

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

LİPOZOMAL BUPİVAKAİN

UZMANLIK TEZİ

Dr. AYŞE DÜZLÜ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. BERRİN GÜNAYDIN

ANKARA

TEMMUZ 2012

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

LİPOZOMAL BUPİVAKAİN

UZMANLIK TEZİ

Dr. AYŞE DÜZLÜ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. BERRİN GÜNAYDIN

ANKARA

TEMMUZ 2012

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde büyük yardımları olan Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. İsmail Tuncer Değim ve Farmasötik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Murat Şüküroğlu'na teşekkür ederim.

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Uzmanlık
Programı çerçevesinde Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji ve Kimya
Anabilim Dalları işbirliğiyle ortak yürütülmüş olan bu araştırma aşağıdaki
jüri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi : .../ 07 / 2012

BAŞKAN

Prof. Dr. Mehmet AKÇABAY

Anesteziyoloji ve Reanimasyon

Anabilim Dalı Başkanı

ÜYE

Prof. Dr. Kadir KAYA
Anesteziyoloji ve Reanimasyon
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

ÜYE

Prof. Dr. Berrin GÜNAYDIN
Anesteziyoloji ve Reanimasyon
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

ÜYE

Prof. Dr. Lale KARABAYIK
Anesteziyoloji ve Reanimasyon
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

ÜYE

Prof. Dr. Merih BAYRAM
Kadın Hastalıkları ve Doğum
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

KISALTMALAR

BOS: Beyin omurilik sıvısı

CL: Konvansiyonel lipozomlar

LCL: Dolaşımda uzun süre kalan lipozomlar

HPLC: Yüksek basınçlı sıvı kromatografi

UPLC: Ultra performans sıvı kromatografi

CL: Konvansiyonel lipozom

LCL: Dolaşımda uzun süre kalan lipozomlar

MLV: Multilameller büyük kesecikler

OLV: Oligolameller büyük kesecikler

UV: Tek tabakalı kesecikler

SUV: Küçük tek tabakalı kesecikler

MUV: Orta büyüklükte tek tabakalı kesecikler

LUV: Büyük tek tabakalı kesecikler

GUV: Çok büyük tek tabakalı kesecikler

MVV: Çok veziküllü kesecikler

LA: Lokal anestezi

KVS: Kardiyovasküler sistem

MSS: Merkezi sinir sistemi

NNCA: Sodyum kanalına bağlı olmayan etkiler

g: Gravite

ml: Mililitre

µg: Mikrogram

dk: Dakika

sa: Saat

nm: Nanometre

mbar: Milibar

v: Hacim

İÇİNDEKİLER

Teşekkür	i
Kabul ve Onay	ii
Kısaltmalar	iii
İçindekiler	v
Tablolar Dizini	ix
Şekiller Dizini	x
Resimler Dizini	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Lipozom nedir?	3
2.1.1. Etki Mekanizmaları	5
2.1.2. Sınıflandırılması	6
2.1.3. Lipozom Hazırlanmasında Kullanılan Fosfolipitler	10
2.1.4. Lipozom Hazırlama Yöntemleri	11
2.1.5. Kullanım Alanları ve Avantajları	13
2.2. Lokal Anestezikler	16
2.2.1. Tarihçe	16

2.2.2. Etki Mekanizması	17
2.2.3. Kimyasal yapı ve Yapı-Aktivite İlişkisi	19
2.2.4. Farmakokinetik Özellikleri	21
2.2.4.1. Emilim	22
2.2.4.2. Dağılım	23
2.2.4.3. Atılım	23
2.2.5. Toksisite	24
2.2.5.1. Sistemik Toksisite	24
2.2.5.2. Lokal Toksisite	26
2.3. Lipozomal Bupivakain	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Laboratuvar Cihazları ve Gereçler	31
3.2. Kimyasal Maddeler	33
3.3. Deney Hazırlığı	34
3.3.1. Lipozomal Bupivakain Hazırlama Yöntemleri	34
3.3.1.1. Baz Bupivakainin Hazırlanması	34

3.3.1.2. Lipozomal Baz Bupivakainin Hazırlanması	34
3.3.1.3. Baz Bupivakain ile Lipozomal Baz Bupivakainin Hazırlanması	35
3.3.1.4. Lipozomal Bupivakain HCl'nin Hazırlanması	36
3.3.1.5. Bupivakain HCl ile Lipozomal Bupivakain HCl'nin Hazırlanması	36
3.3.2. Yapay Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) Hazırlama Yöntemi	37
3.4. Deneylerin Yapılışı	37
3.5. Analiz Hazırlığı	40
3.5.1. Hareketli Fazın Hazırlanması	40
3.5.2. Stok Çözeltilerinin Hazırlanması	41
3.5.2.1. Baz Bupivakain Stok Çözeltisi	41
3.5.2.2. Bupivakain HCl Stok Çözeltisi	41
3.5.3. Standart Kalibrasyon Çözeltilerinin Hazırlanması	41
3.5.3.1. Baz Bupivakain Standart Kalibrasyon Çözeltisi	41
3.5.3.2. Bupivakain HCl Standart Kalibrasyon Çözeltisi	42
3.5.4. Numune Çözeltilerinin Hazırlanması	42
4. BULGULAR	43

4.1. Baz Bupivakain Standart Kalibrasyon Eğrisi	43
4.2. Baz Bupivakain İçeren Numuneye Ait Kromatogramlar	45
4.3. Bupivakain HCl Standart Kalibrasyon Eğrisi	46
4.4. Bupivakain HCl İçeren Numuneye Ait Kromatogramlar	48
4.5. Analiz Sonuçları	49
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇ	60
7. KAYNAKLAR	61
8. ÖZET	70
9. SUMMARY	72
10. ÖZGEÇMİŞ	74

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Lipozomların tipleri, bileşimleri ve özellikleri	7
Tablo 2. Lipozomların yapısal özelliklerine göre sınıflandırılması	9
Tablo 3. Klinikte sık kullanılan lokal anestezikler	21
Tablo 4. Lokal anesteziklerin fizikokimyasal özellikleri	22

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Sulu kısmı lipit molekülleri tarafından oluşturulan membranla çevrilmiş mikropartiküler veya kolloidal lipit kesecikleri şeklinde olan çok tabakalı konvansiyonel lipozom	4
Şekil 2. MLV'nin kesitsel görüntüsü	9
Şekil 3. A) Bir fosfolipidin genel kimyasal yapısı B) PE ve PC'nin kimyasal yapısı	11
Şekil 4. Lipozom hazırlama yöntemlerinin şematik gösterimi	13
Şekil 5. Lokal anesteziğin kimyasal yapısı	19
Şekil 6. Baz bupivakain için HPLC yöntemiyle elde edilen kalibrasyon grafiği	44
Şekil 7. Baz bupivakain için UPLC yöntemiyle elde edilen kalibrasyon grafiği	44
Şekil 8. Bupivakain HCl için HPLC yöntemiyle elde edilen kalibrasyon grafiği	46
Şekil 9. Bupivakain HCl için UPLC yöntemiyle elde edilen kalibrasyon grafiği	47
Şekil 10. Deneylerdeki bütün çözeltilerin salınımı	49
Şekil 11. Bupivakain HCl salınımı	50
Şekil 12. Bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl salınımı	51
Şekil 13. Lipozomal baz bupivakain salınımı	52

Şekil 14. Lipozomal bupivakain salınımı	53
Şekil 15. Baz bupivakain ile lipozomal baz bupivakain salınımı	53

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Rotavapor cihazı	35
Resim 2. Su banyosu (37 °C'ye ayarlı) ve su içine batabilen çoklu manyetik karıştırıcı	39
Resim 3. Baz bupivakain içeren numuneye ait HPLC kromatogramı	45
Resim 4. Baz bupivakain içeren numuneye ait UPLC kromatogramı	44
Resim 5. Bupivakain HCl içeren numuneye ait HPLC kromatogramı	48
Resim 6. Bupivakain HCl içeren numuneye ait UPLC kromatogramı	48

1. GİRİŞ

Postoperatif ağrının azaltılmasında cerrahi kesi yerine basit bir lokal anestezi infiltrasyonunun bile laparoskopik kolesistektomi, inguinal herni onarımı gibi operasyonlardan sonra etkin olarak katkı sağladığı gösterilmiştir (1,2). Ancak göreceli olarak küçük moleküllü bu lokal anestezi molekülleri hızla damar duvarlarını geçerek enjeksiyon bölgesinden uzaklaştığı için uzun etkili lokal anestezikler kullanılmasına rağmen analjezi süresi kısıtlıdır. Bu nedenle etki süresini uzatarak bu ihtiyaca cevap verebilmek için uzun etkili bir lokal anesteziğin lipozom içinde enkapsülasyonu gündeme gelmiştir. İntravenöz enjeksiyon sonrası enkapsüle ilaçların biyodağılımını modifiye eden lipozomlar bu amaçla kullanılmıştır (3). Tavşanlarda multilameller lipozomlarda enkapsüle edilen bupivakainin nöbet, aritmi ve asistol gibi toksik etkiler açısından güvenlik marjının daha iyi olduğu gösterilmiştir (4).

Sıçanlarda, tavşanlarda ve farelerde analjezik etkisi nedeniyle lipozomal bupivakain ile yapılan deneysel araştırmalarda yara yerine infiltrasyon, intrasisternal veya subkutan uygulamanın nörotoksik yan etkileri araştırılmıştır (5-8). Sıçanlarda yara yerine multilameller lipozomal bupivakain infiltre edildiğinde analjezi süresini uzattığı gösterilmiştir (5). Tavşanlarda intrasisternal uygulanan multilameller lipozomal bupivakainin daha az sempatik blok yaptığı belirlenmiştir (6). Farelerde subkutan multiveziküler (MVV) lipozomal bupivakain enjeksiyonu sonrası analjezi süresinin uzadığı gösterilmiştir (7). Tavşanlarda yapılan bir çalışmada ise multilameller lipozomal bupivakainin motor blok etkilerinin

bupivakain / lipozomun içeriğindeki lipid oranıyla, hemodinamik değışikliklerin de bupivakainin dozuyla değıştiğı gösterilmiştir (8).

Bu araştırmalardan yola çıkarak bupivakainin analjezik etkisinden daha uzun süre faydalanabilmek için in vitro koşullarda multilameller lipozomal bupivakain hazırlayarak yapay beyin omurilik sıvısı (BOS) içindeki salınım sürelerini göstermeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lipozom nedir?

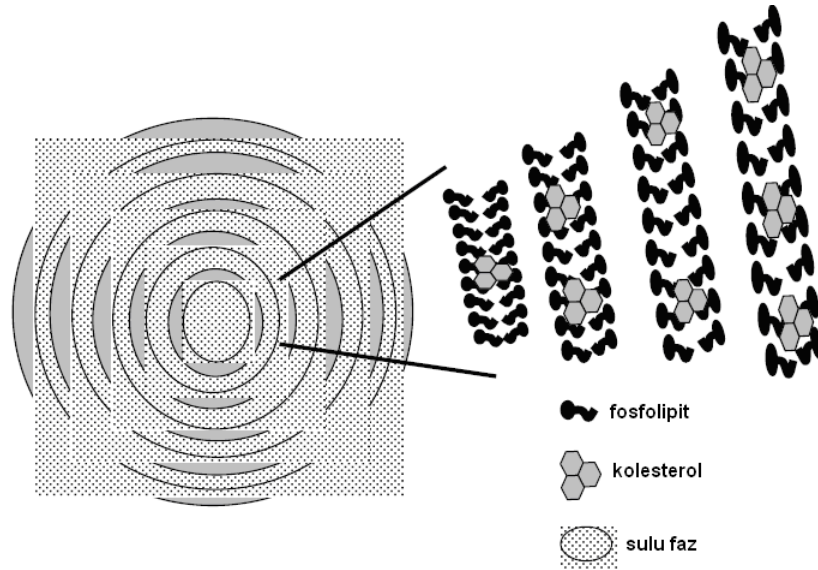
“Nanoteknoloji” ve özellikle “nanotıp” biyolojik sistemlerin nanometrik seviyede incelenmesi sonucu yapılacak deneysel ve klinik çalışmalarla dünya genelinde milyonlarca hastayı etkileyen tıbbi problemlere benzersiz çözümler sağlamayı amaçlayan sağlık bilimlerinin yeni bir disiplini. Son iki üç dekatta bu sahadaki önemli gelişmeler özellikle tümöral doku için yeni ilaç taşıyıcı sistemlerin bulunması ile sonuçlanmış ve bu yeni formülasyonların klinik kullanımı onaylanmıştır (9). Bugüne kadar klinik kullanım için daha çok lipozomal formülasyonların ve polimer-ilac bileşiklerinin yer aldığı yaklaşık 30 tane nanoteknoloji bazlı ürün onay almıştır (10, 11).

Yaklaşık 40 yıl önce *Bangham* ve arkadaşları, fosfolipitler hidrate edildiğinde veya sulu ortamda dağıtıldıklarında oluşan mikroskobik, küresel kesecikleri lipozom olarak tanımlamışlardır (12). İlk keşfedildiği yıllarda biyolojik membran özellikleri ile ilgili çalışmalarda kullanılmış olan lipozomlar, günümüzde başta ilaç taşıyıcı sistem olmak üzere birçok bilim dalında farklı kullanım alanlarına sahiptir (13).

Lipozom veziküllerinin çapları nanometre ile mikrometre boyutları arasında değişiklik gösterir. Lipozomlar, biyogeçimli ve biyoparçalanabilir özellikteki lipid içerikleri sayesinde hücre membran yapısına benzerlik gösterir ve benzerlik derecesi çeşitli kimyasal modifikasyonlarla artırılabilir. Bu özellikleri

sayesinde, ilaç hedeflendirme çalışmalarında ve immün modülasyonda yaygın olarak kullanılırlar (14, 15).

Lipozomların içine hapsedilen ilacı (enkapsülasyon) taşıyabilecek üç bölgesi mevcuttur. İlaç molekülü fosfolipit tabakaya (lipofilik etkin maddeler), sulu kısma (hidrofilik etkin maddeler) veya su-lipit ara yüzeyine (peptit ve küçük proteinler) hapsedilerek taşınabilir. Böylece hem lipofilik hem de hidrofilik etkin maddeler hatta orta derecede lipofiliteye sahip etkin maddeler lipozom şeklinde formüle edilebilir (12, 16, 17).



Şekil 1. Sulu kısmı lipit molekülleri tarafından oluşturulan membranla çevrilmiş mikropartiküler veya koloidal lipit kesecikleri şeklinde olan çok tabakalı konvansiyonel lipozomun kesitsel görüntüsü (12)

İlaçların etkinliği sistemik toksisiteleri ve terapötik konsantrasyonlarını sürdürmedeki yetersizlikleri nedeniyle sınırlandığından devamlı ilaç taşıyıcı sistemler oldukça faydalıdır. Nano taşıyıcılarla ilaç birleşimi hem ilacı etki yerine

taşıması sırasında hem de vücudu proteinin sistemik maruziyetine karşı korur (18).

Lipozomlar (lipit vezikülleri) sulu bir çevreden meydana gelen mikron genişliğinde keselerdir. Lipozomun ilaç taşıyıcısı olarak kullanılması 1950'lerin ortalarında başlamıştır (19). Kesenin duvarları hayvan hücre membranları ile benzer özellikte iç hidrofilik kompartmana izin veren lipit bir tabaka içerirler (19-21). Bunlar canlı dokuya uyum sağlayabilen, metabolik olarak geri dönüşümlü lipitte çözünen ilaçları lipit tabakası içinde daha yaygın olarak suda çözünen ilaçları da iç hidrofilik ortamında taşıyabilen taşıyıcılardır.

Bölgesel uygulandıklarında lipozomlar enjeksiyon tarafında kalırken, ilacı çevreleyen dokuya ve vücut boşluğuna yavaşça yayılır. İlacın doku ve vücut boşluğundan klirensi plazmadan klirensine göre daha yavaş olup, çok yüksek ve sürekli rejyonel konsantrasyonlar oluşmasına fakat çok düşük seviyede sistemik maruziyete neden olur.

2.1.1. Etki Mekanizmaları

Lipozomlar başlıca 5 yolla etki gösterirler.

1. Füzyon: Lipozomun en dış tabakasının hücre membranıyla birleşmesidir.
2. Adsorbsiyon: Lipozomun hücre yüzeyine sıkıca tutunmasıdır.
3. Lipit değişimi: Hücre membran yapısındaki lipitlerin, lipozom yapısında bulunan lipitlerle karşılıklı değişimidir.

4. Endositoz: Hücre yüzeyine temasta bulunan lipozomların fagositoz yoluyla hücre içine alınmasıdır.
5. Hücre içine lipozom sızıntısı: Hücre ve lipozomun bire bir temasının sonucu olarak lipozomların hücre içine girişi söz konusu olur. Bu giriş lipozomların serum albumini ve lipoproteinler ile etkileşimi sonucunda meydana gelir (22).

