

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**VERAPAMİL HCL' İN NAZAL DOZAJ FORMLARI
ÜZERİNE ÇALIŞMALAR**

ÖZLEM YENİL

**DANIŞMAN
PROF. DR. YILDIZ ÖZSOY ERGİNER**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI /
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2009

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

27 / 01 / 2009

Prof.Dr.Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Farmasötik Teknoloji Programı
Programın seviyesi : Yüksek Lisans ☒ Doktora ☐
Anabilim Dalı : Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı
Tez Sahibi : Özlem Yenil
Tez Başlığı : Verapamil HCl 'in Nazal Dozaj Formları Üzerine Çalışmalar
Sınav Yeri : İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Sınav Tarihi : 23 / 01 / 2009

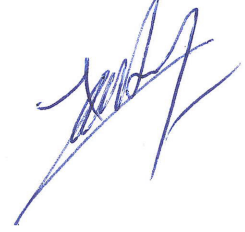
Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

- 1.Prof.Dr.Yıldız ÖZSOY ERGİNER (Tez Danışmanı), İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
- 2.Prof.Dr.Ahmet ARAMAN (Üye), İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
- 3.Prof.Dr.Betül DORTUNÇ (Üye), Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
- 4.Yard.Doç.Dr.Sevgi GÜNGÖR (Üye), İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
- 5.Yard.Doç. Dr. Erdal CEVHER, (Üye), İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

BEYAN

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

ÖZLEM YENİL

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgisi, sıcak ilgisi ve motive edici yaklaşımını her an hissettiğim danışman hocam Prof. Dr. Yıldız Özsoy-Erginer'e;

Yardım ve desteklerinden dolayı Eczacılık Teknolojisi Bölüm Başkanı ve Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ahmet Araman'a;

Çalışmalarımın en kritik anında Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'nın bütün imkanlarını sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Sumru Özkırmı'ya,

Yüksek lisans öğrenimim boyunca hiç aksatmadan burs imkanı sağlayan, bilim insanlarını daima destekleyen ve Türkiye için her zaman güzel işler başaran TÜBİTAK'a;

Etkin maddemin teminini sağlayan Abdi İbrahim İlaç Sanayi Yönetici Asistanı Sayın İlknur Sarı'ya; çalışmalarımındaki yardımlarından dolayı Yard. Doç. Dr. Erdal Cevher'e ve Yard. Doç. Dr. Sevgi Güngör'e;

Tüm yaşamım boyunca hiç bir fedakarlığı ve sevgiyi benden esirgemeyen, maddi-manevi desteklerini hep hissettiğim, yaşamımda çok önemli model olan anneme ve babama, aileme;

Hayatıma girdiği ilk andan itibaren sevgisi, sonsuz desteği ve anlayışıyla beni daima onurlandıran değerli eşim Deniz Üsteğmen Erkan Yenil'e teşekkürlerimi sunarım.

Ecz. Özlem Yenil

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
TEŞEKKÜR.....	İV
İÇİNDEKİLER	V
TABLolar LİSTESİ.....	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET	Xİİİ
ABSTRACT.....	XIV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Verapamil Hidroklorür Hakkında Genel Bilgiler	2
2.1.1. Teşhisi.....	3
2.1.1.1. Infrared Spektrumu	3
2.1.1.2. İnce Tabaka Kromatografisi	3
2.1.2. Miktar Tayini	3
2.1.2.1. Spektrofotometrik Yöntem	3
2.1.2.2. Titrimetrik Yöntem	4
2.1.2.3. Spektrofluorometrik Yöntem.....	4
2.1.2.4. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi	4
2.1.2.5. Kapiler Elektroforez Yöntemi	5
2.1.2.6. Diğer Yöntemler	5
2.1.3. Farmakolojik Özellikleri.....	6
2.1.3.1. Etki mekanizması:.....	6
2.1.3.2. Farmakokinetik özellikleri	6
2.1.3.2.1. Absorpsiyonu:	6
2.1.3.2.2. Dağılımı:.....	7
2.1.3.2.3. Eliminasyonu:.....	7
2.1.3.2.4. Dozu ve uygulanması:	7
2.1.3.2.5. Yan etkileri:.....	8

2.1.3.2.6. İlaç etkileşimleri:.....	8
2.1.4. Stabilitesi	8
2.1.5. Farmasötik Teknoloji Alanındaki Çalışmaları.....	9
2.1.6. Türkiye’deki Farmasötik Preparat Şekilleri, Dozu ve Üretici Firmaları	12
2.2. Nazal Yolla İlaç Uygulamalarına Ait Genel Bilgiler.....	12
2.2.1. Nazal Yolun Avantajları ve Dezavantajları	12
2.2.2. Nazal Yol ile Verilen İlaçlar	14
2.2.3. Burun Fizyolojisi ve Anatomisi	14
2.2.4. Nazal Yolla Uygulanan Dozaj Şekilleri.....	17
2.2.4.1. Klasik Dozaj Şekilleri	17
2.2.4.2. Uzatılmış Etki Sağlayan Sistemler	18
2.2.4.2.1. Biyoadeziv Tozlar	19
2.2.4.2.2. Mikro- ve Nanopartiküler Sistemler	20
2.2.4.2.3. Hidrojeller	21
2.2.4.2.4. İnsertler.....	23
2.3. Polimerler Hakkında Genel Bilgiler	24
2.3.1. Formülasyonların Hazırlanmasında Kullanılan Polimerler	26
2.3.1.1. Carbopol® 940.....	26
2.3.1.2. Karragen.....	28
2.3.1.3. Pektin	28
2.3.1.4. Sodyum Aljinat	29
2.3.1.5. Ksantan Zamkı	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
GEREÇ	31
YÖNTEM	33
3.1. Verapamil Üzerinde Yapılan Çalışmalar	33
3.1.1. Infrared Spektrumu	33
3.1.2. Erime Derecesi Tayini	33
3.1.3. Miktar Tayini	33
3.1.3.1. Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu.....	34
3.1.3.1.1. Doğrusallık	34
3.1.3.1.2. Kesinlik	35
3.1.3.1.3. Doğruluk.....	35

3.1.3.1.4. Seçicilik.....	36
3.1.3.1.5. Teşhis Limiti ve Miktar Tayini Limiti	36
3.1.3.1.6. Stabilité.....	36
3.1.4. Verapamil HCl in Çözünürlük Tayini	37
3.2. Nazal Formülasyonların Hazırlanması Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	37
3.2.1. Ön Formülasyon Çalışmaları	37
3.2.1.1. Polimer Konsantrasyonlarının Saptanması	37
3.2.1.2. Jel Oluşturma Süresinin Saptanması.....	38
3.2.1.3. Hazırlanan Jellerin Mekanik Özelliklerinin Tayini	38
3.2.1.4. İnsertlerin Hazırlanması İçin Ön Formülasyon Çalışmaları	43
3.2.2. Verapamil İçeren Nazal Formülasyonların Hazırlanması	43
3.2.2.1. Verapamil İçeren Nazal Jellerin Hazırlanması	43
3.2.2.1.1. Hazırlanan Jellerin Viskozitelerinin Tayini	44
3.2.2.2. Verapamil İçeren Nazal İnsertlerin Hazırlanması	45
3.2.3. Hazırlanan İnsertler Üzerinde Yapılan Çalışmalar	45
3.2.3.1. Görsel İnceleme	45
3.2.3.2. Kalınlık Kontrolü	45
3.2.3.3. Ağırlık Kontrolü	46
3.2.3.4. Su Absorplama Kapasitesinin Ölçülmesi	46
3.2.3.5. Biyoadezyon Kuvvetinin Tayini	46
3.2.4. İn Vitro Salım Çalışmaları	48
3.2.4.1. Nazal Jel Formülasyonlarından İn Vitro Salım Çalışması.....	48
3.2.4.2. Nazal İnsertlerden İn Vitro Salım Çalışmaları	50
3.2.4.3. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması	50
3.2.4.4. İstatistiksel Değerlendirmeler	51
4. BULGULAR.....	52
4.1. Verapamil Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular	52
4.1.1. İnfrared Spektrumu	52
4.1.2. Erime Derecesi Tayini	53
4.1.3. Verapamilin Miktar Tayinine Ait Bulgular	53
4.1.3.1. Miktar Tayini Yönteminin Validasyonuna Ait Bulgular	53
4.1.3.1.1. Doğrusallık	53
4.1.3.1.2. Kesinlik	57

4.1.3.1.3. Doğruluk.....	58
4.1.3.1.4. Seçicilik.....	58
4.1.3.1.5. Teşhis Limiti ve Miktar Tayini Limiti	59
4.1.3.1.6. Stabilité.....	59
4.1.4. Verapamil HCl in Çözünürlük Tayinine Ait Bulgular.....	59
4.2. Nazal Formülasyonların Hazırlanması Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular	60
4.2.1. Ön Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	60
4.2.1.1. Polimerlerin Konsantrasyonlarının Saptanması.....	60
4.2.1.2. Jel Oluşturma Süresinin Saptanması.....	60
4.2.1.3. Hazırlanan Jellerin Mekanik Özelliklerinin Tayini	60
4.2.1.4. İnsertlerin Hazırlanması İçin Ön Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	65
4.2.2. Verapamil İçeren Nazal Formülasyonların Hazırlanmasına Ait Bulgular.....	65
4.2.2.1. Verapamil İçeren Nazal Jellerin Hazırlanmasına Ait Bulgular	65
4.2.2.1.1. Hazırlanan Jellerin Viskozite Tayinine Ait Bulgular	65
4.2.2.2. Verapamil İçeren Nazal İnsertlerin Hazırlanmasına Ait Bulgular.....	66
4.2.3. Hazırlanan İnsertler Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular	66
4.2.3.1. Görsel İncelemeye Ait Bulgular	66
4.2.3.2. Kalınlık Kontrolüne Ait Bulgular	66
4.2.3.3. Ağırlık Kontrolüne Ait Bulgular.....	66
4.2.3.4. Su Absorplama Kapasitesinin Ölçülmesine Ait Bulgular.....	66
4.2.3.5. Biyoadezyon Kuvvetinin Tayinine Ait Bulgular	68
4.2.4. İn Vitro Salım Çalışmalarına Ait Bulgular	69
4.2.4.1. Nazal Jel Formülasyonlarında İn Vitro Salım Çalışmalarına ait Bulgular	69
4.2.4.2. Nazal İnsertlerden İn Vitro Salım Çalışmalarına Ait Bulgular.....	70
4.2.4.3. Kinetik Parametrelerin Hesaplanmasına Ait Bulgular.....	71
5. TARTIŞMA	72
KAYNAKLAR	80
ÖZGEÇMİŞ	93

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: Vücutta parçalanmayan doğal ve sentetik polimerler.....	25
Tablo 2.2: Vücutta parçalanmayan hidrojel.....	26
Tablo 3.1: Ön formülasyon çalışmalarında denenilen polimerler ve konsantrasyonları....	38
Tablo 3.2: Mekanik özellikleri tayin edilen jellerin konsantrasyonu.....	38
Tablo 3.3: Verapamil HCl içeren nazal jellerin kodları ve içerikleri.....	44
Tablo 3.4: Verapamil HCl içeren nazal insertlerin kod ve içerikleri.....	45
Tablo 4.1: Verapamil HCl in miktar tayini yönteminin doğruluğuna ait bulgular	57
Tablo 4.2: Verapamil HCl in miktar tayini yönteminin gün içi kesinlik bulguları	57
Tablo 4.3: Verapamil HCl in miktar tayini yönteminin günler arası kesinlik bulguları.....	58
Tablo 4.4: Verapamil HCl in miktar tayini yönteminin doğruluğuna ait bulgular	58
Tablo 4.5: Stabilitate testi bulguları.....	59
Tablo 4.6: Seçilen polimer ve plastifiyanlarla hazırlanmış jellerin mekanik özelliklerine ait bulgular.....	64
Tablo 4.7: Viskozite ölçümüne ait bulgular	65
Tablo 4.8: İnsertlerin su absorplama kapasitesine ait bulgular	67
Tablo 4.9: Biyoadezyon kuvvetine ait bulgular	69
Tablo 4.10: Jel formülasyonlarından verapamil HCl in salımına ait bulgular.....	69
Tablo 4.11: İnsertlerden verapamil HCl in selofan membrandan salımına ait bulgular.....	70
Tablo 4.12: Nazal formülasyonlardan verapamil HCl in selofan membrandan salımına ait kinetik bulgular.....	71

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Burun anatomik yapısı.....	15
Şekil 2.2: Carbopol® ün kimyasal yapısı.....	27
Şekil 2.3: Kappa karragenin kimyasal yapısı.....	28
Şekil 2.4: Pektinin kimyasal yapısı.....	29
Şekil 2.5: Aljinik asidin kimyasal yapısı.....	29
Şekil 2.6: Ksantan zatkının kimyasal yapısı.....	30
Şekil 3.1: Texture analiz cihazı.....	39
Şekil 3.2: Jellerin sertliğine ait kuvvet-zaman eğrisi.....	40
Şekil 3.3: Jellerin sıkıştırılabilirliğine ait kuvvet-zaman eğrisi.....	41
Şekil 3.4: Jellerin adezivliğine ait kuvvet-zaman eğrisi	41
Şekil 3.5: Jellerin kohezivliğine ait kuvvet-zaman eğrisi	42
Şekil 3.6 Jellerin elastikiyetine ait kuvvet-zaman eğrisi.....	43
Şekil 3.7: Biyoadezyon kuvvetinin tayinine ait kuvvet-zaman grafiği.....	48
Şekil 3.8: Modifiye Franz difüzyon hücre yapısı.....	49
Şekil 4.1: Verapamil HCl in IR spektrumu.....	52
Şekil 4.2: Verapamil HCl in standart eğri grafiği.....	54
Şekil 4.3: 1 mcg/ml konsantrasyondaki verapamil HCl çözeltisi ile elde edilen kromatogram.....	54
Şekil 4.4: 3 mcg/ml konsantrasyondaki verapamil HCl çözeltisi ile elde edilen kromatogram.....	55
Şekil 4.5: 5 mcg/ml konsantrasyondaki verapamil HCl çözeltisi ile elde edilen kromatogram.....	55
Şekil 4.6: 7 mcg/ml konsantrasyondaki verapamil HCl çözeltisi ile elde edilen kromatogram.....	56

Şekil 4.7: 9 mcg/ml konsantrasyondaki verapamil HCl çözeltisi ile elde edilen kromatogram.....	56
Şekil 4.8: Carbopol® 940 % 1,0 ile hazırlanan jelin mekanik özelliklerine ait grafik.....	61
Şekil 4.9: Carbopol® 940 % 1,5 ile hazırlanan jelin mekanik özelliklerine ait grafik.....	61
Şekil 4.10: k-Karragen % 3,0 polimeri ile hazırlanan jelin mekanik özelliklerine ait grafik.....	62
Şekil 4.11: Ksantan zamkı % 2,0 polimeri ile hazırlanan jelin mekanik özelliklerine ait grafik.....	62
Şekil 4.12: Ksantan zamkı % 2,5 polimeri ile hazırlanan jelin mekanik özelliklerine ait grafik.....	63
Şekil 4.13: Sodyum Aljinat % 4,5 ile hazırlanan jelin mekanik özelliklerine ait grafik.....	63
Şekil 4.14: Pektin % 3,5 ile hazırlanan polimerin mekanik özelliklerine ait grafik.....	64
Şekil 4.15: İnsertlerin su absorplama kapasitesine ait grafik	67
Şekil 4.16: F3 _{INS} formülasyonunun biyoadezyon kuvvetine ait grafik	68
Şekil 4.17: F4 _{INS} formülasyonunun biyoadezyon kuvvetine ait grafik.....	68
Şekil 4.18: Jel formülasyonlarından verapamil HCl in selofan membrandan salımına ait grafik.....	70
Şekil 4.19: İnsertlerden verapamil HCl in selofan membrandan salımına ait grafik.....	71

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

HCl	: Hidroklorür
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
IR	: Infrared
HPLC	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
EKG	: Elektrokardiyografi
C _{max}	: Maksimum Plazma Konsantrasyonu
AUC	: Eğri Altında Kalan Alan
PLA	: Polilaktik Asit
PLGA	: Polilaktik Glikolik Asit
PEG	: Polietilen Glikol
SD	: Standart Sapma
RSD	: Relatif Standart Sapma
UV	: Ultraviyole
INS	: İnsert
AUFS	: Absorpsiyon Unite Tam Skalası
TL	: Teşhis Limiti
MTL	: Miktar Tayini Limiti

ÖZET

Yenil, Ö (2008). Verapamil HCl' in Nazal Dozaj Formları Üzerine Çalışmalar. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Verapamil HCl, oral ve parenteral olarak kullanılan antihipertansif bir ajandır. Supraventriküler taşiaritmilerin kontrolünde, klasik veya çeşitli anjina pektorisin tedavisinde kullanılır. Piyasada kapsül, tablet ve enjektabl preparatları mevcuttur. Verapamil HCl in oral uygulanması takiben % 90 oranında absorbe olmakta, 1-2 saat içerisinde maksimum ilaç konsantrasyonuna ulaşmakta, ancak karaciğerde ilk geçiş etkisine uğradığı için oldukça düşük (% 10-20) oral biyoyararlanım göstermektedir.

Nazal yolun oldukça geniş bir absorpsiyon alanı ve zengin bir damar ağına sahip olması, kan akım hızının yüksek olması nedeniyle bu yolla verilen ilaçların biyoyararlanım oranı artmaktadır. Ayrıca nazal yol, karaciğer ilk geçiş etkisinin olmaması, doz aşımı riskinin düşük ve hastanın kendisinin uygulayabileceği kolay bir uygulama yolu olması gibi avantajlara da sahiptir.

Çalışmada; nazal jel ve insertlerin hazırlanmasında kullanılan polimerler arasında en iyi yayılabilme, elastikiyet ve biyoadezyon değerine sahip olan polimerin sodyum aljinat (% 4.5, a/a) olduğu; nazal jel ve insertlerin uzun süreli verapamil HCl salımı gösterdiği; insertlere ilave edilen penetrasyon arttırıcı maddenin (PEG 400) etkin madde salım hızını arttırdığı saptanmıştır.

Sonuç olarak; bu çalışma ile uygulama sıklığını azaltmak, biyoyararlanımını arttırmak ve uzun süreli plazma konsantrasyonu elde etmek için sodyum aljinat doğal polimeri ile verapamil HCl in nazal jel ve insertleri hazırlanmıştır. Oldukça kolay bir yöntem ile hazırlanabilen, doğru dozaj sağlayan, biyoadezif özellikte ve uzun süreli salım yapabilen nazal insertlerin oral biyoyararlanımı oldukça düşük olan verapamil HCl için alternatif bir uygulama şekli olarak değerlendirilebileceği önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler : Verapamil HCl, nazal yol, nazal insert, nazal jel, biyoadezyon

ABSTRACT

Yenil, Ö. (2008). Studies on Nasal Dosage Forms of Verapamil HCl. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmaceutical Technology, Master's Thesis. İstanbul.

Verapamil hydrochloride is an antihypertensive agent which is used via oral and parenteral routes. It is well absorbed (90%) and it reaches to its maximum plasma concentration in 1-2 hours, following oral administration. However, it has very low oral bioavailability (only 10 – 20 %), due to an extensive and highly first pass metabolism.

Administration of drugs via nasal cavity increases the bioavailability of drugs, due to its relatively large surface area, very well vascularized epithelial layer and a rapid blood flow.

In this study; it was determined that sodium alginate (4.5%, a/a) had the best spreadability, elasticity, bioadhesion properties among the polymers used; nasal gel and insert formulations prepared with sodium alginate showed prolonged verapamil release; the results also indicated that PEG 400 used as penetration enhancer let to increase in release rate of drug from insert formulations.

In conclusion; based on the results obtained in this study, nasal gel and insert formulations of verapamil HCl were prepared with sodium alginate, a natural polymer, in order to decrease the dosing frequency, to increase the bioavailability of verapamil and to achieve a prolonged plasma drug concentration. The preparation of verapamil HCl nasal insert formulations is a simple and reproducible method and the inserts which have the bioadhesive character and prolonged release pattern could be suggested to be evaluated as an alternative form for delivering of verapamil HCl to overcome its low bioavailability.

Key Words: Verapamil HCl, nasal route, nasal insert, nasal gel, bioadhesion

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Nazal yol; oldukça geniş bir absorpsiyon alanıyla birlikte poröz ve ince bir endotele sahiptir. Damarlanmanın fazla ve kan akışının hızlı olması, bu yolla verilen ilaçların biyoyararlanım oranını arttırmaktadır. Ayrıca karaciğer ilk geçiş etkisinin olmaması, hastanın kendisinin uygulayabileceği bir yol ve doz aşımı riskinin düşük olması avantajına sahiptir (148).

Son yıllarda, nazal uygulanan ilaçların biyoyararlanımını arttırabilmek için mukoza ile temas süresini uzatan ve uzatılmış etki sağlayan sistemler geliştirilmiştir. Bu sistemler arasında yer alan jel ve insertlerin en önemli avantajları arasında, nazal mukozaya temas süresini uzatmaları, dolayısıyla ilaçların biyoyararlanımını arttırmaları ve uzun etki sağlamaları yer alır (149). Nazal ‘insert’, liyofilizasyon tekniğiyle hazırlanan ilacın emdirildiği hidrofilik polimer matriks içeren katı bir ilaç şeklidir (113). Nazal insertler, ilaçların gastrointestinal sistem üzerindeki istenmeyen etkilerini ve karaciğerin ilk geçiş etkisini bertaraf eden, aynı zamanda sistemik etki gösteren ve kolay dozlama olanağı sağlayan sistemlerdir (113). Insertler önce geniş damarlanma ağına sahip nazal mukozayla temas eder ve içerdiği polimerin mukozadaki suyu absorbe etmesi ile hızlı bir şekilde jel formuna geçerek uzun süreli ve/veya kontrollü bir salım profili sağlarlar (115).

Verapamil HCl, oral ve parenteral olarak kullanılan bir kalsiyum kanal blokörü olup miyokard ve vasküler düz kas hücre membranlarından ekstrasellüler kalsiyumun hücre içine girişini inhibe eder (1). Ticari olarak kapsül, tablet ve enjektabl preparatları mevcuttur (48). Verapamil HCl in oral uygulanması sonucunda % 90’ ının absorbe olduğu, 1-2 saat içerisinde maksimum ilaç konsantrasyonuna ulaştığı bildirilmiştir. Bununla beraber karaciğerde ilk geçiş etkisine uğradığı için oldukça düşük (% 10-20) oral biyoyararlanım göstermektedir (30, 147).

Çalışmamızda; Verapamil HCl in ilaç pazarında mevcut dozaj şekillerine alternatif olarak, ilacın biyoyararlanımını arttıracak, nazal dozaj şekillerinin hazırlanması kapsamında doğal polimerler (sodyum aljinat, Carbopol® 940, pektin, k-karragen, ksantan zambkı) kullanılarak nazal jeller ve insertler hazırlandı; gerekli farmasötik optimizasyon çalışmaları yapılarak uygun bulunan formülasyonlar üzerinde in vitro etkinlik testleri gerçekleştirildi.

2. GENEL BİLGİLER

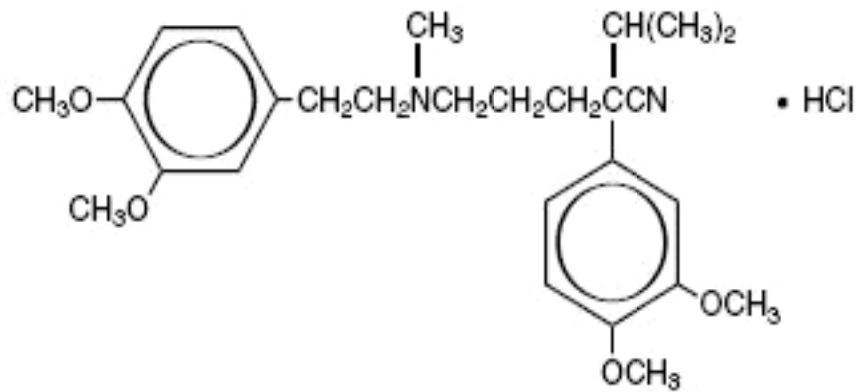
2.1. Verapamil Hidroklorür Hakkında Genel Bilgiler

Verapamil HCl antiaritmik aktivite gösteren kalsiyum kanal blokörü bir ilaçtır (1). Antihipertansif, antianjinal ve antiaritmik etkilere sahiptir (2).

Kapalı formülü:

$C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$

Açık formülü:



Benzenasetonitril, α -[3-[[2-(3,4-di metoksifenil)etil]metilamino]propil]-

3,4-dimetoksi α -(1-metiletil) hidroklorür (3).

Molekül ağırlığı: 491,07 (3).

Fizikokimyasal özellikleri: Beyaz veya kısmen beyaz, kokusuz, kristal tozdur (1). Suda ve metanolde çözünür, alkolde kısmen çözünür (4). Kloroformda da kolay çözünür (1, 5). Verapamil HCl in %5 lik çözeltisinin pH sı 4,5-6,5 arasındadır (1).

2.1.1. Teşhisi

2.1.1.1. Infrared Spektrumu

Verapamil HCl in infrared (IR) spektrumu, standart verapamil HCl ile elde edilen spektrum ile karşılaştırılarak teşhis edilir (4). IR spektrumu sonrasında elde edilen bantlar aşağıda verilmiştir (6);

- 3030 ile 2860 cm^{-1} arası : metil ve metilen grupları
- 2840 cm^{-1} : metoksil grupları
- 2800 ile 2300 cm^{-1} arası : N-H bağı
- 2236 cm^{-1} de : alkil nitril
- 1607, 1591, ve 1518 cm^{-1} de : benzen halkası
- 1262 cm^{-1} de : aromatik eterler

2.1.1.2. İnce Tabaka Kromatografisi

Verapamil HCl in ince tabaka kromatografisi (İTK) ile teşhisi, 254 nm de bant gösteren floresan indikatörlü, uygun silikajel ile kaplanmış İTK plağı kullanılarak yapılmıştır (4). Bu yöntemde verapamil HCl in örnek çözeltisinin hazırlanmasında 10 mg etkin madde metilen klorürde çözündürülür ve aynı çözücü ile 5 ml ye seyreltilir. Standart çözelti için 20 mg Verapamil HCl metilen klorürde çözündürülür ve 10 ml ye seyreltilir. Hazırlanan çözeltilerin her birinden 5 μl İTK plağına uygulanır. Plak 15 k dietilamin ve 85 k sikloheksan karışımından oluşan mobil faz içeren kromatografi tankına yerleştirilir. Çözücü, plak uzunluğunun 3/4'üne kadar ilerledikten sonra plak tanktan çıkarılır, çözücü sınırı işaretlenir ve havada kurutulur. 254 nm ultraviyole ışık altında incelenir. Literatürde verapamil HCl in R_f değerinin 0,63 olduğu bildirilmiştir(4).

2.1.2. Miktar Tayini

2.1.2.1. Spektrofotometrik Yöntem

Verapamil HCl in maksimum absorbans gösterdiği dalga boyu değişik çözünme ortamlarında 278-300 nm arasında değişmektedir. 0,01 M HCl ile hazırlanan çözeltileri

278 nm de maksimum absorbans vermiştir (4, 7). Ayrıca 0,1 N HCl de 228 nm ve 278 nm de maksimum absorbans verirken, 251 nm de minimum absorbans göstermektedir (5). Metanol içindeki %0,002 lik çözeltisi ise 200 ile 350 nm arasında ölçüldüğünde 230 ve 278 nm de maksimum absorbans göstermiştir (6). Oda sıcaklığında verapamil HCl in perklorik asitli ortamda N-bromosüksinimidle oksidasyonu sonucu meydana gelen sarı renkli ürünün 415 nm de maksimum absorbans verdiği kaydedilmiştir (8). Diğer bir çalışmada ise; Verapamil HCl in asitli ortamda kloramin-T ile oksidasyonu sonucu meydana gelen sarı rengin 425 nm de maksimum absorbans verdiği saptanmıştır (9).

2.1.2.2. Titrimetrik Yöntem

Literatürde kayıtlı iki titrimetrik yöntem bulunmaktadır. Birinci yöntemde titrasyon çözeltisi olarak 0,1 N perklorik asit, çözücü olarak ise 0,1 N asetik asit içerisindeki lityum perklorat, merkürük asetat ve glasiyal asetik asitten oluşan bir çözelti sistemi kullanılmıştır (6). Ayrıca 0,1 N perklorik asit ile 1-naftolbenzen endikatörü kullanılarak potansiyometrik miktar tayini de yapılmıştır (6). Diğer titrimetrik yöntemde ise verapamil HCl deki klorür iyonunun saptanmasına ait yöntemdir (6). Bu yöntemde titrasyon çözeltisi olarak 0.1 N gümüş nitrat çözeltisi kullanılmıştır.

2.1.2.3. Spektrofluorometrik Yöntem

Tablet içerisindeki verapamilin miktar tayini için spektrofluorometrik yöntemin kullanıldığı ve 390 nm dalga boyunda çalışıldığı literatürde kayıtlıdır (10).

2.1.2.4. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi

Verapamil HCl in yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile miktar tayinine ait pek çok yöntem mevcuttur (11-17). Bu yöntemlerde mobil faz sistemi olarak metanol-asetonitril-su mobil fazı (10:30:60 (h/h)) ve 0.1 ml asetik asit, 0.2 ml trietanolamin çözelti sistemi ile siyano kolon kullanılmıştır (11). Diğer bir çalışmada ise, 0,02 M amonyum asetat ve asetonitril (30:70 (h/h)) mobil fazı ve termo Hipersil C₄ kolonu kullanılmıştır (12). 40:60 (h/h) oranda asetonitril ve 0,05 M fosfat tamponu karışımı ve Supelcosil-LC-8-DB kolonunun kullanıldığı da literatürde kayıtlıdır (13).

