

EV RİM ATILAY TAKMAZ

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2019

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

(DOKTORA TEZİ)

**MODEL ETKİN MADDELERİN DERİ YOLUYLA
UYGULANMALARINDA TAŞIYICI BİR SİSTEMİN
GELİŞTİRİLMESİ VE TRANSDERMAL AKILARININ
KONSANTRASYON-AKIM GRADYANI İLE
AYARLANMASI**

EVİRİM ATILAY TAKMAZ

**DANIŞMAN
PROF.DR. FATMA GÜLGÜN YENER**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA PROGRAMI**

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI**DOKTORA TEZİ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Farmasötik Teknoloji Doktora Programı öğrencisi Evrim Atılay TAKMAZ tarafından Prof.Dr. Fatma Gülgün YENER danışmanlığında hazırlanan “Model Etkin Maddelerin Deri Yoluyla Uygulanmalarında Taşıyıcı Bir Sistemin Geliştirilmesi ve Transdermal Akılarının Konsantrasyon-Akım Gradyanı İle Ayarlanması” başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 30/07/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı**

Prof.Dr. Fatma Gülgün YENER
İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri

Prof.Dr.Ümit GÖNÜLLÜ
İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri

Prof.Dr. Fırat UGURLU
Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri

Prof.Dr. İsmail Tuncer DEĞİM
Bıruni Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Jüri

Doç.Dr. Meltem OCAK DEMİRCİ
İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışının olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla 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 davranışının olmadığını beyan ederim.

EVREM ATILAY TAKMAZ

İTHAF

Bu tez çalışmasını, Sevgili Kızım ALİN SU TAKMAZ ve Değerli Eşim BİLGE TAKMAZ'a ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımnda beni her zaman destekleyen ve değerli yardımlarını esirgemeyen Hocam Sayın Prof.Dr. FATMA GÜLGÜN YENER'e teşekkür ederim.

Beni doktora eğitimi için cesaretlendiren ve destekleyen Sevgili Annem NURHAN TAKMAZ'a, Sevgili Kardeşim ELVİN NİLAY SEMİZ'e ve Sevgili Annem HAMİYET TÜTÜNCÜ'ye teşekkür ederim. Beraber geçirdiğimiz zamanda beni bilgi ve deneyimi ile etkileyen, bir yol gösterici ve bir dost olan Rahmetli Babam ALİ ATİLLA TAKMAZ'a bana kattıkları için teşekkür ederim.

Bana her zaman moral veren ve destekleri ile yardımcı olan değerli çalışma arkadaşlarım Sayın BİANKA GÜLER, Sayın YILDIRAY BAŞLAR, Sayın SUKAN ZENGİN, Sayın HÜSAMETTİN ÖZDEMİR ve Sayın AHMET BAŞÇINAR'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans tezime yaptıkları katkılar ve bana olan güvenleri için Sayın Doç.Dr. ÖZGE İNAL ve Değerli Hocam Sayın Prof.Dr. TAMER BAYKARA'ya teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Xİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	XV
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XVİİ
ÖZET	XİX
ABSTRACT.....	XX
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Alzheimer Hastalığı	2
2.2. Alzheimer Tedavisinde Alternatif İlaç Veriliş Yöntemleri.....	3
2.3. Derinin Görevleri ve Yapısal Özellikleri	4
2.3.1. Derinin Görevleri	4
2.3.1.1. Bariyer Özelliği.....	4
2.3.1.2. Sıcaklık Kontrolü	4
2.3.1.3. Savunma ve Onarım.....	5
2.3.2. Derinin Yapısal Özellikleri	5
2.3.2.1. Epidermis	5
2.3.2.2. Dermis	7
2.3.2.3. Deri Ekleri.....	7
2.4. Deri Yoluyla Geçiş Mekanizmaları	7
2.4.1. Transselüler Geçiş.....	7
2.4.2. Hücrelerarası Geçiş	7
2.4.3. Deri Eklerinden Geçiş	8
2.5. Deri Yoluyla Geçiş Etkileyen Faktörler	8
2.5.1. Tür.....	8
2.5.2. Yaş, Cinsiyet, Irk	8

2.5.3. Anatomik Bölge	9
2.5.4. Deri Koşulu	9
2.5.5. Sıcaklık ve Kan Akış Hızı.....	9
2.5.6. Hidrasyon	9
2.6. Rezervuar Etki	10
2.7. Deriden Geçiş Mekanizmaları	10
2.7.1. Deriden Geçiş.....	10
2.7.2. Pasif Difüzyonun Teorik Yönü	10
2.8. Deriden Geçiş Üzerine Etki Eden Fizikokimyasal Faktörler.....	13
2.8.1. Fiziksel Durum.....	13
2.8.2. Molekül Ağırlığı	13
2.8.3. Akı.....	13
2.8.4. İyonizasyon	14
2.8.5. Derinin Bağlayıcı Özelliği	14
2.8.6. Sınırlı ve Sınırsız Doz Uygulaması.....	14
2.9. Transdermal Yolla İlaç Uygulaması	16
2.9.1. Transdermal Yolla İlaç Uygulamasının Avantaj ve Dezavantajları	16
2.9.1.1. Avantajları.....	16
2.9.1.2. Dezavantajları	17
2.9.2. Transdermal Yama Tipleri, İçerikleri ve Hazırlanışları.....	17
2.9.2.1. Rezervuar Sistemler	17
2.9.2.2. Matris Sistemler	17
2.9.2.3. Mikrorezervuar Sistemler.....	17
2.9.2.4. Transdermal Yama İçeriği.....	18
2.10. Transdermal Yolla İlaç Uygulanmasında Geçiş Arttırma Yöntemleri	21
2.10.1. İlaç veya Ön İlaç	21
2.10.2. Kimyasal Potansiyelin Ayarlanması	21
2.10.3. Hidrasyon	21
2.10.4. Kimyasal Penetrasyon Arttırıcılar.....	21
2.10.5. Lipozomlar ve Analogları	22
2.10.6. Nano- / Mikro-partiküller.....	22
2.10.7. Deriden Penetre Olan Peptitler	22
2.10.8. Mikroİğneler.....	23

2.10.9. Ablasyon	23
2.10.10. Foliküler Geçiş	23
2.10.11. Yüksek Hızlı Partiküller.....	23
2.10.12. Ultrason.....	24
2.10.13. Elektrodelleme	24
2.10.14. Lazer.....	24
2.10.15. Radyofrekans Ablasyonu	25
2.10.16. İyontoforez	25
2.10.16.1. İyontoforetik Elektrokimya.....	25
2.10.16.2. İyontoforetik Geçiş Mekanizması	26
2.10.16.3. Etkin Madde Konsantrasyonunun Etkisi.....	28
2.10.16.4. Akım Şiddetinin Etkisi.....	31
2.10.16.5. pH Etkisi.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	35
3.1. Gereçler.....	35
3.1.1. Kimyasallar	35
3.1.2. Araç ve Cihazlar.....	36
3.2. Yöntemler	37
3.2.1. Etkin Maddelerin Fizikokimyasal Özellikleri.....	37
3.2.1.1. Etkin Maddelerin Çözünürlük Özellikleri.....	37
3.2.1.2. Etkin Maddelerin Analiz Sonuçları.....	37
3.2.2. Etkin Madde Miktar Tayini Analiz Yöntemleri.....	37
3.2.2.1. Özgünlük	38
3.2.2.2. Doğrusallık.....	38
3.2.2.3. Çalışma Aralığı	38
3.2.2.4. Kesinlik	38
3.2.2.5. Sağlamlık.....	38
3.2.2.6. Kararlılık	38
3.2.3. Etkin Madde ve Yardımcı Madde Geçimliliği.....	40
3.2.4. Çözücü Sistemi Belirlenmesi İçin Yapılan Çalışmalar.....	40
3.2.5. Plasebo Formülleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	42
3.2.5.1. Plasebo Formülleri	43
3.2.6. Etkin Madde İçeren Formüller Üzerinde Yapılan Çalışmalar	44

