3. Mikroİğneler

Mikroelektronik endüstrisinde 1990'lı yıllardan günümüze kadar geçen süre içerisinde mikrofabrikasyon teknikleri çok küçük ebatlarda yapıların üretilebilmesini sağlamıştır. Mikrofabrikasyon teknolojisinin ürünü olan mikroİğneler stratum korneum bariyerini aşabilecek kadar uzun ve sinir reseptörlerini uyarmayacak kadar kısıdırlar. Mikroİğneler etkin madde ile kaplanmış silikon mikroİğneler ve içlerinde bulundukları boşluklarda etkin maddeyi çözeltisi halinde içeren metal mikroİğneler olmak üzere iki farklı tipte olabilirler. Mikroİğnelerle yapılan tedavi sonucunda oluşan hasarın günlük deri yıpranmasından veya hipodermal İğnelerle gerçekleştirilen injeksiyondan daha fazla olmadığı belirtilmektedir (Prausnitz, 2004; Teo ve ark., 2006; Gill ve Prausnitz, 2007)

1.3.5. Elektriksel Yöntemler

1.3.5.1. Ultrason

Transdermal yolla ilaç verilisinde geçiş arttırmak için kullanılan düşük frekanslı ultrason, 18-100 kHz frekansa sahip bir dalga hareketidir. Ultrason stratum

korneumun interselüler kanallarında lokalize olmuş lipitlerle etkileşime girerek stratum korneumu etkin maddelere karşı daha geçirgen bir hale getirmektedir. Ultrasonun biyolojik dokularda kavitasyon (mikroskobik hava kabarcığı oluşumu), termal ve mekanik etkileri bulunmaktadır. Kavitasyon etkin maddelerin transdermal geçişlerini arttırmada en etkili faktördür (Machet ve Boucaund, 2002; Lavon ve Kost, 2004).

1.3.5.2. Elektroporasyon (Elektrodelme)

Elektroporasyon yüksek voltaj uygulamasıyla lipit çift tabaka membranlarında geçici yapısal karışıklık oluşturulması işlevidir. Bu yöntem pek çok lipit çift tabakalı membrana, örneğin lipozomlara, hücreli yapılara (bakteri, memeli hücresi gibi) veya stratum korneum gibi daha kompleks yapılarda etki göstermektedir (Denet ve ark.,2004). Elektroporasyonla tabaka başına 0,5-1,0 volt'luk elektrik potansiyeli uygulama bölgesine 10µs–10ms süreyle uygulanmaktadır (Banga ve ark., 1999). Elektroporasyon uygulamasıyla deri üzerinde geri dönüşümlü olarak kısa süreli yeni por yolları oluşur ve bu porlardan moleküllerin transportu sağlanır (Jadoul ve ark., 1999; Banga ve ark., 1999; Denet ve ark., 2004) . Elektroporasyon günümüzde gen tedavisinde ve elektrokemoterapide kullanılmaktadır. Deri üzerinde bulunan lokal tümörlerin yok edilmesinde elektrokemoterapi, kemoterapiden daha etkilidir. Son yıllarda da transdermal ilaç verilmesinde kullanılan fiziksel geçiş artırıcı yöntemlerle beraber anılmaktadır. Çoğunluğunu in vitro ortamda yapılan deneylerin oluşturduğu sınırlı sayıdaki hayvan ve insan deneyleri sonucunda bu yöntemin de fiziksel geçiş artırıcı bir yöntem olarak kullanılabilirliği görülmektedir. Elektroporasyonun diğer penetrasyon artırıcı yöntemlerle kombine kullanımına ilişkin yapılan çalışmalar da elektroporasyona ait veri birikiminin sağlanması açısından önemlidir (Denet ve ark., 2004).

1.3.5.3. Magnetoforez

Yapılan sınırlı sayıdaki araştırmada manyetik alanın, manyetik özellik gösteren etkin maddelerin deriden geçişlerini arttırmada kullanılabilirliğini bildirilmektedir.

Manyetizma ve mikroçip teknolojisi ile hazırlanan düzeneklerle etkin maddelerin deriden kontrollü geçişlerinin sağlanabileceği belirtmektedir. (Barry, 2001a).

1.3.5.4. İyontoforez

İyontoforez, sabit bir elektrik akımı kullanarak deri üzerinde oluşturulan elektrik potansiyeli yardımı ile iyonik (yükü) ve noniyonik (nötral/yüksüz) maddelerin deriden geçişlerini arttırmada kullanılan bir yöntemdir (Wang ve ark., 2005). Elektriğin temel prensiplerinden biri olan benzer yüklerin birbirini itmesi ilkesinden faydalanarak etkin maddenin donör kompartımana yerleştirilen benzer yükteki elektrot tarafından itilerek vücuda doğru sürüklenmesi sağlanır (Wang ve ark., 2005; Sing ve Maibach,1996).

Deri fizyolojik pH'da kendisini oluşturan proteinlerin aminoasit yapılarında taşıdıkları karboksilik gruplar nedeni ile negatif yüke sahiptir ve katyon geçişine öncelik veren bir membrandır. Derinin negatif yükte oluşu nedeniyle iyontoforez uygulaması sırasında anottan, katoda doğru bir sıvı hareketi gözlenir. Elektro-osmotik akış denen bu sıvı hareketi nedeniyle iyontoforez uygulaması sırasında katyonik (pozitif yükü) maddelerin transdermal akışı artar, nötral maddelerin de elektro-osmotik hareketten faydalanılarak iyontoforetik yolla verilişlerini mümkün kılar (Wang ve ark., 2005). Elektroosmoz aynı zamanda negatif yükü bir anyonun da katotdan akışını engelleyebilir (Singh ve Maibach,1996; Banga, 2000).

Toplam iyontoforetik akı, elektriksel itme, pasif difüzyon ve elektroosmozla oluşan akı bileşenlerinin bir toplamıdır (Wang ve ark.,2005).

1.3.5.4.1. İyontoforezin Avantajları ve Dezavantajları

Avantajları:

İyontoforezin en önemli avantajı vücuda geçiş yapan etkin maddenin uygulanan elektrik akımı ile orantılı olması nedeniyle programlanabilir etkin madde verilişi sağlamasıdır. Uygulanan elektrik akımına bağlı olarak biyolojik varyasyonlara daha

az bağlı etkin madde absorpsiyonu görülür. Denekler arası varyasyon, akım Şiddeti ayarlanarak azaltılabilir (Wang ve ark.,2005; Sing ve Maibach,1996; Banga ve ark., 1999).

Klasik transdermal uygulamalarla ancak potent (etkili) ve lipofilik karakterdeki etkin maddelerin deriden geçiŐleri sağlanırken, iyontofrez uygulamasıyla yüklü, yüksek molekül ağırlıklı ve nötral etkin maddelerin de deri yoluyla geçiŐleri sağlanmaktadır (Wang ve ark., 2005; Singh ve Maibach, 1996).

Doz, akım Şiddetinin veya sresinin kontrolü ile kiŐiye özel hale getirilebilir (Singh ve Maibach, 1996, Banga ve ark., 1999).

Karaciğerde ilk geçiş eliminasyonuna uğrayan etkin maddelerin deri yoluyla uygulanmasıyla ilk geçiş eliminasyonuna uğramadan vcoda verilmeleri sağlanır. Aynı zamanda gastrointestinal kanalda tahriŐ yapabilecek veya gastrointestinal kanalda parçalanarak etki kaybına uğrayan etkin maddeler (insülin gibi polipeptit yapılar) bu etkilerden kurtarılmıŐ olur (Singh ve Maibach, 1996; Kalia ve ark., 2004; Teo ve ark., 2006).

Dezavantajları:

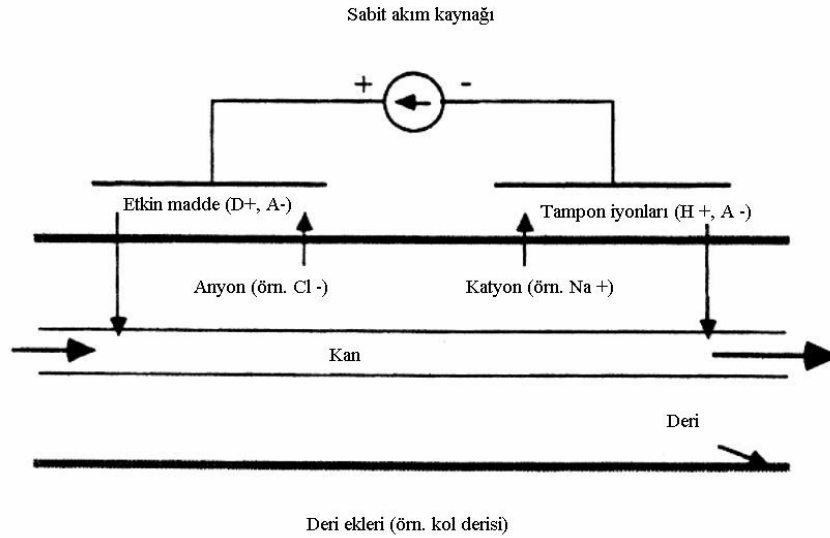
Uygulanan elektrik akımı fizyolojik olarak kabul edilebilir düzeylerde seçilse de iyontofrez uygulaması sırasında deri üzerinde hafif eritem, yanma ve dem gözlenmiştir (Singh ve Maibach, 1994; Singh ve Maibach, 1996). İnsan deneyleri sırasında kullanılan elektrotların altındaki deri bölgesinde gözlenen eritem geri dönüŐümlüdür ve nabız atımı (periyodik akım uygulaması) Şeklinde elektriksel akım uygulanmasıyla da önlenebilmektedir (Wang ve ark., 2005)

İyontofrez uygulamaları sırasında farelerde yapılan deneylerde irritasyon, eritem, elektriksel sinir stimulasyonu, ağrı hissi kaybı gibi yan etkiler görülmesine rağmen FDA bu yan etkileri düşük risk grubunda değerlendirmektedir (Prausnitz, 1996).

Bu dezavantajlarının yanısıra iyontoforezin pahalı bir tedavi yöntemi olduğunu savunan görüşler de mevcuttur (Singh ve Maibach, 1994; Panchagnula ve ark., 2000).

1.3.5.4.2. İyontoforezin Etki Mekanizması

İyontoforezin etki mekanizmasının temeli basit bir elektrik prensibine; benzer yüklerin birbirini itmesi ilkesine dayanmaktadır. Bu ilkeden hareketle, örneğin pozitif yüklü bir etkin madde olan lidokainin deri yoluyla verilmesini sağlamak için lidokainin bulunduğu kompartımana benzer yükteki pozitif elektrot yerleştirilir, böylece lidokain benzer yükteki elektrot tarafından itilerek vücutta farklı bir bölgede konumlandırılmış olan zıt yükteki negatif yüklü elektrota doğru sürüklenecektir. Negatif yüklü bir etkin madde için bu olay tersine işleyecektir (Şekil 1.3.) (Kalia ve ark., 2004).



Şekil 1.3. Anodal iyontoforezin şematik gösterimi (Singh ve Maibach, 1994).

İyontoforez sırasında derideki negatif yük suyun anottan katoda doğru olan elektroosmotik hareketini sağlar. İyontoforez sırasındaki bu su hareketi anotta por büzülmesi ve katotta por şişmesi ile sonuçlanır (Wang ve ark., 2005; Lin ve ark., 1997).

İyontoforez uygulamasında etkin maddelerin ana transport yolları deri ekleri olarak da bilinen ter bezi kanalları ve kıl folikülleridir. Ancak yapılan çalışmalar stratum korneum yapısı üzerinde meydana gelen karışıklık sonucunda yapay geçiş yollarının oluşumunu da desteklemektedir (Wang ve ark., 2005; Singh ve Maibach, 1996; Banga ve ark., 1999) .

İyontoforezin teorisini açıklamaya yönelik eşitlikleri oluşturmak amacıyla Nertz-Plank eşitliğinden yararlanılır (Singh ve Maibach, 1996).

Genel olarak iyonik maddeler için akı (J_i) aşağıdaki formülle ifade edilir:

$$J_i = - (D_i \cdot \delta C_i / \delta x) - (D_i \cdot C_i \cdot z_i \cdot F / R \cdot T) \cdot \delta E / \delta x \quad \text{Denklem 1.7.}$$

D_i : Difüzyon katsayısı

z_i : Valans

F: Faraday sabiti

C_i : Konsantrasyon

R : Gaz sabiti

T : Kelvin cinsinden sıcaklık

$\delta C_i / \delta x$: Konsantrasyon gradyanı

$\delta E / \delta x$: Elektriksel potansiyel gradyanı

İyontoforez uygulaması sırasında oluşan elektro-osmotik hareketten kaynaklanan etkilerin anlaşılabilmesi için yine Nertz-Plank eşitliğinden yararlanılır (Singh ve Maibach, 1996).

$$J_i = - (D_i \cdot \delta C_i / \delta x) - (D_i \cdot C_i \cdot z_i \cdot F / R \cdot T) \cdot \delta E / \delta x \pm C_i \cdot J_v \quad \text{Deklem 1.8.}$$

J_v : Elektro-osmotik akış hızı

Yüklü bir etkin maddenin iyontoforetik akısı, bu etkin maddeye etki eden elektriksel itme, pasif difüzyon ve elektroosmoz ile oluşan akı bileşenlerinin toplamına eşittir (Wang ve ark., 2005; Kalia ve ark., 2004).

$$J_{\text{total}} = J_{\text{elektriksel itme}} + J_{\text{elektroosmoz}} + J_{\text{pasif}}$$

Denklem 1.9.

1.3.5.4.3. İyontoforezi Etkileyen Faktörler

İyontoforez üzerine etkili faktörler 4 ana başlık altında toplanabilir (Singh ve Maibach, 1994 ; Wang ve ark., 2005) .

-Etkin maddenin fizikokimyasal özelliklerine ait faktörler

-Elektrik düzeneğine ait faktörler

-Formülasyona Ait Faktörler

-Fizyolojik faktörler

1.3.5.4.3.1. Etkin Maddenin Fizikokimyasal Özelliklerine Ait Faktörler

Etkin maddenin yükü, molekül boyutu, yapısı ve lipofilitesi gibi özellikleri iyontoforeze aday olma konusunda önem taşır.

Etkin maddenin suda çözünür olması ve yükü fazla olan tuz formlarının bulunması iyontoforez uygulamalarında tercih edilir (Wang ve ark., 2005; Singh ve Maibach, 1996; Banga, 1998).

Genel olarak düşük molekül ağırlıklı ve hidrofilik iyonların iyontoforetik geçişi büyük molekül ağırlıklı olanlara oranla daha hızlı bulunmuştur. Etkin maddelerin zayıf asit tuzunun kullanımı, akım etkinlikleri nedeniyle tercih edilir. Non-iyonize moleküller ise elektro-osmoz yoluyla verilebilir. İyontoforez için üst boyut limiti henüz bilinmemektedir. Genelde molekül ağırlığı 250-500 Dalton aralığında maddelerle çalışılmışsa da moleküler ağırlıktan çok moleküler hacim önem taşımaktadır (Banga, 1998).

1.3.5.4.3.2. Elektrik Düzenine Ait Faktörler

1.3.5.4.3.2.1. Elektrik Akımının Şiddeti

Bir çok etkin madde için, uygulanan elektrik akımı ile elde edilen akı arasında doğrusal bir ilişki bulunduğu bildirilmiştir. Ancak, hasta güvenliği açısından, kullanılacak maksimum akım şiddetinin üst limiti $0,5 \text{ mA/cm}^2$ olarak belirlenmiştir (Wang ve ark., 2005; Singh ve Maibach, 1994; Singh ve Maibach, 1996) .

Akım uygulaması ile deriden hem solvent hem de model etkin madde geçişi artmıştır ve akımla doğru orantılı olduğu bulunmuştur (Wang ve ark.,2005). Fakat araştırmacılar akımın 0,5 veya 1 mA üzerine çıkması halinde deride meydana gelen değişimlerin geri dönüşümsüz olduğunu bildirmişlerdir (Manabe ve ark., 2000).

1.3.5.4.3.2.2. Elektrik Akımının Tipi

İyontoforez akım kaynağına dayalı bir tekniktir. Akım tipi olarak, devamlı veya nabız atımı şeklinde doğrusal akım kullanılabilir. (Singh ve Maibach, 1994; Singh ve Maibach, 1996; Ishikawa ve ark., 2002).

Devamlı doğru akım kullanılması deri polarizasyonu ile sonuçlanabilir. Bu da, doğru akım uygulanma süresiyle de orantılı olarak iyontoforetik geçişin etkinliğini azaltır. Polarizasyonun oluşmasını önlemek üzere doğru akımın periyodik olarak uygulandığı şekli olan nabız atımı (pulse) şeklindeki akım kullanılabilir. Bu akım şeklinde, akım kesildiğinde deri depolarize olur ve hemen hemen başlangıçtaki elektriksel özelliklerine geri döner. Nabız atımı şeklinde akım uygulanmasıyla deri toleransı da artar, bu şekilde hastalar deriden geçen daha yüksek düzeyde akımı tolere edebilmektedirler ve deri iritasyonu da devamlı doğrusal akıma oranla azalmaktadır (Wang. ve ark.,2005; Singh ve Maibach, 1996; Harden ve Viovy, 1996).

1.3.5.4.3.2.3. Elektrik Akımının Uygulama Süresi

Elektrik akımının uygulama süresindeki artışa bağlı olarak etkin maddelerin uygulama bölgesinden permeabiliteleri artar. Buspiron HCl ile yapılan iyontoforez uygulamalarında transdermal akının, akım şiddeti ile doğru orantılı olduğu bulunmuştur (Wang ve ark.,2005).

1.3.5.4.3.2.4. Elektrot Seçimi

İyi iletken özellik, şekil, deri yüzeyine kolayca adapte edilebilirlik ve pH değişimini minimum düzeyde tutabilme özellikleri iyontoforezde kullanılacak elektrot seçiminde önemli kriterlerdir (Singh ve Maibach, 1994). Ayrıca kullanılacak elektrot materyali vücuda zarar vermemelidir. Elektrotların deriye direkt temasından kaçınılmalıdır (Tyle ve Kari, 1988).

İyontoforez çalışmalarında pH değişimine dirençli olduklarından en çok Ag/AgCl elektrotlar kullanılmaktadır, bunun dışında platin ve Zn/ZnCl elektrotlar da kullanılabilir. (Wang ve ark., 2005; Singh ve Maibach, 1994; Singh ve Maibach, 1996) .

1.3.5.4.3.4. Formülasyona Ait Faktörler

Optimum formülasyonun seçimi önemlidir. Bu seçimde etkin madde konsantrasyonu, pH, iyonik kuvvet, viskozluk gibi faktörler etkilidir (Wang ve ark., 2005; Thysman ve ark., 1992, Chu ve ark., 1994, Banga , 1998).

Konsantrasyon:

Artan konsantrasyon belli bir noktaya kadar iyontoforezi artırır, fakat daha yüksek konsantrasyonlarda akı, konsantrasyondan bağımsız olabilir (Singh ve Maibach, 1996; Banga, 1998).

pH:

Donör çözeltinin pH'ını ayarlamak için kullanılan tamponun pH'ının, deri pH'ını etkileyerek derinin negatif yükle yüklü olduğu pH'ın oluşmasını sağlaması halinde anodal iyontoforezde katyonların penetrasyonu artacaktır (Wang ve ark., 2005). Donör çözelti pH'ı aynı zamanda iyontoforez uygulamasında etkin maddenin iyonize halde bulunacağı optimum pH'ın oluşmasında da önem taşıdığından optimum pH seçimi önemlidir (Wang ve ark., 2005; Singh ve Maibach, 1994; Singh ve Maibach, 1996; Tyle ve Kari, 1988).

Diğer bir parametre formülasyon pH'sıdır. pH etkin maddenin yüklü olup olmadığını tayin eder ya da yüklü-yüksüz türlerin oranını etkiler (Wang ve ark., 2005; Singh ve Maibach, 1996; Banga, 1998).

pH değişiminden kaçınmak için tampon kullanılır, ancak tampon maddenin iyonları akım taşıma konusunda etkin madde ile yarışır (Wang ve ark., 2005). HEPES tamponu pH 7,4 deki yüksek tampon kapasitesi nedeniyle çok kullanılır, çünkü bu pH'da zwitter iyon halindedir ve bu nedenle yük taşıma kapasitesi düşüktür (Banga, 1998).

Harici iyon varlığı:

Tampon konsantrasyonunun artırılmasıyla veya tampondaki sodyum, potasyum, klorür gibi harici iyonların varlığında reseptördeki etkin maddenin transdermal akısının azaldığı belirtilmektedir (Sing ve Maibach,1996).

İyon yarışması:

Donör ortamın pH'sını ayarlamak için kullanılan tamponlar veya tonisite ayarlama için kullanılan yardımcı maddeler nedeniyle genelde ortama etkin madde iyonlarından daha mobil (hareketli) özellikteki Na⁺ iyonları gibi iyonların ilavesi söz konusudur. Bu durumda özellikle katyonik etkin maddelerin taşımakta olduğu akım fraksiyonu ve sonuçta transdermal iyontoforetik akıları azalmaktadır (Değim ve ark., 1998; Wang ve ark., 2005; Singh ve Maibach, 1996).

1.3.5.4.3.4. Fizyolojik Faktörler

Küçük iyonlar söz konusu olduğunda iyontoforetik veriliş kullanılan deri tipinden etkilenmeyebilir. Örneğin, lityumun farklı türlerde pasif akısı değişken olduğu halde, insan, domuz ve tavşan derisinden iyontoforez yardımı ile verilişinde kıyaslanabilir sonuçlar elde edilmiştir. Bunun nedeni iyontoforez ile türler arası farkların azaltılmasına bağlanabilir. Ancak, çoğu etkin madde deri ile etkileşime girebilen kompleks yapıya sahiptir. Bu durumda *in vivo/ex vivo* çalışmalarda denek hayvanının cinsinin ve yaşının iyontoforez üzerinde etkili bir faktör olabileceği düşünülmektedir (Sing ve Maibach, 1996; Banga, 1998; Kanikkannan ve ark., 2001).

1.4. Transdermal İlaç Uygulamasında Kullanılan Polimerler

Etkin maddeleri, deriden geçirerek kan sirkülasyonuna dahil olmalarını sağlamak amacıyla transdermal yamalar ilaç şekli olarak kullanılabilir. Transdermal yamalar yardımıyla ilaç uygulamasının en önemli avantajı ilacın sürekli ve sabit kan konsantrasyonunun sağlanabilmesidir. Transdermal yamalar gelişimleri süresince membran kontrollü sistemler ve matris tipi flasterler olmak üzere ikiye ayrılmıştır. İlk matris tipi flasterlerde ek olarak adhezif bir tabaka bulunurken günümüz matris tipi flasterleri kendiliğinden adhezif özellik göstermektedir. Matris tipi flasterlerde etkin maddeler matris içerisinde çözündürülerek veya süspansiyon halinde sisteme dahil edilirler. Membran kontrollü sistemler ise polivinil asetat veya polietilen içeren hız kontrollü sistemlerdir.

Transdermal sistemlerde polimerlerin kullanıma girmesi ilk olarak poliglikolik asitin transdermal sistemlerde kullanılmasıyla başlamıştır. Günümüzde transdermal uygulamalar için kullanılan polimerler doğal ve sentetik polimerler olarak ikiye ayrılmaktadır. Sentetik polimerler ise kendi içinde biyolojik ortamda parçalanabilen ve parçalanamayan olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır (Pillai ve Panchagnula, 2001).

Biyolojik ortamda parçalanmayan polimerlerle oluşturulan matrislerde ilaçların polimerden çıkışları, polimer üzerindeki porlardan veya oluşan kanallardan gerçekleşmektedir. Biyolojik ortamda parçalanabilen polimerlerle oluşturulmuş matrislerden ilaç çıkışı ise bu polimerlerin iskeletlerinde bulunan esterler, ortoesterler, anhidrit, karbonat ve üre gibi labil (hareketli) grupların sağladığı erozyon ve parçalanma olaylarıyla gerçekleşir. Akıllı polimerler olarak da nitelendirilen hidrojellerden ilaç çıkışları ise biyolojik ortamda meydana gelen çeşitli etkilere (kimyasal, mekanik, termal ve fiziksel değişimler) karşı polimer matrisin gösterdiği tepki veya tepkilerle olur (Pillai ve Panchagnula, 2001).

Çizelge 1.1. Günümüzde kullanılan doğal ve sentetik bazlı polimerler (*)

Doğal polimerler	
Protein bazlı polimerler	Kollajen, albumin, jelatin, agaroz, aljinatlar, karragen, hiyoluronik asit
Polisakkaritler	Dekstran, kitozan, siklodekstrinler
Sentetik polimerler	
	Biyolojik ortamda parçalanabilenler
Poliesterler	Poli(laktik asit), poli(glikolik asit), poli(hidroksi butirat), poli(kaprolakton), poli(beta malik asit), poli(dioksanon)
Polianhidritler	Poli(sebasik asit), poli(adipik asit), poli(terftalik asit)
Poliamidler	Poli(imino karbonatlar), poliamino asitler
Fosfor bazlı polimerler	Polifosfatlar, polifosfonatlar, polifosfazinler
Diğerleri	Poli(siyano akrilatlar), poliüretanlar, poli orto esterler, polidihidropiranlar, poliasetaller
	Biyolojik ortamda parçalanmayanlar
Selüloz türevleri	Karboksimetil selüloz, etilselüloz, selüloz asetat, selüloz asetat propiyonat, hidroksipropil metil selüloz
Silikonlar	Polidimetilsiloksan, koloidal silika
Akrilik polimerler	Polimetakrilatlar, poli(metil metakrilatlar), polihidro(etil metakrilatlar)
Diğerleri	Polivinil pirolidon, etil vinil asetat, poloksamerler, poloksaminler

(*Pillai ve Panchagnula, 2001).

Formülasyonların adhezif özelliğini arttırmak amacıyla polimer kombinasyonlarının kullanımı sözkonusudur. Örneğin adhezif özellikteki polimetil metakrilat (Eudragit) türleri selüloz eterleriyle veya polivinil prolidon ile kombine edilerek adhezifliği artırma çalışmaları yapılmıştır (Valenta ve Auner, 2005).

Perkütan absorpsiyonu incelemek için verapamil hidroklorür ile yapılan çalışmada, verapamil hidroklorür Eudragit RL, Eudragit RS, hidroksipropil metilselüloz ve etil selüloz kombinasyonlarıyla hazırlanan farklı hidrofobite ve hidrofilitedeki yamalara yüklenerek sonuçları incelenmiştir (Valenta ve Auner, 2005).

Çalışmamızda kullanılan polimerler, polimetilmetakrilat (Eudragit®) türevleri ve etil selülozdur. Etil selüloz, selülozun etil eteri yapısında, hidrofobik özellik gösteren bir polimerdir. Hidrofobik özelliği nedeniyle, oral formülasyonlarda tablet ve kapsüller için kaplama ajanı olarak ve matris oluşturucu özelliği nedeniyle salım modifiye edici amaçlarla kullanılır. Topikal formülasyonlarda; etil selüloz jel, krem ve losyonlarda viskozite artırıcı ajan olarak kullanılır. Etil selüloz ile organik solvanlarda çözünen ve su geçirmez filmlerin hazırlanması mümkündür. Bu filmler, hidroksipropilmetilselüloz ya da dibutil sebasat, dibütil ftalat, dietil ftalat, trietil sitrat, triasetin, oleik asit, stearik asit gibi farklı tipte plastizerler kullanılarak modifiye edilebilir. Etilselüloz ile kaplı dozaj formlarından etkin madde salımı difüzyon kontrolludur (Kibbe, 2000).