Diğer bir çalışmada ise 2:1:2 (h/h) oranında dibazik amonyum fosfat-asetonitril-metanolün karışımıyla hazırlanan mobil faz sistemi ve immobilize enzimatik kolon kullanılmıştır (15). İkili faz sisteminin kullanıldığı bir çalışmada; mobil faz A olarak amonyum fosfat çözeltisi, mobil faz B olarak 70:30 (h/h) oranda amonyum fosfat-asetonitril karışımı kullanılmış, kolon olarak da çift kolon sistemi tercih edilmiştir (16). Özkan ve ark. (17) yaptığı çalışmada ise mobil faz sistemi olarak 0,05 M potasyum dihidrojen fosfat-asetonitril-orto fosforik asit (69.5:30:0.5 (h/h)) mobil fazı ve ters faz Supercosil LC-18 kolonu tercih edilmiştir. İngiliz Farmakopesi'ne göre stasyonier faz olarak oktadesanolaminopropilsilil silikajel, mobil faz olarak asetonitril-dipotasyum hidrojen fosfat (37:63 (h/h)) karışımı kullanılmış ve pH 7,2 ye fosforik asit ile ayarlanmıştır (4). Mobil faz sistemden 1,5 ml/dk akış hızı ile geçirilmiş ve dedektör 278 nm dalga boyuna ayarlanmıştır (4). Biyolojik sıvılarda ve farmasötik preparatlarda verapamilin miktar tayini için ultraviyole (UV) dedektörlü (11, 12, 17) ve floresans dedektörlü (13-17) sistemlerinin kullanıldığı diğer yöntemler de literatürde kayıtlıdır.

2.1.2.5. Kapiler Elektforez Yöntemi

Verapamil ve ana metaboliti R,S-norverapamilin analizi için kiral kapiler elektroforetik metot geliştirilmiştir (18). Ayrıca bu maddenin insan plazmasındaki miktarının tespitinde de kapiler elektroforez sisteminin kullanıldığı literatürde kayıtlıdır (19). Verapamilin kapiler zon elektroforez ile analizinde β -siklodekstrinin türevi olan mono-3-o-fenilkarbamil- β -siklodekstrinin kiral seçici olarak kullanıldığı bildirilmiştir (20).

2.1.2.6. Diğer Yöntemler

Verapamil HCl in vücut sıvılarında tayini için fluorometre ve kütle spektrometrisi kullanılarak analiz yapılmıştır (21). Ancak, spektrofotometrik analizde duyarlılığın çok düşük olması ve kütle spektrofotometrisi ile de fazla sayıda numune gerekmesi nedeniyle bu yöntemin pratik olmadığı belirtilmiştir.

Gaz-sıvı kromatografisi yöntemi ile verapamilin plazmada miktar tayininin yapıldığı literatürde kayıtlıdır (22).

Verapamil HCl in küçük miktarlarının potansiyometrik ve kondüktometrik analiz yöntemleri ile tayin edilebileceği de bildirilmiştir (23).

Verapamilin metabolitlerinin incelenmesinde gaz kromatografisi ve kütle spektrometresinin kullanıldığı literatürde kayıtlıdır (24).

2.1.3. Farmakolojik Özellikleri

2.1.3.1. Etki mekanizması:

Kalsiyum kanal blokörleri, sitoplazma membranındaki voltaja bağımlı kalsiyum kanal proteini veya oligomerik kompleksi üzerindeki özel bağlanma yerlerindeki kendilerine özgü reseptörlere yüksek afiniteli bir şekilde bağlanarak kalsiyum girişini azaltır. Bu etkiler damar düz kası ve kalp hücreleri düzeyinde oluşur, bunun sonucu olarak damarları gevşetir (2). Kalsiyum kanal blokörleri selektif ve selektif olmayan olmak üzere iki ana grup halinde incelenmektedir. Selektif olanlar; 1,4-dihidropridin (nifedipin, nimodipin, nitrendipin, isradipin, amlodipin), fenilalkilaminler (verapamil, metoksiverapamil) ve benzotiazepin (diltiazem) yapısında olmak üzere alt gruplara ayrılmaktadır. Selektif olmayanlar da flunarizin, prenilamin, perheksilin ve lidoflazin olarak sıralanabilir (2, 25-28). Kalsiyum kanal blokörleri; çeşitli kardiyovasküler rahatsızlıklarda, özellikle de anjina pectoris, supraventriküler taşikardi ve hipertansiyon tedavisinde kullanılmaktadır (29).

Verapamil HCl, fenilalkilamin türevi bir ilaçtır, hipertansiyonla birlikte supraventriküler taşikardi veya hipertrofik kardiyomyopati gösteren hastalarda diğer kalsiyum antagonistlerine tercih edilir. Verapamil, kalsiyumun hücre içine girişini bloke ederek atrio-ventriküler düğüm ve çevresinde iletimi yavaşlatır. Supraventriküler taşikardilerin oluşumunda bu bölgede ortaya çıkan tekrar giriş durumu sıklıkla rol oynadığından supraventriküler taşikardiyi genellikle güçlü bir şekilde baskılar (2).

2.1.3.2. Farmakokinetik özellikleri

2.1.3.2.1. Absorpsiyonu:

Verapamil mide barsak kanalından %90 oranında absorbe olmaktadır, ancak ilk geçiş etkisine uğradığı için biyoyararlanımı sadece %10-20 arasındadır. Verapamil oral

uygulandığında 1-2 saat içerisinde maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşmaktadır (1).

2.1.3.2.2. Dağılımı:

Verapamil %90 oranında plazma proteinine bağlanmaktadır (1). Ayrıca hayvan çalışmalarında karaciğer, böbrek, kalp ve akciğer dokularına dağıldığı bildirilmiştir (30).

2.1.3.2.3. Eliminasyonu:

Verapamil iki ya da üç aşamalı eliminasyon kinetiği göstermektedir. Plazma yarılanma ömrü ise tek doz oral uygulama veya intravenöz uygulamada 2-8 saat arasındadır. Tekrarlanan oral dozlarda bu durum 4,5-12 saate çıkmaktadır. Verapamilin metabolize olması sonucunda 12 adet aktif ve inaktif metaboliti meydana gelmektedir. Aktif metaboliti norverapamildir. Bunların %70' i idrarla, %16' sı feçesle, %4' ü ise değişmeden atılmaktadır. Verapamil plasentaya ve anne sütüne geçmektedir (1).

2.1.3.2.4. Dozu ve uygulanması:

Verapamil, supraventriküler aritmi tedavisinde intravenöz veya oral olarak verilebilmektedir. İntravenöz enjeksiyon mutlaka elektrokardiyografi (EKG) altında takip edilmeli. 5-10 mg lık dozlar 2-3 dakika süresince, diğer 5 mg doz ise ilk dozdan 5-10 dakika sonra enjekte edilmelidir. Çocuklarda daha dikkatli olunması gerekmektedir. Verapamil dozu neonatal dönemde; 0,75-1 mg, bebeklik döneminde; 0,75-2 mg, 1-5 yaşlarındaki çocuklarda; 2-3 mg, 6-15 yaşlarındaki çocuklarda; 2,5-5 mg dır (1).

Supraventriküler aritminin oral tedavisinde ise günlük doz 120-480 mg dır. İki yaşına kadar olan çocuklarda; günde iki veya üç defa 20 mg, iki yaş ve üzerindeki çocuklarda ise; günde iki veya üç defa 40-120 mg lık doz, anjina pektorisin tedavisinde ise oral olarak günde üç defa 120 mg, bazı anjinalı hastalarda ise günde üç defa 80 mg önerilmektedir (1).

Hipertansiyon tedavisinde ise günde iki defa 160 mg doz önerilmekte olup günlük doz 240-480 mg arasındadır. Verapamil in kontrollü salım yapan oral preparatları da anjina ve hipertansiyon tedavisinde kullanılmaktadır (1).

2.1.3.2.5. Yan etkileri:

Verapamil genelde iyi tolere edilen bir ilaçtır, fakat her ilaç gibi verapamilin farmakolojik etkisiyle yan etkiler gelişebilir. Kalp üzerindeki yan etkileri arasında bradikardi, atrioventriküler blok, geçici asistol vardır. Bu etkilerin ortaya çıkma olasılığı oral tedaviye oranla parenteralde daha fazladır. Kalp üzerine etki etmeyen yan etki ise konstipasyondur. Diğer yan etkiler ise; hipotansiyon, baş ağrısı, yüz kızarması ve baş dönmesidir. Ayrıca bazı cilt reaksiyonları ve karaciğer toksisitesi de kaydedilmiştir. Gingival hiperplazi ve jinekomasti de rapor edilen yan etkiler arasında yer almaktadır (1).

2.1.3.2.6. İlaç etkileşimleri:

Antiaritmik bir ilaç olan flekainid ile birlikte alındığında kardiyojenik şok ve asistol durumlarının meydana geldiği bildirilmiştir. Verapamil intravenöz ve quinidin oral verildiğinde hipotansif durumun meydana geldiği rapor edilmiştir. Seftriakson ve klindamisinle birlikte kullanıldığında kalp bloğuyla kendini gösteren bir toksik durum meydana gelmektedir. Rifampisin ile birlikte alındığında verapamilin plazma konsantrasyonunun azaldığı tespit edilmiştir. Fenobarbital ile birlikte alındığında verapamilin biyoyararlanımı azalmıştır. Simetidin ile birlikte kullanıldığında ise dikkatli olunması gerektiği vurgulanmıştır. Verapamilin serum lityum konsantrasyonunu azalttığı kaydedilmiştir. Kalsiyum tuzları verapamili antagonize etmektedir. Ayrıca karbamazepin, siklosporin, midazolam, teofilin ve digoksin içeren ilaçların plazma konsantrasyonlarının arttığı bildirilmiştir (1).

2.1.4. Stabilitesi

Verapamil HCl in katı halde yüksek sıcaklık ve fotokimyasal bozunma koşulları altında ve ayrıca nötral, asidik ve bazik ortamlarda stabil olduğu bildirilmiştir. Fakat UV ışığı altında 2 saat bekletilen metanoldeki çözeltisinin hızlı bir degradasyona uğradığı da kaydedilmiştir (6).

Kontrollü salım yapan katı dispersiyon granüllerinin 60 aylık stabilite çalışmaları yapılmıştır. İlaçta dekompozisyon ve stabiliteyi olumsuz etkileyecek bir

durum görülmemiş fakat katı dispersiyondaki amorf yapının bozulduğu dolayısıyla çözünme profilinde farklılıklar gözlemlendiği rapor edilmiştir (31).

2.1.5. Farmasötik Teknoloji Alanındaki Çalışmaları

Verapamil HCl ile farmasötik teknoloji alanında pek çok çalışma yapılmıştır. Bunları nazal, rektal, topikal, transdermal, oral, bukkal, oküler uygulanan ilaç sistemleri şeklinde sınıflandırmak mümkündür.

Verapamil HCl in nazal jelinin vivo olarak oral ve intravenöz uygulama şekilleri ile kıyaslandığı bir çalışmada; yedi gönüllü üzerinde elektrokardiyografik inceleme ile değerlendirme yapılmış ve nazal jelin farmakodinamik etki açısından intravenöz uygulamaya benzer olduğu saptanmıştır (32).

Verapamil ve nikardipinin polietilen glikol 400 ün nazal absorpsiyona etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada; nikardipinin asetat ve verapamilin distile sudaki çözeltisi sıçanlarda denenmiştir (33). Sonuç olarak, nikardipinin biyoyararlanımının % 44, verapamilin ise % 52 olduğu tesbit edilmiştir. Etkin maddeleri içeren çözeltilere % 5 oranında polietilen glikol 400 ilave edilerek deney tekrarlanmış ve nikardipin biyoyararlanımının %56-79, verapamilin ise % 61-68 oranına ulaştığı saptanmıştır.

Verapamilin intranazal farmakodinamik etkinliği intravenöz ve oral yolla in vivo olarak karşılaştırılmıştır (34). Çalışmada denek olarak köpekler kullanılmıştır. Sonuç olarak; nazal uygulamanın verapamil için alternatif bir yol olabileceği ortaya konulmuştur.

Maitani ve ark. (35) yaptığı çalışmada; verapamilin sterilglukozit ve β -sitosterol β -D-glukozit kullanılarak nazal toz formülasyonları hazırlanmış ve yapılan çalışmada bu maddelerin verapamilin biyoyararlanımını arttırdığı ve en fazla etki artışının ise β -sitosterol β -D-glukozit ile elde edildiği kaydedilmiştir.

Verapamil HCl in supozituarlarının hazırlandığı bir çalışmada; yağ bazlı ve suda çözünabilir sıvağlar kullanılmıştır. Ayrıca formülasyonlara üre ve lizin HCl ilave edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda lizin HCl ve ürenin Witepsol E75 ten ilaç salımını arttırdığı ve erime derecesini düşürdüğü kaydedilmiştir (36).

Fitch ve ark. (37) tarafından yapılan bir çalışmada; Verapamil HCl in trifluoperazine ve magnezyum sülfat ile topikal formülasyonu çalışılmıştır. Çalışmada verapamil jel (%15) günde iki defa uygulanmıştır. Sonuç olarak; Peyroni's hastalığına sahip olan kişilerde jelin ağırlı ereksiyonu elimine ettiği ve ereksiyon kalitesini arttırdığı saptanmıştır.

Bir başka çalışmada ise; iyontoforez tekniği kullanılarak verapamil HCl in deriden geçişi çalışılmış ve bu teknik ile ilacın deriden geçişinin arttırılabileceği kaydedilmiştir (38).

Diğer bir çalışmada ise verapamilin pektin ile transdermal filmleri hazırlanmış ve farklı terpenler kullanılarak sıçanlar üzerinde in vitro ve in vivo çalışmalar yapılmıştır (39). Nerolidolün, in vitro çalışmalarda transdermal filmin geçişini arttırmada en etkili terpen olduğu saptanmıştır. Sıçanlar üzerinde yapılan farmakodinamik çalışma ile nerolidol veya d-limonen içeren transdermal filmlerin 30 dakikadan itibaren kan basıncını azalttığı ve bu durumu 360 dakika boyunca sürdürdükleri kaydedilmiştir.

Polivinil alkol, polivinilpirolidon ve d-limonen kullanılarak hazırlanmış transdermal çalışmada, in vitro olarak verapamilin domuz ve insan kadavra derisinden geçişinin değiştirilebildiği ve sıfıncı dereceden kinetiğe uyduğu saptanmıştır (40). Başka bir transdermal çalışmada ise isopropil miristatin verapamilin deriden geçişini arttırdığı ve bu uygulama ile tedavi edici dozda geçişin sağlanabileceği tespit edilmiştir (41).

Eudragit RS 100 polimeri kullanılarak çözücü buharlaştırma metodu ile verapamil HCl in mikrokürelerinin hazırlandığı çalışmada; ilaç-polimer oranının ilaç salımına etkileri incelenmiş ve polimer miktarının arttırılması ile ilacın çözünürlüğünün azaldığı bildirilmiştir (42).

Diğer bir çalışmada ise verapamil HCl ile ibuprofenin karragen boncukları iyonotropik jelasyon metoduyla hazırlanmış ve verapamil HCl in enkapsülasyonunun ibuprofenden daha fazla olduğu, boncuklardan 5 saat sonunda %70 oranında verapamil salımının gerçekleştiği, ibuprofen içeren boncukların ise 6 saatte ancak %30 oranında salım gösterdiği saptanmıştır (43).

Ultrasonik püskürtme-dondurma tekniği ile verapamil HCl in mikropartikülleri hazırlanmış ve kontrollü ilaç salımı elde edilmeye çalışılmıştır (44). Yapılan çalışma sonucunda, küresel şekilli mikropartiküllerin oluştuğu, verimin yüksek olduğu ve mikropartiküllerin ilacın özelliğini değiştirmeden 8 saat süresince sıfırıncı dereceden salım kinetiğine göre salım yaptığı saptanmıştır. Çözücü kullanılmadan mum ile yapılan bu mikropartikül oluşturma tekniğinin umut vaat ettiği vurgulanmıştır.

Çözücü buharlaştırma tekniği kullanılarak verapamil HCl yüklü partiküllerin oluşturulduğu çalışmada; etil selüloz, hidroksipropil selüloz, hidroksipropil metil selüloz ftalat HP 55 polimer olarak kullanılmıştır. Partiküllerin fiziksel özellikleri ve çözünme profilleri incelenmiş ve stabilite çalışmasında ise herhangi bir olumsuzluk gözlenmemiştir (45).

Elkheshen ve ark. (46) yaptıkları çalışmada verapamil HCl in biyoadezif oral tabletleri hidroksipropil selüloz ve Carbopol® 934P kullanılarak hazırlanmıştır. Etkin madde salım çalışmaları ile in vitro biyoadezyon testleri yapılmış ve salımın uzadığı, polimer konsantrasyonunun artması ile biyoadezif özelliğin arttığı saptanmıştır.

Verapamilin bukal formülasyonunun hazırlandığı ve 12 sağlıklı gönüllü üzerinde konvansiyonel tablet ile yapılan mukayeseli çalışmada; maksimum plazma konsantrasyonu (Cmax) ve eğri altında kalan alan (AUC) değerlerinin tablet formuna oranla daha yüksek olduğu dolayısıyla biyoyararlanımın arttığı saptanmıştır (14).

İnsanlarda göz içi basıncının azaltılması için, verapamilin göz içi basıncı üzerine etkisi ile dışarıya akan göz yaşı miktarı arasındaki ilişkiye yönelik yapılan çalışmada; verapamilin topikal uygulanmasıyla göz içi basınçta azalma ve dışarıya akan göz yaşı miktarında artış meydana geldiği saptanmıştır (47).

2.1.6. Türkiye’deki Farmasötik Preparat Şekilleri, Dozu ve Üretici Firmaları

Türkiye’deki verapamil HCl içeren ticari preparat şekilleri, dozu ve üretici firmaları aşağıda verilmiştir (48).

Fibrocard L. P.	Kapsül	240 mg	Galepharma
Isoptin	Ampul	5 mg	Abbott
Isoptin	Film Tablet	40, 80 mg	Abbott
Isoptin KKH	Yavaş Salımlı Tablet	120 mg	Abbott
Isoptin SR	Film Tablet	240 mg	Abbott
Ormil	Film Tablet	40 mg	Atabay

2.2. Nazal Yolla İlaç Uygulamalarına Ait Genel Bilgiler

Koklama duyusuna ait bir organ olan burun, aynı zamanda yabancı maddelerin solunum sistemine girmesine engel olan ve morfolojik olarak ilaç absorpsiyonuna elverişli bir organımızdır (49). Nazal sistem uzun yıllar lokal etki sağlamak amacıyla kullanılmıştır. Antiallerjik ilaçlar ve dekonjestanlar nazal yol ile eskiden günümüze kadar sıklıkla kullanılmışlardır (50). Son yıllarda ise nazal olarak ilaçların lokal uygulanması sonrasında sistemik yan etki de göstermesi, nazal yolun sistemik etki sağlamak amacıyla da kullanılabileceğini ortaya koymuştur (51).

Nazal ilaç uygulaması, parenteral enjeksiyona alternatif olarak önerilmektedir. Bunun da başlıca sebebi, nazal epitelin yüksek permeabilitesidir (52).

Günümüzde nazal yol, özellikle protein ve peptit yapısındaki ilaçların (53-57), antibiyotiklerin (58), hormonların (49) sistemik etki sağlanması amacı ile parenteral yola alternatif olarak gösterilmektedir (59).

2.2.1. Nazal Yolun Avantajları ve Dezavantajları

İlaçların nazal yol ile uygulanmasında pek çok avantaj bulunmaktadır (60). Bu avantajlar aşağıda özetlenmiştir.

- Mukoza alt tabakası damarlanmasının çok fazla olması nedeniyle burun boşluğu morfolojik olarak ilaç absorpsiyonuna elverişlidir.
- Çok sayıda mikrovilus bulunmasından dolayı geniş bir absorpsiyon alanına sahiptir.
- İlaç burun mukozasından venöz yolla doğrudan sistemik dolaşıma geçer, böylece ilaçlar için ilk geçiş etkisi söz konusu değildir.
- Absorpsiyon hızı ve plazma konsantrasyonu intravenöz uygulama ile karşılaştırılabilir düzeydedir.
- Nazal mukoza çok düşük enzimatik aktiviteye sahiptir.
- Diğer mukozal yapılara göre geçirgenliği yüksektir.
- Hızlı absorpsiyon, yüksek biyoyararlanım karakteristiği nedeniyle ilaçların düşük dozda verilmesi mümkündür.
- Tedavi edici etkisi hızlıdır.
- Gastrointestinal kanalda metabolize olan ilaçlar nazal yol ile verilebilir.
- Doz aşımı riski daha azdır.

Bütün bu avantajlara rağmen nazal yola ait bazı dezavantajlar da söz konusudur (50, 52, 61, 62).

- Molekül ağırlığı 1000 daltondan büyük olan ilaçların nazal mukozadan geçişleri zordur.
- Patolojik şartlar ve nazal mukozanın normal savunma mekanizması ilaç absorpsiyonunu etkiler.
- Uygulanan ilaçlar nazal mukozada iritasyona sebep olabilir.
- Peptit ve proteinler için az da olsa enzimatik yıkım söz konusudur.

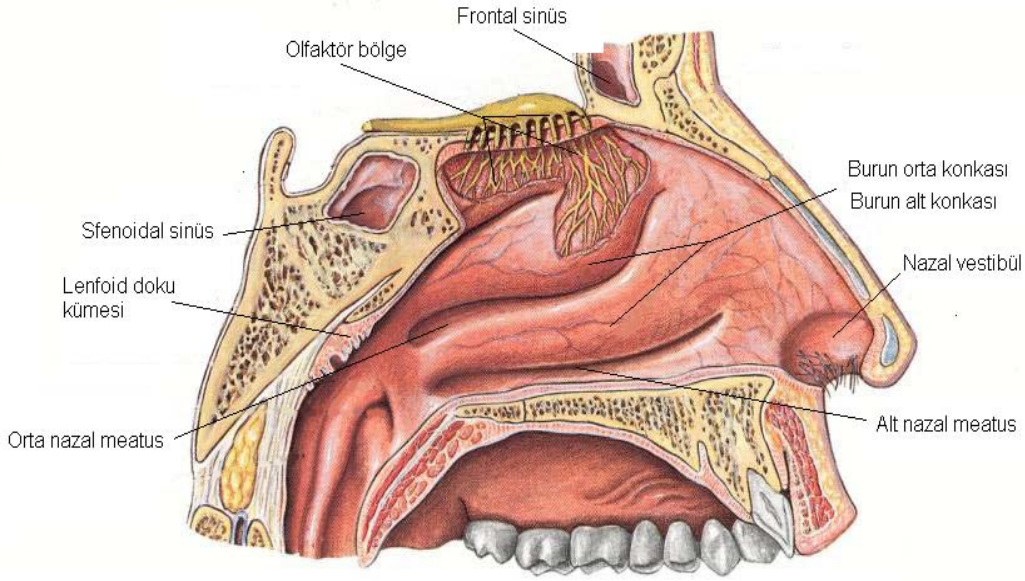
2.2.2. Nazal Yol ile Verilen İlaçlar

Antiallerjik ilaçlar arasında; beklametazon dipropionat monohidrat, budesonid, dekonjestanlardan; efedrin hidroklorür, efedrin, oksimetazolin, fenilefrin hidroklorür, ksilometazolin hidroklorür nazal yol ile verilen etkin maddelere örnektir (63). Ayrıca oksitosin hormonunun, B₁₂ vitamininin, migren ağrılarında kullanılan butarfanol tartaratın, kemik erimesinde kullanılan kalsitoninin nazal uygulanan preparatları kullanılmaktadır (60). Nazal yol ile uygulanan yeni sistemlerin geliştirilmesiyle etkin maddelerin biyoyararlanımları arttırılmıştır. Nazal yol ile verilen ondansetronun sistemik etkisinin oral verilise göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (64). Oral yoldan absorpsiyonu zayıf olan, gastrointestinal kanalda metabolize olan (özellikle peptit ve proteinler) (65) ve karaciğerde ilk geçiş etkisine uğrayan ilaçların nazal yol ile verilmesi tercih edilir (60, 66). Nazal yol ile uygulanacak etkin maddelerin nazal mukoza ile geçimli, çözünürlüğünün ve enzimatik stabilitesinin iyi olması ve toksik olmaması gerekir (67).

2.2.3. Burun Fizyolojisi ve Anatomisi

Burun vestibülünden başlayıp nazofarenkse kadar uzanan burun boşluğu yaklaşık 12-14 cm derinliğe ve 160 cm² yüzey alana sahiptir. Nazal boşluk üç farklı işlevsel bölgeden oluşur. Bu bölgeler önden arkaya doğru sıralanmıştır (62, 50), (Şekil 2.1).

- Vestibüler bölge (filtrasyon bölgesi)
- Olfaktör bölge (koku duyusu ile ilgili)
- Respiratör bölge (solunumla ilgili)



Şekil 2.1: Burun anatomik yapısı (68)

Vestibüler bölge, solunan havadaki partiküllerin tutulması ile filtrasyonu sağlayan çok tabakalı titretilen tüyler taşıyan bol miktarda çanak hücrelerinden oluşan epitel örtülü bir yapıya sahiptir (59). Olfaktör bölge nazal septum ile lateral duvarlar arasındadır. Bu bölge koku alma duyusuyla ilgilidir. Respiratör bölge sütun şeklindeki epitel dokudan oluşan ve kalın bir mukus tabakasıyla kaplanmış bölümdür (49). Ayrıca burada silia hareketleri olmaktadır. Silialar epitel hücrelerinin serbest yüzeyinde hareketli, tüy benzeri, 5-10 μm boyutunda 0.1-0.3 μm kalınlığında yapılardır ve dakikada 20 vuruşluk hareket yaparlar. Her silia hücresi üzerinde yaklaşık 500 mikrovilus vardır. Bu yapı, ince barsaklarda olduğu gibi, absorpsiyon yüzey alanını artırır (69). Mikrovilus taşıyan bu hücrelere goblet hücreleri denir. Siliaların üzeri mukus tabakasıyla kaplıdır. Mukusun temel bileşeni olan glikoproteinler aynı zamanda jel benzeri yapıdan da sorumludur. Mukus içeriğinin %3 ü glikoproteindir. Geri kalan bileşeni ise %90-95 su, iyonlar, albumin gibi proteinler, lizozomlar, enzimler ve immunoglobulinlerden oluşur. Mukozanın membran yüzeyini kaplayan iki tip mukus vardır. Bunlardan biri siliaların uç kısımlarına yapışmış halde bulunurken diğeri silialar arasındaki alanları doldurmuştur (49).

Mukusun işlevleri aşağıda verilmiştir (49).

- Maddelerin burun kanalında tutulması
- Yapışma
- Su tutma kapasitesi
- Partiküler maddelerin taşınması
- Yüzeysel elektriksel aktivite göstermesi
- Mukozayı koruma
- Geçirgenlikte ağ gibi davranmak
- Isı transferi sağlamak

Burun mukozası damarlanma açısından çok zengindir. Epitel yüzey, burun bölmesindeki ve burun iç çeperindeki yoğun damar ağıyla beslenir. Bu damar ağları ilaçların absorpsiyonu için geniş bir alan oluşturur. Nazal damar yatağı, burun dokuları ile kan damarları arasında sıvı ve çözünmüş halde bulunan maddelerin hızla geçişi için uygundur (49).

Nazal yolla kullanılan ilaçların absorpsiyonu respiratör bölgede meydana gelmektedir. Mukosiliyer klirens bu yolla uygulanan ilaçların nazal boşluktan nazofarenkse doğru hızlı bir şekilde uzaklaştırılmasından sorumludur. Bundan dolayı mukosiliyer klirens, intranazal uygulamada ilaçların absorpsiyonuna olumsuz yönde etki eden bir faktördür. Uygulanan ilaçlar ile mukosiliyer klirensin baskılanması sonucunda mukus içinde tutulan virüs ve bakterilerin, temas süresine bağlı olarak, enfeksiyon yapma potansiyelleri söz konusudur. Bu nedenle ilaç ve yardımcı maddelerin mukosiliyer klirens üzerine olan etkilerini incelemek oldukça önemlidir (49).

Etkin maddelerin mukoz membrandan geçişi pasif difüzyon, kolaylaştırılmış transport ve aktif transport ile sağlanır (70). Nazal mukozanın yüzey pH sınırının yetişkinlerde 5.0-6.7, çocuklarda ise 5.5-6.5 dir. Nazal mukozanın pH değerleri, etkin maddenin pKa değeri ve iyonizasyon derecesine göre difüzyonla absorbe olan ilacın miktarı ile etkilenebileceği bilinmektedir (49).

2.2.4. Nazal Yolla Uygulanan Dozaj Şekilleri

2.2.4.1. Klasik Dozaj Şekilleri

Klasik dozaj formları, lokal veya sistemik etki elde etmek için nazal boşluğa uygulanan sıvı, yarı-katı veya katı preparatlardır. Buruna uygulanan ilaçların çoğu lokal etki ile burun tıkanıklığını gidermek amacıyla kullanılır. Aşağıda buruna uygulanan klasik dozaj şekilleri kısaca özetlenmiştir (63, 71).

Damlalar ve sıvı nazal spreyler: Bu preparatlar, nazal boşluğa damla veya sprey şeklinde uygulanan çözelti, emülsiyon veya süspansiyonlardır. Nazal çözeltiler genellikle izotoniktir ve bazı yardımcı maddeleri (örneğin viskozite, pH ayarlayıcı, tamponlayıcı, çözücü v.b.) içerir. Çözeltinin pH sı burun pH sına yakın olmalıdır.

Nazal yol ile uygulanan ve uzun yıllardan beri kullanılan klasik dozaj şekli burun damlalarıdır. Avantajları arasında; uygulamanın rahat ve basit olması, üretiminin ucuz ve kolay olması yer alır (60). Çözelti şeklindeki formülasyonların mikrobiyolojik ve kimyasal stabilite problemleri ve mukosiliyer klirens ile kolayca uzaklaştırılabilmeleri başlıca dezavantajlarıdır (72). Bu dozaj şekli, lokal uygulamalar için olumlu sonuçlar verirken, istenilen sistemik etki sağlamak için yeterli oranda absorpsiyonu garanti edememektedir. Ancak bu bölgeden sistemik absorpsiyonu arttırmak için yağ asitleri ve türevleri, yüzey aktif maddeler, safra tuzları ve türevleri, siklodekstrinler ve türevleri, şelat yapıcı maddeler penetrasyon arttırıcı olarak kullanılmaktadır (73).