2.1.2. Sınıflandırılması

Lipozomlar; konvansiyonel lipozomlar (CL), pH-duyarlı lipozomlar, katyonik lipozomlar, dolaşımda uzun süre kalan lipozomlar (LCL) ve immünolipozomlar olmak üzere gruplara ayrılarak bileşimlerine ve ilaç taşıma özelliklerine göre sınıflandırılırlar (Tablo 1) (23).

Tablo 1. Lipozomların tipleri, bileşimleri ve özellikleri (23)

Tip	Bileşim	Özellikler
Konvansiyonel Lipozomlar (CL)	Nötral veya negatif yüklü fosfolipitler ve kolesterol	-Kısa yarı ömür Retikülo endotelial sistem (RES) tarafından hızla alınır -RES'e hedeflendirme için uygun -Doza bağlı farmakokinetik
pH-duyarlı Lipozomlar	Fosfatidil etanolamin (PE) veya dioleoil fosfatil etanolamin (DOPE) gibi fosfolipitler ayrıca kolesterol hemisüksinat (CHEMS) veya oleik asit (OA)	-Zayıf bazların ve makromoleküllerin hücre içine taşınması için uygun -Dağılımı ve farmakokinetiği CL'ye benzer
Katyonik Lipozomlar	Katyonik lipitler DDAB (dioktodesil dimetilamonyumbromid), DOGS (dioktodesil amigdoglisin spermin), DOSPA (2,3-dioleiloksi-N-[2 (spermin-karboksiamido) etil]-	-Negatif yüklü makromoleküllerin taşınması için uygun (DNA, RNA, vb) -Yapısal olarak stabil değil -Yüksek dozlarda toksik

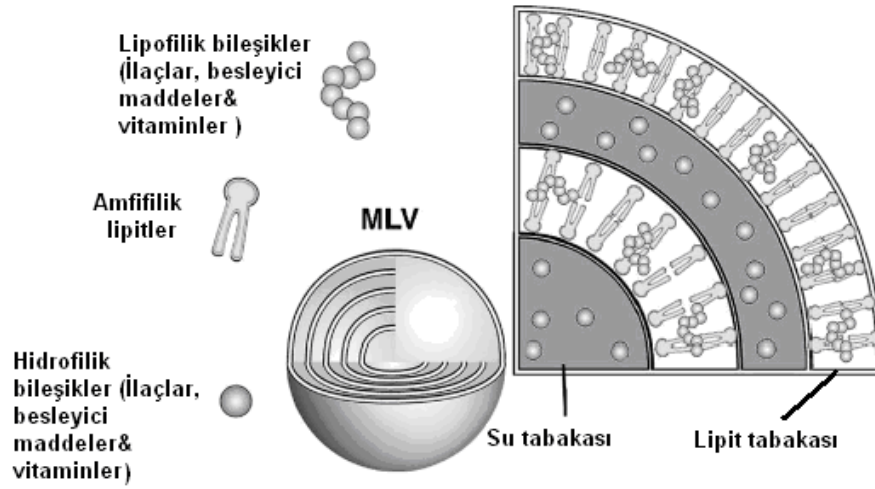
	N,N-dimetil-1-propan aminyumtrifloroasetat)- ,vb)	-Lokal kullanımı sınırlı
Dolaşımda uzun süre kalan lipozomlar (LCL)	Nötral yüksek camsı geçiş sıcaklığına sahip lipitler Kolesterol + % 5-10 PEG (poli etilen glikol)-DSPE (kuru katı polimer elektroliti), GM1 (galaktozil-N- asetilgalaktozaminil-(N- asetilnöroaminil)- galaktozilglikozil seramid) veya HPI (hidrojene fosfatidil inozitol)	-Hidrofilik yüzey kaplama -RES tarafından alımı zor -Dolaşımda kalış süresi uzun -Doza bağlı farmakokinetik
İmmünlipozomlar	Antikora bağlı CL veya LCL	-Hücreye spesifik bağlanma -Hedef doku çevresinde salınım

Ayrıca lipozomlar yapısal özelliklerine göre de sınıflandırılırlar (Tablo 2) (23, 24).

Tablo 2. Lipozomların yapısal özelliklerine göre sınıflandırılması (23, 24)

Kısaltma	Adı	Boyutu
MLV	Multilameller Büyük Kesecikler	> 0,5 μ m
OLV	Oligolameller Kesecikler	0,1-1 μ m
UV	Tek Tabakalı Kesecikler	Her boyutta olabilir
SUV	Küçük Tek Tabakalı Kesecikler	20-100 nm
MUV	Orta Büyüklükte Tek Tabakalı Kesecikler	-
LUV	Büyük Tek Tabakalı Kesecikler	> 100 nm
GUV	Çok Büyük Tek Tabakalı Kesecikler	Çapları 1 μ m'den büyük
MVV	Çok Veziküllü Kesecikler	Genellikle 1 μ m'den büyük

Multilameller büyük kesecik tipi lipozomun kesiti Şekil 2'de gösterilmiştir (25).



Şekil 2. MLV'nin kesitsel görüntüsü (25)

2.1.3. Lipozom Hazırlanmasında Kullanılan Fosfolipitler

1. Kolin içeren fosfolipitler

Lesitin

Sfingomiyelin

Eter bağlanmış fosfatidil kolin

2. Yapısında doğal olarak fosfatidil bulunan fosfolipitler

Fosfatidil kolin (PC)

Fosfatidil-etanolamin (PE)

Fosfatidilserin (PS)

Fosfatidilgliserol (PG)

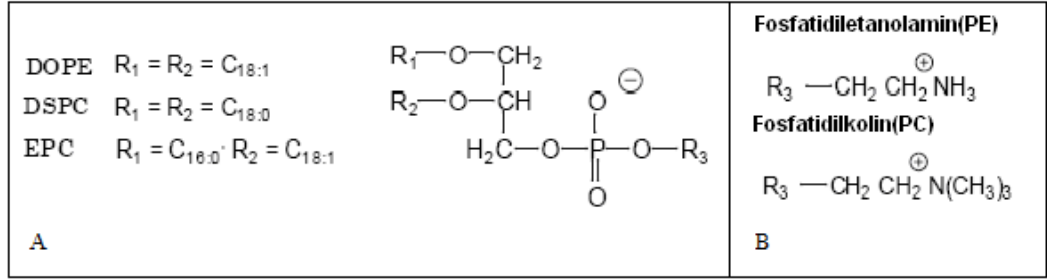
Fosfatidilasit (PA)

Fosfatidilinozitol (PI)

3. Değişik yağ asitleri içeren fosfolipitler

Lizolesitin

Kardiyolipin (14, 26)



Şekil 3. A) Bir fosfolipidin genel kimyasal yapısı B) PE ve PC'nin kimyasal yapısı

DOPE: Dioleoilfosfatidil-etanolamin

DSPC: Disteroil fosfatidil kolin

EPC: Yumurta sarısı lesitini

PE: Fosfatidil-etanolamin

PC: Fosfatidil kolin

2.1.4. Lipozom Hazırlama Yöntemleri

Lipozomlar; mekanik dispersiyon, solvan dispersiyon ve deterjanda çözme gibi farklı yollarla hazırlanabilir (14, 24).

1. Mekanik dispersiyon

- Elle çalkalama yöntemi: Cam balonun çeperlerinde oluşan lipit film, sulu faz eklendikten sonra elle çalkalanarak süspande edilir.

Bu yöntemle MLV'ler hazırlanır.

- Çalkalamadan hazırlama: Lipit film kuruduktan sonra, 15 dk boyunca suyla doymuş azot püskürtülür, böylece çalkalamadan sulu ortamda şişmesi sağlanır.

Bu yöntemle LUV'ler hazırlanır.

- Pro-lipozom hazırlama yöntemi

Bu yöntemle MLV'ler hazırlanır.

d. Dondurup-kurutma yöntemi

Bu yöntemle MLV'ler hazırlanır.

e. Lipit hidrasyon yöntemi

f. Mikro-fluidizer yöntemi

Bu yöntemle mikroemülsifiye lipozomlar (MEL) hazırlanır.

g. Sonikasyon yöntemi

Bu yöntemle SUV'ler hazırlanır.

Probe sonikasyon

Sonikasyon banyosu

h. Membran ekstrüzyon yöntemi

i. Kurutulmuş-rekonstitüe lipozom hazırlama yöntemi (DRV)

j. Dondurma-çözme sonikasyon yöntemi (FTS)

k. pH ile indüklenen vezikül oluşumu

l. Kalsiyum ile indüklenen füzyon

Bu yöntemle LUV'ler hazırlanır.

2. Solvan dispersiyon yöntemi

a. Etanol enjeksiyon yöntemi

Bu yöntemle SUV'ler hazırlanır.

b. Eter enjeksiyon yöntemi

c. s/y emülsiyonu oluşturma yöntemi

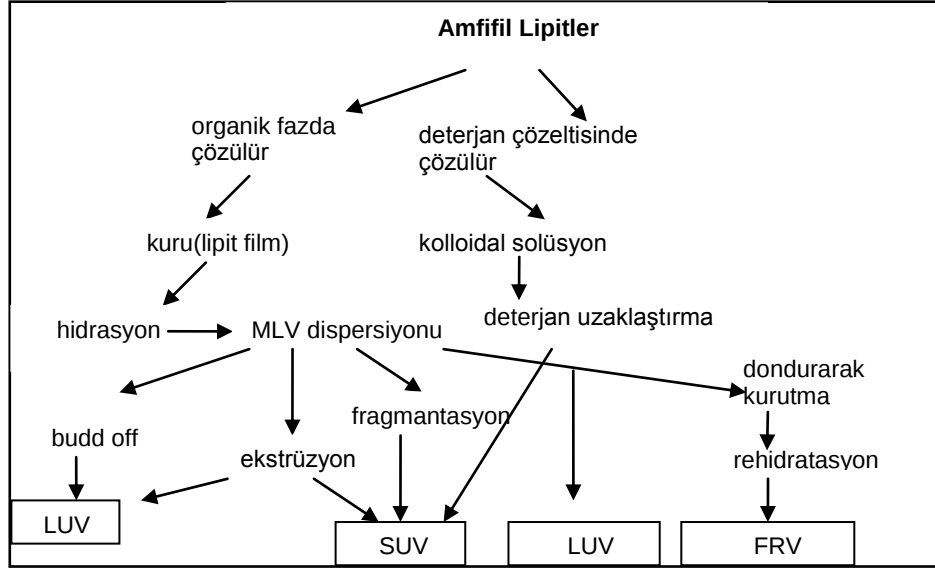
Bu yöntemle hücre büyüklüğünde veziküller ve MVL'ler hazırlanabilir.

d. Ters faz buharlaştırma yöntemi

Bu yöntemle REV'ler hazırlanabilir.

3. Deterjanda çözme yöntemi (14, 24)

Lipozom hazırlama yöntemleri Şekil 4'te gösterilmiştir (26).



Şekil 4. Lipozom hazırlama yöntemlerinin şematik gösterimi (26)

2.1.5. Kullanım Alanları ve Avantajları

1. Düşük dozlarla terapötik etkinin elde edilmesine olanak sağlarlar.
2. Plazma etkin madde seviyesini istenen süre boyunca terapötik düzeyde tutabilirler ve bu sayede dozlama aralığı uzatılmış olur.
3. Yan ve toksik etkileri azaltabilirler veya tamamıyla ortadan kaldırabilirler.
4. Etkin maddenin enzimatik etkilerden korunmasını sağlarlar.
5. Kısa yarı ömre sahip maddelerin yarılanma ömrünü uzatırlar.
6. Hem lipofilik hem de hidrofilik özellikteki maddeleri taşıma özelliğine sahiptirler.

7. İlacı hedeflendirmek için kullanılabilirler. Lipozomlar, içine hapsedilmiş etkin maddelerin farmakokinetik özelliklerini değiştirirler.

8. Lipozomun içine hapsedilmiş etkin maddenin emilim, dağılım ve eliminasyon özellikleri serbest etkin maddeden tamamıyla farklıdır (27).

9. Lipozomlar günümüzde teşhis ve tedavide geniş klinik kullanım alanlarına sahiptir (14, 24, 27).

a. Diagnostik görüntülemeye

Bilgisayarlı tomografi: Suda ve yağda çözünen iyot bileşikleri kontrast bileşik olarak kullanılarak MLV, LUV ve MEL tipte lipozomlar hazırlanır.

Manyetik rezonans görüntüleme: Paramanyetik elementler ya da lipozomal lipitler kontrast bileşik olarak kullanılarak MLV tipte lipozomlar hazırlanır.

Radyonüklid görüntüleme: Gama (γ) ışını ya da pozitron yayan maddeler kontrast madde olarak kullanılarak MLV tipte lipozomlar hazırlanır (28).

b. Göz hastalıklarının tedavisinde: Etkin maddelerin, lipozomdan salımı, gözyaşı gibi biyolojik sıvılardaki stabilitesi, lipozomla birleşim şekli, elektrostatik özellikleri, partikül büyüklüğü dağılımı ile lipozomların yüzey özellikleri gibi değişkenler optimize edilerek oftalmik hastalıkların tedavisinde gayet olumlu sonuçlar alınabilmektedir (29).

c. Kanser tedavisinde: Kanser tedavisinde kullanılan farklı etkin maddelerin lipozom formülasyonları hazırlanmakta ve bu sayede etkin maddenin tümör bölgesinde yoğunlaşması amaçlanmaktadır (30, 31). Örneğin, beyin

- tümörlerinin tedavisinde ilaçları lipozom içine hapsetmek ve böylelikle kan-beyin engelini geçmelerini sağlamak üzere çalışmalar yapılmıştır (32).
- d. Enzim çalışmalarında: Lipozom membranının hücre membranına benzerliğinden faydalanarak enzimlerin hücre içine girişi sağlanmaktadır (33).
 - e. Paraziter hastalıkların tedavisinde: Lipozomlar özellikle mononükleer fagosit sisteminde lokalize enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır (34).
 - f. Aşılarda: Katyonik lipozomlar DNA'nın ve protein yapısındaki aşılardan vücuda verilmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca lipozom formülasyonları, hücresel bağışıklığı ve buna karşılık olarak immün cevabı artırmak için kullanılmaktadır (35- 37).
 - g. Kozmetik ürünlerde: Lipozomların tabakalı yapısı vücuttaki doğal membranlara benzerlik göstermektedir. Bu sayede, hücre membranlarının akıcılık özelliklerini değiştirerek, hücrelerle etkileşebilmektedirler. MLV lipozomları taşıdıkları etkin maddeleri 30 dakika içinde derinin stratum korneum, epidermis ve dermis tabakalarına hızla geçirerek konvansiyonel preparatlara üstünlük sağlarlar (38).
 - h. Gen tedavisinde: Lipozomlar gen tedavisinde terapötik aktiviteyi artırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (39, 40).

Lipozomların vücuda birçok yoldan verilmesi mümkündür. Bunlar; parenteral yol (intravenöz, intraperitoneal, intramüsküler, subkutan), oküler yol,

nazal yol, pulmoner yol, oral yol, transdermal yol, rektal ve vajinal yol olarak sayılabilir (24, 27).

2.2. Lokal Anestezikler

Lokal anestezikler (LA) klinikte genellikle cerrahi esnasında ve sonrasında ağrıyı azaltmak ve anestezi sağlamak ya da akut ve kronik ağrı durumlarıyla mücadele amaçlı kullanılmaktadır (41). Yavaş salımlı bupivakain formülasyonunun avantaj ve dezavantajlarını anlayabilmek için lokal anesteziklerin etki mekanizması ile sistemik ve lokal doku toksisitelerine kısaca değinilecektir.

2.2.1. Tarihçe

Koka bitkisinin Peru'dan Avrupa'ya ithalinden sonra, 1859 yılında *Albert Niemann* tarafından kokain izole edilmiştir. 1884 yılında *Karl Koller* tarafından gözde analjezik etkilerinin gösterilmesi ile klinik uygulamaya girmiştir. Kokainin klinikte hızla ve sıklıkla kullanılması sonucu görülen kokain entoksikasyonu yeni ajan arayışlarına neden olmuştur. Daha az toksik ajan olan benzokain 1900'de, prokain 1904'te *Alfred Einhorn* tarafından sentezlenmiştir (42). Prokaine klor eklenmesiyle kloroprokain oluşturulmuştur. Ester grubundaki son ajan tetrakain 1930'da sentezlenmiştir. İlk amid yapılı lokal anestezik olan lidokain 1944'te *Löfgren* tarafından sentezlenmiştir (43). Mepivakain 1957'de, prilokain 1960'da

sentezlendikten sonra uzun etkili ajan arayışları sonucunda 1963'te bupivakain keşfedilmiştir. Artikain ve etidokain 1972'de sentezlenmiştir. Bupivakain toksisitesi klinik olarak ilk kez 1966'da tanımlanmasına karşın daha az toksik olan ropivakain 1996'da, levobupivakain 1999'da klinik kullanıma girmiştir (44).