Eudragit türevleri ise; metakrilik asit kopolimerleri, metakrilik asit ve akrilik asit kopolimerleri ya da metakrilik esterlerin kopolimerleri ile tamamıyla polimerleşmiş yapılardır. Çalışmalarda kullanılan Eudragit RL 100 (Tip A) ve RS 100 (Tip B) ve E 100 genel olarak tablet teknolojisinde film kaplama ajanı ve salım modifiye etmek amacıyla kullanılmaktadır. Özellikle Eudragit RL 100 ve RS 100 suda çözünmeyen film kaplaması oluşturmak ve uzatılmış salım sağlayan preparatlar elde etmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu iki polimer, amonyummetakrilat kopolimerleri olarak adlandırılırlar. RL 100 fonksiyonel kuaterner amonyum gruplarını % 10 oranında içerirken, RS 100 de bu gruplar % 5 oranında bulunur. Amonyum grupları polimere pH'dan bağımsız geçirgenlik özelliği kazandırır. Eudragit RL 100 ile hazırlanan

filmlerin su geçirgenliği iyi iken, RS 100 ile hazırlanan filmlerin su geçirgenliği azdır. Film hazırlanması sırasında bu polimerlere % 10-25 oranında dibutil sebasat, dibutil ftalat, gliserin triasetat ya da polietilen glikol veya bunların kombinasyonları plastizer olarak ilave edilebilir (Kibbe, 2000).

1.5. Üretim Yöntemleri

Eudragit türleri ile hazırlanacak formüller için 3 farklı hazırlama yöntemi mevcuttur.

Bunlar:

- 1) Organik çözücülerde çözümlenerek hazırlama
- 2) Sulu dispersiyonlarını hazırlama
- 3) Sıcakta eritme (Hot-Melt) yöntemi ile hazırlamaktır (Röhm Pharma-Data Sheet; Röhm Pharma-technical literature).

Genellikle Eudragit türleri ile m²'de 10-100 µm kalınlık elde etmek için 10-100 g kuru polimer kullanılması gerekmektedir. Bu şekilde hazırlanmak istenen filmler için uygulamanın yapılacağı alandan ve istenilen kalınlık değerlerinden hareketle hesaplama yapılarak kullanılacak polimer miktarları belirlenebilir. Sonuçta uygulamaya hazır, genellikle şeffaf ve esnek özellikte filmler elde edilir. Elde edilen filmler yüksek su buharı geçirgenliğine sahip olduklarından deri ile geçimlidirler. Kullanıma hazır film içindeki etkin madde matrise homojen karıştırılarak yüklenir. Salınan etkin madde miktarı sistemin fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır. Etkin madde salımı aynı zamanda film tabakasının kalınlığını modifiye ederek ya da etkin madde dozunu değiştirerek veya Eudragit türlerinin birbirleri ile farklı oranlarda kombine edilmesi yolu ile de değiştirilebilir (Röhm Pharma-technical literature).

Aseton:2-propanol (60:40) karışımı en çok kullanılan organik çözücü karışımıdır. Propanol dışında; etanol, metanol gibi diğer alkoller de çözücü olarak kullanılabilir (Kibbe, 2000).

1.6. Kontroller:

1.6.1. Infrared (IR) Spektroskopisi:

IR Spektroskopisi, polimer-etkin madde etkileşiminin belirlenebilmesi ve hazırlanan formülasyonların içinde yer alan etkin madde varlığının, etkin maddenin ana fonksiyonel gruplarını ifade eden absorpsiyon bantları vasıtasıyla izlenebilmesi amacıyla kullanılan bir analiz yöntemidir. Yapılan çalışmalarda polimer-etkin madde etkileşimleri ve hazırlanan formülasyonlardaki etkin madde varlığının belirlenebilmesi ve etkin maddenin fiziksel durumu hakkında ön bilgi edinilmesi amacıyla kullanılır (Barber, 1993 ; Jenquin ve McGinity, 1994).

IR spektrometresi ile yapılan analizlerde genelde disk yönteminden yararlanılır. Bu yöntemin tek dezavantajı maddenin toz haline getirilmesi esnasında fiziksel ve kimyasal değişikliğe uğrayabilmesi ve buna bağlı olarak beklenmeyen bir spektrumun görülebilmesidir (Ergenç ve ark. , 1984 ; Phadnis ve ark., 1997).

IR yöntemi kullanılarak maddelerin kristal yapıları, polimorfik dönüşümleri ve maddeler arası geçimsizlikler incelenebilir. Aynı şekilde polimerin öğütülmesi de kristal yapıyı değiştirerek yeni piklerin oluşumuna neden olabilir ve bu durum da IR ile incenebilir (Lin ve ark, 1994).

1.6.2. Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC)

Etkin madde ve polimerler arasındaki etkileşimlerin incelenmesinde XRD ve IR analizleriyle beraber DSC analizinden de yararlanılır.

DSC genellikle saf haldeki maddenin ve formülasyonların termal davranışlarını açıklamak amacıyla kullanılır (Yüksel ve ark., 1996).

DSC analizi ile elde edilen termogramlar analiz sırasında uygulanan ısı ile meydana gelen çeşitli değişiklikleri ve bunların sonucunda etkin maddelerin polimorflarının

oluşup oluşmadığını ifade eder. Etkin madde-polimer arasındaki etkileşimin mekanizmasının açıklanabilmesi için öncelikle etkin madde-polimer kompleksinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin incelenmesi gerekir (Jenquin ve McGinity, 1994).

1.6.3. Transdermal Yamalar Üzerinde Yapılan İncelemeler

1.6.3.1. In Vitro-Ex Vivo Çıkış Testleri

In vitro yöntemler, zarlı ve zarsız yöntemler olarak ikiye ayrılarak incelenebilir. Zarsız yöntemler agar jeli, kromatografik yöntem, hücreden zarsız difüzyon gibi formülasyondaki etkin maddenin doğrudan reseptör faz olarak seçilen ortama difüzyonunun ölçüldüğü yöntemlerdir. Zarlı yöntemlerde ise preparatı taşıyan donör faz ve etkin maddenin difüze olacağı reseptör faz arasında bir zar bulunmaktadır. En sık kullanılan Franz difüzyon hücresi yöntemidir (Yüksel, 1992).

Franz difüzyon hücreleri farklı hücre tasarımlarında olabilmektedir. Sıklıkla statik difüzyon hücreleri kullanılmaktadır. Hücre tasarımı tek odalı ya da iki odalı olabilmektedir. Bunlardan iki odalı olan modellerin deriden difüzyon mekanizmalarını incelemede uygun olduğu bildirilmiştir. Perkütan absorpsiyonun *in vitro* tayininde kullanılan difüzyon hücrelerinin iki fazın da manyetik karıştırıldığı, iki odacıklı veya tek odacıklı statik hücre şeklinde olabileceğini bildirmiştir (Bronaugh ve Stewart, 1985).

Franz difüzyon hücreleri genel olarak 3 bileşenden oluşur,

- Donör hücre,
- Hücreleri ayıran yarı geçirgen membran
- Reseptör hücre

Franz hücresi ile çalışılırken, kullanılan membranın, reseptör ortamı seçiminin, reseptör fazla yeterli karıştırmanın sağlanmasının ve fizyolojik sıcaklığın sağlanmış olmasının önemi vardır (Bronaugh ve Stewart, 1985). Sentetik membranlar

formülasyondan etkin madde salımını izlemede minimum varyasyon ile tekrar edilebilir veri sağlaması nedeniyle tercih edilmektedir (Farinha ve ark., 2003).

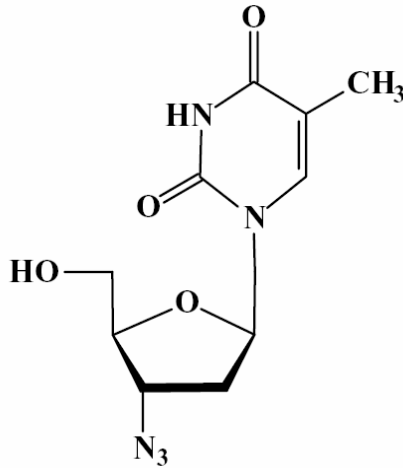
1.6.3.2. Diğer Testler

Avrupa Farmakopesi'ne (2002) göre, transdermal yamalar üzerinde dissolüsyonla beraber etkin madde içerik tekdüzeliği de incelenmelidir. İçerik tekdüzeliği testi, tek dozluk preparatlar için verilen test ile aynı şekilde yapılır. Farmakope dissolüsyon metodu olarak, film içerik, şekil ve boyutlarına bağlı olarak; disk metodu, hücre metodu ya da dönen silindir metodunu önermektedir. Membran olarak, inert selüloz, silikon ya da etkin madde çıkış kinetiğini bozmayan materyaller önerilmektedir.

1.7. Etkin Madde (Zidovudin)

1.7.1. Açık Formül

Zidovudin.



Kimyasal Adı (Okunuşu):

1-[(2*R*,4*S*,5*S*)- 4-azido-5-(hidroksimetil) oksolan-2-il]- 5-metil-pirimidin-2,4-dion

3'-azido-2',3'-dideoksitimidin

(Clercq, 2001; Clercq, 2004)

1.7.2. Kapalı Formül

$C_{10}H_{13}N_5O_4$

1.7.3. Fizikokimyasal Özellikleri

Zidovudin, beyaz ve kokusuz bir tozudur. Molekül ağırlığı; 267,2'dir (FDA, 2002; Martindale 34th, 2005).

Zidovudin, suda iyi, dehidrate alkolde çok iyi çözünür. Polimorfizm gösterir ve ışıktan korunması gereklidir (FDA, 2002; Martindale 34th, 2005).

1.7.4. Farmakolojik Özellikler

Zidovudin, sentetik bir nükleozit analogudur. Zidovudin vücutta timidin kinaz ve diğer kinazlar tarafından fosforilasyona uğrayarak 5'-trifosfatı haline dönüştürülür. Zidovudinin trifosfat hali HIV virüsünün de içinde yer aldığı retrovirüslerin DNA sentezlerini durdurur. Difosfat gruplarının uzaklaştırılmasından sonra zidovudinin monofosfat hali viral DNA zincirinin 3'- sonu ile birleşir. Bu etki ile retrovirüslerin DNA sentezleri durdurulmuş olur. Zidovudinin viral DNA sentezini durdurucu etkisi ters transkriptaz enzimi ile yarışarak viral DNA ile birleşmesinden ileri gelmektedir. Yapılan in vitro çalışmalar sonucunda zidovudinin benzer etkiyi Epstein-Barr ve gram negatif bakteriler üzerinde de gösterdiği belirtilmektedir (Clercq, 2001; Clercq, 2004, Martindale 34th, 2005).

Zidovudin tedavisi sırasında zidovudine rezistans türler hızlı bir şekilde (16 hafta) ortaya çıkmaktadır (FDA, 2002). Bu nedenle uzun süreli tedaviler sırasında yarar zarar ilişkisini göz önünde bulundurmak gereklidir. Herhangi bir ters transkriptaz inhibitörüne karşı gelişen direnç durumlarında çapraz direnç oluşumu da bildirilmektedir (Martindale 34th, 2005).

1.7.5. Farmakokinetik Özellikler

Zidovudin gastrointestinal sistem (GIS) tarafından hızla absorbe olur ve karaciğerde ilk geçiş eliminasyonuna uğrar. Bu nedenle oral biyoyararlanımı % 60 civarındadır. Pik plazma konsantrasyonuna oral alımından 1 saat sonra ulaşır. Yemeklerle beraber alımında absorpsiyonu gecikir fakat oral biyoyararlanımı bu gecikmeden

etkilenmez. Serobrospinal sıvı, kan oranı 0,5'dir ve kan beyin bariyerinden geçer. Zidovudin hamilelerde plasentadan geçer ve anne sütüne karışır. Plazma proteinlerine bağlanma oranı % 38'den daha düşüktür. Plazma yarı ömrü 1 saattir. Zidovudin vücutta antiviral etkinlikteki trifosfatı haline dönüşür ve hızla metabolize edilerek karaciğerde inaktif metaboliti olan glukuronitleri haline döner. Zidovudin idrarla değişmeden veya metabolitleri halinde vücuttan atılır (Martindale 34th, 2005).

Çizelge 1.2. Zidovudinin farmakokinetik özelliklerine ait tablo.

Parametre	Zidovudin
Oral biyoyararlanım (%)	64 ± 10
Dağılıma hacmi (L/kg)	1,6 ± 0,6
Plazma proteinlerine bağlanma oranı (%)	< 38
Serobrospinal sıvı:plazma oranı	0,6 (0,04 – 2,62)
Sistemik klirens (L/saat/kg)	1,6 ± 0,6
Renal klirens (L/saat/kg)	0,34 ± 0,05
Eliminasyon yarı ömrü (saat)	0,5 – 3

FDA, 2002

1.7.6. Etkin Maddenin Farklı İndekslerde Kayıtlı Olan Piyasa Preparatları

Zidovudinin farklı ilaç indekslerinde kayıtlı olan piyasa preparatları aşağıdaki tabloda (Çizelge 1.3.) verilmiştir.

Çizelge 1.3. Zidovudinin Farklı İlaç İndekslerinde Kayıtlı Olan Piyasa Preparatlarına Örnekler.

Preparat	İlaç Şekli	Doz	Firma
Combivir	Tablet	300 mg	^a Glaxosmithkline
Retrovir	IV enfüzyon	200 mg/20 ml	^b Glaxosmithkline
Retrovir	Kapsül	100 mg; 250 mg	^b Glaxosmithkline
Retrovir	Şurup	50 mg/5 ml	^b Glaxosmithkline
Retrovir	Tablet	300 mg	^b Glaxosmithkline

a : PDR 2005.

B : Vademecum 2006.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereçler

2.1.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler:

Aseton	Merck
Dibutil sebasat	Sigma
Dimetil sülfoksit	Sigma
Etanol	Merck
Etil selüloz	BDH
Eudragit E 100	Röhm Pharma
Eudragit NE 40D	Röhm Pharma
Eudragit RL 100	Röhm Pharma
Eudragit RS 100	Röhm Pharma
HEPES	Fluka
İzopropil alkol	Merck
Sodyum klorür	Merck
Ketamin hidroklorür (Ketalar® 10 ml flakon)	Pfizer
Kloroform	Merck
Metanol	Merck
Potasyum bromür	Merck
Sodyum hidroksit	Merck
Triasetin	Sigma
Trietil sitrat	Sigma
Zidovudin	Cipla

2.1.2. Deneylerde Kullanılan Aletler:

Hassas Terazi	: Sartorius
Manyetik Karıştırıcı	: WiseStir
UV Spektrofotometre	: Shimadzu 1604
Sabit akım kaynağı ve Ag/AgCl elektrot	: Tarafımızdan yaptırılmıştır.
Modifiye Franz Difüzyon Hücresi	: İldam
Termostatlı Su Banyosu	: Haake
Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi	: Agilent
Kolon	: C18 Luna
Kuvarz küvet	: Hellma
Kuvarz mikroküvet	: Mes
pH-metre	: Meter-Lab PHM 201
IR Spektrofotometre	: Jasco FT/IR 420
İklim Dolabı	: Nüve ID 501
DSC	: DSC-60 Shimadzu
Ultrasonik banyo	: LC 60H, Lab-Line
Derin dondurucu -20°C	: General Electric
Selüloz asetat membran (0,22µm)	: Sartorius
Plastik enjektör	: Ayset
Katater iğnesi	: İlar
Mikrometre	: NSK
Milli-Q Plus Water (Su arıtma cihazı)	: Millipore
Aluminyum folyo+ PE sırt materyali	: BAK ambalaj
Çelik disk	: Tarafımızdan yaptırılmıştır.
Hesap Makinası	: Casio fx-3800P
Grafik Programı	: GraphPad InStat 3
İstatistik Programı	: GraphPad InStat 3
	: Microsoft Excel

2.2. Yöntemler

2.2.1 Etkin Maddenin Özelliklerinin Belirlenmesi

2.2.1.1. Etkin Maddenin Infrared Spektrumunun Belirlenmesi

Etkin maddenin çok saf ve kuru potasyum bromür ile hazırlanmış (1:10) disklerinin 4000-400 cm^{-1} dalga boyları arasında spektrumları alınmıştır.

2.2.1.2. Etkin Maddenin DSC Analizi

Saf haldeki etkin maddenin termal davranışını incelemek için diferansiyel tarama kalorimetresi kullanılmıştır. Yaklaşık 2,0 mg ağırlıkta tartılmış numune kapaklı bir alüminyum pan (kap) içine konulmuştur. 25-600 °C sıcaklık aralığında, 10 °C/dak hızda, azot ortamında termogramı alınmıştır.

2.2.1.3. Etkin Maddenin UV Spektrumlarının Belirlenmesi

1. Etkin Maddenin pH 7,4 HEPES Tamponu ile UV Spektrumlarının Belirlenmesi

Etkin maddenin pH 7,4 HEPES tamponu (BP 1999) ile hazırlanmış, belirli konsantrasyonlarda berrak çözeltilerinin 200-400 nm arasında UV spektrumları alınarak 267 nm değeri λ_{max} olarak belirlenmiştir.

2. Etkin Maddenin Etanol ile UV Spektrumlarının Belirlenmesi

Etkin maddenin etanol ile hazırlanmış, belirli konsantrasyondaki berrak çözeltilerinin 200-400 nm arasında UV spektrumları alınarak 265 nm değeri λ_{max} olarak belirlenmiştir.

2.2.1.4 Etkin Maddenin UV Spektrofotometrik Yöntem Kullanılarak Kalibrasyon Doğrularının Hazırlanması

1. Etkin Maddenin pH 7,4 HEPES Tamponu ile UV Spektrofotometrik Kalibrasyonu

Etkin maddenin pH 7,4 HEPES tamponu'nda 0,2 mg/ml konsantrasyonunda stok çözeltileri hazırlanarak bundan uygun seyreltmelerle farklı konsantrasyonlarda (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 µg/ml) çözeltiler elde edilmiş ve bu çözeltilerin absorbansları 267nm'de okunmuştur. Konsantrasyon ve absorbans değerleri InStat 3.0 adlı paket program ile değerlendirilip standart doğru denklemleri hesaplanmıştır ve kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Bu doğru denklemlerinden daha sonra UV spektrofotometre kullanılan tüm analizlerde etkin maddenin pH 7,4 HEPES tamponu'ndaki miktarının hesaplanmasında yararlanılmıştır.

2. Etkin Maddenin Etanol ile UV Spektrofotometrik Kalibrasyonu

Etkin maddenin miktar tayininde kullanılmak üzere etanol içinde 0,2 mg/ml konsantrasyonunda stok çözeltileri hazırlanarak bundan uygun seyreltmelerle farklı konsantrasyonlarda (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 µg/ml) çözeltiler elde edilmiş ve bu çözeltilerin absorbansları 265nm'de okunmuştur. Konsantrasyon ve absorbans değerleri InStat 3.0 adlı paket program ile değerlendirilip standart doğru denklemleri hesaplanmıştır ve kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Bu doğru denkleminde daha sonra formülasyonların içerdiği etkin maddenin etanol içindeki miktar tayininde yararlanılmıştır.

2.2.1.5. Etkin Maddenin UV Spektrofotometrik Yöntem Kullanılarak Kalibrasyonunun Analitik Validasyonu

ICH guideline Q2(R1) ve USP 24' de anlatıldığı şekilde, bir etkin maddenin analitik yöntemlerle analizlerinde çeşitli validasyon parametrelerinin incelenmesi gerekmektedir. Bunlar doğruluk ve aralığı, doğruluk, kesinlik, teşhis ve tayin sınırları, seçicilik ve tutarlılıktır.

2.2.1.5.1. Doğrusallık ve Aralığı

Doğrusallık, numune içindeki etkin madde miktarının elde edilen absorbanlar ile doğrusal ilişkide olup olmadığını ve bu doğrusallığın nerelerde bozulup, bozulmadığını simgelemektedir. Aralık ise, bu doğrusal ilişkinin hangi konsantrasyonlar arasında devam ettiğinin ve hangi aralıklardan sonra bozulduğunun kanıtlanmasıdır (ICH Q2(R1); USP 24).

Bu amaçla etkin maddenin pH 7,4 HEPES tamponu ve alkol içerisinde 0,2 mg/ml konsantrasyonunda stok çözeltileri hazırlanarak, bu stoktan çok düşük ve çok yüksek konsantrasyonları da içeren 8 farklı seyreltme elde edilmiş (1, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 30 µg/ml) ve bu çözeltilerin absorbanları belirlenen λ_{max} değerlerinde okunmuştur. Her bir konsantrasyon ve ona karşı gelen absorban değerleri InStat 3.0 paket programı yardımıyla grafiğe çizilmiş ve grafikte doğrusallıktan sapmanın gerçekleştiği noktalar belirlenmiştir.

2.2.1.5.2. Doğruluk

Doğruluk, deney yoluyla elde edilen değerlerin, gerçek/teorik değerlere yakınlığının saptanmasıdır (ICH Q2(R1), USP 24). Bu hesaplamada % geri elde değerlerinin ortalaması; bu dağılımın standart sapması ve bağıl standart sapması hesaplanarak yöntemin doğruluğu onaylanmış olmaktadır.

Bu amaçla etkin maddenin pH 7,4 HEPES tamponu'nda 0,2 mg/ml konsantrasyonunda stok çözeltisinden 3 farklı konsantrasyonda (4 µg/ml, 8 µg/ml, 16 µg/ml) 3 seri dilüsyon hazırlanmıştır ve absorbanları belirlenen λ_{max} değerlerinde okunmuştur. Okunan absorban değerleri kalibrasyon denkleminde yerine konarak elde edilen konsantrasyonlardan % geri elde değerleri aşağıda verilen denklem ile bulunmuştur:

$$\% \text{ geri elde} = (C_{\text{Pratik}})/(C_{\text{Teorik}}) \cdot 100$$

Denklem 2.1.

C_{Teorik} : 4 µg/ml, 8 µg/ml, 16 µg/ml

C_{Pratik} : Zidovudin'in maksimum absorbands verdiği dalga boyunda okunan değerdir.

Bu hesaplamada % geri elde değerlerinin ortalaması; bu dağılımın standart sapması ve bağıl standart sapması Microsoft Excel 3.0 programı ile hesaplanmıştır.

2.2.1.5.3. Kesinlik

Kesinlik, bir yöntemin birbirini takip eden ölçümleri arasındaki yakınlığın derecesini göstermektedir. Standart sapma veya bağıl standart sapma ile ifade edilir. Kesinlik, normal çalışma koşullarında bir analitik yöntemin tekrarlanabilirlik ve tekrar elde edilebilirlik derecesinin bir ölçüsüdür (ICH Q2(R1), USP 24). Elde edilen konsantrasyon değerlerinin bağıl standart sapma değerlerinin küçük olması, ayrıca tekrar elde edilebilirlik için ortalamaların arasındaki farkın seçilen olasılık seviyesinde anlamlı olmaması gerekmektedir.

Bu amaçla etkin maddenin pH 7,4 HEPES tamponunda 0,2 mg/ml konsantrasyonunda stok çözeltisinden hazırlanan 4 µg/ml, 8 µg/ml ve 16 µg/ml konsantrasyonlardaki 3 seri dilüsyonun absorbandsları aynı analist tarafından farklı zamanlarda okunmuştur. Ayrıca aynı konsantrasyonlarda 3 farklı dilüsyon farklı analist tarafından hazırlanmış ve yine iki farklı zamanda absorbandsları okunmuştur. Sorumlu analist tarafından okunan 3 seri dilüsyonun verilerinden tekrarlanabilirlik; aynı deney ve yöntemin farklı analist tarafından ve farklı zamanlarda tekrar edilmesi ile elde edilen verilerden de tekrar elde edilebilirlik hesaplanmıştır.

Elde edilen konsantrasyon değerlerinin bağıl standart sapma değerlerinin küçük olması, ayrıca tekrar elde edilebilirlik için ortalamaların arasındaki farkın seçilen olasılık seviyesinde anlamlı olmaması gerekmektedir. Bağıl standart sapma değerleri Microsoft Excel 3.0 programı ile hesaplanmıştır, ortalamaların arasındaki fark ise GraphPad InStat 3.0 programı ile çift yönlü t-testi uygulanarak incelenmiştir.

2.2.1.6. Etkin Maddenin HPLC Kullanılarak Kalibrasyon Doğrularının Hazırlanması

Etkin madde Zidovudin'in HPLC yöntemi için belirlenen mobil fazı içerisinde 1mg/ml konsantrasyonunda stok çözeltisi hazırlanmıştır ve bu stoktan uygun seyreltmelerle farklı konsantrasyonda çözeltiler elde edilmiştir. Hazırlanan çözeltiler Çizelge 2.1. de verilen şartlar altında HPLC yöntemi ile analiz edilmiştir.

Çizelge 2.1. Zidovudin'in HPLC ile analizinde kullanılan çalışma koşulları.

Cihaz	Agilent 1100 Series G1379A Degasser, G1311A Quat Pump, G1313A ALS, G1316A COLCOM
Mobil faz	Asetonitril:Metanol:Su (10/70/20, h/h/h) ^(a)
Akış hızı	0,45 ml/dk
Kolon	Luna C18 kolon, 5µm, 150 x 4.6 mm
Dedektör	DAD dedektör, G1315B
Dalga boyu	λ: 265nm ^(a)
Sıcaklık	37°C ^(b)
Enjeksiyon hacmi ^(c)	20 µl
Alıkonma zamanı (retention time)	t _{zidovudin} : 3,8 dk

^(a) Uslu ve Özkan, 2002

^(b) Narishetty ve Panchangnula, 2004

^(c) Her bir numune için enjeksiyonlar üç kere tekrarlanmıştır.

2.2.1.7. Etkin Maddenin HPLC Kullanılarak Kalibrasyonunun Analitik Validasyonu

2.2.1.7.1. Doğrusallık ve Aralığı

Bu amaçla etkin maddenin HPLC mobil fazı içinde 1 mg/ml konsantrasyonunda stok çözeltileri hazırlanarak, bu stoktan çok düşük ve çok yüksek konsantrasyonları da içeren 6 farklı seyreltme elde edilmiş ve bu çözeltilerin alanları belirlenen λ değerlerinde okunmuştur. Her bir konsantrasyon ve ona karşı gelen piklerin alan

değerleri Instat 3.0 paket program ile grafiğe çizilerek grafikte doğrusalıktan sapmanın gerçekleştiği noktalar belirlenmiştir.

2.2.1.7.2. Doğruluk

Bu amaçla etkin maddenin HPLC mobil fazı içerisinde 1 mg/ml konsantrasyonunda stok çözeltisinden 3 farklı konsantrasyonda 3 seri dilüsyon (0,4 µg/ml, 5,0 µg/ml, 40 µg/ml) hazırlanarak önceden belirlenen λ değerlerinde alanları okunmuştur. Okunan piklerin alan değerleri kalibrasyon denkleminde yerine konarak elde edilen konsantrasyonlardan % geri elde değerleri aşağıda verilen denklem ile hesaplanmıştır:

$$\% \text{ geri elde} = (C_{\text{Pratik}})/(C_{\text{Teorik}}) \cdot 100 \quad \text{Denklem 2.2.}$$

C_{Teorik} : 0,4 µg/ml; 5,0 µg/ml; 40 µg/ml

C_{Pratik} : HPLC ile okunan piklerin alan değerinden hareketle bulunur.