Tozlar: Uygun bir cihaz ile nazal boşluk içine püskürtülen tozlardır. Bu preparatların partikül boyutu oldukça önemlidir. Etkin madde toz halinde doğrudan veya yardımcı maddeler ile birlikte uygulanır. Tek veya çok dozlu olarak, basit yara tozları gibi üstten delikli, mekanik sprey veya basınçlı kaplar içinde ambalajlanmışlardır (74).

Yarı-katı preparatlar: Bu preparatlar, genellikle lokal etki amacıyla kullanılır ve sıvağın yapısına bağlı olarak; koruyucular, antioksidanlar, stabilizatörler, emülsifiye edici ve viskozite arttırıcı maddeler ile penetrasyon arttırıcıları içerebilir. Yarı-katı preparatlar arasında nazal jel, krem ve merhem sıklıkla kullanılır (74).

Yıkama çözeltileri: Nazal boşluğu temizlemek için kullanılan sulu, izotonik çözeltilerdir. Bu çözeltiler, incinmiş veya cerrahi müdahaleli kısımlara uygulanacak ise mutlaka steril olmalıdır (74).

Çubuklar: Lokal uygulama amaçlı katı preparatlardır. Çubuk veya konik şekildedirler. Vücut sıcaklığında çözünen veya eriyen uygun bir sıvı içerisinde bir veya birden fazla etkin maddeyi içerebilirler. Etkin maddeler sıvıda çözünmüş veya dağıtılmıştır (74).

2.2.4.2. Uzatılmış Etki Sağlayan Sistemler

Son yıllarda, nazal uygulanan ilaç şekillerinin biyoyararlanımını arttırabilmek için mukoza ile temas süresini uzatan ve uzatılmış etki sağlayan sistemler geliştirilmiştir. Bu sistemler biyoadeziv tozlar, hidrojel, mikro- ve nanopartiküller ve insertlerdir (51, 59). Bu sistemlerin ortak özellikleri ise biyoadezyondur.

Biyoadesyon, sentetik veya doğal polimerlerin biyolojik dokuya belli bir süre bağlanma yeteneğidir. Diğer bir tanımla biyoadezyon, en az biri biyolojik kaynaklı olan iki yüzeyin yüzeylerarası kuvvetlerinin etkisiyle belirli bir sürede temas etmeleri durumudur. Söz konusu doku, mukus ise mukoadezyon tanımı kullanılabilir. Mukoadezyon, epitel dokunun mukozasının yüzeyine tutunma olarak da adlandırılabilir (75, 76).

Son yıllarda, peptitler ve gastrointestinal kanaldan emilimi düşük olan ilaçların kontrollü salımını sağlayabilmek amacıyla mukozaya yapışabilen adeziv dozaj formları üzerinde çalışmalar hız kazanmıştır. Uygun adeziv özellik gösteren polimerler kullanılarak rektal, vajinal, pulmoner, oral, bukkal, nazal ve oküler yollarla etkin maddeyi kontrollü serbestleştiren sistemler hazırlanmaktadır. Bu sistemler, belirli bölgede lokalizasyon sağlayarak ilacın biyoyararlanımını ve hastanın tedaviye uyuncunu artırır; dozaj şeklinin kalış süresi uzatılarak günlük doz uygulama sayısını azaltır (75-77).

Nazal biyoadeziv sistemler için istenilen özellikler aşağıda özetlenmiştir (78, 79):

- Nazal mukozaya yapışmalı, mukusu absorplamalı

- Viskoz bir tabaka oluşturmalı ve yavaş klirens göstermeli
- Etkin maddeyi korumalı ve yavaş salmalıdır.

2.2.4.2.1. Biyoadezif Tozlar

Çözelti veya süspansiyon şeklinde formülasyonu geliştirilemeyen etkin maddeler için biyoadezif tozlar tercih edilir. Bu tozlar genellikle burun mukozasında bölgesel etki sağlaması için özel bir cihaz ile uygulanırlar. Nazal mukozada tahriş yapması, homojen partikül dağılımının zorluğu ve yüksek maliyeti gibi dezavantajlara sahiptirler (60). İnsülinin nazal biyoadezif tozlarının hazırlanması üzerine yapılan çalışmalarda, biyoadezif polimer olarak Carbopol® 974P kullanılmış ve bu formülasyonların mukus ile uzun süre temasta kaldığı saptanmıştır (53).

Nazal uygulanacak toz preperatlarda en önemli faktör tozların partikül büyüklüğüdür. Partiküller yaklaşık olarak 20  m'den daha küçük olduğunda boğaza doğru geçerler, 20  m den büyük olduklarında ise nazal boşlukta kalabilirler (80). Nazal alerji için geliştirilen preparatların boyutlarının yaklaşık olarak 90  m civarında olması istenmektedir. Nagai ve ark. (81) nazal alerjide kullanılmak üzere, beklametazon dipropionatın "Rhinocoart" isimli ve "Publizer" adlı özel aplikatör ile uygulanan nazal biyoadezif toz dozaj formunu geliştirmişlerdir. Biyoadezif olarak hidroksipropil selüloz içeren nazal preparatın, uygulandıktan sonra nazal mukozaya yapışarak etkin maddeyi serbestleştirdiği saptanmıştır. Ayrıca hidroksipropil selülozun uygulamadan 6 saat sonra uygulandığı yerde kaldığı bildirilmiştir.

Lutein uyarıcı hormon analogu goserelinin, kitozan ile hazırlanan toz formülasyonlarının koyunlara nazal uygulanması sonucu kitozanın ilaç ile mukoza arasında daha uzun temas süresi sağladığı ve nazal çözeltiye nazaran absorpsiyonu yaklaşık 25 kat arttırdığı saptanmıştır (82).

Antiparkinson bir ilaç olan apomorfinin, Carbopol® 971P, 974P ve polikarbofil ile hazırlanan liyofilize toz preparatları nazal olarak tavşanlara uygulanmış ve uzatılmış ilaç salımı elde edilmiştir (83).

2.2.4.2.2. Mikro- ve Nanopartiküler Sistemler

Etkin maddelerin nazal verilisinde partiküler sistemler önemli avantajlar sağlamaktadır. Bu avantajların başında nazal mukozaya temas süresinin uzaması ve dolayısıyla ilacın biyoyararlanımının artması gelmektedir. Ayrıca bu sistemler ile uzun ve kontrollü etki de sağlanabilmektedir (84, 85).

Vücutta parçalanabilen polimerler ile hazırlanan insülin (86-88) gentamisin (89), insan büyüme hormonu (90), metoklopramit (91), salmon kalsitonin (92) ve dezmozepresin (93) mikroküreleri ile bu ilaçların nazal absorpsiyonunun arttığı saptanmıştır.

Dekstran (94) ve hyaluronik asid (84) ile hazırlanan insülinin mikrokürelerinin nazal uygulanması sonucu biyoyararlanımının arttığı gösterilmiştir.

Yarı sentetik insan insülini içeren nazal formülasyonlar üzerinde yapılan diğer bir çalışmada, parçalanabilen nişasta mikroküreleri ve lizofosfatidilkolin ile hazırlanan biyoadeziv mikroküreler, koyunlara nazal, intravenöz ve cilt altına uygulanmış ve uygulamayı takiben belirli zaman aralıklarında kan numunesi alınarak plazma insülin ve glikoz düzeyleri ölçülmüştür (95). Sonuç olarak, lizofosfatidilkolin ile hazırlanan ve nazal uygulanan mikrokürelerin intravenöz uygulamaya benzer şekilde plazma salım profili gösterdiği ve etkisinin daha uzun süreli olduğu saptanmıştır.

Biyoadezyon özelliği iyi olan ve nazal mukozada kolayca şişebilen biyoadeziv mikrokürelerin kullanımı ile etkin maddenin parçalanmadan korunduğu ve nazal boşlukta ilaç klirens hızının kontrol edilmesi ile etkin maddelerin etkinliğinin artırılabilirdiği bildirilmiştir (84).

Albumin, jelatin, nişasta ve dekstran gibi polimerlerden hazırlanan biyoadeziv mikrokürelerin, klirens yarı ömürlerinin 3 saat veya daha fazla arttırarak nazal boşlukta kalabildikleri saptanmıştır (84).

Dobutaminin normal ve kontrollü salım sağlayan preparatlarının nazal uygulanması sonucunda; yarılanma ömrü çok kısa olan (~2 dk) dobutaminin farmakolojik aktivitesinin normal formülasyonda 1 saat, kontrollü salım sağlayan formülasyonda ise 4 saate kadar uzadığı saptanmıştır (49).

İnsan serum albumini ile hazırlanan propranolol mikrokürelerinin nazal uygulanması ile mikrokürelerin nazal mukozaya iyi bir yapışma sağladığı, 10-12 saat

süresince etkin madde salımını devam ettirdiği ve biyoyararlanımı arttırdığı saptanmıştır (96).

Yıldız ve ark. (97) heparinin polilaktik asit (PLA) ile mikrokürelerini hazırlamış ve yüksek etkin madde tutma kapasitesine sahip, $< 2 \mu\text{m}$ boyutunda, düzgün yüzeyli ve küresel mikroküreler elde etmişlerdir. Sıçanlar üzerinde yapılan *in vivo* çalışmalar ile nazal mikrokürelerin nazal heparin çözeltisine göre %143 relatif biyoyararlanım gösterdiği saptanmıştır.

PLA ve polilaktik glikolik asit (PLGA) polimerleri kullanılarak nazal kullanım için, selektif serotonin 5-HT₃ reseptör antagonisti olan ondansetronun mikroküreleri hazırlanmıştır (98). Mikroküreler, polimerlerin çözücüsü olarak diklormetan ve diklormetan-etil asetat solvanları kullanılarak püskürterek kurutma metodu ile elde edilmiştir. Mikrokürelerin düzgün yüzeyli oldukları ve diklormetan-etil asetat ile hazırlananların daha az tutma kapasitesine sahip, fakat daha küçük partikül boyutunda (11.67-18.30 μm) oldukları saptanmıştır. Sonuç olarak, diklormetan-etil asetat solvent karışımı kullanılarak elde edilen bu partiküllerin ondansetronun nazal uygulaması için kullanılabileceği belirtilmiştir.

Aşıların nazal uygulamaları; uygulanma kolaylığı, bağışıklık yanıtının hızlı ve uzun süreli olması nedeniyle son yıllarda güncel hale gelmiştir (99-103). Nazal yol ile burundaki lenfoid doku aracılığı ile kolayca bağışıklık yanıtı alınabilmektedir (100). Özellikle vücutta parçalanabilen polimerler ile hazırlanan mikropartiküler sistemler ile nazal aşı uygulamaları da literatürde kayıtlıdır (104-106). Sprey şeklinde tek kullanımlık influenza aşısı FluMist® FDA dan onaylanan ilk nazal aşıdır (52).

2.2.4.2.3. Hidrojeller

Son yıllarda özellikle sistemik etki gösteren nazal uygulanan hidrojeller ile ilgili çalışmalar mevcuttur (49, 107-112).

İnsülinin %0,1 ve %1,0 (a/h) konsantrasyondaki poliakrilik asit polimeri içindeki nazal formülasyonlarının maksimum hipoglisemik etkisi sırasıyla 30 dk ve 60 dk sonra elde edilmiştir (107).

Vitamin B₁₂ nin nazal jel formülasyonu ile istenilen sistemik etkinin sağladığına dair bilgi mevcuttur (49). Ayrıca nazal uygulanan B12 vitamini 1996 yılında FDA dan onay alarak piyasaya çıkmıştır.

Kalsitonin 10 IU/kg dozda farelere nazal verildiğinde, Carbopol® jelinin üç farklı pH da (4,5, 5,5 ve 7,5) plazma kalsitonin konsantrasyonunu azalttığı tespit edilmiştir. Maksimum hipokalsemik etki pH 6,5 da 30 dakikada elde edilirken , pH 5,5 ve 7,5 da ise 1 saatte elde edilmiştir (49).

Nifedipinin, polietilenglikol 400, Carbopol® 941 jel ve Carbopol® 941-polietilenglikol ile hazırlanan jel formülasyonları yüksek biyoyararlanım elde edebilmek ve uzun etki sağlamak amacıyla nazal olarak uygulanmış ve polietilenglikollü formülasyonun hızlı etki ve yüksek konsantrasyon sağladığı tespit edilmiştir (108). Viskozitesi düşük olan jel formülasyonundan nifedipin absorpsiyonun düşük olduğu ve Carbopol®-polietilenglikol jelden ise yüksek konsantrasyonlu uzun etki elde edildiği saptanmıştır.

Özsoy ve ark. (109) tarafından yapılan bir çalışmada; siprofloksasin HCl in biyoadeziv polimerler kullanılarak nazal jel formülasyonları hazırlanmıştır. Biyoadeziv polimer olarak hidroksipropil metilselüloz, hidroksietilselüloz ve metilselüloz kullanılmıştır. Bu formülasyonlar tavşan burun mukozasına uygulanmış ve elde edilen sonuçlar oral ve intravenöz uygulamalarla kıyaslanmıştır. Hidroksipropil metilselüloz ile hazırlanan preparat oral yolla aynı biyoyararlanımı sağlamış ancak bu formülasyona %1 lik Tween 80 ilave edildiğinde ise siprofloksasin HCl biyoyararlanımında anlamlı bir artış olduğu saptanmıştır.

Nazal uygulamalarda ilacın mukozadan ayrılma hızı, absorpsiyon ve özellikle biyoyararlanım açısından önemli bir konudur. Bu konuyu ele alan bir çalışmada metilselüloz, sodyum karboksimetilselüloz, hidroksipropil metilselüloz, kitozan glutamat, Carbopol® 934P, polietilen oksit 600K ve Pluronic F127 polimerleri mukosilyer klirens açısından sıçanlarda test edilmiştir. Metilselülozun en uzun Carbopol® 934P in ise en hızlı nazal klirens sahip olduğu saptanmıştır (110).

İntranazal ilaç uygulamalarında ilacın burun içinde kalış süresini uzatmak büyük önem taşımaktadır. Bunun için ise mukoadesif in situ jeller kullanılmaktadır. Bu in situ jelasyonu sağlamak amacıyla termojel özelliği olan poloxamer 407 nin kullanıldığı bir çalışmada; karbopol içeren in situ jelin mukosilyer geçiş zamanını 10 dakikadan 52

dakikaya kadar uzattığı, nazal mukozal bütünlüğü ise 14 güne kadar sürdürdüğü gözlenmiştir (111). Tavşanlar üzerinde yapılan biyoyararlanım deneyinde ise absolü biyoyararlanım oral için % 51,7 iken in situ jelde % 69,1 olarak saptanmıştır. Bu çalışma sonucunda in situ jellerin kolay uygulanabilir, dozlamada doğruluk sağladığı ve mukosiliyer geçiş zamanını uzattığı ve ilaç biyoyararlanımını arttırdığı vurgulanmıştır.

Yapılan diğer bir çalışmada, polipeptit yapısındaki insülin ve kalsitoninin Carbopol® 941 ve karboksimetil selüloz ile hazırlanan jel formülasyonlarının nazal absorpsiyonları incelendiğinde, Carbopol® 941 ile hazırlanan formülasyonların intranazal yolla daha etkili olduğu bildirilmiştir (112).

2.2.4.2.4. İnsertler

Nazal insert liyofilizasyon tekniğiyle hazırlanan ilacın emdirildiği hidrofilik polimer matriks içeren katı bir formdur (113). Gastrointestinal sistemin istenmeyen etkilerinden ve karaciğerin ilk geçiş etkisinden kaçınmayı ve kolay dozlama olanağı sağlayan sistemik etki gösteren sistemlerdir (113). Nazal insertlerin hazırlanmasında kullanılan yöntem genellikle liyofilizasyon tekniğidir. Liyofilizasyon, sulu çözelti veya nadiren sulu süspansiyon halindeki katıların kurutulmaları için uygulanan yöntemlerden biridir. Bu yöntemde kurutma işlemi, liyofilizatörler kullanılarak yapılır (114).

İnsertler, ilk önce yüksek damarlanmaya sahip nazal mukoza ile temas eder, daha sonra yapısındaki polimer, mukoza sıvısını absorbe ederek hızlı bir şekilde jel formuna geçer ve böylece uzun süreli ve/veya kontrollü bir salım profili sağlarlar (115).

İnsertlerde ilaç ve polimer madde arasındaki fizikokimyasal etkileşimlerin incelendiği bir çalışmada bu durumun etkin maddenin insertten salım hızı üzerindeki etkileri araştırılmıştır (115). İn vitro çalışmalar sonucunda nazal insertten ilacın salım hızının etkin maddenin çözünürlüğünden, polimerik insert içinde bulunan etkin maddenin fiziksel özelliklerinden ve ilaç-polimer arasındaki elektrostatik etkileşmeden etkilendiği tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada nikotinin hidroksipropil metilselüloz ile liyofilizasyon tekniği kullanılarak insertleri hazırlanmış ve toz, sprey, parenteral formülasyonları ile kıyaslama yapılmıştır (116). İn vitro ve koyunlar üzerinde yapılan in vivo çalışmalar sonucunda insertin konvansiyonel ilaç şekillerine göre nikotin salımını daha uzun

sürede gerçekleştirdiği ve böylelikle nazal insertin uzun plazma profili elde etmede umut verici bir form olduğu saptanmıştır.

Diğer bir çalışmada ise biyoadeziv polimerler ile hazırlanan insertin biyoadezyon potansiyeli, su absorplama kapasitesi, mekanik özellikleri gibi parametreler incelenmiştir (117). Yapılan in vitro çalışmalar sonucunda düşük molekül ağırlığına sahip polimerler ile hazırlanan insertlerin hızlı ilaç salımı, yüksek molekül ağırlıklı polimerlerden oluşan insertlerin ise yavaş salım yaptığı gözlenmiştir. Su absorplama kapasitesi düşük olan insertlerin, biyoadezyon potansiyellerinin de düşük olacağı tespit edilmiştir. Bu çalışmada da nazal insertin ilaç salım süresini uzatmak için iyi bir dozaj formu olduğu belirtilmiştir.

Metoklopramidin Carbopol® 981 ile nazal çözelti, jel ve liyofilize toz formülasyonları hazırlanmış ve koyunlar üzerinde yapılan in vivo çalışmalar sonucunda metoklopramidin çözelti ve toz formülasyonlarından salımının jel formülasyona oranla daha fazla olduğu belirtilmiştir (118). Ayrıca toz formülasyonuna penetrasyon artırıcı madde olarak dimetilbetasiklodekstrin ilave edilmiştir. Buna rağmen in vitro ve ex vivo çalışmalarda nazal jelin biyoyararlanımının çözelti ve toz formülasyona oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır.

İnsülinin hidroksipropil metilselüloz ile liyofilizasyon tekniği kullanılarak insertlerinin hazırlandığı diğer bir çalışmada; insertlerin nazal yolda kalabilirliği gama sintigrafik yöntem kullanılarak tespit edilmiştir (119). Bu çalışmada altı sağlıklı gönüllü ile çalışılmış, nazal insert ile nazal sprey arasında kıyaslama yapılmıştır. %2 konsantrasyonunda hidroksipropil metilselüloz ile hazırlanmış nazal insertin spreye nazaran nazal bölgede kalışının 4-5 saat kadar uzadığı görülmüştür. %1 konsantrasyonunda hidroksipropil metilselüloz ile hazırlanmış insertin ise çok iyi yayılım gösterdiği fakat nazal klensinin %2 konsantrasyonuna göre hızlı olduğu tespit edilmiştir.

2.3. Polimerler Hakkında Genel Bilgiler

Polimerler çok sayıda aynı veya farklı atomların kimyasal bağlarla, az veya çok düzenli bir biçimde bağlanarak oluşturduğu uzun zincirli, yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerdir (120). Polimerler başlıca iki grup olarak incelenir:

Vücutta parçalanmayan polimerler; bu polimerler suda çözünmezler fakat biyolojik sıvılarla temas edince hidroliz olurlar veya enzimlerle parçalanırlar. İlacın salımı polimerin aşınması ile paralel yürür. Bu polimerler doğal ve sentetik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (120, 121). Vücutta parçalanmayan doğal ve sentetik polimerler Tablo 2.1. de verilmiştir.

Tablo 2.1: Vücutta parçalanmayan doğal ve sentetik polimerler.

Doğal Polimerler	Sentetik Polimerler
Albumin	Poli (glikolik asit)
Kollajen ve Jelatin	Poli (laktik asit)
Kitin ve Kitozan	Poli (anhidritler)
Fibrinojen	Poli (orto esterler)
Dekstran	Poli (alkil 2- siyanoakrilatlar)
Aljinat	Poli (amino asitler)
Selüloz ve Nişasta	Poli (kaprolakton)

Vücutta parçalanmayan polimerler; bu polimerler vücutta parçalanmayan hidrofil veya hidrofob yapıdadırlar. Hidrofil polimerler hidrojellerdir, hidrofob polimerler ise suda çözünmez ve şişmezler (120). Hidrojellerde ilaç salımı hidrojinin şişme derecesine bağlıdır. Hidrofobik polimerler ise vücutta aşınmaz, suda çözünmez ve şişmezler. Dolayısıyla bu polimerlerden hazırlanan sistemler ilaç salımı bitince vücuttan çıkarılır veya atılır. Hidrojellere örnekler kısaltmaları ile birlikte Tablo 2.2 de verilmiştir. Hidrofob polimerlere ise; silikonlar, poli etilen-vinil asetat kopolimeri örnek olarak verilebilir (120, 121).

Tablo 2.2: Vücutta parçalanmayan hidrojeller.

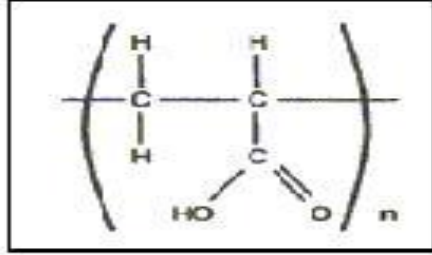
PHEMA	Poli (hidroksi etil metakrilat)
PHEEMA	Poli (hidroksietoksi etil metakrilat)
PHDEEMA	Poli (hidroksidietoksietil metakrilat)
PMEMA	Poli (metoksietil metakrilat)
PMEEMA	Poli (metoksietoksietil metakrilat)
PMDEEMA	Poli (metoksidietoksietil metakrilat)
PEGDMA	Poli (etilen glikol dimetakrilat)
PNVP	Poli (N-vinil-2-pirolidon)
PNIPAAm	Poli (N-izopropil akrilamit)
PVAc	Poli (vinil asetat)
PAA	Poli (akrilik asit)
PMAA	Poli (metakrilik asit)
PHPMA	Poli (N-2-hidroksipropil metakrilamit)
PEG	Poli (etilen glikol)
PEGA	Poli (etilen glikol akrilat)
PEGMA	Poli (etilen glikol metakrilat)
PEGDA	Poli (etilen glikol diakrilat)

2.3.1. Formülasyonların Hazırlanmasında Kullanılan Polimerler

2.3.1.1. Carbopol® 940

Carbopol® 940 yüksek molekül ağırlığına sahip sentetik bir poliakrilik asit türevidir. Alkali hidroksit veya aminle nötralizasyondan sonra, suda, alkolde ve

gliserolde çözünür. %1 lik dispersiyonun pH sı yaklaşık 3 tür (1). Carbopol® 940 ın kimyasal yapısı Şekil 2.2’de verilmiştir.



Şekil 2.2: Carbopol® ün kimyasal yapısı

Carbopol® 940 ve kitozan kullanılarak emülsiyon polimerizasyon tekniği ile nanopartiküllerin elde edildiği çalışmada; Carbopol® 940 ile hazırlanan nanopartiküllerin negatif yüke sahip olduğu ve fizyolojik pH da stabil olduğu tesbit edilmiştir (122). Dolayısıyla mukozal alanlara uygulama açısından özellikle peptit ve proteinlerin uygulanmasında umut verici bir çalışma olduğu vurgulanmıştır.

Ayrıca nazal uygulanmak üzere çözücü buharlaştırma tekniği ile Carbopol® 934P tan hazırlanmış mikroküreler üzerinde yapılan çalışmalar da literatürde kayıtlıdır (123). Bu çalışmada Carbopol® 934P dışında kitozan, hidroksipropil metilselüloz ve polivinil alkol ile hazırlanmış mikroküreler de kullanılmıştır. Yapılan mukoadesyon çalışmasında Carbopol® 934P ile hazırlanmış olan mikrokürelerin adeziv özelliğinin diğer mikrokürelere oranla yüksek olduğu saptanmıştır.

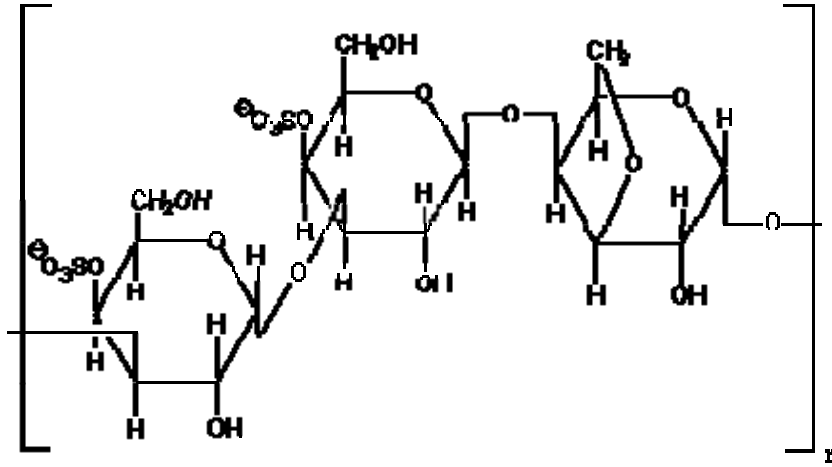
Levonorgestrelin biyoyararlanımını ve salım süresini uzatmak amacıyla Carbopol® 934P ve kitozan polimeri kullanılarak sıçanlar üzerinde nazal uygulamalar yapılmıştır (124). Sonuç olarak, bu mukoadesif ajanların biyoyararlanımı arttırdığı ve ilacın plazma yarılanma ömrünü uzattığı görülmüştür.

Tavşan nazal mukozası kullanılarak gerçekleştirilen bir çalışmada, insülinin biyoadeziv polimerler ve yüzey etken maddeler kullanılarak nazal dozaj şekilleri hazırlanmış ve biyoyararlanımları karşılaştırılmıştır (125). Biyoadeziv polimerlerden Carbopol® 934, Carbopol® 941 ve bir safra tuzu olan sodyum glikolat ile birlikte insülinin nazal absorpsiyonunu artırıcı olarak kullanılmıştır. Bu çalışmada biyoadeziv polimer içeren formülasyonların biyoyararlanımının yüzey etken madde içerenlere göre daha üstün olduğu bildirilmiştir.

2.3.1.2. Karragen

Karragen deniz yosunlarından elde edilen bir doğal polimerdir. İota, kappa, lambda olmak üzere üç tip karragen vardır. Kapa karragenin kimyasal yapısı Şekil 2.3'te verilmiştir (126).

Karragen anyoniktir ve sulu dispersiyonlarının pH sı 3-10 arasında olduğu zaman stabildir (127, 128). pH 9 da maksimum stabilite göstermektedir (129).



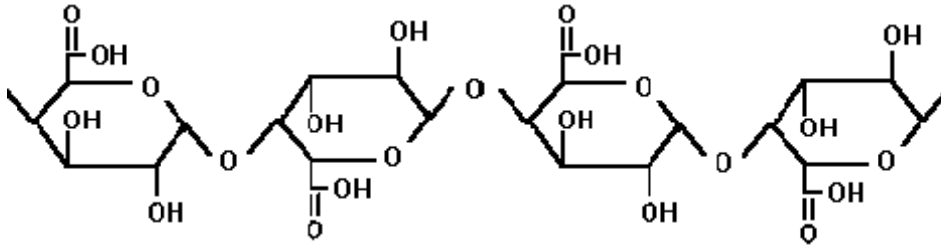
Şekil 2.3: Kappa karragenin kimyasal yapısı

Karragen nazal insert hazırlanmasında biyoadezif polimer olarak kullanılmış ve burun mukozasına temas edince jelleştiği ve ilacı uzun sürede saldığı tespit edilmiştir (115, 117).

2.3.1.3. Pektin

Pektin elma posası ve narenciye meyvelerinin kabuklarından ekstraksiyonla elde edilen ve farmasötik teknolojide giderek artan oranda araştırmalara konu olan doğal bir polisakkarittir (130). Pektinin kimyasal yapısı Şekil 2.4'te verilmiştir.

20 kısım suda tamamen çözünerek viskoz, kolloidal bir çözelti oluşturur, bu çözelti asidik özellikte ve negatif yüklüdür (131). Pektin alkali maddeler, ağır metaller, salisilik asit ve alkolle ile geçimsizdir (132).



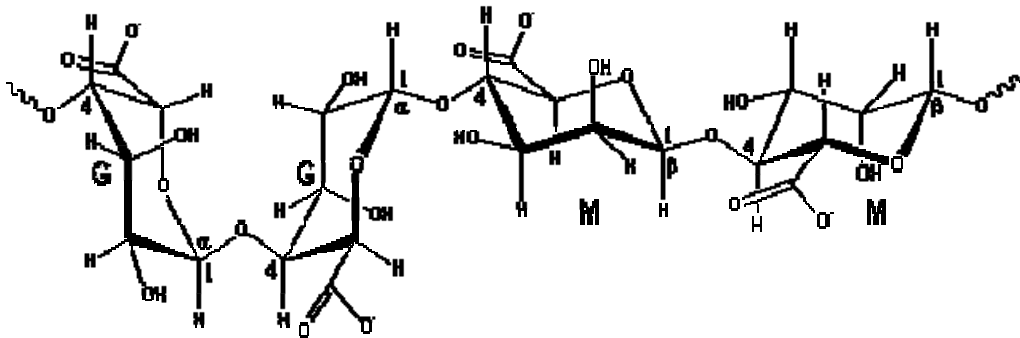
Şekil 2.4: Pektinin kimyasal yapısı

Oechslein ve ark. (133) tarafından somastostatin analogu olan okreotitin nazal absorpsiyonunu arttırmak için polimer içeren çeşitli toz formülasyonları hazırlanmıştır. Bunun maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşma süresi çapraz bağlı dekstran ve pektin kullanıldığında gecikmiştir.

