

**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
2014-YL-022**

**ASETAZOLAMİD YÜKLÜ PARTİKÜLLERİN
HAZIRLANMASI VE İLAÇ SALIM SİSTEMİ OLARAK
KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI**

Tuğba MERT

**Tez Danışmanı:
Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER**

AYDIN

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE
AYDIN

Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Tuğba MERT tarafından hazırlanan "Asetazolamid Yüklü Partiküllerin Hazırlanması ve İlaç Salım Sistemi Olarak Kullanımının Araştırılması" başlıklı tez 24.06.2014 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan : Prof. Dr. Mustafa BİRİNCİOĞLU	ADÜ	
Üye : Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER	ADÜ	
Üye : Doç. Dr. Deniz AKTAŞ UYGUN	ADÜ	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim KurulununSayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cengiz ÖZARSLAN
Enstitü Müdürü

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

AYDIN

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

24/06/2014

Tuğba MERT

ÖZET

ASETAZOLAMİD YÜKLÜ PARTİKÜLLERİN HAZIRLANMASI VE İLAÇ SALIM SİSTEMİ OLARAK KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI

Tuğba MERT

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER

2014, 96 sayfa

Bu çalışmada aljinat/kitosan partiküllere bir karbonik anhidraz inhibitörü olan ve ilaç olarak kullanılan asetazolamidin tutuklanması ve kontrollü salımı için uygun üretim ve kullanım koşulları araştırılmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında aljinat/kitosan partiküllerinin üretim koşulları belirlenmiş ve bunun için 31 farklı kombinasyon denenerek optimizasyon yapılmıştır. Yüzde 88 asetazolamid tutuklanması tespit edilen kombinasyon en uygun formülasyon olarak kabul edilmiş ve tanecik karakterizasyonu yapılmıştır. FTIR ve EDX ölçümleri ile ilacın kovalent olmayan şekilde tutuklandığı; SEM ve Zetasizer ölçümleri ile taneciklerin nanoboyutta, ancak büyüklüklerinin yaklaşık 100-800 nm olacak şekilde düzensiz olduğu belirlenmiştir. Beş-55°C aralığında yapılan sıcaklık çalışmasında partiküllere asetazolamid yüklenmesine sıcaklığın etki etmediği saptandı. Üretilen ve optimize edilen nanopartiküllerden yapay mide, ince bağırsak ve göz sıvıları ortamlarında asetazolamidin salımı ilk dört saat sonunda sırasıyla yaklaşık % 21, % 27, % 25 ve % 7.5 olarak belirlendi. Sonuçlar, ticari asetazolamid oral tableti ile karşılaştırıldı ve üretilen nanopartiküllerin asetazolamidin iletimi ve salımı için uygun olabileceği ancak üzerinde daha fazla araştırma yapılması gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar sözcükler: Asetazolamid, aljinat, kitosan, ilaç iletimi, ilaç salımı.

ABSTRACT**PREPARATION OF ACETAZOLAMIDE LOADED PARTICLES AND INVESTIGATION OF THEIR UTILIZATION AS A DRUG DELIVERY SYSTEM**

Tuğba MERT

M. Sc. Thesis, Department of Chemistry
Supervisor: Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER
2014, 96 pages

In this work, the production and application conditions of acetazolamide, a potent carbonic anhydrase inhibitor, as a drug, was investigated. First, production conditions of alginate/chitosan particles were investigated by 31 different combinations and optimized. The formula in which 88 % acetazolamide entrapped accepted as the best combination and the particles were characterized. FTIR and EDX measurements proved that the drug was incorporated in a noncovalent manner, whereas SEM and Zetasizer measurement revealed that the particles were in nanoscale with approximately 100-800 nm irregular dimensions. In the temperature experiments, conducted between 5-55°C, it was found that temperature does not effect the acetazolamide loading efficiency of the particles. Acetazolamide released from the produced and optimized nanoparticles was monitored for four hours in artificial stomach, small intestine and simulated tear fluid and the release of the drug was found to be 21, 27, 25 and 7.5 % respectively. The results were compared with the commercial oral acetazolamide pills. It is concluded that the nanoparticles produced it this work are appropriate for acetazolamide delivery and release but need further investigation.

Key words: Acetazolamide, alginate, chitosan, drug delivery, drug release.

ÖNSÖZ

"Asetazolamid Yüklü Partiküllerin Hazırlanması ve İlaç Salım Sistemi Olarak Kullanımının Araştırılması" konulu tez çalışmam Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Başta çalışmalarımın planlanması ve yürütülmesinde her türlü maddi ve manevi desteği sağlayan, her sorduğum soruda beni bilgileriyle aydınlatan, gerek akademik, gerekse sosyal açıdan kendimi tamamlamama yardımcı olan ve hayat boyunca karakteri ve yaşam tarzıyla kendime örnek alacağım biricik danışman hocam sayın Prof. Dr. A. Alev KARAGÖZLER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin her aşamasında ve yüksek lisansım boyunca benden hiçbir konuda yardımını esirgemeyen, her zaman yanımda olan sevgili hocam ve canım arkadaşım Arş. Gör. Rukiye YAVAŞER'e gönülden teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımda bana yardımcı olan değerli hocalarım, Doç. Dr. Deniz AKTAŞ UYGUN'a ve Öğr. Gör. Dr. Murat UYGUN'a teşekkür ederim.

Deney aşamamda her zaman yanımda olan ve benden yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Pelin ALPAY, Merve TÜNEK ve Çağdaş SUNNA'ya teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan, beni destekleyen, her türlü sıkıntılarımda çözüm üreten ve her şeyden önemlisi varlığıyla bana güç veren sevgili arkadaşım Erhan ÇALIŞKAN'a sonsuz teşekkür ederim.

Son olarak çalışmalarım, eğitim ve daha da önemlisi hayatım boyunca moralimi yüksek tutmamı sağlayan, bana her konuda güvenen, sevgi ve desteklerini esirgemeyen canım aileme sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Tuğba MERT

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xix
1. GİRİŞ	1
1.1. İlaç ve Tarihçesi	1
1.2. İlaç İletimi: Kontrollü Salım	2
1.2.1. İlaç İletim Sistemleri	7
1.2.1.1.Oral İlaç İletim Sistemleri	7
1.2.1.2. Oküler İlaç İletim Sistemleri	9
1.2.1.3. Transdermal İlaç İletim Sistemleri	10
1.2.1.4. Parenteral İlaç İletim Sistemleri	11
1.2.1.5. İntranazal İlaç İletim Sistemleri	12
1.2.2. Polimerik İlaç İletim Sistemleri	13
1.2.2.1. Difüzyon Kontrollü İlaç Salım Sistemleri	14
1.2.2.2. Ozmotik Kontrollü İlaç Salım Sistemleri	16
1.2.2.3. Polimerin Erozyonu	17
1.3. Asetazolamid ve Özellikleri	18
1.3.1. Karbonik Anhidraz İnhibitörleri.....	20
1.4. İlaç Salım Sistemlerinde Kullanılan Biyopolimerler	26
1.4.1. Kitin ve Türevleri.....	27
1.4.2. Dekstran	29
1.4.3. Aljinat.....	30
1.4.4. Jelatin	32
2. KAYNAK ÖZETLERİ	33
2.1. İlaç Salım Sistemleri ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	33
2.2. Aljinat ve Kitosanın Kullanıldığı İlaç Salım Sistemleri.....	37
2.3. Asetazolamid ile İlgili Çalışmalar.....	42
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	50
3.1. Kimyasal ve Cihazlar	50
3.2. Yöntem.....	51

3.2.1. Asetazolamid Çalışma Grafiklerinin Hazırlanması	51
3.2.2. Maksimum Tutuklama, En İyi Partikül Oluşumu ve En Etkin İlaç Salımı için Formül Geliştirme	52
3.2.2.1. F28 Formülasyonu ile Boş Aljinat/Kitosan Nanopartiküllerin Hazırlanması	56
3.2.2.2. F28 Formülasyonu ile Asetazolamid Yüklü Aljinat/Kitosan Nanopartiküllerin Hazırlanması	58
3.3. Aljinat/Kitosan Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	60
3.3.1. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) Ölçümleri	60
3.3.2. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) Ölçümleri	60
3.3.3. Partikül Boyut Analizi (Zetasizer) Ölçümleri.....	60
3.3.4. Enerji Dağılımlı X-ışını Analizi (EDX) Ölçümleri	60
3.4. Nanopartiküller için Kütle/Hacim Grafiğinin Hazırlanması	61
3.5. Asetazolamid Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi	61
3.6. Asetazolamid Yükleme Kapasitesine Sıcaklığın Etkisi.....	61
3.7. Fizyolojik Koşulların İlaç Salımına Etkilerinin Saptanması	62
3.7.1. Asetazolamidin <i>in vitro</i> Mide Ortamında Salımının İncelenmesi	62
3.7.2. Asetazolamidin <i>in vitro</i> İnce Bağırsak Ortamında Salımının İncelenmesi..	62
3.7.3. Asetazolamidin <i>in vitro</i> Gözyaşı Ortamında Salımının İncelenmesi.....	62
3.7.4. Diazomid® tabletlerden <i>in vitro</i> Mide Ortamında Asetazolamid Salımının İncelenmesi	63
3.7.5. Diazomid® tabletlerden <i>in vitro</i> İnce Bağırsak Ortamında Asetazolamid Salımının İncelenmesi	63
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	64
4.1. Asetazolamid Çalışma Grafikleri	64
4.2. Partikül Geliştirme Çalışmaları	69
4.3. F28 Formülasyonu ile Hazırlanan Boş ve Asetazolamid Yüklü Aljinat/Kitosan Nanopartiküller.....	70
4.4. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu.....	71
4.4.1. FTIR Ölçümü Sonuçları	71
4.4.2. SEM Ölçümü Sonuçları.....	72
4.4.3. Zetasizer Ölçümü Sonuçları	74
4.4.4. EDX Ölçümü Sonuçları.....	75
4.5. Nanopartiküllerin Kütle/Hacim Grafiğinin Oluşturulması	76
4.6. Asetazolamid Yükleme Kapasitesi	77

4.7. Asetazolamid Tutuklama Kapasitesine Sıcaklığın Etkisi.....	78
4.8. Tutuklanmış Asetazolamidin Polimerden salımına pH'ın Etkisi	79
4.8.1. Asetazolamidin <i>in vitro</i> Mide, İnce Bağırsak ve Gözyaşı Ortamlarında Salımı.....	80
4.8.2. Asetazolamidin <i>in vitro</i> Mide ve İnce Bağırsak Ortamlarında Diazomid® Tabletlerden Salımı.....	82
5. SONUÇ	84
KAYNAKLAR	87
ÖZGEÇMİŞ	95

SİMGELER DİZİNİ

ACZ	Asetazolamid
ALG	Aljinat
ALG-CYS	Aljinat-sistein
BSA-SH	Disülfid bağı indirgenmiş sığır serum albümini
CA	Karbonik anhidraz
CA	Sitrik asit
CaCo-2	Hücre dizisi
CAI	Karbonik anhidraz inhibitörü
4-CBS-kitosan	4-karboksi benzensülfonamid-kitosan
CRS	Controlled release society
CS	Kitosan
CS-ALG PEC	Kitosan-aljinat polielektrolit
DDS	İlaç iletim sistemleri
Dex-g-PLGA	Poli(laktid-ko-glikolid)-aşılanmış dekstran
DOX	Doxurobicin
DRIFT	Diffuse reflectance infrared fourier transform
DSC	Diferensiyel taramalı kalorimetri
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
EDX	Enerji dağılımlı X-ışını
FDA	Food and Drug Administration
FOL	Folik asit
FT	Fourier transform
FTIR	Fourier transform infrared spektroskopisi

G	α -L-guluronik asit
GI	Gastrointestinal
5.0G PPI	Poli(propilenimin)
hGH	İnsan büyüme hormonu
$^1\text{H-NMR}$	Proton-1 nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
HPLC	Yüksek performans sıvı kromatografisi
HPMC	Hidroksipropil metil selüloz
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
HP- β -CD	Hidroksipropil- β -siklodekstrin
HT-29	Hücre dizisi
IOP	Göz içi basıncı
M	β -D-mannuronik asit
MIC ₉₀	Minimum inhibitör konsantrasyonu
NaCMC	Sodyum karboksimetil selüloz
NP	Nanopartiküller
PBS	Potasyum fosfat tampon tabletleri
PCL	Poli(ϵ -kaprolakton)
PDEAEM	Poli(dietilaminoetil metakrilat)
PEG	Polietilen glikol
PEM	Polielektrolit çoklu tabakalar
PLA	Poli(DL-laktid)
PLA-co-PEG	Polilaktik asit-polietilen glikol kopolimerleri
PLGA	Poli(DL-laktid-ko-glikolid)
PLL	Poli-L-lizin

PMMA-MA	Poli(metil metakrilat-ko-metakrilik asit)
PVA	Polivinil alkol
RIF	Rifampisin
SEM	Taramalı elektron mikroskopisi
SHP	Sodyum hipofosfit
S/O/W	Katı/yağ/su
SR	Sürekli salım
STF	Yapay gözyaşı sıvısı
TDDS	Transdermal ilaç iletim sistemi
TEA	Trietanolamin
TEM	Geçirgenlik elektron mikroskopisi
TMX	Tamoksifen
TPGS PLA-TPGS	Poli(laktid)-tokoferil polietilen glikol süksinat kopolimeri
W/O	Su/yağ
W/O/W	Su/yağ/su
XRD	X-ışını kırınım analizi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kandaki ilaç seviyesi: Geleneksel ve kontrollü iletim	4
Şekil 1.2. Difüzyon kontrollü ilaç salımı	14
Şekil 1.3. Difüzyon kontrollü membran sistemlerinin şematik gösterimi.....	15
Şekil 1.4. Difüzyon kontrollü matris ilaç iletim sisteminin şematik gösterimi	16
Şekil 1.5. Polimer yapılı difüzyon kontrollü ilaç salım sistemleri	16
Şekil 1.6. Ozmotik kontrollü ilaç salım sistemlerin şematik gösterimi	17
Şekil 3.1. Asetazolamid yüklü aljinat/kitosan partikül oluşturma işlem süreci	55
Şekil 3.2. Boş aljinat/kitosan nanopartikül oluşturma sürecinde işlem şeması.....	57
Şekil 3.3. Asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartikül oluşturma sürecinde işlem şeması.....	59
Şekil 4.1. Asetazolamid çözeltisinin 0.01 M NaOH'de UV-Vis bölgedeki absorbsiyon spektrumu	65
Şekil 4.2. Asetazolamid çalışma grafiği (292 nm'de).....	65
Şekil 4.3. Asetazolamid çözeltisinin 0.1 N HCl'de UV-Vis bölgedeki absorpsiyon spektrumu	66
Şekil 4.4. Asetazolamid çözeltisinin pH 6.8 fosfat tamponunda UV-Vis bölgedeki absorbsiyon spektrumu	66
Şekil 4.5. Asetazolamid çözeltisinin pH 7.4 fosfat tamponunda UV-Vis bölgedeki absorbsiyon spektrumu	67
Şekil 4.6. Asetazolamid çözeltisinin pH 7.4 STF ortamında UV-Vis bölgedeki absorbsiyon spektrumu	67
Şekil 4.7. Asetazolamid çalışma grafikleri (265 nm'de).....	68
Şekil 4.8. Asetazolamid molekülünün FTIR spektrumu	72
Şekil 4.9. Boş ve asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin FTIR spektrumları	72
Şekil 4.10. Boş aljinat/kitosan nanopartiküllerin SEM fotoğrafları.....	73
Şekil 4.11. Asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin SEM fotoğrafları	74
Şekil 4.12. Boş aljinat/kitosan nanopartiküllerin EDX spektrumu	76
Şekil 4.13. Asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin EDX spektrumu	76

Şekil 4.14. Boş nanopartiküller kullanılarak hazırlanan kütle/hacim grafiği	77
Şekil 4.15. Aljinat/kitosan nanopartiküllere aljinat yükleme kapasitesi.....	78
Şekil 4.16. Aljinat/kitosan nanopartiküllere asetazolamid tutuklanma kapasitesinin sıcaklıkla değişimi.....	79
Şekil 4.17. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 1.5, 6.8, 7.4 ve 7.4 (STF) ortamlarında zamana bağlı asetazolamid salımı.....	82
Şekil 4.18. Diazomid® tabletlerden pH 1.5, 6.8 ve 7.4 ortamlarında zamana bağlı asetazolamid salımı.....	83

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. NaOH, aljinat, CaCl ₂ , ACZ ve kitosan derişimleri değiştirilerek oluşturulan asetazolamid yüklü partikül formülasyonları ve bu formülasyonların kodları	53
Çizelge 4.1. Partikül oluşturma sürecinde denenen formülasyonlar ve ACZ tutuklama yüzdeleri	70
Çizelge 4.2. Boş ve asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin Zetasizer ile art arda 4 kez ölçülmesi ile elde edilen partikül boyutları	75
Çizelge 4.3. İnsan gastrointestinal yolundaki sıvıların pH değerleri	80
Çizelge 4.4. pH 1.5, pH 6.8, pH 7.4 ve STF (pH 7.4) ortamlarında zamana bağlı asetazolamid salımları	81
Çizelge 4.5. pH 1.5, pH 6.8 ve pH 7.4 ortamlarında zamana bağlı Diazomid® tabletlerden % ACZ salımları	83

1. GİRİŞ

1.1. İlaç ve Tarihçesi

İlaçlar insan, hayvan ve bitkilerde hastalıkları engellemek veya tedavi etmek için kullanılan kimyasal maddeler olarak tanımlanırlar ve doğal kaynaklardan ya da laboratuvarlardan sentez yoluyla elde edilirler (Thomas, 2003).

İlaç bilimi genel olarak farmakoloji olarak bilinir ve bu bilim, ilaçlara ait her çeşit bilgiyi kapsar. Böylece hastalıkların teşhisi, tedavisi ve önlenmesi için gereken en uygun ilacı saptar. İlaçların kökenleri, elde edilişleri, vücutta yaptıkları etkiler, yan etkileri, zehirlenme durumları ve bunların tedavileri ile ilgilenir (Hollinger, 2003).

Bitki ve minerallerin tıpta ilaç olarak kullanıldığına ilişkin ilk yazılı kaynaklar Eski Çin, Hint ve Akdeniz uygarlıklarına dayanır. M.Ö 1. ve 2. yüzyıllarda yaşayan İskenderiyeli simya bilginleri birçok ilacı hazırlamayı, günümüzde de tıptaki değerini koruyan bakır sülfatı ilaç olarak kullanmayı biliyordu. M.Ö 1700'lerde Babil'de hazırlanmış bir taş tablet, bilinen en eski ilaç kataloğudur. Eski Mısırlılar, kabızlıkta hintyağı, sindirim güçlüğünde karaman kimyonu ve nane kullanıyordu. Yunanlı hekim Dioskorides, M.S 77'de hazırladığı ve 15. yüzyıla kadar farmakolojinin temel başvuru kitapları arasında yerini koruyan Peri Hyles İatrikes'te (ilaç bilgisi) tıpta kullanılan yaklaşık 600 bitkiyi tanımladı. On altıncı yüzyılda ilaç hazırlanması ve kullanımı hızla yaygınlaştı. Bilinen ilk farmakope 1546'da Nürnberg'de yayımlandı. Eczacılık mesleği 1617'de Londra'da Eczacılar Derneği'nin kurulmasıyla farklı bir nitelik kazandı. On sekizinci yüzyılda araştırmacılar kâfur ve güzel avrat otu özütü gibi bazı bitkisel ilaçların etkilerini gözlemek için hayvan ve insanlar üzerinde deneyler yaptılar. On dokuzuncu yüzyılda tedavi edici maddeler içeren bitkilerden bu maddelerin elde edilmesi ile modern farmakoloji gelişmeye başladı. Kullanılan ilk ilaçlar, anestetikler oldu. Afyondan elde edilen morfin 1806'da, eter 1842'de, kloroform 1847'de, kokain 1860'ta kullanıldı. 1820'de Fransız kimya bilginleri Pierre-Joseph Pelletier ve Joseph Bienaimé Caventou, kınakına ağacının kabuğundan kinin adlı alkaloidi elde ederek sıtma tedavisinde kullandılar (<http://www.nkfu.com/ilac-nedir-ilacin-tarihcesi/>).

Eski zamanlardan beri medikal amaçlarla çeşitli doğal ürünler kullanılmıştır. Bazen çok etkili olan bu ürünler, hayvan, sebze ve mineral kaynaklardan elde

edilmekteydi. Ancak bu eski çareler hakkındaki bilgiler hastalara 15. yüzyıl matbaanın icadına kadar kolayca ulaşamamıştır. Matbaa, özellikle bitkiler hakkında bilgilerin yayılmasını ve ilaç kılavuzlarının basılmasını sağlamıştır. Bitkilerin ve diğer ürünlerin kullanımındaki bu hızlı artış, onların amaçları dışında kullanılmasına da sebep olmuştur. On sekizinci ve 19. yüzyıllarda pratisyen hekimler arasındaki tartışmalar sonucunda bitkisel olan ve farmakopelerde yer alan, etkili olmayan ve toksik özellik gösteren preparatlar kaldırılmıştır. Bu durum yeni ilaçların geliştirilmesine zemin hazırlamıştır. İlk başlarda, bu gelişme, bitki ve hayvan materyallerinden izole edilen doğal ürünler üzerine yoğunlaşmış fakat bilginin artmasıyla ilaç geliştirilmesinde başlangıç maddesi olarak daha fazla sayıda farmasötik aktif bileşik kullanılmıştır.

Üzerinde geliştirme yapılan bileşikler, öncül bileşikler olarak bilinirken, bir öncüden geliştirilen sentetik bileşikler onun analogu olurlar. Medikal kimyadaki çalışmalar, spesifik medikal özelliklere sahip yeni öncül bileşiklerin keşfine yoğunlaşmıştır. Bu gelişmeler, yeni ya da mevcut olan öncül bileşiklerden daha etkili ve güvenilir analogların geliştirilmesini kapsamaktadır (Thomas, 2003).

İlk sentetik ilaçlar Paul Ehrlich ve Sacachiro tarafından 1910 yılında sentezlenmiştir. Güvenilir biyolojik görüntüleme ve değerlendirme süreci ile sentezleri birleştirerek "antiprotozoal arspheamine" ilacını üretmişlerdir. Ehrlich, 20. yüzyılın başlarında, bir ilacın gösterebileceği hem yararlı hem de toksik özelliklerin değerlendirilmesinin önemli olacağını ve ayrıca daha etkili ilaçların, konakçısına göre mikroorganizma için mükemmel bir seçicilik gösterdiğini fark etmiştir (Thomas, 2003).

Bin dokuz yüz ellilerden itibaren enflamasyon tedavisinde kortikosteroidler, hipertansiyon tedavisinde ve sakinleştirici olarak rauwolfia alkaloidler; nazal alerji tedavisinde antihistaminikler; astım tedavisinde ksantin ve ruh hastalıklarının tedavisinde kullanılmak üzere nöroleptik ilaçlar geliştirilmiştir. Günümüze kadar tedavi şekli onaylanmış binlerce ilaç geliştirilmiştir (Sunna, 2012).

1.2. İlaç İletimi: Kontrollü Salm

İnsan sağlığı, otoimmün, nörolojik dejeneratif, metabolik ve kanser hastalıklarının tehdidi altındadır ve sistemik olarak iletilen ilaçlarla tedavileri zordur. Geleneksel farmakoterapide; çözünürlük, pKa, molekül ağırlığı, molekülde her bir hidrojen

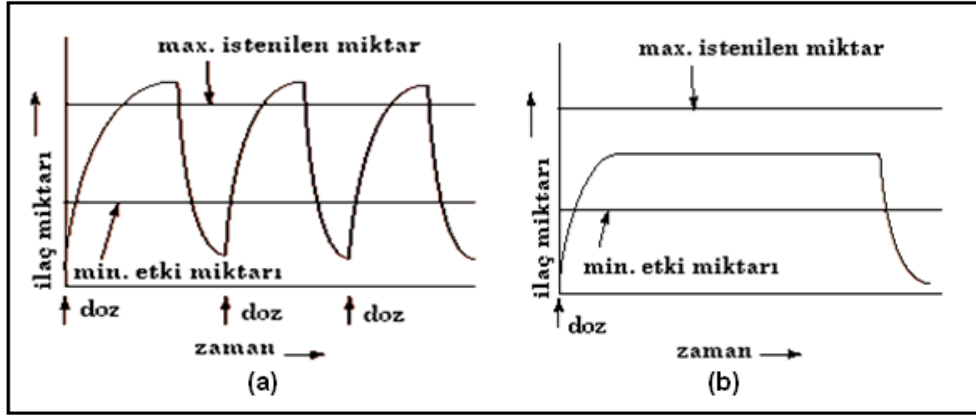
başına düşen bağ sayısı ve kimyasal stabilite gibi absorpsiyon ve biyoyararlılığı etkileyen birçok faktör, terapötik yanıtın gerçekleşmesini engelleyebilir. Genelde, geleneksel terapötiklerden özellikle düşük molekül ağırlıklı olanlar vücut kompartımanlarından geçme ve çeşitli hücre ve hücre altı organellere erişme özelliğini taşırlar. Bu nedenle bu ilaçlar hastalıkların tedavisi için uygundur. Ancak rastgele oluşan bu dağılım, yan etkilerin ortaya çıkmasına neden olur ve istenilen farmakolojik yanıtı sağlamak için daha yüksek dozlarda ilaç alımına ihtiyaç duyulur. Düşük molekül ağırlıklı bu bileşiklerin böbreklerden hızlıca atılımı, protein bağlama, lipofilik özellik, iyonlaşabilirlik gibi terapötik etkiyi gerçekleştirmek üzere yüksek doz alımı ve/veya sık uygulamayı gerektirir. Araştırmacılar daha mükemmel bir farmakolojik yanıt için, düşük doz alımını sağlayacak ve bu nedenle yan etkileri azaltacak yeni formülasyonlar üzerine yoğunlaşmışlardır. Bu nedenle, ilaçların biyoyararlanımının geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Biyoyararlanım; ilacın fiziksel ve kimyasal özellikleri, doz ve derişim, doz sıklığı ve uygulama yolları gibi bazı faktörlerden etkilenmektedir. Bu nedenle, araştırmacılar ilaç iletim sistemlerini tasarlamak suretiyle ilaçların farmakolojik aktivitelerini geliştirmişler ve ilaçların farmakokinetiklerini (absorpsiyon, dağılım, metabolize olmaları ve atılımları) arttırmışlardır. Aynı zamanda etki mekanizmaları, farmakolojik yanıt ve etki bölgesindeki afiniteleri gibi farmakodinamik özelliklerinin de değiştirilmesine yoğunlaşmışlardır.

Aktif farmasötik katkı maddeleri hemen hemen hiç tek başlarına uygulanmazlar ve genellikle diğer maddeleri içeren dozaj formlarında yardımcı maddeler olarak kullanılırlar. Ayrıca bu yardımcı maddeler, hastaların bir bölümü üzerinde ilacın kabulü ve biyoyararlılığını geliştirmek için formülasyonlara ilave edilirler. Yardımcı maddeler; emülsifiyerler, boyalar, kaydırıcılar, seyrelticiler ve kimyasal stabilizörler gibi çok sayıda formlar halinde kullanılırlar. Bu maddelerin başlangıçta inert olduğu düşünülmüştür. Çünkü bu maddeler terapötik etki göstermedikleri gibi ilacın biyolojik etkisini de değiştirmezler. Ancak yardımcı maddeler, ilacın absorpsiyon derecesini ve hızını etkilerler ve bu nedenle bu maddelerin farmasötik formdaki varlıkları ilacın biyoyararlılığını da etkiler. Bu nedenle, son zamanlarda ilaç absorpsiyonu ve salımının modifikasyonu üzerine çeşitli araştırmalar yapılmaktadır ve böylece çözünürlüğü az olan ilaçların piyasaya sürülebilmesine olanak sağlanmıştır (Vilar vd., 2012).

Terapötik ajan(lar)ın vücudun istenen bölge/bölgelerine iletilmesini ve/veya bu ajanların zamanla salınmasını sağlayan araçlara ya da sistemlere "ilaç iletim

sistemi" denir. Bu sistemler yoluyla iletilen ilacın etkinliği daha yüksektir. Bazı ilaçların maksimum yarar sağladığı bir optimum derişim aralığı vardır ve bu aralığın altındaki ya da üzerindeki derişimlerde ilaç, tedavi edici özellik göstermeyebilir ya da toksik olabilir. Ayrıca bazı hastalıkların tedavisindeki etkinliğin yavaş olması, hedeflenen dokulara terapötiklerin iletimi için multidisipliner yaklaşımlar gerektirir. İlaçların kontrollü farmakokinetikleri, farmakodinamikleri, non-spesifik toksisitesi, immunojenisitesi, biyotanıma ve etkileri üzerine yeni fikirler ortaya atılmıştır. Bu yeni stratejiler genellikle "İlaç İletim Sistemleri (DDS)" olarak adlandırılır ve farmasötik bileşenlere, polimer bilimine, analitik kimyaya, biyokonjugat kimyasına ve moleküler biyoloji gibi multidisipliner yaklaşımlara dayalıdır (Shaik vd., 2012).

Kontrollü salım sistemlerinin rollerinden biri de, belli bir zaman boyunca ilacı yüksek kan seviyesinde, verimli bir şekilde tutmak suretiyle bir iletim profili gerçekleştirmektir. Aktif farmasötiklerin geleneksel ve kontrollü iletilmesine ilişkin kan seviyesi Şekil 1.1'de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Kandaki ilaç seviyesi a) geleneksel ilaç dozajı b) kontrollü-salım dozajı (Shaik vd., 2012).

Şekil 1.a'da ilacın her uygulanmasından sonra kandaki ilaç seviyesi artmış ve sonra diğer bir uygulamaya kadar azalmıştır. Geleneksel ilaç uygulanmasındaki anahtar nokta, ilacın zehir etkisi gösterebileceği bir maksimum düzey ile daha altına inildiğinde etki göstermeyeceği bir minimum düzey arasında tutulmasıdır. Bu etki değerlerinin altında ilaç, uzun süre etkili değildir. Şekil 1.b'de gösterilen kontrollü ilaç iletim sistemleri, uzun vadeli uygulamalar için istenilen maksimum

ve minimum bölgelerde sabit hızla ve geciktirilmiş sürede ilacın kontrollü bir şekilde iletiminin tasarlandığı sistemlerdir (Shaik vd., 2012).

İlaç iletim sistemleri, genellikle ilacın kimyasal formülasyonuna göre tasarlanır ve aynı zamanda bu sistemler, tıbbi cihaz veya ilaç-cihaz kombinasyonu ürünlerini de içerebilir. Diğer bir ifadeyle ilaç iletimi; dozaj formu ve uygulama yoluyla oluşturulan bir üründür. İlaç iletim teknolojileri, geliştirilen etkili ve güvenli ürünlerden faydalanmak için ilaç salım profili, absorpsiyon, dağılma ve eliminasyonları değiştiren; bunun yanı sıra hastaya uyum ve kolaylık sağlayan bir teknolojidir (<http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/drug+delivery>).

İlaç iletimi, ilaç sektörü ve sağlık hizmetlerinde son derece önemli bir alandır. Kontrollü ilaç iletimi, erken degradasyonu önleyerek biyoyararlanımı artırır. İlaç salım hızı kontrol edilerek, ilaç derişiminin terapötik aralıkta kalması sağlanır. Hedeflenen hücrelerde ve hedeflenen hastalık bölgesinde ilacın yan etkileri azaltılır. FDA'nın ilk olarak 1990 yılında kullanımını onayladığı ilaç iletim sistemi (DDS), lipozomal amfoterisin B'dir (Zhang vd., 2013).

Aynı zamanda DDS, ilaç ekonomisini de değiştirmiştir. DDS'ni geliştirmek için ihtiyaç duyulan zaman ve ortalama fiyat (3-4 yıl ve ~20-50 milyon dolar), yeni bir ilaç (10 yılın üzeri ve ~500 milyon dolar) üretmekten daha azdır. Dünya çapında piyasada, polimer-temelli kontrollü salım sistemlerinin geliştirilmesine ayrılan pazar payının, yalnızca 2010 senesinde 60 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir (Zhang vd., 2013).

İlaç iletim sistemlerinin ayrılmaz parçaları genellikle ilacın içerisine gömüldüğü veya kovalent bağlar ile bağlandığı nano- ve mikro-partiküller, nano- ve mikro-kapsüller, kapozomlar, miseller, dendrimerler gibi yüksek moleköl ağırlığındaki taşıyıcılarıdır (Vilar vd., 2012).

Partiköl büyüklükleri 10-1000 nm arasında değişen çözünmüş, hapsedilmiş veya adsorbe haldeki etkin maddeyi kontrollü olarak açığa çıkaran, doğal ya da sentetik yapıdaki polimerlerle hazırlanan katı, kolloidal, polimerik, partiküler sistemlere "nanopartiküller" denilmektedir (Şengel-Türk ve Haşçiçek, 2009). Nanopartiküllerin; yükleme kapasitesinin fazla olması, immün sistem tarafından tanınmaması dolayısıyla hedefe daha etkili bir biçimde ulaşmak amacıyla yüzeylerinin çeşitli moleküller ile modifiye edilebilmesi, kan beyin bariyeri ve

hücreler arası sıkı bağlantılar gibi fizyolojik bariyerlerden geçişi sağlayabilecek şekilde dizayn edilebilmesi, polimer kaplı süperparamanyetik materyallerin manyetik rezonans görüntülemeye olanak sağlayarak partiküllerin diagnostik uygulamalarda kullanılabilmesi, bir ligand ile konjugasyon aracılığıyla oldukça spesifik doku hedeflendirmesini mümkün kılması gibi özellikleri bulunmaktadır (Soloviev, 2007). Günümüzde nanoteknoloji, nanomedikal alanda özellikle hedefleme mekanizmaları yardımıyla kanser tedavisinde kullanılmaktadır. Nanopartiküllerin ilaç taşıyıcı sistemler olarak kanser tedavisindeki önemini vurgulayan araştırmalar, özellikle antikanserojen etkin maddelerin, nonopartikül yapıları ilaç taşıyıcı sistemler şeklinde uygulandıklarında, hedef neoplastik dokudaki antitümoral etkinliklerinin arttığını; doku ve hücre dağılım profillerinin de kontrol edilebildiğini göstermektedir (Şengel-Türk ve Hasçıçek, 2009).