2.2.2. Etki Mekanizması

Her periferik sinir aksonu kendi hücre membranı ve aksolemmasına sahiptir. Otonomik postganglionik efferentler ve nosiseptif afferent C lifleri gibi miyelinsiz sinirler tek *schwann* hücresi kılıfı içinde birçok akson içerir. Kalın motor ve duyuşal fibrillerin çoğu, aksonal gelişim sırasında kendi aksonlarının çevresini saran özelleşmiş *schwann* hücresinin plazma membranından oluşan miyelin katman ile çevrilmiştir. Miyelin kılıfı boyunca periyodik kesintilere neden olan *ranvier* düğümleri sinirin ileti hızını büyük oranda artırır. İmpuls doğmasına ve yayılmasına hizmet eden Na^+ kanalları, miyelinli fibrillerin *ranvier* düğümlerinde yüksek konsantrasyonda bulunmakta, fakat miyelinsiz fibrillerin tüm aksonu boyunca dağılmış durumdadır (45).

İletim bloğu; sinir hücresi aksonundaki aksiyon potansiyeli oluşumunda rol alan voltaj bağımlı sodyum kanallarında sodyum akımının lokal anestezikler ile geçici olarak durdurulmasıdır. Sodyum kanalı polarizasyonda dinlenim membran potansiyelinin -40 mV üzerinde olduğu depolarizasyon fazında açık (aktif), -70 mV altında olduğu repolarizasyon fazında ise kapalı (inaktif)

pozisyonundadır. Lokal anestezi molekülü açık durumdaki sodyum kanalına ba  lanarak kanalın inaktif hale geçmesine neden olur. Bu durum bir sonraki uyarı ile hücre içine sodyum girişini ve depolarizasyonu engeller (46, 47).

Sinirdeki değişik lif tipleri lokal anestezikler ile bloğa farklı duyarlılıktadır. İnce miyelinli lifler (B, A-gama ve A-delta duyuşal lifler) en duyarlı liflerdir. Daha sonra kalın miyelinli lifler (A-alfa ve A-beta lifleri), en duyarsız olanlar ise miyelinsiz C liflerdir (48).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda kalsiyum, potasyum ve G-protein ile regüle kanalların da iletim bloğunda etkili olduğu gösterilmiştir (44, 49-51).

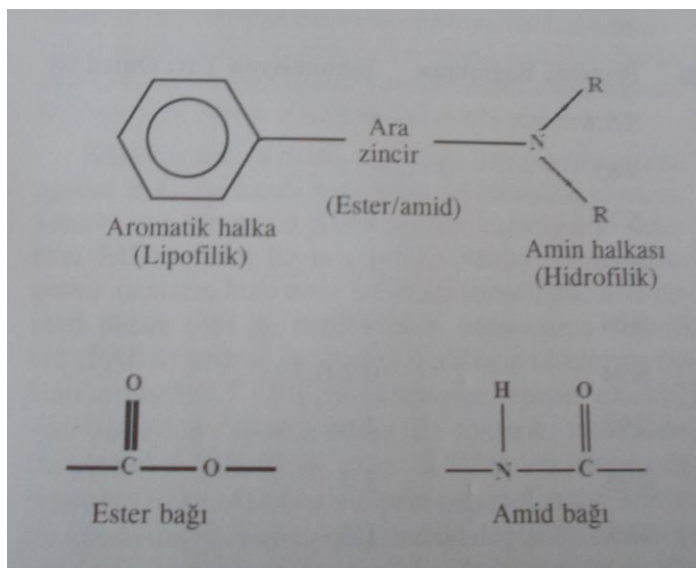
Voltaj kapılı sodyum kanalları nöronlarda ve diğer birçok elektriksel olarak uyarılabilir hücrelerin zarlarında oluşan aksiyon potansiyelinin yükselen fazından sorumludurlar (52). Lokal anestezikler bir akson içinde yeterince sodyum kanalında yer işgal edip buradaki aktiviteyi bozan, depolarizasyonu durduran ve böylece aksiyon potansiyeli oluşumunu ve sinirsel iletişimin ilerleyeşini engelleyerek sinirsel iletimi geri dönüşümlü olarak bloke eden bileşiklerdir (53). Bunu yapabilmek için lokal anesteziklerin sodyum kanallarının i   deliğine bu kanalların hücre içindeki kısmından girerek bağlanmaları gerekmektedir.

Klinikte kullanılan bütün lokal anestezi molekülleri üç kısımdan oluşmaktadır; lipofilik (aromatik) u  , hidrofilik (amin) u   ve bu uçlar arasındaki bağlantı. Bu bağlantı ya aminoester ya da aminoamid zincir içerir ve bu

bağlantıya göre lokal anestezikler aminoester-bağlı (halkalı); kokain, prokain, benzokain ya da aminoamid-bağlı (halkalı); lidokain, bupivakain, ropivakain, levobupivakain olarak ikiye ayrılmıştır (46). Aminoester halkalı lokal anestezikler doku ve kanda bulunan esteraz enzimleri tarafından hidrolize edilirken, aminoamid halkalı olanlar ise karaciğer sitokrom P450 enzimleri ile hidrolize edilirler.

2.2.3. Kimyasal Yapı ve Yapı – Aktivite İlişkisi

Tipik bir lokal anestezik molekülü yapısında üç temel fonksiyonel üniteye sahiptir. Bu üniteler; lipofilik aromatik halka, genellikle tersiyer amin yapısındaki hidrofilik amin halkası ve bu halkaları birleştiren ester veya amid yapısındaki ara zincirdir (Şekil 5) (48).



Şekil 5. Lokal anesteziğin kimyasal yapısı (48)

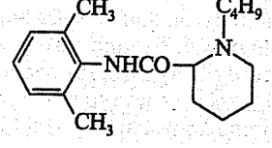
Aromatik halka molekülün lipofilik özelliklerini sağlar. Lipit çözünürlüğü bileşiğin membran lipidleri ile etkileşim eğilimini ifade eder. Sinir hücre membranı lipoprotein yapısında olduğu için aromatik halka, lokal anestezi molekülünün hücre membranından geçerek aksoplazmaya ulaşmasını sağlar. Uygulanan dozun daha fazlasının hücre içine geçmesini sağladığı için lipit çözünürlük ile ajanın etki gücü arasında pozitif korelasyon mevcuttur (54).

Amin halkası, baz yapısında proton alıcısı olan kısımdır. Molekülün hidrofilik özelliklerini belirler. Sodyum kanalının tutulmasında rol alır. Amin halkasının durumu ajanın biyolojik membranlardan geçişini belirler (46).

Ara zincir ya ester ya da amid yapısındadır ve bu yapıya göre lokal anestezi molekülleri aminoamid veya aminoester bileşikleri olarak sınıflandırılırlar. Lidokain, mepivakain, prilokain, etidokain, artikain, bupivakain, ropivakain, ve levobupivakain aminoamid grubu oluştururken kokain, prokain, kloroprokain ve tetrakain aminoester grubundaki lokal anestezi ajanlardır (47).

Bu tez araştırmasında kullanılan bupivakainin özellikleri Tablo 3'te gösterilmiştir (55).

Tablo 3. Bupivakain (55)

	Kimyasal Yapı	İlk Klinik Kullanıma Girdiği Yaklaşık Yıl	Temel Anestezik Olarak Kullanımı	Tipik Ticari Preparatlar
Bupivakain (Markain)		1963	İnfiltrasyon Periferik sinir bloğu Epidural Spinal	2,5 mg/ml solüsyon 2,5 ve 5 mg/ml solüsyon 2,5, 5 ve 7,5 mg/ml solüsyon 5 ve 7,5 mg/ml solüsyon

Bupivakain bir N-alkil piperidoksilidinin butil derivativesidir. Yapısındaki asimetric karbon atomu enantiyomerlerinin olmasına olanak sağlar (44). Etkisi yavaş başlar ve uzun sürer. İnfiltrasyon anesteziinde % 0,25’lik solüsyon kullanıldığında etki süresi 2 - 4 saattir (47). Epidural ve spinal anesteziide % 0,5 - 0,75 konsantrasyonda kullanılır. Motor blok oluşturmada analjezi % 1 konsantrasyonla oluşturulabilir. Periferik bloklarda 24 saate yakın etki süresi elde edilebilir (48).

2.2.4. Farmakokinetik Özellikleri

Lokal anestetikler zayıf baz yapısında oldukları için dolaşımda alfa-1-asid glikoproteinlere bağlanırlar. Farklı oranlarda proteinlere bağlanırlar ve bu özellikleri aynı zamanda sodyum kanallarındaki proteinlere afiniteleri ile de

korele olduğu için etki sürelerini belirleyen temel faktördür (Tablo 4) (48). Bupivakain en yüksek oranda (% 95,5) proteine bağlanan ve en uzun etkili lokal anestezik ajandır (54).

Tablo 4. Bupivakainin fizikokimyasal özellikleri (48)

	pKa	Molekül Ağırlığı (dalton)	Proteine Bağlanma (%)	Eliminasyon Yarı Ömrü (sa)
Bupivakain	8,1	288	95	3,5

2.2.4.1. Emilim

Kandaki lokal anestezik konsantrasyonu; enjekte edilen miktar enjeksiyon alanından absorpsiyon oranı, doku yayılım oranı, biyotransformasyon oranı ve spesifik ilacın atılımı ile belirlenir. Yaş, kardiyovasküler durum ve hepatik fonksiyon gibi hasta ile ilişkili faktörler fizyolojik düzenlemeyi ve lokal anesteziğin son kan konsantrasyonunu etkiler (55).

Lokal anesteziklerin sistemik emilimi enjeksiyon yerinin vaskülaritesi ile doğru orantılıdır. Damarlanması fazla olan bölgeye enjeksiyon ile emilim hızlı ve yüksek orandadır (intravenöz > trakeal > interkostal > paraservikal > epidural > brakiyal plexus > siyatik sinir > subkutan) (48).

2.2.4.2. Dağılım

Lokal anestezikler vücutta tüm dokulara dağılırlar fakat doku ve sıvılardaki konsantrasyonları lipid çözünürlük ve proteine bağlanma özelliklerine göre değişkenlik gösterir. Fazla kanlanan organlar (beyin, akciğer, karaciğer, kalp, böbrekler) başlangıçtaki hızlı alımdan sorumludurlar ve ajan konsantrasyonları yüksektir. Sonraki yavaş dağılımdan ise orta dereceli kanlanan organlar (kas, barsaklar) sorumludur. Akciğerden de atıldıkları için pulmoner damarlardan geçerken kan konsantrasyonları düşer. En yüksek oranda iskelet kasında bulunurlar (48).

2.2.4.3. Atılım

Lokal anesteziklerin metabolizma paterni kimyasal sınıflamalarına göre değişir. Ester veya prokain benzeri ilaçlar, plazmada psödokolinesteraz enzimi ile hidrolize uğrar (56, 57).

Aminoamid ilaçlar primer olarak karaciğerde enzimatik yıkılıma uğrar. Lidokain mepivakainden daha hızlı metabolize edilirken bupivakain hem lidokainden hem de mepivakainden daha yavaş metabolize edilmektedir (58).

2.2.5. Toksisite

Lokal anestezi ajanlar ile oluşan etkiler; alerjik reaksiyonlar, sistemik ve lokal toksik etkilerdir. Sistemik toksik etkiler; santral sinir sistemi etkileri, kardiyovasküler sistem etkileri ve methemoglobinemiye içerir. Lokal toksik etkiler ise nörotoksisite ve miyotoksisiteyi içeren doku toksisitesi ile oluşur (46).

2.2.5.1. Sistemik Toksisite

Lokal anesteziğin sistemik dolaşımdaki konsantrasyonu arttıkça, çeşitli kardiyovasküler sistem (KVS) ve merkezi sinir sistemi (MSS) bulguları ortaya çıkar. Kısaca MSS, lokal anestezi toksisitesine KVS'ye göre daha duyarlı olduğu için, entoksikasyon belli belirsiz MSS aktivasyonu bulgularına neden olur (terleme, kas seğirmesi ve tremor). Bunu takiben kortikal inhibitör nöronların öncelikli olarak bloke olmasına bağlı olarak tonik-klonik nöbetler olur. Daha da artan plazma seviyeleri sonrası hem inhibitör hem de uyarıcı yolakların bloke olmasına bağlı olarak tipik olarak hipoventilasyon ve koma ile seyreden yaygın bir MSS depresyonu gelişir (59). Benzer olarak lokal anesteziklerin neden olduğu kardiyotoksisitede ardışık iki evreli olaylar görülür. nce sempatik sinir sisteminin aktivasyonuna bağlı taşikardi ve hipertansiyon baskındır. Bu evreyi takiben artan plazma konsantrasyonları sonrası direkt miyokardiyal depresyon, aritmi, uzamış iletim süreleri ve son olarak kardiyovasküler kollaps gelişir (59). Lokal anesteziklere bağlı gelişen kardiyotoksisitenin fizyopatolojisi çok yönlü ve

karmaşıktır. Bupivakain Na^+ kanal blokajına bağımlı olarak kardiyak iletimi uzatır böylece PR aralığı ve QRS süresi artar.

Ayrıca, K^+ kanallarının iletkenliği üzerinde de belirgin etkisi vardır. QTc aralığını uzatır ve inaktive Na^+ kanallarının blokajını artırır ve doza-bağımlı miyokardiyal depresyon yapar (59). Bu konuda stereoselektivitenin anahtar bir patojenik rolü olduğu gösterilmiştir (59, 60). Lokal anesteziklerin R- ve S-enantiyomerlerinin farklı iyon kanalları (Na^+ , K^+ ve Ca^{+2}), için farklı derecelerde bağlanma eğilimleri vardır ve bu R-enantiyomerleri ile karşılaştırıldığında S-enantiyomerlerinde MSS ve kardiyak toksisitede önemli derecede azalmayla sonuçlanır (61, 62). Bupivakain (dekstrorotatuar ve levorotatuar enantiyomerlerin rasemik bir karışımı) ile karşılaştırıldığında, ropivakain (göreceli olarak daha yeni ve yapısal olarak bupivakaine yakın saf levorotatuar amino-amid LA) ve levobupivakain (bupivakainin saf levorotatuar bir izomeri) MSS'ye belirgin olarak daha az toksiktir zira her iki ajanın dozlarının da MSS toksisitesi aşıkâr hale gelmeden önce % 10 – 25 daha fazla olduğu gösterilmiştir (59). İlginç olarak, bupivakain diğer ajanlara nazaran daha düşük kardiyovasküler / MSS oranına sahip gibi gözükmeğtedir ve lidokaine göre aritmilere daha yatkındır (59, 63). Bütün ajanlar izotonik ve izometrik koşullarda kalp gevşemesini (lusitropi) önemli miktarda bozmasına rağmen, bupivakain ve levobupivakain ropivakaine göre daha fazla negatif lusitropik etkiye neden olmuşlardır (64). Anestezi almış köpeklerde dört farklı lokal anesteziyle yapılan artan doz aşımına bağılı gelişen kardiyak arrest sonrası resüsitasyon başarısızlığının rasemik bupivakain (% 50)

verilen hayvanlarda levobupivakain (% 30), ropivakain (% 10) ve lidokain (% 0) verilenlere göre daha yüksek olduğu görülmektedir (65).

Uzun etkili lokal anestezikler arasında sistemik toksisite profillerindeki belirgin farklılıklar göz önünde bulundurulduğunda, en toksik olan bupivakainin etki süresini uzatmak için lipozom içerisine enkapsüle edilerek pazarlanması düşünülmüştür. Şimdiye kadar yayımlanan çalışmaların erken dönem sonuçlarında görüldüğü üzere, yeni formülle aynı klinik tesiri sağlamak için saf bupivakainin üç katı dozuna çıkmak gerektiği bildirilmiştir (3).

Bununla birlikte lipozomlar intravenöz uygulama sonrası enkapsüle ilaçların biyodağılımını modifiye ederler. Tavşanlarda elde edilen deneysel veriler, multilameller lipozomlarda enkapsüle edilmiş bupivakainin, sıklıkla kullanılan ve total doz artımına bağlı olarak konvülziyon, kardiyak aritmi ve asistol gelişimine neden olan saf solüsyonlara göre daha iyi bir güvenlik marjı sağladığını göstermiştir (4).