Ayrıca pektinin Alzheimer ve Parkinson hastalığı tedavisi için geliştirilen jel, damla ve sprey şeklinde nazal çalışmalarda da kullanıldığı literatürlerde kayıtlıdır (134, 135).

2.3.1.4. Sodyum Aljinat

Aljinik asidin sodyum tuzudur, pratik olarak kokusuz bir tozudur. Suda yavaşça çözünür ve viskoz koloidal çözelti oluşturur. pH 3 ün altında çökmektedir. Ayrıca kalsiyum tuzları ve fenilmerkürü asetat gibi maddelerle geçimsizliği bulunmaktadır (1). Aljinik asit polimeri kimyasal olarak D-mannuronik asit ve L-glukronik asidin birleşmesi ile oluşmuştur (Şekil 2.5).

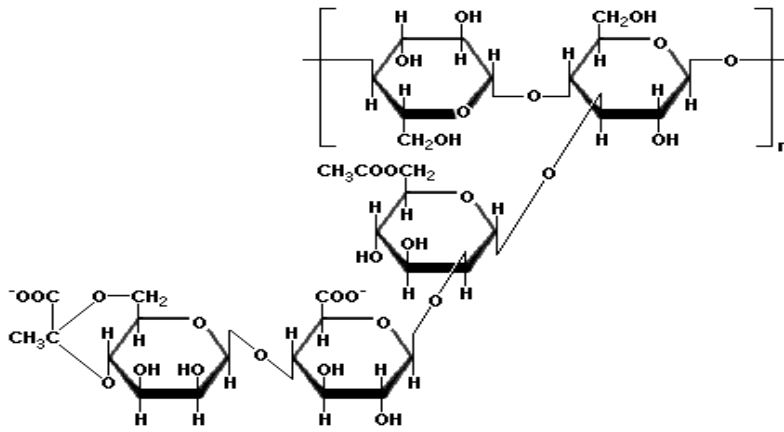


Şekil 2.5: Aljinik asidin kimyasal yapısı

Literatürde sodyum aljinat kullanılarak hazırlanan oksimetazolin HCl in nazal insert çalışması mevcuttur (117), sodyum aljinatın biyoadeziv özelliğinin iyi olması nedeniyle tercih edildiği bildirilmiştir.

2.3.1.5. Ksantan Zamkı

Xanthomonas campestris den fermentasyonla elde edilen, yüksek molekül ağırlığına sahip bir polisakkarit zamdır. Krem renkli, suda çözünen bir tozdur. Sudaki çözeltisi nötraldir (1). Kimyasal yapısı Şekil 2.6'da verilmiştir.



Şekil 2.6: Ksantan zamdının kimyasal yapısı

Ksantan zamdı ile suda çözünen nötral polimerlerden bazıları kullanılarak yapılan bir çalışmada hazırlanan toz formülasyonlar tavşanlara nazal olarak uygulanmış ve diğer kullanılan polimerlere oranla ksantan zamdının nazal yolda daha uzun süre kaldığı saptanmıştır (136).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

GEREÇ

1.Kullanılan Kimyasal Maddeler

Potasyum dihidrojen fosfat (Merck)

O-fosforik asit (Merck)

Aseronitril (Riedel-de Haën)

Metanol (Merck)

Polietilen glikol 400 (Merck)

Sodyum aljinat (A-2033, Sigma)

Carbopol® 940 (B. F. Goodrich)

Ksantan zamk1 (Jungbunzlauer, Austria AG)

Pektin (P-9135, Sigma)

Karragen (k-Karragen, C-1013, Sigma)

Sodyum klorür (Merck)

Disodyum hidrojen fosfat (Merck)

Sodyum fosfat monobazik dihidrat (Riedel-de Haën)

Verapamil HCl (Recordati, Industria Chimica e Farmaceutica)

Trietanolamin (Riedel-de Haen)

Kalsiyum klorür (Merck)

Potasyum klorür (Lachema)

2.Kullanılan Araç ve Gereçler

Modifiye Franz Difüzyon Hücresi (Çalışkan Cam)

Derin Dondurucu (Electrolux MRF 120/35)

Terazi (Mettler Toledo AT 261)

Terazi (Shimadzu, AEX-120 G)

Distile Su Cihazı (Kermanlar, RCA 3000)

Mikropipet (Eppendorf)

Hamilton pipet (Hamilton)

pH metre (Schott Gerade CG-809)

Ultrasonik Banyo (Bersonic)

Kumpas (Mitutoyo)

Viskozimetre (Brookfield DV II)

Texture Analyser (TA.XT.plus SMS)

Liyofilizatör (Lyovac GT 2-Leybold-Heraeus)

Membran filtre (AIM 0.45 µm)

Selofan Membran (Sigma/DIA, D-9777)

Kolon (ACE 5 C18)

HPLC cihazı (Waters)

Erime Derecesi Tayin Cihazı (Buchi 540)

Etüv (Mettler type: UE 600, Nüve EV 018)

Infrared Spektrofotometresi (Perkin Elmer, 1600 FT-IR Model No: 1615)

UV-VIS Spektrofotometresi (Shimadzu UV-Visible Spectrophotometer UV-1601)

Sirkülasyonlu Su Pompası (Colora Ultra-Thermostat K-1865)

3.Kullanılan Bilgisayar Programları

Microsoft Excel 2003

Microsoft Word 2003

GraphPad Prism 4.0

SPSS İstatistik Programı

YÖNTEM

3.1. Verapamil Üzerinde Yapılan Çalışmalar

3.1.1. Infrared Spektrumu

Verapamilin IR spektrumu, potasyum bromür diskleri hazırlanarak Perkin Elmer 1600 FT-IR Model No. 1615 cihazı ile alındı.

3.1.2. Erime Derecesi Tayini

Verapamilin erime derecesi kılcal tüp içinde erime derecesi tayin cihazı ile saptandı. Deney 3 kez tekrarlandı ve ortalama erime derecesi hesaplandı.

3.1.3. Miktar Tayini

Hazırlanan nazal formülasyonlarda verapamilin miktar tayini ve in vitro çözünme deneyleri ile salım çalışmalarında etkin madde analizi için literatürde kayıtlı (17) yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi kullanıldı.

Çalışmamızda internal standart olarak fluoksetin (17) ve imipramin (137) düşünüldü. Öncelikle bu iki maddenin UV spektrumlarına bakıldı, 280 nm de çalışılacağından ve verapamil ile internal standartın pik ayrımının net olması istendiğinden fluoksetin internal standart olarak tercih edildi.

Yapılan ön deneme çalışmalarında 0,05 M potasyum dihidrojen fosfat-asetonitril mobil fazı (70:30 (h/h)) kullanıldı. Fakat madde piklerinin alıkonma süreleri uzun olduğu için mobil faz sistemindeki oran (60:40 (h/h)) olarak optimize edildi.

Düşük konsantrasyonda çalışıldığı için ve madde piklerinin keskin olması istendiğinden dolayı AUFS (absorpsiyon unite tam skalası)=0,02 olarak ayarlandı. Çalışmamız için bu değer uygun bulundu.

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi yönteminde tampon sistemleri ile çalışıldığında aletin basıncında normalden fazla artış görülmektedir. Bu nedenle sıvı akış hızı 1,30 ml/dk ya ayarlandı ve basınç maksimum 1,5 psig ye ayarlandı tutuldu, böylece kolonun zarar görmesi engellendi.

Enjeksiyon hacmi ise 40 µl olarak belirlendi. Kolon olarak oktadesilsilan kolonu (ACE 5 C18) kullanıldı. 0,05 M potasyum dihidrojen fosfat çözeltisinin pH sı ortofosforik asit ile pH: 3,6 ya ayarlandı. Asetonitril ve sulu çözelti uygun membran filtreden (AIM 0.45 µm) süzülerek 0,05 M potasyum dihidrojen fosfat : asetonitril (60:40 (h/h)) oranında karıştırıldı ve 30 dakika süre ile ultrasonik banyoda degaze edildi.

HPLC kromatogramlarının değerlendirilmesinde etkin madde ve internal standartın pik alanları veya pik yükseklik oranları kullanılmaktadır. Değerlendirmede pik alanları oranları tercih edildi. Yöntemin güvenilirliğini saptamak üzere analitik yöntem validasyon çalışması yapıldı.

3.1.3.1. Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

Analitik yöntem validasyonu, bir test yönteminin kesin ve doğru bir şekilde sürekli olarak bekleneni gerçekleştirildiğinin kanıtlanmasıdır (138). Kullanılan analitik yöntemin validasyonu için, doğrusallık (linearity), kesinlik (precision), doğruluk (accuracy), seçicilik (specificity), teşhis limiti (detection limit), miktar tayini limiti (quantitation limit) ve stabilite (stability) parametreleri literatüre göre çalışıldı (138).

3.1.3.1.1. Doğrusallık

Bir analitik yöntemin doğrusallığı, elde edilen bulguların örnek çözeltisi içindeki madde konsantrasyonu ile belli bir aralıkta olmasıdır (138). Miktar tayini yönteminin doğrusallığı için 10 mg verapamil HCl hassas tartıldı, 5 ml metanol ilave edilerek 2 dk ultrasonik banyoda karıştırıldı. Daha sonra hacmi metanolla 10 ml ye tamamlandı. 1000 µg/ml konsantrasyondaki bu stok çözeltiden 10, 30, 50, 70, 90 µl alındı ve mobil faz ile 10 ml ye seyreltilti. İnternal standartın hazırlanmasında ise 50 mg fluoksetin hassas tartıldı, 5 ml metanol ilave edilerek 2 dk ultrasonik banyoda karıştırıldıktan sonra metanol ile 10 ml ye tamamlandı. Bu çözeltilerden 1 ml stok çözeltisi ependorf tüplerine alındı ve üzerine 50 µl (250 µg/ml) fluoksetin internal standartı ilave edilerek karıştırıldı, bu karışımdan 40 µl HPLC kolonuna enjekte edildi.

Sonuç olarak 5 farklı konsantrasyonda (1, 3, 5, 7, 9 µg/ml) hazırlanan çözeltiler ve internal standardın pik alanları birbirine oranlanarak kaydedildi. Konsantrasyonlara

karşı gelen pik alan oranları hesaplanarak standart eğri çizildi. Regresyon denklemi belirlendi ve determinasyon katsayısı (r^2), standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (%RSD) değerleri hesaplandı. Hesaplamalarda 3 enjeksiyon ile elde edilen pik alanlarının ortalaması kullanıldı.

3.1.3.1.2. Kesinlik

Bir analitik yöntemin kesinliği, belirli çalışma koşullarında hazırlanan aynı örnek çözeltisinden birden fazla seyreltme ile elde edilen bir serinin ölçümleri arasındaki uyumun yakınlığını ifade eder (138). SD veya % RSD değerleri ile ifade edilir. Yöntemin kesinliği için RSD değeri % 2 den küçük olmalıdır.

Yöntem 3.1.3.1.1. de belirtilen konsantrasyonda stok çözelti hazırlandı ve aşağıda belirtildiği şekilde çalışıldı.

Gün içi kesinlik: Üç farklı konsantrasyonda (3, 5, 7 µg/ml) verapamil HCl in mobil faz ile tamamlanmış çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan her bir konsantrasyon için çözeltilerden 1 ml ependorf tüplerine alındı üzerine 50 µl (250 µg/ml) fluoksetin ilave edildi ve vorteks ile karıştırıldıktan sonra 40 µl alınarak HPLC kolonuna uygulandı. Konsantrasyon hesaplanmasında 3 enjeksiyon sonucu elde edilen pik alanları oranının ortalaması kullanıldı. Doğru denklemi kullanılarak verapamil HCl in miktarı hesaplandı ve sonuçların ortalamaları alındı, SD ve % RSD değerleri hesaplandı.

Günler arası kesinlik: Bir gün içinde yapılan kesinlik çalışmaları 2. ve 3. günlerde de tekrarlandı. Üç gün boyunca elde edilen sonuçların ortalamaları alındı, SD ve % RSD değerleri hesaplandı.

3.1.3.1.3. Doğruluk

Kullanılan analitik yöntemin doğruluğunu saptamak için, 10 mg verapamil HCl 5 ml metanol ile çözündürüldü ve balon jojede 10 ml ye tamamlandı. Bu çözeltiden üç farklı konsantrasyonda olacak şekilde örnekler (2,5 ml, 4,0 ml, 6,0 ml) alındı ve 10 ml ye mobil faz ile tamamlandı. Bu üç farklı çözeltiden ependorf tüplerine 10 ar µl alındı ve 50 µl (250 µg/ml) internal standart (fluoksetin) ilave edildi, karıştırıldı ve bu karışımlardan 40 µl HPLC kolonuna enjekte edildi. Elde edilen pik alanlarından

yöntem 3.1.3.1.1. de belirtildiği gibi çalışılarak doğru denklemi yardımıyla çözeltilerdeki verapamil HCl konsantrasyonu hesaplandı. Yöntemin doğruluğu geri kazanma değerleri hesaplanarak saptandı.

3.1.3.1.4. Seçicilik

Nazal formülasyonda kullanılan yardımcı maddeler için miktar tayini yönteminin seçiciliğini saptamak amacıyla, etkin madde içermeyen jeller hazırlandı. Yöntem 3.1.3.1.3. deki gibi çalışılarak hazırlanan çözeltilerden 40 µl HPLC kolonuna enjekte edildi. İnternal standart dışında yardımcı maddelerin pik verip vermediği saptandı.

3.1.3.1.5. Teşhis Limiti ve Miktar Tayini Limiti

Teşhis limiti (TL) tayini için, kalibrasyon doğrusunun eğimi veya keşişim noktasının (en az 3 doğruya ait) standart sapmaları (σ) kullanılır (138). Bu amaçla, hesaplanan 3 adet kalibrasyon doğrusunun eğimlerine ait σ değerleri aşağıdaki formüllere yerleştirildi (3-1, 3-2) ve TL, miktar tayini limiti (MTL) hesabı yapıldı.

$$TL = \frac{3.3\sigma}{S} \quad (3-1) \quad MTL = \frac{10\sigma}{S} \quad (3-2)$$

S = Ortalama kalibrasyon doğrusu eğimi

σ = Kalibrasyon doğrusunun eğimine ait SD değerleri

3.1.3.1.6. Stabilité

İn vitro salım çalışmaları süresince etkin maddenin 24 saat dayanıklı kaldığından emin olmak için stabilité testi yapılmıştır. Bu amaçla hassas tartılan 10 mg verapamil HCl metanol ile çözündürüldü ve balon jojede 10 ml ye tamamlandı. Gerekli seyreltmeler mobil faz ile yapılarak verapamil çözeltisi yöntem 3.1.3.1.1 de belirtildiği şekilde çalışılarak 1., 2., 4., 6. ve 24. saatlerde HPLC kolonuna enjekte edildi. Elde edilen pik alanlarının oranları kullanılarak verapamil konsantrasyonunda değişiklik olup olmadığı ve farklı bir pik oluşup oluşmadığı saptandı.

3.1.4. Verapamil HCl in Çözünürlük Tayini

Verapamil HCl ile hazırlanan nazal formülasyonlar üzerinde yapılan in vitro geçiş çalışmalarında reseptör faz olarak 0,2 M pH 7,4 fosfat tamponu kullanılması planlandığından dolayı, ilacın bu ortamda sink koşulu (sonsuz seyrelme) sağladığını kontrol etmek için pH 7,4 fosfat tamponunda çözünürlük çalışması aşağıda anlatıldığı gibi yapıldı.

500 mg verapamil HCl hassas olarak tartıldı ve kapaklı erlene alındı. Üzerine 15 ml pH 7,4 fosfat tamponu ilave edildi ve 37°C de 300 devir/dk da 24 saat çalkalandı. 24 saat sonunda alınan örnek mavi bantlı süzgeç kağıdından (S&S) süzüldü. Daha sonra süzüntüden 1 µl alınarak 10 ml ye mobil faz ile tamamlandı ve 1 ml ependorf tüpüne alındı, üzerine 50 µl (250 µg/ml) internal standart ilave edilerek karıştırıldı. Bu çözeltiden 40 µl alınarak HPLC kolonuna enjekte edildi. Doğru denklemi kullanılarak çözünen verapamil HCl miktarı hesaplandı. Deney 3 defa tekrarlandı, ortalama değer ve standart sapma hesaplandı.

3.2. Nazal Formülasyonların Hazırlanması Üzerinde Yapılan Çalışmalar

3.2.1. Ön Formülasyon Çalışmaları

Ön formülasyon çalışmaları, etkin madde içermeyen nazal jeller üzerinde yapılmıştır. Etkin madde içermeyen jeller, kullanılacak olan polimerlerin farklı konsantrasyonlarının distile suda şişirilmesiyle hazırlandı.

3.2.1.1. Polimer Konsantrasyonlarının Saptanması

Bu amaçla, etkin madde içermeyen nazal jellerin hazırlanmasında biyoadeziv polimerlerin (Carbopol® 940, k-karragen, ksantan zımkı, sodyum aljinat ve pektin) konsantrasyonları literatür verilerine dayanarak (117, 139, 140) belirli konsantrasyon aralıklarında denendi (Tablo 3.1).

Hazırlanan jeller üzerinde literatüre dayalı olarak görsel inceleme yapıldı ve liyofilizasyon ile kurutma sonrası fiziksel parametreler dikkate alınarak ve literatür bilgileri (141) kullanılarak denenen polimerlerin konsantrasyonları optimize edilmeye çalışıldı.

Tablo 3.1: Ön formülasyon çalışmalarında denenen polimerler ve konsantrasyonları

Polimerler	Konsantrasyon (%, a/a)				
Carbopol® 940	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0
k-Karragen	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5
Ksantan zamkı	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0
Sodyum aljinat	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5
Pektin	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5

3.2.1.2. Jel Oluşturma Süresinin Saptanması

Seçilen polimerlerden hazırlanan jellerin homojen olarak hazırlanması için uygun bekletme süresi tayin edildi. Bu amaçla hazırlanan jeller oda sıcaklığında 6, 12, 24 ve 48 saat süre ile bekletildi. Bu bekletme süreleri sonunda jellerin akışkanlığı ve homojenliği görsel olarak incelendi.

3.2.1.3. Hazırlanan Jellerin Mekanik Özelliklerinin Tayini

Bu deneyler Tablo 3.1’de yer alan konsantrasyonlardaki jellerin fiziksel parametrelerinin görsel incelenmesi sonucunda seçilen konsantrasyonlarda hazırlanan jeller üzerinde yapıldı. Mekanik özellikleri tayin edilen jellerin konsantrasyonları Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2: Mekanik özellikleri tayin edilen jellerin konsantrasyonu

Polimerler	Konsantrasyon (%, a/a)	
Carbopol® 940	1,0	1,5
k-Karragen	3,0	
Ksantan zamkı	2,0	2,5
Pektin	3,5	
Sodyum aljinat	4,5	

Seçilen konsantrasyonlardaki jellerin mekanik özellikleri, aşağıda test parametreleri verilen TA-XT Plus Texture analiz cihazı (şekil 3.1) ile TPA (Texture Profile Analysis) modunda çalışılarak saptandı.



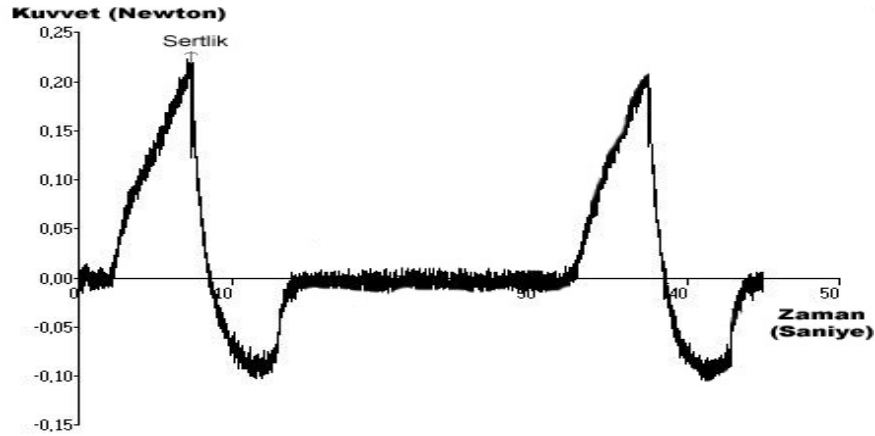
şekil 3.1: Texture analiz cihazı

Test Parametreleri:

Prob	: P10perspex
Test ncesi probun hızı	: 2,0 mm/saniye
Test esnasında probun hızı	: 2,0 mm/saniye
Test sonrası probun hızı	: 2,0 mm/saniye
Hedef modu	: Mesafe
Probun jele batma mesafesi	: 15,0 mm
Probun ikinci batmadan önce bekleme süresi	: 15,0 saniye
Teste başlamak için probun hissetmesi gereken kuvvet	: 0,01 Newton

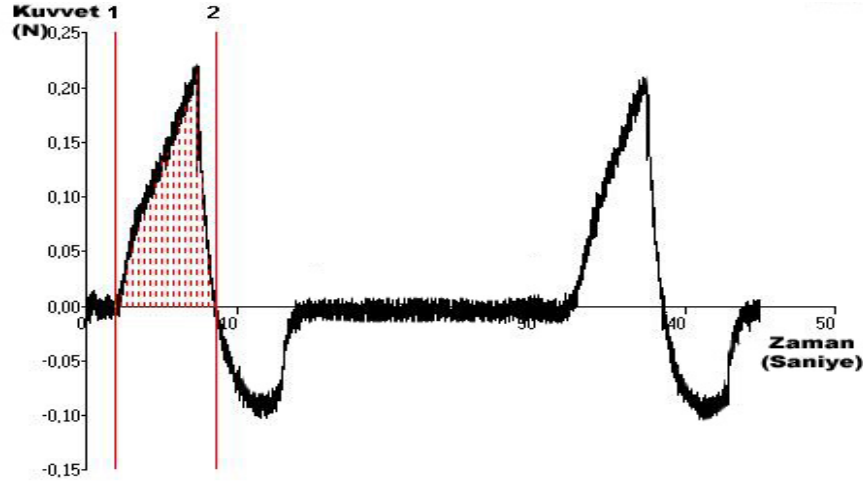
Teste başlamadan önce jeller 50 ml lik beherlere yerleştirildi ve hava kabarcıklarını uzaklaştırmak amacıyla 20 dk ultrasonik su banyosunda bekletildi. Jeller $37\pm0.5^{\circ}\text{C}$ ye getirildikten sonra cihazın probu jelin içine 2,0 mm/saniye hız ile 15 mm batırıldı ve jelin yüzeyine geri çekildi, 15 saniye beklendikten sonra prob jele ikinci defa batırıldı ve geri çekilerek test bitirildi. Elde edilen güç-zaman eğrisi kullanılarak jellerin sertliği, sıkıştırılabilirliği, adezifliği, kohezifliği ve elastikiyeti hesaplandı. Test, her jel formülasyonu için 3 defa tekrarlandı ve standart sapmaları hesaplandı.

Jellerin sertliği: Sertlik, jelin deformasyonunu sağlamak için gerekli olan kuvveti tanımlamaktadır (142). Yukarıda anlatıldığı gibi çalışılarak elde edilen güç-zaman eğrisinden jellerin sertliği hesaplandı. Şekil 3.2’de görüldüğü gibi, probun birinci batma periyodunda elde edilen en yüksek güç değeri jellerin deformasyonu için gerekli sertlik değerini (Newton, N) vermektedir.



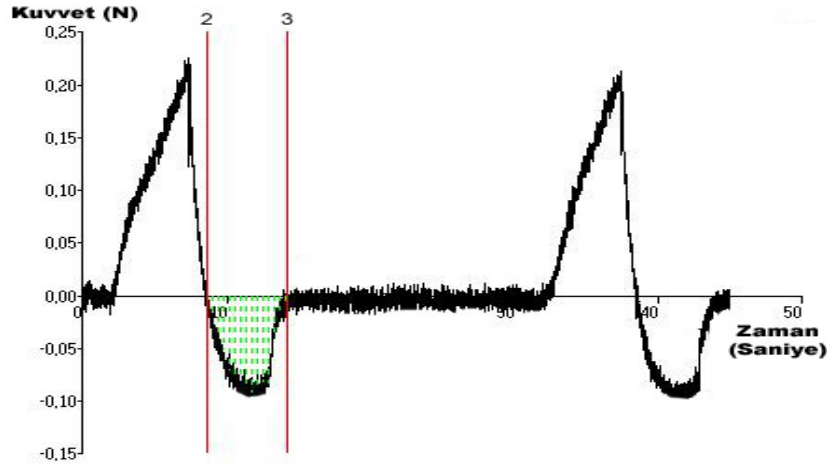
Şekil 3.2: Jellerin sertliğine ait kuvvet-zaman eğrisi

Jellerin sıkıştırılabilirliği: Sıkıştırılabilirlik, jeli deforme etmek için gerekli olan işi tanımlamaktadır (142). Yukarıda anlatıldığı gibi çalışılarak elde edilen, güç-zaman eğrisinden jellerin sıkıştırılabilirliği hesaplandı. Şekil 3.3’de görüldüğü gibi, probun jele birinci batma periyodu süresince elde edilen eğrinin altında kalan alan (AUC_{1-2}) jelin sıkıştırılabilirlik değerini (Newton x mm) vermektedir.



Şekil 3.3: Jellerin sıkıştırılabilirliğine ait kuvvet-zaman eğrisi

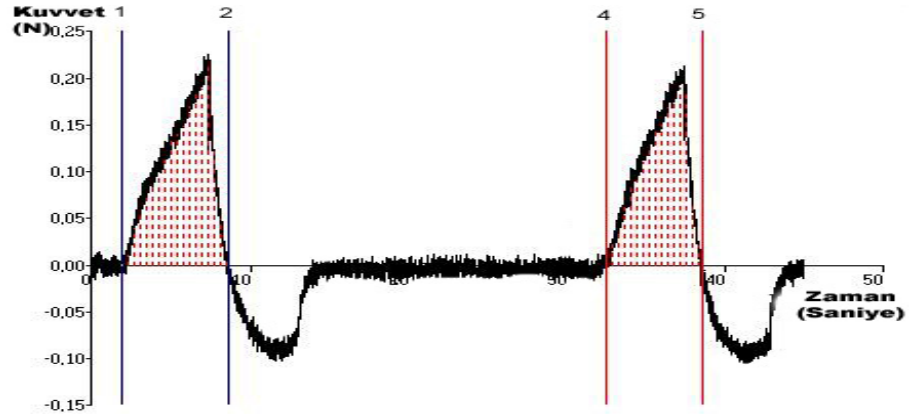
Jellerin adezifliği: Adeziflik, jelin yüzeyi ile probun yüzeyi arasındaki çekme kuvvetlerini yenmek için gerekli işi tanımlamaktadır (142). Yukarıda anlatıldığı gibi çalışılarak, elde edilen güç-zaman eğrisinden jellerin adezifliği hesaplandı. Şekil 3.4'te görüldüğü gibi, probun birinci batma periyodundan sonra ilk geri çekme periyodu süresince elde edilen eğrinin altında kalan alan (AUC_{2-3}) adeziflik değerini (Newton x mm) vermektedir.



Şekil 3.4: Jellerin adezifliğine ait kuvvet-zaman eğrisi

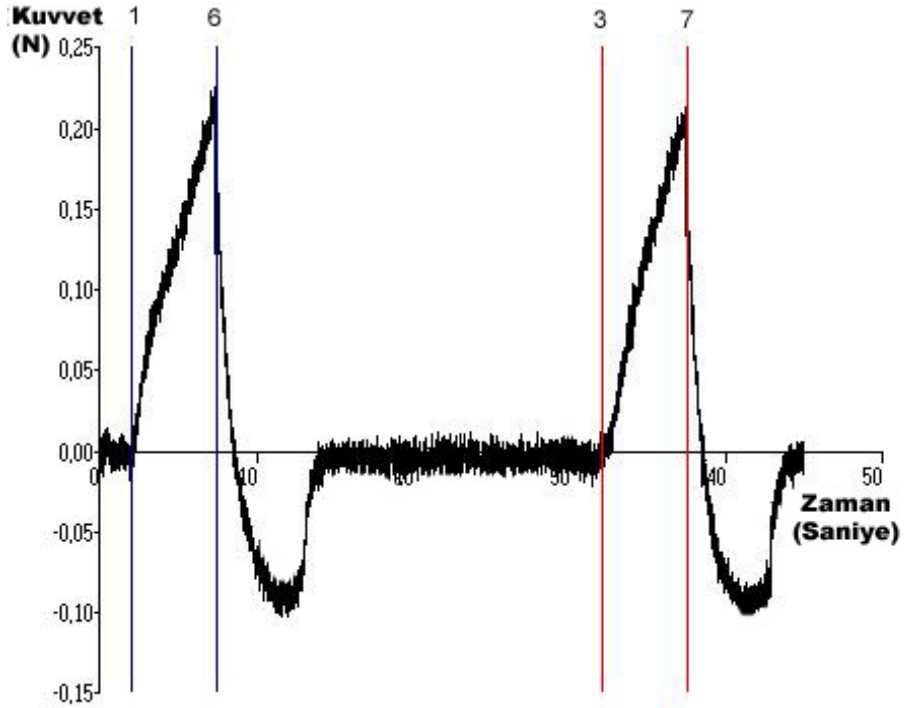
Jellerin kohezifliği: Yukarıda anlatıldığı gibi çalışılarak, elde edilen kuvvet-zaman eğrisinden jellerin kohezifliği hesaplandı. Şekil 3.5'te görüldüğü gibi, ikinci batma periyodunda elde edilen eğrinin altında kalan alanın (AUC_{4-5}), birinci batma

periyodunda elde edilen eğri altında kalan alana (AUC_{1-2}) oranı koheziflik değerini vermektedir (142). Koheziflik değerinin birimi yoktur.