Alışıl gelmiş ilaç şekillerinde vücuda verilen doz önemlidir. Tablet, kapsül, süspansiyon veya supozituar gibi dozaj şekillerinden hangisi olursa olsun, ilacın en kısa zamanda absorbe olup istenilen plazma düzeyini sağlaması beklenir. Örneğin, bir tablet alındığında ilacın mide-bağırsak ortamından absorpsiyonu için, tabletin hızla dağılması ve ilacın çözünmesi önemlidir. Ancak, ilacın plazma düzeyi uzun süre sabit tutulamayacağı için sık sık, örneğin üç saat ara ile tablet alınması gerekir. Bu durum hasta ve hasta yakınları için kolay değildir (Gürsoy vd., 1999). Bin dokuz yüz doksan bir yılında Almanya'da yapılan bir çalışmada; hastaların % 35'inin ilaçları zamanında almadığı, % 14'ünün reçetelerinde yazılanlardan daha düşük doz aldığı, % 3'ünün günlük dozu aştıkları, % 15'inin tedaviyi sonlandırmadıkları, ABD'de ise beş hastadan ikisinin ilaçları doğru şekilde kullanmadıkları, dolayısıyla tedaviden yararlanamadıkları bildirilmiştir (Sam vd., 1995).

Hastaların yaşamını kolaylaştıran ve yaşam kalitesini artıran ilaç şekillerine ihtiyaç vardır ve kontrollü salım sistemleri bu ihtiyaca cevap vermektedir. Bu sistemlerde ilaç; taşıyıcı içine yerleştirilir ve bu taşıyıcı ile ilacın salım hızı ve süresi ayarlanabilir. Sonuçta ilacın plazma düzeyi önceden belirlenmiş süre boyunca sabit kalır. Bu süre 6 saat, bir gün, bir hafta veya bir yıl olabilir. Böylece hastanın sık sık ilaç alması gerekmez, tedavide kolaylık ve süreklilik sağlanabilir.

Ayrıca 1978 yılında kontrollü salım bilimi ve teknolojisinin gelişmesini ve yaygınlaştırılmasını sağlamak amacıyla "Controlled Release Society (CRS)"

kurulmuştur. Merkezi Chicago (ABD)'dadır. Aralık 1998 tarihinde Türkiye'de "Kontrollü Salım Sistemleri Derneği" kurulmuştur (Gürsoy vd., 1999).

Spesifik organlara etkili bir şekilde ilacın iletilmesi için, yeni geliştirilen bir dizi sistemler (örneğin, miseller, lipozomlar ve polimerik nanopartiküller) tasarlanmaktadır. Son yirmi yılda, ilaç iletim sistemlerinin sunduğu önemli avantajlar, ilaç uygulamaları için olanak sağlamaktadır. Bazı ilaç taşıyıcı sistemler: çözünebilir polimerler, çözünmez yapıdaki mikropartiküller veya biyobozunur doğal ve sentetik polimerler, mikrokapsüller, hücreler, hücre zarları, lipoproteinler, lipozomlar, nanopartiküller, dendrimerler ve misellerdir (Shaik vd., 2012).

1.2.1. İlaç İletim Sistemleri

1.2.1.1. Oral İlaç İletim Sistemleri

Oral kontrollü salım ilaç iletimi, ağızdan alınan ilacın lokal ya da sistemik olarak spesifik bir bölgeye hedef iletimi için, tahmin edilebilir ve tekrardan üretilebilen kinetiklerle önceden belirlenmiş bir sürede gastrointestinal yol boyunca iletilmesidir.

Bütün farmasötik ürünler oral yollu uygulama aracılığı ile iletim modu (ani, geciktirilmiş) ve dozaj formunun tasarımı (katı veya sıvı dağılım), gastrointestinal (GI) fizyolojisinin doğal özellikleri düşünülerek geliştirilmelidir. Bu nedenle, başarılı bir oral bir iletim sistemi tasarlanmak isteniyorsa:

- ❖ İlacın fizikokimyasal, farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri,
- ❖ Gastrointestinal yolun anatomik ve fizyolojik özellikleri,
- ❖ Tasarlanan dozaj formun fizikokimyasal özellikleri ve ilaç iletim modu

gibi özelliklerinin iyi bilinmesi gerekmektedir (Gothoskar, 2014).

Oral ilaç iletimi, farklı dozaj formların sistemik iletimi için, uygulama yolları (nazal, oftalmik, rektal, transdermal ve parenteral) arasındaki en yaygın uygulama şeklidir. Kolay uygulanması, hastaya kabulü ve uygun maliyetle üretilen ürünler olması nedeniyle oral yolla alınan ürünler; parenteral yola göre daha doğal, kolay, uygun ve güvenilirdir. Oral iletim için tasarlanan farmasötik ürünler, temelde hızlı absorbe olan ilaçların ani salımı için tasarlanmış ani salım veya geleneksel ilaç iletim sistemleridirler (Gothoskar, 2014).

Farmasötiklerin orijinal kontrollü salımı, bin yılı aşkın süredir hapların kaplanması ile sağlanmaktaydı. Kaplama teknolojisi, 1800'lü yılların ortalarında, şeker ve jelatin kaplamanın keşfiyle büyük avantajları da beraberinde getirmiştir. Kaplama teknolojisinde en büyük gelişme vaks ve yağların kombinasyonları ile ilaç-ıçeren boncukların kaplanmasıdır. İlacın kontrollü salımı üzerine 1900'lü yılların ortalarına kadar çalışmalar yapılmıştır ve bine yakın patent alınmıştır. İlk etkili oral ilaç salım sistemi katmanlı tablet şeklinde olan Spansule'dür ve 1950'lerde tanıtılmıştır. Bu geciktirilmiş-salım sistemi, kaplanmış ilaç ıçeren boncukların kapsül ıçerisine yerleştirilmesi ile oluşturulmuştur. Bu sistem Smith Kline & French Laboratories tarafından pazarlanmıştır.

Oral kontrollü salım sistemleri genellikle polimerlerle yapılır ve salım mekanizması genellikle difüzyon, biyooerozyon veya degradesyon ve şişme veya ozmotik basınç oluşumu ile gerçekleşir. İlaç-polimer karışımı, ilacın tablet veya kapsülden salınması sonucunda gastrointestinal akışa maruz kaldığında difüzyon meydana gelir. Biyooerozyon veya degradesyon, polimer-ilaç komplekslerinin gastrointestinal yoldan geçmesiyle meydana gelir. Şişme veya ozmotik basınç oluşumu, ilacın polimerden çıkması ve salımı sonucunda, polimer-ilaç formülasyonlarının gastrointestinal akışa maruz kalması ile oluşur (Hollinger ve Ranade, 2004).

Oral ilaç iletim sistemlerinin avantajları:

- ❖ Serum konsantrasyonundaki dalgalanmayı azaltır ve bunun sonucunda toksisite ve geciktirilmiş etki azalır.
- ❖ Doz sıklığını düşürerek hasta uyumunu artırır.
- ❖ Hasta iyileşme sürecini azaltır.
- ❖ Kullanılan toplam ilaç miktarını düşürür.

Oral ilaç iletim sistemlerinin dezavantajları:

- ❖ Terapötik kan konsantrasyonuna ulaşım uzun sürer.
- ❖ Oral uygulamanın ardından biyoyararlanımda farklılık oluşabilir.
- ❖ Doz boşalması ve doz uygulamaları kısıtlıdır.
- ❖ İlk geçiş etkisi yüksektir ve yüksek maliyet gerektirir (Hollinger ve Ranade, 2004).

1.2.1.2. Oküler İlaç İletim Sistemleri

Göz preparatlarını oluşturan çözeltiler, süspansiyonlar ve merhemler kornea üzerine lokal olarak uygulanabilirler ya da göz küresi ile göz kapağı arasındaki boşluğa damlatılabilirler. Sulu bir çözelti kornea üzerine damlatıldığında ilaç gözün iç kısmına nüfuz etmelidir. Çözelti, gözyaşları ile yıkanıp gözyaşı kanalı ile atıldığından, göz damlaları göz ile uzun süre temasta kalamazlar ve sık aralıklarla düzenli olarak uygulanmalıdır. Süspansiyonlar daha uzun süre göz ile temas halinde olurlar fakat tanecikli yapılarından dolayı tahriş etme problemleri vardır. Tahriş aşırı gözyaşı boşalmasına ve damlatılmış dozun azalmasına sebep olabilmektedir. Göz ile ilgili preparatlarda oluşabilecek dezavantajları ortadan kaldırmak için ilacı istenen hızda ve uzun sürede salın kontrollü salım sistemleri kullanılmaktadır (Sunna, 2012).

Oküler ilaç iletiminde sıklıkla karşılaşılan problemler, dozaj sorunları ve hastaya olan uyumdur. İritasyona sebep olmadan hareket bölgesinde minimum terapötik konsantrasyonu sürdürmek, çoğunlukla oküler ilaç iletim sisteminde ilgi çekici olmuştur. Gözyaşı salgısı ve göz kırılması gibi aşılammış engeller, önemli oranda damlatılmış doz kaybına neden olur.

Oküler hastalıkların tedavisi için kullanılan en yaygın ilaç uygulama yolları, lokal, peri oküler (göz çevresi) ve intravitrealdir (retinaya ulaşmak için göz içine uygulanan). Bu yollar arasında, kolay uygulanabilmesi ve invazif olmayan doğası nedeniyle lokal yol, en çok tercih edilendir. İlaç, lokal yol ile iletildiğinde, ilaç absorpsiyonu, ya korneal yolla ya da non-korneal yolla meydana gelir. Korneal yol; kornea, gözyaşı salgısı ve göz içi dokuları içerirken, non-korneal yol; konjonktiv, göz akı ve gözün damar tabakalarını içerir.

Oküler ilaç iletim sistemlerinin avantajları:

- ❖ Hedeflenen bölgede ilaç salımı sağlar.
- ❖ Uygun korneal penetrasyon gösterir.
- ❖ Geleneksel oküler ilaç iletiminin neden olduğu zikzaklı dalgalanmanın üstesinden gelinir.
- ❖ Doz sıklığı azalır.

- ❖ Korneal yüzey ve korneal alıkonma zamanı için etkili bir birleşme sağlayarak korneal temas yüzeyini artırır ve böylece hedeflenen bölgede etkili bir şekilde ilaç salınır.
- ❖ Görmede bulanıklık olmadan rahatlık ve hastada uyum sağlar (Modi vd., 2012).

1.2.1.3. Transdermal İlaç İletim Sistemleri

Yamalar olarak da bilinen transdermal ilaç iletim sistemleri (TDDS), ilacın etkili bir miktarının, hastanın derisine terapötik olarak iletilmesini sağlamak üzere tasarlanmış dozaj formlardır. Sistemik etki yapmak üzere insan derisi içerisine terapötik ajanların iletilmesi için, derinin, morfolojik, biyofiziksel ve fizikokimyasal özellikleri kapsamlı bir şekilde bilinmelidir. Transdermal iletim, hasta uyumluluğunu arttırmak ve ilk geçiş metabolizmasından kaçınmak suretiyle enjeksiyon ve oral yola göre daha iyi bir uygulamadır. Transdermal iletim sadece kontrolü sağlamaz ve ilaç uygulamasını sabitlemez; aynı zamanda kısa biyolojik yarı-ömürlü ilaçların girişinin devam etmesine izin verir ve sıklıkla istenmeyen yan etkilere neden olan, sistemik dolaşım içindeki pulslu girişleri ortadan kaldırır. Özellikle denizde mide bulantısı ve kusmayı engellemek için tasarlanan ilk transdermal sistem, Transderm-SCOP, FDA tarafından 1979 yılında onaylanmıştır (Shingade vd., 2012).

Transdermal ilaç iletim sisteminin avantajları:

- ❖ İlaçların ilk geçiş metabolizması önlenir.
- ❖ Yan etkilerin azalması ile ilaçların plazma konsantrasyon seviyeleri azalır.
- ❖ İlaçların plazma seviyelerindeki dalgalanma azalır, kısa yarı-ömürlü ve düşük terapötik indekse sahip ilaç adaylarından yararlanır.
- ❖ Toksikite durumunda ilaç iletimi kolayca elimine olur.
- ❖ Hasta uyumunun artmasıyla doz sıklığı azalır.
- ❖ Transdermal iletim, bir ilacın uzatılmış bir süre boyunca sabit infüzyonunu sağlar. Olumsuz etkiler veya terapötik başarısızlığın yol açtığı aralıklı doz alımı önlenir.
- ❖ Transdermal iletim spesifik problemlere sahip birçok ilacın terapötik değerini arttırabilir. Örneğin, GI irritasyon, düşük absorpsiyon, "hepatik ilk geçiş" etkisi nedeniyle bozulma gibi.

Transdermal ilaç iletim sistemlerinin dezavantajları:

- ❖ Ağır ilaç moleküllerinin (> 500 Da) çoğunlukla kornea tabakasına nüfusu zordur.
- ❖ Düşük veya yüksek dağılma katsayısına sahip ilaçlar, kan dolaşımına katılmada başarısız olurlar.
- ❖ Yüksek erime noktasına sahip ilaçlar, bu yolla, su ve yağda düşük çözünürlük gösterirler (Shingade vd., 2012).

1.2.1.4. Parenteral İlaç İletim Sistemleri

Parenteral yol, terapötik ajanların oral yol (gastrointestinal) dışındaki diğer yollarla uygulanmasıdır. Bu yollar; intramüsküler (kas içi), intravenöz, intraarterial (atardamar içi) ve sübkütanöz (deri altı) kapsamaktadır. Bu yolların, medikal alanlar için önemli rol oynadığı düşünülmektedir ve bugünlerde bir çok ilaç bu uygulama şekillerini sağlamak için sentezlenmektedir (Hassan vd., 2012).

İntravenöz (damar yolu) en yaygın parenteral ilaç iletim yoludur. İlaç tedavisindeki hatalar ve damardan enjekte edilebilecek ilaçların keşfedilmesi 1960'ların başında intravenöz ilaç salım sistemlerinin gelişmesine yardımcı olmuştur.

Antibiyotiklerin keşfiyle 1960 ve 1970'lerde hacim kontrol birimleri hastanelerde geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Bu sistemler % 5'lik dekstroz çözeltisi ve 50 ya da 100 mL normal tuzlu çözelti içeren kaplardır. Bu kaplar ilacın çözünmesine izin verir ve eczacılar tarafından hazırlanır. Bu sistemlerin mikrobiyal kontaminasyon ve ilaç uyumluluk problemlerinden dolayı kullanıma hazır plastik kaplar gibi hazırlama ve çözünmeye ihtiyaç duymayan, alındığı gibi damar içine enjekte edilebilen birçok farklı sistem geliştirilmiştir (Hollinger ve Ranade, 2004).

İntravenöz ilaç salım sistemlerinin avantajları:

- ❖ Gastrointestinal tehlike yoktur.
- ❖ Yüksek kan konantrasyonuna ihtiyaç duyan ilaçlar için uygundur.
- ❖ İstenilen plazma seviyesine çabuk ulaşılır.
- ❖ Acil müdahale gereken durumlarda hayat kurtaran bir uygulamadır.

İntravenöz ilaç salım sistemlerinin dezavantajları:

- ❖ Mikrobiyal kontaminasyon tehlikesi olabilmektedir.
- ❖ İlaç uyumluluk problemleri mevcuttur.
- ❖ Doz ayarlamasında problemler yaşanabilir.
- ❖ Yüksek dozlarda toksik etki oluşabilir.
- ❖ Herkes tarafından uygulanamazlar (Sunna, 2012).

1.2.1.5. İntranazal İletim Sistemleri

Gasrointestinal ilk geçiş eliminasyonunu önlemek ve uygulamayı kolaylaştırmak için nazal yol bazı ilaçların günlük uygulaması için bir alternatif olarak görünmektedir (Hollinger ve Ranade, 2004).

Oral ilaç iletimi, sistemik etkiler hedeflendiğinde ilaç uygulaması için en çok tercih edilen yoldur. Ancak, sistemik ilaç uygulaması için oral yol, çok popüler olmasına rağmen, bazı bileşiklerin düşük oral yararlanımı ve sistemik iletimleri için daha etkili yolların araştırılmasına sebep olmuştur.

İntranazal ilaç iletiminin oral ve parenteral yollara göre daha güvenilir ve yararlı olduğu fark edilmiştir. Hiç şüphesiz, ilaçların intranazal uygulaması, semptomatik çareler ve engelleme veya lokal nazal durumların tedavisi için yaygın bir şekilde uzun periyodlarla kullanılmaktadır. Ancak günümüzde, nazal mukoza, sistemik ilaç iletimi için terapötik uygulanabilir bir yol olarak ortaya çıkmıştır. Genelde, intranazal uygulama için birincil hedeflenenler arasında, gastrointestinal sıvılarda kararlılığı az olan, düşük intestinal absorpsiyon gösteren ve/veya peptid, protein ve polar ilaçlar gibi kapsamlı hepatik ilk-geçiş eliminasyon gösteren farmakolojik aktif bileşikler sayılabilir.

İlaçların intranazal uygulanması, lokal nazal hastalıkların tedavisi için doğal bir seçimdir. Bunlar arasında en yaygın olanları, rinosinüzit ve nazal dekonjestanların belirtileri için antihistaminikler ve kortikosteroidlerdir. Bu nedenle intranazal yol, ilaç iletimi için birincil seçimdir (Pires vd., 2009).

İntranazal ilaç salım sistemlerinin avantajları:

- ❖ Düşük doz kullanılır.
- ❖ Terapötik kan seviyesine hızlı ulaşılır.

- ❖ Farmakolojik aktiviteye hızlı başlanır.
- ❖ Yan etkileri azdır.
- ❖ Kolay uygulanabilir ve hastaya uyumu artırır.

İntranazal ilaç salım sistemlerinin dezavantajları:

- ❖ Bazı ilaçlar nazal mukozadan emilemez.
- ❖ Bazı ilaçların emiliminin artırılması için yan etkileri bulunan farmasötik bileşiklere ihtiyaç vardır.
- ❖ Nazal yoldan uygulanan bazı ilaçlar bazen yukarıda bahsedilen avantajlardan hiçbirini göstermeyebilir (Hollinger ve Ranade, 2004).

1.2.2. Polimerik İlaç İletim Sistemleri

Polimerler, özellikle ilaç iletim sistemlerinde olmak üzere farmasötik uygulamalarda önemli ölçüde yer alırlar. Polimerler, tabletlerde viskozite artırıcı olarak; sıvılarda, süspansiyonlarda ve emülsiyonlarda akış kontrolünü sağlayıcı olarak ve aynı zamanda film kaplayıcı olarak:

- Bir ilacın hoş olmayan tadını gizlemek için,
- İlacın stabilitesini arttırmak için ve
- Salım özelliklerini modifiye etmek için kullanılırlar.

Günümüzde gelişmiş ilaç iletim sistemlerinden yaklaşık altmış milyon hasta, ilaç dozajlarını daha güvenilir ve daha etkili bir şekilde alabilmek için yararlanmaktadır (Shaik vd., 2012).

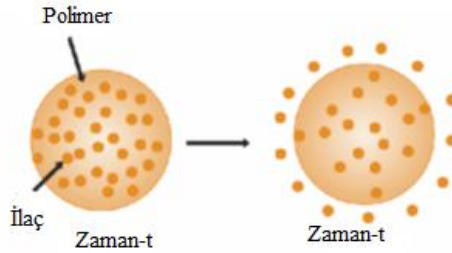
Kontrollü ilaç iletimi, enjeksiyonlu ve enjeksiyonsuz bir yolla verildiğinde terapötik bir ajanın, *in vivo* ortamda tahmin edilebilir bir hızla salınması için araçların ve formülasyonu oluşturan bileşenlerin kullanılmasıdır. Bunu yapmak için, eczacı ve analizcilerin polimer ve ilaç taşıyıcı yapıların formülasyonlarını, salım profillerini geliştirip değerlendirmeleri gerekmektedir. Kontrollü ilaç iletimi, doğal ya da sentetik bir polimerin bir ilaçla ya da bir aktif ajan ile birleşmesinden oluşur ve aktif ajan daha önceden tasarlanmış bir biçimde materyalden salınır. Aktif ajanın salımı uzun bir süre boyunca sabit veya devirli olabilir ya da çevresel veya diğer dış etkenler tarafından tetiklenebilir. Kontrollü ilaç iletiminde amaç, daha etkili bir tedaviyi gerçekleştirmek suretiyle, alınması gerekenden daha az ya da daha fazla doz alımını engellemektir (Shaik vd., 2012).

Kontrollü ilaç salımında kullanılan polimerler genellikle terapötik polimerler olarak bilinirler. Ancak bu sistemler, spesifik terapötik aktiviteye sahip değildirler ve farmasötik formülasyonlarda yardımcı maddeler olarak düşünülürler. İlaç iletimi için kullanılan polimerlerin amacı, kontrollü salım sistemlerini oluşturmaktır. Bu uygulamalarda, ilaçlar polimer içerisine ya gömülüdürler ya da polimer matrislerle konjuge haldedirler (Vilar vd., 2012).

Kontrollü salım metodu, mekanizmaya bağlı olarak, aktif ajanların iletim araçlarından **difüzyon**, **ozmos** veya **polimerin erozyonu** şeklinde salınması prensiplerine dayanır (Shaik vd., 2012).

1.2.2.1. Difüzyon Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

Difüzyon kontrollü salım sistemlerinde biyoaktif madde polimerik bir membran içinde yer alır. En basit difüzyon kontrollü bir sistemde, bir çekirdek içindeki ilaç difüze olabilir. İlaç çekirdek içinde doymuş durumda olduğu sürece ilaç salımı ilaç bitene kadar sıfıncı dereceden kinetiğe uyacak şekilde yürür. Difüzyonda sıcaklık ve ilaç büyüklüğünün etkisi söz konusudur. Membran ve matriks sistemler olmak üzere iki çeşit difüzyon kontrollü salım sistemi vardır (Kushal vd., 2013).

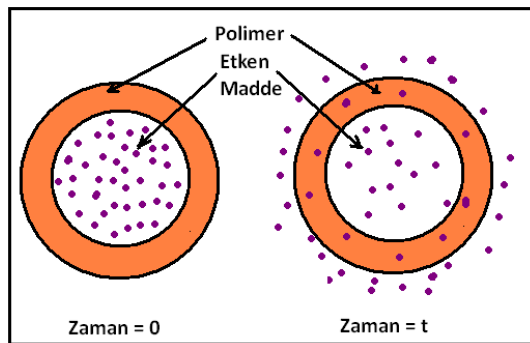


Şekil 1.2. Difüzyon kontrollü ilaç salımı (Shaik vd., 2012).

Membran Sistemler:

Bu sistemlerde ilaç çözünmüş ya da dağılmış olarak bir polimer membran içerisinde bulunur. Membrandan ilaç taşınması ilacın membran içerisinde çözünmesi ile başlar, membrandan difüzyonu ile devam eder ve membranın diğer yüzeyinden desorpsiyonu gerçekleşir (Kushal vd., 2013).

İlacın, içerisinde yavaşça difüze olduğu biyobozunur olmayan bir polimerik materyal tabakası çekirdeğin etrafını sarar. Kan dolaşımında, ilaç ve polimerin özellikleri, ilacın difüzyon hızını ve salımını yönetir. İlaç iletimindeki istikrarın korunabilmesi için polimerin kalınlığı önemlidir. Rezervuar sistemlerde karşılaşılan problemlerden biri de ilaç bittikten sonra polimeri vücuttan çıkarmaktır çünkü polimer parçalanmadan geriye kalır. Diğer bir problem ise, eğer rezervuar membran rastgele bozunursa, ilacın büyük bir miktarı kan dolaşımında aniden salınabilir. Bu "ilaç boşalması" olarak bilinir (Hollinger ve Ranade, 2004).

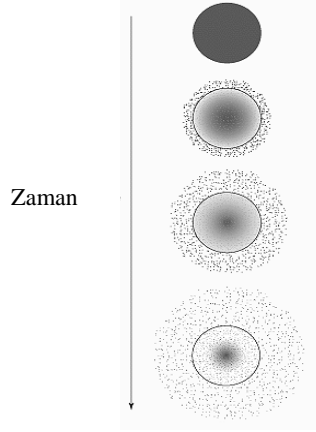


Şekil 1.3. Difüzyon kontrollü membran sistemlerin şematik görünümü (Kışmir, 2011).

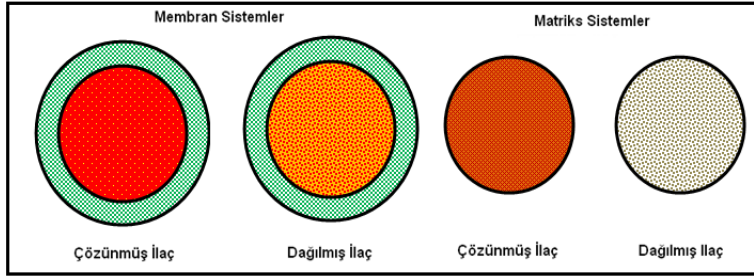
Matriks Sistemler:

Matriks sistemlerde, ilaç polimer içinde homojen olarak çözülmüş ya da dağılmıştır. Matriks sistemlerdeki asıl engel, devamlı azalan salım hızıyla birinci dereceden salım davranışı göstermesidir. Matriks sisteminin formüle edilmesi kolaydır ve membran sistemlere göre daha fazla başlangıç salım oranı vardır ve hemen hemen sabit oranla salım sağlanabilir. Matriks sistemlerde ilaç çözeltisi polimer içinde yer alır (Kushal vd., 2013).

Difüzyon-kontrollü sistemin matriks tipinde, ilaç değişmeksizin polimer matriks içinde dağılır ve partiküller halinde polimer ağından aynı hızla matriksten salınır. Böyle bir sistemde rezervuar sistemden farklı olarak, membranın kazara çatlaması durumunda ilacın boşalmasında tehlike yoktur (Hollinger ve Ranade, 2004).



Şekil 1.4. Tipik bir matris ilaç iletim sisteminden ilaç iletimi (Shaik vd., 2012).



Şekil 1.5. Polimer yapıli difüzyon kontrollü ilaç salım sistemleri (Kışmir, 2011).

1.2.2.2. Ozmotik Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

Ozmotik basınç, kontrollü bir yolla ilaç salım sistemleri için kullanılan itici güç olarak tanımlanır. Ozmotik ilaç iletim tekniği, kontrollü salım için kullanılan diğer yöntemler arasında en çok kabul gören, en yaygın tekniktir. Bu tekniğin kullanıldığı birçok ozmotik sistem geliştirilmiş ve birçok patent basılmıştır. Ozmotik ilaç salım sistemleri Alza şirketinin öncülüğünde geliştirilmiştir (Gothoskar, 2014). Analizlenmiş ürünlerin patentleri alınmış ve ozmotik prensipli birçok ürün de piyasaya sürülmüştür. Bu sistemler, hem oral hem de parenteral uygulama yolları için kullanılabilir. Oral ozmotik sistemler, gastrointestinal terapötik sistemler olarak bilinirler. Parenteral ozmotik ilaç iletim sistemleri ise implante edilebilir pompaları içerir.

Ozmotik prensibin keşfinden yaklaşık 75 yıl sonra ozmotik basınç, ilk olarak ilaç iletim sistemlerinin tasarımında kullanılmıştır. Avusturalyalı bilim adamlarından Rose ve Nelson, ozmotik ilaç iletim sisteminin öncüleridirler. 1955 yılında bu bilim adamları implante edilebilir pompayı geliştirmişlerdir (Gothoskar, 2014).

Ozmotik sistemler ozmotik basınç ile çalışırlar. Çekirdek tableti çevreleyen delikli yarı geçirgen membran kaplama ile sarılmış sistemlerdir. Çekirdek tablet iki tabakadan oluşur; bunlardan biri etkin maddenin de bulunduğu katman, diğeri ise itici tabaka da denilen ozmotik ajanın bulunduğu katmandır. Su, yarı geçirgen membrandan giriş yaparak etkin maddenin membran içerisinde çözünmesini ve iç kısımda şişmesini sağlayarak ozmotik basıncın yükselmesine yol açar. Oluşan ozmotik basınç vasıtasıyla çözünmüş ve süspanse olmuş olan etkin madde kanallardan dışarıya pompalanarak çıkartılır (Kushal vd., 2013).



Şekil 1.6. Ozmotik kontrollü ilaç salım sisteminin şematik görünümü (Kışmir, 2011).

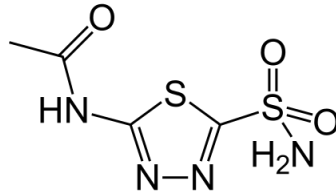
1.2.2.3. Polimerin Erozyonu:

Polimer erozyon mekanizmaları 3 çeşittir: Birinci tip erozyon kovalent çapraz bağlarla çözünür hale getirilemeyen ve çapraz bağlar ya da omurganın hidrolitik kırılmaya uğramasıyla çözünürleştirilen, suda çözünür polimerlerde gerçekleşir. İkinci tip erozyonda, başlangıçta suda çözünmeyen polimerler hidroliz, iyonlaşma veya bir ilave grubun protonlanması ile çözünür hale gelir. Üçüncü tip erozyonda, hidrofobik polimerler omurganın kırılması ile küçük, suda çözünür moleküllere dönüşürler. Özel bir erozyon mekanizmasının seçimi ise spesifik uygulamalar ile belirlenir (Shaik vd., 2012).

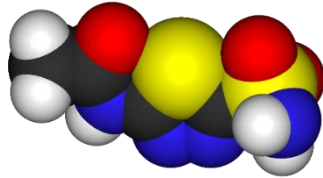
1.3. Asetazolamid ve Özellikleri

Asetazolamid, 2-asetamido-1,3,4-tiadizol-5-sülfonamid, N-(5-sülfomoi-1,3,4, tiadizol-2-il) asetamidtir ve molekül formülü $C_4H_6N_4O_3S_2$ olup, molekül ağırlığı $222.24 \text{ g mol}^{-1}$ dir. Zayıf asittir ve asit ayrışma sabiti değeri 7.2'dir. Suda (0.72 mg/mL), alkolde (3.93 mg/mL) ve asetonda çok az çözünürken; CCl_4 , kloroform ve eterde çözünmez (Singla vd., 2002).

ACZ, oral uygulamadan yaklaşık 2 saat sonra doruk plazma konsantrasyonlarına ulaşır ve gastrointestinal yolda absorblanır. Plazma yarılanma ömrünün yaklaşık 3-6 saat olduğu tahmin edilmektedir. Asetazolamid karbonik anhidraz (CA) enzimine sıkıca bağlanır ve bu enzimi içeren dokularda, özellikle kırmızı kan hücrelerinde ve böbrek korteksinde yüksek konsantrasyonlarda bulunur. ACZ'in idrardan değişmeden atıldığı ve anne sütüne de geçtiği rapor edilmiştir (Singla vd., 2002).



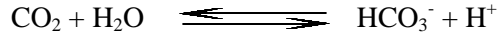
Asetazolamidin Molekül Yapısı



Asetazolamidin Üç Boyutlu Yapısı

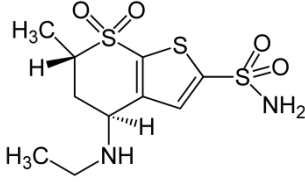
Asetazolamid güçlü ve geri dönüşümlü bir karbonik anhidraz inhibitörüdür. CA, H₂O ve CO₂'den karbonik asidin ve akabinde bikarbonatın oluşum reaksiyonu katalizleyen enzimdir. Karbonik anhidraz enziminin katalizlediği reaksiyon aşağıdaki gibidir:

Karbonik Anhidraz

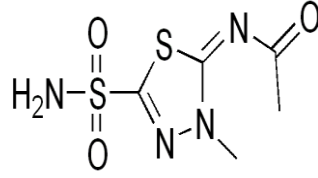


Yapılan çalışmalar karbonik anhidraz inhibitörünün (CAI), göz sıvısının oluşumunu azaltarak göz içi basıncını (IOP) düşürdüğünü göstermektedir. H₂O ve CO₂'ten HCO₃⁻ oluşumunu 100000 kat hızlandırır. Bikarbonatın oluşumu, göz içindeki sodyumun hareketine yardımcı olur ve gözün arka odacığına giren sodyum tuzu miktarının yaklaşık % 70'ini sağlar. Göz sıvısının oluşumu için su, sodyumu takip eder. CA inhibisyonu, gözün arka odacığındaki bikarbonat, sodyum ve suyun akışını azaltır. Bu kılcal olay sürecinde gözyaşı sıvısı üretiminin azaltılması için bu reaksiyonun baskılanması, neredeyse tüm enzimin inhibisyonunu gerektirir. CAI temelde, açık-açılı glokom ve ileri derecedeki glokomla kişide körlük başlangıcının uzaması ve ameliyat öncesi IOP'nın azalması için oluşacak akut semptomları hafifletmek için kullanılır (Singla vd., 2002).