3.2.6.1. Tek Tabakalı Filmlerin Kalınlıkları	46
3.2.6.2. Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlıkları	46
3.2.6.3. Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçeriği	46
3.2.6.4. Tek Tabakalı Filmlerin Tektürlüğü	47
3.2.6.5. Tek Tabakalı Filmlerin pH Değerleri	47
3.2.6.6. Tek Tabakalı Filmlerin Adheziflikleri	47
3.2.6.7. Tek Tabakalı Filmlerin Gerilmeye Karşı Dirençleri	47
3.2.6.8. Tek Tabakalı Filmlerin Etkin Madde Miktar Tayini	48
3.2.6.9. Tek Tabakalı Filmlerin Verim Hesabı	48
3.2.6.10. Tek Tabakalı Filmlerden <i>in vitro</i> Etkin Madde Salımı	48
3.2.7. <i>in vivo</i> Çalışmalar İçin Deney Protokolü	49
3.2.7.1. Analitik Yöntemin Kesinliği İçin Yapılan Çalışmalar	50
3.2.7.2. IV Uygulama	50
3.2.7.3. Pasif Difüzyon Uygulaması	51
3.2.7.4. İyontoforez Uygulaması	51
3.2.7.5. Akım Değerlerinin Teorik Olarak Hesaplanması	55
3.2.7.6. Analiz İçin Numune Hazırlanması (<i>in vivo</i>)	56
3.2.8. <i>in vivo</i> Testler	57
3.2.8.1. İritasyon Testi	57
3.2.8.2. Etkin Madde Salım Kinetiği	57
3.2.8.3. Bakiye Etkin Madde Miktarı	57
3.2.8.4. Akıların Hesaplanması	57
3.2.8.5. <i>in vitro-in vivo</i> Korelasyonun Hesaplanması (IVIVC)	58
4. BULGULAR	59
4.1. Etkin Maddelerin Çözünürlük Özellikleri	59
4.1.1. Donepezil HCl	59
4.1.2. Memantin HCl	60
4.2. Etkin Maddelerin Analiz Sonuçları	61
4.2.1. Fizikokimyasal Analiz Sonuçları	61
4.2.1.1. 1000432 Seri Numaralı Donepezil HCl'e Ait Analiz Sonuçları	61
4.2.1.2. 1000137820 Seri Numaralı Memantin HCl'e Ait Analiz Sonuçları	61
4.2.2. Etkin Maddelere Ait IR Spektrumları	62
4.2.3. Etkin Maddelere Ait DSC Spektrumları	64

4.3. Etkin Madde Miktar Tayini Analiz Yöntemleri.....	65
4.3.1. Donepezil HCl.....	65
4.3.2. Memantin HCl.....	66
4.4. Geçimlilik	67
4.4.1. Bulk Çözeltileri Halinde Geçimlilik	67
4.4.2. Tek Tabakalı Filmleri Halinde Geçimlilik.....	67
4.4.2.1. Donepezil HCl.....	67
4.4.2.2. Memantin HCl.....	69
4.5. Plasebolar Üzerinde Yapılan Çalışmalar	71
4.5.1. Plasebo ile Elde Edilen Tek Tabakalı Filmlerin Kalınlıkları.....	71
4.5.2. Plasebo ile Elde Edilen Tek Tabakalı Filmlerin Yüzey Özellikleri.....	72
4.5.3. Plasebo Formülleri ile Elde Edilen Tek Tabakalı Filmlerin Adheziflikleri.....	72
4.5.4. Plasebo ile Elde Edilen Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri.....	72
4.5.5. Plasebo ile Elde Edilen Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzelikleri	73
4.5.6. Plasebo ile Elde Edilen Tek Tabakalı Filmlerin Değerlendirilmesi	74
4.6. Etkin Madde İçeren Formüller Üzerinde Yapılan Çalışmalar	74
4.6.1. Tek Tabakalı Filmlerin Ortalama Kalınlıkları	75
4.6.2. Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeligi.....	77
4.6.3. Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçeriği	78
4.6.4. Tek Tabakalı Filmlerin Fiziksel Tektürlüğü	80
4.6.5. Tek Tabakalı Filmlerin pH Ölçümleri	80
4.6.6. Tek Tabakalı Filmlerin Adhezif Özellikleri.....	80
4.6.7. Tek Tabakalı Filmlerin Gerilmeye Karşı Direnci	81
4.6.8. Tek Tabakalı Filmlerin Etkin Madde Miktar Tayini	82
4.6.9. Tek Tabakalı Filmlerin Verim Hesabı	82
4.6.10. Tek Tabakalı Filmlerden <i>in vitro</i> Etkin Madde Salımı	83
4.6.10.1. Selofan Membranın Kullanılmadığı <i>in vitro</i> Çalışma Sonuçları.....	83
4.6.10.2. Selofan Membranın Kullanıldığı <i>in vitro</i> Çalışma Sonuçları	84
4.7. <i>in vivo</i> Çalışma Sonuçları	86
4.7.1. Deri İritasyon Testi	86
4.7.2. Bakiye Etkin Madde Miktarı.....	87
4.7.3. <i>in vivo</i> Sonuçları.....	89
4.7.3.1. IV Uygulamaya Ait Sonuçlar.....	89

4.7.3.2. Pasif Difüzyon Uygulamasına Ait Sonuçlar	90
4.7.3.3. İyontoforez Uygulamasına Ait Sonuçlar.....	92
A. Donepezil HCl.....	92
4.7.4. Hesaplanan Akı Değerleri.....	96
4.7.5. Etkin Maddelerin Salım Kinetikleri.....	96
4.7.6. <i>in vitro-in vivo</i> Korelasyon Sonuçları (IVIVC)	97
5. TARTIŞMA	98
KAYNAKLAR	106
ETİK KURUL KARARI	108
ÖZGEÇMİŞ	109