Şekil 3.5: Jellerin kohezifliğine ait kuvvet-zaman eğrisi

Jellerin elastikiyeti: Yukarıda anlatıldığı gibi çalışılarak, elde edilen kuvvet-zaman eğrisinden jellerin elastikiyeti hesaplandı. Şekil 3.6'da görüldüğü gibi, ikinci batma periyodunda en yüksek yapısal deformasyon meydana getirmek için gerekli zamanın ($Zaman_{1-6}$), birinci batma periyodundaki en yüksek deformasyonu meydana getirmek için gerekli zamana ($Zaman_{2-7}$) oranı, jellerin elastikiyetini göstermektedir (142). Elastikiyet değerinin birimi yoktur.



Şekil 3.6 Jellerin elastikiyetine ait kuvvet-zaman eğrisi

3.2.1.4. İnsertlerin Hazırlanması İçin Ön Formülasyon Çalışmaları

Etkin madde içermeyen ve mekanik özelliklerinin incelenmesiyle konsantrasyonları saptanmış olan polimerler (%1,5 Carbopol® 940 , %3 k-karragen, %2,5 ksantan zamkı, %4,5 sodyum aljinat) ile hazırlanan jellerden her bir blister kuyucuğuna 0,150 g olacak şekilde tartılarak aktarıldı. İnsertler için uygun dondurma süresi için blisterlere dökülen jeller -35°C de derin dondurucuda farklı süreler (12 ve 24 saat) ile bekletildi. Liyofilizasyon işleminde insertlerin kurutma zamanının tayini için farklı süre bekletilerek (6 ve 12 saat) liyofilizatörde tutuldu.

3.2.2. Verapamil İçeren Nazal Formülasyonların Hazırlanması

3.2.2.1. Verapamil İçeren Nazal Jellerin Hazırlanması

Ön formülasyon çalışmaları sonucunda seçilen polimerler ile (Carbopol® 940, ksantan zamkı, sodyum aljinat, k-karragen) etkin madde içeren nazal jeller hazırlandı. Hazırlanan jellerin formülasyonları Tablo 3.3'te ve hazırlama metodu ise aşağıda verilmiştir.

Polimerlerin şişirilmesi için suyun 2/3 ü tartılarak beherlere aktarıldı. Tablo 3.3'te belirtildiği miktarlarda polimerler tartılarak azar azar suya ilave edildi ve baget yardımıyla polimerlerin süspande olması sağlandı. Bu şekilde ağızları parafilm ile kapatılarak 24 saat şişmesi için bekletildi. Carbopol® 940 ın şişmesi pH ya bağımlı olduğu için, Carbopol® 940 suda şişirildikten sonra trietanolamin-su ((50:50) (h/h)) çözeltisi ile pH 6,5 e ayarlandı. Daha sonra hesaplanan miktarlardaki verapamil HCl tartılarak beherde suyun geri kalan kısmında, ultrasonik banyoda 45 dk tutularak çözündürüldü ve etkin madde içeren çözelti, jel formülasyonları üzerine ilave edilerek homojen oluncaya kadar karıştırıldı.

Tablo 3.3: Verapamil HCl içeren nazal jellerin kodları ve içerikleri

Formülasyon Kodu	F1	F2	F3	F4	F5
Verapamil HCl	3	3	3	3	3
Carbopol® 940	1,5	-	-	-	-
Ksantan Zamkı	-	2,5	-	-	-
Sodyum Aljinat	-	-	4,5	4,5	-
k-Karragen	-	-	-	-	3
Polietilen glikol (PEG) 400	-	-	-	10	-
Distile Su	95,5	94,5	92,5	82,5	94,0
Trietanolamin:su ((50:50) h/h))*	km.	-	-	-	-

*20 g için 600 µl kullanılmıştır.

3.2.2.1.1. Hazırlanan Jellerin Viskozitelerinin Tayini

Tablo 3.3'te belirtilen miktarlarla ve yöntem 2.2.1. de belirtildiği şekilde hazırlanan jellerden seçilen formülasyonlar üzerinde yapıldı. Hazırlanan jeller hava kabarcıkları içermemesi için ultrasonik banyoda 30 dk bekletildi. Jellerin ölçümü Brookfield vizkozimetri ile Helipath serisi kullanılarak 60 rpm de RV-5 probu ile yapıldı. Deney her formülasyon için 3 kez tekrarlandı, ortalamaları ve SD değerleri hesaplandı.

3.2.2.2. Verapamil İçeren Nazal İnsertlerin Hazırlanması

Etkin madde içeren nazal jellerin hazırlanması sonucunda verapamil ile geçimli olan polimer (sodyum aljinat) kullanılarak insertler (F3_{INS} ve F4_{INS}) hazırlandı. Kullanılan polimer, etkin madde miktarı ve formülasyon kodları Tablo 3.4'te verilmiştir. İnsertler aşağıda belirtildiği gibi hazırlandı.

Verapamil HCl (%10, a/a) tartılarak behere alındı ve üzerine suyun tamamı ilave edilerek 45 dk ultrasonik banyoda çözündürüldü. Daha sonra Tablo 3.4'te belirtilen miktardaki polimer tartılarak etkin madde çözeltisine ilave edildi ve beherlerin üzeri parafilm ile kapatılarak 24 saat bekletildi. F4_{INS} formülasyonunda ise 24 saat beklendikten sonra PEG 400 ilave edildi ve homojen olana kadar karıştırıldı. Daha sonra insertlere şekil vermek amacıyla hazırlanan formülasyonlar blisterlere 0,150 g olacak şekilde dökülerek -35°C derin dondurucuda 24 saat bekletildi, daha sonra 12 saat liyofilizatörde liyofilize edildi. Hazırlanan insertler kullanılma anına kadar desikatörde bekletildi.

Tablo 3.4: Verapamil HCl içeren nazal insertlerin kod ve içerikleri

Formülasyon Kodu	Verapamil HCl (%)	Sodyum Aljinat (%)	PEG 400 (%)	Distile Su (%)
F3 _{INS}	10	4,5	-	85,5
F4 _{INS}	10	4,5	10	75,5

3.2.3. Hazırlanan İnsertler Üzerinde Yapılan Çalışmalar

3.2.3.1. Görsel İnceleme

Hazırlanan insertlerin genel görünüş ve yapısı, homojenite ve renk gibi fiziksel özellikleri literatürde belirtilen (117) kriterler dikkate alınarak incelendi.

3.2.3.2. Kalınlık Kontrolü

Hazırlanan insertlerin kalınlıkları kumpas ile ölçüldü. Ölçüm her formülasyon için on farklı insert üzerinde yapıldı ve ortalamaları alınarak standart sapma değerleri hesaplandı.

3.2.3.3. Ağırlık Kontrolü

Hazırlanan insertlerden her formülasyon için on farklı tartım alındı. Ağırlık değerlerinin ortalamaları alınarak standart sapma değerleri hesaplandı.

3.2.3.4. Su Absorplama Kapasitesinin Ölçülmesi

Tablo 3.4'te belirtilen miktarlarda ve yöntem 3.2.2.2. de anlatıldığı şekilde hazırlanan insertlerin su absorplama kapasitesi literatüre göre çalışılarak tayin edildi (117).

(3x5x3 cm) boyutundaki sünger pH 7,4 fosfat tamponuyla iyice ıslatıldı ve bir petri kutusu içine yerleştirildi. Süngerin sürekli ıslak kalması istendiğinden petri kutusu içine yaklaşık 1 cm yüksekliğinde pH 7,4 fosfat tamponu ilave edildi. Süngerin üst kısmına uygun boyutta süzgeç kağıdı yerleştirildi. Süzgeç kağıdı da önceden tampon ile iyice ıslatıldı, sistemin dengeye gelmesi için 15 dk bekletildi ve süzgeç kağıdının saat camı üzerinde tartımı alınıp kaydedildi. Su absorplama kapasitesi tayin edilecek insertin de deney öncesi tartımı alınıp kaydedildi. Ağırlığı saptanmış olan insert süzgeç kağıdının üzerine yerleştirildi. Sistemin hava almaması için bir cam fanus, sistem üzerine kapatıldı. Her yarım saatte bir insertlerin ağırlığı tartılarak kaydedildi. Saptanan ağırlık değerlerinden insertlerin deney öncesi ağırlıkları çıkartılarak ağırlık artışları ve dolayısıyla insertlerin su absorplama kapasiteleri hesaplandı. Deney her formülasyon için üç farklı insert üzerinde yapıldı ve standart sapma değerleri hesaplandı.

3.2.3.5. Biyoadezyon Kuvvetinin Tayini

F3_{INS} ve F4_{INS} formülasyonlarının nazal mukozaya yapışabilme kabiliyetinin ölçülmesi için TA-XT2 model Texture analiz cihazı kullanıldı.

Biyoadezyon kuvvetinin tayini için formülasyon çift yönlü bant ile analiz cihazının probuna yapıştırıldı. Selüloz asetat membran filtre (0,22 µm, Millipore) sistemin alt kısmına yerleştirildi. Üzerine 150 µl %10 luk gastrik musin (Tip 3) ilave edildi. Bu sistemin hazırlanması için ise nazal sıvıyı taklit eden pH sı 6,3 olan çözelti hazırlandı (143). (8,77g NaCl, 2,98g KCl ve 0,59g CaCl₂ distile su ile 1 litreye tamamlandı). Test parametreleri ise aşağıdaki gibi ayarlandı.

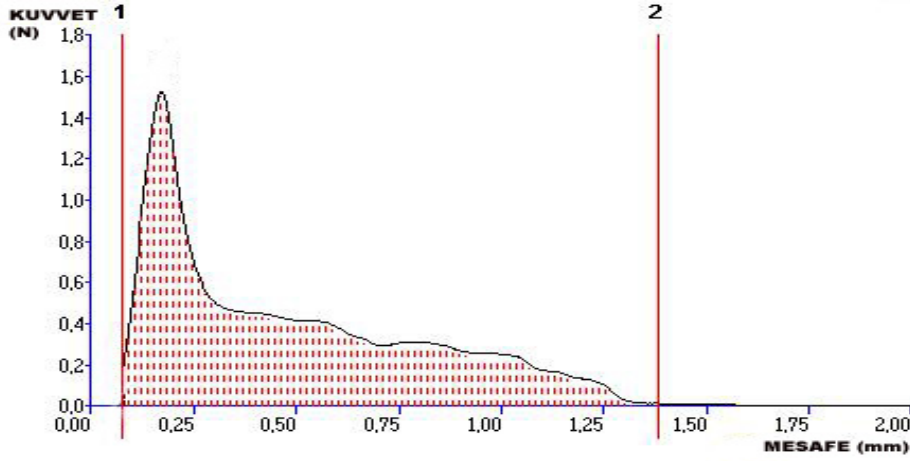
Prob	: P10perspex
Test öncesi probun hızı	: 3,0 mm/saniye
Test esnasında probun hızı	: 3,0 mm/saniye
Test sonrası probun hızı	: 3,0 mm/saniye
Uygulanan kuvvet	: 3,0 N
Hedef modu	: Mesafe
Probun batma mesafesi	: 20 mm
Probun batmadan esnasında bekleme süresi	: 180 saniye
Teste başlamak için probun hissetmesi gereken kuvvet	: 0,05 Newton

Test 37°C de gerçekleştirildi. Prop membran yüzeyine 3 mm/saniye hız ile batırıldı ve 3 N luk kuvvet uygulandı, 3 dakika temas süresi sağlanarak prop membran yüzeyinden aynı hız ile uzaklaştırıldı ve formülasyona ait biyoadezyon kuvveti hesaplandı. Test her bir formülasyon için 3 defa tekrarlandı, değerlerin ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı.

Kuvvet-mesafe eğrisinin altında kalan (AUC) alan biyoadezyon işini vermektedir. 1 cm² ye düşen biyoadezyon işini hesaplamak için ise aşağıdaki formül kullanıldı (3-3).

$$\text{Biyodezyon işi (mJ/cm}^2\text{)} = \frac{\text{AUC}}{\pi.r^2} \quad (3-3)$$

$\pi.r^2$ = Mukoza ile temas eden formülasyonun alanı



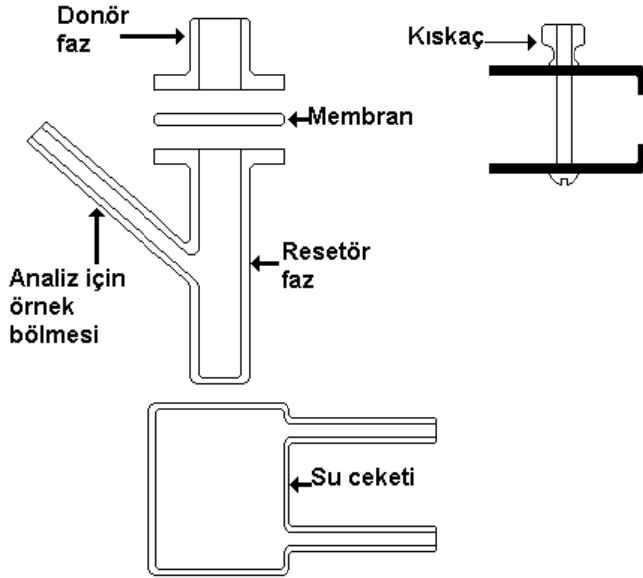
Şekil 3.7: Biyoadezyon kuvvetinin tayinine ait kuvvet-zaman grafiği

3.2.4. İn Vitro Salım Çalışmaları

3.2.4.1. Nazal Jel Formülasyonlarından İn Vitro Salım Çalışması

Verapamil HCl içeren nazal jellerden (F3 ve F4 kodlu formülasyonlar) verapamil HCl salımının tesbiti için in vitro geçiş çalışmaları yapıldı. Çalışmada membran olarak selofan membran (Sigma/DIA, D-9777) kullanıldı. Selofan membran kullanılmadan önce bir gece süreyle distile suda bekletildi.

İn vitro geçiş çalışmalarında; reseptör faz hacmi 33,2 ml, difüzyonun gerçekleştiği yüzey alanı 3,14 cm² olan çift ceketli modifiye Franz difüzyon hücresi (144) kullanıldı. Modifiye Franz difüzyon hücresinin şematik görünüşü aşağıda verilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8: Modifiye Franz difüzyon hücre yapısı

Reseptör faz olarak nazal çalışmalarda tercih edilen pH 7,4 fosfat tamponu kullanıldı (116). Reseptör faz yerleştirilmeden önce 30 dk ultrasonik banyoda bekletildi ve sıcaklığı $37.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ye ayarlandı. Hücrelerin yüzeyine uygun boyutta kesilmiş ve önceden distile suda bir gece bekletilmiş selofan membranlar hava kabarcığı meydana gelmeyecek şekilde yerleştirildi. Hazırlanan nazal jellerden 0,5 g tartılarak membran üzerine temas ettirildi. Formülasyonların kurumasını önlemek için hücrelerin üstü cam tüp ile kapatıldı. Reseptör faz manyetik karıştırıcı kullanılarak 300 devir/dk hızda karıştırıldı. Belirlenen sürelerde (0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 24. saat) reseptör fazdan 0,25 ml örnek alındı. Reseptör fazın hacminin azalmaması için aynı sıcaklık ve aynı hacimdeki çözücü hücreye ilave edildi.

Modifiye Franz hücresinden alınan örneklerden 50 μl alınarak mobil faz ile 500 μl ye tamamlandı. Bu çözeltiye 25 μl internal standart ilave edilerek karıştırıldı. Daha sonra bu çözeltiden 40 μl alınarak HPLC kolonuna enjekte edildi. Elde edilen pik alanlarının orantılanmasıyla elde edilen sonuçlardan standart eğri yardımıyla konsantrasyon hesabı yapıldı. Her formülasyon için 3 deney yapılarak elde edilen değerlerin ortalaması alındı ve SD değerleri hesaplandı. Ayrıca 24 saat süresince salınan verapamil HCl miktarları zamana karşı grafiğe geçirildi.

3.2.4.2. Nazal İnsertlerden İn Vitro Salım Çalışmaları

0,150 g olarak liyofilizasyonla hazırlanan insertler (F3_{INS} ve F4_{INS} formülasyonları) Franz hücresinin donör fazına yerleştirildi ve yöntem 3.2.4.1. de anlatıldığı gibi çalışılarak bu formülasyonlardan da verapamil HCl in in vitro salım çalışmaları yapıldı. Her formülasyon için 3 deney yapılarak elde edilen değerlerin ortalaması alındı ve SD değerleri hesaplandı. Ayrıca 24 saat süresince verapamil HCl salım miktarları zamana karşı grafiğe geçirildi.

3.2.4.3. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması

Verapamil içeren jel ve insertlerden pH 7,4 fosfat tamponda etkin maddenin in vitro salım çalışmaları sonucunda elde edilen veriler kinetik modellere uygulandı ve her bir kinetik modele ait korelasyon katsayıları hesaplandı. Bu kinetik modellerde elde edilen korelasyon katsayısına göre jel ve insertlerden etkin madde salımına uygun olan kinetik model saptandı.

Sıfırıncı derece kinetik model (145): Sıfırıncı derece kinetik modelde, zamana (t) karşı konsantrasyon (C) değerleri grafiğe çizildiğinde eğimi hız sabitine bağlı olan bir doğru elde edilir. Bu kinetik modele göre herbir zaman aralığında preparat şeklinden çözeltiye geçen etkin madde miktarı sabittir (3-4).

$$C = C_0 - k_0 t \quad (3-4)$$

C= t zamanı sonunda kalan ilaç konsantrasyonu

C₀= Başlangıç anındaki ilaç konsantrasyonu

k₀= 0. derece hız sabiti

Birinci derece kinetik model (145): Birinci derecede kinetik modelde, zamana bağlı olarak çözünen etkin madde miktarı üssel şekilde azalmaktadır (3-5).

$$\ln C = \ln C_0 - k_1 t \quad (3-5)$$

C= t zamanı sonunda kalan ilaç konsantrasyonu

C₀= Başlangıç anındaki ilaç konsantrasyonu

k₁= 1. derece hız sabiti

Higuchi kinetik modeli (146): Higuchi kinetik modelinde, salınan etkin madde miktarı zamanın kareköküyle orantılıdır (3-6). Bu modelde, etkin maddenin önce matriksin yüzey tabakasından çözündüğü, sonra iç tabakanın çözünme ve difüzyon sunucu dıştaki çözeltiye geçtiği varsayılmaktadır.

$$Q = kt^{1/2} \quad (3-6)$$

Q= Birim yüzeyden salınan ilaç miktarı

k =Higuchi salım hızı sabiti

t=Zaman

3.2.4.4. İstatistiksel Değerlendirmeler

Çalışmamızda elde edilen deney bulguları, GraphPad Prism 4.0 bilgisayar programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Tek yönlü varyans analizini (ANOVA) takiben Newman-Keuls çoklu karşılaştırma testi uygulandı.

4. BULGULAR

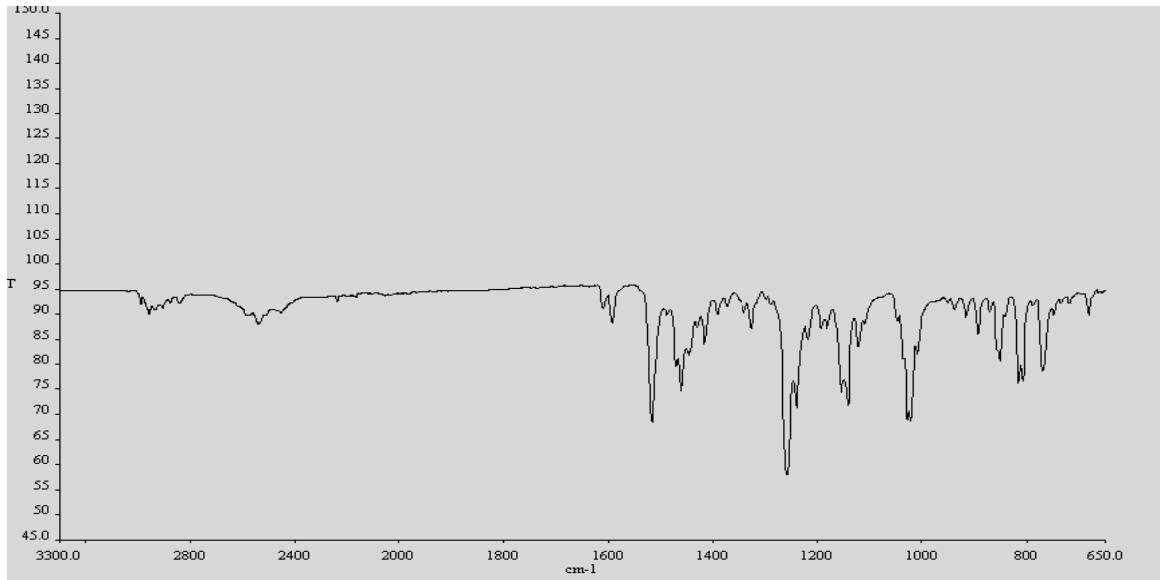
4.1. Verapamil Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular

4.1.1. Infrared Spektrumu

Verapamilin potasyum bromür diskleri ile hazırlanarak elde edilen IR spektrumu Şekil 4.1’de görülmektedir. Bu IR spektrumunda:

- 3030 ile 2860 cm^{-1} arası : metil ve metilen grupları
- 2840 cm^{-1} : metoksil grupları
- 2800 ile 2300 cm^{-1} arası : N-H bağı
- 2236 cm^{-1} de : alkil nitril
- 1607, 1591, ve 1518 cm^{-1} de : benzen halkası
- 1262 cm^{-1} de : aromatik eterler bulunmaktadır.

Dolayısıyla elde edilen IR spektrumu literatür (6) ile uyumludur.



Şekil 4.1: Verapamil HCl in IR spektrumu

4.1.2. Erime Derecesi Tayini

Yöntem 3.1.2. de anlatıldığı gibi çalışılarak yapılan tayin ile verapamil HCl in erime derecesi 142-144°C arasında olduğu tespit edildi. Bu değer literatür (4) ile uyumludur.

4.1.3. Verapamilin Miktar Tayinine Ait Bulgular

4.1.3.1. Miktar Tayini Yönteminin Validasyonuna Ait Bulgular

4.1.3.1.1. Doğrusallık

Verapamilin Yöntem 3.1.3.1.1. de anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilen standart eğri grafiği Şekil 4.2’de, standart eğrinin hazırlanmasında kullanılan ortalama pik alanı oranları, standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (%RSD) sonuçları Tablo 4.1’de verilmiştir. Standart eğriye ait örnek kromatogramlar ise Şekil 4.3-7’de verilmiştir.

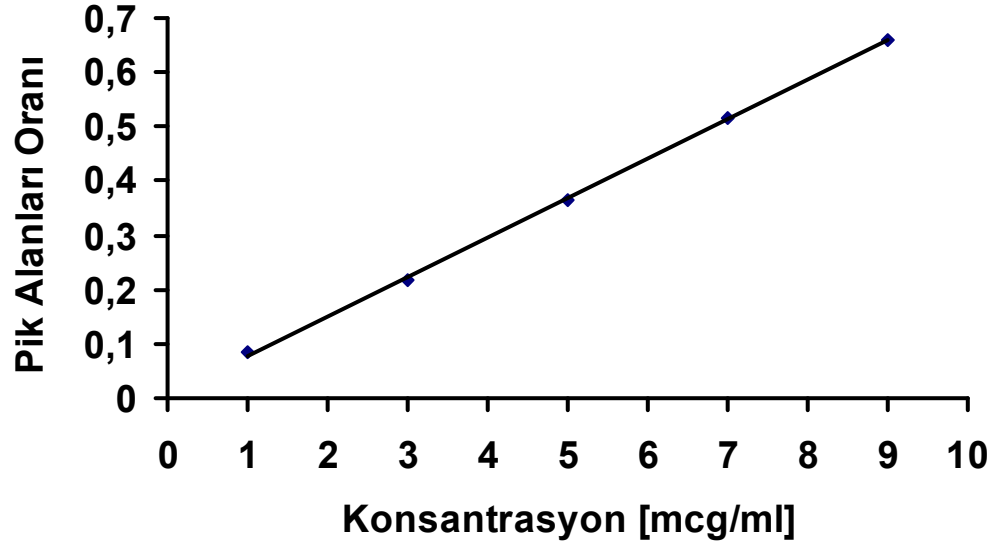
Doğru denklemi ve determinasyon katsayısı aşağıda verilmiştir:

$$y = 0,0728x + 0,0044 \quad ; \quad r^2: 0,9996$$

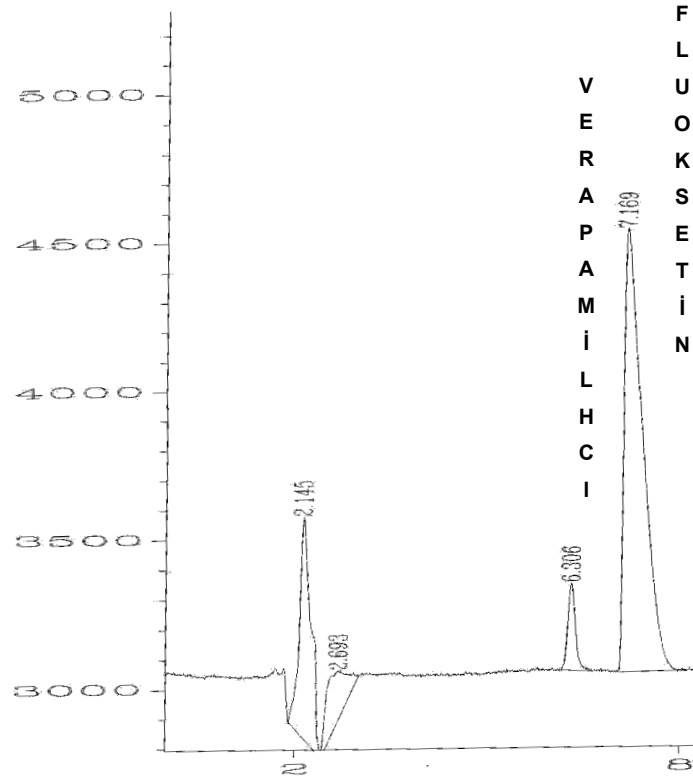
y : Pik alan oranı

x : Konsantrasyon (mcg/ml)

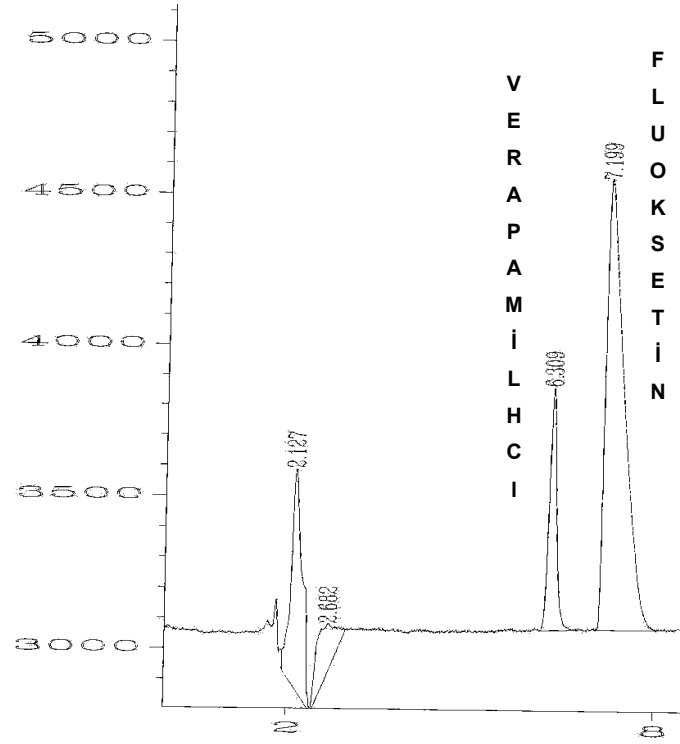
r^2 : Determinasyon katsayısı



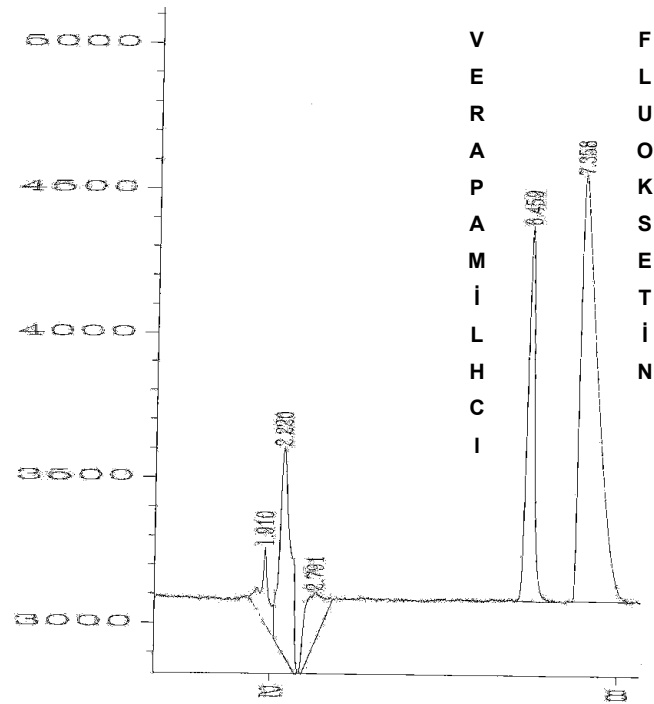
Şekil 4.2: Verapamil HCl in standart eğri grafiği



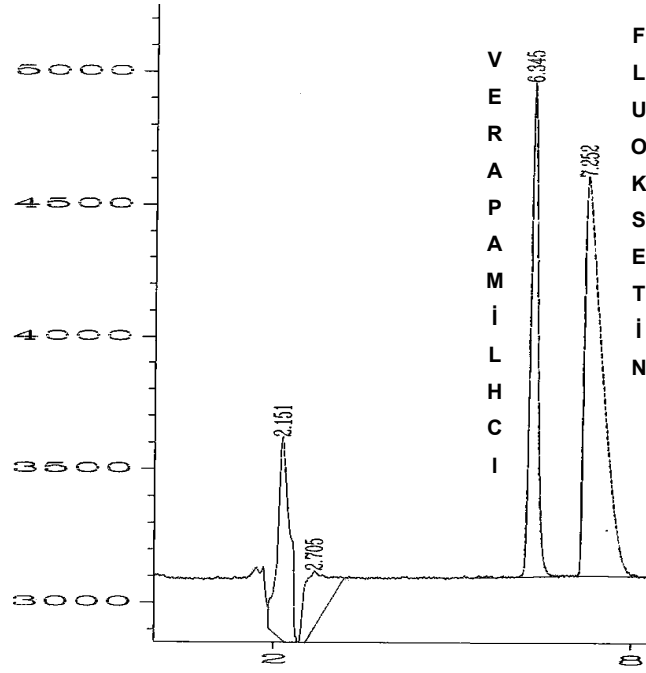
Şekil 4.3: 1 mcg/ml konsantrasyondaki verapamil HCl çözeltisi ile elde edilen kromatogram



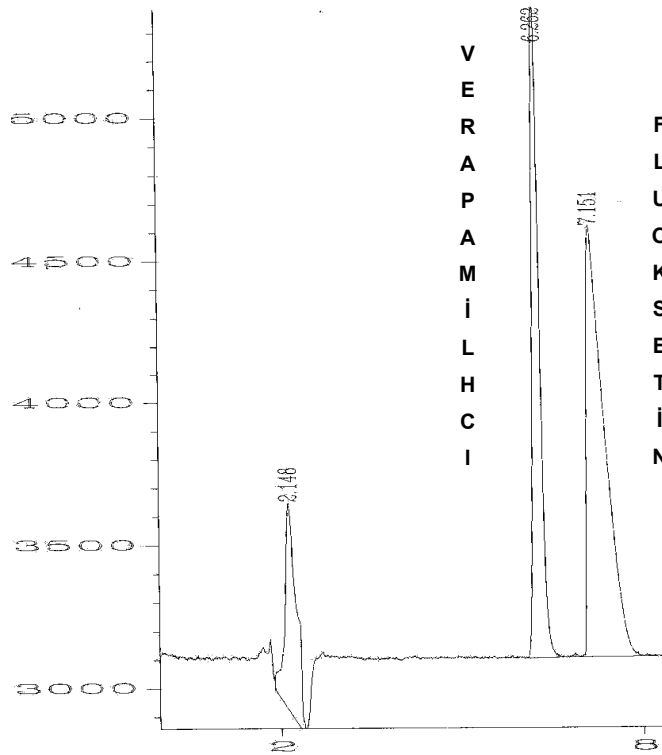
Şekil 4.4: 3 mcg/ml konsantrasyondaki verapamil HCl çözeltisi ile elde edilen kromatogram



Şekil 4.5: 5 mcg/ml konsantrasyondaki verapamil HCl çözeltisi ile elde edilen kromatogram.