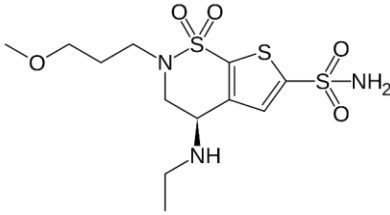
1.3.1. Karbonik Anhidraz İnhibitorleri



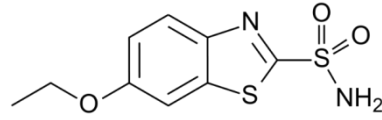
Dorzolamid



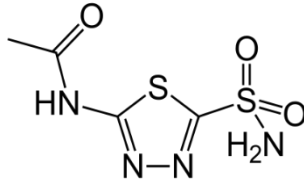
Metazolamid



Brinzolamid



Etokzolamid



Asetazolamid

Sulfonamidlerin kemoterapötik bir ajan olarak uygulanmasıyla ortaya çıkan bir CA inhibitörü olduğunu ispatlamak üzere metabolik asidoz gözlenmiştir. Bu incelemeye yola çıkılarak bu sulfonamidin (ilaç), bir CA inhibitörü olduğunu ispatlamak için *in vivo* ve *in vitro* olarak detaylı araştırmalar yapılmıştır ve böbreklerde CA inhibisyonuna neden olan sulfonamidin diüretik etkisi gösterilmiştir. Sonrasında ise diüretikler gibi davranmak suretiyle yüksek CA inhibisyon aktivitesi için bir takım bileşikler sentezlenmiştir. Sentezlenen bu bileşiklerden ACZ kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır.

CA; renal tübüler hücrelerde, gastrik mukozada, pankreasta, gözün kirpiksi cisminde, iriste, korneada, retinada, beyin ve eritrositlerde bulunur. 1954'de, American Cynamid Company, potent CA inhibitörlerinden ACZ'i, ilk defa oral diüretik olarak Lederle adıyla piyasaya srmstr. Aynı yılda, göz hareketinde sıvı gözyaşı üretiminin azalmasıyla IOP'nı düşürücü özelliği bulunan ACZ, oftalmolojide piyasaya srlmstr. Ayrıca diğer araştırmacılar da oral ACZ'in glokom hastalarındaki etkisini rapor etmişlerdir (Kaur vd., 2002).

ACZ ve diğer CAI'leri 40 yılı aşkın süredir antiglokom tedavisinde kullanılmaktadır ve diğer ajanlar arasında IOP'nı düşürmek için kullanılan en gcl ajanlardır. Ancak ekstraoküler yan etkilerinden dolayı, son zamanlarda daha az popüler olmuşlardır (Kaur vd., 2002).

CAI'leri özellikle glokom tedavisinin yönetiminde yararlıdır ve akut glokomun kontrolünde etkilidir. Ayrıca bu ajanlar, göz sıvısının üretimini, sıvının dışarı akışına müdahale etmeksizin inhibe ederler. CAI'leri aynı zamanda kafatası kan akışını (bu yüzden oküler perfsyonu arttırır) ve görsel alanların geliştirilmesi için kullanılır (Kaur vd., 2002).

CAI'lerinin sistemik yan etkilerinin önüne geçilmesi için birçok araştırmacı bu ajanların lokal olarak uygulanması için çalışmıştır. Ancak, CAI'lerinin lokal formülasyonları başlangıçta başarısız olmuştur. Çünkü bu ilaç ajanlarının oküler biyoyararlılıkları zayıftır, bu durum çoğunlukla bu ajanların penetrasyon katsayılarının düşük olmasına ve çoğu CAI'nn zayıf iki fazlı çözünürlüğünün olmasına bağlıdır. Bir oftalmik ilaç çözeltisinin lokal uygulanmasının ardından bu çözelti, ilk olarak göz yaşı sıvısı ile karıştırılmış ve bu yüzden seyrelmiştir. İndüklenmiş gözyaşı salgılanması, damlatılan çözeltinin saçılmasına neden olmuş, böylece oküler dokularla ilacın temas süresi azalmıştır. İyi tanımlanmış bir korneal yapı, göz içinde ilaç moleküllerinin daha ileriki aşamalara geçişini sınırlandırır. Bunlar oküler tedavilerde karşılaşılan genel problemlerdir. Fakat bir ilacın sistemik etkilerinin azaltılması için ve aynı zamanda daha az dozlarda oküler etkiyi gerçekleştirmek üzere araştırmacılar genellikle lokal olarak etkili ajanlar geliştirmek için çalışmaktadırlar. Oftalmik ilaçlar için lokal uygulama en yaygın yoldur. Müdahale gerektirmeden ve kendiliğinden kolayca uygulanabilir olması sebebi ile sıkça tercih edilmektedir. İlaç zerine lokal bir etki sunarlar ve sistemik ilaç yükünü azaltırlar. Gzn anatomik, fiziksel ve farmakolojik özellikleri, çoğu

göz damlası çözeltilerinin zayıf biyoyararlanım ve kısa prekorneal kalma süresini açıklar (Singla vd., 2002).

Lokal etkili CAI'lerin geliştirilmesi 40 yılı aşkın süredir devam etmektedir ve mevcut olan CAI'lerinin yapısal modifikasyonu üzerine geniş çaplı çalışmalar yapılmıştır ve dorzolamid ve brinzolamid olmak üzere iki lokal etkili CAI'ünün üzerine yoğunlaşmıştır (Manners, 1993). Bunlar, birincil açık açılı glokom (POAG) tedavisi için US-FDA tarafından onaylanan ilk lokal CAI'leridir (Kaur vd., 2002).

Bir anti-glokom ajanı olarak ACZ'in diğer CAI'lerinden üstünlükleri aşağıda belirtilmiştir:

- ❖ Dorzolamid IOP'ını % 23'e kadar azaltırken, oral ACZ % 30 civarında azaltır.
- ❖ Dorzolamid göz sıvı akışını % 17 ye kadar inhibe ederken, ACZ % 30 a kadar inhibe eder.
- ❖ Yaygın olarak mevcut olan % 2'lik dorzolamid çözeltisi, IOP'nı düşürmede neredeyse, % 1'lik ACZ göz damlası solüsyonu ile eşdeğerdir.
- ❖ Dorzolamidin % 2'lik çözeltisinin günde 2-3 defa uygulanması ile hastaların % 19 unda oküler yanma, % 12 sinde ise oküler acı olduğu rapor edilmiştir.
- ❖ % 12'lik brinzolamidin günde 3 defa uygulanması IOP'nı yalnızca % 20.3 oranında azaltmıştır.
- ❖ Metazolamid, ACZ ile karşılaştırıldığında IOP düşürmede daha az etki gösterir.
- ❖ Etokzolamid çok yüksek lipid çözünürlüğe ve geçirgenliğe sahip olduğundan lokal uygulaması IOP'ını düşürmez.

Dorzolamid ve birinzolamide göre güvenilir ve düşük maliyetli olması nedeniyle etkili lokal bir formülasyonu geliştirmede, ACZ'in uzun vadeli klinik araştırmaları yapılmaktadır (Kaur vd., 2002).

Asetazolamid (ACZ) yıllardan beri glokom tedavisinde kullanılan son derece etkili bir ilaçtır. Ancak düşük çözünürlük ve zayıf geçirgenlik özellikleri nedeniyle lokal uygulamalar için uygun olmadığından kullanımı sınırlıdır. Günümüzde kullanılan ACZ'in oral dozaj formları çok sayıda yan etkiyi de beraberinde getirmektedir. Bu

nedenle mevcut ihtiyaç, minimum sayıda yan etkilere sahip bir lokal ACZ formülasyonu geliştirmektir (Singla vd., 2002).

Oral ACZ, glokomlu hastalarda IOP'ni azaltır. Ameliyat öncesi yönetimde veya açık-açılı glokomun tedavisinde destekleyici tedavi olarak kullanılır. ACZ'in büyük oral dozları IOP'ni düşürür, fakat CA enziminin geniş dağılımından dolayı genellikle sistemik yan etkilere neden olur. Bu enzim sadece kirpik kıvrımıyla göz sıvısının üretiminde anahtar bir enzim değildir, aynı zamanda dokulardan akciğere CO₂ transferini, böbreklerde H⁺ iyonlarının ve elektrolitlerin atılımını ve geri absorpsiyonunu, gastrik mukozada H⁺ iyonlarının salgısını ve insan vücudunun ana tampon sisteminin devam etmesini sağlar. En yaygın yan etkileri diürez ve metabolik asidoz bunun yanında respiratuar asidozdur. ACZ'in diğer yan etkileri ise, gastrointestinal bozukluklar, halsizlik, deride yanma, iştahsızlık, kilo kaybı, kırgınlık, depresyon, tat değişikliği, libido azalması, kan diskrazisi, idrar taşı oluşumu ve renal taşlar gibi nadir komplikasyonlardır. Bu yan etkilerin görülmesi, ilacın hastaya uyumunun zayıf olmasındandır. Glokomlu hastaların yarısının, ACZ ile uzun süreli sistemik tedaviyi tolere edebildikleri tahmin edilmektedir (Singla vd., 2002).

Oral bir ACZ formülasyonu gibi lokal bir ACZ formülasyonu da, glokom tedavisinde dikkate değer bir avantaj sergilemektedir. ACZ'in lokal formülasyonu, sistemik iletimle karşılaştırıldığında aşağıdaki avantajları sunabilir:

- ❖ Dozda azalma
- ❖ Daha hızlı etki başlangıcı
- ❖ Hissedilir derecede yan etkilerde azalma
- ❖ Hastaya uyumda artış

Böyle avantajlara sahip olmasına rağmen ACZ'in lokal formülasyonları bir takım problemleri de beraberinde getirmektedir. Bu problemler aşağıdaki paragraflarda tartışılmıştır:

Suda ve sıvı akışkanlarda çözünmezlik: ACZ, oda sıcaklığındaki suda az oranda çözünür, hemen hemen kaynar suda biraz çözünür. İlacın sudaki çözünürlüğü yaklaşık 0.72 mg/mL'dir. ACZ'in pH-çözünürlük profili, bazik bölgede çözünürlüğün, sodyum tuzu oluşumundan dolayı (çözünürlük aralığı 0.8'den 2.8 mg/mL'ye ve pH değerleri 1.7 ve 8.2'dir) daha yüksek olduğunu gösterir. Ancak

bazik bölgede degredasyon (bozunma) artar. Bu nedenle, çözeltinin pH'ının artmasıyla ACZ'in çözünürlüğü artmayabilir. Çünkü gözyaşı sıvısının pH'ı yaklaşık 7.4'tür (Singla vd., 2002).

Sınırlı oküler penetrasyon: ACZ'in penetrasyon katsayısı çok düşüktür (4.1×10^{-6} cm/s). İlacın oküler penetrasyonunun sınırlı olmasından dolayı lokal uygulamadaki oküler biyoyararlılığı da sınırlıdır. Oftalmik hazırlıklar için, lokal formülasyon oldukça elverişlidir. Fakat önceden belirtilen nedenlerden dolayı ACZ'in etkili bir lokal formülasyonunun başarılı bir şekilde hazırlanması mümkün olamamaktadır. ACZ'in ideal bir lokal iletim sistemini geliştirmek, bütün bu problemlerin aşılmasına yardımcı olabilir (Singla vd., 2002).

Lokal olarak etkili olan CAI'leri, sistemik ilaç uygulaması ile beraber istenmeyen yan etkiler olmadan glokom için potansiyel bir tedavi sunar. Önceki çalışmalar, üzerinde deneyler yapılan hayvanlarda lokal uygulamanın IOP'nı düşüremediği ve metazolamid, etokzolamid gibi yaygın olarak kullanılan diğer CAI'lerinin de aynı şekilde lokal uygulama için başarılı olamadığını göstermiştir. Bu nedenle, 20 yıldan daha fazla süredir hiçbir araştırma bu alanda başarılı olamamıştır. 1980'li yıllarda ancak ilgiler yenilenmiştir ve lokal formülasyon geliştirmedeki önceki başarısızlıklar, korneadaki ilacın zayıf penetrasyon göstermesinden kaynaklanmış olabilmektedir. Bu nedenle geçtiğimiz son yıllarda, lokal uygulama vasıtasıyla etkili bir tedavi için ilacın hem penetrasyonunu hem de çözünürlüğünü geliştirmek üzere çalışmalar yapılmıştır. İlacın sistemik yan etkilerini azaltmak için ACZ'in aktif lokal uygulaması üzerine birkaç teşebbüste bulunulmuştur. Bunlar, yüksek konsantrasyonda ilacın kullanımı, birden çok dozaj, bir tuz veya ilacın modifiye edilmesi veya emdirilmiş kontakt lensler, jeller, siklodekstrinler, lipozomlar ya da taşıyıcıların vizkozitelerinin artırılması gibi çeşitli ilaç iletim sistemleridir (Singla vd., 2002).

Glokom, yaşlanmadan doğan maküler dejenerasyon ve kataraktan sonra İngiltere'de körlüğe ve görmede azalmaya neden olan üçüncü en yaygın göz hastalığıdır. Glokom, optik-sinir baş hasarına neden olan ve gittikçe ilerleyen bir hastalıktır. Açık-açılı glokom toplamda İngiltere popülasyonunun yaklaşık % 0.5'ini etkiler fakat bu oran, 70'li ve üzerindeki yaşlarda (% 3 gibi) daha yüksektir (Singla vd., 2002).

Glokom başlıca göz içindeki basıncın (IOP) artışıyla karakterize edilir. Şayet IOP yeterince yüksek ve kalıcıysa, geri dönüşü olmayan körlüğe neden olabilecek retina ve optik sinirlerin bağlantılarındaki optik disklerin hasarına neden olabilir. IOP, sadece glokomda tanımlanan ve tedavi edilebilen bir risk faktörüdür. Tedavinin amacı, optik sinir çıkışındaki hasarın ilerlemesini engellemek için IOP'ı düşük bir seviyede tutmaktır. Glokomun diğer risk faktörleri diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve miyopidir (Singla vd., 2002).

Glokomun tedavisi genellikle IOP'ı düşürmeye yöneliktir. IOP'nın düşmesi üç yöntemle mümkündür. Bunlar ilaç tedavisi (hem lokal hem de oral), lazer tedavisi ve ameliyattır. Lazer ve ameliyat yöntemleri uzmanlık ister ve aynı zamanda çok pahalıdır. Bu nedenle bu yöntemler ilaç tedavisi ile takip edilebilen tedavinin son aşamalarıdır. Tedavinin ilk aşaması, genellikle lokal ve sistemik olarak uygulanabilen ilaç tedavisidir (Singla vd., 2002).

İstenilen düzeyde düşük IOP'ını elde etmek için, büyük oral dozlarda ACZ kullanılmakta ve bu genellikle sistemik yan etkileri de beraberinde getirmektedir. Bunlar arasında en yaygın olanları; diürez, gastrik zorluklar ve metabolik asidozdur. Bu yan etkileri azaltmak suretiyle lokal olarak uygulanan birkaç formülasyon geliştirilmiştir. Bunlar sürfaktan-jel preparatları, kontakt lensleri, siklodekstrinleri ve lipozomları içeren sıvı çözeltilerdir. ACZ geciktirilmiş salım kapsüllerinin geleneksel ACZ tabletlerine göre daha düşük oranlarda yan etkileri olduğu ve daha iyi tolerans gösterdikleri rapor edilmiştir (Singh vd., 2011).

ACZ, en yaygın olarak kullanılan oral CAI'dür. Diamox tabletler olarak 125 ve 250 mg; uzatılmış salım kapsülleri olarak 250 ve 500 mg (Diamox squels) ve steril ACZ sodyum (ACZ-Na) tozu olarak 500 mg'lık enjeksiyon halinde İngiltere'de Lederle laboratuvarları aracılığı ile satılmaktadır. IOP'nın maksimum azalması, günde 4 defa 250 mg tabletlerle ya da günde 2 defa 500 mg'lık geciktirilmiş-salım kapsülleri ile sağlanır. IOP'da azalma % 20-30'dır ve bu azalma IOP'nın başlangıcına bağlıdır (Kaur vd., 2002).

ACZ çoklu dozaj rejiminde glokom tedavisinin yanında, sistinüri, yükseklik hastalığı, duralektazi (bir çeşit omurilik hastalığı) gibi hastalıkların tedavisinde kullanılan bir karbonik anhidraz inhibitörüdür. ACZ aynı zamanda böbreğin proksimal tübülünde bikarbonatın geri absorpsiyonunu azaltarak diüretik olarak da kullanılır. ACZ, metabolik asidoz aracılığıyla ventilasyonları stimüle eder ve beyin

kan akışını arttırır. Becker ACZ tabletlerin IOP'ını düşürdüğünü göstermiştir. Becker ve Middleton (1955), ACZ'in bazı olumsuz etkilerini rapor etmiştir. Bu yan etkileri azaltmak için geciktirilmiş salım kapsüllerini önermişlerdir. Ayrıca SR kapsüllerin (500 mg), IOP'ını azalttığı ve 24 saat boyunca sürekli-salım tabletlerinin çok az olumsuz etkiyle açık-açılı glokomda etkili olabildiği de belirtilmiştir. IOP'ndaki dalgalanmadan kaçınmak amacıyla ACZ'in geleneksel formülasyonunun günde 4 defa verilmesi gerekirken, hastadaki yan etkileri azaltmak suretiyle geciktirilmiş salım formülasyonu günde 2 defa uygulanabilmektedir (Barzegar-Jalali vd., 2013).

Glokom, dünyada geri dönüşü olmayan körlüğe sebep olur ve 67 milyon insanda bu durumla karşılaşmaktadır. Glokom, IOP artışı ile karakterize edilen, optik disklerin hasarı ve görme alanı bozukluğu ile sonuçlanan bir grup oftalmik hastalıktır. IOP, göz sıvısının üretimi ve boşaltımı arasındaki dengesizliği arttırır. Glokom tedavisinde kullanılan ajanlar, IOP'ını azaltmak için tasarlanmıştır. Bu ilaçlar, göz kıvrılması esnasında gözün belli bölümlerinden dışarı göz sıvısının üretimini ve dışarı akışını sınırlandırır. Glokom tedavisinde uzun vadeli olarak kullanılan çeşitli ilaçlar; β -adrenerjik blokerlar, miyotikler, α -adrenerjik agonistler, karbonik anhidraz inhibitörleri, prostaglandin analoklar ve hiperozmotiklerdir (Kaur vd., 2002).

1.4. İlaç Salım Sistemlerinde Kullanılan Biyopolimerler

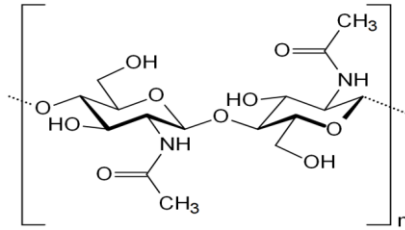
Biyopolimerler yeşil bitkilerin, hayvanların, bakteri ve mantarların doğal yaşam döngüsü esnasında oluşabilen, doğal yolla meydana gelen polimer veya polimer matriks kompozitlerdir. Biyopolimerler, selüloz, nişasta, bakteri, mantar ve hayvanlar aracılığıyla üretilen polisakkaritler; yün, ipek, jelatin ve kollajen gibi protein temelli biyopolimerleri içerir. Biyopolimerler özellikle karbohidrat temelli olup endüstriyel uygulamalarda sıkça kullanılmaktadır (Singh, 2011).

İlaç salım sistemlerinin en büyük hedefi, ilacın istenilen bölgeye sürekli veya aralıklı olarak sorunsuz ve etkili bir şekilde ulaşmasını sağlamaktır. Polimerler kimyasal, fiziksel ve mekanik özellikleri sayesinde bu görevi en iyi şekilde yerine getirebilen yapılardır. Polimerler sentetik veya doğal olabilirler. Doğal kaynaklardan elde edilen polimerler, biyopolimerler olarak adlandırılırlar ve polisakkaritler, jelatin ve selüloz gibi bilinen birçok makromolekül yapısı birer biyopolimerdir. Biyopolimerlerin kullanıldığı ilaç salım sistemleri ile ilgili ilk

yayınlar 1980'lerde ortaya çıkmıştır. Bu yayınlar 2000 yılından itibaren güncel hale gelmiş ve 2005 yılından sonra daha da artmaya başlamıştır. Bu veriler, ilaç salım sistemlerinde biyopolimerlerin kullanımının ne kadar büyük bir pazara sahip olduğunun kanıtıdır. Bu pazarın en büyük payı % 36'lık dilimle kabuklu deniz canlılarının kabuklarından elde edilen kitosana aittir. Kitosan ilaç salım sistemlerinde en çok çalışılmış biyopolimerdir. Kitosani % 17'lik oranla dekstran, % 14'lük oranla aljinat ve % 12'lik oranla jelatin takip etmektedir (Kalia ve Averous, 2011).

1.4.1. Kitin ve Türevleri

Bir biyopolimer olan kitin, esas olarak poli- $[\beta-(1,4)\text{-2-asetamid-2-deoksi-}\beta\text{-D-glukopiranoz}]$ yapısında olup çok düşük oranda 2-amino-2-deoksi- β -glukopiranoz monomerlerini de içermektedir.

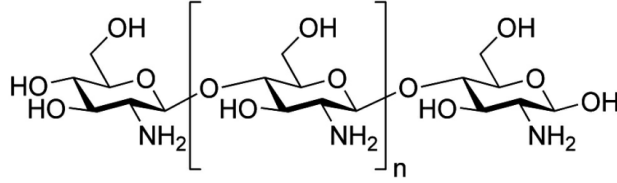


Kitin

Kitin, selülozdan sonra dünyada en yaygın olarak bulunan ikinci biyopolimerdir. Yengeç, karides gibi kabuklu su ürünlerinin ana bileşeni olup, böceklerin iskeletinde ve mantarların hücre duvarlarının yapısında da bulunmaktadır. Dünyada yıllık kitin üretiminin yaklaşık 150×10^3 ton civarında olduğu belirtilmektedir. Bunun 54×10^3 tonu karidesten, 39×10^3 tonu çeşitli deniz kabuklarından, 32×10^3 tonu mantarlardan ve 23×10^3 tonu istiridyelerden elde edilmektedir. Böcek kabuklarında yaklaşık % 23.5 oranında kitin bulunurken bu oran yengeç ve karideste sırasıyla % 17 ile % 32 arasında değişmektedir.

Kitinin birçok türevi bulunmakla beraber, bunlar arasında en önemlisi kitosandır. Kitosan, ilk kez 1811 yılında Henri Bracannot tarafından keşfedilmiştir. Bracannot, mantarlarda bulunan kitini sülfürik asitte çözmeye çalışmış ancak başarılı olamamıştır. 1894'de Hoppe-Seyler, kitini potasyum hidroksit içerisinde

180°C’de işleme sokmuş (deasetilasyon) ve asetil içeriği azaltılmış bir ürün olan "kitosan"ı elde etmiştir (Demir vd., 2009).



Kitosan

Kitosan [P-(1,4)-2-amino-2-deoksi-D-glukoz] doğada selülozdan sonra en çok bulunan ve ilaç salımında çok yaygın olarak kullanılan katyonik bir biyopolimerdir. Kitin ve kitosan polisakkaridleri, kimyasal olarak selüloza benzemekle birlikte kendi aralarında birtakım farklılıklar göstermektedir. Selülozda, ikinci karbon atomuna bağlı hidroksil (-OH) grubu bulunurken, kitinde asetamid (-NHCOCH₃), kitosanda ise amin (-NH₂) grubu bulunmaktadır (Demir vd., 2009).

Kitosan, glukozamin birimleri içerdiğinden nişasta gibi diğer karbohidratlara benzer bir degradasyon mekanizması vardır. Kitosan *in vitro* olarak insan serumunda, insan sütündeki lizozim enzimleri ile, bazı lipaz ve proteaz enzimleri ile, papain enzimi ile, kitinaz ve kitosanaz enzimleri ile degrade olabilir. İnsan vücudunda ise kitosan lizozimler ile degrade olarak hiçbir toksik ürün oluşmaksızın metabolize olur (Brown, 2004).

Son yirmi yılda, kitin, kitosan ve türevlerinin birçok formu farmasötik ve biyomedikal amaçlarla kullanılmıştır. Kitosan çoğunlukla tablet üretiminde bir seyreltici olarak kullanılmasına rağmen, aynı zamanda bir bağlayıcı, kaydırıcı veya potent dağıtıcı ajan olarak da kullanılmaktadır. Kitosanın mukoadhesif özellikleri bu polisakkariti, ağız boşluğunda ilaçların lokal iletimi için ilgi çekici bir materyal yapmıştır (Singh, 2011).

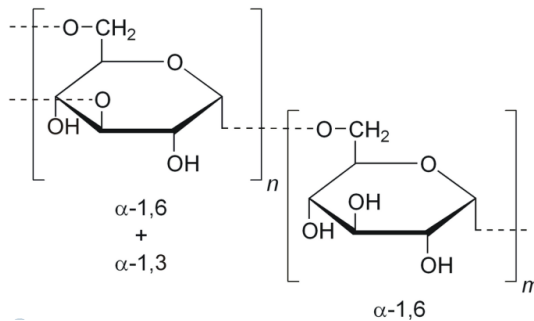
Kitosan, medikal tekstiller alanında oldukça önem kazanmıştır. 1960'ların ortalarından beri Japonya başta olmak üzere pek çok Asya ülkesinde bu konuda çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle yara tedavisinde doku sağlanması için kitosan oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca diğer medikal kullanım alanları, medikal yapay deri, cerrahi dikiş iplikleri, yapay kan damarları, kontrollü

ilaç salımı, kontak lens yapımı, yara bandı, sargı bezi, kolesterol kontrolü (yağ bağlayıcı), tümör inhibitörü, antifungal, antibakteriyel ve hemostatik etki göstermesi şeklinde sıralanabilir.

Kitosan, toksik özellikte olmaması, çevreye zarar vermeden biyolojik olarak parçalanabilir özellikte olması ve vücut içerisinde, tamamen zararsız ürünlere (amino şekeri) parçalanmasından ötürü herhangi bir yan etkisi de bulunmamaktadır. Ayrıca kitosan, biyoyumluluğu, antimikrobiyal aktivitesi, diğer materyallerle kompozit oluşturabilmesi, hücresel tutunmaya ve çoğalmaya olanak sağlaması gibi özellikleri sayesinde de kullanım alanı bulmuştur (Demir vd., 2009).

1.4.2. Dekstran

Dekstranlar genellikle 1,6-D-glukopiranosidik bağlanmalar içeren lineer polimer iskelete sahip bir polisakarrit sınıfıdır. Dekstranlar *Leuconostoc mesenteroides* bakteri kültüründen elde edilen ve kitosandan sonra ilaç salım sistemlerinde en çok kullanılan biyopolimerlerdir. Yapmış olduğu glikozidik bağlar, memelilerdeki bakteri hücreleri tarafından hidroliz olurlar. Bu bağları hidroliz eden enzimler dekstranazlar olarak adlandırılırlar. Bu sayede ilaç yüklenmiş olan dekstran sistemi mide ortamından geçerken korunur ve kolona ulaştığında bakteriler tarafından hidroliz olan dekstran, ilacı kolona salar.



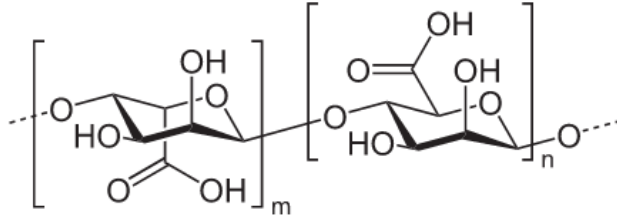
Dekstran

Dekstran, fiziksel koşullar altında biyoyumlu ve biyobozunur bir polimerdir. Bu özellikler, bazı ilaçlar, proteinler ve nükleik asitler için dekstranları güçlü

taşıyıcılar yapmaktadır. Birçok dekstran-ilaç konjugatları hazırlanmış ve ilaç iletim sistemleri için rapor edilmiştir (Kalia ve Averous, 2011).

1.4.3. Aljinat

Aljinat veya aljinik asit, *Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum* ve *Macrocystis pyrifera* gibi deniz yosunu ve kahverengi alglerde bulunan lineer, dallanmamış bir polisakkarittir (Singh vd., 2011). Aljinat, (1-4)-bağlı, β -D-mannuronik asit (M) ve α -L-guluronik asit (G) monomerlerini içeren bloklardan oluşur ve biyosentezi en fazla olan polimerdir. Aljinat doğal yolla meydana gelen anyonik ve hidrofilik bir polisakkarittir (Sun ve Tan, 2013).



Aljinat

Aljinatlar 20-600 kDa gibi çok yüksek molekül ağırlığına sahiptirler. Aljinatlar; emülsiyonlarda stabilizatör olarak, süspansiyon ajanları, tablet bağlayıcılar ve tablet dağıtıcı olarak araştırılmakta ve kullanılmaktadır (Singh, 2011).

Doku tamiri ve rejenerasyonu için aljinat, matriks sistemler veya ilaç iletim sistemleri gibi uygulamalarıyla özellikle biyomateryal olarak kullanılmaktadırlar. Biyolojik olarak uyumlu ve bozunur olabilmesi, non-antijenik olması ve şelatlayıcı yeteneğinin olması nedeniyle aljinat, doku mühendisliğinde, birçok ilaç iletim formülasyonların geliştirilmesinde ve reflünün engellenmesi gibi çok çeşitli biyomedikal uygulamalara sahiptir (Sun ve Tan, 2013).

Aljinatlar, biyouyumlu olmaları, doğada bol miktarda bulunmaları, düşük maliyette olmaları gibi özellikleri nedeniyle yiyecek endüstrisinde kıvam artırıcı ve emülsüfiye ajanı olarak kullanılmaktadırlar. Aljinatların aynı zamanda yaygın bir şekilde, yüzen ilaç iletim sistemlerinde, *in situ* oftalmik ilaç iletim sistemlerinin oluşumunda, mefenamik asit yüklü aljinat boncuklarda ve insülin yüklü oral iletim

sistemleri gibi farmasötik uygulamalarda kullanıldığı rapor edilmiştir (Dessy vd., 2013).

İlaç yüklü aljinat partiküller, temel olarak istenilen miktarda ilaç içeren, Ca^{2+} , Sr^{2+} veya Ba^{2+} gibi divalent iyonlarla oluşan bir çapraz bağlayıcı çözeltisi içerisine damla damla aljinat çözeltisinin ilavesiyle hazırlanır (Dessy vd., 2013).

Aljinat temelli ilaç iletim sistemlerinde aljinat, ilacın tutuklanmasına çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Tutuklama sürecinde, örneğin oda sıcaklığında ve organik çözgen kullanılmaksızın ılıman koşullarda gerçekleştirilebilmektedir. Ayrıca aljinat temelli partiküller makromoleküllerin difüzyonuna izin verecek şekilde geniş gözenekli jel yapısına sahiptirler (Dessy vd., 2013). Aljinatın hidrasyonu sırasında oluşan jel tabakası, ilaç için difüzyon bariyeri oluşturmaktadır. Enkapsülasyon işlemi ortam pH değeri düşük ise aljinat bu ortamda büzülme ve tutuklanmış ilacı salmamaktadır. Aljinatın kalsiyum ile çapraz bağlandığı enkapsülasyon uygulamalarında ilacın biyolojik aktivitesi korunmaktadır (Kalia ve Averous, 2011).

Sodyum aljinatın diğer ilginç bir özelliği de bazı oküler iletim sistemlerinde, tek başına veya diğer materyallerle birlikte kombinasyon oluşturularak kullanılmasıdır. Bu özelliğinden yola çıkarak kitosan/sodyum aljinat nanopartiküllerin, jelleşme tekniğiyle oluşumu rapor edilmiştir (Zhu vd., 2012).

Dizilerin miktarı (boyutu), bileşimi ve molekül ağırlıkları aljinatların fiziksel özelliklerini belirler. Moleküler değişkenlikleri, aljinatların izole edildiği organizmaya ve dokuya bağlıdır. Ticari aljinatlar, çeşitli yabancı kaynaklı otlardan elde edilirler ve monomerik bileşen ve blok yapıları bakımından farklılık gösterirler. Aljinat, kalsiyumla reaktivite göstererek jelleşme özelliği kazanır. Aljinatlar genellikle içerdikleri M ve G oranlarına bağlı olarak "yüksek M" veya "yüksek G" olarak bilinirler. Ticari olarak en yaygın olan ürünler yüksek M tipindekilerdir. Aljinatların en önemli ve yarar sağlayıcı özellikleri kalsiyum gibi metal iyonlarının varlığında jel oluşturma yeteneğine sahip olmalarıdır. Bu iyonların kontrollü bir şekilde eklenmesi, aljinat jel oluşumunun çözünmemesine neden olur. Genellikle, yüksek G aljinatlar güçlü, kırılabilir ve ısıda kararlı jeller halinde üretilirken; yüksek M aljinatlar, ısıda daha az kararlı, zayıf ve daha elastik jellerin oluşmasını sağlarlar (Sriamornsak vd., 2007).

1.4.4. Jelatin

Jelatin, kollojen türevi doğal bir polisakkarittir. Fiziksel çevrelerde biyobozunur ve biyoyumlu olması nedeniyle yaygınca farmasötiklerde ve medikal uygulamalarda kullanılmaktadır. Jelatinin ilaç uygulamalarında ve damar protezlerinde kullanımı ile plazma genişletici (expander) etkisi kanıtlanmıştır. Bununla birlikte toksik olmama, kolay uygulanabilme, biyoyumluluk, biyobozunum ve çapraz bağlama özellikleri ile jelatin, ilaç salım uygulamalarının vazgeçilmez biyopolimeridir (Kalia ve Averous, 2011).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. İlaç Salım Sistemleri ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Sharma vd. (1996) ters mikro-emülsiyon metodu ile hazırlanmış taxol içeren polivinilpirolidon nanopartiküllerini araştırmışlardır. Nanopartiküllerin boyutları 50-60 nm olarak hesaplanmıştır. Taxol'un antitümör etkinliği fareler üzerinde araştırılmıştır. Taxol içeren nanopartiküllerin *in vivo* etkinliği tümör boyutunda küçülme ve hayatta kalma süresindeki değişikliklerle değerlendirilmiş ve her iki değer de eşit miktardaki serbest taxole göre daha yüksek bulunmuştur.