Bu hesaplamada % geri elde değerlerinin ortalaması; bu dağılımın standart sapması ve bağıl standart sapması Microsoft Excel 3.0 ile hesaplanarak yöntemin doğruluğu onaylanmış olmaktadır.

2.2.1.7.3. Kesinlik

Tekrar elde edilebilirlik:

Bu amaçla etkin maddenin HPLC mobil fazı içerisindeki 1mg/ml konsantrasyonunda stok çözeltisinden 2 farklı analist tarafından hazırlanan, 3 farklı konsantrasyondaki 3 seri dilüsyondan (0,4 µg/ml, 5,0 µg/ml, 40 µg/ml) elde edilen piklerin alanları HPLC yardımıyla birer kez okunduktan sonra kalibrasyon denkleminde yerine konarak bulunan konsantrasyonların ortalama, standart sapma ve bağıl sapma değerleri hesaplanmıştır.

Tekrarlanabilirlik:

Bu amaçla etkin maddenin HPLC mobil fazı içerisindeki 1 mg/ml konsantrasyonunda stok çözeltisinden hazırlanan 3 farklı konsantrasyondaki 3 seri dilüsyonun (0,4 µg/ml, 5,0 µg/ml, 40 µg/ml) pik alanları HPLC yardımıyla 2 farklı günde birer kez okunduktan sonra kalibrasyon denkleminde yerine konarak bulunan konsantrasyonların ortalama, standart sapma ve bağıl sapma değerleri hesaplanmıştır.

Elde edilen konsantrasyon değerlerinin bağıl standart sapma değerlerinin küçük olması, ayrıca tekrar elde edilebilirlik için ortalamaların arasındaki farkın seçilen olasılık seviyesinde anlamlı olmaması gerekmektedir. Bağıl standart sapma değerleri Microsoft Excel 3.0 programı ile hesaplanmıştır, ortalamaların arasındaki fark ise GraphPad InStat 3.0 programı ile çift yönlü t-testi uygulanarak incelenmiştir.

2.2.1.7.4. Teşhis ve Tayin Sınırları

HPLC’de, analiz sırasında, gürültü (noise) seviyesinin 10 katı büyüklüğünde pik alanı veren konsantrasyon değeri tayin sınırı (Limit of Quantitation: LOQ), 3 katı büyüklüğünde pik alanı veren konsantrasyon değeri ise teşhis sınırı (Limit of Detection: LOD) olarak belirlenmiştir.

2.2.2. Polimerlerin Özelliklerini Belirlemeye Yönelik Çalışmalar

2.2.2.1. Polimerlerin IR Spektrumlarının Belirlenmesi

Polimerlerin çok saf ve kuru potasyum bromür ile hazırlanmış (1:10) disklerinin 4000-400 cm⁻¹ dalga boyları arasında spektrumları alınmıştır.

Polimerler ile etkin madde arasındaki etkileşimleri incelemek amacıyla etkin madde: polimer (1:1) fiziksel karışımlarının 4000-400 cm⁻¹ dalga boyları IR spektrumları alınmıştır.

2.2.2.2. Polimerlerin DSC Analizi

Saf haldeki polimerlerin ve ex vivo çalışmalar için seçilen filmlerin termal davranışını incelemek için diferansiyel tarama kalorimetresi kullanılmıştır. 2-3 mg ağırlıkta tartılmış numuneler cihazın içine kapaklı bir alüminyum kap ile konulmuştur. 25-600 ° C sıcaklık aralığında, 10 ° C/dak. hızda, azot ortamında termogramı alınmıştır.

2.2.2.3. Polimerlerin Etanol İçinde UV Spektrumlarının Belirlenmesi

Polimerlerin etanol içinde hazırlanmış, belirli konsantrasyondaki berrak çözeltilerinin 200-400 nm arasında UV spektrumları alınmıştır, λ_{max} değerleri belirlenmiştir ve etanol içinde maksimum absorpsiyon gösterdiği dalga boyunda etkin madde ile girişim yapıp yapmadığı incelenmiştir.

2.2.3. Matris Formülleri Üzerinde Yapılan alışmalar:

2.2.3.1. Matris Formüllerinin Hazırlanması:

Matris formülasyonları tarafımızdan yaptırılmış olan her biri 3,6 cm çapında, 10,18 cm² yüzey alanına sahip 3 adet paslanmaz elik disk içinde hazırlanmıştır. Cam plaka üzerine çift taraflı bant yardımıyla 5 cm² yüzey alanına sahip alüminyum materyaller yerleştirilmiş ve paslanmaz elik diskler yine çift taraflı bant yardımıyla bu alüminyum materyalin üzerine oturtulmuştur. Hazırlanan düzenek çalışılan banko üzerinde su düzeci yardımıyla yatay pozisyonda düzlemsel hale getirilmiştir.

Standart 50 ml'lik beherlere hesaplanan miktarlarda polimerler ya da polimer karışımları (Eudragit E 100, RL 100, RS 100, etil selüloz), plastizer (triasetin, dibutil sebasat), por oluşturucu (adipik asit, süksinik asit) tartılmış ve son olarak karışımın üzerine 10 ml aseton:metanol (80:20, h/h) ilave edilerek magnetik karıştırıcı ile (500 rpm'de, 1 saat) karıştırılmıştır (WiseStir, Japonya). Daha sonra bu çözeltinin 3 ml'si 5 ml'lik enjektörler yardımıyla disklerin içine damlatılarak konulmuştur. Diskin

içerisindeki çözeltilerin çözücüleri 24 saat süre ile oda şartlarında bekletilerek uçurulduktan sonra, elde edilen filmler iklim dolabına kaldırılmıştır.

Yukarıda hazırlanışı anlatılan filmlerin içerdiği polimer miktarları teorik olarak 300 µm kalınlıkta olacak şekilde hesaplanmıştır. Röhm Pharma teknik literatürlerinde açıklandığı üzere, 10-100 g/m² kuru polimer ağırlığından hareketle 10-100 µm kalınlıkta filmler elde edilebilmektedir. Çalışmamızda aynı şekilde 300 g/m² kuru polimer ağırlığından yola çıkılmıştır ve formüllere hesaplanan polimer ağırlığı üzerinden % 25 a/a plastizer, % 10 a/a por oluşturucu ve % 2,5 a/a zidovudin ilave edilmiştir. Ex vivo çalışmalarda ise çalışma için seçilen filmlere konulan etkin madde miktarı % 5 a/a olarak değiştirilmiştir. Elde edilen filmlerin içerikleri Bölüm 3.3.1. de Çizelge 3.24 de verilmiştir.

2.2.3.2. Etkin Madde İçeren Filmlerin Ortalama Kalınlıkları

Filmlerin kalınlıklarını ölçmek için, her bir diskten 3 farklı noktadan 1,3 cm çapında 3 adet disk mantar delici yardımıyla kesilmiş ve bir mikrometre yardımıyla kalınlıkları okunmuştur. Bulunan kalınlıkların ortalama, standart sapma ve bağıl sapma değerleri Microsoft Excel 3.0 programı ile hesaplanmıştır.

2.2.3.3. Filmlerden Etkin Madde Miktar Tayini

Hazırlanan filmlerin etkin madde içeriklerinin tayininde hem polimerlerin ve hem de etkin maddenin içinde iyi çözüldüğü bir çözücü olan etanol kullanılmıştır. Hazırlanan filmlerden mantar delici yardımıyla kesilen 1,3 cm çaplı (1,32 cm²) diskler magnetik karıştırıcıda, 500 rpm hızda 1 saat karıştırılarak etanol içinde çözüldükten sonra balon jode hacmi % 2,5 a/a etkin madde içeren formüller için 50 ml'ye, % 5,0 a/a etkin madde içeren formüller için 100 ml'ye tamamlanarak absorbansı 265 nm'de okunmuş, kalibrasyon denklemi yardımıyla filmdeki etkin madde miktarı tayin edilmiştir(n=3). Bulunan konsantrasyonların ortalama, standart sapma ve bağıl sapma değerleri Microsoft Excel 3.0 programı ile hesaplanmıştır.

2.2.3.4. İşlem Etkinliği Tayini

Etkin madde miktar tayininden yola çıkılarak aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

İşlem etkinliği (%): $[\text{Pratik miktar } (\mu\text{g})/\text{Teorik miktar } (\mu\text{g})].100$ Denklem 2.3.

Pratik miktar: 1,32 cm²'lik disk içinde miktar tayini ile bulunan etkin madde miktarının tüm diske oranlanmasıyla elde edilen değer (μg)

Teorik miktar: Başlangıçta tartılan etkin madde miktarından hareketle miktar tayini yapılan diskte bulunması gereken etkin madde miktarı (μg)

2.2.3.5. Filmlerden İn Vitro Etkin Madde Salımı

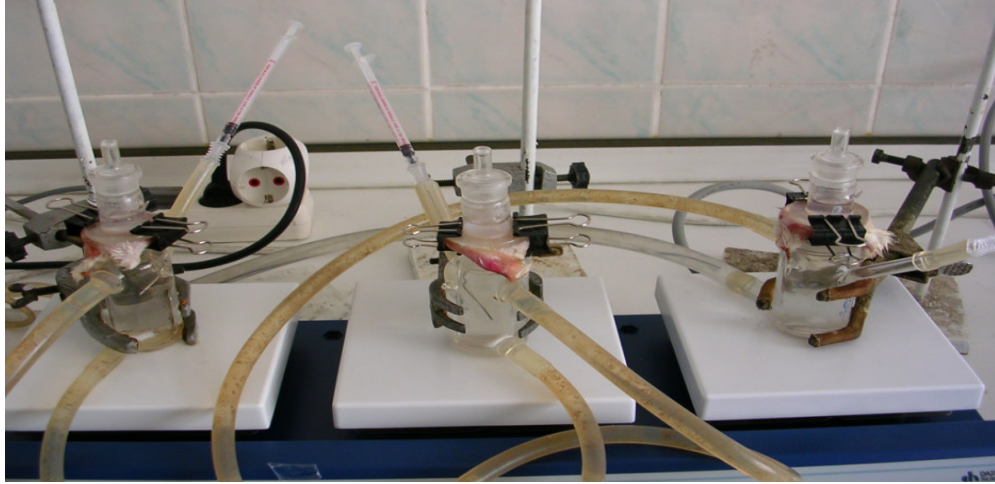
2.2.3.5.1. Filmlerden İn Vitro Etkin Madde Salımı Tayininde Kullanılan Ortam

Filmlerden in vitro etkin madde salımı için ortam olarak HEPES (4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetansülfonik asit) tamponu kullanılmıştır. Bunun için 2,38 g HEPES yeterli miktar distile suda çözüldükten sonra % 20 a/h NaOH çözeltisi ile pH 7,4'e ayarlanmış ve yine distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak tampon elde edilmiştir (BP 1999).

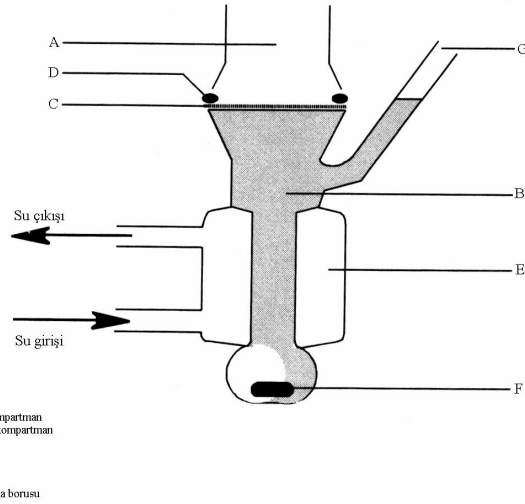
2.2.3.5.2. Filmlerden İn Vitro Etkin Madde Salımı Tayininde

Kullanılan Difüzyon Hücresi ve Test Yöntemi

Bu amaçla Franz difüzyon hücresi kullanılmıştır. Bu hücrenin iç odacığı 20 ml reseptör faz hacmine sahip olup yüzey alanı 2,23 cm²'dir. Hücrenin şematik yapısı Şekil 2.1.a. ve Şekil 2.1.b. ile gösterilmiştir .



Şekil 2.1.a. In vitro ve Ex vivo çalışmalarda kullanılan Franz difüzyon hücreleri.



Şekil 2.1.b In vitro ve Ex vivo çalışmalarda kullanılan Franz difüzyon hücresinin şematik görünüşü (Bosman ve ark., 1996).

İn vitro salım deneylerinde reseptör faz olarak HEPES tamponu ve membran olarak 0,22µm por çapına sahip selüloz asetat membran kullanılmıştır. İn vitro salım deneylerinde kullanılan membranlar kullanılmadan önce reseptör fazla bir saatlik hidrasyon işleminden geçirilmiştir. Selüloz asetat membran, filmden çıkış üzerine iyontoforezin etkisi incelendiğinde çıkış hızı üzerine olumsuz etki göstermemesi ve formülasyondan etkin madde salımını izlemede minimum varyasyon ile tekrar edilebilir veri sağlaması nedeniyle tercih edilmektedir (Demou ve ark, 1994; Stamatalis ve ark, 2002, Farinha ve ark., 2003).

Ex vivo salım deneylerinde reseptör faz olarak HEPES tamponu ve membran olarak 5 cm²'lik yüzey alanına sahip, kılsız Wistar rat sırt derisi kullanılmıştır. Deriler hayvanlar anestezi altında iken traş bıçağı yardımıyla kıllarından arındırılmıştır. Tüy dökücülerin deride birikim yaparak etkin madde geçişini engellememesi için bu yöntem tercih edilmemiştir. Wistar rat derileri kullanılmadan önce reseptör fazla bir saatlik hidrasyon işleminden geçirilmiştir. Derilerin Franz difüzyon hücrelerinin iki odası arasına yerleştirilmelerinden sonra reseptör faz HEPES tamponu ile dolu iken 2 saat süreyle dermal deri bölgesinin tamponla teması sağlanmış ve oluşan hava kabarcıkları bertaraf edilmiştir (Narishetty ve Panchagnula, 2004; Thomas ve Panchagnula, 2003; Seki ve ark., 1990). Ex vivo deneyler 24 saat süre ile uygulanmıştır.

In vitro ve ex vivo çalışmalar sırasında reseptör faz, etrafını çevreleyen su ceketine thermostatl ve sirkülasyon pompalı su banyosundan (Haake) gelen 37° C'lik (37±2°C) su ile sabit sıcaklıkta tutulmuştur. Donör faz bölmesi ise su ceketsiz ve ortam sıcaklığındadır.

Hücrenin reseptör fazı içine alacak alt bölümü bir manyetik karıştırıcıya oturtulup, stand vasıtasıyla sabitlenmiştir. Reseptör faz hücresinin iç odacığı pH 7,4 HEPES tamponu ile doldurulup içine magnet yerleştirilerek 500 rpm dönü hızında iç ortam sıcaklığının sabit hale gelmesi için deneylere başlanmadan önce 1 saat süreyle su banyosu çalışır vaziyette bekletilmiştir. Daha sonra bir saat süresince reseptör faz içinde hidrasyona bırakılan selüloz asetat membran veya Wistar rat derisi arada hava kabarcığı kalmayacak şekilde reseptör faz odacığının üstüne yerleştirilmiştir. Reseptör kompartıman üzerine donör kompartıman konulup kaymaya meydan vermemek için yanlarından metal klipsler vasıtasıyla sıkıca tutturulmuştur. Donör faza 2 ml tampon ilave edilmiştir. Çalışma süresince belli zaman aralıklarında reseptör fazdan 1 ml numune alınmış ve yerine aynı miktar taze tampon ilave edilmiştir. Reseptör fazdan alınan numuneler HPLC yöntemi ile analiz edilmeden önce 24 saat süreyle buzdolabında bekletilmiştir (Kim ve Chien, 1996). Ex vivo çalışmalar esnasında reseptör kompartımanda meydana gelebilecek mikrobiyolojik

kontaminsayonların önüne geçebilmek amacıyla reseptör kompartımana eklenen tampon içine % 0.02 a/a konsantrasyonda sodyum azid ilave edilmiştir (Narishetty ve Panchagnula, 2004; Thomas ve Panchagnula, 2003; Seki ve ark., 1990).

2.2.3.6. Ex Vivo Çalışmalar İçin Deney Protokolü:

Çalışmada Ketamin hidroklorür (75 mg/kg, intra peritoneal enjeksiyonu) ile anestezi altına alınmış ve üzerinde farmakolojik deneyleri tamamlanmış (Çalışmanın etik kurul karar no: 103-2693) kontrol grubu Wistar ratlardan artan deri parçaları kullanılmıştır. Ketamin hidroklorür ile anestezi altına alınmış Wistar ratlar kol ve ayaklarından flaster yardımıyla sabitlenmiş, hayvanların sırt bölgeleri traşlanarak tüylerinden kurtarılmıştır. Traşlanan sırt bölgesi cerrahi makas (disseksiyon makası) yardımı ile kesilerek çıkartılmıştır. Tüm sırt derisi 5 cm²'lik parçalar halinde kesilmiştir. Deri üzerindeki yağ tabakasının temizlenmesi amacıyla izopropil alkolle muamele edilmiş ve bu işlem sonunda deri izotonik NaCl çözeltisi ile yıkanarak -20 °C'deki derin dondurucuya kaldırılmıştır (Seki ve ark., 1990).

A) Pasif Difüzyon Çalışmaları

Ratların sırt bölgesinden elde edilen deri örnekleri Franz difüzyon hücrelerinde reseptör ve donör kompartıman arasına gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Dermal kısım reseptör kompartımana bakacak şekilde 2 saat süreyle bekletilerek oluşan hava kabarcıkları bertaraf edilmiştir (Narishetty ve Panchagnula, 2004; Thomas ve Panchagnula, 2003; Seki ve ark., 1990). Çalışmada kullanılacak kesit alanı belli filmler deri üzerine uygun şekilde yerleştirilmiştir. Donör kompartıman yerleştirilerek iç odacığı 2 ml tampon ile doldurulmuştur.

B)Pasif Difüzyon Üzerine Penetrasyon Arttırıcıların Etkisi

i)İyontoforez Uygulaması

Ratların sırt bölgesinden elde edilen deri örnekleri Franz difüzyon hücrelerinde reseptör ve donör kompartıman arasına gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Dermal kısım reseptör kompartımana bakacak şekilde 2 saat süreyle bekletilerek oluşan hava kabarcıkları bertaraf edilmiştir (Narishetty ve Panchagnula, 2004; Thomas ve Panchagnula, 2003; Seki ve ark., 1990). Çalışmada kullanılacak kesit alanı belli filmler deri üzerine uygun şekilde yerleştirilmiştir. Donör kompartıman 2 ml tampon ile doldurulmuştur. Deney süresince uygulanan akım şiddeti $0,1 \text{ mA/cm}^2$ ve $0,5 \text{ mA/cm}^2$ 'dir ve deneyde gümüş plaka elektrotlar kullanılmıştır. İyontoforez uygulama süresi 2 saattir. Deri üzerine yerleştirilen filmlerin hepsi aynı beçten alınmıştır.

ii)DMSO Uygulaması

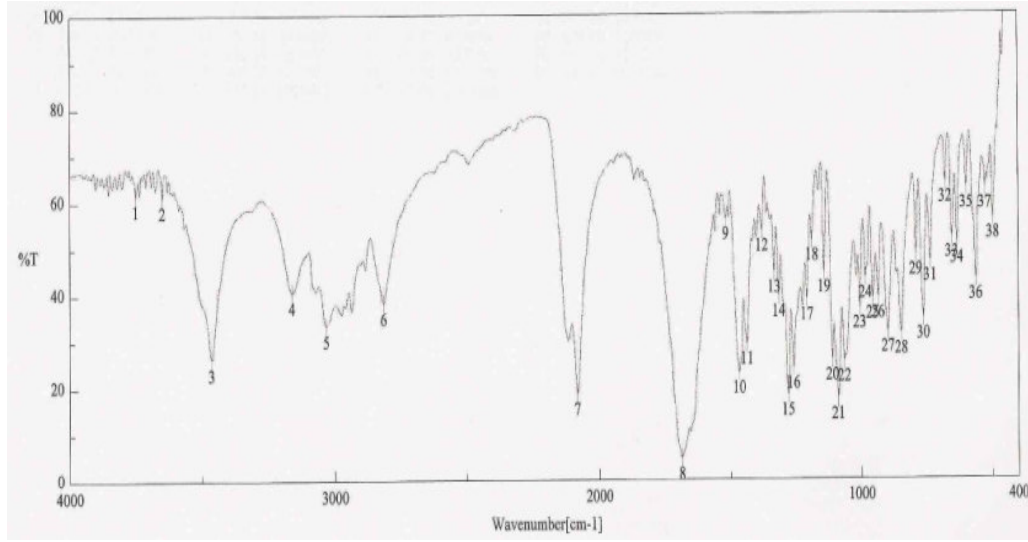
Zidovudinin deriden penetrasyonu üzerinde penetrasyon arttırıcıların etkisini incelemek üzere DMSO donör kompartımanı oluşturan çözeltiliye %1 a/h ve % 5 a/h konsantrasyonlarda eklenmiştir. Sıçanların sırt bölgesinden elde edilen deri örnekleri Franz difüzyon hücrelerinde reseptör ve donör kompartıman arasına dermal kısım reseptör kompartımana bakacak şekilde yerleştirilmiştir. Donör kompartımana 1 ml'lik % 1 veya % 5 a/a DMSO içeren çözeltili ilave edilerek 2 saat süreyle derinin epidermisi ile temasta bırakılmıştır (Lopez ve ark.,2003; Seki ve ark., 1990; Bugay ve ark., 2006). Bekleme süresi sonunda donör kompartımandaki çözeltili geri alınarak, kompartıman HEPES tamponuyla yıkanmıştır. Çalışmada kullanılacak kesit alanı belli filmler deri üzerine uygun şekilde yerleştirildikten sonra donör kompartımana 2 ml tampon ilave edilmiştir. Deri üzerine yerleştirilen filmlerin hepsi aynı beçten alınmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Etkin Maddenin Özelliklerinin Belirlenmesine Yönelik Bulgular

3.1.1. Etkin Maddenin IR Spektrumunun Belirlenmesi

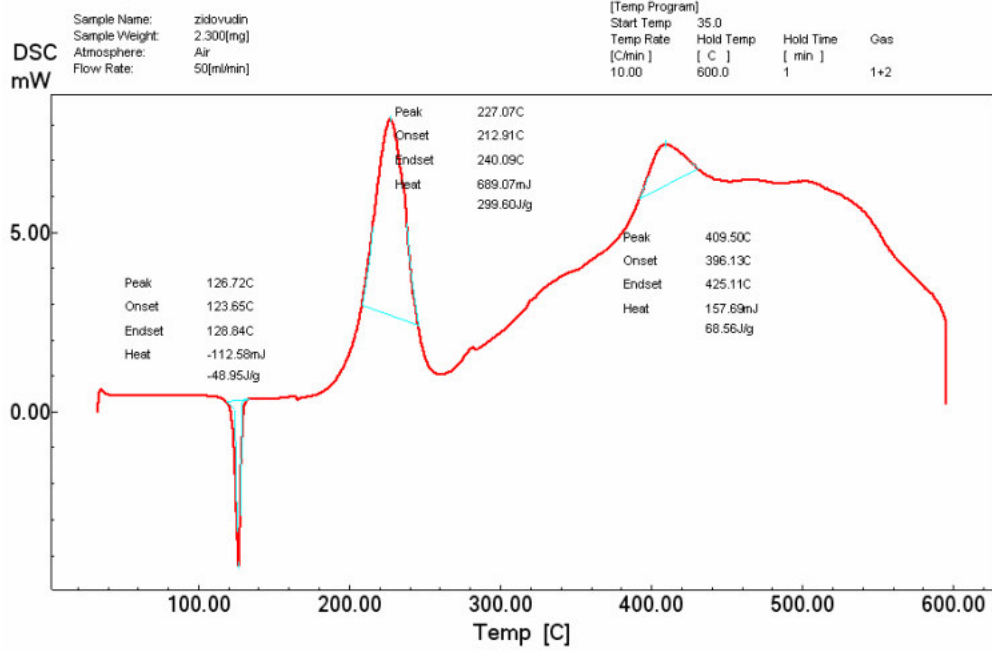
Bölüm 2.2.1.1.'de anlatıldığı gibi hazırlanmış olan saf haldeki etkin maddenin IR spektrumu Şekil 3.1. ile verilmiştir.



Şekil 3.1. Saf haldeki Zidovudinin IR spektrumu.

3.1.2. Etkin Maddenin DSC Analizi

Bölüm 2.2.1.2.'de anlatıldığı gibi yaklaşık 2,0 mg tartılmış saf etkin maddenin DSC termogramı Şekil 3.2. ile verilmiştir.

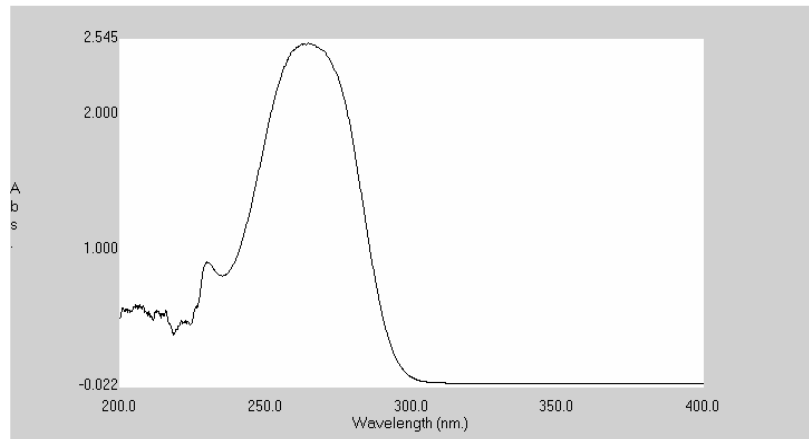


Şekil 3.2. Saf haldeki Zidovudinin DSC termogramı.

3.1.3. Etkin Maddenin UV Spektrumlarının Belirlenmesi

1. Etkin Maddenin pH 7,4 HEPES Tamponu İçinde UV Spektrumu

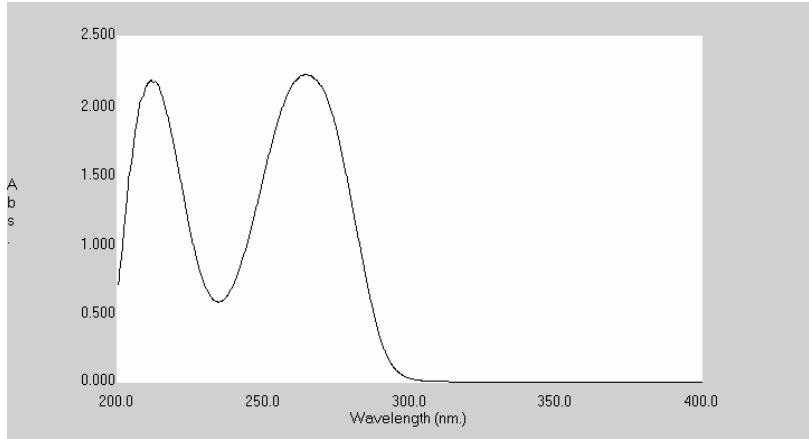
Etkin maddenin bölüm 2.2.1.3.'de belirtildiği şekilde pH 7,4 HEPES tamponu içinde UV spektrumu alınmış ve zidovudinin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyu (λ_{max}) 267 nm olarak belirlenmiştir. Zidovudinin pH 7,4 HEPES tamponu içinde UV spektrumu Şekil 3.3. ile gösterilmiştir.