Şekil 4.6: 7 mcg/ml konsantrasyondaki verapamil HCl çözeltisi ile elde edilen kromatogram



Şekil 4.7: 9 mcg/ml konsantrasyondaki verapamil HCl çözeltisi ile elde edilen kromatogram.

Tablo 4.1: Verapamil HCl in miktar tayini yönteminin doğrusallığına ait bulgular (n=3)

Konsantrasyon (mcg/ml)	Pik alanları oranı	SD ($\pm$)	RSD (%)
1,0	0,083	0,001	1,204
3,0	0,217	0,001	0,369
5,0	0,364	0,001	0,275
7,0	0,517	0,001	0,193
9,0	0,661	0,010	1,513

4.1.3.1.2. Kesinlik

Verapamil HCl in Yöntem 3.1.3.1.2. de belirtildiği gibi yapılan miktar tayini yöntemine ait gün içi kesinlik bulguları Tablo 4.2’de, günler arası kesinlik bulguları ise Tablo 4.3’de verilmiştir.

Tablo 4.2: Verapamil HCl in miktar tayini yönteminin gün içi kesinlik bulguları (n=3)

Konsantrasyon (mcg/ml)	Pik alanları oranı	SD ($\pm$)	RSD (%)
3	0,226	0,0010	0,442
5	0,349	0,0002	0,057
7	0,476	0,0070	1,470

Tablo 4.3: Verapamil HCl in miktar tayini yönteminin günler arası kesinlik bulguları(n=3)

Konsantrasyon (mcg/ml)	Pik alanları oranı				SD (±)	RSD (%)
	1.gün	2.gün	3.gün	Ortalama		
3	0,226	0,225	0,225	0,225	0,001	0,27
5	0,349	0,349	0,349	0,349	0	0
7	0,476	0,475	0,475	0,475	0,001	0,13

4.1.3.1.3. Doğruluk

Farklı konsantrasyondaki verapamil HCl in miktar tayini için, yöntem 3.1.3.1.3. de anlatıldığı şekilde çalışılarak yöntemin doğruluğu saptandı. Her konsantrasyon için geri kazanma değeri (%), standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (%RSD) değerleri Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4: Verapamil HCl in miktar tayini yönteminin doğruluğuna ait bulgular (n=3)

Konsantrasyon (mcg/ml)	Pik alanları oranı	SD (±)	RSD (%)
250	99,00	0,02	0,02
400	99,20	0,01	0,01
600	99,90	0,02	0,02

4.1.3.1.4. Seçicilik

Yöntem 3.1.4.1.4. de belirtildiği koşullarda yapılan çalışmalar sonucunda, formülasyonda kullanılan diğer maddelerin verapamil HCl in pik alıkonma zamanında pik vermediği saptandı.

4.1.3.1.5. Teşhis Limiti ve Miktar Tayini Limiti

Yöntem 3.1.3.1.5. de anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilen ölçüm sonuçları ve verilen formüller yardımı ile hesaplanan TL ve MTL değerleri aşağıda verilmiştir.

δ değeri: 0,0012 TL: 0,0544 mcg/ml MTL: 0,1648 mcg/ml

4.1.3.1.6. Stabilité

Yöntem 3.1.3.1.6. da belirtildiği şekilde etkin maddenin in vitro çözünme hızı çalışmaları süresince stabilitesi incelenmiştir. Elde edilen miktar tayini sonuçlarının RSD değerinin %2 nin altında olması ile maddenin salım çalışmaları süresince kararlı (stabil) olduğu saptanmıştır (Tablo 4.5).

Tablo 4.5: Stabilité testi bulguları

Ölçüm zamanı (saat)	Konsantrasyon (mcg/ml)	Hesaplanan Konsantrasyon (mcg/ml)
1	3	3,08
2	3	3,06
4	3	2,98
6	3	3,05
24	3	3,12
Ortalama		3,06
SD ($\pm$)		0,05
RSD (%)		1,6

4.1.4. Verapamil HCl in Çözünürlük Tayinine Ait Bulgular

Yöntem 3.1.4. te anlatıldığı şekilde yapılan çözünürlük tayini sonucunda pH 7,4 fosfat tamponunda çözünen verapamil HCl miktarının 471,4 mg, yüzdesinin ise % 94,28 $\pm$ 0,5 olduğu, sonuç olarak verapamil HCl in miktar tayininde ve in vitro çalışmalarda salım ortamı olarak kullanılan pH 7,4 fosfat tamponu içindeki çözünürlüğünün 31,43 $\pm$ 0,5 mg/ml olduğu saptanmıştır.

4.2. Nazal Formülasyonların Hazırlanması Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular

4.2.1. Ön Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

4.2.1.1. Polimerlerin Konsantrasyonlarının Saptanması

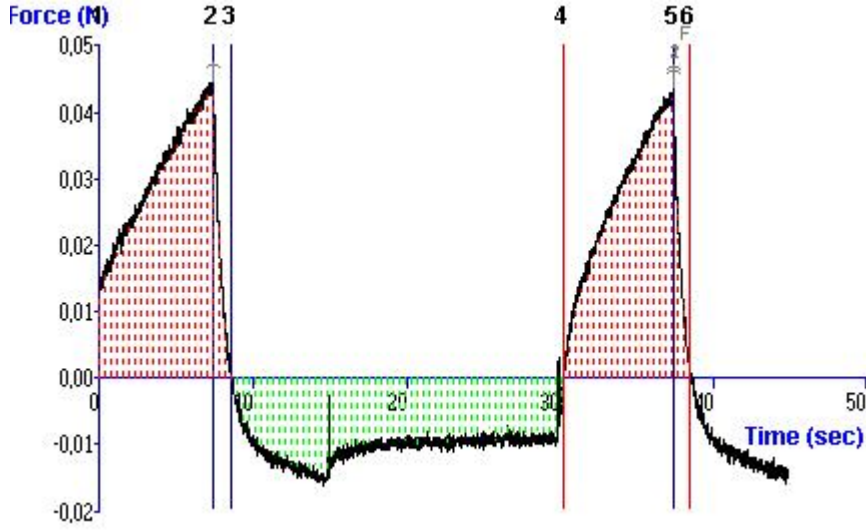
Etkin madde içermeyen jeller üzerinde yapılan görsel incelemeler sonucunda, Carbopol® 940 için % 1,0 ve % 1,5 (a/a), k-karragen için % 3,0 (a/a), ksantan zmkı için % 2,0 ve % 2,5 (a/a), sodyum aljinat için % 4,5 (a/a), pektin için % 3,5 (a/a) konsantrasyonları ile uygun jel formülasyonlarının hazırlanabileceği saptandı.

4.2.1.2. Jel Oluşturma Süresinin Saptanması

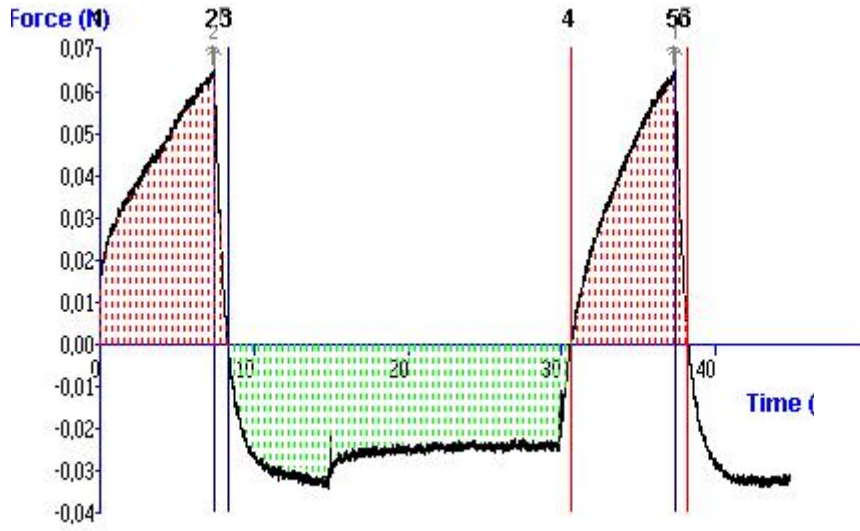
Nazal jel ve nazal insert oluşturulmasında jellerin homojen olarak hazırlanabilmesi için oda sıcaklığında 24 saat süre ile bekletilmelerinin uygun olduğu saptandı.

4.2.1.3. Hazırlanan Jellerin Mekanik Özelliklerinin Tayini

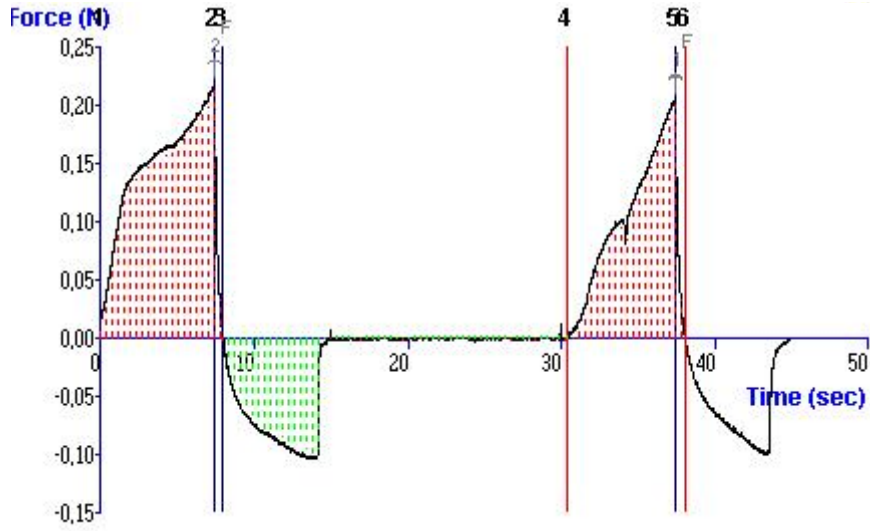
Belirlenen konsantrasyondaki polimerler ile hazırlanan jellerin, yöntem 3.2.1.3. te anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilen mekanik özelliklerine (sertlik, sıkıştırılabilirlik, adeziflik, koheziflik ve elastikiyet) ait grafikler Şekil 4.8-14 te verilmiştir. Texture analiz cihazı ile yapılan çalışma sonucunda Şekil 4.8, 4.11, 4.14'te gösterildiği üzere Carbopol® 940 % 1,0 (a/a), ksantan zmkı % 2,0 (a/a) ve pektin % 3,5 (a/a) sonuçları uygun bulunmadığı için daha sonraki çalışmalarda kullanılmamıştır. Tablo 4.6'da etkin madde içermeyen jellerin mekanik özelliklerine ait bulgular yer almaktadır.



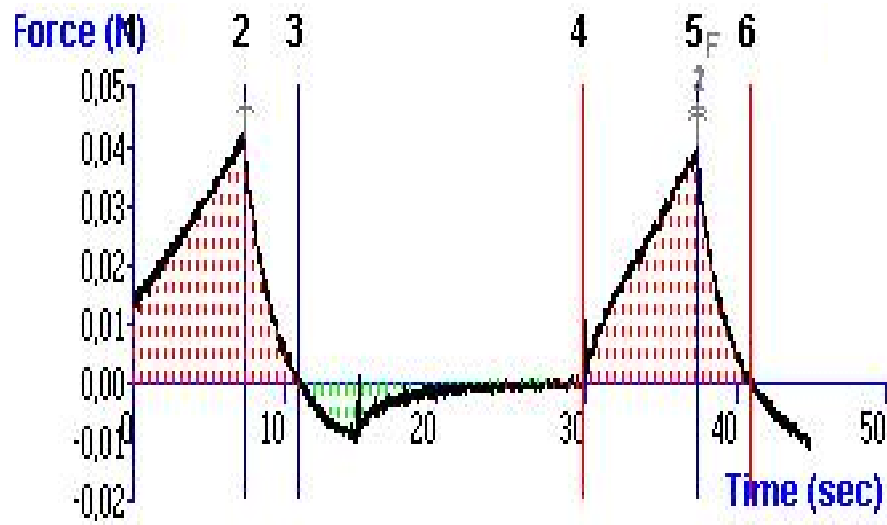
Şekil 4.8: Carbopol® 940 % 1,0 ile hazırlanan jelin mekanik özelliklerine ait grafik.



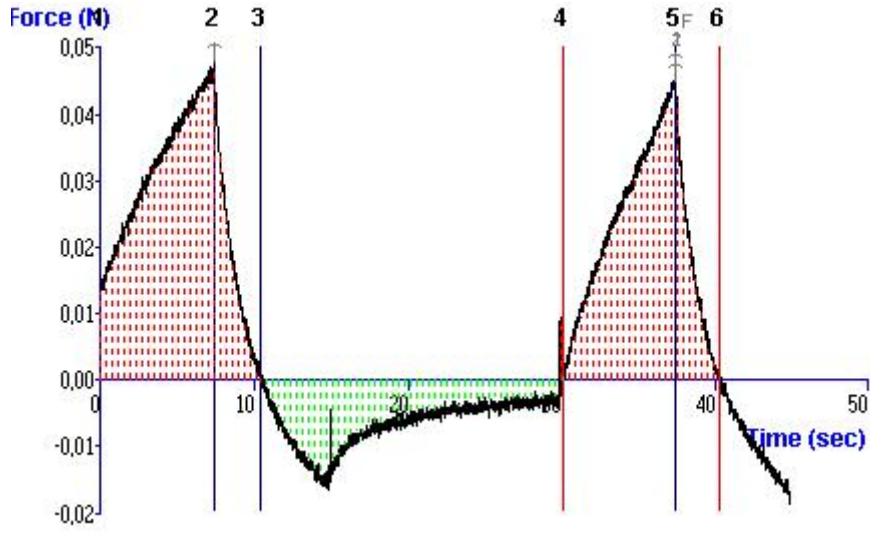
Şekil 4.9: Carbopol® 940 % 1,5 ile hazırlanan jelin mekanik özelliklerine ait grafik.



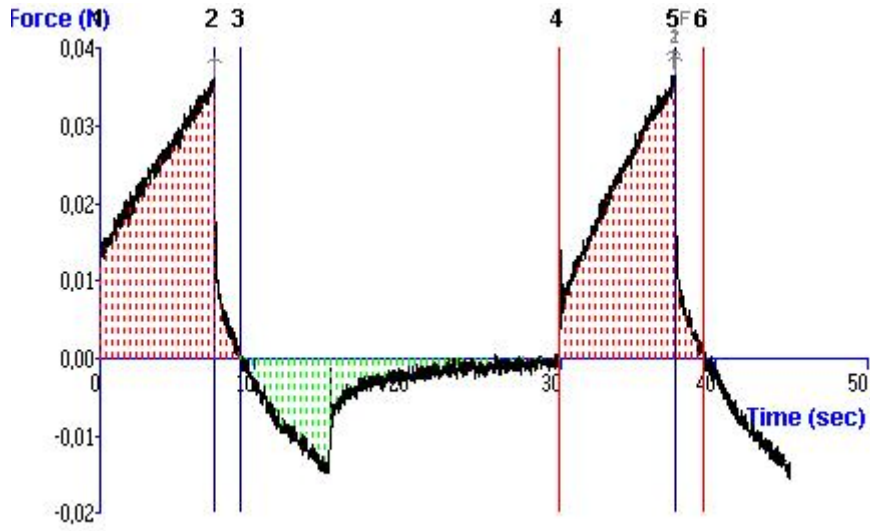
Şekil 4.10: k-Karragen % 3,0 polimeri ile hazırlanan jelin mekanik özelliklerine ait grafik.



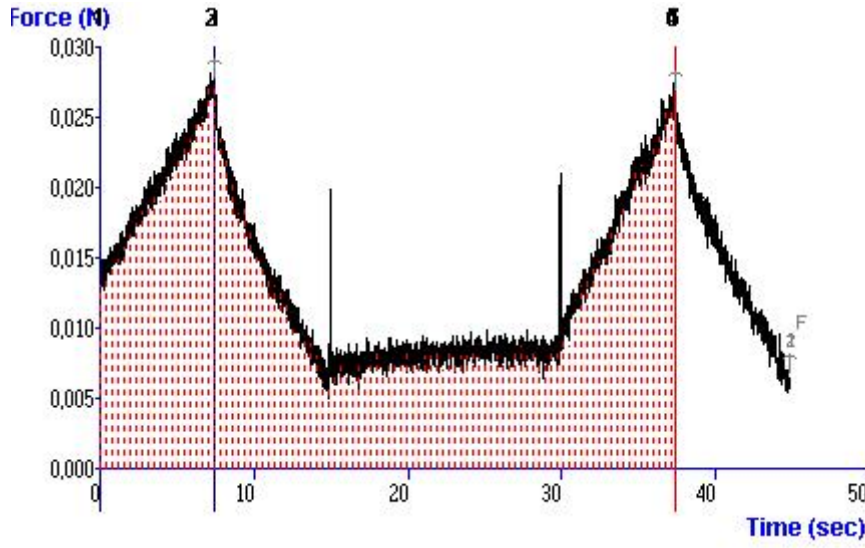
Şekil 4.11: Ksantan zamkı % 2,0 polimeri ile hazırlanan jelin mekanik özelliklerine ait grafik.



Şekil 4.12: Ksantan zamkı % 2,5 polimeri ile hazırlanan jelin mekanik özelliklerine ait grafik.



Şekil 4.13: Sodyum Aljinat % 4,5 ile hazırlanan jelin mekanik özelliklerine ait grafik.



Şekil 4.14: Pektin % 3,5 ile hazırlanan polimerin mekanik özelliklerine ait grafik.

Tablo 4.6: Seçilen polimer ve plastifiyanlarla hazırlanmış jellerin mekanik özelliklerine ait bulgular (n=3)

Jel kodu	Sertlik (N)		Sikiştirilabilirlik (mJ)		Adeziflik (mJ)		Koheziflik		Elastikiyet	
	X	SD±	X	SD±	X	SD±	X	SD±	X	SD±
Carbopol®940 (%1.5 a/a)	0,063	0,001	0,618	0,004	0,352	0,016	0,805	0,021	0,819	0,005
Ksantan Zamkı (% 2.5 a/a)	0,045	0,001	0,518	0,005	0,023	0,003	0,764	0,011	0,916	0,013
Sodyum Aljinat (% 4.5 a/a)	0,033	0,001	0,351	0,044	0,045	0,001	0,875	0,001	0,988	0,001
k-Karragen (% 3 a/a)	0,219	0,012	1,699	0,161	0,354	0,028	0,806	0,113	0,928	0,003

X=Ortalama, SD=Standart sapma

4.2.1.4. İnsertlerin Hazırlanması İçin Ön Formülasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

Hazırlanan nazal jellerin dondurularak kurutulması ile insert oluşturulması için -35°C de 24 saat süreyle tutulması uygun bulundu. Daha sonraki aşama olan liyofilizasyon ile kurutmada ise uygun süre 12 saat olarak tespit edildi. Elde edilen etkin madde içermeyen insertlerin süngerimsi yapıda ve beyaz renkte olduğu gözlemlendi.

4.2.2. Verapamil İçeren Nazal Formülasyonların Hazırlanmasına Ait Bulgular

4.2.2.1. Verapamil İçeren Nazal Jellerin Hazırlanmasına Ait Bulgular

Yöntem 3.2.2.1. de anlatıldığı şekilde hazırlanan jellerde bazı polimerler ile etkin maddenin geçimsiz olduğu gözlemlendi. Bu sebepler aşağıda yer almaktadır:

- Carbopol® 940 ın verapamil HCl çözeltisi ilave edildiğinde homojenliğin kaybolduğu ve etkin maddenin çöktüğü gözlemlendi.
- k-Karragen ile hazırlanan jellerde de kumsu bir çökelti meydana geldi.
- Ksantan zatkı ile hazırlanan jellerde de fiziksel olarak ayrışma gözlemlendi.

Yukarıdaki nedenlerden dolayı verapamil HCl in jellerinin hazırlanmasında polimer olarak sodyum aljinat kullanılmıştır.

4.2.2.1.1. Hazırlanan Jellerin Viskozite Tayinine Ait Bulgular

F3 ve F4 formülasyonlarına ait viskozite ölçüm sonuçları Tablo 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.7: Viskozite ölçümüne ait bulgular (n=3).

Formülasyon kodu	Devir/Dakika	Prop	Cp	SD	%
F3	60	RV-5	5260	1,5	78,6
F4	60	RV-5	6710	1,5	99,8

4.2.2.2. Verapamil İçeren Nazal İnsertlerin Hazırlanmasına Ait Bulgular

Sodyum aljinat doğal polimeri kullanılarak yöntem 3.2.2.2. de anlatıldığı şekilde insertler (F3_{INS} ve F4_{INS} formülasyonu) hazırlandı. F4_{INS} formülasyonunda penetrasyon arttırıcı bir madde olan PEG 400 %10 (a/a) oranında kullanıldı.

4.2.3. Hazırlanan İnsertler Üzerinde Yapılan Çalışmalara Ait Bulgular

4.2.3.1. Görsel İncelemeye Ait Bulgular

Sodyum aljinat polimeri ile hazırlanan insertlerin beyaz renkli, süngerimsi yapılı ve homojen olduğu gözlemlendi.

4.2.3.2. Kalınlık Kontrolüne Ait Bulgular

F3_{INS} ve F4_{INS} formülasyonlarına ait insertlerin kalınlık ortalamaları ve standart sapmaları sırasıyla $0,025 \pm 0,004$ mm ve $0,025 \pm 0,001$ mm olarak ölçülmüştür.

4.2.3.3. Ağırlık Kontrolüne Ait Bulgular

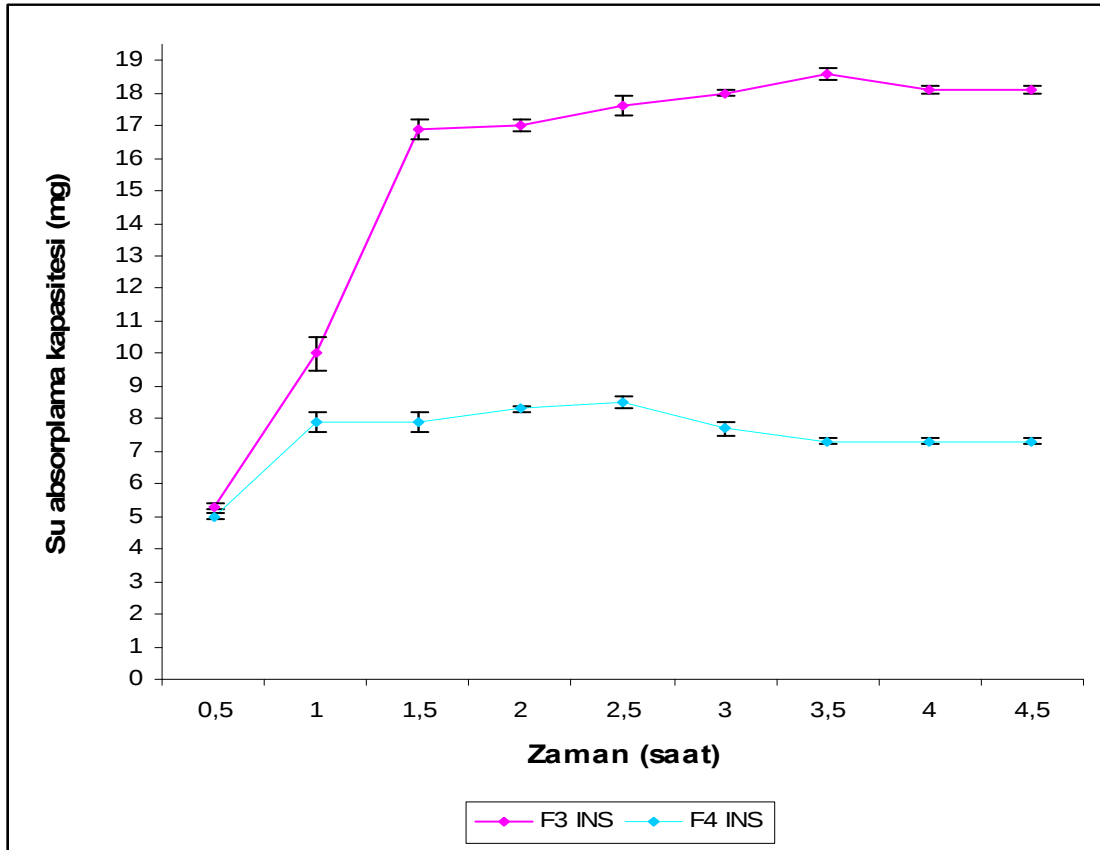
F3_{INS} ve F4_{INS} formülasyonlarına ait insertlerin ağırlık ortalamaları ve standart sapmaları sırasıyla $0,024 \pm 0,001$ g ve $0,041 \pm 0,001$ g olarak saptanmıştır.

4.2.3.4. Su Absorplama Kapasitesinin Ölçülmesine Ait Bulgular

F3_{INS} ve F4_{INS} formülasyonlarına ait insertlerin su absorplama miktarlarına ait değerler Tablo 4.8’de verilmiştir. İnsertlerin su absorplama kapasitesine ait grafik ise Şekil 4.15’te verilmiştir.

Tablo 4.8: İnsertlerin su absorplama kapasitesine ait bulgular (n=3).

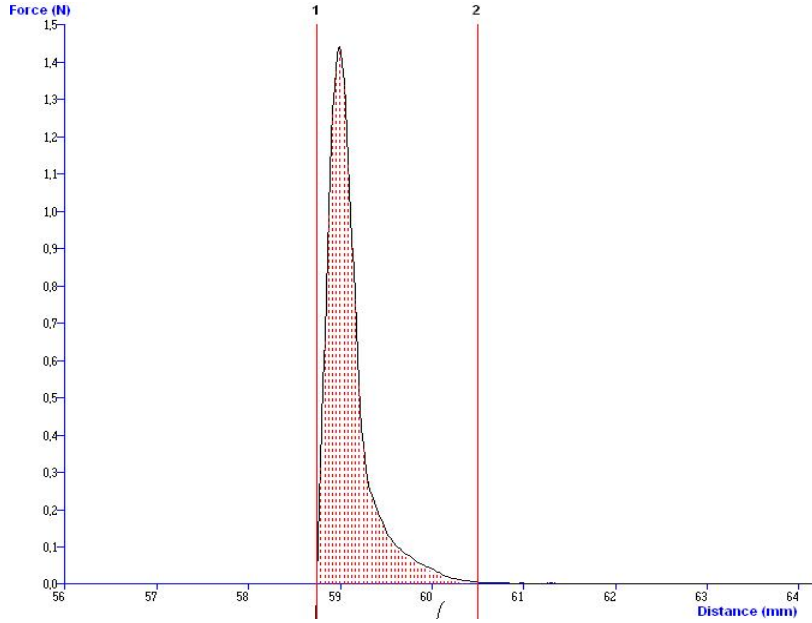
Tartım Süresi (saat)	Absorplanan Su Miktarı (mg)	
	F3 _{INS}	F4 _{INS}
0,5	5,3±0,1	5,0±0,1
1,0	10,0±0,5	7,9±0,3
1,5	16,9±0,3	7,9±0,3
2,0	17,0±0,2	8,3±0,1
2,5	17,6±0,3	8,5±0,2
3,0	18,0±0,1	7,7±0,2
3,5	18,6±0,2	7,3±0,1
4,0	18,1±0,1	7,3±0,1
4,5	18,1±0,1	7,3±0,1



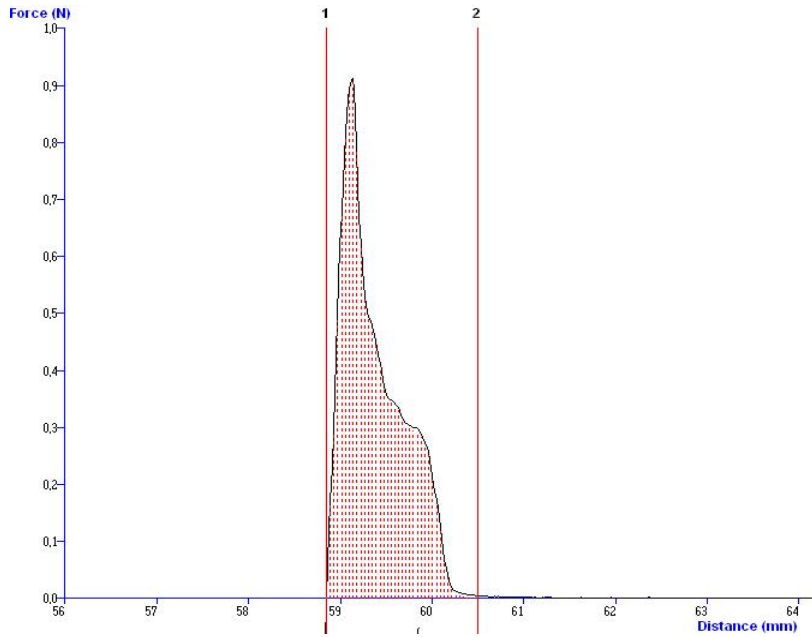
Şekil 4.15: İnsertlerin su absorplama kapasitesine ait grafik (n=3)

4.2.3.5. Biyoadezyon Kuvvetinin Tayinine Ait Bulgular

$F3_{INS}$ ve $F4_{INS}$ formülasyonlarının biyoadezyon kuvvetine ait bulgular Şekil 4.16, 4.17’de ve buna ait hesaplamalar ise Tablo 4.9’da verilmiştir.