Nanopartiküllerin hazırlanması için nanoçöktürme tekniği, suda çözünür ilaçların zayıf inkorporasyonuna neden olur. Govender vd. (1999) bu teknikte, poli(DL-laktid-ko-glikolid) (PLGA) nanopartiküllere suda çözünür bir ilaç olan prokain hidroklorürün inkorporasyonunu arttırmak için çeşitli formülasyon parametreleri denemişlerdir. İlaç inkorporasyon etkinliğini arttırmak için çeşitli yaklaşımlarda bulunmuşlardır. Bu yaklaşımlar; sulu faz pH'ının etkisini, prokain hidroklorür yerine prokain dihidrat kullanılması ve formülasyona poli(DL-laktid) (PLA) oligomerleri, poli(metil metakrilat-ko-metakrilik asit) (PMMA-MA) veya yağ asitleri gibi maddelerin katılmasını içerir. Düşük polidispers nanopartiküllerin partikül boyutu mikron altı (< 210 nm) olarak bulunmuştur. Prokain hidroklorürün prokain dihidratla yer değiştirmesi sonucu sulu faz pH'ı 9.3 bulunmuştur. Boyut, morfoloji ve nanopartikül geri kazanımı olumsuz etkilenmeden formülasyona PMMA-MA, laurik ve kaprilik asidin inkorporasyonu, ilaç inkorporasyonunu iyileştirmiştir. Örneğin, sulu faz pH'ı 5.8'den 9.3'e artarken; nanopartikül geri kazanımı % 65.1'den % 93.4'e; ilaç içeriği % 0.3'den % 1.3'e w/w ve ilaç tutuklama % 11.0'dan % 58.2'ye artmıştır. Ancak, formülasyon içerisindeki laurik asit ve prokain dihidratın yüksek oranlarda bulunmasıyla nanopartiküllerin morfoloji ve boyutu olumsuz etkilenmiştir. Aynı zamanda, ilaç inkorporasyonunun % 11.0'dan % 8.4'e düşmesi ve nanopartikül geri kazanımının % 65.1'den % 19.6'ya düşmesi sebebiyle PLA oligomerlerin, uygun bir formülasyon olabileceği düşünülmemiştir. Nanopartiküllerden ilaç salımı iki bileşenlidir; başlangıçta hızlı bir salım gözlenirken, takip eden aşamada salım, daha yavaş bir şekilde devam etmektedir. Bu çalışma, nanoçöktürme tekniği ile PLGA nanopartiküller içine suda çözünebilir bir ilacın inkorporasyonunu arttırmak için çeşitli formülasyonların kullanılabilirliğini ispatlamaktadır.

Qiu vd. (2001) boyutları 5-40 µm olan ibuprofen mikrokristallerin, kontrollü salım sistemi tasarlamak üzere polielektrolit çoklu tabakalar (PEM) ile enkapsülasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Enkapsülasyon, zıt yüklü polielektrolitlerin birleşerek tabakalar halinde oluşturdukları, yeni kaplama teknolojisi esas alınarak gerçekleştirilmiştir. Pozitif yüklü olan kitosan, negatif yüklü olan dekstran sülfat, karboksimetil selüloz ve sodyum aljinat içeren biyouyumlu polielektrolitler kaplama materyali olarak kullanılarak, 20-60 nm kalınlığındaki bu kabuklar ile PEM kapsüller üretilmiştir. İbuprofen mikrokapsüllerin sulu çözeltilerde oldukça dağılılabirlik sergilediği görülmüştür. Polisakkarit çoklu tabakalı kapsüllerden ibuprofen salımı, pH 1.4 (HCl) simule gastrik sıvıda ve pH 7.4 (0.02 M fosfat tamponu) simule intestinal sıvıda UV-Vis spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Bu mikrokapsüllerden ibuprofen salımının, kristal büyüklüğü, PEM kapsül kalınlığı ve çözeltideki çekirdek materyalinin çözünürlüğü gibi birkaç parametreye bağlı olduğu bulunmuştur. Buna göre, mikrokapsüllerden ibuprofen salım hızının kabuk kalınlığı ve kristal büyüklüğü arttıkça azaldığı fakat ilaç çözünürlüğünün dispersiyon çözeltisinde artmasıyla salım hızının arttığı bulunmuştur. Eğer ilacın çözünürlüğü oldukça yüksekse (pH 7.4'de), salım çok hızlıdır (< 1 dak). İlacın çözünürlüğü çok düşük olduğunda (pH 1.4'de) ise, enkapsüle olan ilacın salımının zaman aldığı ve bu durumun duvarın kalınlığına bağlı olduğu görülmüştür. Bu çalışmanın sonucuna göre, kontrollü ilaç salımı için suda çözünürlüğü az olan ilaçlar, polisakkarit kapsüllere enkapsüle edilebilmektedir.

Zhang vd. (2006) antikanser ilaçların nanopartikül (NP) formülasyonu için istenen hidrofobik-hidrofilik dengeyi sağlayacak yeni poli(laktid)-tokoferil polietilen glikol süksinat (TPGS) (PLA-TPGS) kopolimerlerini başarılı bir şekilde sentezlemişlerdir. PLA:TPGS bileşim oranının; paklitaxel yüklü PLA-TPGS NP formülasyonlarına enkapsülasyon etkisi, *in vitro* ilaç salımı, *in vitro* hücre salım ve yaşama kabiliyetleri üzerine etkileri incelenmiştir. Çeşitli PLA:TPGS oranları ile hazırlanan PLA-TPGS kopolimerleri halka-açılması polimerizasyonu ile sentezlenmiştir ve polimerlerin molekül yapıları ¹H NMR'ı ile karakterize edilmiştir. Paklitaxel-yüklü PLA-TPGS NPler, modifiye çözücü ekstraksiyon/buharlaştırma metodu ile hazırlanmıştır. NPlerin boyut ve boyut dağılımı, lazer ışık saçılımı; yüzey morfolojisi, SEM ve yüzey yükü, zeta potansiyel ile belirlenmiştir. İlaç enkapsülasyon etkinliği ve *in vitro* ilaç salım profili HPLC kullanılarak analizlenmiştir. Floresans PLA-TPGS NPlerin hücre salım

paklitaxel alımını ölçmek ve görüntülemek için HT-29 ve Caco-2 hücre dizileri kullanılmıştır. İlaç-yüklü PLA-TPGS kopolimerinin kanser hücresinde yaşayabilirliği ölçülmüştür. PLA-TPGS NPlar için en iyi PLA:TPGS oranının 89:11 olduğuna karar verilmiş ve bu orana sahip ilaç-yüklü PLA-TPGS NPlerin; ilaç enkapsülasyon etkinliği, hücresel alımı ve kanserli hücrelerin ölüm oranı belirlenmiştir.

Kakizawa vd. (2010) peptid ve protein ilaçların geciktirilmiş salımı için biyolojik olarak parçalanabilen mikropartiküllerin yeni bir formülasyonunu geliştirmişlerdir. Mikropartiküller, protein nanopartiküllerin su-yağ (W/O) (emülsiyon-liyofilizasyon) ve sonraki, katı-yağ-sıvı (S/O/W) (emülsiyon-çözücü buharlaştırma) içerisinde agregasyonu ile oluşturulmuştur. Ampifilik kopolimerler W/O emülsiyonunda ve mikropartiküllerin matrisinde emülsifiyer olarak kullanılmıştır. Çeşitli kopolimerler araştırılmış ve bunlar arasında poli(laktid-ko-glikolid)-aşılınmış dekstran (Dex-g-PLGA) tutuklama etkinliği ve *in vitro* salım açısından en iyi aday seçilmiştir. Dex-g-PLGA kullanılarak partikül boyutunu 270 nm'den 59 µm'ye ayarlamak çeşitli parametrelerin değiştirilmesi ile mümkün olmuştur. Bu parametreler; S/O/W emülsiyonunun O/W oranı ve karıştırma hızıdır. *In vitro* salım profili, insan büyüme hormonunun (hGH) başlangıçta ani artış olmaması sebebiyle 0. dereceden kinetiğe yakın olduğunu gösterir. hGH'ın salım hızı Dex-g-PLGA'nın bileşimi değiştirilerek kontrol edilmiştir. Normal fareler kullanılarak *in vivo* çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Buna göre, normal fareler üzerinde hGH'un plazma konsantrasyonu, başlangıçta önemli bir ani artış olmadan bir hafta boyunca sürdürülmüştür. Bu sonuçlar, biyofarmasötiklerin geciktirilmiş salımı için, yüksek potansiyelli mikropartiküllerin geliştirildiğini göstermiştir.

Raj vd. (2012) kalay oktoat katalizör varlığında, L-laktik asit ve polietilen glikol (PEG) oligomerlerinden polilaktik asit-polietilen glikol (PLA-ko-PEG) kopolimerlerini sentezlemişlerdir. İzoniazid ilacını içeren PLA-ko-PEG nanokapsülleri, çözücü buharlaştırma tekniği ile altın nanopartiküllerin varlığında hazırlamışlardır. İlaç-polimer etkileşimi FTIR analizi ile incelenmiştir. Nanopartiküllerin yüzey morfolojisi SEM ile analizlenerek, partiküllerin neredeyse küresel yapıda ve partikül boyutlarının 200-250 nm oldukları belirlenmiştir. Altın nanopartiküllerin çapı TEM ile analizlenmiş ve çap 5-20 nm bulunmuştur. PLA-ko-PEG/altın nanopartiküllere izoniazidin % tutuklama etkinliğinin, altın nanopartikül içermeyen nanokapsüllerden oldukça fazla olduğu

görülmüştür. Nanokapsüller için ilaç salım profilleri 0.1 M fosfat tamponu (pH 7.0) ve 0.1 M HCl çözeltilerinde gerçekleştirilmiştir. Altın nanopartiküllerle hazırlanan nanokapsüller için, ilaç salımının kontrollü ve geciktirilmiş olduğu görülmüştür. En iyi kontrollü ve geciktirilmiş salım 0.1 M HCl çözeltisinde bulunmuştur. *In vitro* ilaç salım verileri çeşitli salım kinetikleri ile karşılaştırılmış ve izoniazid salımının Higuchi matriks modeline uyum sağladığı görülmüştür.

Bhatta vd. (2012) uzun süreli oküler uygulama için natamisin ilacı yüklü lesitin/kitosan mukoadhesif nanopartiküller (NP) hazırlamışlardır. NP karakterize edilmiş ve ortalama partikül boyutu 213 nm bulunmuştur. NP'in enkapsülasyon etkinliği % 73.57, teorik ilaç yükleme % 5.09 ve zeta potansiyeli +43 bulunmuştur. İlaç Salım ortamı, selüloz membran kullanılarak Tween 80 ilavesi ile pH 7.4 fosfat tamponu ile hazırlanmıştır. *In vitro* salım, iki fazlı ilaç salım profilinde başlangıçta ilaç salımının aniden arttığı daha sonra da yavaş bir şekilde salındığını göstermiştir. Minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC₉₀) ve NP'in zone inhibisyonu, piyasada mevcut olan süspansiyonlarla ve *Candida albicans* ve *Aspergillus fumigates*'e karşı serbest natamisine karşılaştırıldığında benzer antifungal aktivite göstermiştir. Lesitin/kitosan NP'in uzun süreli olarak "oküler rezidansı" sağladığı, doz sıklığını azalttığı ve hastaya uyumu arttırdığı düşünülmüştür.

Marek ve Peppas (2013) glukoz oksidaz ve katalaz enzimleri katılarak hazırlanmış poli(dietilaminoetil metakrilat) (PDEAEM) mikropartiküllerden insülin salımı için yeni glukoz-duyar nanopartikül sistemler geliştirmişlerdir. İnsülin yükleme etkinliği ve salımı üzerine yükleme koşullarının etkisi ve polimer bileşim etkisi incelenmiştir. PDEAEM mikropartiküllere optimum insülin yüklenmesi pH 5.6, kütlece insülin partikül oranı 7:1, insülin derişimi 1.0 mg/mL, göçme pH'ı yaklaşık 9.5 olarak bulunmuştur.

Martinez vd. (2014) ilaç iletim sistemleri olarak disülfid bağı indirgenmiş sığır serum albümin (BSA-SH) ve BSA-SH/aljinat-sistein (BSA-SH/ALG-CYS) karışımları temelli tamoksifen (TMX)-yüklü folat-hedefli nanopartiküllerini hazırlamışlar ve *in vitro* karakterizasyonunu yapmışlardır. Folat-nanopartiküller, folat içeriği, morfoloji, boyut, zeta potansiyel, TMX yükleme ve ilaç salım kinetikleri açısından incelenmişlerdir. Ayrıca nanopartiküllerin hücre canlılığına etkisi ve hücresel alımı, farklı kanser hücre dizileri kullanılarak belirlenmiştir. Folik asit (FOL), başarılı bir şekilde nanopartiküllere birleştirilmiştir (79-170

$\mu\text{mol folat/g NP}$). Nanopartiküller ortalama 76-417 nm boyutundadır ve miligram nanopartikül başına tutuklanan TMX 4.2-7.7 μg olarak bulunmuştur. Zeta potansiyel ve ilaç ekstraksiyonu, özellikle BSA/ALG-FOL sistemlerde ilacın yoğunluğunun gelişigüzel yerleştiğini ve ilaç salım çalışmaları, sürfektan varlığında, 4-7 saat aralığında yavaş bir salım olduğunu göstermiştir. Genelde, yüklenmemiş sistemlerde düşük sitotoksite bulunmuştur. Sistemlerin içe alımı başarılıdır ve özellikle BSA NP-FOL durumunda folat reseptörü ile kolaylaştırılmıştır. TMX-FOL NP'den 10 μM TM uygulanması, kontrollü TMX salım sistemleri için ne kadar etkili olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada, tasarlanan yeni TMX-yüklü folat-hedefli sistemlerin antikanser etkisi gösterdiği ispatlanmış ve şu anki TMX tedavisini geliştirmek suretiyle daha ileriki çalışmalar için yeni uygulama yollarına izin verilmiştir.

2.2. Aljinat ve Kitosanın Kullanıldığı İlaç Salım Sistemleri

Janes vd. (2001) kitosan nanopartiküllerinin antrasiklin yapıdaki bir ilaç olan doxurobicin (DOX) taşıyabilme potansiyelini araştırmışlardır. Bu noktada gerçekleştirilmesi istenen hedef pozitif yüklü kitosan polisakkaritinin iyonik jelyasyonu ile oluşturulmuş kitosan nanopartiküller içine katyonik, hidrofilik bir molekülün hapsedilmesidir. Bu amacı yerine getirmek için DOX pozitif yükü dekstran sülfat isimli bir polianyon ile maskelenmiştir. Bu modifikasyon ile ilaç tutuklanması normalin 2 katına çıkarak % 4 oranında gerçekleşmiştir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca kitosan ve DOX arasında partikül formasyonu olmadan bir kompleks oluşumunun olup olmayacağı üzerinde de durulmuştur. İlaç salımı üzerinde *in vitro* ortamda yapılan florometrik analizde ilacın ilk salım fazındaki yoğunluğun ilişki moduna bağlı olduğu ve sonrasında yavaş salım gerçekleştiği gösterilmiştir. Hücre kültürleri üzerinde yapılan DOX-yüklü nanopartiküllerin aktivitesinin değerlendirilmesi için yapılan çalışmada dekstran sülfat içeren nanopartiküllerin serbest DOX'a göre sitostatik aktivitenin korunmasında daha elverişli olduğu, DOX-kitosan kompleksinin ise bir miktar daha düşük aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca çalışmalar DOX'un hücre kültürü ortamına değil hücre içersine girdiğini ve bir kısmının da nanopartiküllere bağlı kaldığını göstermiştir.

De vd. (2003) kitosan-aljinat nanoküreler hazırlamışlar ve bu nanokürelerin özelliklerini poli-L-lizin-aljinat sistemi ile karşılaştırmışlardır. Kütle oranları, sodyum aljinat:CaCl₂:katyonik polimer (poli-L-lizin [PLL] veya kitosan)

100:17:10 olan nanoküreler hazırlanmıştır. Bu kütle oranları, kalsiyum aljinatın önjel oluşturmasını ve bu nanoküreleri oluşturmak için yeterli katyonik polimer varlığını sağlamıştır. Düşük katyonik polimer konsantrasyonlarında, nanoküreler oluşturulamazken, yüksek katyonik polimer konsantrasyonlarında nanoküreler oluşturulmuştur. Bu çalışmada PLL-aljinat ve kitosan/aljinat nanokürelere ilaç yüklemeye, ilaç yükü etkisi incelenmiştir. İlaç modeli olarak metilen mavisi veya anyonik floresin kullanılmıştır. Nanokürelerde tutuklanan metilen mavisi salımı, çözünme ortamındaki sodyum klorür konsantrasyonu ile doğrudan orantılıdır ($R^2=0.98$). Sodyum iyonları, kitosana göre PLL'in yerini almada daha etkili olmuştur; bu nedenle kitosan/aljinat nanokürelere salınan ilacın kütlesi, eşdeğer sodyum iyonu konsantrasyonu için yavaş olmuştur. İzotermal titrasyon kalorimetri çalışmalarında, kalsiyum ve aljinatın birincil bağlanma afinitesi 1.33×10^6 /mol ve kararlı entropi; ikincil bağlanmanın ise daha zayıf 1.03×10^4 /mol yani hem entalpisinin hem de entropisinin kararlı olduğunu belirlemiştir. Bu bağlanma yarışmalı bir şekilde sodyum iyonları ile inhibe edilmiştir. Benzer şekilde, PLL'in kalsiyum aljinatla bağlanarak oluşturduğu önjel elektrostattir ve yarışmalı olarak sodyum iyonları ile inhibe edilmektedir; ancak bu etkileşim için termodinamik parametreler belirlenememiştir.

Sriamornsak vd. (2007) aljinat temelli hidrofilik matriks tabletlere ilaç modeli olarak metronidazolu seçerek modifiye ilaç iletim formülasyonları yapmışlardır. Matriks tabletleri, farklı sınıf aljinatları kullanarak direkt baskılama ile hazırlamışlardır. Aljinat-temelli matriks tabletlerden ilaç salımı üzerine, ilacın partikül boyutu, kullanılan katkı maddeleri ve ortamın pH'ı gibi bazı faktörlerin etkisi araştırılmıştır. Matriks tabletlerin şişme, erozyon ve *in vitro* salım çalışmaları 0.1 N HCl veya pH 6.8 fosfat tamponunda gerçekleştirilmiştir. Aljinat-temelli matriks tabletler sulu ortamla temas ettiğinde şişebilir ya da aşınabilir ve sürekli bir jel tabakası oluşturabilir ya da şişme ve erozyon davranışlarının bir kombinasyonunu gösterebilir. Aljinat matrikslerin şişme hareketi ortamdaki hidrasyonun oranı ile kontrol edilmiştir. Farklı sınıf aljinatların, matriks şişmeleri, asidik ortamdan az oranda etkilenirken, nötral ortamda önemli ölçüde etkilenmektedir. Asidik ortamda amonyum ve kalsiyum tuzlarının varlığı tabletin dağılmasına neden olmuştur. Ancak, asidik ortamda kalsiyum asetat ve sodyum bikarbonatın inkorporasyonu tabletin şişmesini arttırabilir. İncelenen tüm faktörlerin salım çalışmalarını etkilediği görülmüştür. Matriks şişme derecesi, erozyon ve ilacın difüzyonu kinetiklerle belirlenmiş, aynı zamanda da aljinat-

temelli matris tabletlerden ilaç salım mekanizması incelenmiştir. Birçok salım verilerinin asidik ortamda Korsmeyer-Peppas eşitliğine uyduğu görülürken, nötral ortamda zero-order eşitliği ile uyum sağladığı görülmüştür.

Fahmy vd. (2008) aljinik asit/kitosan matrisleri sırasıyla 3/1, 1/1 ve 1/2 oranlarında kullanmışlar ve kuru haldeki bu matrisleri sitrik asit (CA)/sodyum hipofosfit (SHP) ile çapraz bağlamışlardır. Çapraz bağlama süreci; sitrik asit derişimi, sitrik asit/sodyum hipofosfit molar oranları, aynı zamanda da reaksiyon süresi ve sıcaklığı kontrol edilerek yapılmıştır. Sonuçlar, hiçbir matrisin ağırlığına bağlı olmaksızın 0.6 M sitrik asit derişimi ve CA/SHP oranının 1 olduğu koşullarda matrislerin bağlanması için geçen sürenin 9 dakika ve sıcaklığın 180°C olduğunu göstermektedir. Çapraz bağlı matrislerin şişme davranışları incelenmiş, FTIR ve Termal Gravimetrik Analizler'i yapılmıştır. Ayrıca, çapraz bağlı bu matrislerden diklofenak salımı pH 1.2 ve pH 7.4 ortamlarında test edilmiştir. Buna göre matrislerden pH 1.2 ortamında az miktarda ilaç salınırken, pH 7.4 ortamında yüksek oranda ilaç salınmıştır.

Li vd. (2008) kitosan/aljinat (CS/ALG) nanopartikülleri, aljinat çekirdeğin iyonotropik prejelasyonu sonrasında kitosan ile polielektrolit kompleks oluşturması ile hazırlamışlardır. Model ilaç olarak nipedifini seçmişlerdir. Nanopartiküllerin morfolojisi ve yapı karakterizasyonu sırasıyla TEM ve FTIR ile incelenmiştir. Nanopartiküllerin çapı yaklaşık 20-50 nm olarak ölçülmüştür. Bu değer, ilacın gastrointestinal yol ile alınması açısından uygun görülmüştür ve gerekli mukoadhesif özellikleri taşımaktadır. HPLC ile nanopartikül dozaj formları içerisindeki nipedifin belirlenmiştir. Ayrıca, nanopartiküllerden nipedifinin salımı incelenmiştir. Yirmi dört saat içerisinde kitosan/aljinat nanopartiküllerden nipedifin salımı pH 1.5'da % 26.52, pH 6.8'de % 69.69 ve pH 7.4'de % 56.50 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, nanopartiküllerden nipedifinin pH'a bağlı salındığını göstermektedir. Simule intestinal sıvı ortamında (pH 6.8) ve fosfat tamponu çözeltisinde (pH 7.4) salım hızlı meydana gelirken; simule gastrik sıvı ortamında (pH 1.5) salım daha yavaş olmaktadır. İlaç salımı, her üç ortamda da önce hızlı bir şekilde sonrasında ise kontrollü salım şeklinde devam etmektedir.

Arora vd. (2011) gastrik mukozal tabakada derin yerleşim gösteren *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), bakterisinin eradikasyonunu amaçlayan mukopenetran nanopartiküllerin üretimini incelemişlerdir. Bu alanda kullanılmakta olan ilaç salım sistemlerinin pek çoğu yeterli mukoadhezyon veya mukopenetrasyon

sağlayamamıştır ve bugüne kadar hem adhezyon hem de penetrasyon sağlayabilme özelliğine sahip bir ilaç bulunmamaktadır. Bu çalışmada, amoksisilin içeren kitosan/aljinat polielektrolit (CS-ALG PEC) nanopartiküller oluşturulmuş ve pH, polimerlerin karışım oranları, polimerlerin konsantrasyonları, ilaç ve sürfektanlar 3³ Box-Behnken modeli kullanılarak çeşitli değişkenler için optimize edilmiştir. Partikül boyutu, yüzey yükü, ilaç tutuklama yüzdesi, nanopartiküllerin *in vitro* mukoadhezyon ve *in vivo* mukopenetrasyonu rat modelleri üzerinde yürütülmüştür. Optimize edilmiş FTIC (fluorescein isothiocynate isomer I-Celite) etiketli CS-ALG PEC nanopartikülleri kitosan nanopartiküllerine göre göreceli olarak daha düşük bir *in vitro* mukoadhezyon göstermiştir. Fakat 6 saatlik süre boyunca gastrik mukozanın floresansında meydana gelen artışla birlikte çok iyi bir mukopenetrasyon ve lokalizasyon sergiledikleri görülmüştür.

Gupta vd. (2011) bir antikanser ilacı olan gemitabin yüklü nanopartiküller hazırlamışlar ve kimyasal özellikleri, ilaç konsantrasyonu, polimer konsantrasyonu, çapraz bağlama ajanı ve karıştırma hızı bakımından incelemişlerdir. Gemitabin nanopartiküller, iyonotropik prejelasyon metodu ile kitosan polimeri ve sodyum aljinat önjeli kullanılarak üretilmiştir. Sodyum aljinat önjeli için formülasyon aynı zamanda CaCl₂ içerir. Hazırlanan kitosan ve aljinat süspansiyon, glutraldehit ile daha ileri çapraz bağlanmıştır. Nanopartiküllerin farklı formülasyonları, farklı konsantrasyonlarda kitosanın kullanılması, karıştırma hızı, rotasyon süresi ve polimer-ilaç oranları kullanılarak hazırlanmıştır. Partikül boyutu ortalama 230-627 nm olarak bulunmuştur. İlaç tutuklama etkinliği % 72.12-% 92.89'dur. Sonuçlar, ilaç-polimer oranının 0.5:75, çapraz-bağlayıcı ajanının 2.0 mL, karıştırma hızı 800 rpm ve karıştırma süresi 90 dakika olduğu koşullarda, gemitabin yüklü partiküllerin optimum partikül boyutuna ve maksimum tutuklama etkinliğine sahip olduğunu göstermiştir.

Chopra vd. (2012) streptomisin yüklü kitosan/aljinat nanopartikülleri, iyonotropik-prejelasyon metodu ile hazırlamışlar ve polimer konsantrasyonu, çapraz bağlayıcı konsantrasyonu ve karıştırma süresi açısından optimize etmişlerdir. Optimum parametreler; kitosan için 0.75 mg/mL, kalsiyum klorür için % 1 (w/v) ve karıştırma süresi 90 dakika bulunmuştur. Polimer (kitosan ve sodyum aljinat) ve çapraz bağlayıcı (kalsiyum klorür) konsantrasyonları, partikül boyutu ve % enkapsülasyon etkinliğine önemli ölçüde etki etmiştir. Polimer ve çapraz bağlayıcı konsantrasyonu arttıkça, partikül boyutu da artmıştır. Enkapsülasyon etkinliği, polimer konsantrasyonunun arttırılması ile önce artış sonra azalış

gösterirken, çapraz bağlayıcı konsantrasyonunun artırılmasıyla artmıştır. Nanoformülasyonların partikül boyutu 328.4 nm ve ilaç enkapsülasyonu % 93.32 bulunmuştur. Sonuç olarak, nanoteknolojinin ilaç iletim sistemlerinde kullanılması ile daha güvenilir ilaç iletim araçlarının geliştirileceği ifade edilmiştir.

Araujo vd. (2013) kitosanla kaplı Ca-aljinat kolonik salım formülasyonları hazırlamışlardır. Bunun için prednisolon ve inülin olmak üzere iki tane bileşen kullanmışlardır. Boncuklar ($D_{50}=2104 \mu\text{m}$) ve mikropartiküller ($D_{50}=354$ ve $136 \mu\text{m}$) olmak üzere üç farklı boyutta partikül elde edilmiştir. Formülasyonlar, standart fosfat tamponunda ve biyoilişkili pH 7.4 Krebs bikarbonat tamponunda test edilmiş ve daha ileriki çalışmalar ise *E. coli* bakterisi varlığında değerlendirilmiştir. Ürün verimi ve tutuklama, inüline göre prednisolonda oldukça yüksek bulunmuştur. Krebs bikarbonat tamponunda prednisolon salımına partikül boyutunun etkisi görülürken, inülin salımı partikül boyutundan etkilenmemiştir. Fosfat tamponunda, partiküller çabucak aşınırken, Krebs tamponunda partiküller yavaşça şişmektedir. Davranıştaki farklılığın sebebi, Ca-aljinatın matriks çekirdeğini zayıflatması nedeniyle fosfat tamponu ortamında kalsiyum fosfat oluşumudur. *E. coli* varlığında, formülasyonlar fermente olmuştur ve prednisolon salımı hızlanmıştır. Sonuç olarak, tampon ortamı bikarbonatla birlikte iyi bir *in vivo* simülasyonu sağlamıştır ve formülasyon davranışını ve ilaç salımını etkilemiştir. Ayrıca, bakteriyel hareket için, formülasyonların, kolonik ilaç iletimi için uygun taşıyıcılar olduğunu göstermektedir.

Li vd. (2013) oral insülin iletimi için aljinat/kitosan kaplı nanoemülsiyonlar hazırlamayı amaçlamışlardır. Kaplanmamış nanoemülsiyonlar, su-yağ-su (w/o/w); Labrafac® CC, fosfolipid, SpanTM 80 ve Cremophor® EL isimli çoklu emülsiyon homojenizasyonu ile hazırlanmıştır. Nanoemülsiyonların kaplamasını polielektrolit çapraz bağlamayla gerçekleştirmişlerdir. Bunun için, aljinat içeren çözelti içerisine sırasıyla kalsiyum klorür ve kitosan eklenmesiyle nanoemülsiyon yığın dispersiyon oluşturulmuştur. Kaplanmış nanoemülsiyonların partikül boyutu yaklaşık 488 nm ve insülin tutuklanma oranı % 47.3'dür. *In vitro* sızma çalışmaları, simule gastrik sıvıda nanoemülsiyonların bütünlüğünün iyi korunduğunu göstermektedir. Normal ve diyabetik ratlarda hipoglisemik etkiler gözlenmiştir. Yirmibeş ve 50 IU/kg insülin doz miktarı ile birlikte, kaplanmış nanoemülsiyonların nispi farmakolojik biyoyararlanımı, normal ratlarda % 8.42 ve % 5.72 ve diyabetik ratlarda ise % 8.19 ve % 7.84'tür. Kaplanmış nanoemülsiyonların oral uygulamadan sonra önemli ölçüdeki uzun süreli

hipoglisemik etkileri, subkütan (deri altı) insülin ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, aljinat/kitosan kaplı nanoemülsiyon, polipeptid ve proteinlerin oral iletimi için güçlü bir iletim sistemi olmuştur.

Lacerda vd. (2014) *in vitro* değerlendirildiğinde kontrollü-salım sağlayacak, sodyum aljinat/kitosan nanopartiküllere yüksek molekül ağırlığındaki rifampisin (RIF) ilacını yüklemişlerdir. Mikropartiküller koaservasyon tekniği ile hazırlanmıştır. En iyi enkapsülasyon seçilip değerlendirildiğinde, koaservasyon ve emdirme olmak üzere iki metoda başvurulmuştur. Elde edilen mikropartiküller, DSC, DRIFT (Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform), XRD ve SEM ile analizlenmiştir. Aynı zamanda, yükleme etkinliği, şişme derecesi ve *in vitro* salım belirlenmiştir. Sonuçlar, RIF'in kontrollü-salımı için, aljinat/kitosan mikropartiküllerin oldukça etkili olduğunu göstermektedir. Asidik pH'da 2 saatte ilacın % 20'si salınırken, pH 6.8'de salım hızı artmakta neredeyse % 100'e ulaşmaktadır. Salım mekanizması $n > 1$ olduğunda, Super Case II kinetiğini gösterir (metod 1 ile üretilen mikropartiküllerde $n = 1.09$ ve metod 2 ile $n = 1.13$ 'tür). Bu kinetik, salımın difüzyon, şişme, relaksasyon ve erozyon süreçleri ile bağlantılı olduğunu belirtmektedir. Sonuçlar, tüberküloz tedavisi için tasarlanan bu mikropartiküllerin umut vaat edici olduğunu göstermektedir. Ancak, bu sistemin sonuçlarının *in vivo* olarak da karşılaştırılıp değerlendirilmeye ihtiyacı vardır.

2.3. Asetazolamid ile İlgili Çalışmalar

El-Gazayerly vd. (1997) lokal uygulanabilecek asetazolamidin lipozomal bir formülasyonunu hazırlamışlar ve hazırlanan lipozomların *in vivo* ve *in vitro* davranışlarını incelemişlerdir. Asetazolamid lipozomlar ters buharlaştırma tekniği kullanılarak hazırlanmıştır. Nötral, pozitif-yüklü ve negatif-yüklü lipozomlar, tutuklanma etkinlikleri, ilaç salımı ve *in vivo* aktiviteleri bakımından değerlendirilmiştir. Lipozomlardan ilaç salımı membran difüzyon tekniği ile gerçekleştirilmiştir. Karbonik anhidraz inhibisyon aktivitesi pHstat metodu ile belirlenmiş ve asetazolamidin spektrofotometrik analizi ile karşılaştırılmıştır. Hazırlanan lipozomların göziçi basınca (IOP) etkisi tavşanlarda test edilmiştir. Tutuklanma etkinliği negatif-yüklü lipozomlarda % 29.27; nötral lipozomlarda % 41.06 ve pozitif-yüklü lipozomlarda % 49.58 olarak bulunmuştur. Dokuz saat sonrasındaki ilaç salım profilleri; negatif-yüklü lipozomlarda % 13.36; nötral lipozomlarda % 33.8 ve pozitif-yüklü lipozomlarda % 26.7'dir. Karbonik anhidraz aktivitesinin yüzde inhibisyonu ile lipozomlardan ilaç salımı miktarı arasında iyi

bir korelasyon vardır ve bu spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Pozitif-yükü lipozomların tavşanlarda IOP'ını büyük oranda azalttığı gözlenmiştir. Böylece oküler ilaç iletimi için asetazolamidin yan etkilerini azaltmak koşuluyla ilacın oral uygulanması için, lipozomal bir formülasyonda asetazolamidi inkorpere edip yeni bir formülasyon üretmeyi başarmışlardır.