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo	Açıklama	Sayfa
2.1	Transdermal sistemlerde kullanılan polimer tipleri	19
2.2	Pasif difüzyon için etkin maddelerin sahip olması gereken özellikler	19
2.3	Transdermal yolla ilaç uygulanmasında geçiş artırma yöntemleri	20
3.1	Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler	35
3.2	Deneysel çalışmalarda kullanılan cihazlar	36
3.3	Donepezil HCl miktar tayini analiz yöntemine ait sistem özellikleri	39
3.4	Memantin HCl miktar tayini analiz yöntemine ait sistem özellikleri	39
3.5	Etkin ve yardımcı maddelerin değişik ortamlardaki çözünürlük özellikleri	40
3.6	İdeal Tek Tabaklı Filmin Sahip Olması Gereken Özellikler	43
3.7	Kullanılan hammadde miktarları	43
3.8	Kullanılan hammadde miktarlarının toplam formüle oranı	43
3.9	Kullanılan hammadde miktarlarının işlevsel oranları	44
3.10	Adheziflik Değerlendirme Kriterleri	47
3.11	<i>in vitro</i> EM salımının değerlendirilmesi için kullanılan yönteme ait bilgiler	48
3.12	Her etkin madde için <i>in vivo</i> uygulamada kullanılan birey sayısı	52
4.1	Donepezil HCl'ün sudaki çözünürlüğü	59
4.2	Donepezil HCl'ün diğer çözücülerdeki çözünürlüğü	59
4.3	Donepezil HCl deriden pasif difüzyon için sahip olduğu özellikler	59
4.4	Memantin HCl'ün sudaki çözünürlüğü	60
4.5	Memantin HCl'ün diğer çözücülerdeki çözünürlüğü	60
4.6	Memantin HCl deriden pasif difüzyon için sahip olduğu özellikler	60
4.7	Çalışmalarda kullanılan Donepezil HCl'e ait analiz sonuçları	61
4.8	Çalışmalarda kullanılan Memantin HCl'e ait analiz sonuçları	61
4.9	Donepezil HCl miktar tayini analiz yöntemi validasyonu özet sonuçları	65
4.10	Memantin HCl miktar tayini analiz yöntemi validasyonu özet sonuçları	66
4.11	Donepezil HCl'ün D12 kodlu plasebo çözeltisi içerisindeki karalılığı	67
4.12	Memantin HCl'ün D12 kodlu plasebo çözeltisi içerisindeki karalılığı	67
4.13	Tek Tabakalı Filmlerin Kalınlıkları	71
4.14	Tek Tabakalı Filmlerin Yüzey Özellikleri	72
4.15	Tek Tabakalı Filmlerin Adheziflik Sonuçları	72
4.16	Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (8 g dolum)	72
4.17	Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (10 g dolum)	72
4.18	Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (12 g dolum)	73
4.19	Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği (8 g dolum)	73
4.20	Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği (10 g dolum)	73
4.21	Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği (12 g dolum)	73
4.22	Tek Tabakalı Filmlerin Değerlendirilmesi	74
4.23	Etkin Madde İçeren Formüller	74
4.24	Tek Tabakalı Filmlerin Kalınlıkları (Donepezil)	75

4.25	Tek Tabakalı Filmlerin Kalınlıkları (Memantin)	76
4.26	Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği (Donepezil, 8g dolum)	77
4.27	Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği (Donepezil, 10g dolum)	77
4.28	Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği (Donepezil, 12g dolum)	77
4.29	Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği (Memantin, 8g dolum)	77
4.30	Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği (Memantin, 10g dolum)	78
4.31	Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği (Memantin, 12g dolum)	78
4.32	Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (Donepezil, 8g dolum)	78
4.33	Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (Donepezil, 10g dolum)	78
4.34	Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (Donepezil, 12g dolum)	79
4.35	Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (Memantin, 8g dolum)	79
4.36	Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (Memantin, 10g dolum)	79
4.37	Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (Memantin, 12g dolum)	79
4.38	Tek Tabakalı Filmlerin Yüzey Özellikleri (10 g dolum)	80
4.39	Tek Tabakalı Filmlerin pH Ölçümleri (Donepezil, 10 g dolum)	80
4.40	Tek Tabakalı Filmlerin pH Ölçümleri (Memantin, 10 g dolum)	80
4.41	Tek Tabakalı Filmlerin Adheziflik Sonuçları (Donepezil, 10 mg/film)	80
4.42	Tek Tabakalı Filmlerin Adheziflik Sonuçları (Memantin, 10 mg/film)	80
4.43	Tek Tabakalı Filmlerin Adheziflik Sonuçları (Donepezil, 2 mg/film)	80
4.44	Tek Tabakalı Filmlerin Adheziflik Sonuçları (Memantin, 2 mg/film)	81
4.45	Tek Tabakalı Filmlerin Gerilmeye Karşı Dirençleri (Donepezil, 10 mg/film)	81
4.46	Tek Tabakalı Filmlerin Gerilmeye Karşı Dirençleri (Memantin, 10 mg/film)	81
4.47	Tek Tabakalı Filmlerin Gerilmeye Karşı Dirençleri (Donepezil, 2 mg/film)	81
4.48	Tek Tabakalı Filmlerin Gerilmeye Karşı Dirençleri (Memantin, 2 mg/film)	81
4.49	Tek Tabakalı Filmlerin Etkin Madde Miktar Tayini (Donepezil, 10 mg/film)	82
4.50	Tek Tabakalı Filmlerin Etkin Madde Miktar Tayini (Memantin, 10 mg/film)	82
4.51	Tek Tabakalı Filmlerin Verim Hesabı (10 mg/film)	82
4.52	D12-P ile hazırlanan TTF <i>in vitro</i> etkin madde salımı (Donepezil, 10 mg/film)	83
4.53	D12-P ile hazırlanan TTF <i>in vitro</i> etkin madde salımı (Donepezil, 2 mg/film)	83
4.54	D12-P ile hazırlanan TTF <i>in vitro</i> etkin madde salımı (Memantin, 10 mg/film)	83
4.55	D12-P ile hazırlanan TTF <i>in vitro</i> etkin madde salımı (Memantin, 2 mg/film)	84
4.56	D12-P ile hazırlanan TTF <i>in vitro</i> etkin madde salımı (Donepezil, 2 mg/film)	84
4.57	D12-P ile hazırlanan TTF <i>in vitro</i> etkin madde salımı (Donepezil, 10 mg/film)	84
4.58	D12-P ile hazırlanan TTF <i>in vitro</i> etkin madde salımı (Memantin, 2 mg/film)	85
4.59	D12-P ile hazırlanan TTF <i>in vitro</i> etkin madde salımı (Memantin, 10 mg/film)	85
4.60	Pasif difüzyon sonunda bakiye etkin madde sonuçları (Donepezil)	87
4.61	Pasif difüzyon sonunda bakiye etkin madde sonuçları (Memantin)	87
4.62	0,1 mA/cm ² akım uygulaması, bakiye etkin madde sonuçları (10 mg Donepezil)	87
4.63	0,1 mA/cm ² akım uygulaması, bakiye etkin madde sonuçları (10 mg Memantin)	87
4.64	0,5 mA/cm ² akım uygulaması, bakiye etkin madde sonuçları (10 mg Donepezil)	87
4.65	0,5 mA/cm ² akım uygulaması, bakiye etkin madde sonuçları (10 mg Memantin)	87
4.66	0,1 mA/cm ² akım uygulaması, bakiye etkin madde sonuçları (2 mg Donepezil)	88
4.67	0,1 mA/cm ² akım uygulaması, bakiye etkin madde sonuçları (2 mg Memantin)	88
4.68	0,5 mA/cm ² akım uygulaması, bakiye etkin madde sonuçları (2 mg Donepezil)	88