Şekil 3.3. Zidovudinin HEPES içinde elde edilen UV spektrumu.

2. Etkin Maddenin Etanol İçinde UV Spektrumu

Etkin maddenin bölüm 2.2.1.3.'de belirtildiği şekilde etanol içinde UV spektrumu alınmış ve zidovudinun maksimum absorbans gösterdiği dalga boyu (λ_{\max}) 265 nm olarak belirlenmiştir. Zidoudin'in etanol içinde elde edilen UV spektrumu Şekil 3.4. ile gösterilmiştir.



Şekil 3.4. Zidovudinun etanol içinde elde edilen UV spektrumu.

3.1.4. Etkin Maddenin UV Spektrofotometrik Yöntem Kullanılarak

Kalibrasyon Doğrularının Hazırlanması

1. Etkin Maddenin HEPES Tamponu İçinde Kalibrasyonu

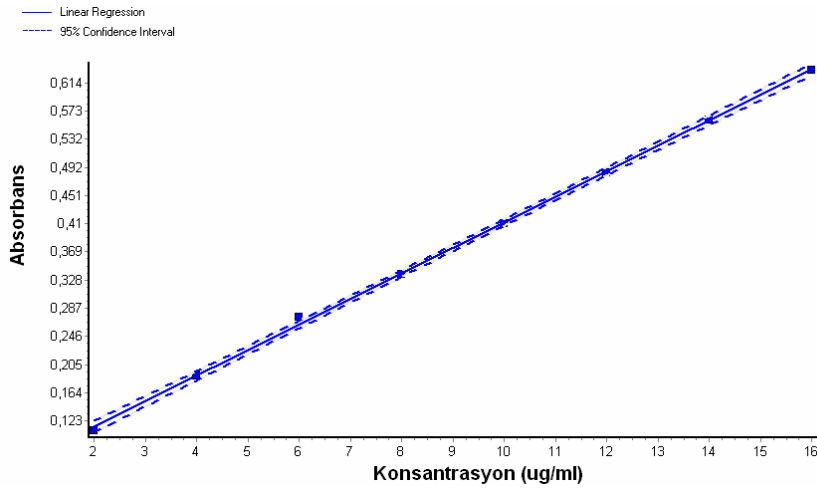
Etkin maddenin bölüm 2.2.1.4.'de anlatıldığı şekilde pH 7,4 HEPES tamponu içinde yapılan ölçümlerden elde edilen kalibrasyon parametreleri Tablo 3.1 ve Şekil 3.2. ile gösterilmiştir.

2. Etkin Maddenin Etanol İçinde Kalibrasyonu

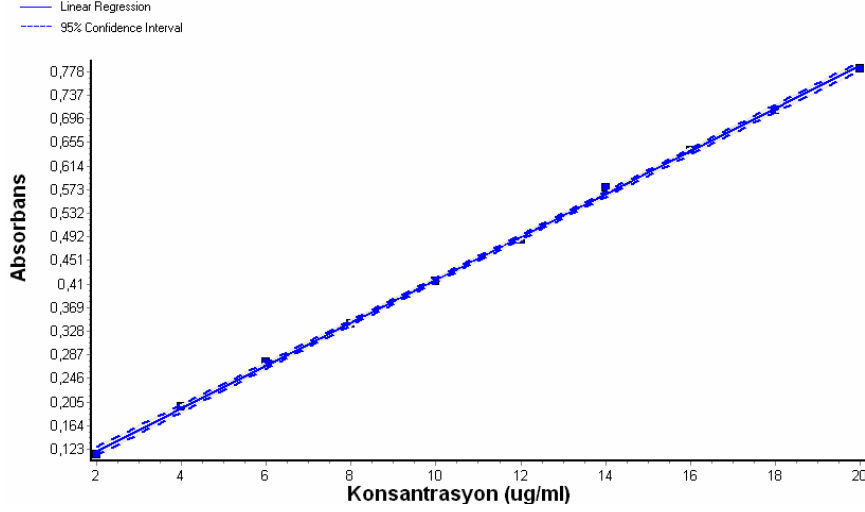
Etkin maddenin bölüm 2.2.1.4.'de anlatıldığı şekilde etanol içinde yapılan ölçümlerden elde edilen kalibrasyon parametreleri Çizelge 3.1 ve Şekil 3.3. ile gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Zidovudinin UV spektrofotometre kullanılarak, pH 7,4 HEPES tamponu ve etanol ortamlarında elde edilen kalibrasyon doğrularına ait parametreler.

	pH 7,4 HEPES	Etanol
Konsantrasyon aralığı (µg/ml)	2-16	2-20
Eğim (m) (% 95 olasılıklı güven sınırları)	0.03714 ± 0.00101	0.03715 ± 0.0007
Standart hata	0.0004128	0.0003046
Kesişim (n) (% 95 olasılıklı güven sınırları)	0.03989 ± 0.0102	0.04520 ± 0.00133
Standart hata	0.004169	0.03781
Korelasyon katsayısı (r)	0.9996	0.9997
Regresyon katsayısı (r ²)	0.9993	0.9995
Regresyon doğrusundan olan sapmaların standart sapması (Sy.x)	0.005350	0.005534
Lineer regresyon kareler toplamı	0.2317	0.4556
Doğrusallıktan sapmaların kareler toplamı	0.0001717	0.0002450
Ortalamanın artık kareler toplamı	0.2319	0.4558



Şekil 3.5. Zidovudinin pH 7,4 HEPES tampon içinde kalibrasyon grafiği.



Şekil 3.6. Zidovudinun alkol içinde kalibrasyon grafiği.

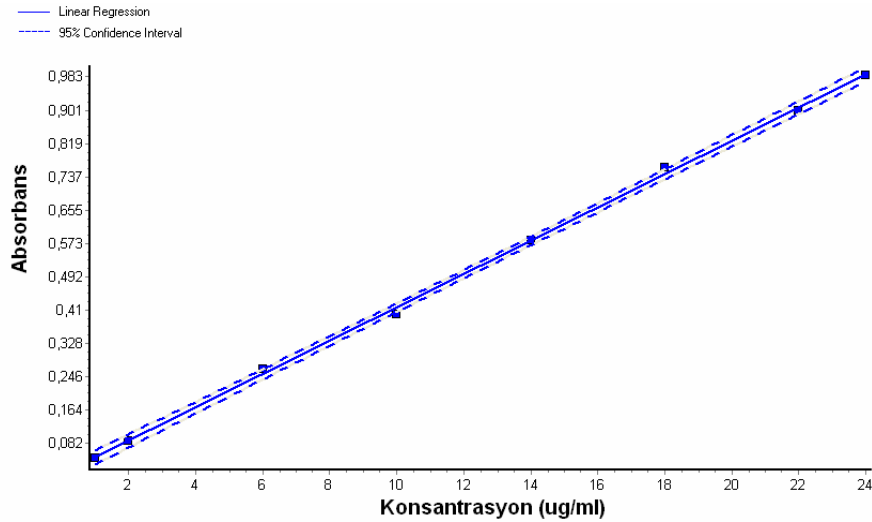
3.1.5. Etkin Maddenin UV Spektrofotometrik Yöntem Kullanılarak Kalibrasyonunun Analitik Validasyonu

3.1.5.1. Doğrusallık ve Aralığı

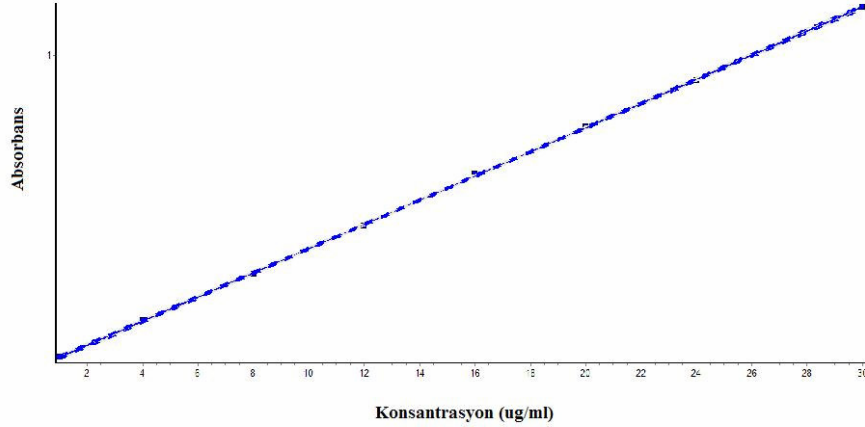
Etkin maddenin bölüm 2.2.1.5.1’de anlatıldığı şekilde pH 7,4 HEPES tamponu ve alkol içinde devamlı okunabileceği minimum ve maksimum konsantrasyonları arasında 8 nokta tespit edilmiştir. Doğrusallık ve aralığına ait deneysel veriler Çizelge 3.2. ve Şekil 3.7. ile gösterilmektedir.

Çizelge 3.2. Zidovudinin pH 7,4 HEPES tamponu ve alkol ortamlarında doğrusallık ve aralığı çalışmasına ait parametreler.

	pH 7,4 HEPES	Etanol
Konsantrasyon aralığı (µg/ml)	1-30	1-30
Eğim (m) (% 95 olasılıklı güven sınırları)	0.04093 ± 0.00124	0.03645 ± 0.00037
Standart hata	0.0005090	0.000151
Kesişim (n) (% 95 olasılıklı güven sınırları)	0.006568 ± 0.018268	0.05255 ± 0.00634
Standart hata	0.007466	0.002590
Korelasyon katsayısı (r)	0.9995	0.9999
Regresyon katsayısı (r ²)	0.9991	0.9999
Regresyon doğrusundan olan sapmaların standart sapması (Sy.x)	0.01188	0.004003
Lineer regresyon kareler toplamı	0.9129	0.9351
Doğrusallıktan sapmaların kareler toplamı	0.0008470	9.613E-05
Ortalamanın artık kareler toplamı	0.9138	0.9352



Şekil 3.7. Zidovudinin pH 7,4 HEPES ortamında doğrusallık ve aralığı çalışmasına ait doğru.



Şekil 3.8. Zidovudinin alkol ortamında doğrusallık ve aralığı çalışmasına ait doğru.

3.1.5.2. Doğruluk

Etkin maddenin bölüm 2.2.1.5.2.'de anlatıldığı şekilde pH 7,4 HEPES tamponu içinde yapılan ölçümlerden elde edilen % geri elde, standart sapma ve bağıl sapma değerleri Çizelge 3.3.- Çizelge 3.5. ile gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. Zidovudinin pH 7,4 HEPES ve etanol ortamlarında doğruluk testine ait veriler (4µg/ml).

[C] Teorik (µg/ml)	HEPES tampon		Etanol	
	[C] Bulunan (µg/ml)	% Geri Elde	[C] Bulunan (µg/ml)	% Geri Elde
4,0	3,72	% 93	4,18	% 104,5
4,0	3,59	% 90	4,05	% 101,3
4,0	3,80	% 95	3,62	% 90,5
(% geri elde) _{ort} :		% 93		% 98,75
SS:		0,087		0,293
BS (%):		2,35		7,4

Çizelge 3.4. Zidovudinin pH 7,4 HEPES ve etanol ortamlarında doğruluk testine ait veriler (8µg/ml).

[C] Teorik (µg/ml)	HEPES tampon		Etanol	
	[C] Bulunan (µg/ml)	% Geri Elde	[C] Bulunan (µg/ml)	% Geri Elde
8,0	7,74	96,8	7,17	% 90,0
8,0	7,71	96,4	7,66	% 95,8
8,0	7,52	94,0	7,69	% 95,0
(% geri elde) _{ort} :		95,7		% 94
SS:		0,097		0,267
BS (%):		1,27		3,4

Çizelge 3.5. Zidovudinin pH 7,4 HEPES ve etanol ortamlarında doğruluk testine ait veriler (16 µg/ml).

[C] Teorik (µg/ml)	HEPES tampon		Etanol	
	[C] Bulunan (µg/ml)	% Geri Elde	[C] Bulunan (µg/ml)	% Geri Elde
16,0	15,88	99,3	15,75	% 98,4
16,0	15,88	99,3	15,56	% 97,3
16,0	16,04	100,3	15,75	% 98,4
(% geri elde) _{ort} :		99,6		% 98
SS:		0,075		0,110
BS (%):		0,47		0,70

3.1.5.3. Kesinlik

Etkin maddenin bölüm 2.2.1.5.3.'de anlatıldığı şekilde pH 7,4 HEPES tamponu ve etanol içinde yapılan ölçümlerden elde edilen tekrarlanabilirlik verileri Çizelge 3.6., Çizelge 3.7. ve Çizelge 3.8.ile, tekrar elde edilebilirlik testlerine ait veriler ise Çizelge 3.9., Çizelge 3.10. ve Çizelge 3.11. ile gösterilmiştir.

Tekrarlanabilirlik:

Çizelge 3.6. Zidovudinin pH 7,4 HEPES Tamponu ve alkol içinde yapılan tekrarlanabilirlik çalışmasına ait sonuçlar (4 µg/ml).

[C] Teorik (µg/ml)	HEPES tampon		Etanol	
	1.Gün (µg/ml)	2.Gün(µg/ml)	1.Gün (µg/ml)	2.Gün(µg/ml)
4,0	3,72	3,72	4,18	3,36
4,0	3,59	3,51	4,05	4,05
4,0	3,80	3,56	3,62	3,62
[C] ort.(µg/ml):	3,70	3,60	3,95	3,79
SS:	0,087	0,11	0,29	0,37
BS (%):	2,35	3,06	7,34	9,76

*p<0,05. 1. gün ve 2. gün bulunan [C] (µg/ml) değerleri arasında önemli derecede fark bulunmamaktadır.

Çizelge 3.7. Zidovudinin pH 7,4 HEPES tamponu ve alkol içinde yapılan tekrarlanabilirlik çalışmasına ait sonuçlar (8 µg/ml).

[C] Teorik (µg/ml)	HEPES tampon		Etanol	
	1.Gün (µg/ml)	2.Gün(µg/ml)	1.Gün (µg/ml)	2.Gün(µg/ml)
8,0	7,74	7,68	7,17	7,23
8,0	7,71	7,85	7,66	7,60
8,0	7,52	7,66	7,69	7,50
[C] ort.(µg/ml):	7,67	7,73	7,48	7,44
SS:	0,097	0,10	0,27	0,19
BS (%):	1,27	1,29	3,61	2,55

*p<0,05. 1. gün ve 2. gün bulunan [C] (µg/ml) değerleri arasında önemli derecede fark bulunmamaktadır.

Çizelge 3.8. Zidovudinin pH 7,4 HEPES Tamponu ve alkol içinde yapılan tekrarlanabilirlik çalışmasına ait sonuçlar (16 µg/ml).

[C] Teorik (µg/ml)	HEPES tampon		Etanol	
	1.Gün (µg/ml)	2.Gün(µg/ml)	1.Gün (µg/ml)	2.Gün(µg/ml)
16,0	15,88	15,88	15,75	15,51
16,0	15,88	15,96	15,56	15,61
16,0	16,04	15,91	15,75	15,61
[C] ort.(µg/ml):	15,93	15,92	15,69	15,58
SS:	0,075	0,04	0,11	0,06
BS (%):	0,47	0,25	0,70	0,39

*p<0,05. 1. gün ve 2. gün bulunan [C] (µg/ml) değerleri arasında önemli derecede fark bulunmamaktadır.

Tekrar Elde Edilebilirlik:

Çizelge 3.9. Zidovudinin pH 7,4 HEPES tamponu içinde yapılan tekrar elde edilebilirlik çalışmasına ait sonuçlar (4 µg/ml).

[C] Teorik (µg/ml)	1. Analist [C] (µg/ml)	2. Analist [C] (µg/ml)
4,0	3,72	3,75
4,0	3,59	3,86
4,0	3,80	3,68
[C] ort.(µg/ml):	3,70	3,76
SS:	0,087	0,091
BS (%):	2,35	2,42

*p<0,05. 1. analist ve 2. analistle bulunan [C] (µg/ml) değerleri arasında önemli derecede fark bulunmamaktadır.

Çizelge 3.10. Zidovudinin pH 7,4 HEPES tamponu içinde yapılan tekrar elde edilebilirlik çalışmasına ait sonuçlar (8 µg/ml).

[C] Teorik (µg/ml)	1. Analist [C] (µg/ml)	2. Analist [C] (µg/ml)
8,0	7,74	7,69
8,0	7,71	7,85
8,0	7,52	7,59
[C] ort.(µg/ml):	7,67	7,71
SS:	0,097	0,131
BS (%):	1,27	1,70

*p<0,05. 1. analist ve 2. analistle bulunan [C] (µg/ml) değerleri arasında önemli derecede fark bulunmamaktadır.

Çizelge 3.11. Zidovudinin pH 7,4 HEPES tamponu içinde yapılan tekrar elde edilebilirlik çalışmasına ait sonuçlar (16 µg/ml).

[C] Teorik (µg/ml)	1. Analist [C] (µg/ml)	2. Analist [C] (µg/ml)
16,0	15,88	15,96
16,0	15,88	15,91
16,0	16,04	15,88
[C] ort.(µg/ml):	15,93	15,92
SS:	0,075	0,040
BS (%):	0,47	0,25

*p<0,05. 1. analist ve 2. analistle bulunan [C] (µg/ml) değerleri arasında önemli derecede fark bulunmamaktadır.

3.1.6. Zidovudinin HPLC Kalibrasyonuna Ait Bulgular

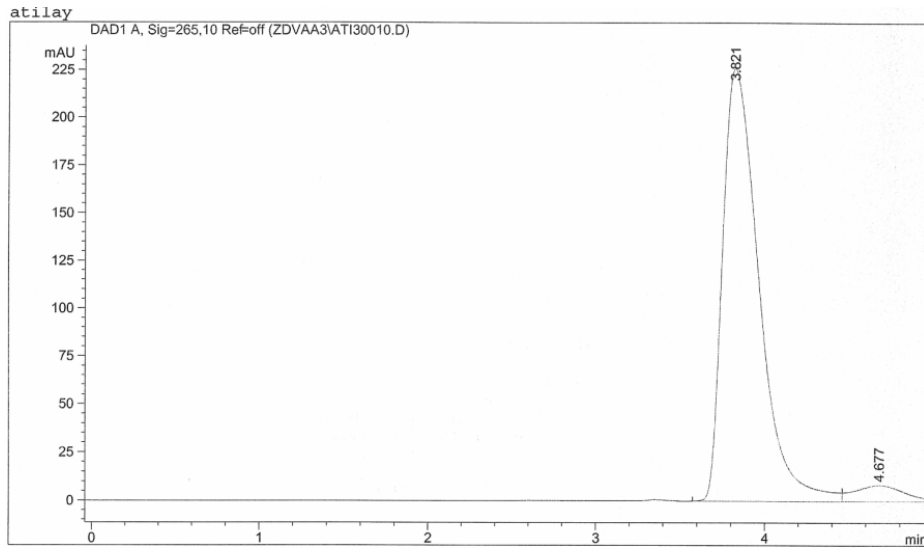
3.1.6.1. Etkin Maddenin HPLC Kullanılarak Kalibrasyon Doğrularının

Hazırlanması

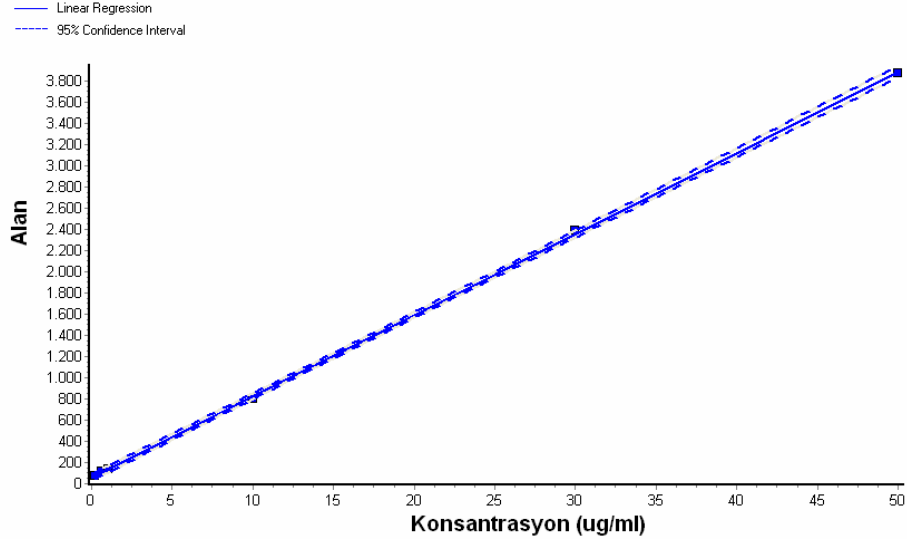
Etkin maddenin bölüm 2.2.1.6.'de anlatıldığı şekilde mobil faz içinde yapılan ölçümlerden elde edilen kalibrasyon parametreleri Çizelge 3.12. ve Şekil 3.10. ile gösterilmiştir.

Çizelge 3.12. Zidovudinin kalibrasyon doğrusuna ait deneysel veriler.

Konsantrasyon aralığı ($\mu\text{g/ml}$)	0,4-40
Eğim (m) (% 95 olasılıklı güven sınırları)	$76,546 \pm 1,385$
Standart hata	0,4991
Kesişim (n) (% 95 olasılıklı güven sınırları)	$60,258 \pm 33,47$
Standart hata	12,057
Korelasyon katsayısı (r)	0,9999
Regresyon katsayısı (r^2)	0,9998
Regresyon doğrusundan olan sapmaların standart sapması ($Sy.x$)	22,855
Lineer regresyon kareler toplamı	$1,228E+07$
Doğrusallıktan sapmaların kareler toplamı	2089,4
Ortalamanın artık kareler toplamı	$1,228E+0,7$



Şekil 3.9. Zidovudinin HPLC piki.



Şekil 3.10. Zidovudin HPLC yöntemine ait kalibrasyon grafiği.

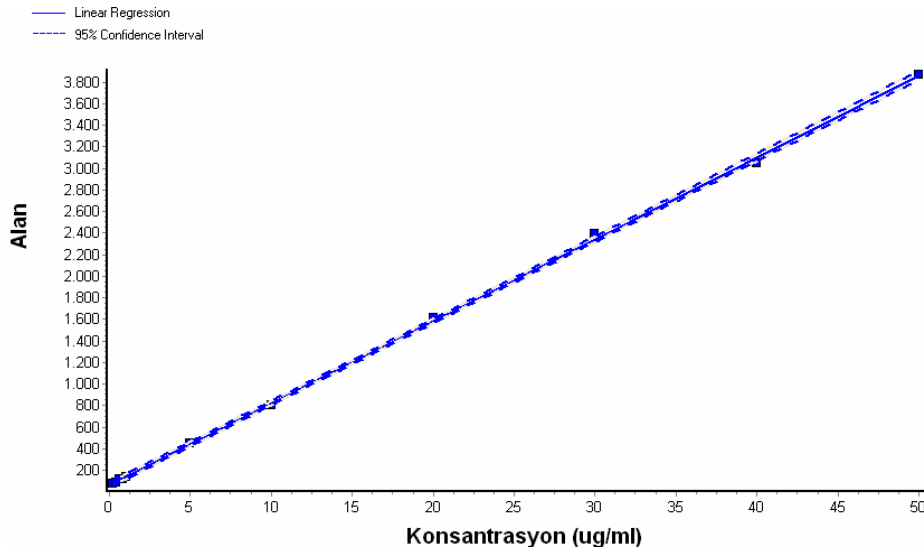
3.1.7. Etkin Maddenin HPLC Kullanılarak Kalibrasyonunun Analitik Validasyonu

3.1.7.1. Doğrusallık ve Aralığı

Etkin maddenin Bölüm 2.2.1.7.1.'de anlatıldığı şekilde içinde devamlı okunabileceği minimum ve maksimum konsantrasyonları arasında 6 nokta tespit edilmiştir. Doğrusallık ve aralığına ait deneysel veriler Çizelge 3.13. ve Şekil 3.11. ile gösterilmektedir.

Çizelge 3.13. Zidovudinin HPLC kullanılarak kalibrasyonun doğrusallık ve aralığı çalışmasına ait parametreler.

Konsantrasyon aralığı (µg/ml)	0,2-50
Eğim (m) (% 95 olasılıklı güven sınırları)	76,034 ± 1,102
Standart hata	0,4869
Kesişim (n) (% 95 olasılıklı güven sınırları)	63,780 ± 24,687
Standart hata	10,914
Korelasyon katsayısı (r)	0,9998
Regresyon katsayısı (r ²)	0,9996
Regresyon doğrusundan olan sapmaların standart sapması (Sy.x)	27,789
Lineer regresyon kareler toplamı	1,883E+07
Doğrusallıktan sapmaların kareler toplamı	6950,3
Ortalamanın artık kareler toplamı	1884E+07



Şekil 3.11. Zidovudinin HPLC kullanılarak kalibrasyonun doğrusallık ve aralığı çalışmasına ait doğru.

3.1.7.2. Doğruluk

Etkin maddenin bölüm 2.2.1.7.2.'de anlatıldığı şekilde mobil faz içinde yapılan ölçümlerden elde edilen % geri elde, standart sapma ve bağıl sapma değerleri Çizelge 3.14. – Çizelge 3.16. ile gösterilmiştir.

Çizelge 3.14. Zidovudinin doğruluk çalışmasına ait veriler (0,4 µg/ml).

[C] Teorik (µg/ml)	[C] Pratik (µg/ml)	% Geri Elde
0,4	0,38	95,0
0,4	0,39	97,5
0,4	0,38	95,0
[C] ort.(µg/ml):		95,8
SS:		1,44
BS (%):		1,503

Çizelge 3.15. Zidovudinin doğruluk çalışmasına ait veriler (5 µg/ml).

[C] Teorik (µg/ml)	[C] Pratik (µg/ml)	% Geri Elde
5,0	4,93	98,6
5,0	4,94	98,8
5,0	4,93	98,6
[C] ort.(µg/ml):		98,7
SS:		0,12
BS (%):		0,122

Çizelge 3.16. Zidovudinin doğruluk çalışmasına ait veriler (40 µg/ml).

[C] Teorik (µg/ml)	[C] Pratik (µg/ml)	% Geri Elde
40,0	38,64	96,6
40,0	38,25	95,6
40,0	38,78	96,9
[C] ort.(µg/ml):		96,4
SS:		0,68
BS (%):		0,705

3.1.7.3. Kesinlik

Tekrarlanabilirlik:

Etkin maddenin Bölüm 2.2.1.7.3.'de anlatıldığı şekilde mobil faz içinde, 0,4µg/ml, 5 µg/ml ve 40 µg/ml konsantrasyonlardaki çözeltilerinden hareketle yapılan ölçümlerden elde edilen tekrarlanabilirlik testlerine ait veriler Çizelge 3.17- Çizelge 3.19. ile gösterilmiştir.

Çizelge 3.17. Zidovudinin tekrarlanabilirlik çalışmasının sonuçları (0,4 µg/ml).

1.Gün		2.Gün	
Alan	[C] (µg/ml)	Alan	[C] (µg/ml)
89,48060	0,38	87,41043	0,35
90,22576	0,39	86,64536	0,34
89,39182	0,38	86,97647	0,35
Ortalama :	0,38	Ortalama :	0,35
SS :	0,006	SS :	0,006
BS (%) :	1,579	BS (%) :	1,714

P> 0,05. 1. ve 2. günde elde edilen değerler arasında anlamlı derecede fark vardır.