Oral yolla uygulanan asetazolamidin sistemik yan etkilerinden dolayı glokom hastalığı için kullanımı sınırlıdır. Asetazolamidin zayıf biyoyararlanım göstermesinden ve pH > 5'de kararsız olması nedeniyle, asetazolamidin insan ve tavşan gözlerine lokal olarak uygulanmasının ardından IOP'ına çok küçük derecede etki edildiği rapor edilmiştir. Kaur vd. (2000) ilacın biyoyararlanımını, ilaç molekülleri arasındaki etkileşim süresini ve oküler yüzeyi arttırmak suretiyle viskozitesi yüksek, suda çözünebilir polimerler olan PVA ve HPMC'ü kullanmışlar ve oftalmik ilaç iletim sistemi tasarlamak için asetazolamidi bu polimerlere inkorpere etmişlerdir. İlacın absorpsiyonunu arttırmak için bu formülasyonlarda penetrasyon artırıcı olarak EDTA kullanmışlardır. Derişimi % 10 olacak şekilde asetazolamid kullanılarak formülasyonların (göz damlası süspansiyonu) *in vitro* salım profilleri incelenmiştir. Normotansif bilinci yerinde tavşanlarda formülasyonların IOP'ı üzerine etkileri test edilmiştir. İki saat içerisinde ortaya çıkan pik etkisi ile formülasyonların terapötik etkilerinin olduğu anlaşılmıştır. PVA, EDTA ve Tween 80 içeren formülasyonlardan birinin tekrarlı uygulanmasıyla IOP'ının % 46.4'e kadar düştüğü saptanmıştır. Sonuçlar,

- a) eğer formülasyon rezidans süresini uzatmak üzere uygun bir polimer içeriyorsa
- b) bir penetrasyon artırıcı içeriyorsa (çünkü asetazolamid 4.1×10^{-6} cm/s gibi düşük bir permeabilite katsayısına sahiptir)
- c) formülasyonun pH'ı maksimum stabilite (pH \leq 5.0) noktasına ayarlanmış ise

asetazolamidin lokal etkisinin gözlenebileceğini göstermiştir. Sonuç olarak lokal bir asetazolamid formülasyonunu başarılı bir şekilde elde edebilmek için formülasyonlar, korneal rezidans arttıracak uygun bir viskolayzer; korneada geçirgenliğine neden olacak bir penetrasyon artırıcı içermelidir. Aynı zamanda pH, asetazolamidin degradasyonunu önlemek için asidik bölgeye (< 5) ayarlanmalıdır.

Vega-Gonzales vd. (2005) süperkritik antisolvent tekniğini kullanarak oftalmik ilaç iletim sistemlerinin hazırlanmasını değerlendirmişlerdir. İlaç taşıyıcı olarak Eudragit® RS 100 ve RL 100 polimerlerini, ilaç modeli olarak ise asetazolamidi kullanmışlardır. Süperkritik antisolvent deneyleri farklı çalışma koşullarında gerçekleştirilmiştir ve farklı polimer/ilaç formülasyonları aseton içerisinde hazırlanmıştır. Bu formülasyonların basınç, sıcaklık ve CO₂ akış hızı etkisi incelenerek, bu etkilerin partikül boyutuna, partikül boyut dağılımına ve bu süreçte kazanılan yüzde verime etkileri saptanmıştır. En iyi deneysel koşulun 83 bar basınçta, 37°C'de CO₂ akış hızının dakikada 15 mL ve sıvı akış hızının dakikada 1 mL olduğu görülmüş; buna göre en iyi partikül boyutunun 20 µm civarı olduğu belirlenmiştir. Eudragit® RL tipi polimerler yüksek geçirgenlik gösterirken, Eudragit® RS tipi polimerlerin zayıf geçirgenlik göstermesi nedeniyle salım profilleri ileriki çalışmalarda çeşitli karışım oranları oluşturularak gerçekleştirilecektir.

Niozomların, düşük korneal penetrasyonu geliştiren ve biyoyararlanımı arttıran geleneksel oftalmik araçlar olduğu rapor edilmektedir. Guinedi vd. (2005) molar oranları sırasıyla 7:4, 7:6, 7:7 olan Span 40 veya Span 60 ve kolesterolden oluşturulan niozomları, ters-faz buharlaştırma ve ince film hidrasyon yöntemiyle hazırlamışlardır. Hazırlanan sistemlerin tutuklama etkinliği, boyutu, şekilleri ve *in vitro* ilaç salım profilleri karakterize edilmiştir. Stabilitate çalışmaları depolama sırasında niozomlardan ilacın filtrelenmesini (nüfuz etmesi) araştırmak için gerçekleştirilmiştir. Tavşanlarda asetazolamid niozomal formülasyonlarının IOP'ını düşürücü aktivitesi ShiQtz tonometre kullanılarak ölçülmüştür. Niozomal formülasyonlara maruz kalan tavşan kornea dokularının histolojik araştırmaları niozomların oküler tahrişinin değerlendirilmesi için uygulanmıştır. Sonuçlar, sürfektan türünün, kolesterol içeriğinin ve hazırlama metodunun tutuklama etkinliğini ve niozomlardan ilaç salım hızını değiştirdiğini göstermiştir. Daha yüksek tutuklama etkinliği kolesterol oranının 7:6 olduğu ve Span 60 çok katmanlı niozomlardan elde edilmiştir. Niozomal formülasyonlar, 3 aylığına dondurularak asetazolamidin keseler içerisinde yüksek oranda (yaklaşık % 75) tutuklandığını göstermiştir. Her bir test edilen asetazolamid niozomlar IOP'ını önemli ölçüde düşürmesi açısından serbest asetazolamid ve ilaç yüklü olmayan niozomlarla karşılaştırılmıştır. Span 60 ve 7:4 oranında kolesterolden formüle edilen çok katmanlı asetazolamid niozomların, IOP'ını uzun süreli olarak azalttıkları belirtilmiş ve bu yapılar son derece etkili bulunmuştur.

Granero vd. (2008) oftalmik iletimde kullanılmak üzere asetazolamidin çözünürlüğünü arttırmak için hidroksipropil- β -siklodekstrin (HP- β -CD) ve trietanolamin (TEA) çok bileşenli komplekslerini geliştirmişlerdir. Faz çözünürlük çalışması, 25°C'de çözeltide kompleks oluştuğunu göstermektedir. Kompleks formülasyonlar ayrıca, aynı miktarda asetazolamid içeren basit bir fiziksel karışımla katı komplekslerin FTIR spektrumu ile karşılaştırılarak da değerlendirilmiştir. FTIR sonuçlarının asetazolamidin karbonamido grubunu içerdiği görülmüştür. *In vitro* salım çalışmalarında ise, hem asetazolamid içeren donmuş-kuru üçlü kompleksi (HP- β -CD) hem de asetazolamidin basit fiziksel bir karışımı (TEA) olan iki formülasyondan da ilaç hızlı bir şekilde salınmaktadır. Bu sonuçlar, ACZ-HP- β -CD-TEA kompleksinin, ACZ'in sudaki çözünürlüğünü arttıran etkili ve yeni bir formülasyon olduğunu göstermektedir. Bu da onu oftalmik uygulamalar için ümit verici hale getirmektedir.

İlaç uygulama sıklığını azaltmak, doz ayarlanmasını kolaylaştırmak ve hasta uyumunu arttırmak suretiyle, kısa yarı ömre sahip bir karbonik anhidraz inhibitörü olan asetazolamidin geciktirilmiş salım mikrokapsülleri geliştirilmiştir. Kannan vd. (2009) asetazolamid mikrokapsülleri, Eudragit® RL/RS polimerlerini kullanarak çözücü buharlaştırma tekniği ile hazırlamışlardır. Partikül boyutu, enkapsülasyon etkisi üretilen mikrokapsüllerin *in vitro* ilaç salımını değerlendirmişlerdir. Sonuçlar, mikrokapsüllerin bütün formülasyonları için istenilen enkapsülasyon etkilerinin elde edildiğini göstermektedir. Mikropartiküllerin partikül boyutuna Eudragit polimerlerinin konsantrasyonunun ve karıştırma hızının etki ettiği kanıtlanmıştır. Aynı zamanda istenilen salım hızının *in vitro* salım çalışmalarında pH (1.2), Eudragit® RL ve Eudragit® RS tarafından gerçekleştirildiği gösterilmiştir.

Arzu edilen düşük IOP'nı elde etmek için büyük oral dozlarda asetazolamid kullanılır ve bu durum genellikle birçok yan ekibi de beraberinde getirmektedir. Bunlardan en yaygınları diürez, gastrik zorluklar ve metabolik asidozdur. Singh vd. (2011) asetazolamid içeren poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) mikroküreler hazırlamış ve değerlendirmişlerdir. Mikroküreler solvent buharlaştırma metoduyla hazırlanmıştır. Formülasyon faktörlerinin (polimer: ilaç oranı, su: yağ faz oranı, sulu fazın konsantrasyonu, karıştırma hızı ve karıştırma zamanı) morfoloji üzerine etkileri, partikül boyutu, tutuklama ve partiküllerin geri kazanımı araştırılmıştır. Partiküller küresel yapıda olup ortalama çap 99 μ m, enkapsülasyon oranı % 75 ve geri kazanım etkisi % 88 civarındadır. PCL mikrokürelerden asetazolamidin *in*

vitro kontrollü salımı pH 1.2 ve 2 saat sonrasında aynı ortamın pH'ı 7.2 yapılarak gerçekleştirilmiştir ve bu kontrollü salım oral uygulamalar için uygun görülmüştür.

Parthibarajan vd. (2013) asetazolamidin midede kalma süresini uzatan ve geciktirilmiş salım sağlayan yüzen mikroküreler yapmışlardır. Bu yüzen mikroküreler etil selüloz ve hidroksipropil metil selüloz gibi polimerlerin farklı oranlarda, diklorometan ve etanol gibi çözügenlerde hazırlanmasıyla elde edilmiştir. Sürfektan olarak Tween 80 kullanılarak solvent buharlaştırma tekniği ile mikroküreler hazırlanmıştır. Hazırlanan mikrokürelerin ortalama çapı ve yüzey morfolojisi sırasıyla optik mikroskop ve SEM kullanılarak karakterize edilmiştir. Mikrokürelerin partikül boyutu 100-600 µm'dir. FT-IR spektroskopisi sonuçları mikrokürelerde asetazolamidin stabil karakterde olduğunu ve aynı zamanda ilaç polimer etkisinin varlığını göstermektedir. Yüzde enkapsülasyon etkisi % 25.1-% 68.2 aralığındadır. Mikroküreler 12 saat boyunca yüzmüşlerdir. *In vitro* ilaç salım çalışmaları, mikrokürelerden asetazolamidin 12 saat boyunca geciktirilmiş ve yavaş bir şekilde salındığını göstermektedir. *In vitro* ilaç salım çalışmalarında, bir formülasyon grubu, diğer gruplarla karşılaştırıldığında 12 saatin sonunda kümülatif salım oranının % 97.4 olduğu görülmektedir. Çünkü düşük polimer oranı (1:2) nedeniyle salımda önemli ölçüde bir artış görülmektedir. Bu formülasyonun çalışmada kullanılanlar içinde en iyi formülasyon olduğu kanıtlanmıştır.

Maurya vd. (2013) az çözünür bir ilaç olan asetazolamidin çözünürlüğünü ve ilacın biyoyararlanımını arttırmak suretiyle asetazolamidin kitosan nanosüspansiyonunu hazırlamışlardır. Kitosan nanosüspansiyonları hazırlarken iyonik jelyasyon metodu kullanılmış ve bunun için iki teknikten yararlanılmıştır: Manyetik karıştırma ve sonikasyonla birlikte manyetik karıştırma. Bu iki teknikle hazırlanan nanosüspansiyonlar, dış görünüş, partikül boyutu ve şekli gibi fiziksel özellikleri bakımından değerlendirilmiştir. Kitosan nanosüspansiyonlar, kitosan konsantrasyonu, sürfektan konsantrasyonu ve sonikasyon süresi için optimize edilmiş ve optimize edilen sonuçlar, sonikasyon tekniği ile birlikte manyetik karıştırma ile jelyasyon metodu kullanılarak asetazolamid yüklü kitosan nanosüspansiyonlara uyarlanmıştır. Çünkü bu teknik, 24 saat sonunda yalnızca manyetik karıştırma tekniği ile hazırlanan partiküllerle kıyaslandığında, boyutu (< 1µm), şekli (küresel) ve partiküllerin yerleşimine göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Hazırlanan nanosüspansiyonlar şekil, yüzey morfolojisi, partikül boyutu, yüzde

verim, ilaç yükleme ve ilaç tutuklama etkinliği, *in vitro* ilaç salımı ve nazal siliotoksisite çalışmaları ile karakterize edilmiştir. Hazırlanan nanopartiküller oldukça küresel yapıdadır. Partiküllerin yüzeyi pürüzsüz bir özellik sergilemektedir. Ortalama partikül boyutu 153-277 aralığında belirlenmiştir. Optimize edilen gruplarda ilaç yükleme % 66.60-% 89.49 ve ilaç tutuklama etkinlikleri ise sırasıyla, % 48.37- % 68.20 aralığında bulunmuştur. Mikroskopik araştırmalar, 6 saat içinde en iyi formülasyonun keçilere nazal uygulanmasının ardından keçilerin nazal mukozasında bir hasar tespit edilmediğini göstermiştir. 4 saat içindeki *in vitro* ilaç salım çalışmaları tüm optimize edilen formülasyonlarda yalnızca asetazolamidin salımına göre oldukça yüksek salım (% 48.41'den % 64'e) göstermektedir. Sonuçlardan yola çıkılarak, geliştirilen en iyi formülasyonun kararlı olduğunu ve intranasal yolla beyine hedeflendirilebileceğini ve bu nedenle geleneksel dozaj formlarına göre bir alternatif olduğu görülmüştür.

Barzegar-Jalali vd. (2013) kalsiyum aljinat boncukları ve matriks tabletlerle hazırlanan asetazolamidin geciktirilmiş salım dozaj formlarını geliştirmişlerdir. Mikroenkapsülasyon metodu kullanarak asetazolamidi kalsiyum aljinat boncuklar içerisine inkorpore etmişlerdir. Asetazolamidin salınma hızındaki süreyi uzatmak suretiyle iki metoda başvurmuşlardır. İlk metotta, ilacı kalsiyum aljinat boncuklara hem tek başına hem de çeşitli fazlarda hazırlanan polimer karışımlara inkorpore etmişlerdir. İkinci metotta ise direkt sıkıştırılmış metot ile veya faz içerisinde çeşitli polimerler olmadan boncuklardan matriks tabletler hazırlamışlardır. Hazırlanan bu formülasyonlardan salım hızı ve yenilenen geciktirilmiş-salım kapsülü (Diamox®) değerlendirilmiştir. Sodyum karboksimetil selüloz (NaCMC) içeren ikinci metod ile hazırlanan matriks tabletlerden ilacın 9 saate kadar salındığını *in vitro* dissolüsyon çalışmaları göstermiştir. Ayrıca, sodyum aljinat, kalsiyum klorür ve asetazolamid konsantrasyonu; polimerlerin tipi ve konsantrasyonu; şırınga iğne boyutunun yanı sıra kalsiyum klorürün yüzeyi ve iğne ucu arasındaki uzaklığın boncukların, matriks tabletlerin ve buna bağlı olarak salım profilini etkilediği birçok parametre de incelenmiştir. Polimersiz boncukların hazırlanması, polimerlerin boncukların iç fazına inkorpore edilmesi ve boncukların doğrudan sıkıştırılması geciktirilmiş salım özelliği kazandırmamıştır. Öte yandan NaCMC'un matriks tabletleri boncukların dış fazına veya aljinat tozu ile birlikte doğrudan sıkıştırılmış geleneksel tabletlerle birlikte referans formülasyona benzer şekilde geciktirilmiş salım özelliği olan dozaj formları üretilebilmiştir.

Pisal vd. (2014) lipozomlarda etkili bir ilaç yüklenmesi için asetat ve pH gradient tekniklerini inceleyip karşılaştırmışlardır. İlaç modeli olarak asetazolamidi seçmişlerdir. İki farklı metodla hazırlanan asetazolamid yüklü lipozomlar, kese (vesicle) boyut analizi, zeta potansiyel, yüzde tutuklanma etkinliği, *in vitro* ilaç salım çalışmaları ve IOP düşürücü aktivite ile incelenmiştir. Asetazolamidin aktif bir şekilde yüklenmesi için asetat gradient metodunun üstünlüğü belirlenmiştir. Hazırlanan lipozomların stabilitesinde lipozomal yüzeyde yük önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle asetat gradient pozitif lipozomlar 2-8°C'de, 90 günün sonunda stabil bulunmuştur. Hazırlanan asetat gradient pozitif lipozomlar diğer lipozomal formülasyonlarla karşılaştırıldığında uzun süreli hipotansif (düşük tansiyon) etki göstermişlerdir. Asetat gradient tekniği ile hazırlanan asetazolamid yüklü lipozomlar, glokom tedavisinde oküler iletim sistemi için umut vaad edici olmuşlardır. Bu çalışma, lipozomlara aktif ilaç yüklemek için kullanılan tekniklerin final formülasyonun farmasötik performansını yüksek derecede etkilediği gerçeğini vurgulamaktadır.

Mishra vd. (2014) asetazolamid (ACZ) yüklü poli(propilenimin) (5.0G PPI) dendrimer nanoyapılarını etkili bir lokal asetazolamid formülasyonu elde etmek üzere geliştirmişler ve göz içi basınç düşme potansiyelini değerlendirmişlerdir. 5.0G PPI dendrimerler, çeşitli yaklaşımlar vasıtasıyla dendrimer çekirdek olarak etilendiamin kullanılarak sentezlenmiş, dendrimerik formülasyonlar boyut ve ilaç yükleme etkinliği bakımından karakterize edilmiştir. Dendrimer yüzey morfolojisi TEM ile analizlenmiştir. Geliştirilen dendrimer formülasyonları, hemolitik toksisite, oküler irritasyon indeksi ve göziçi basıncı azalması, *in vivo* model olarak normotansif yetişkin erkek Yeni Zellanda albino tavşanlar kullanılarak değerlendirilmiştir. Maksimum ilaç yükleme etkinliği % 56 bulunmuştur. ACZ-5.0G PPI dendrimerlerin *in vitro* salım verileri, 24 saat içinde fosfat tamponunda (pH 7.4) % 83.5 ve simule gözyaşı ortamında (pH 7.4) % 80.4 salım gerçekleştiğini ve ACZ geciktirilmiş salımının elde edildiğini göstermektedir. Oküler irritans, oküler rezidans süresi ve göz içi basıncı düşme etkisi değerlendirilmiştir. Dendrimer formülasyonlarının düşük derişimlerdeki sulu çözeltilerinde gözlerde zayıf irritant (tahriş edicilik) bulunmuştur. Göz içi basıncındaki geciktirilmiş ve uzun süreli azalma, dendrimerlerde tutuklanan ilacın oküler tuzakta oldukça tutulabileceğini göstermiştir. PPI dendrimer temelli formülasyonun oküler ilaç rezidans süresini arttırdığı ve glokom tedavisi için en

iyi şekilde göz içi basıncını düşürücü etkiye sahip ve güvenilir olduğu hem *in vivo* hem de *in vitro* sonuçlar göstermektedir.

Suvannasara vd. (2014) ilaç modeli olarak asetazolamidi (ACZ) kullanarak 4-karboksibenzensülfonamid-kitosan (4-CBS-kitosan) mikrokürelere, elektrosprey yöntemi ile hazırlamışlardır. ACZ-yüklü ve ACZ-yüklenmemiş olarak elde edilen 4-CBS-kitosan mikrokürelere FTIR, DSC (diferensiyel taramalı kalorimetri), SEM ve parikül boyut analizi ile karakterize etmişlerdir. Bazik bir çözeltide ACZ'in stabilitesi ve kristal formu X-ray single kristal analizi kullanılarak belirlenmiştir. 4-CBS-kitosan mikrokürelere ACZ enkapsülasyon etkinliği % 90 olarak ölçülmüştür. Başlangıçta ilacın ani salınmasından (5 dakikada % 58) sonra, ACZ-yüklü 4-CBS-kitosandan ACZ salımı geciktirilmiş (3 saatten sonra ~% 100) olarak devam etmektedir. Simule gastrik sıvıda (0.1 N HCl; pH 1.2) 1.5 saatte % 44'ün üzerinde iyi bir salım gözlenmiştir. Bu nedenle, 4-CBS-kitosan mikrokürelere gastrik mukoza duvarı gibi asidik koşullarda alternatif taşıyıcılar olarak kullanılabilirliği önerilmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Kimyasal ve Cihazlar

Kitosan (low molecular weight), kalsiyum klorür (CaCl_2), aljinik asit sodyum tuzu (low viscosity ve medium viscosity), etil alkol (absolute, % 99), potasyum bromür (KBR) ve asetazolamid Sigma-Aldrich (Steinheim, Almanya)'den; Tween 80, HEPES, hidroklorik asit (HCl) ve etilendiamin tetra asetik asit (EDTA) Merck (Darmstadt, Almanya)'den; sodyum hidroksit (NaOH), sodyum bikarbonat (NaHCO_3) ve sodyum asetat trihidrat Riedel-de Haen (Seelze, Almanya)'dan; asetik asit (glacial, % 99), potasyum klorür (KCl) ve sodyum klorür (NaCl) Carlo Erba (Ronado, İtalya)'dan; potasyum fosfat tampon tabletleri (PBS) Oxoid (Hampshire, İngiltere)'den temin edildi.

Deneyleerde Shimadzu (UV-1601) spektrofotometre, Heraeus (Fuktion Line) etüv, Hanna (H1190M) manyetik karıştırıcı, Hanna (pH 211) pH metre, Nüve (BS 402) soğutmalı su banyosu, Vestel (White FR 540) buzdolabı, Ohaus-Pioneer (PA214C) 0.0001 g duyarlılıkta terazi, Labconco (Freezone 6) liyofilizatör, Memmert (WBU 45) ısıtıcı, Hettich (Universal 32R) santrifüj cihazı, 3K30 Sigma (Almanya) santrifüj cihazı, Velp (Multistirrer 15) çoklu manyetik karıştırıcı kullanıldı.

Sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyonu için ADÜ Bilim Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde bulunan FTIR spektrofotometresi (Varian FTS 7000, USA), İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü-Malzeme Araştırma Merkezi'nde bulunan Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM, Philips XL-30S FEG), NANOen Ar-Ge Ltd.'de bulunan Malvern Zetasizer Nano Range ve İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'nde bulunan Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM, Leo-Evo 40 x VP, 4 keV) ve Enerji Dağılımlı X-ışını Analiz cihazı (LEO, EVO 40, Carl Zeiss NTS, Peabody, Massachusetts) kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Asetazolamid Çalışma Grafiklerinin Hazırlanması

Tüm denemelerden önce 0.01 mg/mL derişimde asetazolamid çözeltisi hazırlanarak bu çözeltinin UV-Vis spektrofotometrede 400-200 nm dalga boyları arasında spektrumları alındı. Asetazolamidin 0.01 M NaOH çözeltisi kullanılarak çözülmesi, ortamı bazikleştirdiği için tutuklama deneylerinde, absorbans ölçümlerinin 292 nm dalga boyunda yapılmasına karar verildi. Asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartikül çözeltisinin pH'mın yüklemekten sonra daha asidik bölgeye (pH 4.6) kayması nedeniyle salım çalışmaları için absorbans ölçümlerinin 265 nm dalga boyunda yapılmasına karar verildi. Nanopartiküllere ACZ yükleme ve nanopartiküllerden ACZ salım denemelerinde ilaç derişimi, köktürme sonrası süpernatandaki asetazolamid miktarı dikkate alınarak hesaplandığından, çalışılacak derişim aralıklarını kapsayan çalışma grafikleri aşağıdaki gibi hazırlandı:

Tutuklama için: On mg asetazolamid 100.0 mL NaOH'de çözülerek 0.1 mg/mL'lik bir stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözelti 10 kat seyreltilerek 0.01 mg/mL'lik bir çözelti elde edildi. Seyreltilen bu çözeltiden son derişimler sırasıyla 0.001; 0.002; 0.003; 0.004; 0.005; 0.006; 0.007; 0.008; 0.009 ve 0.01 mg/mL olacak şekilde 0.3; 0.6; 0.9; 1.2; 1.5; 1.8; 2.1; 2.4; 2.7 ve 3.0 mL tüplere alınarak son örnek hariç diğerleri NaOH ile 3.0 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltilerin 292 nm dalga boyunda absorbansları ölçüldü. Absorbans değerleri asetazolamid derişimlerine karşı grafiğe geçirildi. Tüm denemeler 3 tekrarlı yapıldı.

Salım için: On mg asetazolamid 100 mL pH 1.5; pH 6.8 ve pH 7.4 ortamlarında çözülerek stok çözeltiler hazırlandı. Bu stok çözeltiler 10 kat seyreltilerek 0.01 mg/mL'lik çözeltiler elde edildi. Seyreltilen bu çözeltilerden son derişimler sırasıyla 0.001; 0.002; 0.003; 0.004; 0.005; 0.006; 0.007; 0.008; 0.009 ve 0.01 mg/mL olacak şekilde 0.3; 0.6; 0.9; 1.2; 1.5; 1.8; 2.1; 2.4; 2.7 ve 3.0 mL tüplere alınarak son örnek hariç diğerleri yukarıda belirtilen pH ortamları ile 3.0 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltilerin 265 nm dalga boyunda absorbansları ölçüldü. Absorbans değerleri asetazolamid derişimlerine karşı grafiğe geçirildi.

3.2.2. Maksimum Tutuklama, En İyi Partikül Oluşumu ve En Etkin İlaç Salımı için Formül Geliştirme

Aljinat doğal polimeri kullanılarak mikroküre, nanopartikül, boncuk gibi taşıyıcı birimlerin oluşturulması mümkündür. Aljinat/kitosan partikülleri oluşturmak için Sarmento vd. (2007b) dikkate alınarak ve ilaç, polimer, çapraz bağlayıcı derişimleri değiştirilerek, en iyi tutuklama etkinliği ve partikül oluşumu için optimizasyon denemeleri gerçekleştirildi.

Belirtilen derişimlerde taze asetazolamid çözeltileri 0.05 M (F1, F2, F3) ve 0.01 M (F4 ve sonraki formülasyonlar) NaOH'de çözümlenerek hazırlandı. Bu çözeltilerden hesaplanan hacimlerde alınarak kalsiyum klorürün sudaki çözeltilerine eklendi. Asetazolamid içeren kalsiyum klorür çözeltileri belli derişimlerdeki aljinatın sulu çözeltilerine yarım saat boyunca bir damlalık yardımı ile 1 damla/30 s olacak şekilde eklendi. İşlem tamamlandıktan yirmi dakika sonra belli derişimlerdeki kitosanın % 1'lik asetik asitteki çözeltileri, karışır durumdaki asetazolamid içeren kalsiyum aljinat çözeltilerine (önjel) 45 dakika boyunca bir damlalık yardımı ile 1 damla/30 s olacak şekilde eklendi (F29, F30 ve F31 hariç). Tüm işlemler tamamlandıktan sonra çözeltiler bir gece oda sıcaklığında hava ve ışık almayacak şekilde 100 rpm'de (F28, F29, F30; 600 rpm'de karıştırıldı) karıştırıldı. Çizelge 3.1'de gösterilen kombinasyonlarla oluşturulan partiküllere asetazolamid yükleme süreci Şekil 3.1'de şematize edilmiştir:

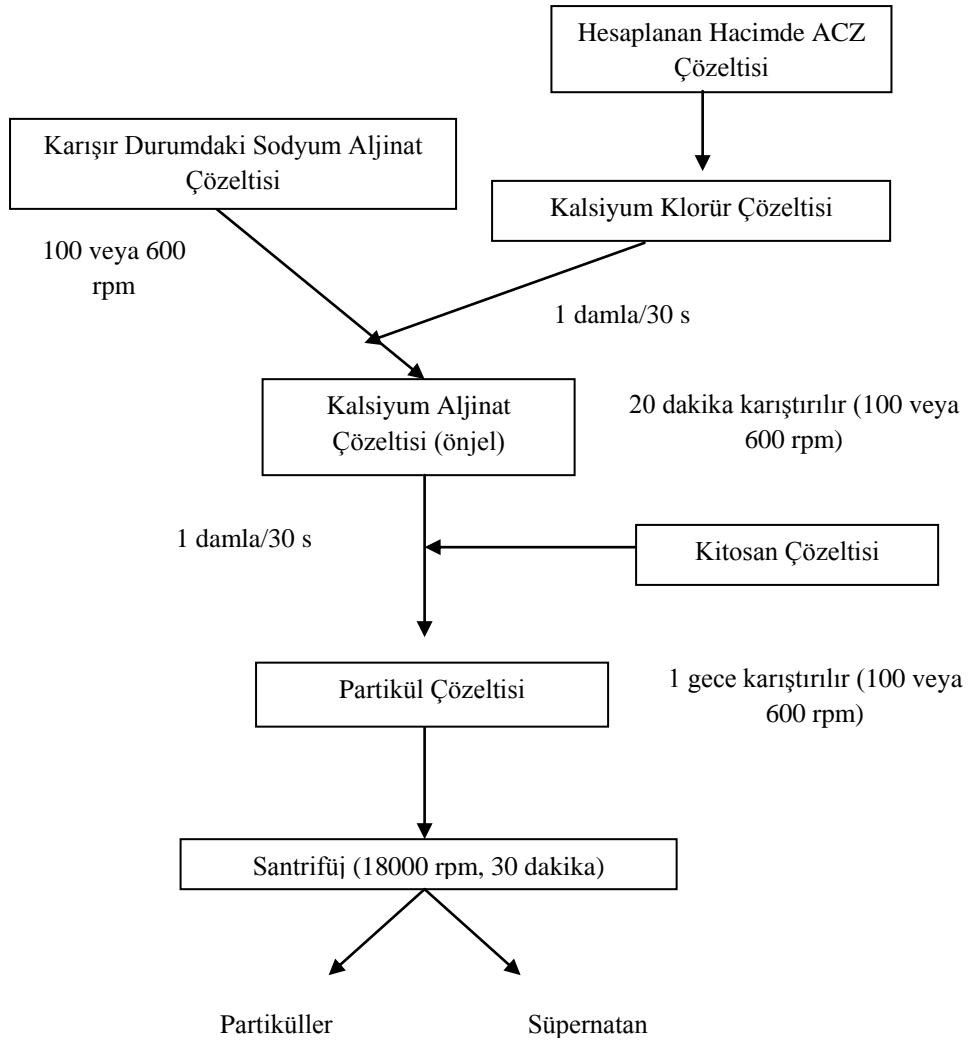
Çizelge 3.1. NaOH, aljinat, CaCl₂, ACZ ve kitosan derişimleri değiştirilerek oluşturulan asetazolamid yüklü partikül formülasyonları ve bu formülasyonların kodları (F28, F29, F30 formülasyonların karışma hızları 600 rpm iken, diğer formülasyonların karışma hızı 100 rpm'dir).

Formülasyonlar	NaOH (M)	Aljinat (mg/mL)	CaCl ₂ (mg/mL)	ACZ (mg/mL)	Kitosan (mg/mL)
F1	0.05	0.63	2.0	1.0	0.88
F2	0.05	0.63	2.0 ve % 5'lik glutaraldehit	1,0	0.88
F3	0.05	0.63	2.0	1.0	1.76
F4	0.01	1.26	2.0	1.0	1.76
F5	0.01	1.26	2.0	1.0	2.64
F6	0.01	0.63*	2.0	1.0	1.76
F7	0.01	-	2.0	1.0	1.76
F8	0.01	0.42	2.0	1.0	1.76
F9	0.01	0.85	2.0	1.0	1.76
F10	0.01	1.28	2.0	1.0	1.76
F11	0.01	1.70	2.0	1.0	1.76
F12	0.01	2.13	2.0	1.0	1.76
F13	0.01	0.85	1.0	1.0	1.76
F14	0.01	0.85	1.5	1.0	1.76
F15	0.01	0.85	2.0	1.0	1.76
F16	0.01	0.85	2.5	1.0	1.76
F17	0.01	0.85	3.0	1.0	1.76
F18	0.01	0.85	2.0	0.5	1.76
F19	0.01	0.85	2.0	1.0	1.76
F20	0.01	0.85	2.0	1.5	1.76
F21	0.01	0.85	2.0	2.0	1.76

F22	0.01	0.85	2.0	2.5	1.76
F23	0.01	0.85	2.0	1.0	1.00
F24	0.01	0.85	2.0	1.0	1.40
F25	0.01	0.85	2.0	1.0	1.80
F26	0.01	0.85	2.0	1.0	2.20
F27	0.01	0.85	2.0	1.0	2.60
F28	0.01	0.85	2.0	1.0	1.0
F29	0.01	0.85	2.0 (1.5 mL)	1.0	-
F30	0.01	0.85	2.0 (10.0 mL)	1.0	-
F31	0.01	20	20	1.0	-

* Orta viskoz aljinat kullanılmıştır.

Diğer formülasyonlarda ise düşük viskoz aljinat kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Asetazolamid yüklü aljinat/kitosan partikül oluşturma işlem süreci.

Asetazolamidi 0.05 M NaOH'de çözmek, çözelti ortamının bazikliğini arttırdığı için ve endüstriyel açıdan daha büyük miktarlarda NaOH sarfiyatına gereksinim duyulacağından, NaOH derişiminin 0.01 M olmasına karar verilerek, F3 formülasyonundan sonraki tüm tutuklama deneylerinde, asetazolamidin 0.01 M NaOH'de çözülmesine karar verildi.