2.2.5.2. Lokal Doku Toksisitesi

Klinik olarak lokal anestezik ilaçların lokal doku toksisitesi oluşturması nadir ve yaygın olmayan yan etkiler olarak görülmektedir. Lokal anestezik verilmesi sonrası hastalarda gelişen miyotoksik komplikasyonların rapor edildiği sadece bir kaç tane olgu sunumu yayımlanmıştır (66). Bilhassa, sürekli periferik bloklar, yara kenarlarının infiltrasyonu, tetik nokta enjeksiyonları, peribulbar ve retrobulbar bloklar sonrası oluşan klinikle uyumlu miyopati ve kas nekrozları tarif

edilmiştir (66). Ancak, lokal anesteziklerin deneysel miyotoksik etkileri çok yoğundur ve tekrarlanabilir (67). 1980 yılında *Foster* ve *Carlson* test ettikleri lokal anestezikler içinde prokainin en az ve bupivakainin ise en çok kas harabiyetine yol açtığını bildirdiler (68). Daha yakın bir zamanda *Zink* ve *ark*. ropivakainin miyotoksikite potansiyelinin bupivakainden daha az olduğu sonucuna vardılar (69). Bununla beraber her iki ilaç da sürekli periferik sinir blokları sonrası kalsifiye kas nekrozunu, skar dokusu oluşumunu ve belirgin bir kas lifleri rejenerasyon hızını içeren morfolojik olarak eş paternler oluşturdular (66). En azından deneysel şartlarda, incelenen bütün lokal anestezikler klinik konsantrasyonlarda uygulandığında, ilaca özel ve doz bağımlı toksisite oranıyla miyotoksik bulunmuştur (67). Dahası, son veriler bupivakainin sıçanlarda mitokondriyal biyoenerjiklerde değişime ve ultrayapısal kas hasarına neden olduğunu ve en ciddi değişimlerin yaşlı olanlarla karşılaştırıldığında genç hayvanlarda oluştuğunu göstermiştir (70).

Patofizyolojik olarak artmış hücre içi Ca^{+2} düzeyleri kas hücresi hasarında en önemli etken olarak görülmektedir. Farklı derecelerde, bupivakain, levobupivakain ve ropivakain klinik konsantrasyonlarında sarkoplazmik retikulumdan Ca^{+2} salınımı uyarır ve eş zamanlı olarak sarkoplazmik retikuluma Ca^{+2} geri alınımını inhibe eder, böylece sitotoksik hücre içi Ca^{+2} seviyeleri oluşur (66).

Bu nedenle incelenen bütün lokal anestezik ajanlar miyotoksik olarak gözükmemektedir; kas hasarının genişliği doz bağımlıdır ve seri ya da sürekli uygulamalar özellikle genç kaslarda daha da kötüleşmeye neden olur.

Bununla birlikte kas dokusu lokal anesteziik solüsyonla uzun süreli temas sonrası zarar gören tek yapı değildir. Gelişmekte olan nöronlarda bu ajanlar büyüme bölgesi kollapsını ve sinir dejenerasyonunu tetikleyebilir, erişkin hücrelerde ise sinir apoptozu başlayabilir (71). Dahası yakın zamanda yapılan birçok çalışmada lokal anesteziiklerin eklem kartilajında bulunan kondrositlerde kartilaj dejenerasyonuna katkıda da bulunabilecek geri dönüşümsüz hasara neden olabileceğini ortaya koymuştur. Deneysel modellerde özellikle bupivakainin derin bir kondrotoksik etkiye neden olduğu gösterilmiştir (72). Bu tartışmadaki anahtar nokta lokal anesteziiklerin doku bağımlı etkilerinin sodyum kanallarının blokajına bağılı değil, diğer bölgelerle olan etkileşime bağılı olduğudur (NNCA-sodyum kanalına bağılı olmayan etkiler) ve NNCA bilhassa çok uzun etki süreleri olan lokal anesteziik ilaçlarda daha fazla görülür, çünkü NNCA'nın etkileri baskın olarak zamana bağımlıdır (21). Örneğin; hücreler lokal anesteziiklerle dakikalar yerine saatlerce enkübe edilirse bu ajanların hücre reseptörleri ve nötrofil fonksiyonları üzerindeki inhibitör etkisi daha baskın hale gelir (50). Bupivakain, tromboksan A2 reseptörünün sinyallenmesini bir saatlik enkübasyondan sonra % 10 bloke ederken 24 saatlik enkübasyondan sonra bu oran % 75'e çıkar. Benzer şekilde nötrofillerde PAF (platelet aktive edici faktör) ile uyarılan süperoksit üretimi düşük konsantrasyonlu bupivakain ile 10 - 30 dakikalık enkübasyonda etkilenmezken, aynı konsantrasyondaki solüsyon 6 saatlik enkübasyondan sonra nötrofil fonksiyonunu % 60'dan daha fazla deprese eder. Uzun enkübasyon sonrası artmış hassasiyetin altında yatan mekanizma, lokal anesteziiklerin hücre zarındaki Gq proteinlerini zamana bağımlı olarak bloke etmeleridir (73). Bu

laboratuvar bulgularını klinik olarak düşündüğümüzde, bileşiklerin saatlerce verildiğinde ortaya çıkan ve önemsiz gibi gözüken toksik etkilerinin bu ilaçlar daha da uzun verildiğinde klinik olarak daha da abartılı olabileceğini akla getirmektedir (21). Uzamış salınımlı bupivakain formülasyonlarının bütün potansiyel analjezik uygulamaları (perinöral, intraartiküler, yara infiltrasyonu) göz önünde bulundurulduğunda, lokal doku toksisitesinin mutlaka temel bilimsel ve klinik çalışmalarla dikkatli bir biçimde incelenmesi gerekmektedir.

2.3. Lipozomal Bupivakain

Bupivakain lipozom içerisine küçük veya geniş tek tabakalı ya da çok tabakalı olmak üzere farklı şekillerde yerleştirilebilir ve lipozomun içinde bupivakain lipit tabakası ile sarılı dıştaki bölmeye yerleşir (8). Bugüne kadar bupivakainin etkinliğini ve etki süresini artırmak bununla birlikte toksisitesini ve yan etkilerini azaltmaya yönelik lipozomal formülasyonlarla çalışmalar yapılmıştır (5, 7). Lipozomların bu etkilerini lokal anesteziğin sistemik emilim hızını yavaşlatarak sağladığı düşünülmektedir (8). Bupivakainin lipozomal formülasyonlarının daha uzun motor blok süresi sağlandığı gösterilmiştir (6, 8). Bununla birlikte lipozomların metaboliti olan lesitin nörrotoksik ve sitotoksik olduğu gösterilmiştir (74, 75) ancak tavşanlarda yapılan çalışmada spinal kordda neden olduğu histopatolojik değişiklikler bakımından saf bupivakaine göre bir fark bulunmamıştır (6). Ayrıca lipozomal bupivakain saf bupivakaine göre daha

az sempatik blokaja neden olduğu için daha az hemodinamik değışikliğe neden olmaktadır (6).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji ve Farmasötik Kimya Anabilim Dalları' na ait laboratuvarlarda 1 Nisan - 31 Mayıs 2012 tarihleri arasında yapıldı.

3.1. Laboratuvar Cihazları ve Gereçler

- UPLC: Ultra performans sıvı kromatografi (UPLC Acquity H Class, Waters, ABD)
- UPLC için kullanılan;
 - Detektör ve dalga boyu: Waters Acquity UPLC PDA Detektör (Waters, ABD), 263 nm
 - Kolon: Waters, Acquity UPLC BEH C18 1,7µm (50x2,1 mm) UPLC kolonu
 - Hareketli faz: Asetonitril: NaH₂PO₄ Tamponu (0.015 M, pH=7,4) (50: 50 v/v)
 - Akış hızı: 0,4 ml/dk
 - Kolon sıcaklığı: 25 °C
- HPLC: Yüksek basınçlı sıvı kromatografi (Thermo Finnigan Surveyor HPLC Sistemi, Thermo Scientific, ABD)
- HPLC için kullanılan;
 - Detektör ve dalga boyu: Finnigan Surveyor PDA Detektör (Thermo Scientific, ABD), 263 nm

- Kolon: Agilent ZORBAX SB-CN 5 μ m (150x4,6 mm) HPLC kolonu
- Hareketli faz: Asetonitril: NaH₂PO₄ tamponu (0.015 M, pH=7,4) (50: 50 v/v)
- Akış hızı: 1 ml/dk
- Kolon sıcaklığı: 25 °C
- Rotavapor (Büchi Rotavapor R-200, Almanya)
- Sıcak su banyosu ve su içine batabilen çoklu manyetik karıştırıcı (Nüve BM 402, Türkiye)
- Ultrasonik banyo (Bandelin Sonorex, Almanya)
- Ultra saf su cihazı (Millipore Simplicity 185, Fransa)
- Santrifüj (Jouan MR 18 22, Danfoss, Slovenya)
- pH metre (İnolab, Almanya)
- HPLC hareketli faz süzme aparatı (Phenonemex, ABD)
- Hassas tartı (Shimadzu AW 320, Japonya)
- Difüzyon Franz hücresi (Çalışkan Cam, Türkiye)
- Manyetik karıştırıcı (Heindolph MR 3001, Almanya)
- Vial (Waters, ABD)
- Enjektör 2 ml (Hayat, Türkiye)
- Enjektör 10 ml (Ayset, Türkiye)
- Çeşitli cam ölçü aletleri (pipet, balon jöje v.b.) ve diğer laboratuvar malzemeleri

3.2. Kimyasal Maddeler

- Bu araştırmada çözelti olarak bupivakain hidroklorür solüsyonu (Marcaine % 0,5, AstraZeneca, Türkiye) kullanılmıştır. Bupivakainin HCl'nin bu sıvı farmasötik şekli, baz (katı) bupivakain elde edilmesinde kullanılmıştır.
- Kolesterol (Sigma, ABD)
- Dipalmitoil fosfatidil kolin (Sigma, ABD)
- Sodyum hidroksit (Merck, Almanya)
- Sodyum klorür (Sigma, ABD)
- Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Merck, Almanya)
- Disodyum hidrojen fosfat dihidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Merck, Almanya)
- Metanol (Merck, Almanya)
- Ortofosforik asit (Sigma, ABD)
- Asetonitril (Merck, Almanya)

3.3. Deney Hazırlığı

3.3.1. Lipozomal Bupivakain Hazırlama Yöntemi

3.3.1.1. Baz Bupivakainin Hazırlanması

Beher içine 20 ml % 0,5'lik bupivakain HCl solüsyonu boşaltıldı, üzerine % 10'luk sodyum hidroksit (NaOH) damla damla eklenmesi sonrası ölçülen pH'nın bazik pH'ya geçtiği ve bupivakainin çöktüğü gözlemlendi. Katı madde çözeltiden süzülerek alındı, distile su ile yıkandıktan sonra vakum ile kurutuldu.

3.3.1.2. Lipozomal Baz Bupivakainin Hazırlanması

Hacmi 100 ml olan şilifli balona; 20 mg dipalmitoil fosfatidil kolin, 20 mg kolesterol ve 50 mg baz bupivakain hassas tartıda tartılarak alındı. Üzerine 6 ml metanol ilave edildi, hafifçe sallayarak çözelti haline getirildi. Elde edilen metanollü çözelti rotavapor cihazına (Resim 1) takıldı. Kazan suyu sıcaklığı 60 °C, soğutucu suyu sıcaklığı 10 °C'ye ayarlanarak düşük basınçta (340 mbar) metanol uzaklaştırıldı. Balonda kalan kalıntı üzerine 10 ml distile su ilave edilerek homojen bir dağılım için ultrasonik banyoda 30 dk tutuldu. Lipozomların yıkanması amacıyla bu lipozom çözeltisinden 3 ml alınarak santrifüj tüpüne aktarıldı, 10000 gravite (g) devirde 15 dk santrifüj edildikten sonra tüpte ayrılan sıvı kısım mikropipet yardımıyla alınarak atıldı. Kalan katı lipozom üzerine 3 ml distile su ilave edildi. Ultrasonik banyoda 2 dk tutularak homojen karışması sağlandı ve lipozomal baz bupivakain elde edildi.



Resim 1. Rotavapor cihazı

3.3.1.3. Baz Bupivakain ile Lipozomal Baz Bupivakainin Hazırlanması

Hacmi 100 ml olan şilifli balona; 20 mg dipalmitoil fosfatidil kolin, 20 mg kolesterol ve 50 mg baz bupivakain hassas tartıda tartılarak alındı. Üzerine 6 ml metanol ilave edildi, hafifçe sallayarak çözelti haline getirildi. Elde edilen metanollü çözelti rotavapor cihazına takıldı. Kazan suyu sıcaklığı 60 °C, soğutucu suyu sıcaklığı 10 °C'ye ayarlanarak düşük basınçta (340 mbar) metanol uzaklaştırıldı. Balonda kalan kalıntı üzerine 10 ml distile su ilave edilerek homojen bir dağılım için ultrasonik banyoda 30 dk tutuldu ve baz bupivakain ile lipozomal baz bupivakain elde edildi.

3.3.1.4. Lipozomal Bupivakain HCl'nin Hazırlanması

Hacmi 100 ml olan şilifli balona; 20 mg dipalmitoil fosfatidil kolin, 20 mg kolesterol hassas tartıda tartılarak alındı. Üzerine 6 ml metanol ilave edildi, hafifçe sallayarak çözelti haline getirildi. Elde edilen metanollü çözelti rotavapor cihazına takıldı. Kazan suyu sıcaklığı 60 °C, soğutucu suyu sıcaklığı 10 °C'ye ayarlanarak düşük basınçta (340 mbar) metanol uzaklaştırıldı. Balonda kalan kalıntı üzerine bupivakain HCl % 0,5 10 ml ilave edilerek homojen bir dağılım için ultrasonik banyoda 30 dk tutuldu. Lipozomların yıkanması amacıyla bu lipozom çözeltisinden 3 ml alınarak santrifüj tüpüne aktarıldı, 10000 g devirde 15 dk santrifüj edildikten sonra tüpte ayrılan sıvı kısım mikropipet yardımı ile alınarak atıldı. Kalan katı lipozom üzerine 3 ml distile su ilave edildi. Ultrasonik banyoda 2 dk tutularak homojen karışması sağlandı ve lipozomal bupivakain HCl elde edildi.

3.3.1.5. Bupivakain HCl ile Lipozomal Bupivakain HCl'nin Hazırlanması

Hacmi 100 ml olan şilifli balona; 20 mg dipalmitoil fosfatidil kolin, 20 mg kolesterol hassas tartıda tartılarak alındı. Üzerine 6 ml metanol ilave edildi, hafifçe sallayarak çözelti haline getirildi. Elde edilen metanollü çözelti rotavapor cihazına takıldı. Kazan suyu sıcaklığı 60 °C, soğutucu suyu sıcaklığı 10 °C'ye ayarlanarak düşük basınçta (340 mbar) metanol uzaklaştırıldı. Balonda kalan kalıntı üzerine bupivakain HCl % 0,5 10 ml ilave edilerek homojen bir dağılım için ultrasonik banyoda 30 dk tutuldu ve bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl elde edildi.

3.3.2. Yapay Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) Hazırlama Yöntemi

Hassas tartıda sodyum dihidrojen fosfat dihidrattan 2,19 gram, disodyum hidrojen fosfat dihidrattan 19,1 gram ve sodyum klorürden 4,4 gram tartılarak 1 litrelik behere alındı. Üzerine 900 ml ultra saf su ilave edilerek maddeler çözüldü. Elde edilen karışımın pH değeri ortofosforik asitle $\text{pH} = 7,4 (\pm 0,1)$ olacak şekilde ayarlandı. Daha sonra çözelti 1 litrelik mezüre alınarak ultra saf su ile 1 litre hacime tamamlandı. Daha sonra naylon membran filtre ($0,45 \mu\text{m}$) kullanılarak vakum altında süzüldü (76).

3.4. Deneylerin Yapılışı

Önce difüzyon franz hücrelerinin (hacmi: 2,5 ml, alanı: 1 cm^2) arasına membran koyuldu ve parafilm ile çevrelendi. Difüzyon franz hücrelerinin içine hava almamasına dikkat edilerek enjektörle tersten 2,5 ml yapay BOS tampon çözeltisi eklendi.