Çizelge 3.18. Zidovudinin tekrarlanabilirlik çalışmasının sonuçları (5µg/ml)

1.Gün		2.Gün	
Alan	[C] (µg/ml)	Alan	[C] (µg/ml)
437,58154	4,93	434,27753	4,89
438,34598	4,94	433,26505	4,87
437,26913	4,93	428,59686	4,81
Ortalama :	4,93	Ortalama :	4,86
SS :	0,006	SS :	0,042
BS (%) :	0,122	BS (%) :	0,864

P> 0,05 1. ve 2. günde elde edilen değerler arasında anlamlı derecede fark yoktur.

Çizelge 3.19. Zidovudinin tekrarlanabilirlik çalışmasının sonuçları (40 µg/ml).

1.Gün		2.Gün	
Alan	[C] (µg/ml)	Alan	[C] (µg/ml)
3018,14346	38,64	3012,63089	38,57
2988,34515	38,25	2993,15996	38,32
3028,63428	38,78	2972,58911	38,05
Ortalama :	38,6	Ortalama :	38,3
SS :	0,28	SS :	0,26
BS (%) :	0,725	BS (%) :	0,679

P> 0,05 1. ve 2. günde elde edilen değerler arasında anlamlı derecede fark yoktur.

Tekrar Elde Edilebilirlik:

Etkin maddenin bölüm 2.2.1.7.3.'de anlatıldığı şekilde mobil faz içinde, 0,4µg/ml; 5µg/ml; 40µg/ml konsantrasyondaki zidovudin çözeltisinden hareketle yapılan ölçümlerden elde edilen tekrar elde edilebilirlik testlerine ait veriler Çizelge 3.20-Çizelge 3.22 ile gösterilmiştir.

Çizelge 3.20. Zidovudinin HPLC yöntemi ile kalibrasyonunda tekrar edilebilirlik çalışmasına ait sonuçları (0,4 µg/ml).

Alan	1. Analist [C] (µg/ml)	Alan	2. Analist [C] (µg/ml)
87,41043	0,35	90,74041	0,40
86,54536	0,34	90,11545	0,39
87,07647	0,35	89,34977	0,38
Ortalama :	0,35	Ortalama :	0,39
SS :	0,006	SS :	0,01
BS (%) :	1,71	BS (%) :	2,56

Çizelge 3.21. Zidovudinin HPLC yöntemi ile kalibrasyonunda tekrar edilebilirlik çalışmasına ait sonuçlar (5 µg/ml).

Alan	1. Analist [C] (µg/ml)	Alan	2. Analist [C] (µg/ml)
434,27753	4,89	432,27537	4,86
433,26505	4,87	436,65075	4,92
428,59686	4,81	432,36865	4,86
Ortalama :	4,86	Ortalama :	4,88
SS :	0,04	SS :	0,04
BS (%) :	0,86	BS (%) :	0,82

Çizelge 3.22. Zidovudinin HPLC yöntemi ile kalibrasyonunda tekrar edilebilirlik çalışmasına ait sonuçlar (40 µg/ml).

Alan	1. Analist [C] (µg/ml)	Alan	2. Analist [C] (µg/ml)
3012,63089	38,57	2998,58963	38,39
2993,15996	38,32	2973,29659	38,06
2972,58911	38,05	2949,39151	37,74
Ortalama :	38,3	Ortalama :	38,06
SS :	0,26	SS :	0,33
BS (%) :	0,68	BS (%) :	0,87

3.1.7.4. Teşhis ve Tayin Sınırları

Zidovudinin Bölüm 2.2.1.7.4.'de anlatıldığı şekilde yapılan LOD ve LOQ test sonuçları Çizelge 3.23. ile verilmiştir.

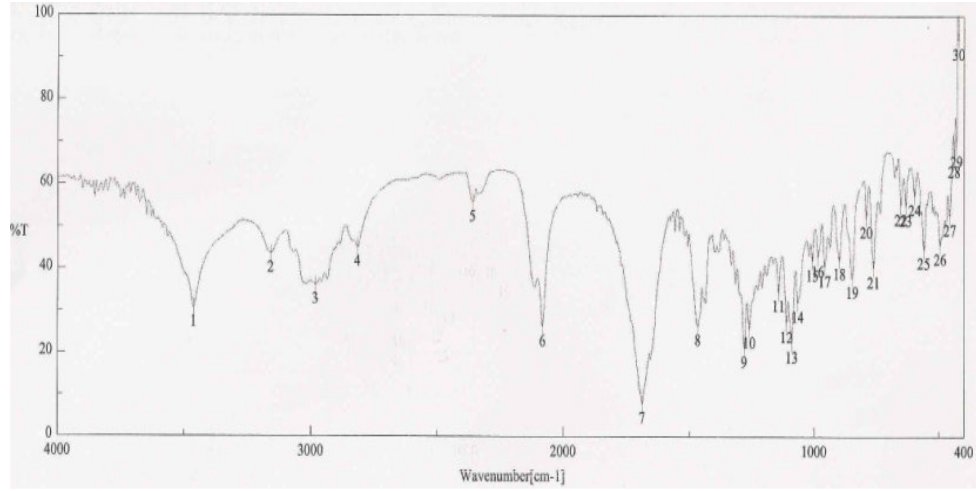
Çizelge 3.23. Zidovudinin HPLC ile miktar tayinine ait LOD ve LOQ değerleri.

LOD	LOQ
0,022 µg	0,073 µg

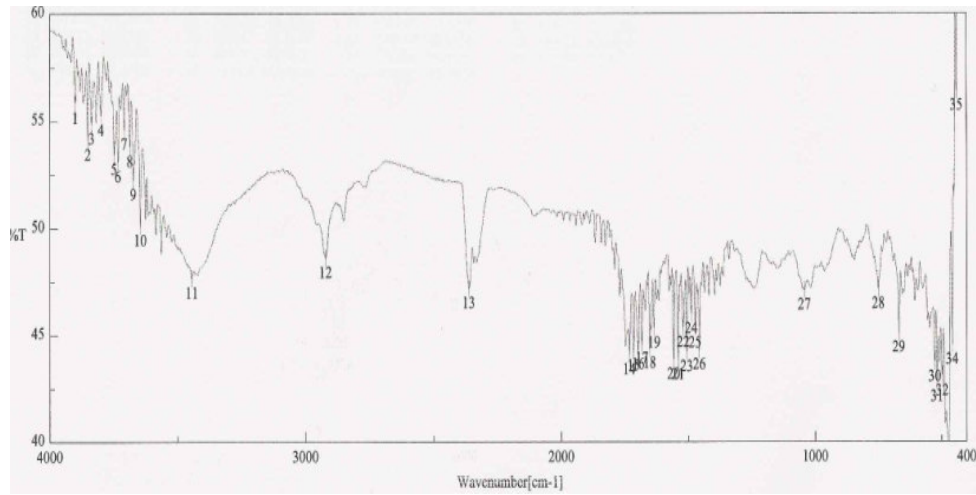
3.2. Polimerlerin Özelliklerinin Belirlenmesine Yönelik Bulgular

3.2.1. Polimerlerin IR Analizine Ait Sonuçlar

Bölüm 2.2.2.1’de anlatıldığı gibi hazırlanmış olan polimer-etkin madde (1:1) fiziksel karışımlarının IR spektrumları Şekil 3.11. ve Şekil 3.12. ile verilmiştir.



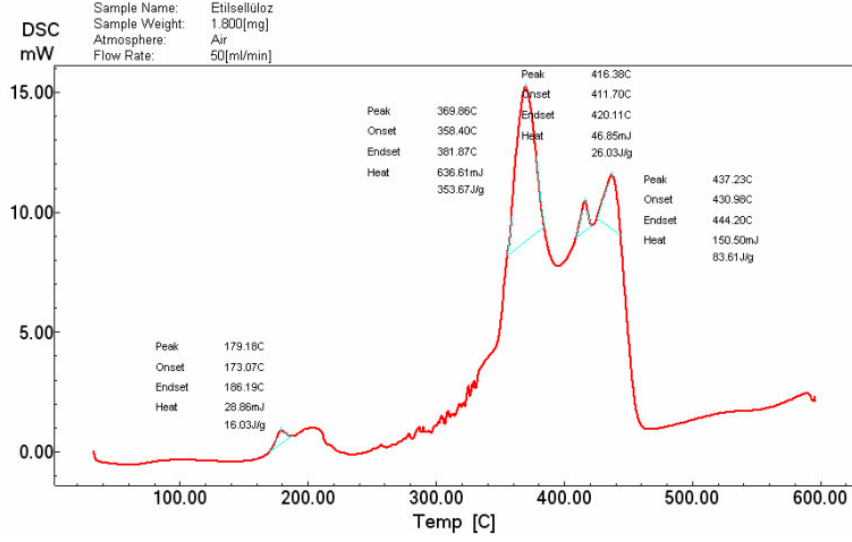
Şekil 3.12. Etil selüloz:etkin madde fiziksel karışımının IR spektrumu.



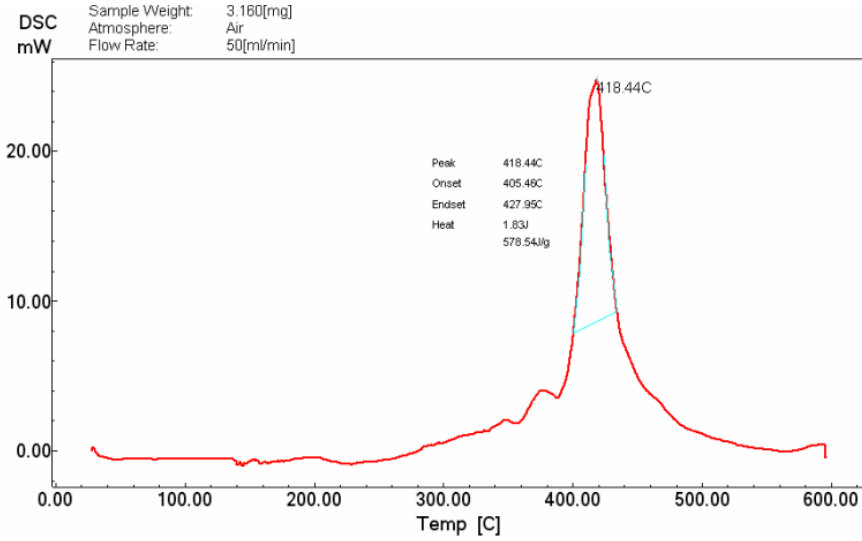
Şekil 3.13. Eudragit RL 100:etkin madde fiziksel karışımının IR spektrumu.

3.2.2. Polimerlerin DSC Analizine Ait Sonuçlar

Polimerlerin b3l3m 2.2.2.2.'de belirtildiği y3ntemle elde edilen DSC termogramları Şekil 3.13. ve Şekil 3.14. ile verilmiştir.



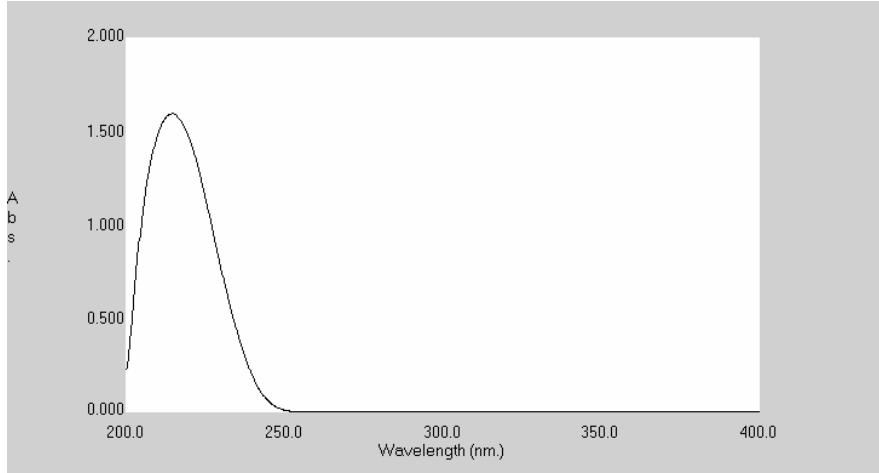
Şekil 3.14. Etil sel3l3loz DSC termogramı.



Şekil 3.15. Eudragit RL 100 DSC termogramı.

3.2.3. Polimerlerin Etanol İçersinde UV spektrumlarının Belirlenmesi

Polimerlerin bölüm 2.2.2.3.'de belirtildiği Şekilde etanol içinde UV spektrumu alınmış ve zidovudinun maksimum absorbans gösterdiği dalga boyu (λ_{max}) olan 265 nm ile girişim yapıp yapmadıklarına bakılmıŐtır. Etilsellozun formülasyonda kullanılan miktarı ile UV spektrumu elde edilememiştir. Eudragit RL 100'un etanol içinde elde edilen UV spektrumu Şekil 3.15. ile gösterilmiştir.



Şekil 3.16. Eudragit RL 100'un etanol içerisindeki UV spektrumu.

3.3. Formülasyonlar

3.3.1. Etkin Madde İçeren Matris Formülasyonlarının Kodlanması

Etkin madde içermeyen filmlerden elde edilen veriler göz önüne alınarak % 2,5 zidovudin içeren filmlerin % 25 oranında dibutil sebasat kullanılarak ve 300 µm kalınlıkta hazırlanmasına karar verilmiştir.

Çizelge 3.24. Formülasyonların hazırlanmasında kullanılan maddeler ve miktarları.

Formül Kodu	AZT (g)	Eudragit E 100 (g)	Eudragit RL 100 (g)	Eudragit RS 100 (g)	Etülselüloz (g)	Süksinik Asit (g)	Adipik Asit(g)	Triasetin (g)	DBS (g)	Aseton (ml)	Metanol (ml)
AA1	0,036	1,440	-	-	-	0,144	-	0,360	-	8	2
AA2	0,036	1,440	-	-	-	0,144	-	-	0,360	8	2
AA3	0,036	1,440	-	-	-	0,144	-	0,180	0,180	8	2
AA4	0,036	-	-	1,440	-	0,144	-	0,360	-	8	2
AA5	0,036	-	-	1,440	-	0,144	-	-	0,360	8	2
AA6	0,036	-	-	1,440	-	0,144	-	0,180	0,180	8	2
AA7	0,036	-	1,440	-	-	0,144	-	0,360	-	8	2
AA8	0,036	-	1,440	-	-	0,144	-	-	0,360	8	2

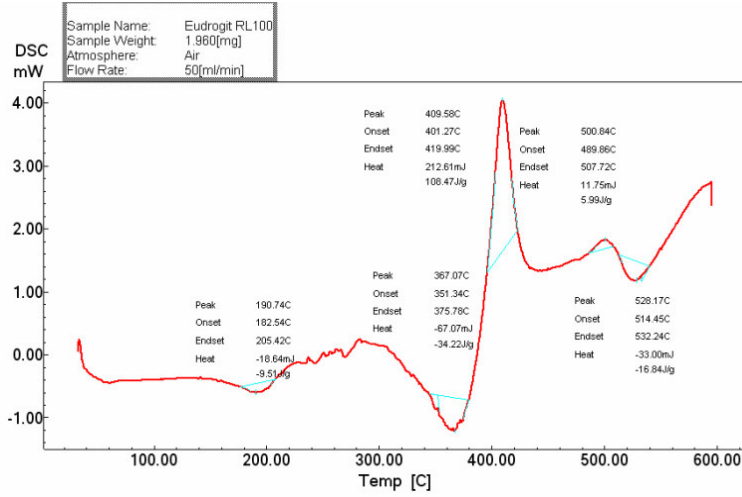
Çizelge 3.24. devamı.

Formül Kodu	AZT (g)	Eudragit E 100 (g)	Eudragit RL 100 (g)	Eudragit RS 100 (g)	Etülselüloz (g)	Süksinik Asit (g)	Adipik Asit(g)	Triasetin (g)	DBS (g)	Aseton (ml)	Metanol (ml)
AA9	0,036	-	1,440	-	-	0,144	-	0,180	0,180	8	2
AA10	0,036	1,440	-	-	-	-	0,144	-	0,360	8	2
AA11	0,036	-	1,440	-	-	-	0,144	-	0,360	8	2
AA12	0,036	-	-	1,44	-	-	0,144	-	0,360	8	2
AA13	0,036	1,440	-	-	-	-	-	-	0,360	8	2
AA14	0,036	-	1,440	-	-	-	-	-	0,360	8	2
AA14B	0,072	-	1,440	-	-	-	-	-	0,360	8	2
AA15	0,036	-	-	1,440	-	-	-	-	0,360	8	2
AA16	0,036	-	-	-	1,440	-	-	-	0,360	8	2
AA17	0,036	-	0,720	0,720	-	-	-	-	0,360	8	2
AA18	0,036	-	0,720	-	0,720	-	-	-	0,360	8	2
AA18B	0,072	-	0,720	-	0,720	-	-	-	0,360	8	2
AA19	0,036	-	0,864	-	0,576	-	-	-	0,360	8	2
AA20	0,036	-	1,008	-	0,432	-	-	-	0,360	8	2
AA21	0,036	-	1,152	-	0,288	-	-	-	0,360	8	2

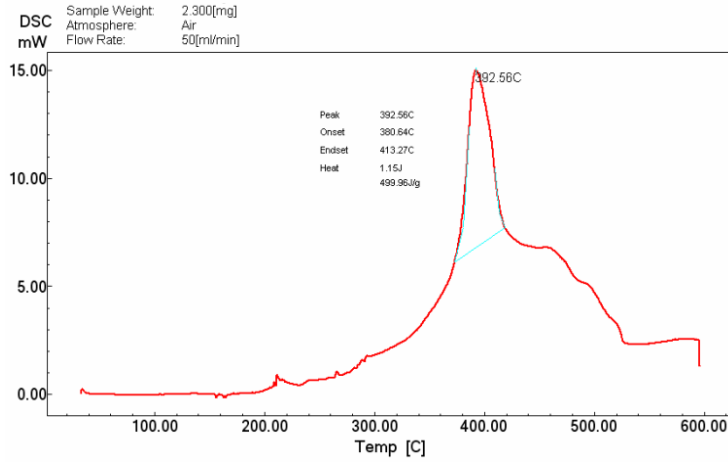
3.3.2. Matris Formülleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

3.3.2.1. Matris Formüllerinin DSC Termogramları

Eudragit RL 100 ve etilselüloz ile hazırlanan, etkin madde içeren filmlerin DSC termogramları Bölüm 2.2.2.2..' de anlatıldığı şekilde elde edilmiştir. Zidovudin ve polimerler ile hazırlanan filmlere ait termogramlar Şekil 3.16-3.17 ile verilmiştir.



Şekil 3.17. AA14B kodlu formülasyona ait DSC termogramı.



Şekil 3.18. AA18B kodlu formülasyona ait DSC termogramı.

3.3.2.2. Etkin Madde İçeren Filmlerin Ortalama Kalınlıkları

Bölüm 2.2.3.3.'de anlatıldığı şekilde kesilen 1,3 cm çaplı disklerden elde edilen kalınlıklar Çizelge 3.25. ile verilmiştir.

Çizelge 3.25. AA14-AA19 ve AA21 kodlu formüllerin ortalama kalınlıkları, (n = 3).

Formül kodu	AA14	AA15	AA16	AA17	AA18	AA19	AA21	AA14B	AA18B
Kalınlık \pm SH (μ m)	293 \pm 1,53	290 \pm 2,09	327 \pm 3,39	295 \pm 1,86	317 \pm 2,61	313 \pm 2,03	307 \pm 2,00	297 \pm 1,86	322 \pm 1,21
BS (%)	0,91	1,25	1,79	1,09	1,42	1,12	1,13	1,08	0,65

3.3.2.3. Filmlerden Etkin Madde Miktar Tayini

Bölüm 2.2.3.3.'de anlatıldığı şekilde kesilen 1,3 cm çaplı disklerden elde edilen miktar tayini sonuçları Çizelge 3.26. ile verilmiştir.

Çizelge 3.26. AA14-AA19 ve AA21 kodlu formüllerin içerdiği ortalama etkin madde miktarları, (n=3).

Formül kodu	AA14	AA15	AA16	AA17	AA18	AA19	AA21	AA14B	AA18B
Miktar \pm SH (μ g)	834,9 \pm 8,85	817,6 \pm 7,65	624,4 \pm 57,9	890,7 \pm 9,13	906,2 \pm 13,1	866,0 \pm 18,0	829,8 \pm 26,5	1948,1 \pm 28,5	1836,4 \pm 21,9
BS (%)	1,83	1,62	16,06	1,77	2,50	3,60	5,52	2,53	2,07

3.3.2.4. İşlem Etkinliği Sonuçları

Bölüm 2.2.3.3.'de anlatıldığı şekilde kesilen 1,3 cm çaplı disklerden elde edilen işlem etkinliği sonuçları Çizelge 3.27. ile verilmiştir.

Çizelge 3.27. AA14-AA19 ve AA21 kodlu formüller için ortalama işlem etkinlikleri, (n=3).

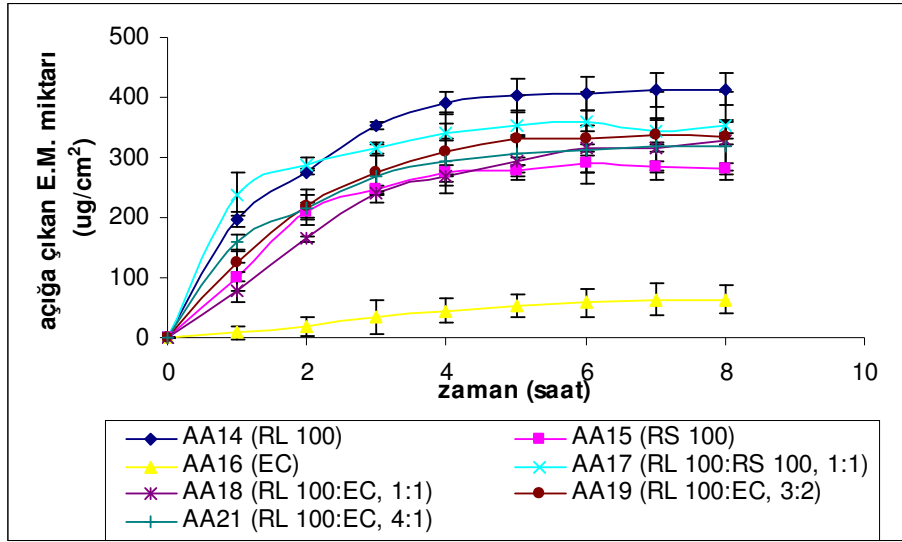
Formül kodu	AA14	AA15	AA16	AA17	AA18	AA19	AA21	AA14B	AA18B
Miktar (%) ± SH	93,12 ± 0,99	91,36 ± 0,86	68,24 ± 6,33	98,15 ± 1,01	99,86 ± 1,45	95,69 ± 1,99	90,93 ± 2,90	96,21 ± 1,41	90,69 ± 1,09
BS (%)	1,83	1,62	16,1	1,77	2,51	3,6	5,52	2,53	2,07

3.3.2.5. Filmlerden İn Vitro Etkin Madde Salım Çalışmaları

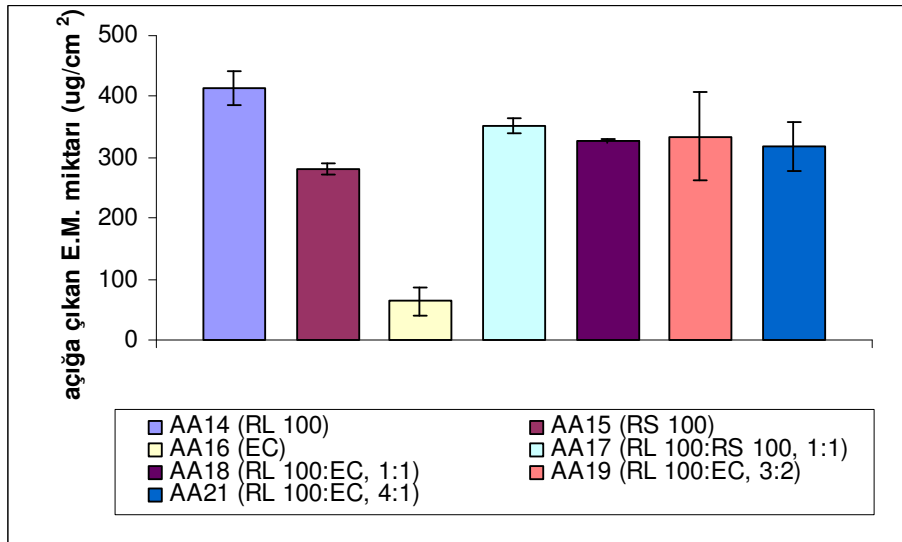
Bölüm 2.2.3.6.'da anlatılan metoda göre in vitro etkin madde salım çalışması yapılan filmlerden, deney sonucunda elde edilen veriler Çizelge 3.28., Şekil 3.18. ve Şekil 3.19. ile verilmiştir. AA14-AA19 ve AA21 kodlu filmlerden etkin madde salım çalışması deneyleri sonucunda elde edilen verilere ait kinetik veriler ise Çizelge 3.29a. ve Çizelge 3.29b. ile gösterilmiştir

Çizelge 3.28. AA14-AA19 ve AA21 kodlu filmlerden 0,22 µm selüloz asetat zar kullanılarak yapılan in vitro etkin madde salım çalışmaları sonucunda elde edilen veriler, (n=3).

Film kodu t (saat)	AA14	AA15	AA16	AA17	AA18	AA19	AA21	AA14B	AA18B
	µg/cm ² ± SH	µg/cm ² ± SH	µg/cm ² ± SH	µg/cm ² ± SH	µg/cm ² ± SH	µg/cm ² ± SH	µg/cm ² ± SH	µg/cm ² ± SH	µg/cm ² ± SH
1	196,1 ± 7,30	101,0 ± 13,3	8,1 ± 6,70	238,9 ± 20,0	77,0 ± 9,70	126,4 ± 9,30	159,7 ± 7,60	456,9 ± 27,9	368,5 ± 28,9
2	276,1 ± 2,20	209,9 ± 8,40	19,0 ± 9,50	288,3 ± 6,00	164,2 ± 2,50	218,6 ± 10,5	216,6 ± 17,4	700,7 ± 38,1	588,8 ± 17,2
3	352,9 ± 3,80	245,5 ± 3,60	33,5 ± 16,2	314,4 ± 4,00	241,1 ± 2,30	275,2 ± 28,2	269,4 ± 19,1	911,9 ± 40,9	729 ± 5,4
4	391,4 ± 10,4	274,5 ± 8,40	45,1 ± 12,5	342,0 ± 7,90	270,2 ± 1,70	308,0 ± 38,9	292,8 ± 22,2	1082,6 ± 28,3	791,9 ± 25,8
5	403,8 ± 15,2	277,4 ± 5,70	54,5 ± 10,9	354,4 ± 11,6	294,1 ± 4,30	331,9 ± 40,5	305,7 ± 18,6	1105,3 ± 36,5	819,4 ± 30,8
6	407,5 ± 16,4	290,5 ± 8,10	58,2 ± 14,2	360,9 ± 9,70	315,2 ± 3,80	332,6 ± 44,7	313,0 ± 22,7	1095,5 ± 37,8	835,7 ± 42,9
7	412,4 ± 15,5	284,7 ± 5,30	64,0 ± 14,5	344,9 ± 11,6	315,2 ± 3,60	336,2 ± 42,4	319,5 ± 24,6	1091,9 ± 37,7	849,4 ± 45,9
8	414,0 ± 15,6	281,1 ± 5,30	64,0 ± 13,7	352,2 ± 6,60	326,8 ± 2,40	334,8 ± 42,4	318,9 ± 23,4	1091,2 ± 37,3	844,3 ± 46,3



Şekil 3.19. AA14-AA19 ve AA21 kodlu formüllerden elde edilen in vitro etkin madde salım profilleri.