Asetazolamidin saf su (25, 35, 45°C sıcaklıklarda), 0.1 N HCl, pH 5.4 asetat tamponu, pH 6.8 ve pH 7.8 fosfat tamponları, HEPES ve mutlak etanol gibi başka çözgenlerde de çözeltileri hazırlandı. Ancak asetazolamidin bu çözeltilerdeki

çözünürlüğünün düşük olması nedeniyle, yükleme için kullanılacak uygun derişimdeki ilaç çözeltileri bu çözenlerle hazırlanamadı.

Kaur vd. (2000)'e göre asetazolamidin herhangi bir çözgende çözeltisi hazırlanmadan karışır durumdaki aljinat çözeltisi içerisine 1.0 mg katı ilaç ilave edilerek Şekil 3.1'deki basamaklar aynı şekilde uygulandı. Ancak ilaç çözünmediği için çözelti disperse haldeydi ve jelleşme yoktu. Bu sonuçlara dayanılarak tutuklanmanın olmadığına karar verildi.

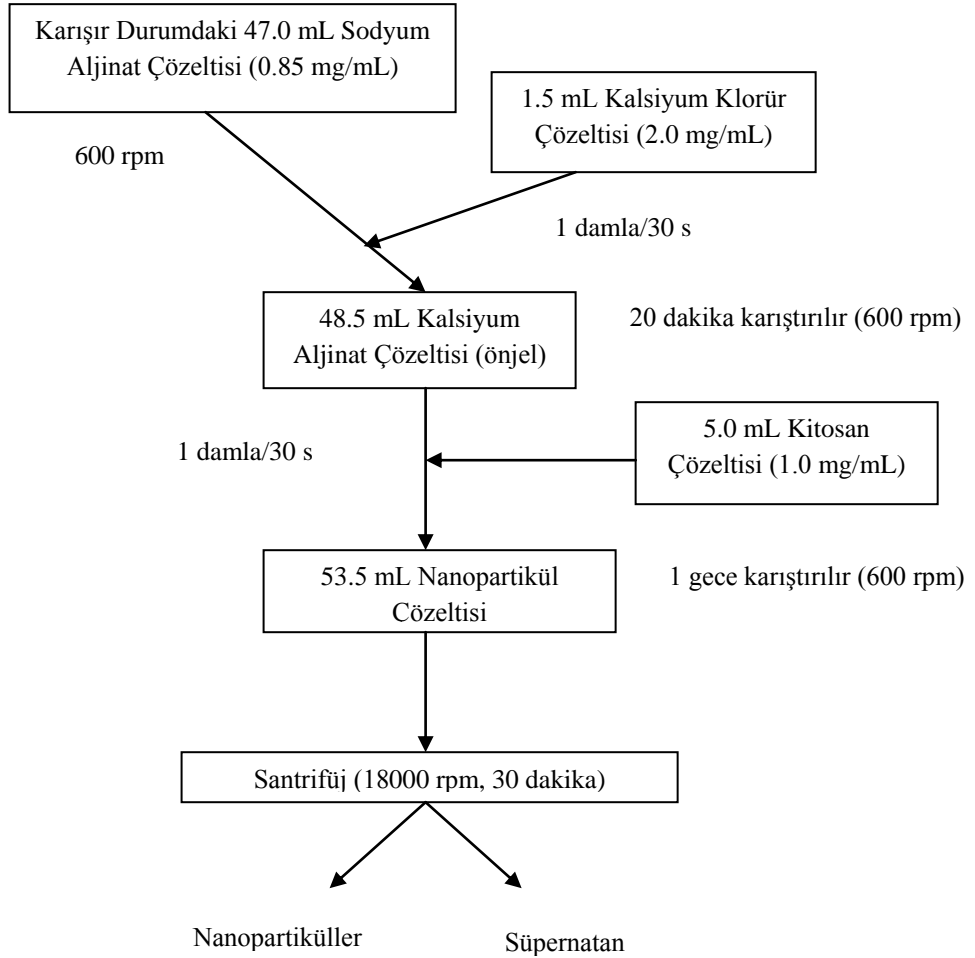
Kaur vd. (2000)'e göre penetrasyon artırıcı olarak EDTA ilavesi ile, Tween 80 içerisinde asetazolamid 3 saat boyunca karıştırıldı. Bu karışım, karışır durumdaki aljinat çözeltisi içerisine boca edilerek dispers bir karışım elde edildi. Ancak çözeltinin rengi asetazolamidten dolayı beyazdı, sabit bir absorbans değerine ulaşamadı ve çözeltide jelleşme olmadı. Bu sonuçlara dayanılarak tutuklanmanın olmadığına karar verildi.

Sarmento vd. (2006)'e göre, aljinat miktarının kitosan miktarına oranı ne kadar fazla ise o kadar küçük yapıda partikül oluşumu sağlanmaktadır. Ayrıca küçük boyutta partikül elde edebilmek için yüklemenin yüksek karıştırma hızında yapılması, aljinat ve kitosanın çözeltilerinin pH'larının sırasıyla 4.9 ve 4.6'ya ayarlanması gerekmektedir. Tüm bu kurallar dikkate alınarak aljinat/kitosan oranının 8/1 olmasına karar verildi. Çizelge 3.1'de denenen tüm formülasyonlar sonucunda, tutuklama etkinliğini, salım miktarını ve partikül boyutunu dikkate alarak asetazolamid yüklü partikül formülasyonları içinde en uygun formülasyonun, F28 olduğuna karar verildi ve sonraki tüm çalışmalar bu formülasyon ile gerçekleştirildi.

3.2.2.1. F28 Formülasyonu ile Boş Aljinat/Kitosan Nanopartiküllerin Hazırlanması

Elli mg CaCl_2 25.0 mL suda, 40.0 mg sodyum aljinat 47.0 mL suda ve 5.0 mg kitosan 5.0 mL % 1'lik asetik asit çözeltisinde çözüldü. Aljinat çözeltisinin pH'ı 4.9'a ve kitosan çözeltisinin pH'ı 4.6'ya (Sarmento vd., 2006) ayarlandı. Karışır durumdaki 47.0 mL sodyum aljinat (0.85 mg/mL) çözeltisine 1.5 mL kalsiyum klorür çözeltisi (2.0 mg/mL) damlalıklarla 30 saniyede bir damla olacak şekilde eklendi. Bu işlem yaklaşık yarım saat sürdü. Çözelti 20 dakika 600 rpm'de karıştırıldıktan sonra 5.0 mL kitosan çözeltisi karışmakta olan çözeltilere 30

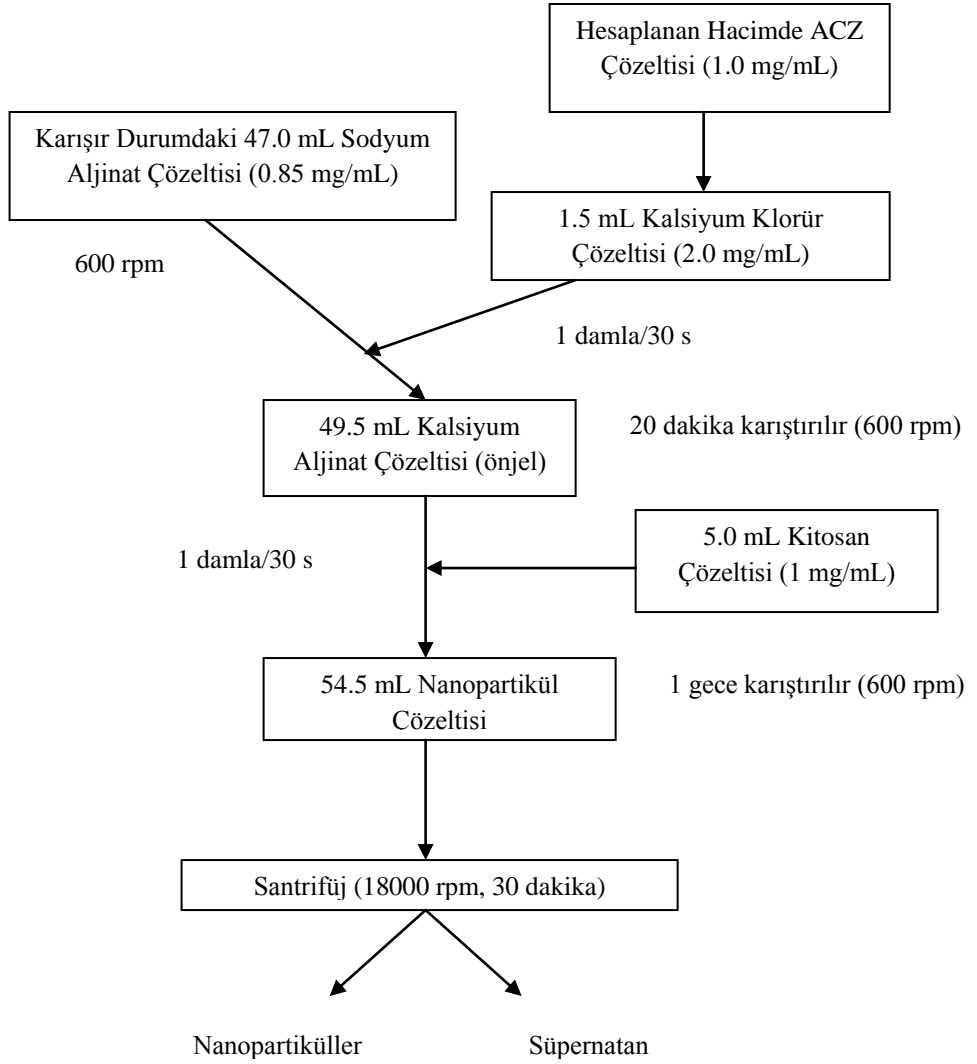
saniyede bir damla olacak şekilde eklendi. Çözelti oda sıcaklığında hava ve ışık almayacak şekilde 600 rpm'de karıştır durumda bir gece bırakıldı. Boş nanopartikül hazırlama süreci Şekil 3.2'de şematize edilmiştir:



Şekil 3.2. Boş aljinat/kitosan nanopartikül oluşturma sürecinde işlem şeması.

3.2.2.2. F28 Formülasyonu ile Asetazolamid Yüklü Aljinat/Kitosan Nanopartiküllerin Hazırlanması

Taze asetazolamid çözeltisi derişimi 1.0 mg/mL olacak şekilde 0.01 M NaOH'de çözülerek hazırlandı. Bu çözeltiden hesaplanan hacimde alınarak 1.5 mL kalsiyum klorürün sudaki çözeltisine (2.0 mg/mL) eklendi. Asetazolamid (ACZ) içeren kalsiyum klorür çözeltisi pH'ı ayarlanmış karışır durumdaki 47.0 mL aljinatın sudaki çözeltisine (0.85 mg/mL) yarım saat boyunca bir damlalık yardımı ile 1 damla/30 s olacak şekilde eklendi. İşlem tamamlandıktan yirmi dakika sonra pH'ı ayarlanmış 5.0 mL kitosanın % 1'lik asetik asitteki çözeltisi (1.0 mg/mL), karışır durumdaki asetazolamid içeren kalsiyum aljinat çözeltisine (önjel) 45 dakika boyunca bir damlalık yardımı ile 1 damla/30 saniye olacak şekilde eklendi. Tüm işlemler tamamlandıktan sonra çözelti bir gece oda sıcaklığında hava ve ışık almayacak şekilde 600 rpm'de karışmaya bırakıldı. Nanopartiküllere asetazolamid yükleme süreci Şekil 3.3'de şematize edilmiştir:



Şekil 3.3. Asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartikül oluşturma sürecinde işlem şeması.

3.3. Aljinat/Kitosan Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

3.3.1. Fourier Transform Infrared Spektroskopi (FTIR) Ölçümleri

Aljinat, kitosan, asetazolamid, boş aljinat/kitosan nanopartiküller ve asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin FTIR spektrumları alındı. Boş ve asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartikül örneklerini toz halde elde etmek için Şekil 3.2. ve 3.3’de anlatıldığı şekilde hazırlanan nanopartiküller (18000 rpm, 30 dakika) çöktürüldü ve süpernatant ayrıldı. Böylece nanopartikül oluşumuna katılmayan aljinat, kitosan ve kalsiyum klorür, ayrıca tutuklanmayan asetazolamid örnekten uzaklaştırılmış oldu. Çöken nanopartiküller spatül yardımıyla toplanarak 40°C’de etüvde kurutuldu. Kurutulan örneklerden bir miktar alındı ve örneğin kırk katı olacak şekilde potasyum bromür ile karıştırılarak pellet haline getirildi ve FTIR spektrumu alındı.

3.3.2. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Ölçümleri

Şekil 3.2 ve 3.3’de anlatıldığı şekilde hazırlanan boş ve asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartiküller (18000 rpm, 30 dakika) çöktürüldü ve süpernatant ayrıldı. Çöken nanopartiküller spatül yardımıyla toplanarak 40°C’de etüvde kurutuldu. Kurutulan örnekler toz haline getirildi ve bu örneklerin taramalı elektron mikroskopu ile fotoğrafları çekildi.

3.3.3. Partikül Boyut Analiz (Zetasizer) Ölçümleri

% 1’lik asetik asit çözeltisi içerisinde örneklerin % 0.1 katı içeren süspansiyonları hazırlandı. Ultrasonik kırıcıda 2 s tutularak örneklerin çözelti içerisinde daha homojen dağılması sağlandı. Zetasizer ile örneklerin partikül boyutu analizleri yapıldı.

3.3.4. Enerji Dağılımlı X-ışını Analiz (EDX) Ölçümleri

Sentezlenen boş ve asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin elementel analizi X-ışını analizi (EDX) cihazı (LEO, EVO 40, Carl Zeiss NTS, Peabody, Massachusetts) kullanılarak gerçekleştirildi. Aljinat/kitosan nanopartiküllere asetazolamidin inkorpore olduğu kükürt varlığıyla belirlendi.

3.4. Nanopartiküller için Kütle/Hacim Grafiğinin Hazırlanması

Hazırlanan boş aljinat/kitosan nanopartiküller kullanılarak kütle/hacim grafiği aşağıdaki gibi hazırlandı. Nanopartikül çözeltisinin çöktürülmesinde kullanılacak olan ependorflar tartıldı. Nanopartikül çözeltisinden sırasıyla 1.0; 2.0; 3.0; 4.0 ve 5.0 mL alınarak çöktürüldü. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra çöken nanopartiküller 40°C’de etüvde bir gece kurumaya bırakıldı. Kuru nanopartikülleri içeren ependorflar tartıldı. Boş ependorfların kütleleri kuru nanopartikülleri içeren ependorfların kütlelerinden çıkarıldı ve kuru nanopartiküllerin kütlesi hesaplandı. Hesaplanan kuru nanopartikül kütleleri alınan çözelti hacimlerine karşı grafiğe geçirildi.

3.5. Asetazolamid Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi

Nanopartiküllere yüklenecek olan asetazolamid miktarı nanopartikül yapımında kullanılan aljinat miktarına oranlanarak belirlendi. Kırk mg aljinata karşılık 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5 mg asetazolamid olacak şekilde Şekil 3.3.’de şematize edilen nanopartikül oluşturma işlemi gerçekleştirildi. Bir gece karıştırma işleminin ardından ertesi gün nanopartiküller çöktürülerek süpernatantların UV-Vis spektrofotometrede 292 nm’de absorbanları ölçüldü ve önceden hazırlanmış olan asetazolamid çalışma grafiğinden yararlanılarak süpernatantlardaki tutuklanmamış asetazolamid derişimi belirlendi. Süpernatant derişim değerleri reaksiyon ortamındaki toplam asetazolamid derişiminden çıkarılarak tutuklanmış asetazolamid miktarları hesaplandı (2.5 mg/mL’in üzerindeki derişimlerde asetazolamid çözeltileri 0.01 M NaOH’da çözünmediği için sonuç alınamamıştır).

3.6. Asetazolamid Yükleme Kapasitesine Sıcaklığın Etkisi

Tüm asetazolamid derişimleri ile yükleme denemeleri gerçekleştirildikten sonra asetazolamid salım denemelerinde kullanılacak olan asetazolamid miktarı belirlendi. Belirlenen 40.0 mg aljinat/1.0 mg asetazolamid oranı için yükleme kapasitesine sıcaklığın etkisi incelendi. Çalışılacak sıcaklıklar 5, 15, 25, 35, 45, 55 °C olarak belirlendi. Şekil 3.3’de şematize edilen nanopartiküllere asetazolamid yükleme işlemi belirtilen sıcaklıklarda gerçekleştirildi. Çalışılan sıcaklıkta bir gece 600 rpm’de hava ve ışık almayacak şekilde karışan nanopartiküller ertesi gün santrifüjlenerek süpernatanda asetazolamid analizi yapıldı.

3.7. Fizyolojik Koşulların İlaç Salımına Etkilerinin Saptanması

3.7.1. Asetazolamidin *in vitro* Mide Ortamında Salımının İncelenmesi

Mide ortamını *in vitro* olarak taklit etmek için kullanılacak olan pH 1.5 ortamı Parthibarajan vd. (2013)'e göre 0.1 N HCl ile hazırlandı. Bir erlen içerisinde 37°C'de ve ağzı kapalı durumdaki 36.0 mL karışan ortam (pH 1.5) içerisine asetazolamid tutuklanmış 6.84 mg nanopartikül eklendi. Otuz dakika aralıklarla ortamdaki 2.0 mL çözelti alınarak santrifüjlendi. Her seferinde alınan çözelti kadar erlene ortam çözeltisinden (pH 1.5) eklendi. Bu işlem 4 saat boyunca tekrarlandı. Süpernatantlarda asetazolamid analizi yapıldı ve geçen süre içerisinde nanopartiküllerden ortama ne kadar asetazolamid salındığı hesaplandı.

3.7.2. Asetazolamidin *in vitro* İnce Bağırsak Ortamında Salımının İncelenmesi

İnce bağırsak ortamını *in vitro* olarak taklit etmek için kullanılacak olan 0.01 M pH 6.8 ve pH 7.4 ortamları Lee vd. (2009)'a göre potasyum fosfat tampon tabletlerinin (PBS) saf suda çözülmesi ile hazırlandı. Bir erlen içerisinde 37°C'de ve ağzı kapalı durumdaki 36.0 mL karışan ortam (pH 6.8 ve pH 7.4) içerisine asetazolamid tutuklanmış 6.84 mg nanopartikül eklendi ve 30 dakika aralıklarla ortamdaki 2.0 mL çözelti alınarak santrifüjlendi. Her seferinde alınan çözelti kadar erlene ortam çözeltisinden (pH 6.8 ve 7.4) eklendi. Bu işlem 4 saat boyunca tekrarlandı. Süpernatantlarda asetazolamid analizi yapıldı ve geçen süre içerisinde nanopartiküllerden ortama ne kadar asetazolamid salındığı hesaplandı.

3.7.3. Asetazolamidin *in vitro* Gözyaşı Ortamında Salımının İncelenmesi

Kaur vd. (2000)'e göre gözyaşı ortamını (STF) *in vitro* olarak taklit etmek için kullanılacak pH ~7.4 ortamları (Singla vd., 2002) 0.67 g NaCl, 0.20 g NaHCO₃ ve 0.008 g CaCl₂'ün 100 mL sudaki çözeltisi ile hazırlandı. Çözelti içerisinde CO₂ gazı geçirilerek çözeltinin pH'ı ~7.4'e ayarlandı. Bir erlen içerisinde 37°C'de ve ağzı kapalı durumdaki 48.0 mL hafifçe karışan ortam (STF) içerisine asetazolamid tutuklanmış 9.12 mg nanopartikül eklendi ve 30 dakika aralıklarla ortamdaki 2.0 mL çözelti alınarak santrifüjlendi. Bu işlem 4 saat boyunca tekrarlandı. Süpernatantlarda asetazolamid analizi yapıldı ve geçen süre içerisinde nanopartiküllerden ortama ne kadar asetazolamid salındığı hesaplandı.

3.7.4. Diazomid® tabletlerden *in vitro* Mide Ortamında Asetazolamid Salımının İncelenmesi

Mide ortamını *in vitro* olarak taklit etmek için kullanılacak olan pH 1.5 ortamı 0.1 N HCl ile hazırlandı. Bir beher içerisinde 37°C’de ve ağzı kapalı durumdaki 100.0 mL karışan ortama (pH 1.5) bir adet Diazomid® tablet (250 mg asetazolamid içerir) atıldı. Otuz dakika aralıklarla ortamdaki 2.0 mL çözelti alınarak santrifüjlendi. Bu işlem 4 saat boyunca tekrarlandı. Süpernatantlarda asetazolamid analizi yapıldı ve geçen süre içerisinde tabletlerden ortama ne kadar asetazolamid salındığı hesaplandı.

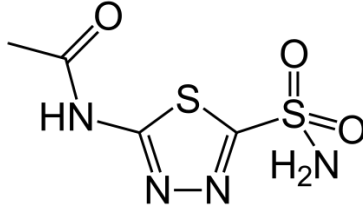
3.7.5. Diazomid® tabletlerden *in vitro* İnce Bağırsak Ortamında Asetazolamid Salımının İncelenmesi

İnce bağırsak ortamını *in vitro* olarak taklit etmek için kullanılacak olan pH 6.8 ve pH 7.4 (0.01 M) ortamları potasyum fosfat tampon tabletlerinin (PBS) saf suda çözülmesi ile hazırlandı. Bir beher içerisinde 37°C’de ve ağzı kapalı durumdaki 100.0 mL pH 6.8 ve pH 7.4 fosfat tamponları içerisine birer adet Diazomid® tablet atıldı. Otuz dakika aralıklarla ortamdaki 2.0 mL çözelti alınarak santrifüjlendi. Bu işlem 4 saat boyunca tekrarlandı. Süpernatantlarda asetazolamid analizi yapıldı ve bu süre içerisinde tabletlerden ortama ne kadar asetazolamid salındığı hesaplandı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Asetazolamid Çalışma Grafikleri

Çalışmanın her aşamasında çözeltide asetazolamid derişiminin tayini gerekmektedir. Bu tayin için eğer mümkünse, UV-Vis bölgede absorbans ölçümü yapılır ve Lambert-Beer yasasından yararlanılarak derişim hesaplanır.

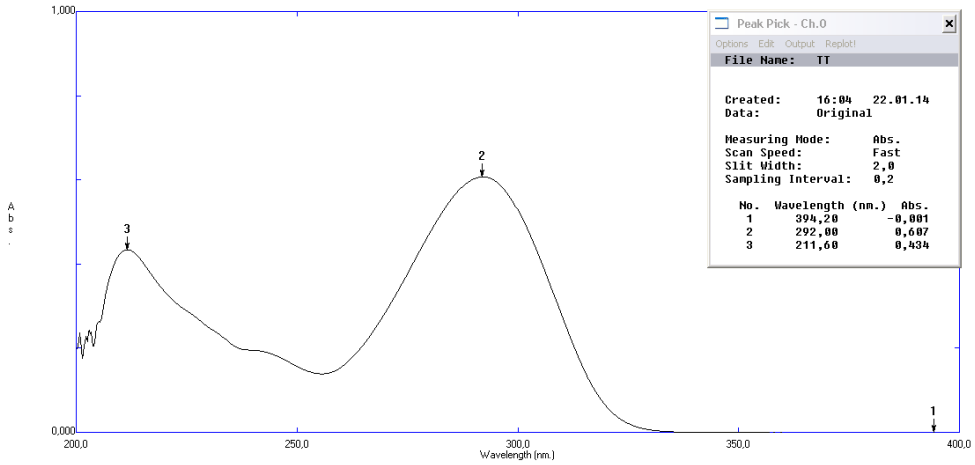


Asetazolamidin Molekül Yapısı

Asetazolamid UV-Vis bölgede absorbans yapan bir bileşiktir. Bu nedenle spektrofotometre ile tayini mümkün olmuştur.

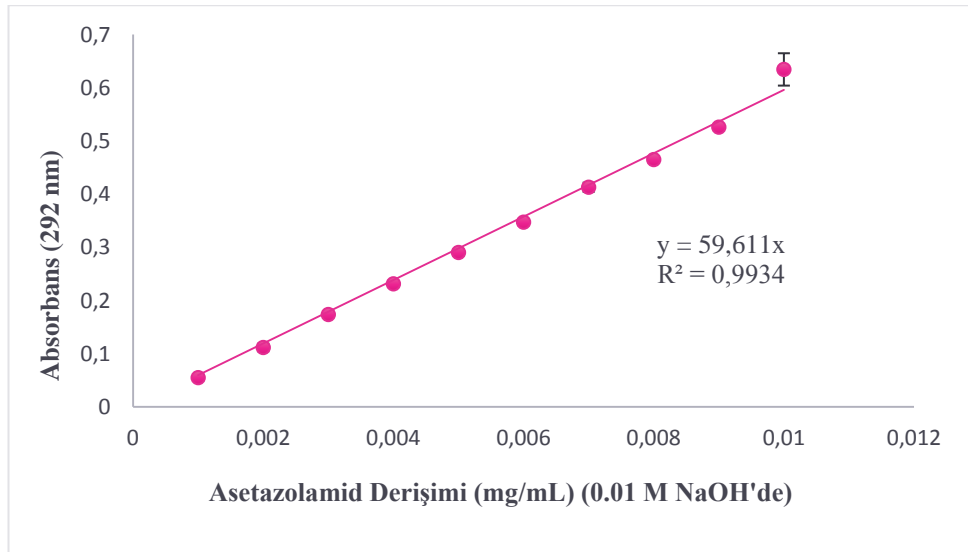
Asetazolamid sudaki çözünürlüğü (~ 0.72 mg/mL) çok düşük olan bir bileşiktir. Öte yandan bazik ortamlarda (örneğin NaOH çözeltisi) çözünürlüğünün arttığı bilinmektedir (Singla vd., 2002). İlaç tutuklama deneylerinde ACZ derişiminin tutuklamaya etkisinin incelenebilmesi için farklı derişimlerde ACZ çözeltilerine ihtiyaç duyulur. Bu nedenle ACZ'in mümkün olduğu kadar derişik çözeltilerini hazırlamak üzere NaOH çözeltisinin çözen olarak kullanılması yoluna gidilmiştir (Kaur vd., 2000; Singla vd., 2002; Pisal vd., 2014).

Çalışmada tutuklanmış ilacın absorbans ölçümlerinde kullanılacak dalga boyuna karar vermek için 0.01 M NaOH'de çözünmüş 0.01 mg/mL asetazolamid çözeltisinin 400-200 nm aralığında spektrumu alındı. Spektrumda 292 ve 211 nm dalga boylarında 2 pik görüldü. Bu spektrum Şekil 4.1'de görülmektedir. Buna göre, 0.01 M NaOH'de çözünen asetazolamidin pH'nın yaklaşık 12 civarında olması sebebiyle, asetazolamidin bazik ortamdaki çözeltisinin 292 nm'de absorbans vermesi gerektiği European Pharmacopoeia (2009) makalesince desteklenerek ve 292 nm'deki absorbsiyonunun daha yüksek boyutlu olması nedeniyle aljinat/kitosan nanopartiküllere asetazolamid tutuklanma deneylerinin ölçümlerinin bu dalga boyunda yapılmasına karar verildi.



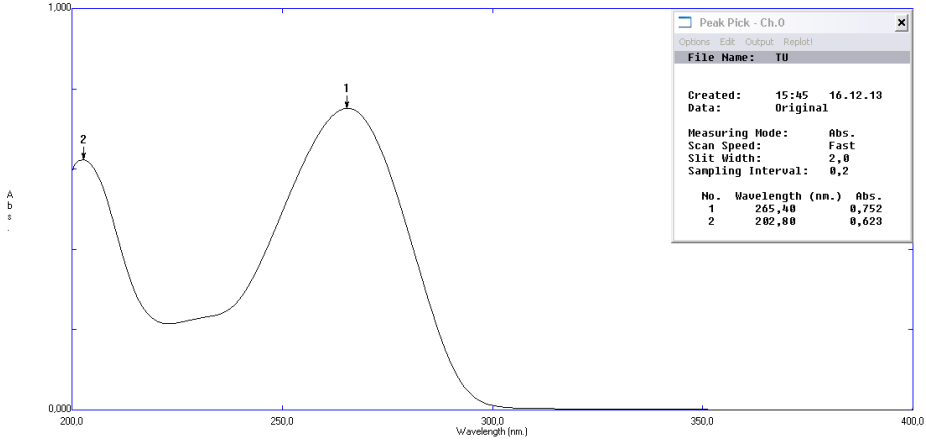
Şekil 4.1. Asetazolamid çözeltisinin (0.01 mg/mL) 0.01 M NaOH'de UV-Vis bölgedeki absorpsiyon spektrumu.

Bu işlemlerden sonra asetazolamid çözeltisinin çalışma grafiği hazırlandı. Farklı derişimlerdeki asetazolamid çözeltisinin 292 nm'deki absorpsansları kullanılarak hazırlanan standart çalışma grafiği Şekil 4.2'de görülmektedir.

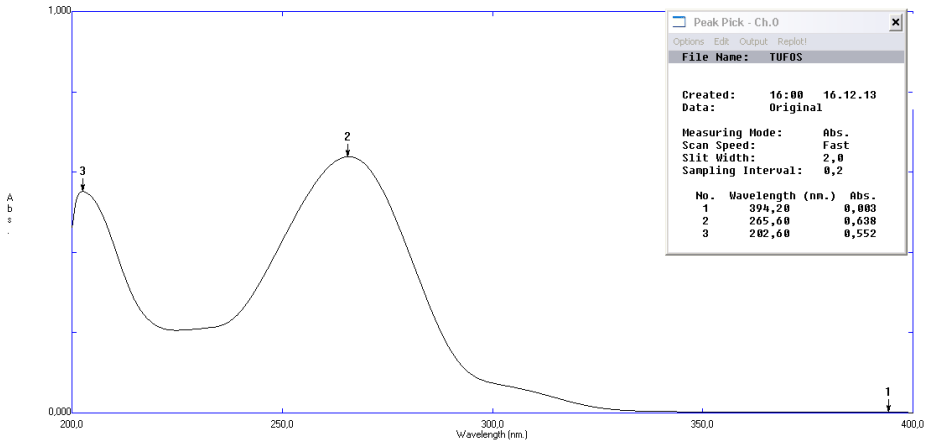


Şekil 4.2. Asetazolamid çalışma grafiği (pH 12.3; $\lambda=292$ nm).

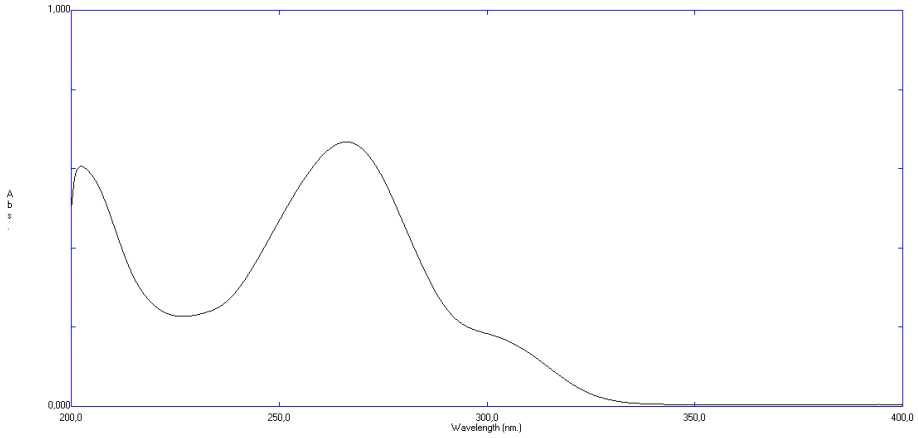
Öte yandan ilaç tutuklandıktan sonra salım çalışmaları için farklı pH'lardaki (pH 1.5, 6.8 ve 7.4) yapay vücut sıvısı ortamları hazırlanacağından ACZ'in alkali özellikte olmayan çözeltilerdeki spektrofotometrik davranışları da incelenmiştir.



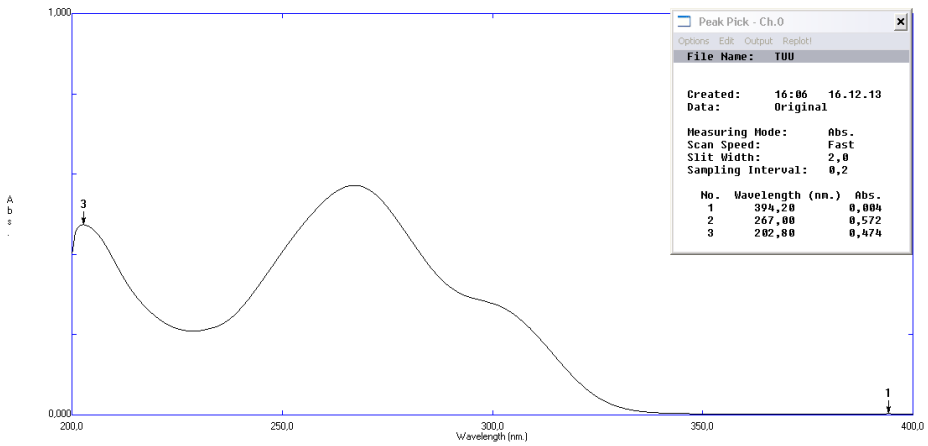
Şekil 4.3. Asetazolamid çözeltisinin (0.01 mg/mL) 0.1 N HCl'de UV-Vis bölgedeki absorpsiyon spektrumu.



Şekil 4.4. Asetazolamid çözeltisinin (0.01 mg/mL) pH 6.8 fosfat tamponunda UV-Vis bölgedeki absorpsiyon spektrumu.