Deney 1:

Bu deneyde 3 grup oluşturuldu. Difüzyon franz hücrelerinin üzerine birer ml;

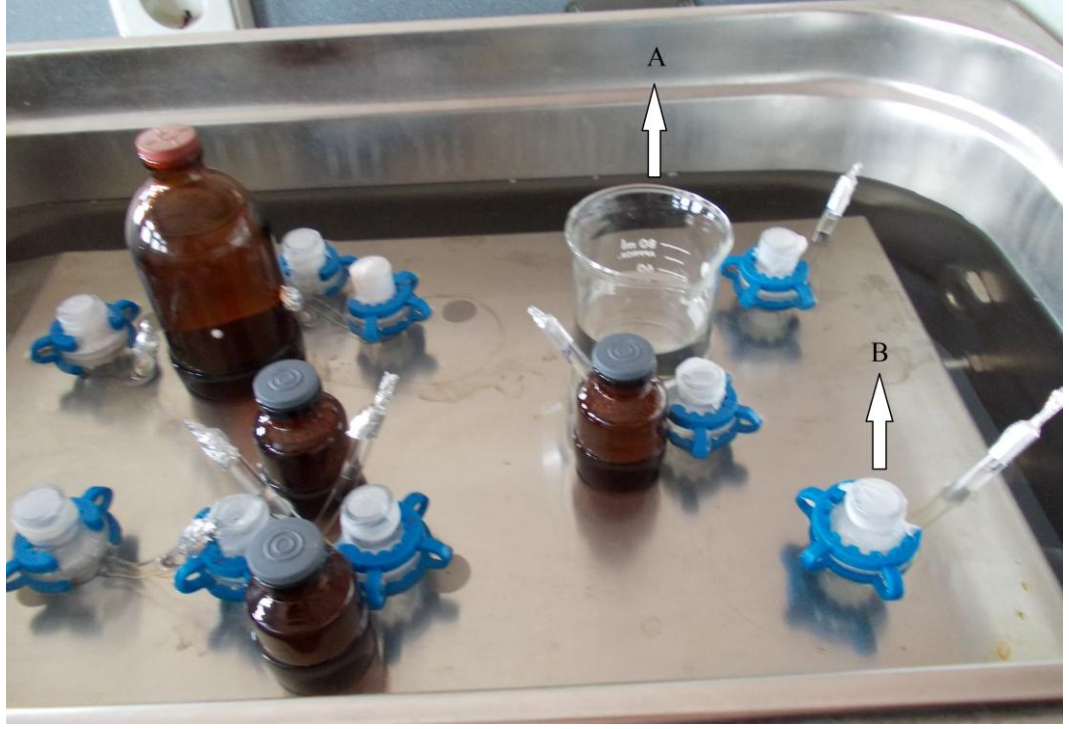
1. grup için bupivakain HCl solüsyonu
2. grup için bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl
3. grup için baz bupivakain ile lipozomal baz bupivakain konuldu ve her bir grup için 3 paralel deney yapıldı.

Deney 2:

Bu deneyde 2 grup oluşturuldu. Difüzyon Franz hücrelerinin üzerine birer ml;

1. grup için lipozomal bupivakain HCl
2. grup için lipozomal baz bupivakain konuldu ve her bir grup için 3 paralel deney yapıldı.

Her iki deney grubunda da difüzyon Franz hücrelerinin içine homojen dağılımı sağlamak amacıyla manyetik karıştırıcı atıldı, buharlaşma olmaması amacıyla uçları alüminyum folyo ile kapatıldı. Önceden 37 °C'ye ayarlanan su banyosuna konuldu. Yapay BOS tampon çözelti cam bir kap içerisinde su banyosuna konuldu (Resim 2). Gruplardan 0,5., 1., 3., 6., 12. ve 24. saatlerde 0,5 ml numune alınarak yerine 0,5 ml yapay BOS tampon çözelti eklendi. Alınan numuneler viallere konularak +4 °C'de buzdolabında saklandı.



Resim 2. Su banyosu (37 °C'ye ayarlı) ve su içine batabilen çoklu manyetik karıştırıcı

A) Yapay BOS tampon çözelti

B) Üzeri parafilm, uçları aliminyum folyo ile kapatılan difüzyon franz hücresi

3.5. Analiz Hazırlığı

Analiz için; hareketli faz, baz bupivakain ve bupivakain HCl için ayrı ayrı stok çözeltiler ve standart kalibrasyon çözeltileri hazırlandı. Numune çözeltilerinde herhangi bir işlem yapılmadan doğrudan 263 nm’de analiz edildi.

3.5.1. Hareketli Fazın Hazırlanması

Çözeltiyi 1 litre hazırlamak için ne kadar sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) tartılması gerektiği hesaplandı.

$$M = n/v$$

$$0,015 = n/1$$

$$n = 0,015 \text{ mol}$$

1 mol 156 gr ise 0,015 mol 2,34 gramdır.

Tartılacak $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ olan miktarı: $0,015 \times 156$ ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ’nun molekül ağırlığı) = 2,34 gram

Molaritesi 0.015 molar (M) olacak şekilde 2,34 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tam olarak tartıldı. Yaklaşık 980 ml ultra saf suda çözüldü. Çözeltinin pH’sı 1M NaOH çözeltisi ile $\text{pH} = 7,4 (\pm 0,1)$ ’e ayarlandı. Çözeltinin hacmi 1 litreye tamamlandı. Nylon membran filtre (0,45 μm) kullanılarak vakum altında süzüldü. Ultrasonik banyoda degaze edildi.

3.5.2. Stok Çözeltilerin Hazırlanması

3.5.2.1. Baz Bupivakain Stok Çözeltisi

Baz bupivakain 10 mg tartılarak 10 ml'lik balon jöje içerisine alındı. Üzerine bir miktar asetonitril ilave edilerek çözüldü, hacmine tamamlandı. Bu çözeltiden 1 ml (1 mg) alınarak 10 ml'lik balon jöje içerisinde 0,015 molar (pH: 7,4) NaH_2PO_4 çözeltisi ile hacmine tamamlandı (0,1 mg/ml).

3.5.2.2. Bupivakain HCL Stok Çözeltisi

Bupivakain HCl (% 0,5) solüsyonundan mikropipet ile 200 μl (1mg) alınıp 10 ml'lik balon jöje içerisinde 0,015 molar (pH: 7,4) NaH_2PO_4 çözeltisi ile hacmine tamamlandı (0,1 mg/ml).

3.5.3. Standart Kalibrasyon Çözeltilerinin Hazırlanması

3.5.3.1. Baz Bupivakain Standart Kalibrasyon Çözeltisi

Standart çözeltilerin hazırlanması için 0,1 mg/ml konsantrasyondaki baz bupivakain stok çözeltisinden 1,5 ml'lik vialler içine sırası ile; 10, 20, 40, 80, 160, 320 ve 640 μl stok çözelti alınarak hacimleri 1 ml'ye 0,015 molar (pH: 7,4) NaH_2PO_4 ile tamamlandı. Final konsantrasyonu 1, 2, 4, 8, 16, 32 ve 64 $\mu\text{g/ml}$ olan standartlar 263 nm'de HPLC ve UPLC cihazlarında analiz edilerek konsantrasyonlara karşılık gelen piklerin alanları hesaplandı.

3.5.3.2. Bupivakain HCL Standart Kalibrasyon Çözeltisi

Standart çözeltilerin hazırlanması için 0,1 mg/ml konsantrasyondaki bupivakain HCl stok çözeltisinden 1,5 ml'lik vialler içine sırası ile; 10, 20, 40, 80, 160, 320 ve 640 µl stok çözelti alınarak hacimleri 1 ml'ye 0,015 molar (pH: 7,4) NaH₂PO₄ ile tamamlandı. Final konsantrasyonu 1, 2, 4, 8, 16, 32 ve 64 µg/ml olan standartlar 263 nm'de HPLC ve UPLC cihazlarında analiz edilerek konsantrasyonlara karşılık gelen piklerin alanları hesaplandı.

3.5.4. Numune Çözeltilerinin Hazırlanması

Difüzyon Franz hücrelerinden 0,5., 1., 3., 6., 12. ve 24. saatlerde alınan 0,5 ml numune örnekleri üzerinde herhangi bir işlem yapılmadan doğrudan HPLC ve UPLC cihazlarında 263 nm'de analizleri yapılarak her bir numuneye karşılık gelen piklerin alanları hesaplanmıştır.

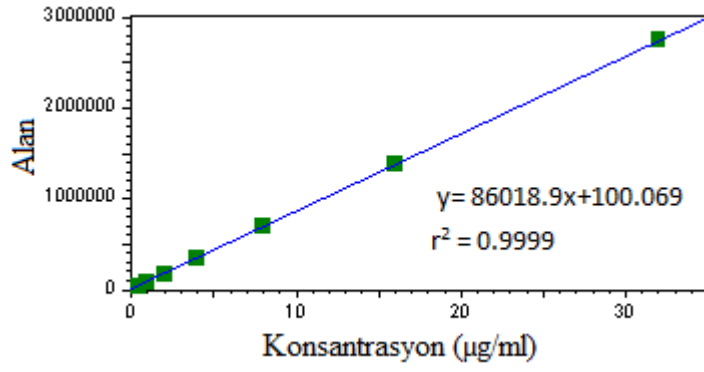
4. BULGULAR

Bupivakain HCl, lipozomal bupivakain HCl, bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl, lipozomal baz bupivakain, baz bupivakain ile lipozomal baz bupivakainin HPLC ve UPLC’ de analizleri yapılmadan önce baz bupivakain ve bupivakain HCl için HPLC ve UPLC’de ayrı ayrı standart kalibrasyon eğrileri elde edildi.

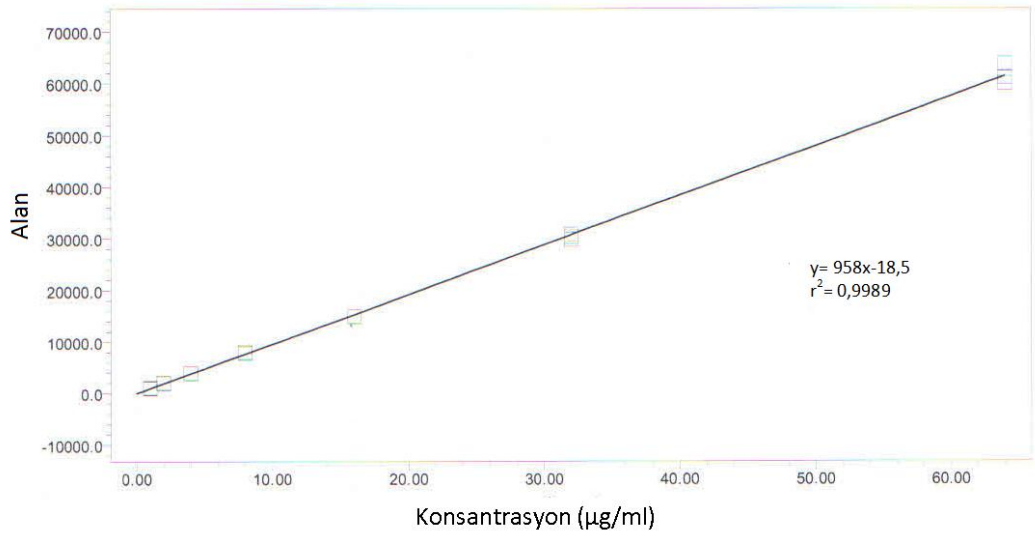
4.1. Baz Bupivakain Standart Kalibrasyon Eğrisi

Final konsantrasyonu 1, 2, 4, 8, 16, 32 ve 64 µg/ml olan bupivakain standartlarından 5 µl HPLC ve UPLC cihazlarına otomatik enjeksiyon yapıldı. Her bir standart konsantrasyonu üçer kez çalışıldı. Standart konsantrasyonlarına karşılık gelen pik alanlarının ortalaması kullanılarak standart regresyon denklemleri hesaplandı.

Baz bupivakain için HPLC ve UPLC’de elde edilen kalibrasyon grafikleri gösterilmiştir (Şekil 6 ve 7).



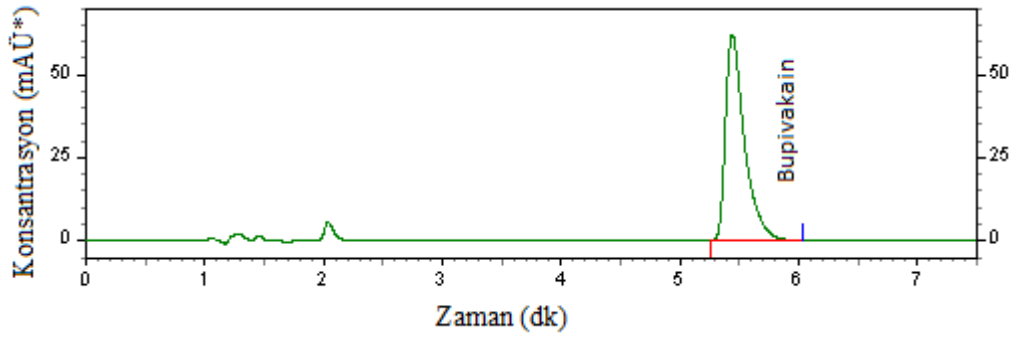
Şekil 6. Baz bupivakain için HPLC yöntemiyle elde edilen kalibrasyon grafiği



Şekil 7. Baz bupivakain için UPLC yöntemiyle elde edilen kalibrasyon grafiği

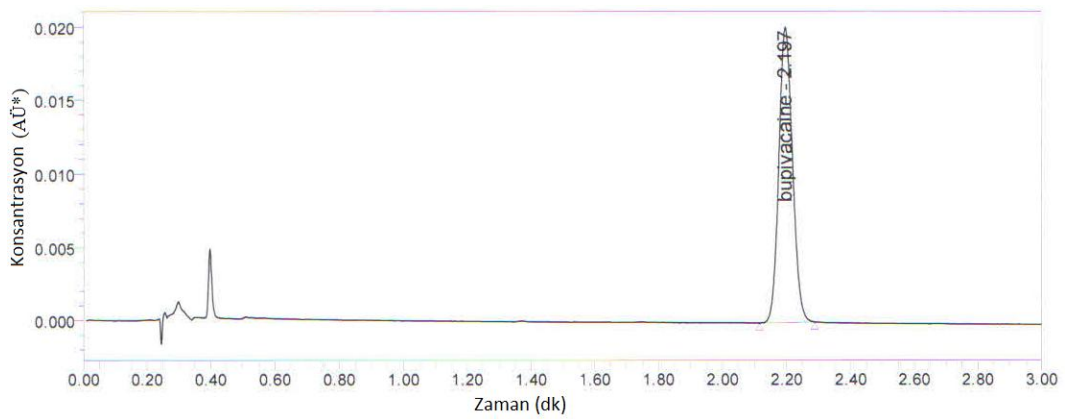
4.2. Baz Bupivakain İçeren Numuneye Ait Kromatogramlar

Baz bupivakain içeren numuneye ait HPLC ve UPLC'deki kromatogram örnekleri Resim 3 ve 4'te gösterilmiştir. Numune HPLC'de yaklaşık 5,5 dk kolon içerisinde tutulduktan sonra detektörle ölçülen bupivakain konsantrasyonu Resim 3'te, UPLC'de 2,197 dk kolon içerisinde tutulduktan sonra detektörle ölçülen bupivakain konsantrasyonu Resim 4'te gösterilmiştir.



Resim 3. Baz bupivakain içeren numuneye ait HPLC kromatogramı

*: Mili absorban ünitesi



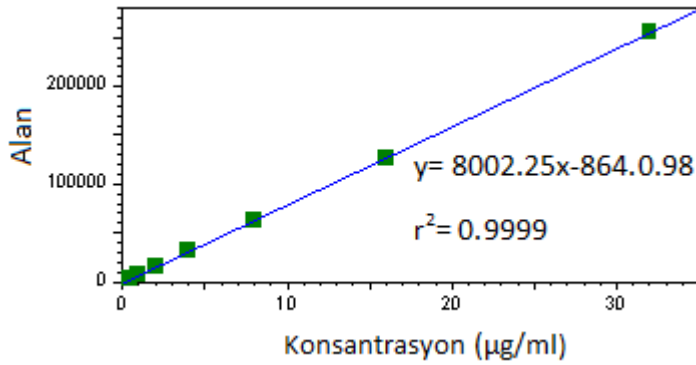
Resim 4. Baz bupivakain içeren numuneye ait UPLC kromatogramı

*: Absorban ünitesi

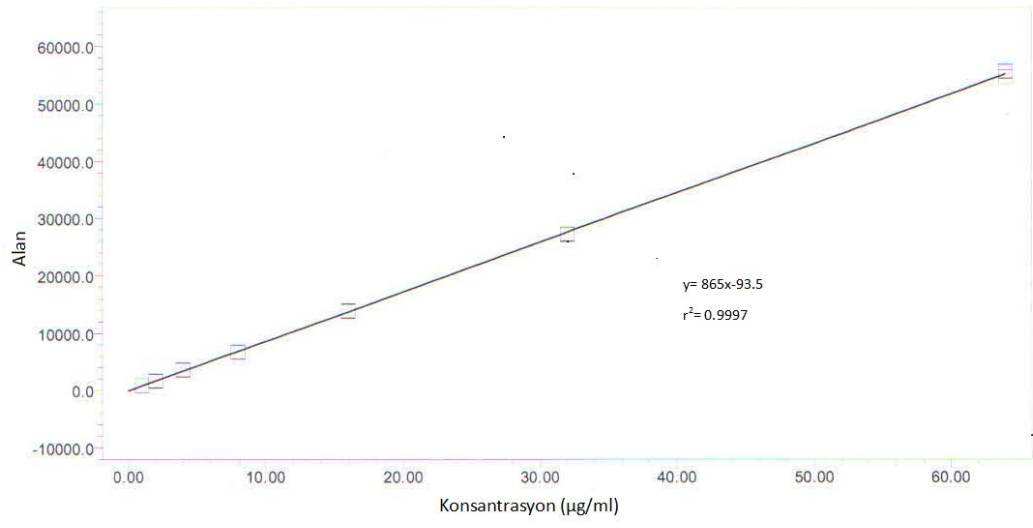
4.3. Bupivakain HCl Standart Kalibrasyon Eğrisi

Final konsantrasyonu 1, 2, 4, 8, 16, 32 ve 64 µg/ml olan bupivakain HCl standartlarından 5 µl HPLC ve UPLC cihazlarına otomatik enjeksiyon yapıldı. Her bir standart konsantrasyonu üçer kez çalışıldı. Standart konsantrasyonlarına karşılık gelen pik alanlarının ortalaması kullanılarak standart regresyon denklemleri hesaplandı.