4.69	0,5 mA/cm ² akım uygulaması, bakiye etkin madde sonuçları (2 mg Memantin)	88
4.70	Donepezil içeren filmler için toplu bakiye etkin madde sonuçları	88
4.71	Memantin içeren filmler için toplu bakiye etkin madde sonuçları	88
4.72	Memantin IV uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları	89
4.73	TTF-10MG (Donepezil) pasif difüzyon ile elde edilen kan konsantrasyonları	90
4.74	TTF-10MG (Memantin) pasif difüzyon ile elde edilen kan konsantrasyonları	90
4.75	TTF-10MG (Donepezil) 0,1 mA/cm ² iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları (ng/mL)	91
4.76	TTF-2MG (Donepezil) 0,1 mA/cm ² iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları (ng/mL)	91
4.77	TTF-10MG (Donepezil) 0,5 mA/cm ² iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları (ng/mL)	91
4.78	TTF-2MG (Donepezil) 0,5 mA/cm ² iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları (ng/mL)	92
4.79	TTF-10MG (Memantin) 0,1 mA/cm ² iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları (µg/mL)	93
4.80	TTF-2MG (Memantin) 0,1 mA/cm ² iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları (µg/mL)	93
4.81	TTF-10MG (Memantin) 0,5 mA/cm ² iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları (µg/mL)	93
4.82	TTF-2MG (Memantin) 0,5 mA/cm ² iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları (µg/mL)	94
4.83	Donepezil için elde edilen akı değerleri	95
4.84	Memantin için elde edilen akı değerleri	95
4.85	Donepezil için elde edilen kinetik sonuçları (0 Derece)	95
4.86	Donepezil için elde edilen kinetik sonuçları (1. Derece)	95
4.87	Donepezil için elde edilen kinetik sonuçları (Higuchi)	95
4.88	Donepezil için elde edilen kinetik sonuçları (Korsmeyer-Peppas)	95
4.89	Donepezil için elde edilen kinetik sonuçları (Hixson-Crowell)	95
4.90	Memantin için elde edilen kinetik sonuçları (0 Derece)	96
4.91	Memantin için elde edilen kinetik sonuçları (1. Derece)	96
4.92	Memantin için elde edilen kinetik sonuçları (Higuchi)	96
4.93	Memantin için elde edilen kinetik sonuçları (Korsmeyer-Peppas)	96
4.94	Memantin için elde edilen kinetik sonuçları (Hixson-Crowell)	96
4.95	Donepezil için elde edilen IVIVC sonuçları	96
4.96	Memantin için elde edilen IVIVC sonuçları	96
5.1	Donepezil için elde edilen <i>in vivo</i> kan konsantrasyonları (ng/mL)	103
5.2	Memantin için elde edilen <i>in vivo</i> kan konsantrasyonları (µg/mL)	103
5.3	Hesaplanan Akı Değerleri	104
5.4	Donepezil İçin Hesaplanan Kinetik Kolerasyon Katsayıları	104
5.5	Memantin İçin Hesaplanan Kinetik Kolerasyon Katsayıları	104
5.6	IVIVC sonuçları	105

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Açıklama	Sayfa
2.1	Derinin yapısal özelliklerinin şematik olarak gösterimi	4
2.2	Epidermisin yapısal özelliklerinin şematik olarak gösterimi	5
2.3	Stratum korneum tabakasından penetrasyon yolları	6
2.4	M_{out}/A , J_{ss} , K_p ve t_{lag} arasındaki ilişkiyi gösteren grafik	12
2.5	Sınırlı ve sınırsız doz uygulamasının dermal absorpsiyona etkisi	15
2.6	Kümülatif absorpsiyonun zamanın fonksiyonu olarak gösterimi	15
2.7	Etkin madde konsantrasyonunun zamanın fonksiyonu olarak gösterimi	15
2.8	Yama tipleri a)Rezervuar b)Matris c)Adhezif matris d)Mikrorezervuar sistem	18
2.9	Ag/AgCl elektrot kullanılan bir iyontoforez sisteminin şematik olarak gösterimi	25
2.10	EM konsantrasyonunun iyontoforetik geçiş üzerine etkisinin şematik gösterimi	29
2.11	Düşük molekül ağırlıklı, katyonik EM'lerin akıları üzerine akım şiddetinin etkisi	31
2.12	Akım şiddetinin oktreotitin tavşan derisinden geçişine etkisi	32
2.13	Çözelti pH'sının TRH fare derisi üzerindeki iyontoforetik geçiş üzerine etkisi	33
2.14	5-FU'in pH ve etkin madde iyonizasyon derecesine göre iyontoforetik geçişi	33
3.1	Uygulamaya yönelik sabit alanlı kesitlerin elde edilmesinde kullanılan kapaklar	42
3.2	Tek tabakalı filmlerin elde edildiği kalıplar	42
3.3	<i>in vivo</i> uygulamaların şematik gösterimi	49
3.4	Deneklerin sırt derilerinin tıraşlanması ve yamaların yapıştırılması	53
3.5	Deneklere paralel akım bağlanması	53
3.6	Deneklere 0,1 mA/cm ² paralel akım uygulanması	54
3.7	Deneklere 0,5 mA/cm ² paralel akım uygulanması	54
3.8	1 saat iyontoforez sonrası veya direkt olarak pasif difüzyon uygulaması	54
3.9	Özel yapım iyontoforez cihazına ait devre şeması	55
3.10	Miktar tayini analizleri için numune hazırlanması (<i>in vivo</i>)	56
3.11	Akıların hesaplamasında kullanılan grafik	58
4.1	Çalışmalarda kullanılan Donepezil HCl'e (Lot: 1000432) ait IR spektrumu	62
4.2	Donepezil HCl referans standardına (Lot: DPZ/RS/001/RD/05) ait IR spektrumu	62
4.3	Çalışmalarda kullanılan Memantin HCl'e (Lot: 1000137820) ait IR spektrumu	63
4.4	Memantin HCl referans standardına (Lot: MMT-3/003/06) ait IR spektrumu	63
4.5	Donepezil HCl'e (Lot: 1000432) ait DSC spektrumu	64
4.6	Memantin HCl'e (Lot: 1000137820) ait DSC spektrumu	64
4.7	Kan numunesinin Donepezil çözeltilerine spike edilmesiyle elde edilen pikler	65
4.8	Kan numunesinin Memantin çözeltilerine spike edilmesiyle elde edilen pikler	66
4.9	Donepezil HCl:EPO 1:1 a/a fiziksel karışımına ait DSC spektrumu	67
4.10	Donepezil HCl:HPMC 1:1 a/a fiziksel karışımına ait DSC spektrumu	68
4.11	Donepezil HCl:EC 1:1 a/a fiziksel karışımına ait DSC spektrumu	68
4.12	Donepezil HCl ile elde edilen tek tabakalı filme ait DSC spektrumu	68
4.13	Memantin HCl:EPO 1:1 a/a fiziksel karışımına ait DSC spektrumu	69
4.14	Memantin HCl:HPMC 1:1 a/a fiziksel karışımına ait DSC spektrumu	69