Şekil 4.16: $F3_{INS}$ formülasyonunun biyoadezyon kuvvetine ait grafik (n=3).



Şekil 4.17: $F4_{INS}$ formülasyonunun biyoadezyon kuvvetine ait grafik (n=3).

Tablo 4.9: Biyoadezyon kuvvetine ait bulgular (n=3).

Formülasyon	Biyoadezyon işi (mJ/cm ²)	
	X	SD (±)
F3_{INS}	0,81	0,06
F4_{INS}	0,61	0,13

4.2.4. İn Vitro Salım Çalışmalarına Ait Bulgular

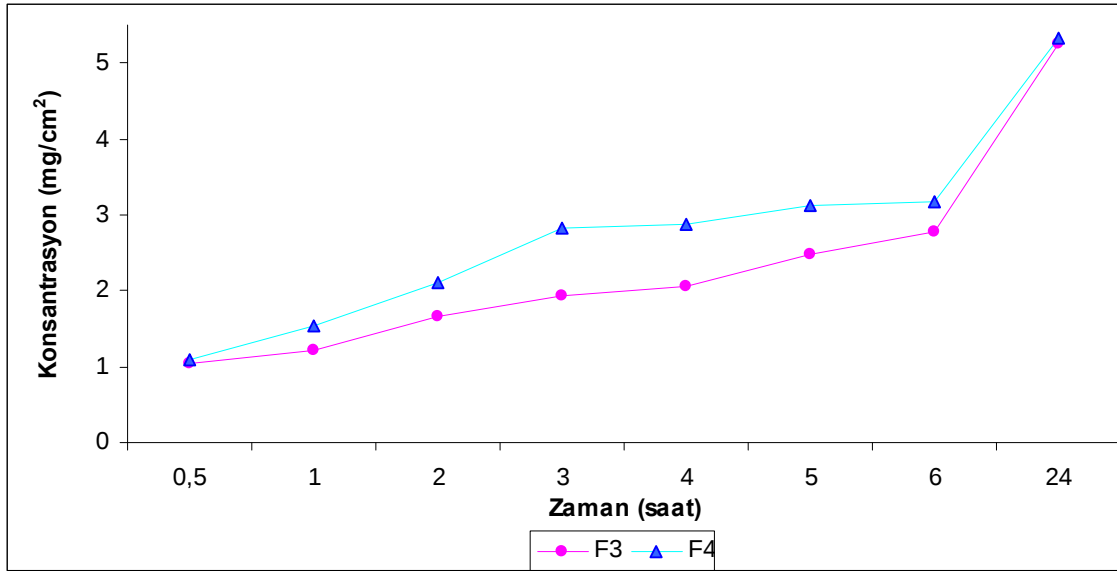
4.2.4.1. Nazal Jel Formülasyonlarında İn Vitro Salım Çalışmalarına ait Bulgular

Yöntem 3.2.2.1. de anlatıldığı şekilde çalışılarak verapamil HCl içeren nazal jellerden (F3 ve F4) verapamilin 24 saat süre ile selofan membrandan salımına ait bulgular Tablo 4.10’da ve salım grafiği ise Şekil 4.18’de yer almaktadır.

Tablo 4.10: Jel formülasyonlarından verapamil HCl in salımına ait bulgular (n=3)

Zaman (Saat)	Verapamil miktarı (mg/cm ²)			
	F3		F4	
	X	SD (±)	X	SD (±)
0,5	1,038	0,003	1,096	0,030
1	1,211	0,040	1,545	0,010
2	1,657	0,040	2,096	0,003
3	1,927	0,010	2,832	0,005
4	2,052	0,007	2,886	0,005
5	2,478	0,020	3,115	0,008
6	2,765	0,020	3,160	0,004
24	5,240	0,070	5,331	0,009

X=Ortalama, SD=Standart sapma



Şekil 4.18: Gel formülasyonlarından verapamil HCl in selofan membrandan salımına ait grafik (n=3)

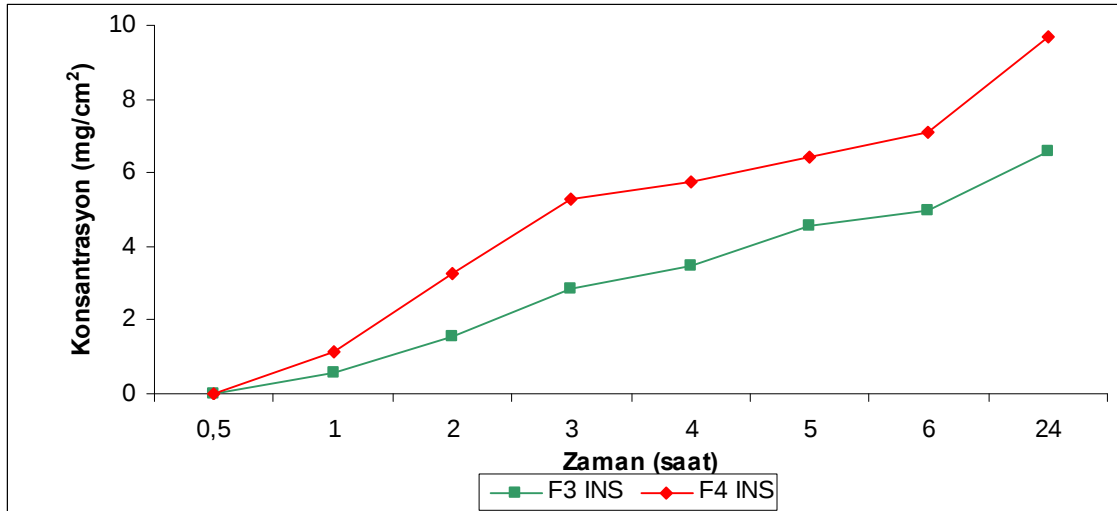
4.2.4.2. Nazal İnsertlerden İn Vitro Salım Çalışmalarına Ait Bulgular

Yöntem 3.2.2.2. de belirtildiği gibi çalışılarak elde edilen bulgulara ait sonuçlar Tablo 4.11’de ve buna ait grafik ise Şekil 4.19’da verilmiştir.

Tablo 4.11: İnsertlerden verapamil HCl in selofan membrandan salımına ait bulgular(n=3)

Zaman (Saat)	Verapamil miktarı (mg/cm ²)			
	F3 _{INS}		F4 _{INS}	
	X	SD (±)	X	SD (±)
0,5	-	-	-	-
1	0,583	0,007	1,165	0,077
2	1,559	0,020	3,275	0,079
3	2,836	0,040	5,294	0,059
4	3,471	0,006	5,734	0,005
5	4,558	0,030	6,436	0,079
6	4,962	0,100	7,073	0,035
24	6,586	0,100	9,676	0,145

X=Ortalama, SD=Standart sapma



Şekil 4.19: İnsertlerden verapamil HCl in selofan membrandan salımına ait grafik.(n=3)

4.2.4.3. Kinetik Parametrelerin Hesaplanmasına Ait Bulgular

In vitro geçiş çalışmaları sonucu elde edilen bulguların 0. derece, 1. derece ve Higuchi kinetik modellerine uygulanması sonucu hesaplanan çözünme hızı sabiteleri ve determinasyon katsayıları Tablo 4.12’de verilmiştir.

Tablo 4.12: Nazal formülasyonlardan verapamil HCl in selofan membrandan salımına ait kinetik bulgular

Formülasyonlar	0. Derece		1. Derece		Higuchi	
	k (mg.cm ⁻² .sa)	r ²	k (sa ⁻¹)	r ²	k (mg.cm ⁻² .sa ^{0.5})	r ²
F3	0,305	0,886	0,074	0,954	0,965	0,978
F4	0,376	0,884	0,078	0,817	1,241	0,954
F3 _{INS}	0,931	0,986	0,121	0,909	2,960	0,990
F4 _{INS}	1,275	0,921	0,138	0,765	4,171	0,978

5. TARTIŞMA

Verapamil HCl antiaritmik aktivite gösteren kalsiyum kanal blokörü sınıfından antihipertansif, antianjinal ve antiaritmik etkilere sahip bir etken maddedir (1,2). Verapamil HCl, oral uygulamayı takiben %90 oranında absorbe olmakta, 1-2 saat içerisinde maksimum ilaç konsantrasyonuna ulaşmaktadır. Karaciğer ilk geçiş etkisine uğradığı için %10-20 oranında biyoyararlanıma sahip olduğu kayıtlıdır (30, 147). Verapamil HCl in piyasada ticari olarak kapsülü, kontrollü salımlı tableti ve enjektabl preparatları mevcuttur (48).

Günümüzde nazal yol özellikle protein ve peptit yapılı ilaçların (53-57), antibiyotiklerin (58), hormonların (49) sistemik etki sağlanması amacı ile tercih edilen uygulama yolu olmuştur. Çünkü nazal yol oldukça geniş bir absorpsiyon alanına sahip olması, poröz ve ince endotelinin olması, damarlanmanın fazla ve kan akış hızının hızlı olması, karaciğer ilk geçiş etkisinin olmaması, hastanın kendisinin uygulayabileceği bir yol olması ve doz aşımı riskinin düşük olması avantajına sahiptir (148)

Son yıllarda, nazal uygulanan ilaçların biyoyararlanımını arttırabilmek için mukoza ile temas süresini uzatan ve uzatılmış etki sağlayan sistemleri geliştirilmiştir. Bu sistemler arasında yer alan jel ve insertlerin en önemli avantajları, nazal mukozaya temas süresini uzatmaları, dolayısıyla ilaçların biyoyararlanımını arttırmaları ve uzun etki sağlamalarıdır (149). Nazal ‘insert’ liyofilizasyon tekniğiyle hazırlanan, ilacın tamamen çözündürüldüğü hidrofilik polimer matriks içeren bir katı form olarak tanımlanmaktadır (113). Insertler sistemik etki gösteren, gastrointestinal sistemin istenmeyen etkilerinden ve karaciğerin ilk geçiş etkisinden kaçınmayı ve kolay dozlama olanağı sağlayan sistemlerdir (113). Bu sistemler; yüksek damarlanmaya sahip nazal mukozayla önce temas eder, daha sonra içerdiği polimer su alarak hızlı bir şekilde jel formuna geçerek ilacı uzun süreli ve/veya kontrollü bir salım profili ile salar (115). Bu sistemlerin nazal olarak uygulanan damlalara ve jellere nazaran daha doğru dozlama sağladığı ve endüstriyel olarak da kolay imal edilebileceği bildirilmiştir (150).

Çalışmamızda; düşük molekül ağırlığı ve hidrofilik özelliğe sahip olan verapamil HCl in ilaç pazarında mevcut dozaj şekillerine alternatif olarak doğal polimerler kullanarak jel ve insert şeklinde nazal dozaj formları hazırlandı ve gerekli

farmasötik optimizasyon çalışmaları yapılarak uygun bulunan formülasyonlar üzerinde in vitro performans testleri gerçekleştirildi.

Çalışmamızda öncelikle verapamil HCl in IR spektrumu alınmıştır. IR spektrum sonuçlarının literatürde verilen spektrum ile (6) uyum gösterdiği saptanmıştır (Şekil 4.1).

Verapamil HCl in erime derecesinin 142-144°C arasında olduğu ve literatürde kayıtlı (4) erime derecesi ile aynı olduğu saptanmıştır.

Verapamil HCl in miktar tayininde yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi olarak literatürde kayıtlı yöntem kullanılmıştır (17). Bu yöntemde C₁₈ kolonu (4.6x250 mm, 5 µm) ve fluoksetin internal standartı ve 0,05 M potasyum dihidrojen fosfat çözeltisi-asetonitril (60:40 (h/h)) mobil fazı kullanılmıştır. Cihazın hassasiyeti 0,02 ye, basınç 1,5 psig ye, mobil faz akış hızı da 1,30 ml/dk ya ayarlanmıştır. Enjeksiyon hacmi ise 40 µl olarak belirlenmiştir. Elde edilen kromatogramların değerlendirilmesi için pik alanları oranı kullanılmıştır.

Verapamil HCl in miktar tayini için analitik validasyon çalışması ile bu yöntemin doğrusalılığı, kesinliği, doğruluğu, seçiciliği, teşhis limiti, miktar tayini limiti ve stabilitesi kanıtlanmıştır. Doğrusallık çalışmalarında oluşturulan standart eğrinin (Şekil 4.2) determinasyon katsayısının yüksek olması ($r^2 > 0,999$) ve her konsantrasyonda ölçülen absorbanlara ait % RSD değerlerinin (Tablo 4.1) % 2 nin altında olması sebebiyle yöntemin miktar tayininde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Kesinlik için yapılan gün içi ve günler arası kesinlik çalışmalarında elde edilen % RSD değerlerinin (Tablo 4.2-3) % 2 den küçük bulunmasına dayanarak yöntemlerin kesinliği ispatlanmıştır.

Yöntemin doğruluğu çalışması için elde edilen geri kazanma değeri % 99,36 ± 0,47 olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.4). Elde edilen bu değer doğruluk için literatürde kayıtlı (3) sınırlar içindedir.

Yapılan seçicilik çalışması sonucunda, formülasyonda kullanılan yardımcı maddelerin HPLC deki çalışma koşullarında pik vermediği dolayısıyla kullanılan analitik yöntemin formülasyonlarda verapamil HCl analizi için seçici bir yöntem olduğu kanıtlanmıştır.

Miktar tayini için hesaplanan teşhis ve miktar tayini limiti değerleri sırasıyla 0,054 mcg/ml ve 0,165 mcg/ml olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu değerler sonucunda; 1,0 – 9,0 mcg/ml konsantrasyon aralığında çizilen standart eğrinin (Şekil 4.2) güvenilirliği kanıtlanmıştır.

Analitik validasyon çalışmalarında, in vitro çalışmalar süresince (24 saat) verapamil HCl in çözünme ortamındaki stabilitesini kontrol etmek amacıyla yapılan çalışmada farklı bir pik görülmediği, dolayısıyla maddenin 24 saat süresince kullanılan mobil faz sistemi içinde stabil olduğu saptanmıştır.

Verapamil HCl in miktar tayininde ve in vitro çalışmalarda salım ortamı olarak kullanılan pH 7,4 fosfat tamponu içindeki çözünürlüğünün $31,43 \pm 0,5$ mg/ml olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu veriye dayanarak in vitro çalışmalarda “sink koşul” (sonsuz seyrelme) sağlanmıştır (149).

Verapamil içermeyen nazal jel hazırlanması amacı ile bir seri ön formülasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda polimer konsantrasyonlarının pektin, sodyum aljinat, karragen, Carbopol® 940, ksantan zankı için sırayla % 3,5, % 4,5, % 3,0, % 1,0 ve % 1,5, % 2,0 ve % 2,5 (a/a) olduğu saptanmıştır (Tablo 3.2). Jellerin homojen olarak hazırlanabilmesi için oda sıcaklığında 24 saat süre ile bekletilmesi uygun bulunmuştur.

Saptanan polimer konsantrasyonları ile hazırlanan jellerin mekanik özelliklerinin (sertlik, sıkıştırılabilirlik, adeziflik, koheziflik ve elastikiyet) değerlendirilmesi amacıyla Texture analiz cihazı kullanılarak yapılan testlerde; Carbopol® 940 % 1,0 ve % 1,5 (a/a) konsantrasyonları ile çalışıldığında; mekanik özellikler açısından % 1,5 (a/a) konsantrasyondaki verilerin %1,0 konsantrasyondaki verilerden daha iyi olduğu saptanmıştır (Şekil 4.8-4.9). Aynı durum ksantan zankı için de geçerli olmuştur. Ksantan zankı % 2,5 (a/a) konsantrasyonu ile elde edilen mekanik özellikler %2,0 (a/a) konsantrasyonunkinden daha iyi olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.11-4.12). Pektinin sertlik, sıkıştırılabilirlik, adeziflik, koheziflik ve elastikiyet değerleri ise nazal uygulamaya yönelik jel özelliklerine uygun bulunmamış ve yapılacak diğer çalışmalardan çıkarılmıştır (Şekil 4.14).

Sertlik, jelin deformasyonunu sağlamak için gerekli olan kuvveti tanımlamaktadır (142). Sertlik değerinin yüksek olmasının jellerin yayılabilirlik özelliğini olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir (151). Elde edilen sertlik değerlerine

göre en iyi yayılabilme sırasının; sodyum aljinat> ksantan zamkı> Carbopol® 940> karragen olduğu ve dolayısıyla en iyi yayılabilme özelliği olan jelin sodyum aljinat ile hazırlanan jel olduğu ($0,033\pm0,001$ N) saptanmıştır (Tablo 4.6).

Sıkıştırılabilirlik testinde ise jeli deforme etmek için gerekli olan iş ölçülmüştür (142). Sıkışabilirlik değeri ne kadar az olursa jeli uygulamak o kadar kolay olmaktadır. Elde edilen sıralama ise: karragen> Carbopol® 940> ksantan zamkı> sodyum aljinat olarak belirlenmiştir. Bu değerlere göre deformasyon için en az kuvvet ve dolayısıyla en az enerji gerektiren jel sodyum aljinat ile hazırlanan jeldir ($0,351\pm0,044$ mJ) (Tablo 4.6).

Adeziflik jellerin yapışabilme kabiliyetinin bir göstergesidir (136). Kullanılan polimerlerde yapılan adeziflik ölçümleri sonucuna karragen ve Carbopol® 940 yüksek adeziflik gösterirken ksantan zamkı ile sodyum aljinat düşük adeziflik göstermiştir (Tablo 4.6).

Teste tabi tutulan doğal polimerler ile hazırlanan bütün jellerin koheziflik değerinin düşük (1.000 değerinin altında) olduğu saptanmıştır (Tablo 4.6). Koheziflik değeri düşük olan jellerin homojen bir film oluşturmada etkin olduğu literatürde kayıtlıdır (152). Çalışmamızda, jellerin kohezifliğinin kullanılan polimer tipinden etkilenmediği ve hazırlanan jeller arasında anlamlı bir farkın olmadığı ($p>0,05$) saptanmıştır.

Elastikiyet sayısal değeri sıralaması ise sodyum aljinat> k-karragen> ksantan zamkı> Carbopol® 940 dır. En düşük değer Carbopol® 940 ile elde edilmiştir. Kullanılan diğer polimerlerin elastikiyet değerleri arasında arasında anlamlı bir farkın olmadığı ($p>0,05$) saptanmıştır.

İnserit oluşturmak için ön formülasyon çalışmalarında jellerin derin dondurucuda -35°C de 24 saat süreyle tutulması ve 12 saat süreyle liyofilizasyon işleminin yapılmasının uygun olduğu saptanmıştır.

Yukarıda bahsedilen ön formülasyon çalışmaları sonucunda belirlenen polimerler ile etkin maddeli jellerin hazırlanması sırasında verapamil HCl in seçilen konsantrasyonda k-karragen, Carbopol® 940 ve ksantan zamkı polimerleri ile fiziko-kimyasal geçimsizlik (jelde topaklanma, kumsu görünüm v.s.) meydana gelmiştir. Olası geçimsizlik k-karragenin yapısındaki sülfat grupları, ksantan zamkının yapısındaki

hidroksil grupları ve Carbopol® 940 in yapısındaki karboksil gruplarının Verapamil HCl in yapısında bulunan amin grupları ile iyonotropik jelasyona sebep olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle k-karragen, Carbopol® 940 ve ksantan zımkı daha sonraki çalışmalarda kullanılmamıştır. Sodyum aljinat (% 4,5 a/a) polimeri ile hazırlanan verapamil HCl içeren (%10 a/a) jelle (F3) penetrasyon arttırıcı madde olan polietilen glikol 400 (PEG 400) ilave edilerek F4 kodlu nazal bir jel formülasyonu daha hazırlanmıştır. Bu jellerin insertleri de hazırlanmış ve F3_{INS} ve F4_{INS} olarak kodlanmıştır.

Yapılan görsel incelemede sodyum aljinat polimeri ile hazırlanan jellerin (F3 ve F4) hafif sarı renkli, şeffaf ve homojen olduğu ve 60 rpm de RV-5 probu ile yapılan viskozite ölçümleri sonucu viskozite değerlerinin sırasıyla $5260 \pm 1,5$, $6710 \pm 1,5$ cPs olduğu saptanmıştır (Tablo 4.7).

Verapamil içeren (%10 a/a) ve sodyum aljinat polimeri (%4,5 a/a) ile hazırlanmış insertlerin (F3_{INS} ve F4_{INS}) beyaz renkli, süngerimsi yapılı ve homojen olduğu gözlenmiştir. F3_{INS} ve F4_{INS} kodlu insertlerin kalınlıkları sırasıyla $0,025 \pm 0,004$ ve $0,025 \pm 0,001$ mm olarak saptanmıştır. F3_{INS} ve F4_{INS} kodlu insertlerin ağırlıkları ise sırasıyla $0,024 \pm 0,001$ ve $0,041 \pm 0,001$ g olarak tespit edilmiştir.

Insertlerin (F3_{INS} ve F4_{INS}) su absorplama kapasitelerinin tayini sonuçlarına göre; F3_{INS} kodlu insert maksimum su absorplama kapasitesine 3,5 saatte ulaşırken PEG 400 içeren insert (F4_{INS}) ise 2 saatte ulaşmıştır (Tablo 4.8). Elde edilen su absorplama profilleri mukayese edildiğinde F4_{INS} kodlu PEG 400 içeren insertin daha az su absorpladığı ve 2.5 saat sonrasında ise absorplanan miktarda düşme kaydedilmiştir (Şekil 4.15). Bu düşünün nedeni F4_{INS} formülasyonun içerdiği PEG 400 ün hidrofilik özelliği nedeniyle sistemden çözünmesi olarak açıklanabilir. Bu bulgulara dayanarak su absorplama kapasitesine daha fazla sahip olan formülasyonun (F3_{INS}) daha fazla biyoadezyon göstermesi beklenebilir.

Insertler (F3_{INS} ve F4_{INS}) üzerinde yapılan biyoadezyon testleri de su absorplama testi bulgularını doğrulamaktadır. F3_{INS} kodlu insert yüksek biyoadezyon göstermiştir ($0,81 \pm 0,06$ mJ/cm²) (Tablo 4.9).

Jel formülasyonların (F3 ve F4) verapamil HCl in in vitro salım çalışmalarına ait elde edilen bulgulara göre; 24 saat süresince PEG 400 içeren F4 formülasyonundan

verapamil HCl in salım miktarı anlamlı olarak F3 formülasyonuna nazaran daha fazla olmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.10).

İnsert formülasyonlarındaki ($F3_{INS}$ ve $F4_{INS}$) verapamil HCl in in vitro salım çalışmalarına ait elde edilen bulgulara göre ise; 24 saat sonunda PEG 400 içeren $F4_{INS}$ formülasyonundan verapamil HCl in salım miktarı $9,676\pm0,145$ mg/cm² iken $F3_{INS}$ formülasyonundan ilacın salım miktarı $6,586\pm0,100$ mg/cm² bulunmuştur. Elde edilen salım profilleri birbirinden anlamlı olarak farklıdır ($p<0,05$) (Tablo 4.11). Bu bulgulara dayanarak PEG 400'ün in vitro olarak verapamil HCl in selofan membrandan geçiş miktarını arttırdığı dolayısıyla nazal mukozadan da ilacın geçişini arttıracığı beklenebilir. Böylece etkin bir plazma konsantrasyonuna ulaşılabilceği öngörülebilir. Penetrasyon artırıcı maddeler genellikle enzim aktivitesini inhibe ederek, mukus viskozitesi veya elastisitesini düşürerek, mukusiliyer klirensi azaltarak, sıkı birleşme noktalarını açarak ve ilacın çözünürlüğünü veya stabilitesini arttırarak etki gösterirler (153). Literatürde PEG 400 kullanılarak nazal absorpsiyonun arttırılmasına yönelik çalışmalar mevcuttur (107).

Hazırlanan nazal jel ve insertlerin in vitro salım profilleri mukayese edildiğinde; insertlerin bir gecikme zamanına (lag time) sahip olduğu ve insertlerden etkin madde salım miktarının jellere nazaran anlamlı olarak daha fazla olduğu ($p<0,05$) görülmüştür. Literatürde liyofilize insertinlerin etkin maddeyi salmadan önce hidrate olup bir jel matriksi oluşturması gerektiği dolayısıyla da bir gecikme zamanına ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (116).

İn vitro çözünme hızı bulgularının 0. derece, 1. derece ve Higuchi kinetik modellerine uygulanması sonucu, determinasyon katsayılarına göre hazırlanan jellerden ($F3$, $F4$) ve bu jel formülasyonları kullanılarak hazırlanan insertlerden ($F3_{INS}$ ve $F4_{INS}$) verapamil HCl in salım kinetiğinin matriksten salım kinetiği olan Higuchi kinetiğine (34) uyduğu saptanmıştır (Tablo 4.12). Matriks tipi formülasyonlardan ilaç salım kinetiğinin Higuchi kinetik modeline uyduğu literatürde kayıtlıdır (2).

Yapılan bu çalışmada öncelikle verapamil HCl in nazal jel ve insertlerinin oluşturulması için farklı konsantarsyonda sentetik ve doğal polimerler kullanılarak bir optimizasyon çalışması yapılmıştır. Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre;

- Jellerin homojen olarak hazırlanabilmesi için hazırlanan dispersiyonlarının oda sıcaklığında 24 saat süre ile bekletilmesinin uygun olduğu,
- Jellerin mekanik özelliklerinin değerlendirilmesi sonucunda uygun jel oluşturmak üzere kullanılan polimer ve konsantrasyonlarının ağırlıkça; sodyum aljinat (%4,5), k-karragen (%3,0), Carbopol® 940 (%1,5), ksantan zamkı (%2,5) olduğu,
- Pektinin sertlik, sıkıştırılabilirlik, adeziflik, koheziflik ve elastikiyet değerleri açısından nazal jellerinin hazırlanması için uygun olmadığı,
- Kullanılan polimerler arasında en iyi yayılabilme ve elastikiyet değerine sahip olan polimerin sodyum aljinat olduğu ve bu polimerin ayrıca düşük koheziflik değerinde olduğu,
- Sodyum aljinat polimeri kullanılarak oluşturulan jellerin insertlerinin hazırlanabileceği ve bu insertlerin hazırlanması için optimum koşulların derin dondurucuda -35°C de 24 saat süre bekletilme ve 12 saat süreyle liyofilize edilme olduğu,
- Carbopol® 940, ksantan zamkı ve k-karragenin verapamil HCl ile homojen bir jel oluşturamadığı,
- Sodyum aljinat (% 4,5) polimeri ile verapamil HCl içeren (%10 a/a) jeller ile insertlerin hazırlanabileceği,
- Sodyum aljinat ile hazırlanan verapamil HCl içeren jel ve insertlerin formülasyonunda penetrasyon arttırıcı madde olarak PEG 400 (%10 a/a) ün kullanılabileceği,
- Su absorplama kapasitesi açısından PEG 400 içeren insertlerin daha düşük su absorplama dolayısıyla daha düşük biyoadezyona sahip olduğu,
- Sodyum aljinat ile hazırlanan ve verapamil HCl içeren jel formülasyonları (F3 ve F4) ile bu jeller kullanılarak hazırlanan insertlerden (F3_{INS} ve F4_{INS}) verapamil HCl in selofan zardan salım miktarının PEG 400 ile anlamlı olarak arttığı,

- Sodyum aljinat polimeri ile hazırlanan jel ve insert formülasyonlarından verapamil HCl in in vitro salım kinetiğinin matriks sistemler için öngörülen Higuchi kinetiğine uyduğu gösterilmiştir.