Bupivakain HCl için HPLC ve UPLC’de elde edilen kalibrasyon grafikleri gösterilmiştir (Şekil 8 ve 9).



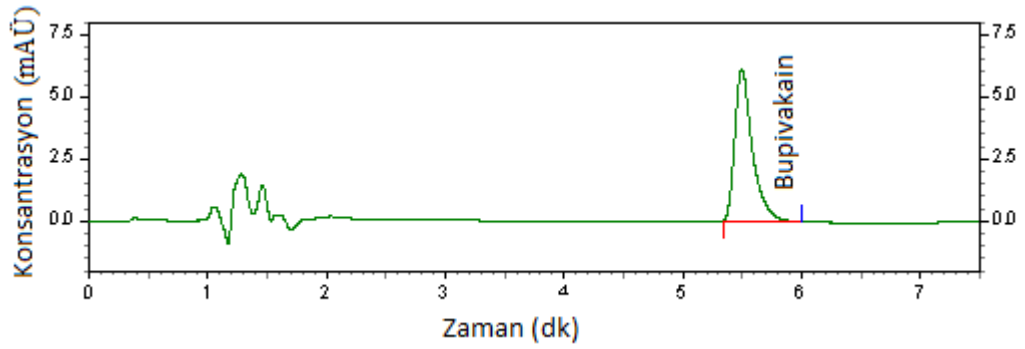
Şekil 8. Bupivakain HCl için HPLC yöntemiyle elde edilen kalibrasyon grafiği



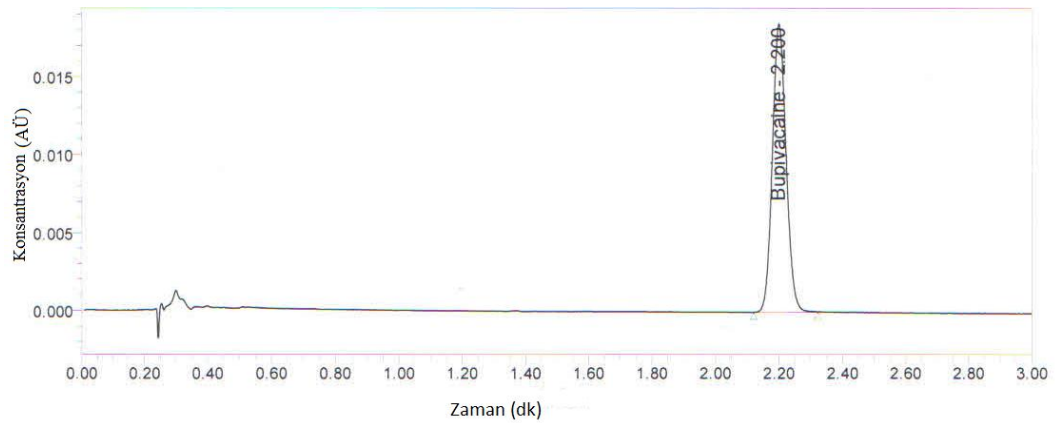
Şekil 9. Bupivakain HCl için UPLC yöntemiyle elde edilen kalibrasyon grafiği

4.4. Bupivakain HCl İçeren Numuneye Ait Kromatogramlar

Bupivakain HCl içeren numuneye ait HPLC ve UPLC'deki kromatogram rnekleri Resim 5 ve 6'da gösterilmiştir. Numune HPLC'de yaklaşık 5,5 dk kolon içerisinde tutulduktan sonra detektörle ölçülen bupivakain konsantrasyonu Resim 5'te, UPLC'de 2,197 dk kolon içerisinde tutulduktan sonra detektörle ölçülen bupivakain konsantrasyonu Resim 6'da gösterilmiştir.



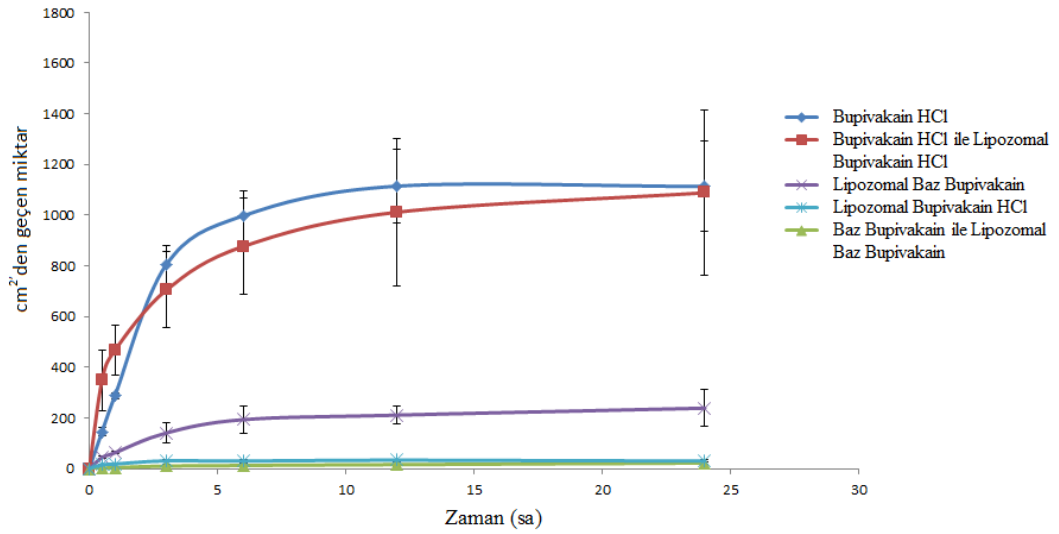
Resim 5. Bupivakain HCl içeren numuneye ait HPLC kromatogramı



Resim 6. Bupivakain HCl içeren numuneye ait UPLC kromatogramı

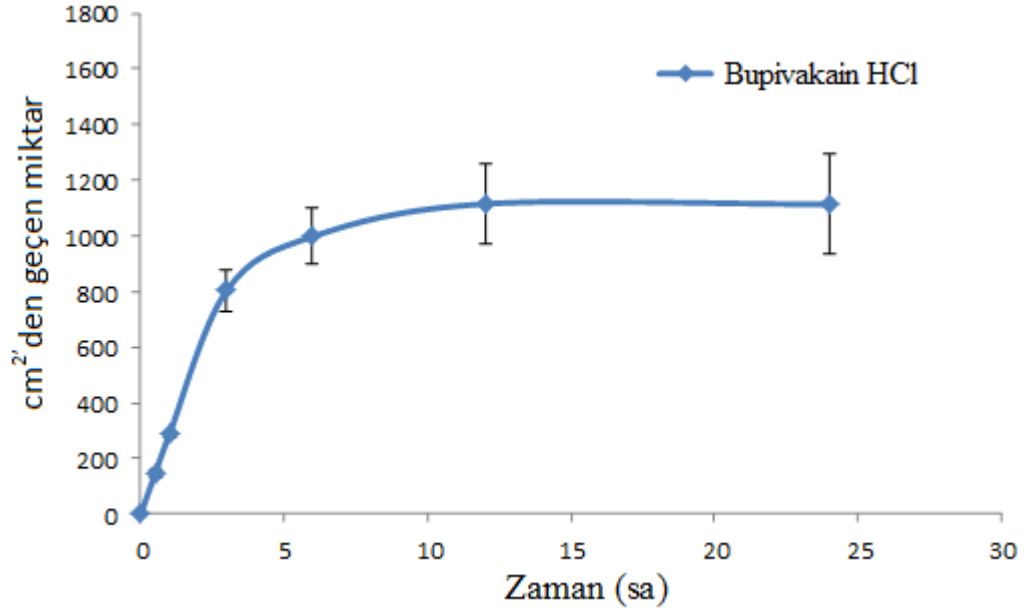
4.5. Analiz Sonuçları

Bupivakain HCl ve baz bupivakain için HPLC ve UPLC’de ayrı ayrı standart kalibrasyon eğrileri elde edildikten sonra 54 numune (n=18 bupivakain HCl, n=18 bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl, n=18 baz bupivakain ile lipozomal baz bupivakain) HPLC’de analiz edildi. Daha düşük konsantrasyonları da analiz edebildiği için UPLC’de 36 numune (n=18 lipozomal baz bupivakain, n=18 lipozomal bupivakain HCl) analiz edildi. Toplam beş gruba ait çözeltilerin salınımı Şekil 10’da gösterilmiştir.



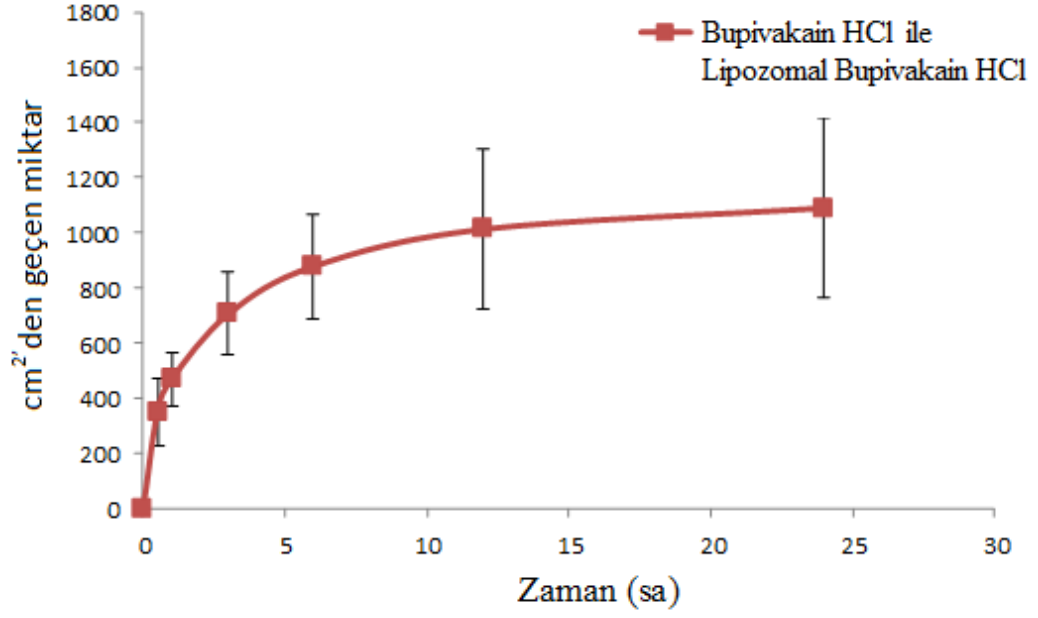
Şekil 10. Deneylerdeki bütün çözeltilerin salınımı

Bupivakain HCl, 6.-12. saatler arasında en yüksek geçiş miktarına ulaştıktan sonra plato çizmiştir (şekil 11).



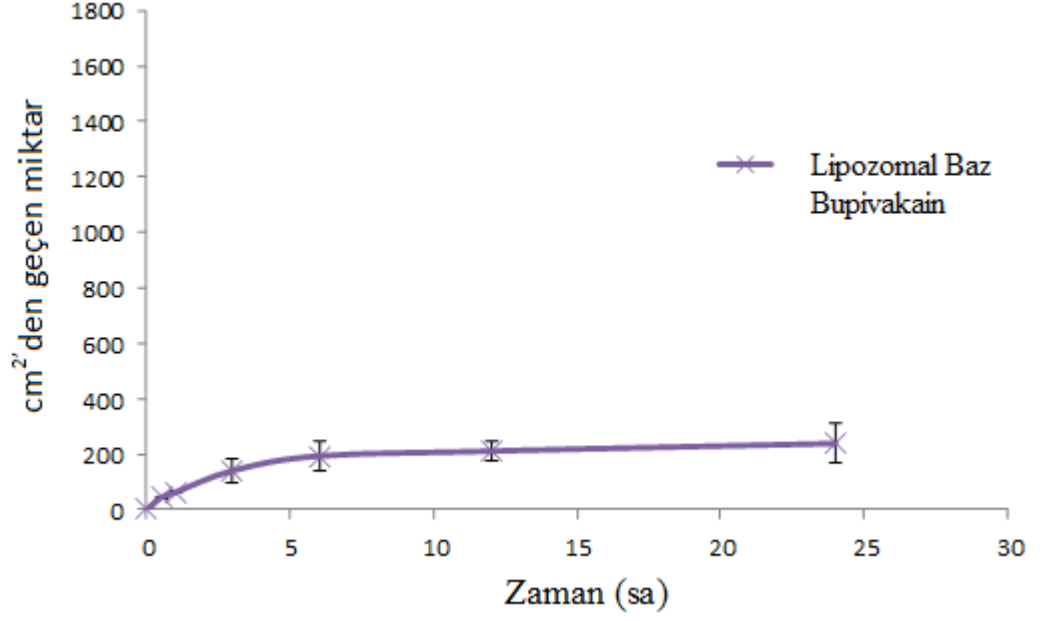
şekil 11. Bupivakain HCl salınımı

Bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl 12.-24. saatler arasında en yüksek geçiş miktarına ulaşmıştır (Şekil 12).



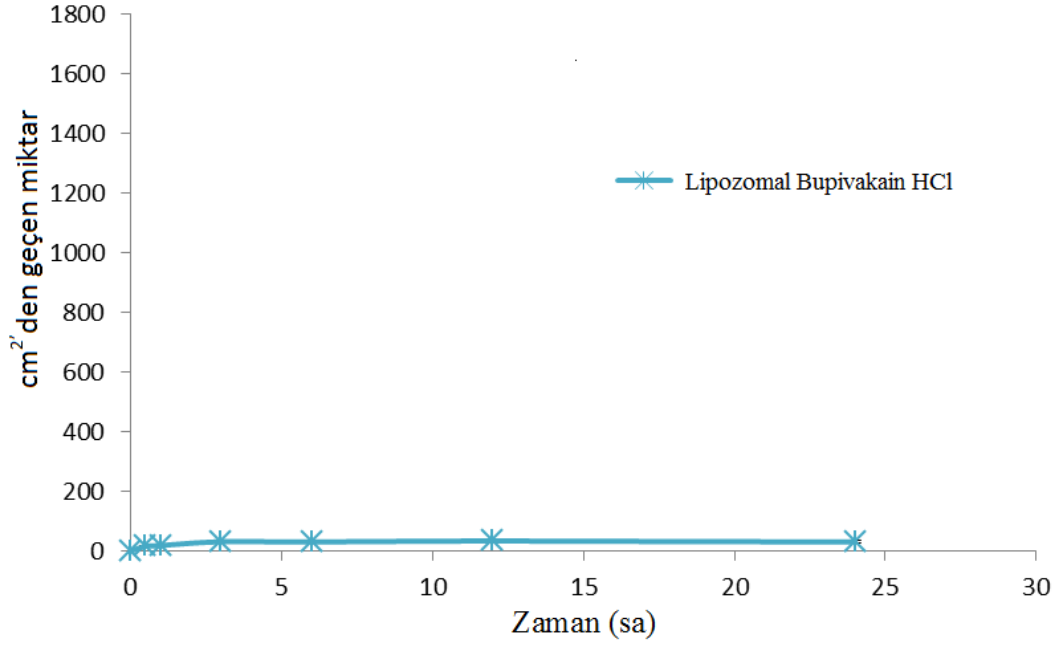
Şekil 12. Bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl salınımı

Lipozomal baz bupivakain 6.-12. saatler arasında en yüksek değerine ulaşıp sonra plato çizmiştir (Şekil 13).