Şekil 3.20. AA14-AA19ve AA21 kodlu formüllerden 8 saat sonunda çıkan etkin madde miktarları.

Çizelge 3.29a. AA14-AA19 ve AA21 kodlu filmlerden etkin madde salım deneyleri sonucunda elde edilen kinetik veriler.

Formül kodu	Parametre	0 Derece	1. Derece	Higuchi	Peppas
AA14	r ²	0,7241	0,8165	0,8612	0,9842
	k	-0,1150	-0,002056	2,410	0,4763
	F	18,371	31,151	37,237	187,36
	SE	0,02683	0,0003683	0,3949	0,03479
	RMS	155,49	0,02930	25,838	0,0003694
AA15	r ²	0,7057	0,7492	0,7706	0,8079
	k	-0,08376	-0,001181	1,869	0,4666
	F	16,787	20,910	20,157	25,227
	SE	0,02044	0,0002582	0,4163	0,09290
	RMS	90,280	0,01440	28,715	0,005604
AA16	r ²	0,9500	0,9496	0,9752	0,9737
	k	-0,03309	-0,0003556	0,9781	1,017
	F	133,03	131,93	235,68	221,77
	SE	0,002869	3,983E-05	0,06371	0,06832
	RMS	1,777	0,0002070	0,6726	0,003032
AA17	r ²	0,5745	0,6513	0,8303	0,9058
	k	-0,07870	-0,001194	1,170	0,2035
	F	9,449	13,075	29,363	57,717
	SE	0,02560	0,0003303	0,2160	0,02679
	RMS	141,59	0,02357	7,727	0,0004659
AA18	r ²	0,8568	0,9009	0,9197	0,9218
	k	-0,09615	-0,001350	2,524	0,6866
	F	41,879	63,647	68,685	70,709
	SE	0,01486	0,0001692	0,3046	0,08166
	RMS	47,683	0,006185	15,368	0,004330
AA19	r ²	0,7630	0,8184	0,81612	0,9052
	k	-0,09538	-0,001417	2,189	0,4728
	F	22,533	31,547	37,213	57,278
	SE	0,02009	0,0002522	0,3589	0,06247
	RMS	87,201	0,01374	21,339	0,002535
AA21	r ²	0,7266	0,7975	0,8971	0,9463
	k	-0,08766	-0,001294	1,788	0,3496
	F	18,603	27,576	52,335	105,75
	SE	0,02032	0,0002465	0,2472	0,03400
	RMS	89,223	0,01312	10,121	0,0007507

Çizelge 3.28.b. AA14, AA18 ve AA14B, AA18B kodlu filmlerden etkin madde salım deneyleri sonucunda elde edilen kinetik veriler.

Formül kodu	Parametre	0 Derece	1. Derece	Higuchi	Peppas
AA14	r^2	0,7241	0,8165	0,8612	0,9842
	k	-0,1150	-0,002056	2,410	0,4763
	F	18,371	31,151	37,237	187,36
	SE	0,02683	0,0003683	0,3949	0,03479
	RMS	155,49	0,02930	25,838	0,0003694
AA14B	r^2	0,7063	0,7325	0,8185	0,8891
	k	-0,06829	-0,001181	2,221	0,4217
	F	14,428	16,429	27,062	48,098
	SE	0,01798	0,0002913	0,4269	0,06080
	RMS	998,41	0,2877	998,41	0,1299
AA18	r^2	0,8568	0,9009	0,9197	0,9218
	k	-0,09615	-0,001350	2,524	0,6866
	F	41,879	63,647	68,685	70,709
	SE	0,01486	0,0001692	0,3046	0,08166
	RMS	47,683	0,006185	15,368	0,004330
AA18B	r^2	0,7349	0,7579	0,8456	0,8864
	k	-0,04880	-0,00072820	1,581	0,3979
	F	16,637	18,779	32,866	46,803
	SE	0,01196	0,0001680	0,2758	0,05816
	RMS	489,92	0,1058	489,92	0,1160

3.3.2.6. Filmlerden Etkin Madde Salımı Üzerine İyontoforez Etkisine

Ait Bulgular

Elde edilen kinetik veriler sonrasında AA14-AA18 kodlu formüllerle çalışılmasına karar verilmiş ve % 5 a/a etkin madde içerecek şekilde hazırlanmıştır (AA14B ve AA18B). AA14B ve AA18B kodlu formüllerin üzerine 0,1 mA/cm² ve 0,5 mA/cm²'lik doğrusal elektrik akımı 2 saat süreyle uygulanmış ve sonuçlar UV spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda AA14B kodlu formülasyondan elde edilen açığa çıkan etkin madde miktarları Çizelge 3.30, Şekil 3.20 ve Şekil 3.21. ile verilmiştir. AA18B kodlu formülasyondan elde edilen açığa çıkan etkin madde miktarları ise Çizelge 3.31, Şekil 3.22 ve Şekil 3.23. ile verilmiştir.

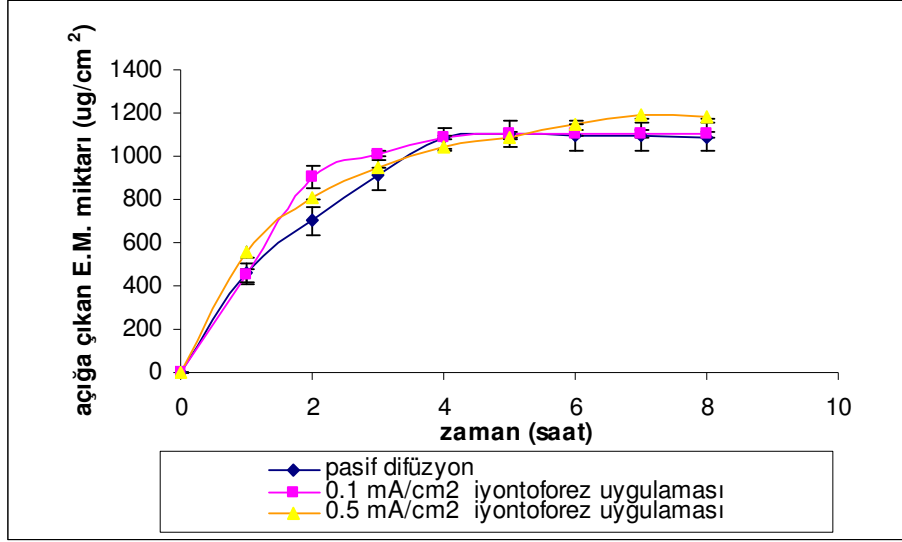
Çizelge 3.30. AA14B kodlu filmde çıkan etkin madde miktarları ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$), (n = 3).

	Pasif difüzyon ^a	0,1mA/cm²Akım ^b	0,5 mA/cm² Akım ^c
t (saat)	$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \pm \text{SH}$	$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \pm \text{SH}$	$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \pm \text{SH}$
1	456,9 \pm 48,3	448,0 \pm 27,7	559,4 \pm 25,6
2	700,9 \pm 65,8	903,0 \pm 50,6	810,3 \pm 7,3
3	911,9 \pm 70,8	1013,0 \pm 16,3	951,1 \pm 6,6
4	1082,9 \pm 49,0	1087,0 \pm 6,6	1040,3 \pm 12,8
5	1105,6 \pm 63,2	1102,8 \pm 13,1	1087,7 \pm 5,2
6	1095,5 \pm 65,4	1107,2 \pm 11,2	1146,7 \pm 2,9
7	1091,9 \pm 65,2	1105,0 \pm 15,7	1191,3 \pm 13,8
8	1091,2 \pm 64,5	1100,7 \pm 10,8	1184,7 \pm 15,0

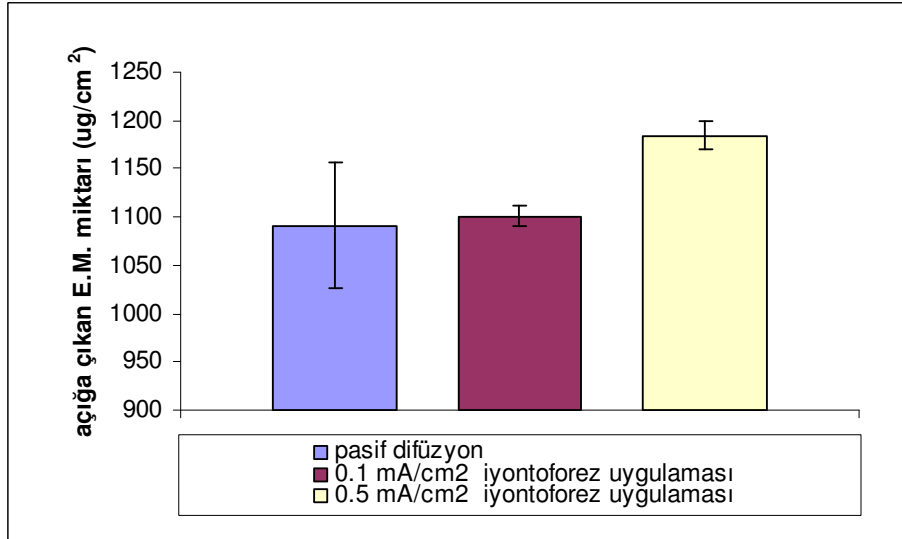
a ve b arasında istatistiksel olarak fark önemli bulunmamıştır, $p > 0.05$.

a ve c arasında istatistiksel olarak fark önemli bulunmamıştır, $p > 0.05$.

b ve c arasında istatistiksel olarak fark önemli bulunmuştur, $p < 0.05$.



Şekil 3.21. AA14B kodlu filmlerden elde edilen in vitro etkin madde salım profilleri.



Şekil 3.22. AA14B kodlu filmlerden 8 saat sonunda açığa çıkan etkin madde miktarları.

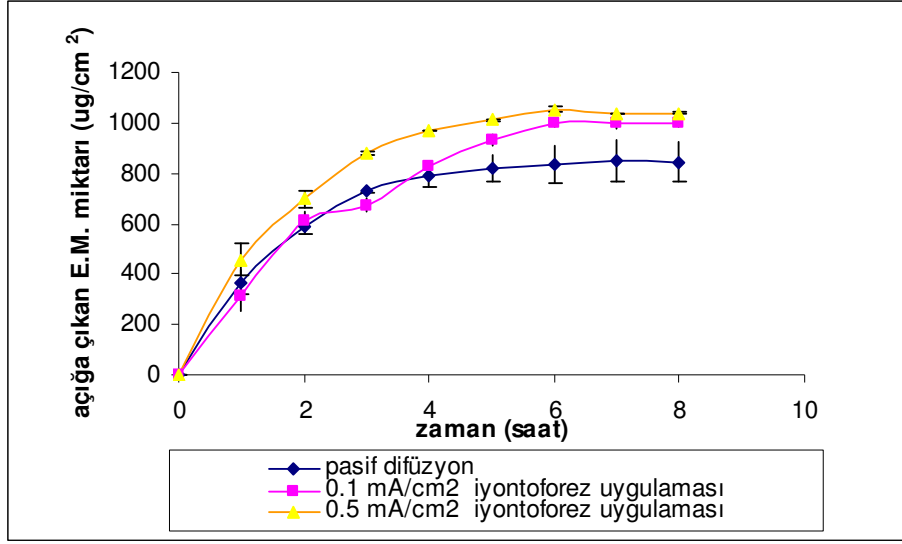
Çizelge 3.31. AA18B kodlu filminden açığa çıkan etkin madde miktarları ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$), (n = 3).

	Pasif difüzyon ^a	0,1mA/cm²Akım ^b	0,5 mA/cm² Akım ^c
t (saat)	$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \pm \text{SH}$	$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \pm \text{SH}$	$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \pm \text{SH}$
1	368,5 \pm 49,9	311,3 \pm 57,9	457,6 \pm 64,7
2	588,8 \pm 29,7	608,2 \pm 38,9	697,3 \pm 35,2
3	729,0 \pm 9,4	673,6 \pm 24,9	881,0 \pm 8,2
4	791,9 \pm 44,6	826 \pm 5,0	968,7 \pm 1,6
5	819,5 \pm 53,3	930,9 \pm 21,9	1010,0 \pm 2,2
6	835,7 \pm 74,2	999,6 \pm 12,8	1052,8 \pm 11,6
7	849,4 \pm 79,5	995,3 \pm 19,0	1034,8 \pm 0,4
8	844,3 \pm 80,1	998,5 \pm 14,3	1037,3 \pm 2,5

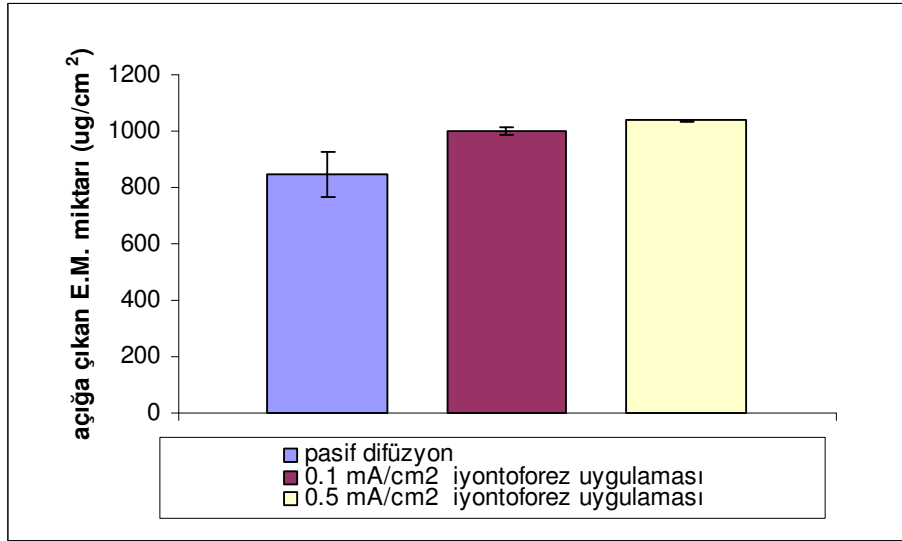
a ve b arasında istatistiksel olarak fark önemli bulunmuştur, $p < 0.05$.

a ve c arasında istatistiksel olarak fark önemli bulunmuştur, $p < 0.05$.

b ve c arasında istatistiksel olarak fark önemli bulunmuştur, $p < 0.05$.



Şekil 3.23. AA18B kodlu filmlerden elde edilen in vitro etkin madde salım profilleri.



Şekil 3.24. AA18B kodlu filmlerden 8 saat sonunda açığa çıkan etkin madde miktarları.

3.3.3. Etkin Maddenin Deriden Penetrasyonunun Ex Vivo Tayinine Ait Sonuçlar

Bölüm 2.2.3.6.5.1. de anlatılan deney protokolüne göre yapılan ex vivo etkin madde çıkış deneylerine ait sonuçlar AA14B kodlu formülasyon için Çizelge 3.32 ve Şekil 3.24, şekil 3.25 ile, AA18B kodlu formülasyon için Çizelge 3.33 ve Şekil 3.26, şekil 3.27 ile verilmiştir.

Çizelge 3.32. AA14B kodlu film için ex vivo çalışmalar sonunda deriden geçen etkin madde miktarları; (n=3).

t (saat)	Pasif difüzyon ^a	0,1mA/cm ² Akım ^b	0,5 mA/cm ² Akım ^c	% 1 DMSO ^d	% 5 DMSO ^e
	µg/cm ² ± SH	µg/cm ² ± SH	µg/cm ² ± SH	µg/cm ² ± SH	µg/cm ² ± SH
0,25	*	0,66 ± 0,36	1,69 ± 0,12	*	*
0,50	*	0,89 ± 0,16	2,06 ± 0,21	*	*
1	0,95 ± 0,81	3,51 ± 0,21	7,23 ± 3,64	0,99 ± 0,49	*
2	5,41 ± 1,28	5,74 ± 0,41	15,28 ± 5,75	2,16 ± 1,50	3,52 ± 0,99
3	8,03 ± 3,08	14,25 ± 3,38	22,32 ± 7,03	2,76 ± 1,56	9,40 ± 1,90
4	9,41 ± 5,05	21,10 ± 7,41	29,17 ± 4,78	7,94 ± 5,54	11,67 ± 5,28
5	10,27 ± 4,82	32,38 ± 9,72	31,10 ± 3,85	13,87 ± 4,45	21,28 ± 6,41
6	10,74 ± 4,80	32,90 ± 8,48	42,84 ± 3,15	19,78 ± 8,24	30,46 ± 7,11
7	15,04 ± 2,64	39,29 ± 8,70	52,03 ± 4,10	26,50 ± 10,62	36,61 ± 6,50
8	16,73 ± 3,15	44,97 ± 12,90	60,35 ± 4,69	37,19 ± 12,22	41,93 ± 5,65
24	26,06 ± 7,57	78,05 ± 9,19	124,46 ± 9,94	108,16 ± 24,08	119,19 ± 18,79

* Değerler kalibrasyona ait LOQ değerinin altındadır.

Çizelge 3.33. AA18B kodlu film için ex vivo çalışmaları sonunda deriden geçen etkin madde miktarları; (n=3).

t (saat)	Pasif difüzyon ^a	0,1mA/cm ² Akım ^b	0,5 mA/cm ² Akım ^c	% 1 DMSO ^d	% 5 DMSO ^e
	µg/cm ² ± SH	µg/cm ² ± SH	µg/cm ² ± SH	µg/cm ² ± SH	µg/cm ² ± SH
0,25	*	0,1 ± 0,07	1,94 ± 0,11	*	0,85 ± 0,46
0,50	*	1,17 ± 0,93	7,09 ± 0,17	*	6,76 ± 3,36
1	0,33 ± 0,28	1,54 ± 0,58	7,63 ± 0,67	*	9,11 ± 1,55
2	1,09 ± 0,94	1,89 ± 1,77	10,06 ± 3,75	2,16 ± 1,28	13,21 ± 1,81
3	2,97 ± 1,82	2,00 ± 1,43	11,85 ± 3,91	6,08 ± 3,19	20,08 ± 3,64
4	4,78 ± 4,56	3,42 ± 3,03	16,42 ± 2,87	8,40 ± 4,94	20,98 ± 5,23
5	5,64 ± 5,59	5,97 ± 3,85	26,00 ± 7,21	16,82 ± 3,71	24,67 ± 5,31
6	9,14 ± 3,91	9,71 ± 3,45	27,77 ± 10,56	22,60 ± 4,60	27,82 ± 6,23
7	11,14 ± 4,26	14,88 ± 2,42	33,07 ± 10,88	28,66 ± 6,30	32,16 ± 8,81
8	12,78 ± 3,08	17,93 ± 1,96	39,75 ± 15,17	33,64 ± 5,86	35,24 ± 9,06
24	18,36 ± 8,97	67,56 ± 5,37	104,52 ± 13,46	89,84 ± 24,58	102,55 ± 22,49

* Değerler kalibrasyona ait LOQ değerinin altındadır.

Çizelge 3.32 ve Çizelge 3.33 'de yer alan veriler istatistiksel olarak incelendiğinde aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

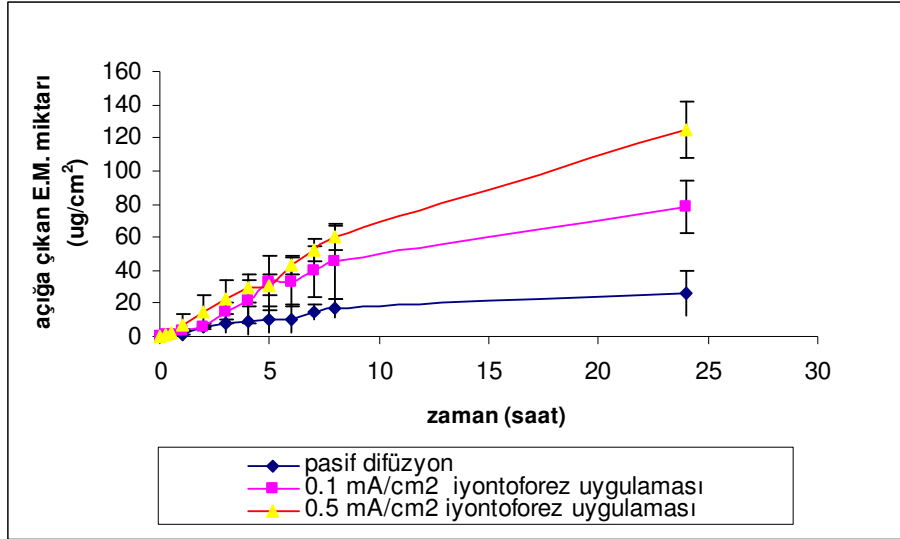
a ve b arasında istatistiksel olarak fark önemli bulunmuştur, $p < 0.05$.

a ve c arasında istatistiksel olarak fark önemli bulunmuştur, $p < 0.05$.

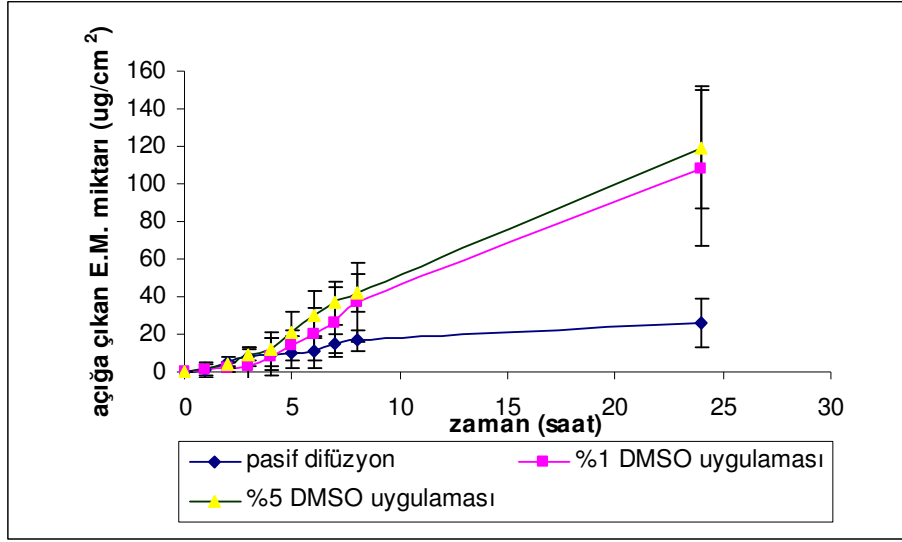
b ve c arasında istatistiksel olarak fark önemli bulunmamıştır, $p > 0.05$.

c ve d arasında istatistiksel olarak fark önemli bulunmamıştır, $p > 0.05$.

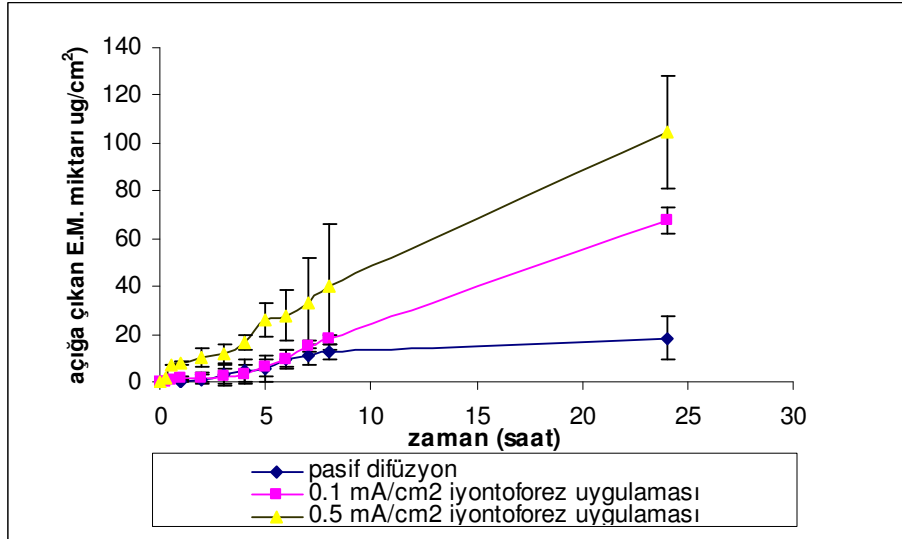
c ve e arasında istatistiksel olarak fark önemli bulunmamıştır, $p > 0.05$.



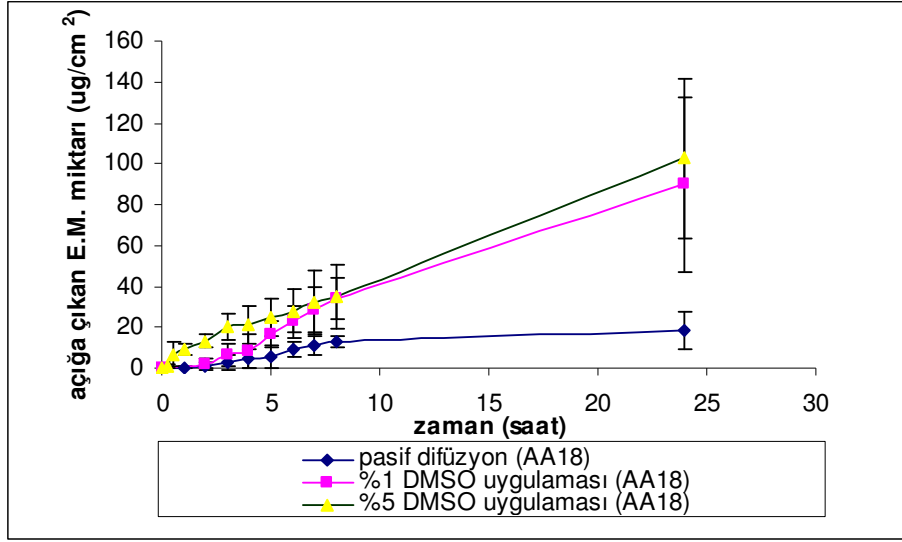
Şekil 3.25. AA14B kodlu filmde, 0,1 ve 0,5 mA/cm² iyontoforez uygulaması sonrası elde edilen ex vivo etkin madde salım profilleri.



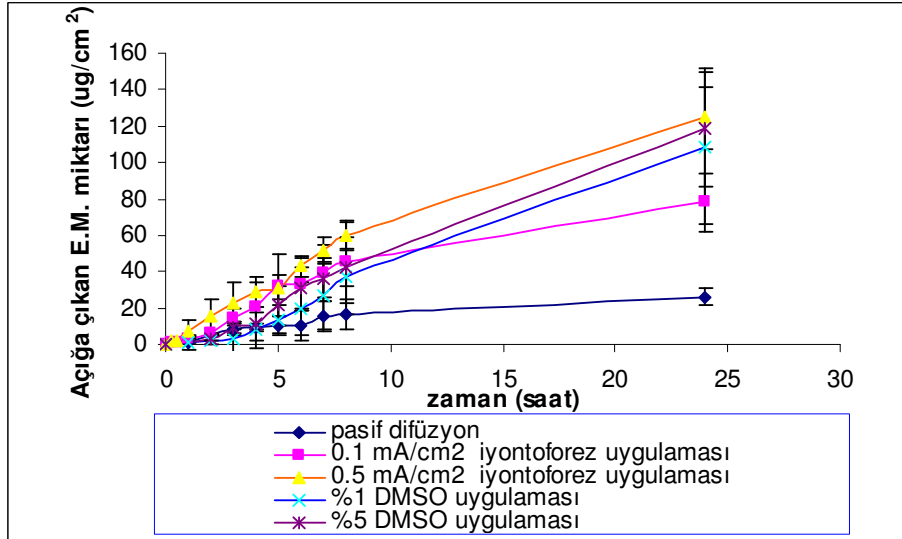
Şekil 3.26. AA14B kodlu filmde, %1 ve %5 a/a DMSO uygulaması sonrası elde edilen ex vivo etkin madde salım profilleri.