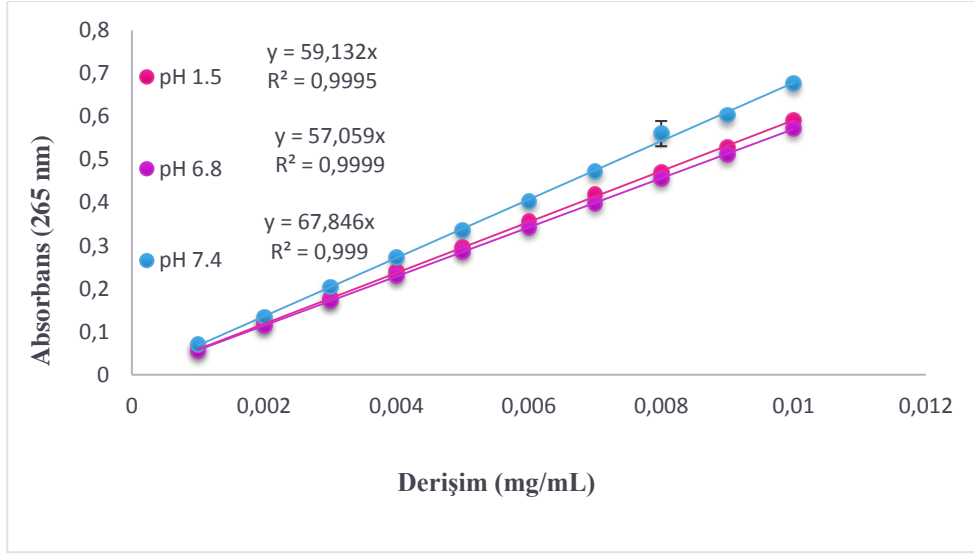


Şekil 4.5. Asetazolamid çözeltisinin (0.01 mg/mL) pH 7.4 fosfat tamponunda UV-Vis bölgedeki absorpsiyon spektrumu.



Şekil 4.6. Asetazolamid çözeltisinin (0.01 mg/mL) pH 7.4 STF’da UV-Vis bölgedeki absorpsiyon spektrumu.

Salım aşamasında ilaç yüklendikten sonra ortamın pH’ı asidik bölgeye (pH 4.6) kaydığında European Pharmacopoeia (2009)’ya göre ACZ çözeltisi 265 nm dalga boyunda maksimum absorbans vermektedir. Bunun için, ilacın kontrollü salımı yine süpernatanda ilaç aranması gerektirdiğinden pH 1.5, 6.8 ve 7.4 ortamlar için 265 nm’de ayrı ayrı çalışma grafikleri hazırlandı. Asetazolamidin 265 nm’deki absorbansları kullanılarak hazırlanan standart çalışma grafikleri Şekil 4.7’de görülmektedir.



Şekil 4.7. Asetazolamid çalışma grafikleri (pH 1.5, pH 6.8, pH 7.4; $\lambda=265$ nm).

Asetazolamidin sudaki çözünürlüğü oldukça düşük olup ilaveten düşük penetrasyon katsayısına (4.1×10^{-6} cm/s) sahiptir (Singla vd., 2002). Özellikle korneal yüzey için hazırlanacak olan ACZ preparatlarında karbonik anhidraz inhibisyonu için ACZ'in yüksek derişimlerde olması gerekir. Zira göz içi basıncının (IOP) düşürülmesi için CA enziminin düşük yüzdeli inhibisyonları istenilen tedaviyi sağlamamaktadır (Kaur vd., 2002). Bu nedenle tutuklama çalışmalarında en yüksek derişimdeki ACZ çözeltisini elde etmek üzere ilacı çözmek için 0.01 M NaOH çözeltisi kullanıldı. Bu çözelti içindeki ACZ'in maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyu, bu çalışmada ve diğer çalışmalarda (Khamis vd., 1993; European Pharmacopoeia, 2009) 292 nm olarak tespit edildi.

Salım çalışmalarında ise ACZ'in maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyu 265 nm olarak bu çalışmada (Şekil 4.3, 4.4, 4.5 ve 4.6) ve diğer çalışmalarda (Kaur vd., 2000; European Pharmacopoeia, 2009; Barzegar-Jalali vd., 2013; Pisal vd., 2014) tespit edildiğinden salım için 265 nm dalga boyunun kullanılmasına karar verildi.

4.2. Partikül Geliştirme Çalışmaları

Doğal veya yapay polimerik sistemlerin oluşturulması ile üretilen kontrollü ilaç salım sistemi çalışmalarında genellikle ilk işlemler en uygun kombinasyonun belirlenmesi için optimizasyon çalışmalarının yapılmasıdır. Bu çalışmada da aljinat ve kitosan doğal polimerlerin kullanılmasına karar verildiğinden ve aljinatın jelleştirilmesi için CaCl_2 kullanıldığından; ayrıca, ilaç derişimi optimize edileceğii ve ilaç çözeltilsinin hazırlanmasında NaOH bazik çözeltilsinden yararlanıldığı için bu beş parametre değıştirilmek suretiyle 31 kombinasyon denendi. Bu denemelerde en uygun polimer oluşturma/ilac tutuklama bileşimi elde edilmeye çalışıldı (Çizelge 3.1).

Bu çalışmanın sonucu ve her bir formülasyon için hesaplanan ACZ tutuklama yüzdesi (Yüzde tutuklama etkinliğı) Çizelge 4.1'de görölmektedir. Yüzde tutuklama etkinliğı aşağıdaki

$$\% \text{ Tutuklama etkinliğı} = (\text{Tutuklanan ACZ miktarı} / \text{Toplam ACZ miktarı}) \times 100$$

formölüne göre hesaplandı (Ruckmani vd., 2000).

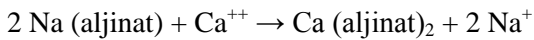
Denenen hemen hemen tüm kombinasyonlardaki ACZ tutuklama etkinliğı % 78'in üzerindedir. Maksimum % 96.8 değıerine ulaşılan denemelerde % 88 tutuklamanın F28 olduğı formülasyon ile deneylere devam edildi. Çünkü Sarmento vd. (2006)'nın yaptığı çalışma sonuçlarına göre, aljinat/kitosan oranı ve karıştırma hızı arttıkça partikül boyutu küçölmektedir. Ayrıca partikül boyutunu küçöltecek pH ayarlaması da (Sarmento vd., 2006) F28 formülasyonunun tercih edilmesine neden olmuştur.

Çizelge 4.1. Partikül oluşturma sürecinde denenen formülasyonlar ve ACZ tutuklama yüzdeleri

Formülasyonlar	ACZ Tutuklama (%)	Formülasyonlar	ACZ Tutuklama (%)
F1	78.5 ± 0.06	F17	88.8 ± 0.15
F2	27.5 ± 0.08	F18	79.7 ± 0.06
F3	79.5 ± 0.12	F19	90.0 ± 0.06
F4	87.7 ± 0.36	F20	93.8 ± 0.08
F5	86.3 ± 0.00	F21	95.6 ± 0.08
F6	51.5 ± 0.03	F22	96.8 ± 0.06
F7	91.5 ± 0.02	F23	93.4 ± 0.67
F8	91.2 ± 0.00	F24	88.9 ± 0.00
F9	90.1 ± 0.24	F25	85.3 ± 0.30
F10	88.7 ± 0.24	F26	81.3 ± 0.27
F11	88.0 ± 0.24	F27	78.3 ± 0.57
F12	87.4 ± 0.51	F28	88.0 ± 0.06
F13	88.0 ± 0.39	F29	Tutuklama yok
F14	88.8 ± 0.12	F30	27.1 ± 0.00
F15	88.5 ± 0.27	F31	40.3 ± 0.04
F16	88.6 ± 0.30		

4.3. F28 Formülasyonu ile Hazırlanan Boş ve Asetazolamid Yüklü Aljinat/Kitosan Nanopartiküller

Nanopartikül oluşumunun ilk basamağındaki önjel oluşumu ılımlı koşullar altında sodyum iyonlarının kalsiyum iyonları ile basitçe yer değiştirmesiyle gerçekleşir. İkinci basamakta, oluşan kalsiyum aljinat önjelinin kitosan ile kaplanmasıyla nanopartiküller oluşur.



F28 formülasyonu ile hem karakterizasyon hem de karşılaştırma çalışmalarında kullanılmak üzere boş nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirildi. Bu nanopartiküller daha sonra asetazolamid yüklü nanopartiküller ile karşılaştırılmak için kullanıldı. Karakterizasyon işlemi için FTIR, SEM, Zetasizer ve EDX teknikleri kullanıldı.

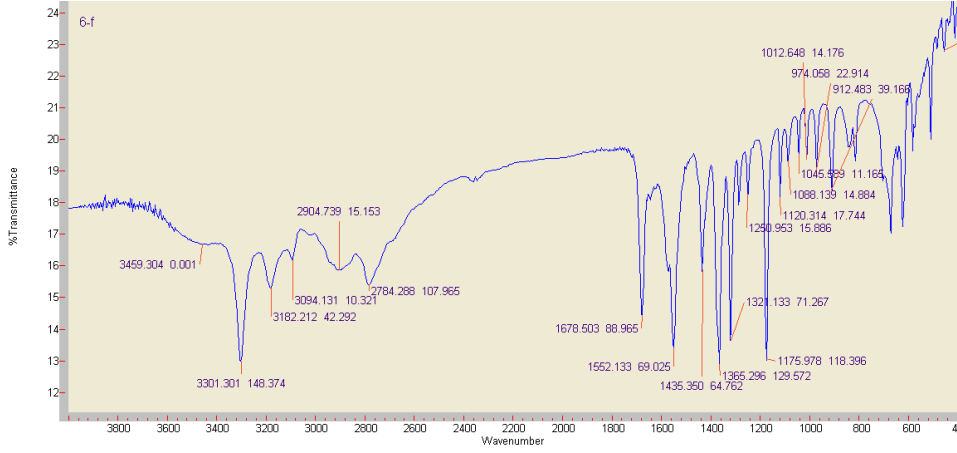
4.4. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

4.4.1. FTIR Ölçümü Sonuçları

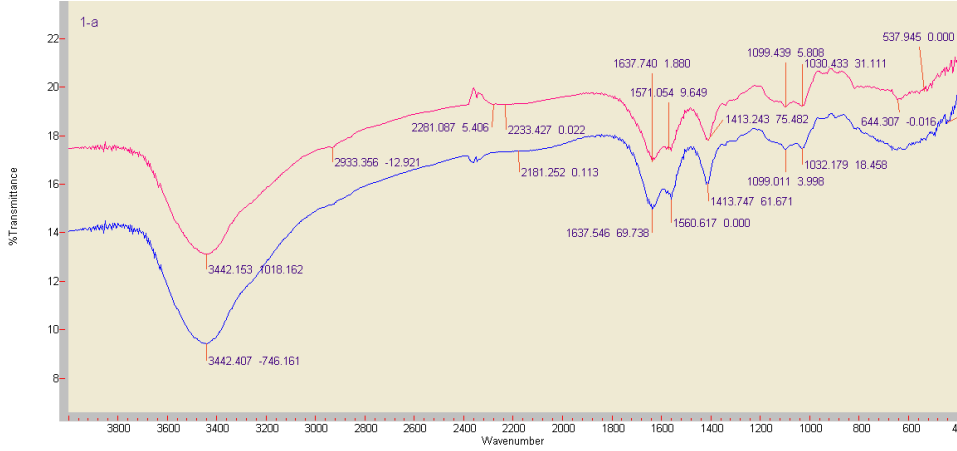
FTIR tekniği bir katı, sıvı veya gaz örneğin absorpsiyon, emisyon, fotoiletkenlik ve Raman saçılmasının infrared spektrumunu elde etmek için kullanılan bir tekniktir. FTIR spektrofotometresi geniş bir spektral alanda aynı anda spektral veri toplar ve FT avantajdır.

FTIR tekniği polimer hazırlama aşamalarında polimer ile monomer arasında veya polimer matrisi ile monomer olmayan bir molekül arasında kovalent bağlanmaların oluşup oluşmadığını IR spektrumundaki değişikliklerle gösterir. Bir monomerden polimer elde edilirken, işlem sonunda monomerin polimere inkorpore olduğunu ispatlamak üzere polimerin IR spektrumunda monomerlerinkinde bulunmayan yeni piklerin oluşması ve monomere ait piklerin bazılarının kaybolması, monomerin ortamda kalmadığının bir göstergesi olarak kabul edilir. Öte yandan, polimere ilaç tutuklanması ile ilaç iletim sistemlerinin oluşturulmasında tutuklanan ilacın daha sonra uygun koşullarda salınabilmesi ve ilacın polimerde tutuklu kaldığı sürede yapısının değişmemiş olması esastır (Mazumder vd., 2010; Choudhury vd., 2012).

Saf asetazolamid FTIR spektrumu Şekil 4.8'de görülmektedir. Spektrum, 3182-3301 cm^{-1} 'de N-H, 3094 cm^{-1} 'de C-H, 1678 cm^{-1} 'de C=O ve 1600-1700 cm^{-1} 'de C=N gerilme bantlarını gösterir. Boş ve asetazolamid yüklü nanopartiküllerin FTIR spektrumlarında kayda değer bir değişikliğin olmaması, asetazolamidin polimere kovalent olmayan mekanizmalarla inkorpore olduğunu göstermektedir ve bu durum Şekil 4.9'da görülmektedir. İlaç salım sistemlerinin oluşturulmasında, bu durumun, arzu edilen bir özellik olduğu ifade edilmektedir ve bu sonuç daha önceki çalışmalar ile uyumludur (Mazumder vd., 2010; Choudhury vd., 2012; Parthibarajan vd., 2013).



Şekil 4.8. Asetazolamid molekülünün FTIR spektrumu.



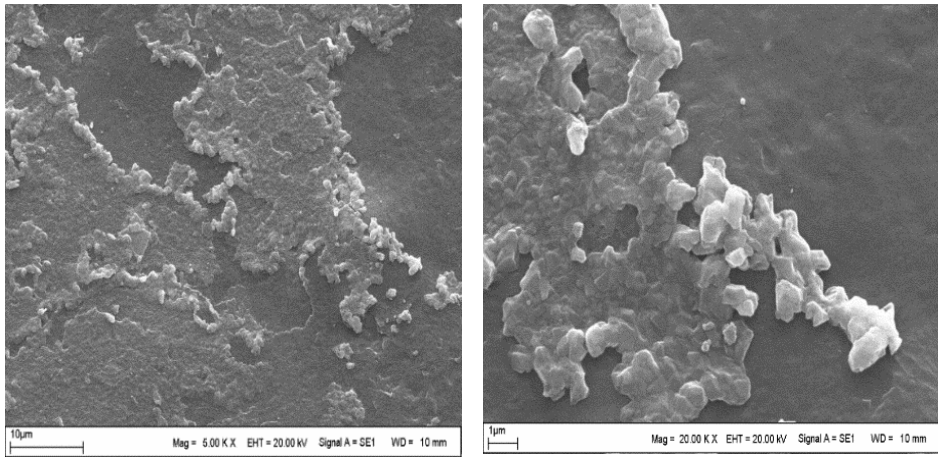
Şekil 4.9. Boş ve asetazolamid yüklü nanopartiküllerin FTIR spektrumu (Kırmızı: Boş aljinat/kitosan nanopartiküller; Mavi: Asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartiküller).

4.4.2. SEM Ölçümü Sonuçları

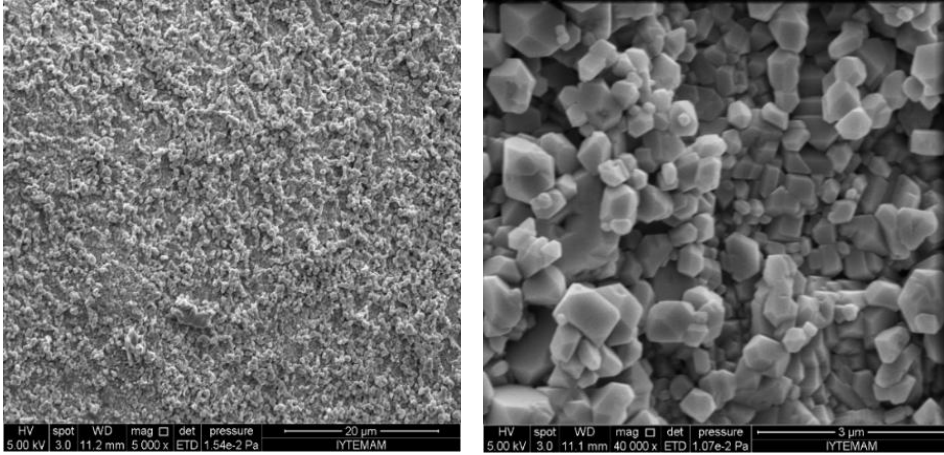
Taramalı elektron mikroskobu (SEM), odaklanmış elektron ışınları ile örneği tarayarak görüntü oluşturan bir elektron mikroskobudur. Elektronlar örnekteki atomlar ile ilişkiye girer ve örneğin yüzey topografisi ve kompozisyonu hakkında bilgi veren sinyaller üretir. Elektron demeti pozisyonu ayarlanarak örneğin görüntüsü oluşturulur. SEM, 1 nm'den daha küçük rezolüsyona bile sahip olabilir. Bu nedenle nanotanicilerin görüntülenmesinde çok yararlıdır.

Bu çalışmada üretilen partiküllerin boyutları hakkında inceleme SEM ile yapıldığında boş ve asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin partikül şekillerinin değişken olduğu, boyutlarının da 100-800 nm arasında değişiklik gösterdiği görülmüştür.

Partikül boyutlarındaki çeşitlilik genellikle doğal polimerlerle nano- veya mikro-partikül elde edildiğinde ortaya çıkmakta ve partiküllerin tek boyutlu olmasını engellemektedir. Partikül üretimi sırasında bazı parametreler (karıştırma hızı, aljinat/kitosan oranı gibi) değiştirilerek partikül boyutları ayarlanabilse de, bu çalışmada elde edilen örneklerde dar aralıklı bir tanecik boyutu elde etmek mümkün olmamıştır. Aljinat temelli polimerlerde benzer tanecik boyutu düzensizliği Gonzalez-Rodriguez vd. (2002); Gazori vd. (2009); Daemi ve Barikani, (2012) tarafından yapılan çalışmalarda da gözlenmektedir.



Şekil 4.10. Boş aljinat/kitosan nanopartiküllerin SEM fotoğrafları.



Şekil 4.11. Asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin SEM fotoğrafları.

4.4.3. Zetasizer Ölçümü Sonuçları

Zetasizer partiküllerin zeta potansiyelini ve boyutlarını ölçen bir enstrümandır. Çalışmada elde edilen partiküllerin iki farklı yöntemle (liyofilizatörde ve etüvde) kurutulmasıyla hazırlanan kuru örnekler Zetasizer ile boyut incelemesine tabi tutulduğunda çok değişken sonuçların var olduğu (Çizelge 4.2) ancak tanecik boyutlarının nano mertebesinde olduğu görülmektedir.

Örneklerdeki partikül boyutlarının farklı ölçümlerde bu derece değişken çıkmasının sebebi, muhtemelen partikül boyut dağılımının geniş olmasından dolayı zaman içerisinde büyük partiküllerin dibe çökmesi ve böylelikle molekül boyutunu saptamada kullanılan potansiyelin değişmesidir.

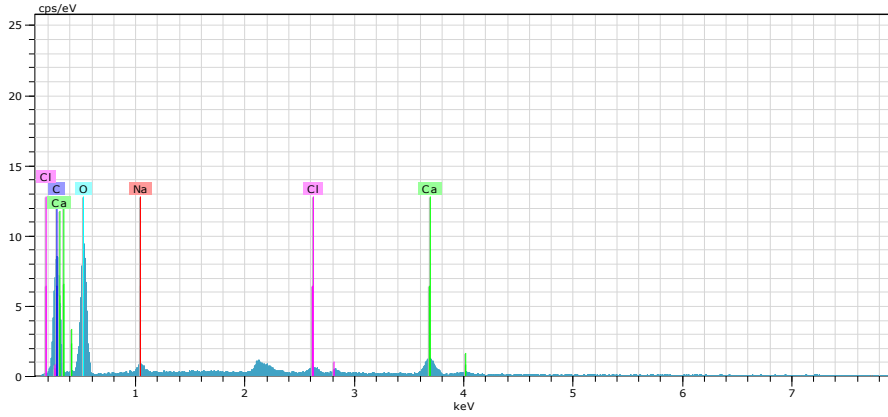
Çizelge 4.2. Boş ve asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin Zetasizer ile art arda 4 kez ölçülmesi ile elde edilen partikül boyutları (A: Liyofilizatörde kurutulan boş aljinat/kitosan nanopartiküller; B: Liyofilizatörde kurutulan asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartiküller; C: Etüvde kurutulan boş aljinat/kitosan nanopartiküller; D: Etüvde kurutulan asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartiküller).

Örnek	1. Ölçüm (nm)	2. Ölçüm (nm)	3. Ölçüm (nm)	4. Ölçüm (nm)
A	300.9	407.9	529.1	479.8
B	174.4	265.9	412.9	143.6
C	420.7	418.4	191.2	423.0
D	846.8	142.5	172.4	266.6

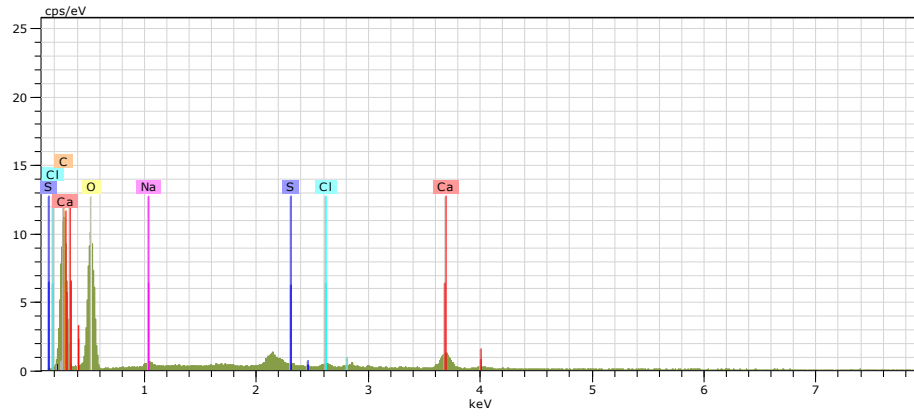
4.4.4. EDX Ölçümü Sonuçları

EDX (Enerji Dağılımlı X-ışını Analizi) tekniği, materyallerin elementel kompozisyonunu belirlemek için kullanılan bir X-ışını tekniğidir.

EDX sistemleri SEM veya TEM'e bağlıdır ve bu aygıtların görüntüleme kapasitesinden, ilgili örneğin seçilmesi sağlanır. EDX analizi ile oluşturulan veriler, analizi yapılan örneğin gerçek kompozisyonunu oluşturan elementleri temsil edecek piklerin oluşturduğu spektrumlardan meydana gelir. Çoklu teknik yaklaşımlarla EDX özellikle kimlik analizi ve endüstriyel adli tıp uygulamalarında kullanılan çok güçlü bir tekniktir. Teknik kalitatif, yarı-kalitatif ve kantitatif olarak kullanılabilir. Ölçüm tekniği örneği yok etmez ve yerinde analiz yapılabilir. Boş ve asetazolamid yüklü aljinat/kitosan nanopartiküllerin EDX analiz grafikleri Şekil 4.12 ve 4.13'de gösterilmiştir. Polimerik yapıya asetazolamidin inkorpore olduğu kükürt varlığı ile görülmüştür.



Şekil 4.12. Boş aljinat/kitosan nanopartiküllerin EDX spektrumu.

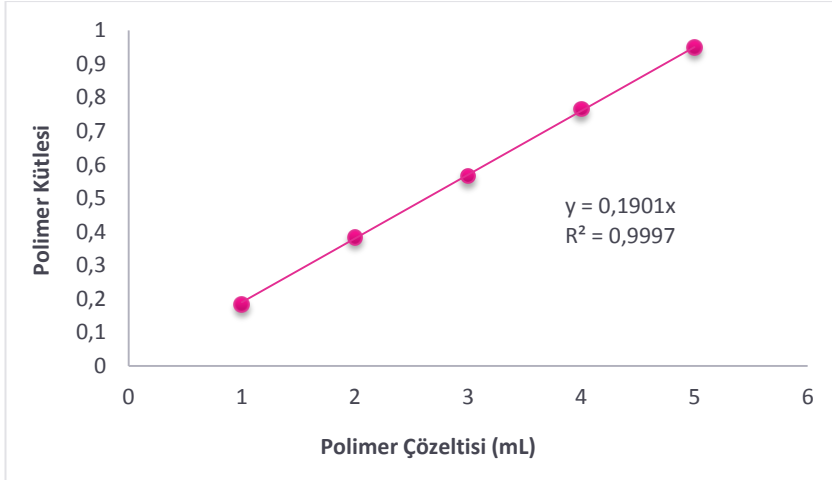


Şekil 4.13. Asetazolamid yüklü aljinat/kitosan partiküllerin EDX spektrumu.

İlaç iletim sistemlerinin üretilmesi çalışmalarında EDX analizlerinin kullanılması sıklıkla görülen bir durum değildir. Örneğin, TiO_2 nanotüpler içerisine anti-inflamatuvar ilaç moleküllerinin inkorporasyonunu (Shokuhfar vd., 2013) incelemek için EDX kullanımına başvurulmuştur.

4.5. Nanopartiküllerin Kütle/Hacim Grafiğinin Oluşturulması

Nanopartikül oluşturma işleminin ne kadar verimle gerçekleştiğini belirlemek için kütle/hacim grafiği oluşturuldu. Boş nanopartiküller kullanılarak hazırlanan kütle/hacim grafiği Şekil 4.14'de görülmektedir.



Şekil 4.14. Boş aljinat/kitosan nanopartiküller kullanılarak hazırlanan kütle/hacim grafiği.

Şekil 4.14’de elde edilen veri ve aşağıdaki eşitlik (Govender vd., 1999) kullanılarak nanopartikül gerikazanımı (nanopartikül verimi) hesaplandı:

% Nanopartikül geri kazanımı = (Elde edilen nanopartikül kütlesi/Polimerik materyal ve formülasyonda yer alan tüm maddelerin kütlesi) x 100.

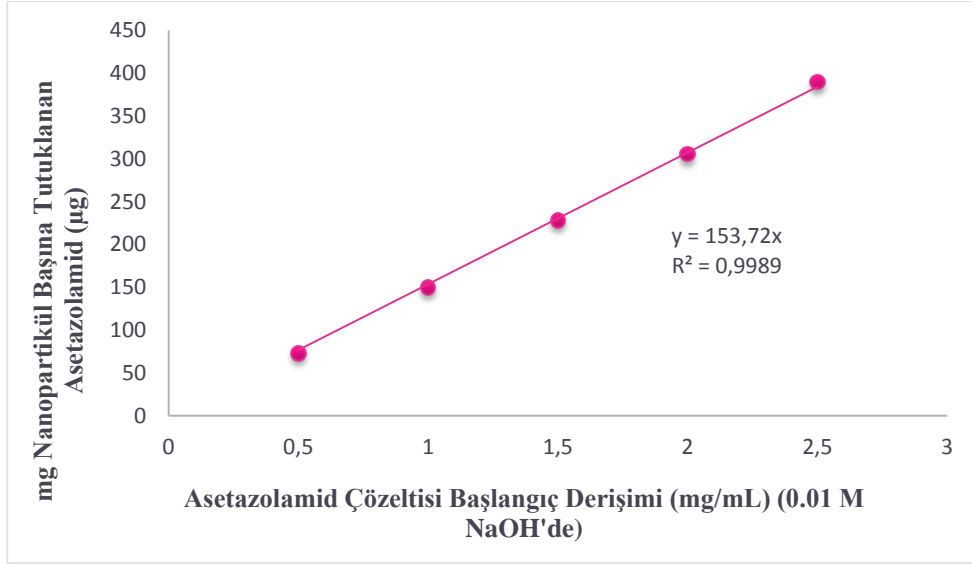
Kütle-hacim grafiğinden hazırlanan polimer çözeltisinin 1.0 mL’sinin 0.190 mg nanopartikül içerdiği saptanmıştır. Başlangıçta ortamda bulunan 53.5 mL çözeltide aljinat (40.0 mg), kitosan (5.0 mg), CaCl_2 (3.0 mg) kütleleri toplamı 48.0 mg olarak hesaplandı. Buradan ortamın 1 mL’sinde bulunan aljinat, kitosan, CaCl_2 kütleleri toplamı 0.897 mg bulundu. Bu sonuç nanopartikül oluşturma işleminin ~ % 21 verimle gerçekleştiğini göstermektedir.

4.6. Asetazolamid Yükleme Kapasitesi

Kırk mg aljinata karşılık Bölüm 3.5’de (F28 formülasyonu) belirtilen asetazolamid miktarları kullanılarak bölüm 3.2.2.2’de anlatıldığı şekilde nanopartikül oluşturma işlemi gerçekleştirildi. Miligram nanopartikül başına yüklenmiş asetazolamid miktarı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı (Govender vd., 1999).

ACZ yükleme kapasitesi = (Nanopartiküllerdeki ilaç kütlesi/Nanopartikül kütlesi).

0.01 M NaOH çözeltisinde hazırlanan asetazolamid başlangıç çözelti derişimlerine karşılık, tutuklanan asetazolamid kütleleri (yükleme kapasitesi) grafiğıe geçirildi. Bu grafik Şekil 4.15'de görölmektedir.



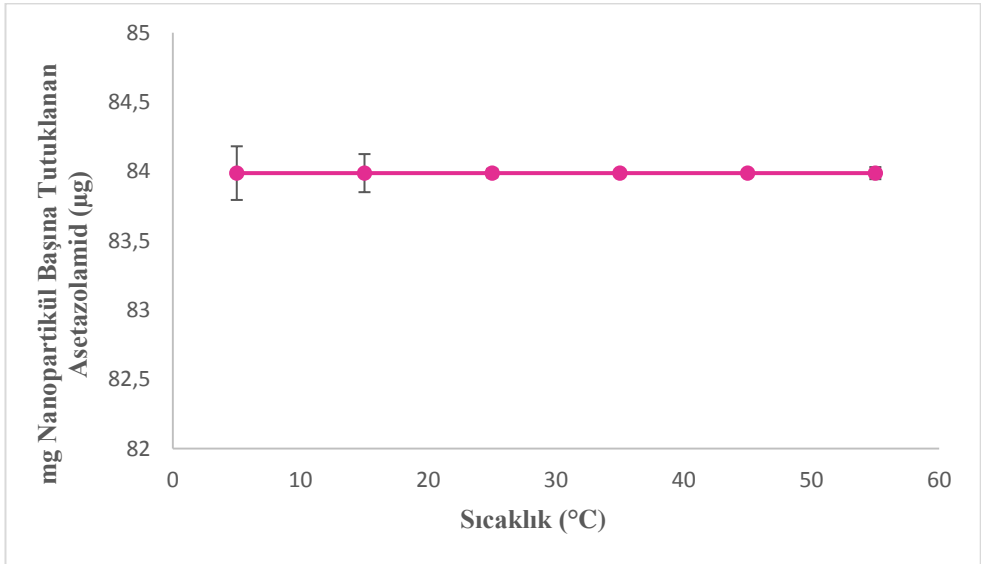
Şekil 4.15. Aljinat/kitosan nanopartiküllere asetazolamid yüklemeye kapasitesi.

Şekil 4.15'den ACZ'in aljinat/kitosan nanopartiküllere yüklemeye kapasitesinin başlangıç asetazolamid derişimine bağılı olarak lineer bir şekilde arttığı görölmektedir. Bu çalışma ACZ'in 0.01 M NaOH'deki 2.5 mg/mL derişimine kadar yapılabilmmiştir. Daha yüksek derişimlerdeki ACZ çözeltileri, ACZ'in çözünürlüğünün düşük olması nedeniyle hazırlanamadığından yüksek derişimler denenememiştir.

4.7. Asetazolamid Tutuklama Kapasitesine Sıcaklığın Etkisi

Asetazolamidin tutuklama kapasitesine sıcaklık etkisi 55°C'ye kadar incelenmiştir. İlaç iletim sistemlerinin üretimi sırasında sıcaklık parametresi genellikle çalışılmaz ve literatürde fazla örnek yoktur. Bunun nedenlerinden bir tanesi pilot üretimi yapılan sistemlerin daha sonra endüstriyel boyutta üretileceğı ve yüksek sıcaklıklarda çalışılmasının maaliyeti etkileyeceğı gerçeğidir. Ayrıca ilaç hazırlama prosedüründe ilacın sıcaklık ile bozunarak etkinliğini kaybetmesi olasılığı sıcaklık uygulamalarına engeldir. Asetazolamidin bu çalışmada kullanılan formülasyonlarında, tutuklama yüzdesi genel olarak yüksek olup tutuklamanın

daha da arttırılması için sıcaklığın yükseltilmesi gibi bir sorun yoktur. Ancak sıcaklık artışının birim polimer başına daha fazla ACZ'in tutuklanmasını sağlaması durumunda formülasyon kütlesinin (örneğin hap büyüklüğü) küçültülmesi bir avantaj olarak düşünülebilir. Bu nedenle ACZ tutuklamasına sıcaklığın etkisi 55°C'ye kadar (daha yüksek sıcaklıkta ACZ'in bozunması söz konusudur) incelenmiştir. Şekil 4.16'da sıcaklığın asetazolamid tutuklama kapasitesi üzerine olan etkisi görülmektedir. Şekilden anlaşıldığı gibi sıcaklık artışı ile tutuklama kapasitesi değişmemektedir.



Şekil 4.16. Aljinat/kitosan nanopartiküllere asetazolamid tutuklama kapasitesinin sıcaklıkla değişimi.

4.8. Tutuklanmış Asetazolamidin Polimerden Salımına pH'ın Etkisi

ACZ tutuklanmış polimerin ilaç salım sistemi olarak kullanılabilirliğinin test edilebilmesi için yapay vücut sıvısı ortamlarında ACZ salım profilleri incelendi. Bunun için ACZ'in ilaç olarak etkili olması beklenen organların pH'ları Çizelge 4.3'de listelendi. Gastrointestinal yoldaki sıvıların pH'larının listelendiği çizelgenin dışında ACZ'in oftalmik çözeltilerde (pH ~ 7.4) kullanılabilirliğinin de araştırılabilmesi için yapay göz sıvısı (STF) da çalışmaya ilave edildi.