4.15	Memantin HCl:EC 1:1 a/a fiziksel karışımına ait DSC spektrumu	70
4.16	Memantin HCl ile elde edilen tek tabakalı filme ait DSC spektrumu	70
4.17	Pasif difüzyon öncesi (Sol), sonrası (Sağ)	86
4.18	0,1 mA/cm ² akım uygulaması öncesi (Sol), sonrası (Sağ)	86
4.19	0,5 mA/cm ² akım uygulaması öncesi (Sol), sonrası (Sağ)	86
4.20	IV Memantin uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonlarına ait grafik	89
4.21	Donepezil pasif difüzyon uygulaması ile elde edilen konsantrasyonlara ait grafik	90
4.22	Memantin pasif difüzyon uygulaması ile elde edilen konsantrasyonlara ait grafik	91
4.23	0,5 mA iyontoforez uygulamasıyla elde edilen konst. ait grafik (Donepezil)	93
4.24	0,1 mA iyontoforez uygulamasıyla elde edilen konst. ait grafik (Donepezil)	93
4.25	0,5 mA iyontoforez uygulamasıyla elde edilen konst. ait grafik (Memantin)	95
4.26	0,1 mA iyontoforez uygulamasıyla elde edilen konst. ait grafik (Memantin)	95



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Kısaltma	Açıklama
HCl	Hidroklorik asit
EPO	Eudragit EPO
HPMC	Hidroksipropil metil selüloz
PEG	Polietilen glikol
EC	Etil selüloz
SC	Stratum korneum
N	Newton
ng	Nanogram
µg	Mikrogram
mg	Miligram
g	Gram
kg	Kilogram
mA	Miliamper
µA	Mikroamper
nm	Nanometre
cm	Santimetre
cm ²	Santimetre kare
cm ³	Santimetre küp
a/a	Ağırlık/ağırlık cinsinden oran
IV	İntravenöz
sn	Saniye
dk	Dakika
sa	Saat
mL	Mililitre
L	Litre
nmol	Nanomol
mmol	Milimol
mM	Milimolar
M	Molar
h/h	Hacim/hacim cinsinden oran
a/h	Ağırlık/hacim cinsinden oran
Da	Dalton
kDa	Kilo Dalton
kHz	Kilo Hertz
MHz	Mega Hertz
V	Volt
J	Joule
LOD	Kurutma kaybı
IR	İnfra red

DSC	Diferansiyel tarama kalorimetresi
UV	Ultraviyole
LOQ	Kantitatif tayin sınırı
LOD	Teşhis sınırı
WS	Çalışma standardı
rpm	Dakikadaki devir sayısı
RSD	Göreceli standart sapma
SS	Standart sapma
$\bar{X}$	Ortalama
Σ	Toplam
Dx	Deneme X
X	Deneme numarası
IV-Mx	Memantin HCl IV uygulama deneme X
P-Dx	Donepezil HCl pasif difüzyon deneme X
P-Mx	Memantin HCl pasif difüzyon deneme X
İ01-Dx	Donepezil HCl 0,1 mA/cm ² ön uygulaması deneme X
İ01-Mx	Memantin HCl 0,1 mA/cm ² ön uygulaması deneme X
İ05-Dx	Donepezil HCl 0,5 mA/cm ² ön uygulaması deneme X
İ05-Mx	Memantin HCl 0,5 mA/cm ² ön uygulaması deneme X
IVIVC	<i>in vitro-in vivo</i> korelasyon
TTF	Tek tabakalı film
Dx-P	Deneme X'e ait plasebo
TTF-10MG	10 mg etkin madde içeren tek tabakalı film

ÖZET

Takmaz, E.A. Model Etkin Maddelerin Deri Yoluyla Uygulanmalarında Taşıyıcı Bir Sistemin Geliştirilmesi ve Transdermal Akılarının Konsantrasyon-Akım Gradyanı İle Ayarlanması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi. İstanbul. 2019.

Bu çalışmanın amacı, model etkin madde olarak kullanılan Donepezil ve Memantin'in transdermal olarak uygulanabilmeleri için taşıyıcı bir sistemin geliştirilmesi ve etkin maddelerin bu sistemden sistemik dolaşıma geçen miktarları üzerinde konsantrasyon ve akım şiddetindeki artışın etkisinin incelenmesidir.

Tek tabakalı filmlerin oluşturulmasında EPO, HPMC ve EC'dan oluşan polimer matris kullanılmıştır. Polimer matrise oranla, plastikleştirici ajan olarak %30 a/a oranında PEG ve formülasyonun nem içeriğinin korunması amacıyla %30 a/a oranında gliserol kullanılmıştır. Etkin maddeler 2,55 cm² yüzey alanına sahip tek tabakalı filmlere 2 mg/film ve 10 mg/film olmak üzere iki farklı konsantrasyonda yüklenmiştir. Tıraşlanmış sıçan sırt derisine yerleştirilen tek tabakalı filmlere 1 saat süreyle 0,1 mA/cm² veya 0,5 mA/cm² akım şiddetinde anodal iyontoforez uygulanmıştır. Anodal iyontoforez ile elde edilen sonuçlar pasif difüzyon ve IV uygulama sonuçları ile kıyaslanmıştır. *in vitro* ve *in vivo* koşullar arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için eş zaman noktalarında alınan numunelerden elde edilen konsantrasyonlar ile doğrusallığa ait regresyon oluşturularak korelasyon katsayıları hesaplanmıştır. Düşük moleküler ağırlığa ve daha yüksek hidrofobik özelliğe sahip Memantin'in pasif difüzyonu ile elde edilen kan konsantrasyonu 166,13 ng/mL/24 saat iken, 1 saat 0,5 mA/cm² akım uygulaması sonrası 10,59 µg/mL/24 saat değerine ulaşmıştır. Donepezil'in pasif difüzyonu ile elde edilen kan konsantrasyonu 73,56 ng/mL/24 saat iken, 1 saat 0,5 mA/cm² akım uygulaması sonrası 636,81 ng/mL/24 saat değerine ulaşmıştır.

Elde edilen sonuçlar etkin maddelerin deriden geçişlerinin artırılmasında konsantrasyon ve akım şiddetindeki artışın etkili olduğunu ancak etkin maddelerin fizikokimyasal özelliklerinin bu artışın niceliğinin belirlenmesi açısından önemli bir rolü olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Donepezil, Memantin, Transdermal, Akı, İyontoforez, Akım şiddeti, Konsantrasyon

ABSTRACT

Takmaz, E.A. Designing of carrier system for model drugs and evaluation their transdermal flux via concentration-current gradient. İstanbul University, Institute of Health Science, Pharmaceutical Technology Department. PhD Thesis. İstanbul. 2019.

The aim of the study is to design carrier system for transdermal delivery of model drugs Donepezil and Memantin and to investigate the effect of concentration and current intensity on the amounts of drug passing through this system to the systemic circulation.

Polymer matrix including EPO, HPMC and EC were used to obtain monolayer films. PEG was used as plasticizer at 30% w/w and glycerol was used to maintain the moisture content of the formulation at 30% w/w, relative to the polymer matrix. The drugs were loaded at two concentrations (2 mg & 10 mg) to monolayer films which has a 2.55 cm² constant surface area. Anodal iontophoresis was applied for 1 hour with a current intensity of 0.1 mA/cm² or 0.5 mA/cm² on loaded monolayer films which were placed on shaved dorsal skins of rats. The results obtained by iontophoresis were compared with the results of passive diffusion and IV administration. In order to evaluate the relationship between *in vitro* and *in vivo* conditions correlation curves were generated. The used model drugs have similar physicochemical properties but, Memantin has more hydrophobic and lower molecular weight compared to Donepezil. The passive diffusion blood samples concentration of Memantin was 166.13 ng/mL/24 h and increased to 10.59 µg/mL/24 h after 1 hour 0.5 mA/cm² anodal iontophoresis of Memantin loaded monolayer films. The passive diffusion blood samples concentration of Donepezil was 73.56 ng/mL/24 h and increased to 636.81 ng/mL/24 h after 1 hour 0.5 mA/cm² anodal iontophoresis of Donepezil loaded monolayer films.