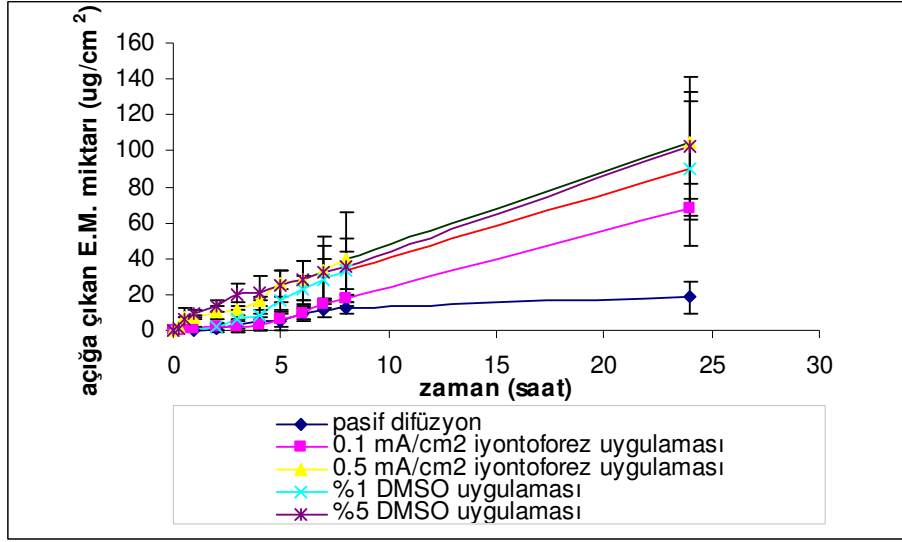
Şekil 3.27. AA18B kodlu filmde, 0,1 ve 0,5 mA/cm² iyontoforez uygulaması sonrası elde edilen ex vivo etkin madde salım profilleri.



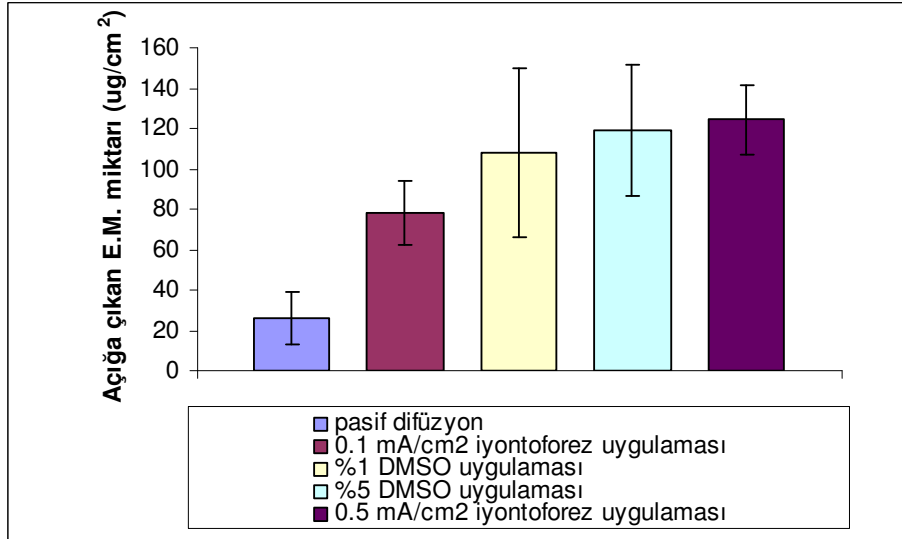
Şekil 3.28. AA18B kodlu filmde, %1 ve %5 a/a DMSO uygulaması sonrası elde edilen ex vivo etkin madde salım profilleri.



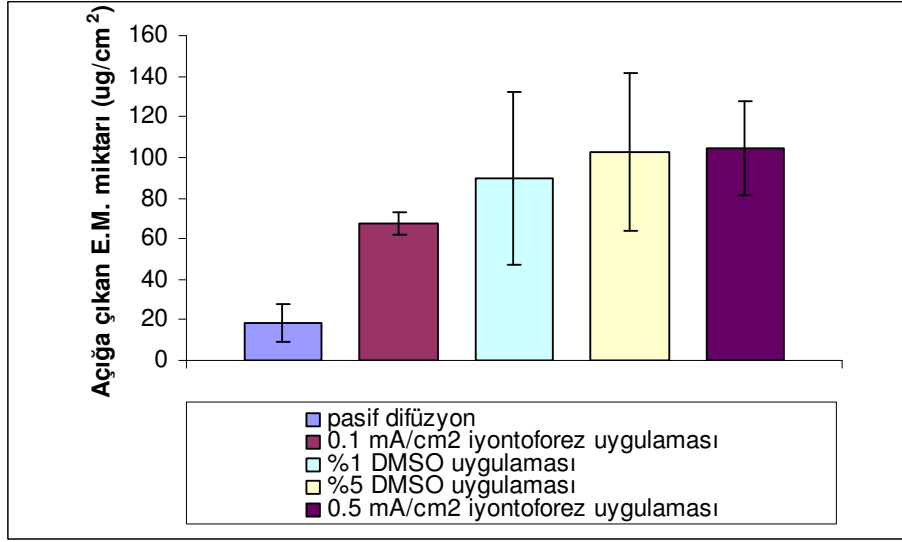
Şekil 3.29. AA14B kodlu filmde, 0,1 ve 0,5 mA/cm² iyontoforez; %1 ve %5 a/a DMSO uygulamaları sonrası elde edilen ex vivo etkin madde salım profilleri.



Şekil 3.30. AA18B kodlu filmde, 0,1 ve 0,5 mA/cm² iyontoforez; % 1 ve % 5 a/a DMSO uygulamaları sonrası elde edilen ex vivo etkin madde salım profilleri.



Şekil 3.31. AA14B kodlu filmde, ex vivo deneyler sonunda 24 saat sonunda açığa çıkan etkin madde miktarları.



Şekil 3.32. AA18B kodlu filmde, ex vivo deneyler sonunda 24 saat sonunda açığa çıkan etkin madde miktarları.

4. TARTIŞMA

4.1. Etkin Maddenin Özelliklerinin Değerlendirilmesi

UV Spektrofotometrik Analizlerin Değerlendirilmesi:

Zidovudinin HEPES tamponu ve etanol içerisindeki farklı konsantrasyondaki çözeltilerinden elde edilen absorbans değerleri literatürler ile uyumludur (Narishetty ve Panchangnula, 2004; Uslu ve Özkan, 2002) ve bu ortamlarda etkin maddenin maksimum absorbans verdiği dalga boyunda konsantrasyon artışına bağlı bir değişme söz konusu değildir.

Formülasyon hazırlamada kullanılan polimerlerin alkol içerisindeki maksimum absorbans verdiği dalga boyları ön denemelerde incelenmiş ve kullanılan polimerlerin zidovudin ile bu dalga boylarında girişim yapmadığı belirlenmiştir (Şekil 3.4, Şekil 3.15). Yine miktar tayinleri sırasında elde edilen absorbans değerlerinden hareketle hesaplanan etkin madde miktarlarının % 100 değerinden çok yüksek çıkması nedeniyle formülde kullanılan yardımcı maddelerin etanol içerisinde UV spektrumları alınmış, plastizer olarak kullanılan triasetinin zidovudinin maksimum absorbans verdiği dalga boyunda girişim yaptığı tespit edilmiştir. Bunun sonucunda kullanılan plastizer DBS ile değiştirilmiştir.

Zidovudinin HEPES tamponu ve etanol içerisinde yapılan kalibrasyon çalışmalarından elde edilen veriler incelendiğinde kalibrasyon denklemine ait r^2 değerlerinin yüksek, $Sy.x$ değerlerinin ise küçük olduğu görülmüştür (Çizelge 3.1, Şekil 3.5 ve Şekil 3.6). Zidovudinin HEPES tamponu ve etanol ortamlarında devamlı okunabileceği 8 farklı konsantrasyon belirlenerek doğrusal ve aralığına ait çalışma yapılmış ve sonuçta denklem r^2 değerlerinin yüksek, $Sy.x$ değerlerinin ise küçük olduğu görülmüştür (Çizelge 3.2, Şekil 3.7 ve Şekil 3.8). Elde edilen yüksek r^2 ve düşük $Sy.x$ değerleri her iki ortam içinde de zidovudin için seçilen konsantrasyon aralıklarında (2-16 $\mu\text{g/ml}$ HEPES tamponu, 2-20 $\mu\text{g/ml}$ etanol) yapılan çalışmaların güvenilir sonuçlar vereceğini göstermektedir.

Zidovudinin HEPES tamponu ve etanol ortamlarında yapılan doğruluk çalışmasına ait verilerinden elde edilen % bağıl sapma değerleri genel olarak düşük bulunmuştur. Çalışma sonuçları % geri eldeye çevrildiğinde ise genel olarak % 90- % 104,5 arasında değerler elde edilmiştir (Çizelge 3.3- Çizelge 3.5). Zidovudinin HEPES tamponu ve etanol ortamlarında yapılan tekrarlanabilirlik ve tekrar elde edilebilirlik çalışmaları sonucunda ise günler arasında ve farklı analistlerden elde edilen veriler arasında % 95 olasılık seviyesinde farkların önemli olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 3.6- Çizelge 3.11). Çalışmalarda veriler üzerine çift yönlü t-testi uygulanmıştır (GraphPad Instat paket programı). Tüm veriler doğrultusunda zidovudinin UV spektrofotometrik analiz yönteminin doğruluğunun kanıtlandığına karar verilmiştir.

HPLC Yöntemi Analizlerinin Değerlendirilmesi:

Zidovudinin literatüre göre belirlenen mobil faz içerisinde (metanol:su:asetonitril, 70:20:10, h/h) HPLC kalibrasyonu ve yöntemin analitik validasyonu çalışılmıştır (Uslu ve Özkan, 2002). Literatürde verilerden farklı olarak 0,45 ml/dak. akış hızı kullanılmıştır. Böylece deri ekstraktından gelebilecek yan maddelerin etkin madde pikinden ayrılması sağlanmıştır. Kolon sıcaklığı ise literatürlerde belirtilen 37°C olarak belirlenmiştir (Narishetty ve Panchangnula, 2004).

Zidovudinin HPLC analizlerinde mobil faz içerisinde yapılan kalibrasyon çalışmalarından elde edilen veriler incelendiğinde kalibrasyon denkleminde ait r^2 değerlerinin yüksek, $Sy.x$ değerlerinin ise küçük olduğu görülmüştür (Çizelge 3.12, Şekil 3.10). Bu nedenle 0,2-50 µg/ml konsantrasyonları arasında yapılacak ölçümlerin güvenilir sonuç vereceğine karar verilmiştir.

Zidovudinin mobil faz içerisinde devamlı okunabileceği 6 farklı konsantrasyon belirlenerek doğrusallık ve aralığına ait çalışma yapılmış ve sonuçta denklem r^2 değerlerinin yüksek, $Sy.x$ değerlerinin ise küçük olduğu görülmüştür (Çizelge 3.13, Şekil 3.11). Elde edilen yüksek r^2 ve düşük $Sy.x$ değerleri zidovudin için seçilen konsantrasyon aralıklarında yapılan çalışmaların güvenilir sonuçlar vereceğini göstermektedir.

Zidovudinin mobil faz içerisinde yapılan doğruluk çalışmasına ait verilerinden elde edilen % bağıl sapma değerleri genel olarak düşük bulunmuştur. Çalışma sonuçları % geri eldeye çevrildiğinde ise genel olarak % 95- % 98,8 arasında değerler elde edilmiştir (Çizelge 3.14- Çizelge 3.16). Zidovudinin HPLC yöntemi için yapılan tekrarlanabilirlik ve tekrar elde edilebilirlik çalışmaları sonucunda ise günler arasında ve farklı analistlerden elde edilen veriler arasında % 95 olasılık seviyesinde farkların 0,4 µg/ml'den yüksek konsantrasyonlar için önemli olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 3.17- Çizelge 3.19). Çalışmalarda veriler üzerine çift yönlü t-testi uygulanmıştır (GraphPad InStat paket programı). Çalışmanın LOD ve LOQ değerleri incelendiğinde (0,022 µg LOD, 0,073 µg LOQ) kalibrasyon için seçilen aralığın altında değerler elde edilmiştir. Bu da kalibrasyon aralığımızda güvenilir sonuçlar elde edildiğini göstermektedir. Tüm veriler doğrultusunda zidovudinin HPLC ile yapılan analizlerinin doğruluğunun kanıtlandığına karar verilmiştir.

Etkin Madde Özelliklerinin IR Spektrumu ve DSC Termogramı Yardımıyla Değerlendirilmesi:

Referanslara göre, zidovudin yapısındaki amid ve ester bağları nedeniyle 1281, 1385, 1630-1600, 1694, 2102 ve 3500-3200 cm⁻¹ dalga boylarında karakteristik IR pikleri vermektedir (Araujo ve ark., 2003). Zidovudinin tarafımızdan yapılan IR spektrofotometrik analizi sonucunda 1281, 1381, 1685, 2083, 3160, 3463 cm⁻¹ dalga boylarında karakteristik piklerini verdiği görülmüştür (Şekil 3.1). Etkin maddenin Eudragit RL 100 polimeri ile fiziksel karışımında da etkin maddenin 1281, 1686, 2083, 3161 ve 3463 cm⁻¹ dalga boylarında karakteristik pikleri gözlemlenmiştir (Şekil 3.13). Eudragit RL 100, etilselüloz ve etkin maddenin fiziksel karışımlarında da etkin maddenin 1636, 1698, 2102, 3445 cm⁻¹ dalga boylarında karakteristik pikleri gözlemlenmiştir (Şekil 3.12).

Zidovudinin DSC termogramındaki erime derecesi 126,72 °C bulunmuştur (Şekil 3.2). Bu değer referanslarda belirtilen değerlere (120-124 °C) uygundur (Araujo ve ark., 2003). Zidovudinin Eudragit RL100 ile hazırlanan filmlerinde zidovudine ait endotermik reaksiyon değerleri literatürlerde verilen aralıklar içinde gerçekleşmiştir

(Şekil 3.18). Zidovudinin Eudragit RL100:Etil selüloz (1:1) karışımı ile hazırlanan filmlerinde ise zidovudine ait endotermik reaksiyon değerleri belirgin olarak gözlenenmiştir (Şekil 3.17). Bunun nedeninin kristal yapıdaki zidovudinin amorf formlarına dönüşmesi olduğu düşünülmektedir.

4.2. Formülasyona Ait Verilerin Değerlendirilmesi

4.2.1. Matris Formüllerinin Hazırlanması

Bölüm 2.2.3.1. 'de anlatılan yöntemle göre hazırlanan AA14-AA19 ve AA21 kodlu filmler (Çizelge 3.24) için polimer olarak Eudragit RS 100, RL 100, EC ve karışımları, plastizer olarak DBS kullanılmıştır. AA1-AA13 kodlu formülasyonlar da ise plastizer olarak triasetin, polimer olarak Eudragit E 100, ayrıca salım modifiye etmek amacıyla süksinik asit ve adipik asit kullanılması düşünülmüştür. Ancak AA1-AA13 grubu formülasyonlardan in vitro etkin madde çıkış çalışmalarında istenen sonuçlar elde edilememiştir. Bu nedenle çalışmalara AA14-AA19 ve AA21 kodlu filmler üzerinde devam edilmiştir.

4.2.2. Ortalama Film Kalınlıklarının Değerlendirilmesi

Filmler, kalınlığı 300 g/m^2 kuru polimer ağırlığından yola çıkarak $300 \mu\text{m}$ kalınlık elde etmeye uygun olacak şekilde hazırlanmıştır. Formülasyonların hazırlanmasında kullanılan çözücü sistemi uçurulduktan sonra ölçülen film kalınlıkları $290\text{-}327\mu\text{m}$ arasında bulunmuştur ve bu değerler teorik değerden $\pm \% 10$ 'dan daha az sapmaktadır. Ayrıca formülasyona giren yardımcı ve etkin madde miktarlarının da kalınlık üzerine etkisi düşünülecek olursa, elde edilen $290\text{-}327\mu\text{m}$ kalınlık aralığının hedeflenen teorik değere uygun olduğu söylenebilir. Genel olarak Eudragit türevleri ile hazırlanan filmlerde kalınlıklar $300 \mu\text{m}$ 'den daha düşük iken, filmlerdeki etil selülozun oranının artmasıyla orantılı olarak kalınlık değerleri artmış ve $300 \mu\text{m}$ 'den yüksek bulunmuştur (Çizelge 3.25). Bu farklılığın etil selüloz ve Eudragit türevleri arasındaki molekül boyutu ve polimer yapısı farklılıklarından ileri geldiği düşünülmektedir.

4.2.3. Etkin Madde Miktar Tayini ve İşlem Etkinliği Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Miktar tayinleri hem zidovudinun hem de polimerlerin iyi çözünürlük gösterdiği etanol ortamında yapılmıştır. Sonuçlar Çizelge 3.26 ile verilmiştir. Buna göre AA16 kodlu film haricinde, % 90 dan yüksek işlem etkinlikleri elde edilmiştir (Çizelge 3.27). Yine işlem etkinliğine ait bağıl sapmalar incelendiğinde % 1,62-% 5,52 arasında değerler elde edilmiştir. Bu da her bir üretimin ayrı bir örnek olarak hazırlandığı bir üretim yöntemi ile çalışılmasına rağmen oldukça yüksek bir verim ve düşük sapma elde edildiğini göstermektedir. AA16 kodlu film ise polimer olarak sadece etil selüloz kullanılarak hazırlanmıştır. Bu filme ait işlem etkinliği düşük (% 68,24), bağıl sapma ise yüksek (% 16,06) bulunmuştur. Bunun nedeninin polimer çözeltilerinin paslanmaz çelik disklerle dökülmesinden sonra buharlaşma sırasında diskin orta kısımlarından disk cidarına doğru yığılması olduğu düşünülmektedir. Sonuçta kalınlık ve işlem etkinliği tayinleri için diskin farklı bölgelerinden alınan numuneler arasında da sonuçlar yüksek sapma göstermektedir. AA16 kodlu formül düşük verimi ve yüksek bağıl sapması nedeniyle tek başına kullanılmak yerine Eudragit RL 100 ile kombine edilmiştir.

4.2.4. Filmlerden Etkin Madde Salımına Ait Sonuçların Değerlendirilmesi

Filmlerden etkin madde salım deneyleri in vitro ve ex vivo olarak Franz Difüzyon Hücresi yöntemi ile tayin edilmiştir. İn vitro etkin madde çıkış hızı sonuçları incelendiğinde en hızlı etkin madde çıkışının polimer olarak % 100 Eudragit RL 100 kullanıldığında (AA14) elde edildiği, % 100 etilselüloz ile hazırlanan formülden (AA16) ise etkin madde çıkışının en yavaş olduğu görülmüştür (Çizelge 3.28, Şekil 3.19, Şekil 3.20). AA14 kodlu filmde 8 saat sonundaki kümülatif etkin madde çıkışı beklenildiği gibi, AA15 kodlu filmde (% 100 Eudragit RS 100) etkin madde çıkışından daha fazladır. Bunun nedeni Eudragit RL 100'ün hidrofilik ve RS 100'ün ise hidrofobik yapıda oluşudur. Yine bu iki polimerin sahip olduğu kuaterner amonyum grupları incelendiğinde, RL 100 polimerin iki katı oranda kuaterner amonyum grubu içerdiği görülmektedir (Kibbe, 2000). Etilselüloz ve RS 100 gibi

hidrofobik özellik gösteren polimerlerin oranı arttırıldığında, bu polimerler ile hazırlanan filmlerden etkin madde çıkışı azalmaktadır. (Mutalik ve ark., 2006). Eudragit RL100 ve RS 100 polimerlerin 1:1 oranında kullanıldığı AA17 kodlu filmde etkin madde çıkışı ise, AA15 kodlu filmde etkin madde çıkışına oranla daha hızlı olmakla birlikte RL 100 ve EC'nin beraber kullanıldığı formülasyonlardan AA18 kodlu film haricinde (RL 100: EC, 1:1) belirgin derecede farklı bulunmamıştır. İstatistik çalışması % 95 olasılık seviyesinde çift yönlü t-testi uygulanarak yapılmıştır (GraphPad Instat 3.0).

Eudragit RL 100 ile EC polimerlerin çeşitli oranlarda kombine edilmesiyle elde edilen formüllerde ise, filmde etkin madde çıkışı AA14 kodlu filmde etkin madde çıkışına oranla belirgin derecede yavaştır. Bu grupta yer alan 3 formül (AA18, AA19, AA21) arasında en yavaş etkin madde çıkışı AA18 kodlu filmde (RL 100:EC, 1:1) gerçekleşmiştir. Kullanılan EC oranının azaltılmasına bağlı olarak etkin madde çıkışının artması beklenmektedir. Ancak bu üç filmde etkin madde çıkışları arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Bunun nedeni olarak çalışma şartlarından kaynaklanan standart ve bağıl sapmaların yüksek oluşu gösterilebilir.

AA14-AA19 ve AA21 kodlu filmlerden etkin madde çıkışı kinetik açıdan incelendiğinde ise, genel olarak salımlarının Higuchi kinetiğine uyum gösterdikleri görülmüştür (Çizelge 3.29). Filmlerden etkin madde salımı Peppas kinetiği açısından incelendiğinde "k" değerlerinin genel olarak $k < 0.5$ olduğu gözlenmiştir. Ancak % 100 EC kullanılan AA16 kodlu film için Peppas kineğine ait "k" değeri $k > 1$ ve yine AA18 kodlu film (RL 100:EC, 1:1) için "k" değeri $1 > k > 0.5$ olarak bulunmuştur. Disk şeklindeki preparatlar için bu değerlerin 1'den büyük olması salım kinetiğinin 0. derece kinetiğe uyduğunu göstermektedir. Ancak bu filme (AA16) ait işlem etkinliklerinin düşük (% 68) ve kalınlık standart sapmasının diğer filmlere oranla fazla (SS: 5,86) olması nedeniyle homojen olarak elde edilemediğine karar verilmiştir.

4.2.5. Filmlerden Etkin Madde Çıkış Hızı Üzerine İyontoforezin Etkisinin Değerlendirilmesi

Filmlerden etkin madde çıkış hızı üzerine iyontoforezin etkisi Franz difüzyon hücreleri, DC akım ve Ag/AgCl elektrotlar kullanılarak, % 5 a/a etkin madde içerecek şekilde hazırlanmış olan AA14B ve AA18B kodlu formüllerin üzerinde incelenmiştir. Bu amaçla seçilen düşük (0,1 mA/cm²) ve yüksek (0,5 mA/cm²) akım şiddetleri 2 saat süreyle uygulanmıştır.

Bu çalışma için seçilen AA14 kodlu film etkin madde çıkışının en hızlı olduğu formülasyondur. Etkin madde çıkışının en yavaş olduğu % 100 EC içeren AA16 kodlu formül ise bölüm 4.2.4. de anlatıldığı üzere en yavaş çıkışa sahip ve 0.derece kinetiğe uyumlu bulunmuş olmasına rağmen üretim verimi açısından uygun bulunmamıştır. Bu nedenle AA14 kodlu formül ile kıyaslamak üzere etil selülozu en yüksek oranda içeren AA18 kodlu formül seçilmiştir (Çizelge 3.24) . Bu amaçla filmlere yüklenen etkin madde oranı % 2,5 a/a'dan 2 katına çıkarılarak, % 5 a/a etkin madde içerecek şekilde AA14B ve AA18B kodlu formülasyonlar hazırlanmıştır.

Uygulanan akım ile etkin maddenin UV spektrofotometrik özelliklerinin değişmediğini gözlenmiştir ve çalışma sonuçları UV spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir. İyontoforez uygulaması sonucunda beklentiler doğrultusunda seçilen her iki filmde de etkin madde çıkışının artan elektrik akımıyla artış gösterdiği görülmüştür (Çizelge 3.31, Çizelge 3.32, Şekil 3.21-Şekil 3.24). Etkin madde çıkış hızlarındaki artış, akım şiddeti düşük tutulduğunda, AA14B kodlu film için % 95 olasılık seviyesinde çift yönlü t-testi uygulandığında istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (GraphPad InStat 3.0). Ancak akım şiddeti 0,5 mA/cm² olduğunda çıkış hızındaki artış önemli derecede farklı bulunmuştur (Çizelge 3.31). AA18B kodlu filmde etkin madde çıkış hızındaki artış ise akım şiddetinin artışı ile doğru orantılı olarak önemli derecede farklıdır (Çizelge 3.32). AA14B kodlu film üzerine 0,1 mA/cm² akım uygulandığına beklenenin aksine istatistiksel fark bulunmamasının nedeni ise kontrol grubuna ait verilerdeki standart sapmaların yüksek oluşudur.

4.2.6. Ex Vivo Çalışmalara Ait Sonuçların Değerlendirilmesi

Zidovudinün Wistar cinsi sıçan derisinden geçiş hızı üzerine penetrasyon arttırıcıların etkisi iyontoforez ve DMSO kullanılarak gösterilmiştir. Bu amaçla Franz difüzyon hücreleri, DC akım ve Ag/AgCl elektrotlar kullanılarak, 0,1 mA/cm² ve 0,5 mA/cm² akım şiddetleri 2 saat süreyle uygulanmıştır. Yine % 1 a/a ve % 5 a/a DMSO çözeltileri önceden 2 saat süreyle Franz difüzyon hücrelerine yerleştirilen deri üzerine uygulanmıştır.

Çalışmada kullanılan her iki formül için de (% 5 a/a etkin madde içeren AA14B, AA18B kodlu formüller) etkin maddenin deriden geçiş hızı en yavaş pasif difüzyonla gerçekleşmiştir (Çizelge 3.33, Çizelge 3.34, Şekil 3.20-Şekil 3.32). İyontoforez uygulamasının etkisi incelendiğinde, 0,1 mA/cm² akım şiddetinin deriden geçişi belirgin derecede arttırdığı görülmüştür. Bu akım şiddeti 0,5 mA/cm²'ye yükseltildiğinde deriden geçen etkin madde miktarında daha fazla artış gözlenmiştir. Kimyasal penetrasyon arttırıcı olarak kullanılan DMSO'nun etkisi incelendiğinde; DMSO'nun deriden geçişi arttırdığı ancak bu defa bu artışın penetrasyon arttırıcının konsantrasyonundan etkilenmediği gözlenmiştir. Yine uygulanan akım şiddetleri ve kimyasal penetrasyon arttırıcıların etkisi birlikte incelendiğinde; uygulanan 0,5 mA/cm² akım şiddetinin etkisi ile DMSO'nun etkisi arasında istatistiksel bir fark gözlenememiştir. Ancak her iki uygulama standart sapma değerleri açısından incelendiğinde iyontoforez ile elde edilen değerlerin standart sapmalarının DMSO ile elde edilen değerlere oranla daha düşük olduğu görülmektedir ve bu durum iyontoforez uygulamasına ait bir avantaj olarak düşünülmektedir. İstatistik çalışması % 95 olasılık seviyesinde çift yönlü t-testi uygulanarak yapılmıştır (GraphPad InStat 3.0).