Çizelge 4.3. İnsan gastrointestinal yolundaki sıvıların pH değerleri (Grassi vd., 2007).

Anatomik Bölge	pH Değeri
Mide	1.5-3.5
Duodenum	5.0-7.0
Jejunum	6.0-7.0
İleum	7.0
Kolon	5.5-7.0
Rektum	7.0

4.8.1. Asetazolamidin *in vitro* Mide, İnce Bağırsak ve Gözyaşı (STF) Ortamlarında Salımı

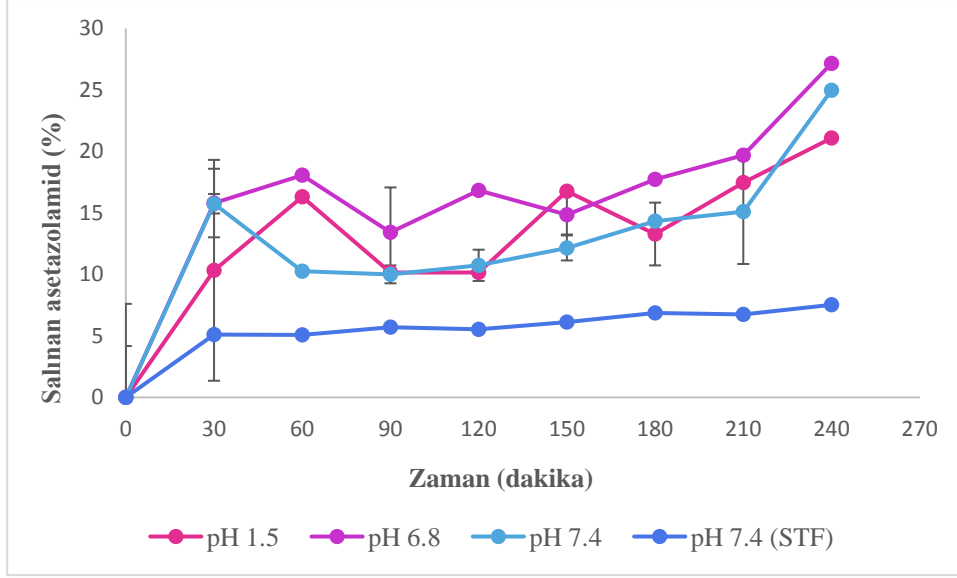
Çeşitli vücut sıvılarında zamana bağlı ACZ salım deneylerinin sonuçları Çizelge 4.4’de listelenmiştir. Buna göre yapay mide sıvısı ortamında (pH 1.5) aljinat/kitosan nanopartiküllerden kümülatif ACZ salımının, başlangıçta % 10 olduğu ve 4 saat sonunda % 21’e ulaştığı görülmektedir. Zamana bağlı olarak ACZ salımı Şekil 4.13’de grafiklenmiştir. İnce bağırsak ortamını temsil etmek üzere iki farklı pH’da (6.8 ve 7.4) yapılan salım çalışmalarında 4 saatin sonunda sırasıyla % 27 ve % 25 oranlarında kümülatif salım bulunmuştur. STF içinde yapılan çalışmalar sonucunda ise kümülatif salım % 5 olarak başlayıp 4 saatin sonunda ancak % 7.5’a ulaşmıştır. Tüm salım deneylerinde iki basamaklı salım deseni gözlenmiştir. İlk 30 dakika içinde ani küçük bir salım tespit edilmiştir. İlaç salımı daha sonra düzenli veya düzensiz ilerleyerek 4 saat sonraki değerine ulaşmıştır. Başlangıçta küçük ani salım deseninin, nanopartiküllerin yüzeyine yakın tutuklanmış ilaçtan salınması sonucu oluştuğu, yüzeyden uzak olan ilacın ise daha gecikmeli olarak salındığı kanaatine varılmıştır.

Benzer salım deseni, oküler iletim sistemi olarak ACZ lipozomlarının oluşturulduğu çalışmada (El-Gazayerly vd., 1997); hidrokisipropil-β-siklodekstrin ve trietanolaminin ACZ çözünürlüğü ve oftalmik taşınımı üzerine etkisinin

araştırıldığı çalışmada (Granero vd., 2008); Eudragit RL/RS polimerine ACZ'in tutuklandığı ve mikrokürelerden salımının incelendiği çalışmada (Kannan vd., 2009); poli(ϵ -kaprolakton) mikrokürelerden ACZ'in salınmasında (Singh vd., 2011); kalsiyum aljinat boncuklara iki farklı yöntemle ACZ'in tutuklandığı salımda (Barzegar-Jalali vd., 2013); ACZ yüklenmiş nazal nanosüspansiyon hazırlanması çalışmasında (Maurya vd., 2013); ACZ yüklü elektrosprey yöntemi ile hazırlanan 4-karboksibenzensülfonamid-kitosan mikrokürelerden ACZ salınmasında (Suvannasara vd., 2014); ACZ'in nanolipozomlara yüklendiği ve salımının incelendiği çalışmada (Pisal vd., 2014) saptanmıştır. Bu çalışmada ve yukarıda bahsi geçen çalışmalarda salımın ilk basamağı genellikle ilk 30 dakika içinde gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.4. pH 1.5, pH 6.8, pH 7.4 ve STF (pH 7.4) ortamlarında zamana bağlı asetazolamid salımları.

Zaman (dakika)	Salınan ACZ (%) (pH 1.5)	Salınan ACZ (%) (pH 6.8)	Salınan ACZ (%) (pH 7.4)	Salınan ACZ (%) (pH 7.4 STF)
30	10.3 ± 0.37	15.8 ± 4.17	15.7 ± 7.60	5.1 ± 0.02
60	16.3 ± 8.98	18.1 ± 2.79	10.3 ± 0.79	5.1 ± 0.17
90	10.1 ± 0.16	13.4 ± 0.11	10.0 ± 0.28	5.7 ± 0.04
120	10.2 ± 0.00	16.8 ± 3.65	10.7 ± 0.73	5.5 ± 0.15
150	16.8 ± 0.15	14.8 ± 0.00	12.1 ± 1.27	6.1 ± 0.11
180	13.3 ± 0.00	17.7 ± 1.61	14.3 ± 1.02	6.9 ± 0.06
210	17.5 ± 2.50	19.7 ± 0.00	15.1 ± 0.17	6.7 ± 0.15
240	21.1 ± 0.00	27.1 ± 0.13	25.0 ± 4.26	7.5 ± 0.15



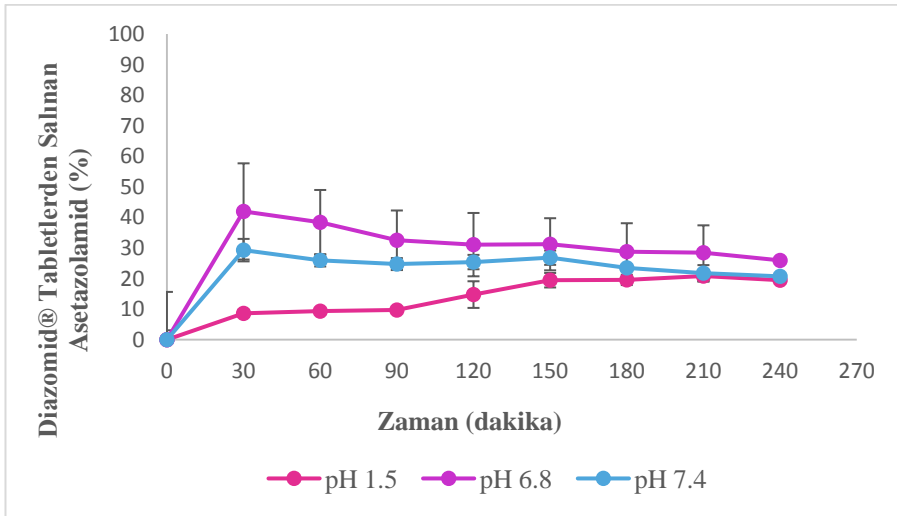
Şekil 4.17. Aljinat/kitosan nanopartiküllerden pH 1.5, 6.8, 7.4 ve 7.4 STF) ortamlarında zamana bağlı asetazolamid salımı ($\lambda=265$ nm).

4.8.4. Asetazolamidin *in vitro* Mide ve İnce Bağırsak Ortamlarında Diazomid® Tabletlerden Salımı

Bu çalışmada araştırılan ACZ tutuklanmış aljinat/kitosan partiküllerinin ilaç salım sistemi olarak kullanılabilirliğini karşılaştırmak üzere Türkiye’de CA inhibitörü etkisini yavaşlatarak tedavi amaçlı oral yolla kullanılmak üzere üretilen ticari Diazomid® tabletlerinin ilaç salım özellikleri incelendi. Sonuçlar Çizelge 4.5 ve Şekil 4.18’de görülmektedir. Buna göre Diazomid tablette bulunan 250 mg ACZ’in ilk 30 dakika içinde ~ % 30’u salınmaktadır. Ancak 4 saat sonunda absorban azalmasına bağlı olarak ortamdaki ilaç derişiminin azaldığı gözlenmektedir (pH 6.8 ve pH 7.4 sonuçları). Diazomid tablet ezilmeden, bütün olarak salım ortamlarına atılmış olup ortam, yapay vücut sıvılarıdır ve ilacın salınmadan ortamdaki uzaklaştırması söz konusu değildir. Kesin olmamakla beraber bu ACZ azalmasının nedeni, Diazomid tablet tarafından ACZ’in yeniden absorblanması olabilir. Öte yandan ACZ’in hızlı bozulan bir ilaç olduğu konusu da rapor edilmiştir. Salınan ilacın belirlenen sürede bir yandan bozduğu bu nedenle ortamdaki derişimin azaldığı da düşünülebilir.

Çizelge 4.5. pH 1.5, pH 6.8 ve pH 7.4 ortamlarında zamana bağlı Diazomid® tabletlerden % ACZ salımları.

Zaman (dakika)	Diazomid® tablettten salınan % ACZ (pH 1.5)	Diazomid® tablettten salınan % ACZ (pH 6.8)	Diazomid® tablettten salınan % ACZ (pH 7.4)
30	8.6 ± 0.63	42.0 ± 15.64	29.3 ± 3.07
60	9.3 ± 0.20	38.4 ± 15,74	26.0 ± 3.68
90	10.0 ± 0.07	32.5 ± 10.59	24.8 ± 2.01
120	14.8 ± 0.48	31.1 ± 9.75	25.4 ± 1.95
150	19.5 ± 4.36	31.2 ± 10.36	26.8 ± 2.35
180	19.6 ± 2.37	28.8 ± 8.53	23.5 ± 2.34
210	20.8 ± 1.68	28.5 ± 9.31	21.8 ± 0.79
240	19.5 ± 1.79	25.9 ± 8.96	20.7 ± 2.64



Şekil 4.18. Diazomid® tabletlerden pH 1.5, 6.8 ve 7.4 ortamlarında zamana bağlı asetazolamid salımı ($\lambda=265$ nm).

5. SONUÇ

Son yıllardaki ilaç iletim sistemlerinde polimerlerin kullanılmasına örnekler hızla artmaktadır. Bu sistemlerde kullanılan polimerlerin biyobozunur olması yani *in vivo* koşullarda enzimatik veya enzimatik olmayan yollarla bozunarak biyoyumlu veya toksik olmayan yan ürünlerin oluşması tercih edilir. Bu polimerler normal fizyolojik yollarla metabolize edilebilirler veya atılırlar. Bu özelliği taşıyan polimerler kaynaklarına göre, doğal, yarı sentetik ve sentetik olabilirler. Doğal biyobozunur polimerler olarak bilinen en iyi iki temel polimer; aljinat ve kitosan bu çalışmanın konusu olmuşlardır.

Asetazolamid (ACZ), karbonik anhidraz (CA) enziminin iyi bir inhibitörü olup glokomda sıvı sekresyonunun kontrolünde, epilepsi gibi konvulsiv rahatsızlıklarda, anormal sıvı tutulmasında diüresizi düzenleyen bir ilaçtır. ACZ, önceleri diüretik olarak kullanılmış daha sonralarda ise glokom tedavisi için de kullanılabilirliği saptanmıştır. Hem lokal hem de oral preparatlar olarak hazırlanan asetazolamid, çeşitli yan etkilere sahip olmasına, biyoyararlanmasının ve sudaki çözünürlüğünün düşük olmasına rağmen CA inhibitörü olarak vazgeçilmez bir ilaçtır ve diğer CA inhibitörleri tarafından ikame edilemez.

Bu çalışmada aljinat/kitosan partiküllere ACZ tutuklanması, yüzde doksanlara varan oranlarda başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Asetazolamidin tutuklanabileceği polimerin üretimi için 31 kombinasyon denenmiş ve F28 ile kodlanan, % 88 oranda tutuklama sağlayan formülasyon (Çizelge 4.1) tutuklama yüzdesi yanında, bulgular bölümünde ifade edilen nedenlerle tercih edilmiştir.

Daha sonraki deneylerde kullanılmasına karar verilen F28 formülasyonu ile hazırlanan partiküllerin FTIR, SEM, Zetasizer ve EDX ile karakterizasyonu yapılmıştır. FTIR spektrumları ACZ'in aljinat/kitosan polimerlere kovalent bağlanmadığı ancak başka ilişkilerle inkorpore olduğu izlenimini vermektedir. SEM görüntüleri ACZ yüklü taneciklerin düzensiz nanoboyutta olduğunu göstermekte olup Zetasizer sonuçları da bu durumu desteklemektedir. Boş ve ACZ yüklü nanopartiküllerin EDX analizi, S varlığı ile ACZ tutuklanmasını ispatlamaktadır. Kütle/hacim ilişkisinin araştırıldığı deneyler, partikül oluşturma işleminin ~ % 21 verimle gerçekleştiğini göstermiştir.

ACZ tutuklama kapasitesine sıcaklığın etki etmediği tespit edilmiştir.

İlacın tutuklandığı bir polimerik materyalin geliştirilmesi, ilaç salım sistemleri üretiminin ilk yarısını oluşturur. Bu aşamadan sonra tutuklanmış ilacın vücuda girdiğinde takip edeceği yola ve kimyasal çevreye göre davranışının incelenmesi ve gerekirse kontrol edilmesi gerekir. Bu çalışmada oral yol ile alınan ilacın gastrointestinal sistemde izleyeceği yol taklit edilerek hazırlanan ortamlarda sırasıyla pH 1.5 için; ilk 30 dakikada yaklaşık % 10 ile başlayıp 4 saat sonunda % 21; pH 6.8 için yaklaşık % 16 ile başlayıp 4 saat sonunda % 27'ye; pH 7.4'de % 18 ile başlayıp % 25 ile; oftalmik preparat olarak kullanımının araştırılması için oluşturulan pH 7.4 STF ortamında ise % 5 ile başlayıp % 7.5'e kadar salım tespit edilmiştir.

Yapılan tüm deneylerde ve denenen tüm kombinasyonlarda salım yüzdesinin % 27'den daha yüksek olduğu durumlara ulaşılamamıştır. ACZ için rapor edilen diğer çalışmalarda da genellikle düşük salım yüzdeleri belirtilmiştir. Bu durumu karşılaştırmak için ticari olarak satılan, ACZ oral tableti olan Diazomid® ile yapılan salımlarda da en düşük ~ % 9; en yüksek ~ % 42 salım görülmüştür. Ancak bu tabletlerden ACZ salımı dalgalı ve düzensiz bir desen izlemektedir ve durumun açıklamasının çok kolay olmadığı düşünülmektedir.

ACZ vazgeçilemeyecek bir CA inhibitörüdür ve ilaç olarak kullanılmak durumundadır. Kontrollü salım sistemi oluşturma gayreti ile başlayan bu çalışmada hazırlanan nanopartiküllerin birim kütle başına taşıdığı ACZ kütlesinin düşük olması nedeniyle mevcut durumda tablet oluşturma potansiyelinin düşük olduğu, ancak ACZ'in düşük olan çözünürlüğünün yarattığı problemlerin, katı ACZ tutuklanması ile aşılabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, bu çalışmanın edinilen deneyimler doğrultusunda geliştirilmesi planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

Acetazolamidum, 2009. **European Pharmacopoeia 7.0**, 1310-1311.

Araujo, V., Gamboa, A., Caro, N., Abugoch, L., Gotteland, M., Valenzuela, F., Merchant, H.A., Basit, A.W., Tapia, C., 2013. Release of prednisolone and inulin from a new calcium-alginate chitosan-coated matrix system for colonic delivery. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 102: 2748-2759.

Arora, S., Gupta, S., Narang, R.K., Budhiraja, R.D., 2011. Amoxicillin loaded chitosan-alginate polyelectrolyte complex nanoparticles as mucopenetrating delivery system for *H. Pylori*. **Scientia Pharmaceutica**, 79: 673-694.

Barzegar-Jalali, M., Hanaee, J., Omidi, Y., Ghanbarzadeh, S., Ziaee, S., Bairami-Atashgah, R., Adibkia, K., 2013. Preparation and evaluation of sustained release calcium alginate beads and matrix tablets of acetazolamide. **Drug Research (Journal)**, 63: 60-64.

Becker, B., Middleton WH., 1955. Long-term acetazolamide (diamox) administration in therapy of glaucomas. **American Medical Association Archives of Ophthalmology**, 54 (2): 310-313.

Bhatta, R.S., Chandasana, H., Chhonker, Y.S., Rathi, C., Kumar, D., Mitra, K., Shukla, P.K., 2012. Mucoadhesive nanoparticles for prolonged ocular delivery of natamycin: *In vitro* and pharmacokinetics studies. **International Journal of Pharmaceutics**, 432: 105-112.

Brown, D.M., 2004. Drug Delivery Systems in Cancer Therapy. Humana Press Inc., pp. 48-82, New Jersey.

Chopra, M., Kaur, P., Bernela, M., Thakur, R., 2012. Synthesis and optimization of streptomycin loaded chitosan-alginate nanoparticles. **International Journal of Scientific & Technology Research**, 1: 31-34.

Choudhury, P.K., Murthy, P.N., Tripathy, N.K., Panigrahi, R., Behera, S., 2012. Investigation of drug polymer compatibility: Formulation and Characterization of metronidazole microspheres for colonic delivery. **Webmed Central Pharmaceutical Sciences**, 3 (3): 2-20.

Daemi, H., Barikanı, M., 2012. Synthesis and characterization of calcium alginate nanoparticles, sodium homopolymannuronate salt and its calcium nanoparticles. **Scientia Iranica, Transactions F: Nanotechnology**, 19 (6): 2023-2028.

- De, S., Robinson, D., 2003. Polymer relationships during preparation of chitosan-alginate and poly-L-lysine-alginate nanospheres. **Journal of Controlled Release**, 89: 101-112.
- Demir, A., Seventekin, N., 2009. Kitin, kitosan ve genel kullanım alanları. **Electronic Journal of Textile Technologies**, 3: 92-103.
- Dessy, A., Piras, A.M., Chiellini, F., 2013. Hemoglobin loaded alginate particles. **Biomimetics Biomaterials and Tissue Engineering**, 18: 1-5.
- El-Gazayerly, O.N., Hikal, A.H., 1997. Preparation and evaluation of acetazolamide liposomes as an ocular delivery system. **International Journal of Pharmaceutics**, 158: 121-127.
- Fahmy, H.M., Fouda, M.M.G., 2008. Crosslinking of alginic acid/chitosan matrices using polycarboxylic acids and their utilization for sodium diclofenac release. **Carbohydrate Polymers**, 73: 606-611.
- Gazori, T., Khoshayand, M.R., Azizi, E., Yazdizade, P., Nomani, A., Haririan, I., 2009. Evaluation of alginate/chitosan nanoparticles as antisense delivery vector: Formulation, optimization and *in vitro* characterization. **Carbohydrate Polymers**, 77: 599-606.
- Gonzales-Rodriguez, M.L., Holgado, M.A., Sanchez-Lafuente, C., Rabasco, A.M., Fini, A., 2002. Alginate/chitosan particulate systems for sodium diclofenac release. **International Journal of Pharmaceutics**, 232: 225-234.
- Gothoskar, A.V. 2014. Fundamental of drug delivery systems. **Drug Delivery Systems: A Review**. <http://www.free-ebooks.net/ebook/Drug-Delivery-Systems-A-Review/pdf?dl&preview>, Erişim Tarihi: 08.04.2014.
- Govender, T., Stolnik, S., Garnett, M.C., Illum, L., Davis, S.S., 1999. PLGA nanoparticles prepared by nanoprecipitation: Drug loading and release studies of a water soluble drug. **Journal of Controlled Release**, 57: 171-185.
- Granero, G.E., Maitre, M.M., Garnero, C., Longhi, M.R., 2008. Synthesis, characterization and *in vitro* release studies of a new acetazolamide-HP- β -CD-TEA inclusion complex. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 43: 464-470.

- Grassi, M., Grassi, G., Lapasin, R., Colombo, I., 2007. Understanding Drug Release and Adsorption Mechanisms: A Physical and Mathematical Approach. CRC Press. 46 p., New York.
- Guinedi, A.S., Mortada, N.D., Mansour, S., Hathout, R.M., 2005. Preparation and evaluation of reverse-phase evaporation and multilamellar niosomes as ophthalmic carriers of acetazolamide. **International Journal of Pharmaceutics**, 306: 71-82.
- Gupta, V.K., Karar, P.K., 2011. Optimization of process variables for the preparation of chitosan-alginate nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutical Sciences**, 3: 78-80.
- Gürsoy, A., 1999. İlaçta yeni arayışlar: Kontrollü salım sistemleri. Marmara Üniversitesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Haydarpaşa, İstanbul.
- Hassan, B.A.R., 2012. Overview on drug delivery system. **Pharmaceutica Analytica Acta**, 3:10.
- Hollinger, M.A. 2003. Introduction to Pharmacology: Second Edition. Taylor & Francis e-Library, pp. 5-421, New York.
- Hollinger, V.V., Ranade, M.A. 2004. Drug Delivery Systems: Second Edition. CRC Press LLC., pp. 72-390, Florida.
- <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/drug+delivery>, Erişim Tarihi: 03.03.2014.
- <http://www.nkfu.com/ilac-nedir-ilacin-tarihcesi/>, Erişim Tarihi: 03.03.2014.
- Janes, K.A., Fresneau, M.P., Marazuela, A., Fabra, A., Alonso, M.J., 2001. Chitosan nanoparticles as delivery systems for doxorubicin. **Journal of Controlled Release**, 73: 255-267.
- Kakizawa, Y., Nishio, R., Hirano, T., Koshi, Y., Nukiwa, M., Koiwa, M., Michizoe, J., Ida, N., 2010. Controlled release of protein drugs from newly developed amphiphilic polymer-based microparticles composed of nanoparticles. **Journal of Controlled Release**, 142: 8-13.
- Kalia, S., Averous, L., 2011. Biopolymers: Biomedical and Environmental Applications. Scrivener Publishing LLC., pp. 559-573, Massachusetts.

- Kannan, K., Karar, P.K., Manavalan, R., 2009. Formulation and evaluation of sustained release microspheres of acetazolamide by solvent evaporation technique. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, 1 (1): 36-39.
- Kaur, I.P., Singh, M., Kanwar, M., 2000. Formulation and evaluation of ophthalmic preparations of acetazolamide. **International Journal of Pharmaceutics**, 199: 119-127.
- Kaur, I.P., Smitha, R., Aggarwal, D., Kapil, M., 2002. Acetazolamide: Future perspective in topical glaucoma therapeutics. **International Journal of Pharmaceutics**, 248: 1-14.
- Khamis, E.F., Abdel-Hamid, M., Hassan, E.M., Eshra, A., Elsayed, M.A., 1993. A stability-indicating first-derivative spectrophotometric assay of acetazolamide and its use in dissolution and kinetic studies. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, 18: 97-101.
- Kişmir, Y. 2011. Bazı Polimer Jellerin Hazırlanması ve İlaç Aktif Madde Salımında Kullanılması. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul.
- Kushal, M., Monali, M., Durgavati, M., Mittal, P., Umesh, S., Pragna, S., 2013. Oral controlled release drug delivery system: An overview. **International Research Journal of Pharmacy**, 4 (3): 70-76.
- Lacerda, L., Parize, A.L., Favere, V., Laranjeira, M.C.M., Stulzer, H.K., 2014. Development and evaluation of pH-sensitive sodium alginate/chitosan microparticles containing the antituberculosis drug rifampicin. **Materials Science and Engineering C**, 39: 161-167.
- Lee, M., Li, W., Siu, R.K., Whang, J., Zhang, X., Soo, C., Ting, K., 2009. Biomimetic apatite-coated alginate/chitosan microparticles as osteogenic protein carriers. **Biomaterials**, 30: 6094-6101.
- Li, P., Dai, Y.N., Zhang, J.P., Wang, A.Q., Wei, Q., 2008. Chitosan-alginate nanoparticles as a novel drug delivery system for nifedipine. **International Journal of Biomedical Science**, 4: 221-228.

- Li, X., Qi, J., Xie, Y., Zhang, X., Hu, S., Xu, Y., Lu, Y., Wu, W., 2013. Nanoemulsions coated with alginate/chitosan as oral insulin delivery systems: Preparation, characterization and hypoglycemic effects in rats. **International Journal of Nanomedicine**, 8: 23-32.
- Manners, R.M., Alexander, M.M., Martin, C.B., Elkington, A.R., 1993. A study of topical carbonic anhydrase inhibitors in ocular hypertensive patients. **Survey of Ophthalmology**, 15: 51-54.
- Marek, S.R., Peppas, N.A., 2013. Insulin release dynamics from poly(diethylaminoethyl methacrylate) hydrogel systems. **American Institute of Chemical Engineers**, 59: 3578-3585.
- Martinez, A., Olmo, R., Iglesias, I., Teijon, J.M., Blanco, M.D., 2014. Folate-targeted nanoparticles based on albumin and albumin/alginate mixtures as controlled release systems of tamoxifen: Synthesis and *in vitro* characterization. **Springer**, 31: 182-193.
- Maurya, P., Mittal, A., Sharma, K., Alam, S., 2013. Fabrication of acetazolamide loaded nasal nanosuspension: An *in vitro* and *ex vivo* characterization. **Fascicula XVII**, 1: 93-105.
- Mazumder, R., Nath, L.K., Haque, A., Maity, T., Choudhury, P.K., Shrestha, B., Chakraborty, M., Pal, R.N., 2010. Formulation and *in vitro* evaluation of natural polymers based microspheres for colonic drug delivery. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, 2: 211-213.
- Mishra, V., Jain, N.K., 2014. Acetazolamide encapsulated dendritic nano-architectures for effective glaucoma management in rabbits. **International Journal of Pharmaceutics**, 461: 380-390.
- Modi, K.A., Shelat, P.K., 2012. Applications of novel vesicular drug delivery system as ocular drug vehicles: A Review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, 3 (12): 4554-4561.

- Parthibarajan, R., Gowrishankar, N.L., Prashanth, D., Pavani, G., Pavan, Madhavi, K., Rao, V.M., 2013. Formulation and *in vitro* evaluation of floating microspheres of acetazolamide. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, 5: 447-453.
- Pires, A., Fortuna, A., Alves, G., Falcao, A., 2009. Intranazal drug delivery: How, why and what for. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, 12 (3): 288-311.
- Pisal, P.B., Joshi, A.A., Padamwar, M.N., Patil, S.S., Pokharkar, V.B., 2014. Probing influence of methodological variation on active loading of acetazolamide into nanoliposomes: Biophysical, *in vitro*, *ex vivo*, *in vivo* and rheological investigation. **International Journal of Pharmaceutics**, 461: 82-88.
- Qiu, X., Leporatti, S., Donath, E., Möhwald, H., 2001. Studies on the drug release properties of polysaccharide multilayers encapsulated ibuprofen microparticles. **Langmuir**, 17: 5375-5380.
- Raj, C.A., Kumar, P.S., Kumar, K.S., 2012. Kinetics and drug release studies of isoniazid encapsulated with PLA-co-PEG/gold nanoparticles. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, 4: 398-404.
- Ruckmani, K., Jayakar, B., Ghosal, S.K., 2000. Nonionic surfactant vesicles (niosomes) of cytarabine hydrochloride for effective treatment of leukemia: Encapsulation, storage and *in vitro* release. **Drug Development Industrial Pharmacy**, 26: 217-222.
- Sam, T., Fokkens, J.G., 1995. The expanding role of drug delivery systems in modern health care. In: *Innovations in Drug Delivery, Impact on Pharmacotherapy* (Sam, T. and Fokkens, J.G., Eds.), The Anselmus Foundation, pp. 6-21, The Netherlands.
- Sarmento, B., Ferreira, D., Veiga, F., Ribeiro, A., 2006. Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation through DSC and FTIR studies. **Carbohydrate Polymers**, 66: 1-7.

- Sarmiento, B., Ferreira, D.C., Jorgensen, L., Weert, M., 2007b. Probing insulin's secondary structure after entrapment into alginate/chitosan nanoparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 65: 10-17.
- Shaik, M., Korsapati, M., Panati, D., 2012. Polymers in controlled drug delivery systems. **International Journal of Pharma Sciences**, 2: 112-116.
- Sharma, D., Chelvi, T.P., Chakravorty, K., De, T.K., Maitra, A., Ralhan, R., 1996. Novel taxol formulation: polyvinylpyrrolidone nanoparticle-encapsulated taxol for drug delivery in cancer therapy. **Oncology Research**, 8: 281-6.
- Shingade, G.M., Aamer, Q., Sabale, P.M., Grampurohit, N.D., Gadhawe, M.V., Jadhav, S.L., Gaikwad, D.D., 2012. Review on: Recent trend on transdermal drug delivery system. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*. 2 (1): 66-75.
- Shokuhfar, T., Sinha-Ray, S., Sukotjo, C., Yarin, A.L., 2013. Intercalation of anti-inflammatory drug molecules within TiO₂ nanotubes. **The Royal Society of Chemistry**, 3: 17380-17386.
- Singh, A.V. 2011. Biopolymers in drug delivery: A review. **Pharmacologyonline**, 1: 666-674.
- Singh, N., Gagoria, J., Arora, S.C., Khatkar, A., Saraf, S.A., 2011. Development and characterization of poly (ϵ -caprolactone) microspheres containing acetazolamide. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, 2 (8): 2080-2090.
- Singla, A.K., Kaur, I.P., Garg, A., Aggarwal, D., 2002. Novel approaches for topical delivery of acetazolamide. **Pharmaceutical Technology**, 26: 24-34.
- Soloviev, M., 2007. Nanobiotechnology today: Focus on nanoparticles. **Journal of Nanobiotechnology**, 5 (11): 1-3.
- Sriamornsak, P., Thirawong, N., Korkerd, K., 2007. Swelling, erosion and release behavior of alginate-based matrix tablets. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 66: 435-450.
- Sun, J., Tan, H., 2013. Alginate-based biomaterials for regenerative medicine applications. **Journal of Materials Science**, 6: 1285-1309.

- Sunna, Ç. 2012. Aljinat/Kitosan Nanopartiküllerin Tamoksifen Salımında Kullanılmasının Araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- Suvannasara, P., Siralermukul, K., Muangsin, N., 2014. Electrospayed 4-carboxybenzenesulfonamide-chitosan microspheres for acetazolamide delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, 64: 240-246.
- Şengel-Türk, C.T., Hasçıçek, C., 2009. Polimerik nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerde yüzey modifikasyonu. **Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University**, 38 (2): 137-154.
- Thomas, G. 2003. Fundamentals of Medicinal Chemistry. John Wiley & Sons Ltd, pp. 37-302, New Jersey.
- Vega-Gonzales, A., Duarte, A.R.C., Duarte, C.M.M., Subra, P., 2005. Preparation of acetazolamide drug delivery systems using a supercritical antisolvent process. In **Proceeding of the Tenth European Meeting on Supercritical Fluids**, pp. 39. Colmar, France.
- Vilar, G., Tulla-Puche, J., Albericio, F., 2012. Polymer and drug delivery systems. **Current Drug Delivery**, 9: 1-28.
- Zhang, Y., Chan, H.F., Leong, K.W., 2013. Advanced materials and processing for drug delivery: The past and the future. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 65: 104-120.
- Zhang, Z., Feng, S., 2006. The drug encapsulation efficiency, *in vitro* drug release, cellular uptake and cytotoxicity of paclitaxel-loaded poly(lactide)-tocopheryl polyethylene glycol succinate nanoparticles. **Biomaterials**, 27: 4025-4033.
- Zhu, X., Su, M., Tang, S., Wang, L., Liang, X., Meng, F., Hong, Y., Xu, Z., 2012. Synthesis of thiolated chitosan and preparation nanoparticles with sodium alginate for ocular drug delivery. **Molecular Vision**, 18: 1973-1982.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Tuğba MERT
Doğum Yeri ve Tarihi : Bakırköy/İstanbul, 1988

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Ege Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi,
Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar:

-SCI

-Diğer

b) Bildiriler:

-Ulusal

1. Mert, T., Sunna, Ç., Yavaşer, R., Karagözler, A.A. Ayva çekirdeğinin bazı antioksidan parametrelerinin araştırılması. Kozmetik Kongresi 2013, Antalya, 15-17 Şubat 2013 (Poster).
2. Mert, T., Karagözler, A.A. Altın nanopartiküllerin ilaç salım sistemleri olarak kullanımının değerlendirilmesi. İlaç Kongresi 2013, Antalya, 29-31 Mart 2013 (Poster).

-Uluslararası

c) Katıldığı Projeler

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : -

İLETİŞİM

E-posta Adresi : tugbamert26@gmail.com

Tarih : 24.06.2014