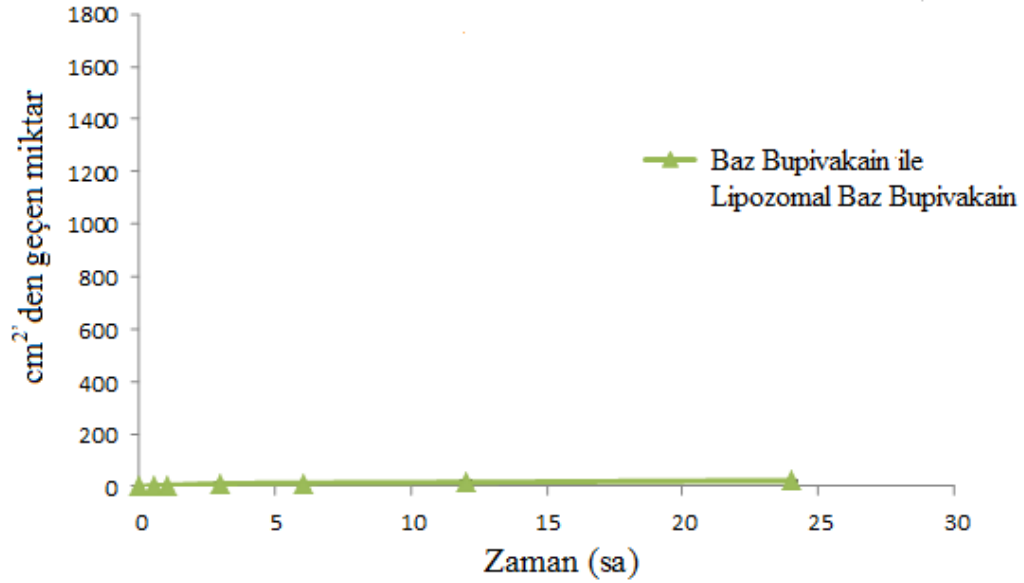
Şekil 13. Lipozomal baz bupivakain salınımı

Lipozomal bupivakain HCl 3.-6. saatler arasında en yüksek geçiş miktarına ulaştıktan sonra plato çizmiştir (şekil 14).



şekil 14. Lipozomal bupivakain HCl salınımı

Baz bupivakain ile lipozomal baz bupivakain 3.-6. saatler arasında en yüksek geçiş miktarına ulaşarak daha sonra plato çizmiştir (şekil 15).



şekil 15. Baz bupivakain ile lipozomal baz bupivakain salınımı

5. TARTIŞMA

Analizi HPLC ve UPLC’de yapılan numunelerin 24 saatlik zaman diliminde 1 cm² alandan geçen ilaç miktarları profiline bakıldığında; bupivakain HCl 6.-12. saatler arasında en yüksek geçiş miktarına ulaştıktan sonra, lipozomal baz bupivakain 6.-12. saatler arasında en yüksek değerine ulaşarak, lipozomal bupivakain HCl ise 3.-6. saatler arasında en yüksek geçiş miktarına ulaştıktan sonra, baz bupivakain ile lipozomal baz bupivakain 3.-6. saatler arasında en yüksek geçiş miktarına ulaşarak plato çizmiştir. Bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl ise 12.-24. saatler arasında en yüksek salınım göstermiştir.

Bütün lipozomal ilaç gruplarında 24 saatlik zaman diliminde bupivakain HCl’ye göre daha yavaş ilaç salınımı olmuştur. Bupivakain HCl grubu; bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl grubunun salınımıyla karşılaştırıldığında bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl grubunun daha uzun sürede en yüksek geçiş miktarına ulaştığı ve daha yavaş salınım gösterdiği gözlenmiştir. Lipozomal HCl grubu ise bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl grubuna göre çok daha yavaş ilaç salınmıştır. Lipozomal baz bupivakain grubu; bupivakain HCl ve bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl gruplarına göre daha yavaş, lipozomal bupivakain HCl ve baz bupivakain ile lipozomal baz bupivakain gruplarına göre ise daha hızlı salınımına neden olmuştur. Bunun nedeni lipozomun baz bupivakainin çözünürlüğünü artırmış olabilir. Bu nedenle en yavaş ilaç salınımı baz bupivakain ile lipozomal baz bupivakain grubunda gözlenmiştir.

Multilameller lipozomal bupivakain hazırlayarak bupivakainin yapay BOS içindeki etkinliğini ve salınım sürelerini göstermeyi amaçladığımız çalışmamızda bupivakainin yavaş salınımı gösterilmiştir.

Sıçanlarda yapılan bir araştırmada yara yerine multilameller lipozomal bupivakain infiltrasyonu uygulayarak analjezi süresi değerlendirilmiştir (5). Cerrahi insizyondan 24 saat sonra 1. gruba 0,3 ml % 2 lipozomal bupivakain, 2. gruba % 0,5 bupivakain HCl, 3. gruba salin, 4. gruba lipozom infiltre edilen sıçanlarda ortalama analjezi süresi bupivakain HCl grubunda 23 dk, lipozomal bupivakain grubunda 180 dk olarak saptanmıştır. Salin ve lipozom verilen gruplarda analjezi sağlanamamış. Ayrıca plazma bupivakain düzeylerinin lipozomal bupivakain grubunda bupivakain HCl grubuna göre daha düşük olduğu gösterilmiştir. Yara yerindeki analjezi süresinin 8 kat artışı ve plazma bupivakain düzeylerinin düşük oluşu lipozomal formülasyonda ilacın yavaş salınımı ile açıklanabileceğinden, insanlarda da yara yerine lipozomal bupivakain infiltrasyonunun güvenli ve etkili bir analjezi sağlayabileceği önerisinde bulunmuşlardır (5).

Farelerde MVV lipozomal bupivakainin subkutan infiltrasyonu sonrası kinetiği ve analjezi süresi değerlendirildiğinde enjeksiyon bölgesinde bupivakain; lipozomal bupivakain grubunda 96 saat, standart bupivakain grubunda 8 saat boyunca yapılan ölçüm sonuçlarına göre en uzun sürenin % 2 lipozomal bupivakain grubunda olduğu tespit edilmiş. Lipozomal bupivakainin analjezi

süresinin uzun oluşunun enjeksiyon bölgesindeki bupivakain düzeylerinin daha uzun süre yüksek kalması nedeniyle meydana geldiği sonucuna varılmış (7).

Başka bir çalışmada lipozomal bupivakainin intrasisternal enjeksiyonu sonrası nörotoksikolojik değerlendirilmesi için tavşanlar 4 gruba ayrılarak 1. gruba 0,3 ml düz bupivakain 5 mg/ml, 2. gruba MLV lipozomal bupivakain 5 mg/ml, 3. gruba lipozom, 4. gruba izotonik fosfat tamponlu salin enjekte edilmiş. Respiratuvar depresyon veya hipotansiyon sıklıkla gözlenmiş ve mekanik ventilasyon uygulanarak intravenöz dopamin desteği verilmiş. Enjeksiyondan 7 gün sonra spinal kord çıkarılmış ve histopatolojik inceleme için transvers kesitler alınmış. Bupivakain içermeyen gruplardaki tavşanlarda sedasyon gerektiren geçici irritatif bulgular ortaya çıkmış. Respiratuvar depresyon lipozomal bupivakain ile düz bupivakain gruplarında benzer bulunmuş. Motor blokaj ise lipozomal ile daha uzun sürmüştür (lipozomal bupivakain: 126 dk, düz bupivakain: 70 dk). Dopamin düz bupivakain grubunda hem daha uzun süre hem de daha yüksek dozda gerekli olurken lipozomal bupivakainin daha az sempatik blok, daha uzun süreli motor blok yaptığı tespit edilmiş ve histolojik değişikliklerin benzer olduğu saptanmıştır (6).

Tavşanlarda epidural uygulanan lipozomal bupivakainin doz yanıt çalışması düz bupivakanin ile MLV lipozomal bupivakain karşılaştırıldığında lipozomal bupivakain ve bupivakain dozu arttığında motor blokaj başlama zamanı kısalırken motor blokaj etki süresinin uzadığı bulunmuş. Uzun motor etkiye sahip en iyi bupivakain / lipit oranı 3,75 mg / 20 mg ve hemodinamik değişikliklerin

bupivakain enjeksiyon dozuna bağlı olduğu maksimum etkinin % 50' si için ise gereken doz lipozomal bupivakainde düz bupivakaine göre daha düşük, maksimum etki süresinin ise daha uzun olduğu gösterilmiştir (8).

Sağlıklı gönüllü insanlarda lokal anesteziğin analjezik etki süresini uzatmak ve pik plazma ilaç konsantrasyonunu azaltmak için LA geniş doz uygulamasına izin vermesi nedeniyle subkutan lipozomal bupivakain kullanılmış. nce 20 ml % 0,5 düz bupivakain ve 1 hafta sonra 20 ml % 2 LMVV lipozomal bupivakain subkutan uygulandığında LA yan etkisine rastlanmamış. Maksimal plazma konsantrasyonları arasında düz bupivakain ve lipozomal bupivakain arasında önemli fark olmadığı gibi toksik plazma konsantrasyonunun altında olduğu bildirilmiş. Maksimal plazma konsantrasyonuna ulaşma zamanı lipozomal bupivakain grubunda diğer gruba göre 7 kat daha uzun bulunmuş. Gruplar arasında pik plazma konsantrasyonları arasında fark yokken lipozomal bupivakain grubunda uygulanan total doz diğer gruba göre 4 kat fazlaymış. Lipozomal bupivakainin yavaş salınımı ile gecikmiş eliminasyonu ve uzamış redistribüsyonu uzamış farmakodinamik etkilere bağlanmış (77).

Tavşanlarda yapılan diğer bir çalışmada düz bupivakain ve lipozom içine enkapsüle edilmiş bupivakainin intravenöz enjeksiyonu sonrası toksisiteleri karşılaştırılmış. Üç gruba ayrılan tavşanlardan 1. gruba adrenalimli % 0,25 düz bupivakain, 2. gruba adrenalinsiz % 0,25 düz bupivakain, 3. gruba % 0,25 multilameller lipozomal bupivakain 0,15 mg/kg/dk başlanmış ve her 10 dakikada bir 0,035 mg/kg/dk artırılmış. Lipozomal bupivakain grubunda taşikardi, epilepsi,

asistoli için gereken doz diğer iki gruba göre önemli derecede yüksek bulunmuş. Adrenalinin sistemik toksisiteyi değiştirmedığı tespit edilmiş. Multilameller lipozomal bupivakainin intravasküler infüzyonu yapıldığı zaman bupivakainin kardiyak ve sinir sistemi toksisitesini azalttığı sonucuna varılmış (4).

Yine tavşanlarda lipozomal bupivakain ile düz bupivakainin brakiyal pleksusa uygulanmasından sonra bupivakainin plazma konsantrasyonları değerlendirilmiş. Oluşturulan altışarlı iki gruptan birincisine 2,5 mg (1 ml % 0,25) düz bupivakain, ikincisine aynı dozda multilameller lipozomal bupivakain aksillaya enjekte edilmiş. Brakiyal pleksus sinir stimülatörü ile lokalize edilmiş. Bupivakainin arteriyal plazma konsantrasyonu 5., 240. dakikada ve 24. saatte ölçülmüş. Multilameller lipozomal bupivakain grubu için ek olarak 48 ve 72 saat sonra da ölçüm yapılmış. Platoya ulaşma zamanı ilk grupta 5 dk iken lipozomlu olan ikinci grupta 90 dk olarak ölçülmüş. Lipozomlu grubun ilk 10 dakikadaki plazma bupivakain konsantrasyonu diğer gruba göre daha düşük iken 24 saat sonraki plazma konsantrasyonu ise daha yüksek bulunmuş. Radyoaktivite düz bupivakain grubunda 4-24 saatleri arasında azalırken lipozomal bupivakain grubunda 1-2 gün arasında azaldığı gösterilmiş. Plazma ilaç konsantrasyon düzeyinin lipozomal bupivakain grubunda daha uzun süre korunmasının nedeninin lokal anestezinin yavaş salınımı olduğu düşünülmüş (78).

Bu deneysel çalışmada lipozomal bupivakainin farklı formülasyonlarının yapay BOS içerisindeki salınım sürelerini gösterdik. Bundan sonraki yapılacak hayvan çalışmaları ile multilameller lipozomal bupivakainin intratekal

uygulanması sonrası analjezik etkinliği ve süresi değeriendirilerek klinik nöroaksiyel anestezi ve analjezi çalışmalarına ışık tutabilir.

6. SONUÇ

Multilameller lipozomal bupivakainin farklı formlarını ve yapay BOS hazırlayarak 24 saat diliminde BOS'daki ilaç salınımlarını HPLC ve UPLC'deki kromatografik çalışmayla analiz ettik. Analiz sonucunda elde edilen grafiklerde bupivakain HCl en hızlı salınım gösterirken lipozomal formülasyonlar daha yavaş salınım göstermişlerdir. Bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl 2. sırada, lipozomal baz bupivakain 3. sırada, lipozomal bupivakain HCl 4. sırada salınım gösterirken baz bupivakain ile lipozomal baz bupivakain en yavaş salınım göstermiştir.

7. KAYNAKLAR

1. Cantore F, Boni L, Di Giuseppe M, Giavarini L, Rovera F, Dionigi G. *Pre-incision local infiltration with levobupivacaine reduces pain and analgesic consumption after laparoscopic cholecystectomy: a new device for day-case procedure.* *Int J Surg* 2008; 6 Suppl 1: S 89-92.
2. Ausems ME, Hulstewé KW, Hooymans PM, Hoofwijk AG. *Postoperative analgesia requirements at home after inguinal hernia repair: effects of wound infiltration on postoperative pain.* *Anaesthesia* 2007; 62 (4): 325-31.
3. Bramlett KW, Jones RK, Pink M, Pink T. *A single administration of depobupivacaine intraoperatively provides analgesia and reduction in use of rescue opiates compared with bupivacaine HCl in patients undergoing total knee arthroplasty.* In: XXXVI Biennial World Congress of the International College of Surgeons. Vienna. 2008; PO-0218.
4. Boogaerts J, Declercq A, Lafont N, Benameur H, Akodad EM, Dupont JC et al. *Toxicity of bupivacaine encapsulated into liposomes and injected intravenously: comparision with plain solutions.* *Anesth Analg* 1993; 76 (3): 553-5.
5. Grant GJ, Lax J, Susser L, Zakowski M, Weissman TE, Turndorf H. *Wound infiltration with liposomal bupivacaine prolongs analgesia in rats.* *Acta Anaesthesiol Scand* 1997; 41 (2): 204-7.
6. Malinovsky JM, Benhamou D, Alafandy M, Mussini JM, Coussaert C, Couarraze G et al. *Neurotoxicological assessment after intracisternal*

- injection of liposomal bupivacaine in rabbits. Anesth Analg 1997; 85 (6): 1331-6.*
7. Grant GJ, Piskoun B, Bansinath M. Analgesic duration and kinetics of liposomal bupivacaine after subcutaneous injection in mice. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2003; 30 (12): 966-8.
 8. Malinovsky JM, Le Corre P, Meunier JF, Chevanne F, Pinaud M, Leverge R et al. A dose-response study of epidural liposomal bupivacaine in rabbits. *J Control Release* 1999 28; 60 (1): 111-9.
 9. Peer D, Karp JM, Hong S, Farokhzad OC, Margalit R, Langer R. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nat Nanotechnol* 2007; 2 (12): 751-60.
 10. Wang AZ, Langer R, Farokhzad OC. Nanoparticle delivery of cancer drugs. *Ann Rev Med* 2012; 63: 185-98.
 11. Farokhzad OC, Langer R. Nanomedicine: developing smarter therapeutic and diagnostic modalities. *Adv Drug Deliv Rev* 2006 1; 58 (14): 1456-9.
 12. Uhumwangho MU, Okor RS. Current trends in the production and biomedical applications of liposomes: a review. *J Med Biomed Res* 2005; 4: 9-21.
 13. Lasic DD. Novel applications of liposomes. *Tibtech* 1998; 16: 307-321.
 14. New RRC. *Liposomes: a practical approach*. New York: Oxford University Pres;1990.
 15. Garcia-Garcia E, Andrieux K, Gil S, Couvreur P. Colloidal carriers and blood-brain barrier (BBB) translocation: A way to deliver drugs to the brain? *Int J Pharm* 2005; 298: 274-92.