The results showed that increase in concentration and current intensity were effective in increasing the transport of model drugs through the skin, it was observed that the increase in transport quantity was depended on physicochemical properties of the model drugs.

Key Words: Donepezil, Memantin, Flux, Transdermal, Iontophoresis, Current intensity, Concentration

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bu çalışmada, model etkin madde olarak Donepezil HCl ve Memantin HCl kullanılmıştır. Model etkin maddeler 2 mg/film ve 10 mg/film olmak üzere iki farklı konsantrasyonda aynı formülasyona sahip tek tabakalı filmlere yüklenmiştir. İlgili etkin maddelerin deri yoluyla uygulanmalarında etkin madde konsantrasyonunun ve akım şiddetinin etkin maddelerin transdermal akıları üzerine etkisi incelenmiştir.

Donepezil HCl ve Memantin HCl Alzheimer tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu etkin maddelerin yan etki profilleri, uygulanma ve takip zorlukları, ileri yaştaki hastalarda görülen fiziksel kısıtlamalar da eklendiğinde hastanın yaşam kalitesini olumsuz etkilemektedir. Hasta uyuncunun sağlanmasında ve yaşam kalitesinin iyileştirilmesinde alternatif ilaç verilış yolları değerlendirilebilir. Transdermal yolla ilaç uygulanması, yan etki profilinin azaltılması, uygulama ve takip kolaylığı nedeniyle hastaların yaşam kalitesinin iyileştirilmesinde etkili bir alternatif ilaç verilış yoludur. Uygulama alanı olan deri, insan vücudunun en geniş yüzey alanına sahip organıdır. Deri yoluyla yapılan uygulamalarda dozaj formunun deri ile uzun süreli teması sağlanarak sistemik etki oluşturulması amacıyla kullanımı mümkündür. Bunun yanı sıra derinin doğal bir bariyer olması, etkin maddelerin istenilen sistemik etkiyi oluşturacak kan konsantrasyonlarının elde edilmesini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle deriden etkin maddelerin geçişlerinin arttırılmasında sıklıkla penetrasyon arttırıcı bir yöntem veya birden fazla yöntemin birlikte kullanımı söz konusudur.

Bu araştırmanın amacı, etkin madde konsantrasyonu ve akım şiddetinin etkin maddelerin transdermal akıları üzerine etkilerinin incelenmesidir. Etkin madde konsantrasyonu ve akım şiddeti arasında ilişkiye bağılı olarak etkin maddelerin transdermal akılarının ayarlanabilirliği değerlendirilmiştir. Seçilen model etkin maddeler yan etki profilleri nedeniyle transdermal uygulamaya aday olan ve piyasada uzatılmış etki oluşturmak amacı ile oral kontrollü salım preparatları bulunanlar arasından seçilmiştir. Gelecekte, etkin maddelerin transdermal akılarının ayarlanabilmesi ile deri yoluyla yapılan uygulamaların artacağı, bireysel dozlanmanın sağlanabileceğı ve hastaların yaşam kalitesinin iyileştirilmesinde önemli katkıları olacağı öngörülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Alzheimer Hastalığı⁽²⁰⁾

Bunama, günlük sıradan aktivitelerin gerçekleştirilmesinde bozulma ile karakterize olan bir rahatsızlıktır. Temel olarak yaşlı insanları etkilese de, yaşlanmanın doğal bir parçası değildir. Dünya genelinde yaklaşık 50 milyon insan bunama etkisindedir ve her yıl yaklaşık 10 milyon yeni vaka eklenmektedir. Alzheimer hastalığı, bunama vakalarının %60-70'lik bölümünü oluşturan ve sık görülen şeklidir. Bunama, sadece hastaları değil, onların bakıcılarını ve aile fertlerini de fiziksel, psikolojik, sosyoekonomik olarak etkilemektedir. Bunamaya bağlı belirti ve semptomlara göre hastalık üç temel aşamaya ayrılabilir.

Erken Evre: Başlangıç evresidir. Sık görülen belirtileri unutkanlık, zamanı takip edememe, tanıdık yerlerde dahi kaybolmadır.

Orta Evre: Semptomların daha belirgin ve kısıtlayıcı olduğu evredir. Sık görülen belirtileri son yaşanan olayları ve insan isimlerini unutmama, evde kaybolma, iletişim konusunda zorluk yaşama, kişisel bakım konusunda yardıma ihtiyaç duyma ve tekrarlayan sorgulamaların eşlik ettiği davranış değişiklikleridir.

Geç Evre: Tam bağımlılık ve hareketsizlik evresidir. Sık görülen belirtileri yer ve zamandan habersiz olma, akraba ve arkadaşları tanıyamama, yürüme zorluğu ve saldırganlığın eşlik ettiği davranış değişiklikleridir.

Tedavi ve Bakım: Klinik çalışmalarla yeni tedavi yöntemleri araştırılsa da bunamanın tedavisi veya ilerlemesinin durdurulması için bir yöntem bulunmamaktadır.

Risk Faktörleri ve Önleme: Bazı araştırmalar, bilişsel bozulmanın gelişimi ile bazı hastalıklar ve yaşam tarzları arasında ilişki olduğunu göstermiştir. Risk faktörleri arasında fiziksel hareketsizlik, obezite, sağlıklı diyetler, tütün ve alkol kullanımı, diyabet ve orta yaşta görülen hipertansiyon bulunmaktadır.

Sosyal ve Ekonomik Etkiler: Bunamanın, tıbbi ve bakım maliyetleri açısından önemli sosyoekonomik etkileri vardır. 2015 yılı içerisinde tedavi maliyetlerinin küresel gelire oranı %1,1 (818 milyar ABD doları) civarındadır.

Tedavi: Alzheimer hastalığının mevcut tedavisi donepezil, galantamin, rivastigmin ve memantin adlı etkin maddelerin tek başlarına veya kombinasyonları halinde geleneksel ilaç veriliş yolları ile uygulanmasına dayanmaktadır. Yapılan araştırmalarda hastalığa temel teşkil edebilecek bazı risk faktörleri belirlenmiş olsa da bu hastalığın günümüzde profilaktik veya radikal bir tedavisi bulunmamaktadır. Alternatif ilaç veriliş yöntemleri, geleneksel yolla uygulanan tedavi yöntemleriyle kıyaslandığında hastaların yaşam kalitesinin artırılmasında ve yan etkilerin azaltılmasında günümüz araştırmalarının önemli bir bölümünü oluşturmaktadır.

2.2. Alzheimer Tedavisinde Alternatif İlaç Veriliş Yöntemleri⁽³⁾

Alzheimer hastalığı patogenezi üzerine yeni araştırma sonuçlarının ortaya çıkması, terapötik müdahale için yeni stratejiler ortaya koymuştur. Bunların arasında α -sekretazın uyarılması, γ -sekretaz aktivitesinin inhibisyonu, NSAI ilaçların kullanımı, antioksidan terapiye dayalı nöroproteksiyon, östrojenlerin kullanımı, NO sentetaz inhibitörleri ve polifenoller bulunmaktadır. Bu terapötik ajanlar, erken evrede sürecin yavaşlamasında veya durdurulmasında etkili olabilirler ancak ileri evrelerde bilinen bir etkileri görülmemiştir.