Çizelge 3.33 ve Çizelge 3.34'deki veriler incelendiğinde iyontoforez uygulanan örneklerde etkin maddenin reseptör fazdan, ilk örneğin alındığı 15. dakikadan itibaren kantitatif olarak tayin edilebildiği görülmüştür. Ancak iyontoforez uygulanmayan örneklerde etkin madde kantitatif olarak 60. dakikadan itibaren tayin

edilebilmiştir. Bu durumu iyontoforezin deriden geçişteki gecikme süresini kısaltması ile açıklamak mümkündür.

Literatürlere göre, DMSO'nun deriden geçişi arttırması stratum korneumun çözücü yapısını değiştirerek ve lipit ve protein yapılarına etki ederek gerçekleşmektedir. Bu şekilde stratum korneum daha geçirgen bir hal almaktadır (Williams ve Barry, 2004). İyontoforezin etki mekanizması ise, deri eklerinden (kıl folikülleri ve ter bezi kanalları) elektriksel itme kuvveti yardımıyla gerçekleşmektedir (Wang ve ark., 2005).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, her ne kadar çalışmamızda uygulanan penetrasyon artırma mekanizmaları ile elde edilen sonuçlar birbirine yakın bulunmuş ise de, iyontoforez uygulamasının deriden etkin maddenin geçişini akım şiddeti artışına bağlı olarak arttırdığı ve iyontoforez uygulanan örneklerden elde edilen verilerin standart sapmalarının küçük olması nedeniyle bu yöntemin değişkenlerden daha az etkilendiği görülmüştür. Bu nedenle, çalışmamızda kullandığımız polimerlerin tipi ve oranları gibi formülasyona ait parametreler ve iyontoforez yönteminin etki süresi, akım tipi ve şiddeti gibi iyontoforeze ait faktörler ayarlanarak zidovudinun transdermal yol ile uygulanmasında deriden geçen etkin madde miktarını modifiye edilebileceği ve bu amaçla iyontoforez yönteminden yararlanılabileceği düşünülmektedir.

ÖZET

Zidovudinin Transdermal Uygulanmasında Geçiş Arttırma Çalışmaları

Bu araştırmada, AIDS tedavisinde kullanılan bir etkin madde olan Zidovudin'in transdermal uygulanması sırasında penetrasyon arttırıcılar yardımıyla deriden geçişinin arttırılması üzerinde çalışılmıştır.

Çalışmamızda zidovudinin transdermal yol ile uygulanabilecek, tek tabakalı filmlerini elde edebilmek amacıyla polimetil metakrilat türevleri (Eudragit RL 100, RS 100) ve etil selüloz veya bunların karışımları kullanılmıştır. Filmler tarafımızdan yaptırılmış olan 3,6 cm çapında paslanmaz çelik diskler içerisinde çözücü uçurma yöntemiyle hazırlanmıştır. Elde edilen filmler kuru polimer ağırlığı üzerinden % 2,5 veya % 5 a/a etkin madde, % 25 a/a dibutil sebasat içermektedir. Hazırlanan filmler üzerinde UV spektrofotometrik ve HPLC analiz yöntemleri kullanılarak etkin madde miktar tayinleri, çap ve kalınlık tayinleri ile in vitro ve ex vivo etkin madde salım çalışmaları yapılmıştır.

Hazırlanan filmlerden in vitro etkin madde salımı Franz difüzyon hücrelerinden, 0,22 µm selüloz asetat membran kullanılarak çalışılmıştır. Etkin madde çıkışı üzerine polimerlerin etkisi incelendiğinde, Eudragit RL 100 ile hazırlanan filmlerden (AA14) 8 saat sonunda çıkışın hızlı ve etil selüloz ile hazırlanan filmlerden (AA16) çıkışın yavaş olduğu görülmüştür. Elde edilen veriler incelendiğinde, filmlerden etkin madde salımının Higuchi kinetiklerine uyum gösterdiği bulunmuştur. İn vitro etkin madde çıkışına iyontoforezin etkisi 0,1 mA/cm² ve 0,5 mA/cm² DC akım kullanılarak incelenmiş ve sonuçta iki saat süreyle yapılan iyontoforez uygulamasını takiben, akım şiddetine bağlı olarak etkin maddenin polimerden çıkış hızında anlamlı bir artış olduğu görülmüştür.

Ex vivo çalışmalarda ise Franz difüzyon yönteminde 250-300 g, erkek Wistar ratlardan elde edilen 5 cm² 'lik sırt derileri membran olarak kullanılmıştır. Bu grup deneylerde Eudragit RL 100 içeren filmler (AA14B) ve Eudragit RL 100:Etiselüloz (1:1) karışımı içeren filmler (AA18B), % 5 a/a konsantrasyonda etkin madde içerecek şekilde hazırlanmıştır. Bu filmlerden salınan zidovudinin pasif difüzyon ile deriden penetrasyonu, iyontoforez yöntemi (0,1 mA/cm² ve 0,5 mA/cm² akım şiddeti, DC akım, Ag/AgCl elektrot, 2 saat) ve kimyasal penetrasyon arttırıcı ön uygulaması (% 1 a/a ve % 5 a/a DMSO çözeltisi, 2 saat) ile kıyaslanmıştır. Sonuç olarak, zidovudinin deriden geçen miktarı penetrasyon arttırıcı yardımıyla arttırılmıştır. İki saat süreyle yapılan iyontoforez uygulamasını takiben, akım şiddetine bağlı olarak etkin maddenin deriden geçişinde anlamlı bir artış bulunmuştur ve geçişin başladığı "gecikme süresi" iyontoforez uygulaması ile kısaltılmıştır. Ancak etkin maddenin deriden penetrasyonu açısından, uygulanan 0,5 mA/cm² akım şiddetinin etkisi ile DMSO'nun etkisi arasında istatistiksel bir fark gözlenmemiştir. Yine uygulanan DMSO konsantrasyonlarının penetrasyon üzerine etkisi açısından da fark bulunmamıştır.

Her iki uygulama şekli ile de istatistiksel olarak yakın sonuçlar elde edilmesine rağmen, iyontoforez yöntemi kullanılarak elde edilen sonuçların düşük standart sapma içermesi nedeniyle, bu yöntemin DMSO uygulamasına oranla avantajlı olduğuna karar verilmiştir.

Anahtar Kelimeler : Dimetil sülfoksit, İyontoforez, Transdermal Uygulamalar, Zidovudin

SUMMARY

Studies on, Transdermal Delivery enhancement strategy of Zidovudine

In this study, transdermal delivery of anti-AIDS active agent zidovudine was tried to enhance by using penetration enhancers.

In order to prepare formulations, polymethyl methacrylate type polymers (Eudragit RL 100, RS 100) and ethyl cellulose polymers were used either alone or in combination with each other. Films were prepared by solvent evaporation method in stainless steel discs (3,6 cm in diameter). Each of the monolithic films includes 2,5 % w/w or 5 % w/w AZT and 25 % w/w dibutyl sebacate of the dry polymer weight. HPLC and UV spectrophotometric analyses were used to determine amount of the drug in the films. Film thicknesses and diameters and in vitro and ex vivo release studies from films with franz diffusion method was performed.

In vitro release study from films was studied with franz diffusion cells by using 0,22 μm cellulose acetate membrane. The effect of polymer type on the in vitro release of zidovudine from films was performed and it was found that, the films that includes Eudragit RL 100 (%100 w/w) showed more rapid in vitro drug release among the formulations and films prepared by ethyl cellulose (%100 w/w) have the slowest in vitro drug release among the formulations. All the formulations were best fitted to Higuchi release kinetics. The effect of iontophoresis on the in vitro release of zidovudine was performed for 2 hours with 0,1 mA/cm^2 and 0,5 mA/cm^2 direct current by using Ag/AgCl electrodes and the results showed that the effect of iontophoresis on the release of zidovudine from the films were increased by increasing the current.

In the ex vivo experiments, 5 cm^2 dorsal skin of male wistar rats (250-300 weight) were used as membrane. These experiments were studied on the films coded as, AA14B (100 % Eudragit RL 100) and AA18B (Eudragit RL 100: Ethylcellulose (1:1) mixture) which were included the active substance at 5 % w/w. The passive diffusion of zidovudine from these films compared with iontophoresis application (0,1 mA/cm^2 and 0,5 mA/cm^2 current, DC current, Ag/AgCl electrode, 2 hours) and pre-treatment of chemical penetration enhancer (% 1 w/w and % 5 w/w DMSO solution, 2 hours). It was investigated that, the zidovudine amount transported from wistar rat skin increased by using these penetration enhancers. After 2 hours of iontophoresis application, it was found that the amount of zidovudine which transported from wistar rat skin was significantly increased by increasing the application current. Also the lag time for the study was significantly decreased. Significant difference was not found between effect of the 0,5 mA/cm^2 iontophoresis and DMSO pre-treatment applications, in terms of zidovudine amount which

transported to the receptor fluid. Also, no significant difference was found between the concentration effects of DMSO that applied to wistar rat skin.

The both enhancement methods were statistically have the same efficacy but the data obtained from iontophoresis application had smaller standard deviations than DMSO pre-treatment. This was the reason that we decided to enhance transdermal delivery of zidovudine by iontophoresis application in contrast with DMSO pre-treatment.

Key Words : Dimethyl sulfoxide, Iontophoresis, Transdermal Applications, Zidovudine

KAYNAKLAR

- ARAUJO, A.A.S., STORPIRTIS, S., MERCURI, L.P., CARVALHO, F.M.S., FILHO, M.d.S., MATOS, J.R. (2003). Thermal analysis of the antiretroviral zidovudine (AZT) and evaluation of the compatibility with excipients used in solid dosage forms. *International Journal of Pharmaceutics*, **260**: 303-314
- BANGA, A.K. (1998). Electrically Assisted Transdermal and Topical Drug Delivery. Taylor and Francis, UK-USA.
- BANGA, A.K., BOSE,S., GHOSH,T.K., (1999). Iontophoresis and electroporation: comparisons and contrasts. *International Journal of Pharmaceutics*, **179**: 1-19
- BANGA, A.K. (2000). Electrically Assisted Transdermal Delivery of Drugs , 567-581 in WISE D. L. *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*, Marcel Dekker Inc, Chapter 27.
- BARBER, T.A. (1993). Pharmaceutical particulate matter analysis and control. Interpharm Press Buffalo Grove.
- BARRY, B.W. (2001a). Novel mechanism and devices to enable successful transdermal drug delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **14**: 101-114
- BARRY, B.W. (2001b). Is transdermal drug delivery research still important today?. *DDT Vol. 6, No. 19 October 2001*
- BARRY, B.W. (2002). Drug delivery routes in skin: a novel approach. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **54 Suppl 1**: S31-S40
- BLOCK, L.H. (2000). Chapter 44: Medicated Topicals, in Remington: The Science and Practice of Pharmacy, GENNARO A.R. (Ed.), 20th edition, Lippincott Williams and Wilkins, USA .
- BOSMAN, I.J., LAWANT, A.L., AVEGAART, S.R., ENSING, K., ZEEUW, R.A. (1996). Novel diffusion cell for in vitro transdermal permeation, compatible with automated dynamic sampling. *J. Pharm. and Biomed. Analysis.*, **14**: 1018-1023.
- British Pharmacopoeia (1999). Volume I-II. Cambridge, University of Printing House.
- BRONAUGH, R.L., STEWART, R.F. (1985). Methods for in vitro percutaneous absorption studies: IV: the flow-through diffusion cell. *J.Pharm. Sci.*, **74 (1)**: 64-67.

- BUGAY, A., JUZENIENNE, A., JUZENAS, P., IANI, V., MA LI, W., MOHAN J. (2006). The effect of permeation enhancers on the formation of porphyrins in mouse skin during topical application of the methyl ester of 5-aminolevulinic acid. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **83**: 94-97
- CHU, D.L., CHIOU, H.J., WANG, D.P. (1994). Characterization of transdermal delivery of Nefopam hydrochloride under iontophoresis. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **20(18)**: 2775-2785.
- CLERCQ, E. (2001). Antiviral drugs: current state of the art. *Journal of Clinical Virology*, **22**: 73-89
- CLERCQ, E. (2004). Antiviral drugs in current clinical use. *Journal of Clinical Virology*, **30**: 115-133
- DEĞİM, İ.T., PUGH, W.J., HADGRAFT, J. (1998). Effect of ion complexants on the iontophoresis of salbutamol. *International Journal of Pharmaceutics*, **167**: 229-231
- DEMOU, J.S., SIDHAM, M.B., PLAKOGIANNIS, F.M. (1994). Comparative in vitro diffusion studies for atenolol transdermal delivery system. *Pharm. Acta Helvetiae*. **68**: 215-219.
- DENET A.-R., VANBEVER, R., PREAT, V. (2004). Skin electroporation for transdermal and topical delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **56**: 659-674
- ELSAYED, M.M.A., ABDALLAH, O.Y., NAGGAR, V.F., KHALAFALLAH, N.M. (2006). Deformable liposomes and ethosomes: Mechanism of enhanced skin delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, **322**: 60-66
- ERGENÇ, N., GÜRSOY, A., ATEŞ, Ö. (1984). İlaçların Tanınması ve Kantitatif Tayini. İstanbul:Oğul matbaacılık.
- European Pharmacopoeia, 4th Edition. (2002). Transdermal Patches, p: 550-551. Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, France-2001.
- FANG, J.Y., WANG, R.J., HUANG, Y.B., WU, P.C., TSAI, Y.H. (2000). Passive and iontophoretic delivery of three diclofenac salts across various skin types. *Biol. Pharm. Bull.*, **23 (11)**: 1357-1362.
- FARINHA, A., TOSCANO, C., CAMPOS, R., BICA, A., HADGRAFT, J. (2003). Permeation of Naproxen from saturated solutions and commercial formulations through synthetic membranes. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **29 (4)**: 489-494.
- FDA. (2002). Combivir label information, <http://www.fda.gov/cder/foi/label/2002/20857-slr012lbl.pdf>

- FINI A., FAZIO, G., RODRÍGUEZ, M.G., CAVALLARI, C., PASSERINI, N., RODRIGUEZ, L., (1999). Formation of ion pairs in aqueous solutions of diclofenac salts. *International Journal Of Pharmaceutics*, **187**: 163-173
- GILL, H.S., PRAUSTNITZ, M.R. (2007). Coated microneedles for transdermal drug delivery. *Journal of Controlled Release*, **117**: 227-237
- GUY, R.H., HADGRAFT, J. (1985). Chapter 1: Mathematical Models of Percutaneous Absorption, in Percutaneous Absorption, Bronaugh, R.L., Maibach, H.I.(Ed.), Marcel Dekker Inc., New York and Basel.
- HADGRAFT, J. (2004). Skin deep. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **58**:291-299.
- HANKIN, Y.M., (2007). Conflicting representations in business and media texts: The case of powderject pharmaceuticals plc. *Journal of Pragmatics*, **39**: 1088-1104.
- HARDEN, J.L., VIOVY, J.L. (1996). Numerical studies of pulsed iontophoresis through model membranes. *J. Controlled Rel.*, **38**:129-139.
- HEKİMOĞLU-KONUR, S. (1987). Perkütan absorpsiyonu in vivo inceleme yöntemleri. *FABAD Farm. Bil. Der.*, **12**: 26-38.
- ICH Guideline. (2005). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1), <http://www.ich.gov/LOB/media/MEDIA417.pdf>.
- ISHIKAWA, O., KATO, Y., ONISHI, H., NAGAI, T., MACHINDA, Y. (2002). Enhancement of transdermal absorption by switching iontophoresis. *International Journal of Pharmaceutics*, **249**: 81-88.
- JADOUL, A., BOUWSTRA, J., PREAT, V. (1999). Effect of iontophoresis and electroporation on the stratum corneum Review of the biophysical studies. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **35**: 89-105
- JENQUIN, M.R., MCGINITY, J.W. (1994). Characterization of acrylic resin matrix films and mechanisms of drug-polymer interactions. *Int. J. Pharm.*, **101**: 23-34.
- JIA-YOU, F., CHI-TZANG, H., WEN-TA, C., YING-YUE, W. (2001). Effect of liposomes and niosomes on skin permeation of enoxacin. *International Journal of Pharmaceutics*, **219**: 61-72
- KALIA, Y.N., NAIK, A., GARRISON, J., GUY, R.H. (2004). Iontophoretic drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **56**: 619-658

- KANIKKANNAN, N., SING, J., RAMARAO, P. (2001). In vitro transdermal iontophoretic transport of timolol maleate: effect of age and species. *J. Controlled Rel.*, **71(1)**: 99-105.
- KIBBE , A.H., 3rd Ed. , Handbook of Pharmaceutical Excipients , Apha, London , UK. (2000). 401-406: Polymethacrylates
- KIM, D.D., CHIEN, Y.W. (1996). Simultaneous skin permeation of dideoxynucleoside type anti HIV drugs. *Journal of Controlled Release*, **40(1)**: 67-76(10)
- LANGER, R. (2004). Transdermal drug delivery: past progress, current status and future prospects. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **56**: 557-558
- LAVON, I., KOST, J. (2004). Ultrasound and transdermal drug delivery. *DDT Vol.9*, No 15 August 2004.
- LEE, R.D., WHITE, H.S., SCOTT, E.R. (1996). Visualization of iontophoretic transport paths in cultured and animal skin models. *J. Pharm. Sci.*, **85(11)**: 1186-1190.
- LEE, A.J., KING, J.R., BARRET, D.A. (1997). Percutaneous absorption: a multiple pathway model. *Journal of Controlled Release*, **45**: 141-151
- LIN, R.-Y., OU, Y.-C., CHEN, W.-Y. (1997). The role of electroosmotic flow on in vitro transdermal iontophoresis. *Journal of Controlled Release*, **43**: 23-33
- LIN, S.Y., CHENG, C.L., PERNG, R.I. (1994). Solid state interaction studies of drug-polymer (II): Warfarin- Eudragit E, RL or S resins. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **(1)**: 313-322.
- LOPEZ, R.F.V., BENTLEY, M., VICTORIA, L.B., DELGADO-CHARRO, M.B., GUY, R.H. (2003). Optimization of aminolevulinic acid delivery by iontophoresis. *Journal of Controlled Release*, **88**: 65-70
- MACHET, L., BOUCAUD, A. (2002). Phonophoresis: efficiency, mechanism and skin tolerance. *Internetinal Journal of Pharmaceutics*, **243**: 1-15
- MANABE , E., NUMAJIRI, S., SUGIBAYASHI, K., MORIMOTO, Y. (2000). Analysis of skin permeation-enhancing mechanism of iontophoresis using hydrodynamic pore theory. *J. Controlled Rel.*, **66(2-3)**: 149-158.
- Martindale. (2005). Zidovudine in Martindale: the complete drug reference, SWEETMAN, S.C. (Ed.), 34th Edition, Published by Pharmaceutical Press, UK.
- MEIDAN, V.M., BONNER, M.C., MICHNIAK, B.B. (2005). Transfollicular drug delivery-is it a reality? *International Journal of Pharmaceutics*, **306**: 1-14

- MULLINS, J.D. (1980). Chapter 87, Medicated Applications, in Remington: The Science and Practise of Pharmacy, OSOL, A. (Ed.), 16th Edition, Mack Publishing Company, Easton, USA.
- MUTALIK, S., UDUPA, N., KUMAR, S., AGARWAR, S., SUBRAMANIAN, G., RANJITH, A.K. (2006). Glipizide matrix transdermal systems for diabetes mellitus: Preparation, in vitro and preclinical studies. *Life Sciences*, **79**: 1568-1577.
- NARISHETTY, S.T., PANCHAGNULA, R. (2004). Transdermal delivery system for zidovudine: in vitro, ex vivo, in vivo evaluation. *Biopharmaceutics and Drug Dispotion*, **25(1)**: 9-20
- OH, S.Y., JEONG, S.Y., PARK, T.G., LEE, J.H. (1998). Enhanced transdermal delivery of AZT using iontophoresis and penetration enhancer. *Journal of Controlled Release*, **51**: 161-168
- PANCHAGNULA, R., PILLIA, O., NAIR, V.B., RAMARAO, P. (2000). Transdermal iontophoresis revisited. *International Journal of Pharmaceutics*, **269**: 109-120.
- PDR. 2005. 59th Edition. Combivir in Physicians' Desk Reference. Bette LaGow (Manager, Editorial Services). Published by Thomson PDR at Montvale, NJ 07645-1742.
- PHADNIS, N.V., CAVATUR, R.K., SURYANARAYANAN, R. (1997). Identification of drugs in pharmaceutical dosage forms by X-ray powder diffractometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **15(7)**: 929-43.
- PILLIA, O., PANCHAGNULA, R. (2001). Polymers in drug delivery. *Current Opinion in Chemical Biology*, **5**: 447-451
- POET, T.S., McDOUGAL, J.N. (2002). Skin absorption and human risk assessment. *Chemico-Biological Interactions*, **140**: 19-34
- PRAUSTNITZ, M.R. (1996). The effect of electric current applied to skin: A review for transdermal drug delivery. *Advanced Drug Delivey Reviews*, **18**: 395-425
- PRAUSTNITZ, M.R. (2004). Microneedles for transdermal delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **56**: 581-587
- RIVIERE, J.E., HEIT, M.C. (1997). Electrically-assisted transdermal drug delivery. *Pharmaceutical Research*, **14**: 687-697
- Röhm Pharma Data Sheet, HTMLfiles\pharma4_ formulation\4.6.1.pdf

- SEKI, T., TOEDA, C., KAWAGUCHI, T., JUNI, K., SUGUBAYASHI, K., MORIMOTO, Y. (1990). Enhanced transdermal delivery of zidovudine in rats and human skin. *Chemical Pharmaceutical Bull.(bulletin)*, **38(11)**: 3086-3089
- SEKI, T., KAWAGUCHI, T., JUNI, K., SUGUBAYASHI, K., MORIMOTO, Y. (1991). Sustained transdermal delivery of zidovudine via controlled release of penetration enhancers. *Journal of Controlled Release*, **17**: 41-47
- SHAH, J.C., KAKA, I., TENJARLA, S., LAU, S.W.J., CHOW, D. (1994). Analysis of percutaneous permeation data: II. Evaluation of the lag time method. *Int. J. Pharm.*, **109**: 283-290.
- SHERGOLD, O.A., FLECK, N.A., KING, T.S. (2006). The penetration of a soft solid by liquid jet, with application to the administration of a needle-free injection. *Journal of Biomechanics*, **39**: 2593-2602
- SINGH, P., MAIBACH, H.I. (1994). Iontophoresis in drug delivery: Basic principles and applications. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, **11(2-3)**: 161-213.
- SING, P., MAIBACH, H.I. (1996). Iontophoresis: an alternative to the use of carriers in cutaneous drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **18**: 379-394
- STAMATIALIS, D.F., ROLEVINK, H.H.M., KOOPS, G.H. (2002). Controlled transport of timolol maleate through artificial membranes under passive and iontophoretic conditions. *J. Controlled Rel.*, **81**: 335-345.
- TARIMCI, N., YÜKSEL, A. (1988). Deriden Emilme: Biyolojik Mekanizmaya Bir Bakış. *Mar. Üniv. Ecz. Der.*, **4 (1)**: 35-44.
- TEO, A.L., SHERWOOD, C., Ng KIAN, C., LU, J., MOOCHHALLA, S. (2006). Transdermal microneedles for drug delivery applications. *Materials Science and Engeneering*, **B 132**: 151-154
- The United States Pharmacopeia (24). (2000). The united States Pharmacopeial Convention, Inc. Rockville, M.D., p.: 2149-2152.
- THOMAS, N.S., PANCHAGNULA, R. (2003). Transdermal delivery of zidovudine: effect of vehicles on permeation across rat skin and their mechanism of action. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **18(1)**: 71-9
- THYSMAN, S., PREAT, V., ROLAND, M. (1992). Factors affecting iontophoretic mobility of metaprolol. *J. Pharm. Sci.*, **81(7)**: 670-675.
- TOITOU, E., DAYAN, N., BERGELSON, L., GODIN, B., ELIAZ, M. (2000). Ethosomes-novel vesicle carrier for enhanced delivery charge and skin penetration properties. *Journal of Controlled Release*, **65**: 403-418

- TROTTA, M.,UGAZIO, E., PEIRA, E., PULITANO, C., (2003). Influence of ion pairing on topical delivery of retinoic acid from microemulsions. *Journal of Controlled Release*, **86**: 315-321.
- TYLE, P., KARI, B. (1988). Iontophoretic drug delivery in: Drug Delivery Devices, Fundamentals and applications. Ed.: P. Tyle. Marcel Dekker Inc. New York and Basel, Chapter 14
- USLU, B., ÖZKAN, S.A. (2002). Determination of lamivudine and zidovudine in binary mixtures using first derivative spectrophotometric, first derivative of the ratio-spectra and high-performance liquid chromatography-UV methods. *Analitica Chimica Acta*, **466**: 175-185
- WANG, Y., THAKUR, R., FAN, Q., MICHNIAK, B. (2005). Transdermal iontophoresis: combination strategies to improve transdermal iontophoretic drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **60**: 179-191
- WILLIAMS, A.C., BARRY, B.W. (2004). Penetration enhancers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **56**: 603-618
- Vademecum, Türkiye tıbbi ilaç rehberi.(2006). 1. Baskı, Farmatıp yayıncılık
- VALENTA, C., AUNER, B.G. (2005). The use of polimers for dermal and transdermal delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **58**: 279-289
- YÜKSEL, A. (1992). Değişik Sıvağlardan Diklofenak Sodyumun Salımının ve In Vivo Perkütan Absorpsiyonunun İncelenmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- YÜKSEL, N., TİNÇER, T., BAYKARA, T. (1996). Interaction between nicardipine hydrochloride and polymeric microspheres for a controlled release systems. *Int. J. Pharm.*, **140**: 145-154.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler:

Adı: Evrim Atılay
Soyadı: Takmaz
Doğum yeri ve tarihi: Kayseri, 21.04.1981
Uyruğu: TC
Medeni Hali: Bekar
Adres: Ümit Mahallesi Kafkas Sitesi 410. Sokak No:14 Ümitköy
/ ANKARA
Telefon: (0312) 2354614

Eğitim Durumu:

2004-2007 Ankara Üniversitesi / ANKARA
Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji A.B.D.'nda master eğitimi yapmaktayım.
2003 – 2004 Ankara Üniversitesi / ANKARA
Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji A.B.D.'nda özel öğrencilik yaptım.
1999 - 2004 Ankara Üniversitesi / ANKARA
Eczacılık Fakültesi, güz döneminde mezun oldum.
1996 - 1999 Fen Lisesi / MALATYA
Bahar döneminde mezun oldum.
1992 - 1996 Anadolu Ticaret Lisesi / MALATYA
Bahar döneminde mezun oldum.

Mesleki Tecrübesi:

Mes'ul müdür olarak
01.04.2004 – 07.06.2005 İrem Fatih Ecz. / ANKARA
Yardımcı eczacı olarak
07.2005 – 11.2005 Sevil Ecz. / ANKARA
Formülasyon sorumlusu olarak
11.2006 – 02.2007 Drogosan A.Ş./ANKARA