16. Allen TM. *Liposomes: Opportunities in drug delivery. Drugs* 1997; 4: 8-14.
17. Matteucci ML, Thrall DE. *The role of liposomes in drug delivery and diagnostic imaging: a review. Vet Rad Ultrasound* 2000; 41: 100-7.
18. Stolnik S, Shakesheff K. *Formulations for delivery of therapeutic proteins. Biotechnol Lett* 2009; 31 (1): 1-11.
19. Grant SA. *The Holy Grail: Long-acting local anaesthetics and liposomes. Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2002; 16 (2): 345-52.
20. Rose JS, Neal JM, Kopacz DJ. *Extended-duration analgesia: update on microspheres and liposomes. Reg Anesth Pain Med* 2005; 30 (3): 275-85.
21. White JL, Durieux ME. *Clinical pharmacology of local anesthetics. Anesthesiol Clin North Am* 2005; 23 (1): 73-84.
22. Ostro MJ. *Liposomes. New York: Marcel Dekker, Inc; 1983.*
23. Sharma A, Sharma US. *Liposomes in drug delivery: progress and limitations. Int J Pharm* 1997; 154: 123-40.
24. Kreuter J. *Colloidal drug delivery systems. USA: Marcel Dekker; 1994.*
25. Keller BC. *Liposomes in nutrition. Trends F Sci & Tech* 2001; 12: 25-31.
26. Torchilin VP, Weissig V. *Liposomes. Boston: Oxford University Press; 2003.*
27. Gürsoy AZ. *Kontrollü salım sistemleri. 1. Baskı. İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği; 2002.*
28. Erdoğan S, Özer AY, Hıncal AA. *Radyopak lipozomların nükleer tıpta kullanımları. FABAD J Pharm Sci* 1995; 20: 105-16.
29. Özer AY. *Oküler ilaç taşınmasında lipozomlar. FABAD J Pharm Sci* 1995; 20: 173-80.

30. Cheema SK, Gobin AS, Rhea R, Lopez-Berestein G, Newman RA, Mathur AB et al. Silk fibroin mediated delivery of liposomal emodin to breast cancer cells. *Int J Pharm* 2007; 341: 221-9.
31. Zavaleta CL, Phillips WT, Soundararajan A, Goins AB. Use of avidin/biotin-liposome system for enhanced peritoneal drug delivery in an ovarian cancer model. *Int J Pharm* 2007; 337: 316-28.
32. Bozdağ S, Vural İ, Çapan Y, Dalkara T. Beyin tümörlerinin tedavisinde ilaç taşıyıcı sistemlerin uygulanması. *FABAD J Pharm Sci* 2002; 27: 89-104.
33. Li C, Yoshimoto M, Fukunaga K, Nakao K. Characterization and immobilization of liposome-bound cellulase for hydrolysis of insoluble cellulose. *Biosource Tech* 2007; 98: 1366-72.
34. Hoiuchi A, Satou T, Akao N, Koike K, Fujita K, Nikaido T. The effect of free and polyethylene glycol-liposome-entrappe albendazole on larval mobility and number in *Toxocano canis* infected mice. *Vet Parasitol* 2005; 129: 83-7.
35. Yan W, Chen W, Huang L. Mechanism of adjuvant activity of cationic liposome: Phosphorylation of a mapkinase, ERK and induction of chemokins. *Mol Immun* 2007; 44: 3672-81.
36. Okada M, Kita Y, Nakajima T, Kanamru N, Hoshimoto S, Nagasawa T et al. Evaluation of a novel vaccine (HVJl-liposome/HSP65 DNA+IL-RNA) against tuberculosis using the cynomolgus monkey model of TB. *Vaccine* 2007; 25: 2990-3.

37. QI F, Wang C, Wang Y, Zhang X, Zhang Y, Sui B et al. Immunogenicity and efficacy of liposome encapsulated influenza split vaccine in BALB/c Mice. *Chemical Research In Chinese Universities* 2007; 23 (3): 314-8.
38. Betz G, Aeppli A, Menshutina N, Leuenberger H. In vivo comparison of various liposome formulations for cosmetic application. *Int J Pharm* 2005; 296: 255-60.
39. Serikawa T, Kikuchi A, Sugaya S, Suzuki N, Kikuchi H, Tanaka K. In vitro and in vivo evolution of novel cationic liposomes utilized for cancer gene therapy. *J Cont Rel* 2006; 113: 225-60.
40. Kajiwar E, Kawano K, Hattori J, Fukushima M, Hayashi K, Maitani Y. Long circulating liposome encapsulated ganciclovir enhances the efficacy of HSV-TK suicide gene therapy. *J Cont Rel* 2007; 120: 104-10.
41. Shipton EA. New formulations of local anaesthetics-part I. *Anesthesiol Res Pract* 2012; 2012: 546409.
42. Cassuto J, Sinclair R, Bonderovic M. Anti-inflammatory properties of local anesthetics and their present and potential clinical implications. *Acta Anaesthesiol Scand* 2006; 50 (3): 265-82.
43. Ruetsch YA, Böni T, Borgeat A. From cocaine to ropivacaine: the history of local anesthetic drugs. *Curr Top Med Chem* 2001; 1 (3): 175-82.
44. Columb MO, MacLennan K. Local anesthetic agents. *Anaesth Intensive Care Med* 2007; 8: 159-62.

45. Ritchie JM, Rogart RB: *Density of sodium channels in mammalian myelinated nerve fibers and nature of the axonal membrane under the myelin sheath. Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74: 211-5.
46. Heavner JE. *Local anesthetics. Curr Opin Anaesthesiol* 2007; 20: 336-42.
47. Tetzlaff JE. *The pharmacology of local anesthetics. Anesthesiol Clin North Am* 2000; 18: 217-33.
48. Eti Z. *Lokal Anestezikler. Tüzüner F ed. Anestezi Yoğun Bakım Ağrı. 1.Baskı, Türkiye* 2010; 225-37.
49. Kindler CH, Yost CS. *Two-pore domain potassium channels: New sites of local anesthetic action and toxicity. Reg Anesth Pain Med* 2005; 30: 260-75.
50. Hollmann MW, Herroeder S, Kurz KS, Hoenemann CW, Struemper D, Hahnenkamp K, Durieux ME. *Time-dependent inhibition of G protein-coupled receptor signaling by local anesthetics. Anesthesiology* 2004; 100 (4): 852-60.
51. Scholz A. *Mechanisms of local anesthetics on voltage-gated sodium and other ion channels. Br J Anaesth* 2002; 89: 52-61.
52. Catterall WA. *From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. Neuron* 2000; 26 (1): 13-25.
53. Fink BR. *The long and the short of conduction block. Anesth Analg* 1989; 68 (5): 553-5.
54. Becker DE, Reed KL. *Essentials of local anesthetic pharmacology. Anesth Prog* 2006; 53: 98-109.
55. Strichartz GR, Berde CB. *Local Anestezikler. Miller RD ed. Miller Anestezi. 6. Baskı. İzmir: Güven Kitabevi, 2010; 573-603.*

56. Strichartz GR, Sanchez V, Arthur GR, Chafetz R, Martin D. Fundamental properties of local anesthetics. II. Measured octanol: buffer partition coefficients and pKa values of clinically used drugs. *Anesth Analg* 1990; 71 (2): 158-70.
57. Boyes RN. A review of the metabolism of amide local anaesthetic agents. *Br J Anesth* 1975; 47: 225-30.
58. Tucker GT, Wiklund L, Berlin-Wahlen A, Mather LE. Hepatic clearance of local anesthetics in man. *J Pharmacokinet Biopharm* 1977; 5 (2): 111-22.
59. Zink W, Graf BM. The toxicity of local anesthetics: the place of ropivacaine and levobupivacaine. *Curr Opin Anaesthesiol* 2008; 21 (5): 645-50.
60. Graf BM. The cardiotoxicity of local anesthetics: the place of ropivacaine. *Curr Top Med Chem* 2001; 1 (3): 207-14.
61. Leone S, Di Cianni S, Casati A, Fanelli G. Pharmacology, toxicology, and clinical use of new long acting local anesthetics, ropivacaine and levobupivacaine. *Acta Biomed* 2008; 79 (2): 92-105.
62. Aberg G. Toxicological and local anaesthetic effects of optically active isomers of two local anaesthetic compounds. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*. 1972; 31 (4): 273-86.
63. Butterworth JF 4th. Models and mechanisms of local anesthetic cardiac toxicity: a review. *Reg Anesth Pain Med* 2010; 35 (2): 167-76.
64. David JS, Ferreti C, Amour J, Vivien B, Eve O, Petit P et al. Effects of bupivacaine, levobupivacaine and ropivacaine on myocardial relaxation. *Can J Anaesth* 2007; 54 (3): 208-17.

65. Groban L, Deal DD, Vernon JC, James RL, Butterworth J. Cardiac resuscitation after incremental overdosage with lidocaine, bupivacaine, levobupivacaine, and ropivacaine in anesthetized dogs. *Anesth Analg* 2001; 92 (1): 37-43.
66. Zink W, Bohl JR, Hacke N, Sinner B, Martin E, Graf BM. The long term myotoxic effects of bupivacaine and ropivacaine after continuous peripheral nerve blocks. *Anesth Analg* 2005; 101 (2): 548-54.
67. Zink W, Graf BM. Local anesthetic myotoxicity. *Reg Anesth Pain Med* 2004; 29 (4): 333-40.
68. Foster AH, Carlson BM. Myotoxicity of local anesthetics and regeneration of the damaged muscle fibers. *Anesth Analg* 1980; 59 (10): 727-36.
69. Zink W, Seif C, Bohl JR, Hacke N, Braun PM, Sinner B et al. The acute myotoxic effects of bupivacaine and ropivacaine after continuous peripheral nerve blockades. *Anesth Analg* 2003; 97 (4): 1173-9.
70. Nouette-Gaulain K, Dadure C, Morau D, Pertuiset C, Galbes O, Hayot M et al. Age-dependent bupivacaine-induced muscle toxicity during continuous peripheral nerve block in rats. *Anesthesiology* 2009; 111 (5): 1120-7.
71. Radwan IA, Saito S, Goto F. The neurotoxicity of local anesthetics on growing neurons: a comparative study of lidocaine, bupivacaine, mepivacaine, and ropivacaine. *Anesth Analg* 2002; 94 (2): 319-24.
72. Piper SL, Kim HT. Comparison of ropivacaine and bupivacaine toxicity in human articular chondrocytes. *J Bone Joint Surg Am* 2008; 90 (5): 986-91.

73. Hollmann MW, McIntire WE, Garrison JC, Durieux ME. Inhibition of mammalian Gq protein function by local anesthetics. *Anesthesiology* 2002; 97 (6): 1451-7.
74. Smith KJ, McDonald WI. Spontaneous and mechanically evoked activity due to central demyelinating lesion. *Nature* 1980; 286: 154-5.
75. Lichtenberg D, Barenholz Y. Liposomes: preparation characterization and preservation. *Methods Biochem Anal* 1988; 33: 337-459.
76. Davson H. *Physiology of the Cerebrospinal Fluid*. London: J.& A. Churchill Ltd, 1967.
77. Davidson EM, Barenholz Y, Cohen R, Haroutiunian S, Kagan L, Ginosar Y. High-dose bupivacaine remotely loaded into multivesicular liposomes demonstrates slow drug release without systemic toxic plasma concentrations after subcutaneous administration in humans. *Anesth Analg* 2010 1;110 (4): 1018-23.
78. Boogaerts JG, Lafont ND, Luo H, Legros FJ. Plasma concentrations of bupivacaine after brachial plexus administration of liposome-associated and plain solutions to rabbits. *Can J Anaesth* 1993; 40 (12): 1201-4.

8. ÖZET

Lipozomal Bupivakain

Analjezik etki sürelerini uzatmak, toksisitelerini azaltmak amacıyla lokal anestezikler lipozomlarla enkapsüle edilmektedir. Bu çalışmada multilameller lipozomal bupivakainin farklı formlarını hazırlayarak yapay beyin omurilik sıvısı (BOS) içerisindeki kontrollü salınım özelliğini değerlendirmeyi amaçladık. Öncelikle bupivakain HCl ve baz bupivakain ile kolesterol, dipalmitoil fosfatidil kolin, metanol kullanılarak rotavapor cihazında vakumlu distilasyon yapıldı, ultrasonik banyoda tutularak homojen dağılım sağlanarak baz bupivakain ile lipozomal baz bupivakain ve bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl elde edildi. Oluşturulan baz bupivakain ile lipozomal baz bupivakain ve bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl santrifüj edilerek lipozomal baz bupivakain ve lipozomal bupivakain HCl elde edildi. Yapay BOS tampon çözelti hazırlandı. Bupivakain HCl, baz bupivakain ile lipozomal baz bupivakain, bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl ile ilk deney yapıldı. Baz bupivakain ile lipozomal baz bupivakain, bupivakain HCl ile lipozomal bupivakain HCl, bupivakain HCl difüzyon franz hücresine konularak 24 saat boyunca sıcak su banyosunda takip edildi. İlk yarım saatte, 1., 3., 6., 12. ve 24. saatlerde numuneler alındı (1. deney). Lipozomal baz bupivakain, lipozomal bupivakain HCl difüzyon franz hücresine konularak 24 saat boyunca sıcak su banyosunda takip edildi. İlk yarım saatte, 1., 3., 6., 12. ve 24. saatlerde numuneler alındı (2. deney).

İlk deneyden elde edilen 54 numune HPLC’de, ikinci deneyden elde edilen 36 numune UPLC’de analiz edilmeden önce baz bupivakain ve bupivakain HCl için ayrı ayrı kalibrasyon grafikleri elde edildi. Daha sonra numuneler analiz edilerek kromatogramları elde edildi. Sonuç olarak multilameller lipozomal bupivakaininin, bupivakain HCl’ye göre yapay BOS içerisinde yavaş salınımı gösterilmiştir. Lipozomal formülasyonlar içinde de bupivakain HCl ve baz bupivakainin salınımları birbirinden farklıdır.

Anahtar Kelimeler: Lipozom, bupivakain, BOS

9. SUMMARY

Liposomal Bupivacaine

Local anesthetics are encapsulated into liposomes in order to prolong their effective duration without increasing their toxicity. In this study we aimed to prepare different forms of multilamellar liposomal bupivacaine to evaluate controlled release properties for bupivacaine in artificial cerebrospinal fluid (CSF). Primarily, bupivacaine HCl, bupivacaine base, cholesterol, dipalmitoyl phosphatidyl choline and methanole were distilled with vacuum in rotavapor device. They were kept in ultrasound bath to achieve homogenic distribution to get bupivacaine base with liposomal bupivacaine base and bupivacaine HCl with liposomal bupivacaine HCl. Solutions of bupivacaine base with liposomal bupivacaine base and bupivacaine HCl with liposomal bupivacaine HCl were centrifuged to get liposomal bupivacaine base and liposomal bupivacaine HCl. Artificial CSF buffered solution was prepared. The first experiment was carried out with using bupivacaine base with liposomal bupivacaine base and bupivacaine HCl with liposomal bupivacaine HCl. Bupivacaine base with liposomal bupivacaine base, bupivacaine HCl with liposomal bupivacaine HCl and bupivacaine HCl were put in franz diffusion cell. The solutions were kept in hot water bath for 24 hours. The samples were taken in the first half, 1, 3, 6, 12 and 24th hours (first experiment). Liposomal bupivacaine base and liposomal bupivacaine HCl were put in franz diffusion cell. The solutions were kept in hot water bath for 24 hours. The samples were taken in the first half, 1, 3, 6, 12 and

24th hours (second experiment). Calibration graphics were obtained for bupivacaine and bupivacaine HCl. Fifty-four sample obtained from the first experiment and 36 samples obtained from the second study were analyzed with HPLC and UPLC, respectively and the chromatographies were obtained. Consequently multilamellar liposomal bupivacaine showed slow release in artificial CSF compared to bupivacaine HCl. The liposomal formulations of the bupivacaine HCl and bupivacaine base demonstrated different releasing rate patterns.

Key Words: Liposome, bupivacaine, CSF

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Ayşe

Soyadı : Düzlü

Doğum Yeri ve Tarihi : Nevşehir & 11.04.1983

Eğitimi :

2007- Halen: Gazi Üniversitesi Anestezi ve Reanimasyon AD.

2000-2006: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

1993-2000: Ortaokul ve Lise, Nevşehir

1988-1993: İlkokul, Çat

Yabancı Dili : İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar : Yok

Bilimsel Etkinlikler :

Katıldığı Kongre ve Sempozyumlar :

- TARD 42. Ulusal Kongresi, 2008, Antalya
- Arteriyel Kan Gazı ve Prohormonlar Sempozyumu, Türk Klinik Biyokimya Derneği, 2010, Ankara
- IX. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi, 2011, Ankara
- IV. Temel Hücre Kültürü ve Kök Hücre Kursu, GATA AR-GE Merkez Başkanlığı, 2011, Ankara
- Preoperatif Hasta Değerlendirilmesi ve Postoperatif İzlem, TARD, 2010, Ankara