Sonuç olarak; bu çalışmada sodyum aljinat doğal polimeri kullanılarak verapamil HCl in nazal kullanıma yönelik jelleri ve ilk defa insertleri hazırlanmıştır. Oldukça kolay bir yöntem ile hazırlanabilen, doğru dozaj sağlayan, biyoadeziv özellikte ve uzun süreli salım yapabilen nazal insertlerin oral biyoyarlanımı çok düşük olan verapamil HCl için alternatif bir uygulama şekli olarak değerlendirilebileceği önerilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Martindale. *The Complete Drug Reference*. 35th Edition. London; The Pharm. Pres.; 2007.
2. Kayaalp SO.; E., *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 10. Baskı. Ankara; Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti.;2002.
3. USP NF (*United States Pharmacopeia / National Formulary*). 26th Edition. USA; Twinbrook Parkway; 2007.
4. British Pharmacopeia 2002. Version 6.0. Index System Simulation Ltd.; Data Crown Copyright; 2002.
5. Judith Berle EGC. *Isolation and Identification of Drugs*. London; The Pharmaceutical Pres; 1974-1975; **22**.
6. Chang ZL. Verapamil. İçinde Floray K, editor. *Analytical Profiles of Drug Substances*; Academic Press; 1988; **17**; pp. 647-674.
7. Moffat AC. *Clarke's Isolation and Identification of Drugs*. 2nd ed. London: The Pharm. Pres.; 1986. pp. 1060-1061.
8. Rahman N., Azmi SNH. Spectrophotometric method for the determination of verapamil hydrochloride in pharmaceutical formulations using N-bromosuccinimide as oxidant. *IL Farmaco* 2004; **59**: 529-536
9. Rahma N., Hoda MN. Spectrophotometric determination of verapamil hydrochloride in drug formulations with chloramine-T as oxidant. *Anal. Bioanal. Chem.* 2002; **374**: 484-489.
10. Alsarra I., Khalil NY., Sultan M., Al- Ashban R., Belal F. Spectrofluorometric determination of montelukast in dosage forms and spiked human plasma. *Pharmazie* 2005; **60**: 823-826.
11. Lau-Cam CA., Piemontese D. Simplified reversed-phase HPLC method with spectrophotometric detection for assay of verapamil in rat plasma. *J Pharmaceut Biomed.* 1998; **16**: 1029-1035.
12. Venkatesh G., Ramanathan S., Mansor SM., Nair NK., Sattar MA., Croft SL., Navaratnam V. Development and validation of RP-HPLC-UV method for simultaneous determination of buparvaquone, atenolol, propranolol, quinidine

- and verapamil: A tool for the standardization of rat in situ intestinal permeability studies. *J Pharmaceut Biomed.* 2007; **43**: 1546-1551.
13. Sawicki W. A validated method for the determination of verapamil and norverapamil in human plasma. *J Pharmaceut Biomed.* 2001; **25**: 689-695.
 14. Sawicki W., Janicki S. Pharmacokinetics of verapamil and its metabolite norverapamil from a buccal drug formulation. *Int J Pharm.* 2002; **283**: 181-189.
 15. Barth A., Bravn J., Müller D. Influence of Verapamil and Cyclosporin A on bile acid metabolism and transport in rat liver slices. *Exp Toxicol Pathol.* 2006; **58**: 31-37.
 16. Jhee OH., Hong JW., Om AS., Lee MH., Lee WS., Shaw LM., Lee JW., Kang JS. Direct determination of verapamil in rat plasma by coupled column microbore-HPLC method. *J Pharmaceut Biome.* 2005; **37**: 405-410.
 17. Özkan Y., Yılmaz N., Özkan SA., Biryol İ. High-performance liquid chromatographic analysis of verapamil and its application to determination in tablet dosage forms and to drug dissolution studies. *IL Farmaco* 2000; **55**: 376-382.
 18. Ha PTT., Sluyts I., Dyck SV., Zhang J., Gilissen RAHJ., Hoogmartens J., Schepdael AV. Chiral Capillary electrophoretic analysis of verapamil metabolism by cytochrome P450 3A4. *J Chromatogr A* 2006; **1120**: 94-101.
 19. Dethy JM., Broux SD., Lense M., Longstreth J., Gilbert P. Stereoselective determination of verapamil and norverapamil by capillary electrophoresis. *J Chromatogr- Biomed.* 1994; **654**: 121-127.
 20. Li G., Lin X., Zhu C., Hao A., Guan Y. New derivative of β -cyclodextrin as chiral selectors for the capillary electrophoretic separation of chiral drugs. *Anal Chim Acta.* 2000; **421**: 27-34.
 21. Harapat SR., Kates RE. Rapid High-Pressure Liquid Chromatographic Analysis of Verapamil in Blood and Plasma. *J Chromatogr.* 1979; **170**: 385-390.
 22. McAllister RG., Tan TG., Bourne DWA. GLC Assay of Verapamil in Plasma: Identification of Fluorescent Metabolites After Oral Drug Administration. *J Pharm Sci.* 1979; **68**: 574-577.
 23. Nolic K., Medenica M. Potentiometric and Conductometric Determination of Verapamil Hydrochloride. *Pharmazie* 1989; **44**: 479.

24. Thamson BM., Pannall LK. The Analysis of Verapamil in Posmortem Specimens by HPLC and GC. *J Anal Toxicol.* 1981; **5**: 105-109
25. Swamy VC., Triggle D. *The Calcium Channel Blocers*. 3rd ed. USA: *In: Modern Pharmacology*; 1990; 299-306.
26. Meredith PA., Reid JL. Differences Between Calcium Antagonists: Duration of Action and Trough to Peak Ratio. *J Hypertens.* 1993; **11**: 21-26.
27. Borchard U. Calcium Antagonist in Comparison: View of the Pharmacologist. *J Cardiovasc Pharm.* 1994; **24**: 85-91.
28. Saseen JJ., Carter BL., Brown TER., Eliot WJ., Black HR. Comparison of Nifedipine Alone and With Diltiazem or Verapamil in Hypertension. *J Hypertens.* 1996; **28**: 109-114.
29. Wingard LB., Brody TM., Larner JL., Schwartz A. *Calcium antagonist*. London; Wolfe Publishing Ltd; 1991. pp. 212-222.
30. Hamann SR., Blouin RA., McAllister RG. Clinical Pharmacokinetics of Verapamil. *Clin Pharmacokinet.* 1984; **9**: 26-41.
31. Goracinova K., Klisarova L., Simov A., Kumbaradzi EF., Mladenovska K., Glavas M. Drug dissolution profiles and physico-chemical stability evaluation of controlled-release solid dispersion granules. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Macedonia.* 1998; **17**: 33-39.
32. Yazan Y., Özer A. Y., Erol K. Pharmacodynamic comparison of a nasal formulation of verapamil and intravenous and oral dosage forms. *Drug Dev Ind Pharm.* 1998; **22**: 281-284.
33. Rahman M., Lau-Cam CA. Evulation of the effect of polyethylene glycol 400 on the nasal absorption of nicardipine and verapamil in the rat. *Pharmazie* 1999; **54**: 132-136.
34. Arnold TH., Tackett RL., Valiner JJ. Pharmacodynamics of acute intranasal administration of verapamil: comparison with i.v. and oral administration; *Biopharm Drug Dispos.* 1985; **6**: 447-454.
35. Maitani Y., Nakamura K., Suenaga H., Kamata K., Takayama K., Nagai T.; The enhancing effect of soybean-derived sterylglucoside and β -sitosterol β -D-glucoside on nasal absorption in rabbits. *Int J Pharm.* 2000; **200**: 17-26.
36. Hammouda YE., Kasım NA., Nada AH. Formulation and in vitro evulation of verapamil HCl suppositories. *Int J Pharm.* 1993; **89**: 111-118.

37. Fitch WP., Easterling WJ., Talbert LR., Bordovsky JM., Mosier M. Topikal Verapamil HCl, Topikal Trifluoperazine, and Topikal Magnesium Sulfate for the Treatment of Peyronie's Disease-A Placebo-Controlled Pilot Study. *J Sex Med.* 2007; **4**: 477-484.
38. Wearley LL., Chien YW. Iontophoretic transdermal permeation of verapamil (III): Effect of binding and concentration gradient on reversibility of skin permeation rate. *Int J Pharm.* 1990; **59**: 87-94.
39. Güngör S., Bektaş A., Alp Fİ., Doğan BSU., Özdemir O., Araman A., Özsoy Y., Matrix-Type Transdermal Patches of Verapamil Hydrochloride: In Vitro Permeation Studies Through Excised Rat Skin and Pharmacodynamic Evaluation in Rats. *Pharm Dev Technol.* 2008; **13**: 283-289.
40. Jain GK., Sharma AK., Agrawal SS. Transdermal controlled administration of verapamil enhancement of skin permeability. *Int J Pharm.* 1996; **130**: 169-177.
41. Shah HS., Tojo K., Huang YC., Chien YW. Development and clinical evaluation of a verapamil transdermal delivery system. *J Control Rel.* 1992; **22**: 125-132.
42. Kılıçarslan M., Baykara T. The effect of the drug/polymer ratio on the properties of the verapamil HCl loaded microspheres. *Int J Pharm.* 2003; **252**: 99-109.
43. Sipahigil O., Dortunç B. Preparation and in vitro evaluation of verapamil HCl and ibuprofen containing carrageenan beads. *Int J Pharm.* 2001; **228**: 119-128.
44. Passerini N., Perissutti B., Albertini B., Voinovich D., Moneghini M., Rodriguez L. Controlled release of verapamil hydrochloride from waxy microparticles prepared by spray congealing. *J Cont Rel.* 2003; **88**: 263-275.
45. Goracinova K., Klisarova L., Simov A. Physical characterization and dissolution properties of verapamil HCl coprecipitates. *Drug Dev Ind Pharm.* 1995; **21**: 383-391.
46. Elkheshen S., Yasin AE., Alkhaled F. Per-oral extended-release bioadhesive tablet formulation of verapamil HCl. *Boll Chim Pharm.* 2003; **142**: 226-231.
47. Erickson KA., Schroder A., Netland PA. Verapamil increases outflow facility in the human eye. *Ex Eye Res.* 1995; **61**: 565-567.
48. Ommaty R. *Vademecum Modern İlaç Rehberi.* 29. Baskı. Ankara: Feryal Matbaası; 2008.

49. Chien YW., Su KSE., Chang S. *Nasal Systemic Drug Delivery*; Marcel Dekker: New York; 1989.
50. Ugwoke MI., Verbeke N., Kingent R. The biopharmaceutical aspects of nasal mucoadhesive drug delivery. *J Pharm Pharmacol.* 2001; **53**: 3-21.
51. Illum L. Nasal drug delivery-possibilities, problems and solutions. *J Control Release.* 2003; **87**: 187-198.
52. Özsoy Y. Particulate Carriers for Nasal Administration; Chapter 8. İçinde Ravi Kumar MNV, editor. *Handbook of Particulate Drug Deliver*; 2008. pp. 1-22.
53. Callens C., Pringles E., Remon JP. Influence of multiple nasal administration of bioadhesive powders on the insulin bioavailability. *Int J Pharm.* 2003; **250**: 415-422.
54. Dondeti P., Zia H., Needham TE., Luzzi LA.; Devalopment of anew nonsurgical perfusion technique for evaluation of nasal drug delivery. *Pharmazie* 1994; **49**: 505-509.
55. Hoang VD., Uchenna AR., Mark J., Renaat K., Nobert V. Characterization of human nasal primary culture systems to investigate peptide metabolism. *Int J Pharm.* 2002; **238**: 247-256.
56. Nagai T., Suzuki Y. Therapeutics possibilities for nasal delivery; Topic In Pharm. Sci. (Eds. D. J. A. Crommelin, K. K. Midha) Medpharm Sci. Pub.; 1992. pp. 83-93.
57. Sinha VR., Trehan A. Biodegradable microspheres for protein delivery. *J Control Release* 2003; **90**: 261-280.
58. Hasçıçek C., Gönül N., Erk N. Mucoadhesive microspheres containing gentamicin sulphate for nasal administration: preparation and in vitro characterization. *IL Farmaco* 2003; **58**: 11-16.
59. Eroğlu H., Kaş S. H. Nazal yolla ilaç uygulanması. *FABAD J Pharm Sci.* 2000; **25**: 43-51.
60. Behl CR., Pimplaskar HK., Sileno AP., Meireles J., Romeo VD. Effect of physicochemical properties and other factors on systemics nasal drug delivery. *Adv Drug Devliver Rev.* 1998; **29**: 89-116.
61. Arora P., Sharma S., Garg S. Permeability issues in nasal drug delivery. *Drug Discov Today* 2002; **7**: 967-975.

62. Cornaz AL., Buri P. Nasal mucosa as an absorption barrier. *Eur J Pharm Biopharm.* 1994; **40**: 261-270.
63. Yıldız A., Özsoy Y. Nazal yol ile ilaç uygulamaları. *Güncel Eczacılık* 2003; **115**: 19-23.
64. Hussain A., Dakkuri A., Itoh S. Nasal absorption of ondasetron in rats: An alternative route of drug delivery. *Cancer Chemoth Pharm.* 2000; **45**: 432-434.
65. Kenneth S. E. S. Intranasal delivery of peptides and proteins. *Pharm Int.*; 1986; **7**: 8-11.
66. Sarkar M. A. Drug metabolism in the nasal mucosa. *Pharm Res.* 1992; **9**: 1-9.
67. Krishnamoorthy R., Mitra AK. Prodrugs for nasal drug delivery. *Adv Drug Deliver Rev.* 1998; **29**: 135-146.
68. Putz R., Pabst R. *Sobotta Atlas of Human Anatomy.* 12nd ed., USA: 1. Williams and Wilkins a Waverly Company; 1997.
69. Martin E., Schipper NGM., Verhoef C., Merkus FWHM. Nasal mucociliary clearance as a factor in nasal drug delivery. *Adv Drug Deliver Rev.* 1998; **29**: 13-38.
70. Illum L. *Nasal delivery of peptides, factors affecting nasal absorption, Topics In Pharmaceutical Sciences:* Stuttgart: Medpharm Sci. Pub.;1992. pp. 71-81.
71. Ansel HC., Popovich NG., Allen LV. *Ophtalmic, nasal, otic and oral preparations applied topically, Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems:* USA: Williams and Wilkins;1995. pp. 396-423.
72. Kublik H., Vidgren MT. Nasal delivery systems and their effect on deposition and absorption. *Adv Drug Deliver Rev.* 1998; **29**: 157-177.
73. Şenel S., Hıncal AA. Peptit / Protein ilaçların bukkal ve nazal yollardan absorpsiyonunda penetrasyon artırıcıların kullanımı. *FABAD J Pharm Sci.* 1994; **19**: 167-177.
74. *European Pharmacopeia.* 3rd Ed. Fransa:1997. pp.129-131, 1709-1710.
75. Anlar Ş., Çapan Y., Hıncal AA. Biyoadhesiv salım sistemleri II. Mukus ile polimer arasındaki biyoadhesiv kuvvetin tayininde kullanılan deneysel metodlar ve biyoadhesiv dozaj formları. *FABAD J Pharm Sci.* 1992; **17**: 277-297.
76. Jimenez-Castellanos R., Zia H., Rhodes CT. Mucoadhesive drug delivery systems. *Drug Dev Ind Pharm.* 1993; **19**: 143-194.

77. Gürsoy A., Bayhan A.; Testing of drug release from bioadhesive vaginal tablets. *Drug Dev Ind Pharm.* 1992; **18**: 203-221.
78. GU JM., Robinson JR., Leung SH. Binding of acrylic polymers to mucin/epitelial surfaces: structure property relationships. *Crit Rev Ther Drug* 1998; **5**: 21-67.
79. Çapan Y. Mukozaya Yapışan Sistemler. İçinde Gürsoy A, editor. *Kontrollü Salım Sistemleri*. İstanbul: Elma Bilgisayar Basım ve Ambalaj San. Tic. Ltd. Şti.; 2002. pp. 177-196.
80. Pişkin E. Mikrokapsüller ve mikroküreler. İçinde Gürsoy A., Pişkin E., Dortunç B., Peppas NA., editors. *Kontrollü ilaç serbestleştirilen sistemler*. İstanbul: Tekno Grafik ve Ada Ofset;1989. pp. 120-152.
81. Nagai T.; *Design and formulation of bioadhesive drug delivery* “Minutes” 5 th International Pharmaceutical Technology Symposium, New Approaches to Controlled Drug Delivery; (Editors. Hıncal AA., Kaş HS., Şumnu M.) Hacettepe University; Ankara; 1990. pp. 99-107.
82. Illum L., Watts P., Fisher AN., Gill IJ., Davis SS. Novel chitosan-based delivery systems for the nasal administration of a LHRH-analogue. *STP Pharma Sciences* 2000; **10**: 89-94.
83. Ugwoke MI., Sam E., Mooter GVD., Verbeke N., Kinget R. Nasal mucoadhesive delivery systems of the antiparkinsonian drug, apomorphine: Influence of drug loading on in vitro and in vivo release in rabbits. *Int J Pharm.* 1999; **181**: 125-138.
84. Morath LP. Microspheres as nasal drug delivery systems. *Adv Drug Deliver Rev.* 1998; **29**: 185-194.
85. Vasir JK., Tambwekar K., Garg S. Bioadhesive microspheres as a controlled drug delivery system. *Int J Pharm.* 2003; **255**: 13-32.
86. Bjork E., Edman P. Degradable starch microspheres as a nasal delivery system for insulin. *Int J Pharm.* 1988; **47**: 233-238.
87. Kaş HS. İlaç taşıyıcı partiküler sistemler. İçinde Gürsoy AZ, editor. *Kontrollü salım sistemleri*. İstanbul: Elma Bilgisayar ve Ambalaj San. Tic. Ltd. Şti.; 2002. pp. 65-102.
88. Ryden L., Edman P.. Effect of polymers and microspheres on the nasal absorption of insulin in rats. *Int J Pharm.* 1992; **83**: 1-10.

89. Lim ST., Forbes B., Berry DJ., Martin GP., Brown MB. In vivo evaluation of novel hyaluronan/chitosan microparticulate delivery systems for nasal delivery of gentamicin in rabbits. *Int J Pharm.* 2002; **231**: 73-82.
90. Illum L., Farraj H., Critchley H., Daviz SS., Johansen BR., O'Hagan DT. Investigation of nasal absorption of biosynthetic human growth hormone in sheep-use of bioadhesive microsphere delivery system. *Int J Pharm.* 1990; **63**: 207-211.
91. Vivien N., Buri P., Balant L., Lacroix S. Nasal absorption of metoclopramide administered to man. *Eur J Pharm Biopharm.* 1994; **40**: 228-231.
92. Morimoto K., Katsumata H., Yabuta T., Iwanaga K., Kakemi M., Tabata Y., Ikada Y. Evaluation of gelatin microspheres for nasal and intramuscular administrations of salmon calcitonin. *Eur J Pharm Sci.* 2001; **13**:179-185.
93. Haris AS., Svensson E., Wagner ZG., Lethagen S., Nilson IM. Effect of viscosity on particule size, deposition and clearance of nasal delivery systems containing desmopressin. *J Pharm Sci.* 1988; **77**: 405-408.
94. Morath LP., Edman P. Dextran microspheres as a potential nasal drug delivery system for insuline- in vitro and in vivo properties. *Int J Pharm.* 1995; **124**: 37-44.
95. Farraj NF., Jöhanzen BR., Davis SS. Illum L.; Nasal administration of insulin using bioadhesive microspheres as a drug delivery system. *J Control Release* 1990; **13**: 253-261.
96. Vyas SP., Bhatnagar S., Gogol PJ., Jain NK. Preparation and characterization of HAS-propranolol microspheres for nasal administration. *Int J Pharm.* 1991; **69**: 5-12.
97. Yıldız A., Okyar A., Baktır G., Araman A., Özsoy Y. Nasal administration of heparin-loaded microspheres based on poly (lactic acid). *IL Farmaco* 2005; **60**: 919-924.
98. Özsoy Y., Güngör S., Ertürk S. Characteristics of ondansetron HCl loaded poly (D,L-Lactid) and polylactide-co-glycolide microspheres prepared by spray drying technique. 15th International Symposium on Microencapsulation. Parma; Italy; Sept.; 2005. pp. 18-21.

99. Alpar HO, Eyles JE., Williamson ED. Somavarapu. Intranasal vaccination againsts plague, tetanus and diphtheria. *Adv Drug Deliver Rev.* 2001; **51**: 173-201.
100. Davis SS. Further developments in nasal drug delivery. *Pharm Sci Technol to.* 1999; **2**: 265-266.
101. Davis SS. Nasal vaccines. *Adv Drug Deliver Rev.* 2001; **51**: 21-42.
102. Illum L., Jenkins P. New developments in nasal vaccine delivery. *Pharm Sci Technol to.* 1999; **2**: 129-131.
103. Partidos CD. Intranasal vaccines: forthcoming challenges. *Pharm Sci Technol to.* 2000; **3**: 273-281.
104. Alpar HO., Özsoy Y., Bowen J., Eyles J., Conway BR., Williamson ED. Potential of particulate carriers for the mucosal delivery of DNA vaccines. *Biochem Soc T.*1997; **25**: 337S.
105. Illum L., Jabbal-Gill I., Hinchcliffe M., Fisher AN., Davis SS. Chitosan as a novel nasal delivery system for vaccines. *Adv Drug Deliver Rev.* 2001; **51**: 81-96.
106. Illum L. Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient. *Pharm Res.* 1998; **15**: 1326-1331.
107. Dondeti P., Zia H., Needman EH. Bioadhesive and formulation parameters affecting nasal absorption. *Int J Pharm.* 1996; **127**: 115-133.
108. Morimoto K., Tabata H., Morisaka K. Nasal Absorption of Nifedipine from Gel Preparations in Rats. *Chem Pharm Bull.* 1987; **35**: 3041-3044.
109. Ozsoy Y., Tunçel T., Can A., Akev N., Birteksöz S., Gerçeker A. In vivo studies on nasal preparations of ciprofloxacin hydrochloride. *Pharmazie* 2000; **55**: 607-609.
110. Zhou M., Donovan MD. Intranasal mucociliary clearance of putative bioadhesive polymer gels. *Int J Pharm.* 1996; **135**: 115-125.
111. Zaki NM., Awad GA., Mortada ND., Elhady SSA. Enhanced bioavailability of metoclopramide HCl by intranasal administration of a mucoadhesive in situ gel with modulated rheological and mucaciliary transport properties. *Eur J Pharm Sci.* 2007; **32**: 296-307.

112. Morimoto K., Morisaka T., Kamada A. Enhancement of nasal absorption of insulin and calcitonin using poli-acrylic acid gel. *J Pharm Pharmacol.* 1985; **37**: 134-136.
113. Merkus FWHM., Verhoef JC. Nasal drug delivery: trends and perspectives. İçinde Boyian JC., editor. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. New York; 1994: pp.191-220.
114. Doğanay T. *Modern Farmasötik Teknoloji; Kurutma*; Fersa Matbaacılık Ltd. Şti.; 2007. pp. 17-47.
115. Bertram U., Bodmeier R. Parameters affecting the drug release from in situ gelling nasal inserts. *Eur J Pharm Biopharm.* 2006; **63**: 310-319.
116. McInnes FJ., Thapa P., Baillie AJ., Welling PG., Watson DG., Gibson I., Nolan A., Stevens HNE. İn vivo evulation of nicotine lyophilised nasal insert in sheep; *Int J Pharm.* 2005; **304**: 72-82.
117. Bertram U., Bodmeier R. In situ gelling, bioadhesive nasal inserts for extended drug delivery: In vitro characterization of a new nasal dosage form. *Eur J Pharm Sci.* 2006; **27**: 62-71.
118. Taş Ç., Özkan CK., Savaşer A., Özkan Y., Taşdemir U., Altunay H. Nasal absorption of metoclopramide from different Carbopol 981 based formulations: In vitro, ex vivo and in vivo evaluation. *Eur J Pharm Biopharm.* 2006; **64**: 246-254.
119. McInnes FJ., Mahony BO., Lindsay B., Band J., Wilson CG., Hodges LA., Stevens HNE. Nasal residence of insulin containing lyophilised nasal insert formulations, using gamma scintigraphy. *Eur J Pharm Sci.* 2007; **31**: 25-31.
120. Gürsoy Z. Kontrollü Salım Sistemleri. İçinde Gürsoy Z., editor. *Farmasötik Teknoloji-Temel konular ve dozaj şekilleri*. İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği; 2004. pp. 409-421.
121. Brannon-Peppas L., Peppas N. Kontrollü Salım Sistemlerinde Kullanılan Polimerler. İçinde Gürsoy AZ., editor. *Kontrollü Salım Sistemleri*. İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği İstanbul; 2002. pp. 21-40.
122. Cui F., Qian F., Yin C. Preparation and characterization of mucoadhesive polymer-coated nanoparticles. *Int J Pharm.* 2006; **316**: 154-161.

123. El-Hamed MDA., Kellaway IW. Preparation and in vitro characterisation of mucoadhesive polymeric microspheres as intra nasal delivery systems. *Eur J Pharm Biopharm.* 1997; **44**: 53-60.
124. Shahiwala A., Misra A. Nasal delivery of levonorgestrel for contraception; an experimental study in rats. *Fertil Steril.* 2004; **81**: 893-898.
125. Altuğ N., Çelebi N., Ağabeyoğlu İ. Investigation of insulin absorption from different formulations through rabbit nasal mucosa. 4th Int. Pharm. Tech. Symp. Hacettepe University; Ankara; 12-14 Sept; 1988; Poster Abstracts, p. 36.
126. Sipahigil O., Dortunç B. Karragenin Farmasötik Teknolojideki Kullanımı. *FABAD J Pharm Sci.* 1999; **24**: 89-98.
127. Liebermann AH., Rieger MM., Banker GS. *Pharmaceutical Dosage Forms Disperse Systems.* New York: Marcel Dekker Inc.; 1989.
128. Davidson RL. *Handbook of Water Soluble Gums and Resins.* New York: McGraw-Hill Book Company; 1980.
129. Anderson AG. Carrageenan in Toothpaste. *Manuf Chemist.* 1988; **59**: 33-109.
130. Önder HN., Dortunç B. Pektinin Farmasötik Teknolojide Kullanımı. *FABAD J Pharm Sci.* 2000; **25**: 19-26.
131. Lower ES. Pectin and derived acids-Manufacture properties uses. *Seifen, Oele, Fette, Wachse* 1992; **118**: 1039-1044.
132. Remington JP. *Remington's Pharmaceutical Sciences.* 17th ed. Pennsylvania: Mack Publishing Co.; 1985.
133. Oechslein CR., Fricker G., Kissel T. Nasal delivery of ocreotide; absorption enhancement by particulate carrier systems. *Int J Pharm.* 1996; **139**: 25-32.
134. Charlton ST., Davis SS., Illum L. Evaluation of bioadhesive polymers as delivery systems for nose to brain delivery; in vitro characterisation studies. *J Cont Rel.* 2007; **118**: 225-234 .
135. Charlton S., Jones NS., Davis SS., Illum L. Distribution and clearance of bioadhesive formulations from the olfactory region in man; effect of polymer type and nasal delivery device. *Eur J Pharm Sci.* 2007; **30**: 295-302.
136. Nakamura F., Ohta R., Machida Y., Nagai T. in vitro and in vivo nasal mucoadhesion of some water-soluble polymers. *Int J Pharm.* 1996; **134**: 173-181.

137. Garcia MA., Solans C., Aramayona JJ., Fraile LJ., Bregante MA., Castillo JR. A common method for the determination of several calcium channel blockers using an HPLC system with ultraviolet detection. *Talanta*; 1998; **47**: 1245-1254.
138. ICH Harmonised Tripartite Guideline, Validation of analytical procedures: Methodology (CPMP/ICH/281/95), 1995.
139. Rowe RC., Sheskey PJ., Weller PJ. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 4th Ed. London: The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association; 2000.
140. Whistler RL. *Industrial Gums*. 2nd Ed. New York: Academic Press Inc.; 1973.
141. Bektaş A. *Nifedipinin Doğal Polimerler ile Transdermal Formülasyonlarının Hazırlanması Üzerine Çalışmalar*. İstanbul: İ. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü; Yüksek Lisans Tezi; 2004.
142. Jones DS., Woolfson AD., Brown AF., O'Neil MJ. Mucoadhesive, syringeable drug delivery systems for controlled application of metronidazole to the periodontal pocket: *in vitro* release kinetics, syringeability, mechanical and mucoadhesive properties. *J Control Release* 1997; **49**: 71-79.
143. Martinac A., Filipović-Grčić J., Voinovich D., Perissutti B., Franceschinis E.; Development and bioadhesive properties of chitosan-ethylcellulose microspheres for nasal delivery. *Int J Pharm.* 2005; **291**: 69-77.
144. Friend DR. In vitro skin permeation techniques. *J Control Release* 1992; **18**: 235-248.
145. Martin A., Swarbrick J., Cammarata A. *Physical Pharmacy, Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Science*. 3rd edition. Philadelphia: Lea&Febiger; 1983.
146. Higuchi T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid dispersed in solid matrices. *J Pharm Sci.* 1963; **52**: 1145-1149.
147. McTawish D., Sorkin EM. Verapamil and updated review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use in hypertension drugs. *Drugs* 1989; **38**: 19-76.
148. Myging N., Dahl R. Anatomy, physiology and function of the nasal cavity. *Adv Drug Deliver Rev.* 1998; **29**: 3-12.

149. Gürcan D. *Siprofloksazin'in Kitozan ile Mikro ve Nanopartiküllerinin hazırlanması ve nazal olarak uygulanması üzerine çalışmalar*. İstanbul: İ. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü; Yüksek Lisans Tezi; 2003.
150. McInnes F., Thapa P., Steven HNE. Enhanced Nasal Delivery with lyophilized inserts. İçinde Williams RO., Taft DR., McConville JT, editors. *Advanced Drug Formulation Design to optimize Therapeutic Outcomes*. London: Informa (Health Care); 2008. pp. 281-301.
151. Jones DS., Woolfson AD., Brown AF. Textural, viscoelastic and mucoadhesive properties of pharmaceutical gels composed of cellulose polymers. *Int J Pharm.* 1997; **151**: 223-233.
152. Jones DS., Woolfson AD., Brown AF., Coulter WA., McClelland C., Irwin CR. Design, characterisation and preliminary clinical evaluation of a novel mucoadhesive for the treatment of periodontal disease. *J Control Release* 2000; **67**: 357-368.
153. Ingemann M., Frokjaer S., Hovgaard L., Brondsted H. Peptide and Protein Drug Delivery Systems for Non-parenteral Routes of Administration. İçinde Frokjaer S., Hovgaard L, editor. *Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins*. Philadelphia: Taylor & Francis; 2000. pp. 189.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Özlem	Soyadı	Yenil
Doğ.Yeri	Bakırköy	Doğ.Tar.	16.04.1984
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	35183217112
Email	ozayaz1984@yahoo.com	Tel	0506 531 96 81

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2006
Lise	Pertevniyal Lisesi	2002

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi		68.75

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	69.254	68.514	67.774
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Ms Office programları	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Fakülte mezuniyeti 3. lüğü ödülü

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Dans, tiyatro, opera, spor