Alzheimer hastalığı için alternatif tedavi yöntemleri keşfedilene kadar, geleneksel ilaç veriliş yollarıyla yapılan tedavilere alternatif teşkil edecek, uygulama kolaylığını ve tedavi devamlılığını sağlamaya yönelik yeni ilaç veriliş stratejilerinin geliştirebilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Alzheimer hastalığı tedavisinde alternatif ilaç veriliş yöntemleri aşağıda sıralanmıştır.

- a. Uzatılmış salımlı preparatlar
- b. Dil altı preparatlar
- c. İntranazal preparatlar
- d. Kısa ve uzun etkili kas içi preparatlar
- e. Transdermal preparatlar
- f. Nanoteknoloji temelli preparatlar

Bu araştırmada, sistemik etki oluşturmak için alternatif tedavi yöntemi olarak deri yoluyla ilaç verilişi üzerinde çalışılmıştır. Çalışmada kullanılan model etkin maddeler tek başlarına ve kombinasyonları halinde uzatılmış salımlı preparatları bulunan etkin maddeler arasından seçilmiştir.

2.3. Derinin Görevleri ve Yapısal Özellikleri⁽¹⁰⁾

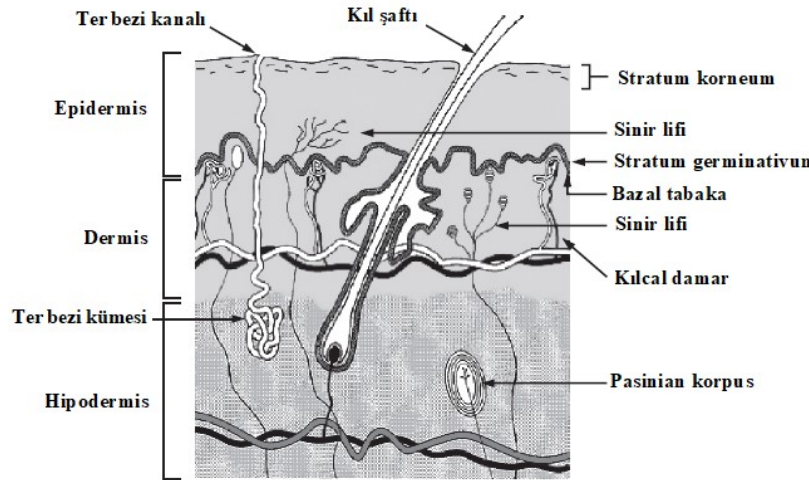
Deri, 70 kg'lık ortalama bir insan için yaklaşık 4 kg ağırlığa ve 1,8 m²'lik yüzey alanına sahip olan vücuttaki en geniş organdır. Normal koşullarda, ortalama bir insanda deriye ait kan dolaşımının toplam kan dolaşımına oranı %5-10'dur. Deriye ait kan dolaşımında kan akış hızı yaklaşık olarak 4,64 cm³/sn veya başka bir ifade ile 16.700 cm³/sa'dır.

Deri, heterojen bir organdır. Bir çok katmandan ve kıl folikülleri, tez bezi kanalları, yağ bezi kanalları gibi deri eklerinden oluşmaktadır (**Şekil 2.1**). Derinin kalınlığı ve Stratum korneum tabakasının kompozisyonu vücudun çeşitli bölgelerinde farklılık gösterebilmektedir. Deri, seçici geçirgen özelliktedir ve sınırlı sayıda kimyasal deriden kolayca geçebilmektedir.

2.3.1. Derinin Görevleri

2.3.1.1. Bariyer Özelliği

Deri, vücudun iç bölümlerini dış ortam etkilerinden koruyan, sağlam, esnek ve kendini onarabilir özellikte bir bariyerdir. Vücudun, su ve elektrolit dengesinin sağlanmasında, esnek yapısı sayesinde mekanik etkilere karşı korunmasında, toksik etkili kimyasallar ve patojen mikroorganizmalardan korunmasında önemli bir göreve sahiptir.



Şekil 2.1. Derinin yapısal özelliklerinin şematik olarak gösterimi

2.3.1.2. Sıcaklık Kontrolü

Deri, terleme yoluyla ve kılcal damarların sıcaklığı dengelemesi sayesinde vücut ısısının kontrolünde önemli bir role sahiptir. Deri, normal koşullarda 250-300 cm³/dk olan kan akış hızını vücut sıcaklığındaki artışın şiddetine bağlı olarak 6.000-8.000 cm³/dk'ya kadar arttırabilmekte ve vücut ısısının dengelenmesine yardım etmektedir.

2.3.1.3. Savunma ve Onarım

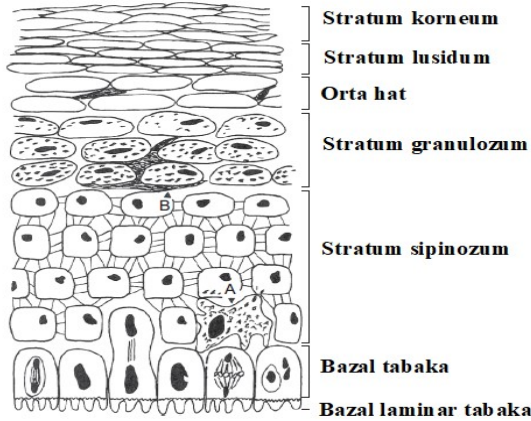
Deri, Markel hücreleri ve ağrı reseptörleri yoluyla dokunma hassasiyeti, Langerhans hücreleri yoluyla immünite, yara iyileştirme, ultraviyole ışınlarla karşı koruyuculuk, metabolizma gibi savunma ve onarım görevlerine sahiptir. Deri katmanlarının onarımı sistematik olarak belirli bir süre içinde gerçekleşmektedir. Yaralanma gibi durumlarda sitokin salımına bağlı artış nedeniyle onarım faaliyetlerinde artış gözlenebilmektedir.

2.3.2. Derinin Yapısal Özellikleri

Embriyonik orjine ve yapısal özelliklere bağlı olarak deri iki ana tabakaya ayrılmaktadır. Bunlardan ilki dış tabaka olarak da adlandırılan epidermis tabakasıdır. Epidermis, embriyonik ektoderm döneminde oluşur ve tüm dokuları sarar. İkincisi ise yine embriyonik ektoderm döneminde oluşan dermis tabakasıdır.

2.3.2.1. Epidermis

Epidermis, tüm derinin yaklaşık %5'lik kısmını oluşturur. Anatomik bölgeye ve hücresel özelliklere bağlı olarak kendi içinde 5 ila 6 tabakaya ayrılır (**Şekil 2.2**). Epidermisi oluşturan hücreler keratinositler olarak bilinen ve mitotik bazal hücrelerin farklılaşmasından oluşan hücrelerdir.



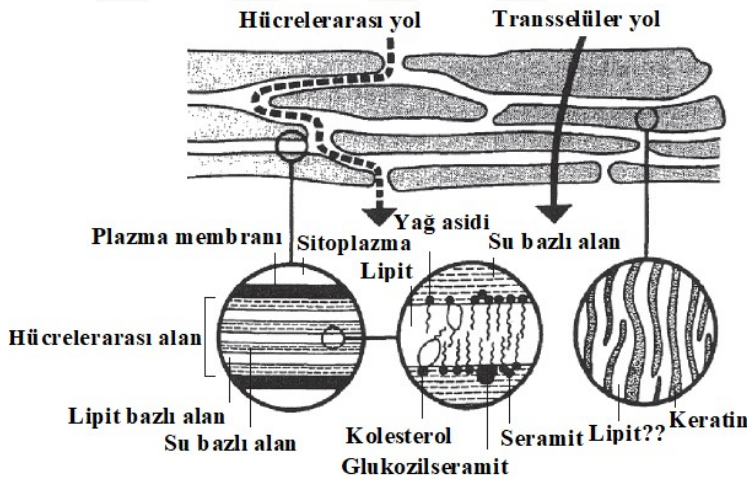
Şekil 2.2. Epiderminin yapısal özelliklerinin şematik olarak gösterimi

Stratum germinativum keratinositleri metabolik olarak aktif ve bölünebilir özellikte hücrelerdir. Stratum germinativum'da oluşan hücrelerden bazıları dışa doğru hareket eder ve farklılaşırlar. Stratum germinativum'a bitişik hücreler, lameler granülleri ve hücre içi organelleri üretirler. Bu hücrelerin hücre membranları eriyerek nötral lipidleri serbest hale getirir. Bu nötral lipidlerin epidermis boyunca penetrasyona engel oluşturduğu düşünülmektedir.

Dezmozomlar ve dikensi görünümüne sahip diğer hücreler 3-4 hücresel katmandan oluşan ve Stratum spinosum adı verilen katmanda bulunurlar. Keratinositler epiderminin üçüncü

tabakası olan Stratum granulozumda doğru göç ederler. Stratum granulozum tabakası barındırdığı epiderminin dış canlı hücreleri olan keratohyalin granülleri, poliribozomlar, geniş golgi cisimcikleri ve endoplazmik retikulum ile karakterize bir tabakadır.

Geçiş engelleyen ana bariyer, cansız, çekirdeklerini kaybetmiş, metabolik aktiviteleri olmayan, boynuzsu özellikte, 15-20 korneosit katmandan oluşan Stratum korneum tabakasıdır. Stratum korneumu oluşturan hücreler baskın olarak disülfid ve hidrojen bağları ile bağlı skleroproteinden oluşan ve keratin adı verilen hücrelerden oluşmaktadır. Korneositler, korneodesmozom ile bağ yaparak, ekstraselüler nonpolar lipidler ile sarılmıştır. Her bir korneosit proteinden zengin boynuzsu bir hücre zarfı oluşturarak interselüler lipidlere kovalent olarak bağlanmıştır. Dekuamasyon prosesi hücrelerarası bağlantıları aksatır ve dış hücreler yüzeyde kabuk oluştururlar. Keratinositlerin bu döngüsü 17 ile 71 gün arasında sürmektedir. Avuç içinde 32 ila 36 gün ve ön kol iç bölgesinde 58 gün olmak üzere anatomik bölgeye göre farklılık görülebilmektedir. Stratum korneum kalınlığı vücudun neredeyse tüm bölgelerinde 10-50 µm'dir. Vücudun sürtünmeye açık bölgeleri olan el ve ayak gibi bölgelerde ise 10 katına kadar artan kalınlıklara sahip olabilmektedir. Stratum korneum su içeriği fizyolojik olarak aktif olan ve %70 su içeriğine sahip bazal membran ile kıyaslandığında çok az ve %5-20 oranındadır. Stratum korneum'un çoğu etkin maddeye karşı geçirgen olamaması nedeniyle, etkin maddelerin penetrasyonu korneositler arasındaki kıvrımlı yolaklardan olmaktadır.



Şekil 2.3. Stratum korneum tabakasından penetrasyon yolları

Stratum korneumda hücrelerarası alanı oluşturan hidrofobik lipidler %45-50 seramit, %25 kolesterol, %15 uzun zincirli serbest yağ asitleri ve %5 diğer lipidlerden oluşmaktadır. Bunların arasında en önemlileri kolesterol sülfat, kolesterol esterleri ve glukozilseramitlerdir.

Epidermiste önemli görev üstlenen iki dendritik hücre bulunmaktadır. Bunlar melanositler ve Langerhans hücreleridir. Melanositler bazal tabakaya bağlı olarak bulunurlar ve melanin pigmentini üretirler. Langerhans hücreleri ise epidermal alanda bulunurlar ve ekzojen kimyasalları metabolize edecek enzimleri içerirler. Langerhans hücreleri aynı zamanda immün hafıza olarak bilinen Ia antijenleri, Immünglobülin G'nin Fc kısmı için yüzey reseptörlerini ve komplement C3'ü barındırırlar.

2.3.2.2. Dermis

Dermis 0,2-0,3 cm kalınlığında başta kollajen, elastin, retikulum ve fibröz proteinleri amorf kolloidal bir ortamda gömülü olarak barındıran bir dokudur. Dermisin en belirgin özelliği derinin elastikiyetinin sağlanmasıdır. Dermis, bünyesinde kılcal damarlar, lenf bezleri, basınç-sıcaklık-acı sensörleri bulunur. Dermis, ter bezleri ve piloseböz ünitelerinin iç segmentlerini de barındırmaktadır.

2.3.2.3. Deri Ekleri

Deri ekleri, ekrin ter bezleri, epokrin ter bezleri, sebasöz bezleri ve kıl foliküllerini içeren eklere verilen genel addır ve subpapillar dermisten orjin alırlar. Deri ekleri neredeyse tüm anatomik alanlarda bulunmaktadır ancak miktarları bulundukları alana göre farklılık gösterebilmektedir. Ortalama olarak bir insan derisi cm^2 başına 40-70 kıl folikülü, 200-250 ter bezi kanalı içermektedir. Yağ bezi kanalları daha çok sayıdadır ve genellikle alın, kulak ve yüz bölgesinde geniş alana sahiptirler. Yağ bezi kanalları, ana bileşeni gliseritler, serbest yağ asitleri, kolesterol, kolesterol esterleri, mum esterleri ve sekulen olan sebumun sekresyonundan sorumludur. Sebum deri için bir kaydırıcı görevi görür ve deriye hafif asidik özellik ($\text{pH} \sim 5$) kazandırır.

2.4. Deri Yoluyla Geçiş Mekanizmaları^(10,18)

Derinin dış ortam ile sürekli etkileşimde olan karmaşık ve canlı bir membran olması nedeniyle etkin maddelerin deri yoluyla geçişi zordur. Etkin maddelerin deri yolu ile geçişinde baskın üç ana yolak bulunmaktadır.

2.4.1. Transselüler Geçiş

Geçişi gerçekleşecek olan etkin madde keratin ile zarflanmış korneositlerin hücre membranından transit olarak geçiş sağlar.

2.4.2. Hücrelerarası Geçiş

Geçişi gerçekleşecek olan etkin madde keratin ile zarflanmış korneositlerin etrafını saran ve lipitten zengin hücrelerarası alandan geçiş sağlar.

2.4.3. Deri Eklerinden Geçiş

Geçiş gerçekleşecek olan etkin madde keratin ile zarflanmış korneositleri devre dışı bırakarak, yağ bezi kanalları, ter bezi kanalları ve kıl foliküllerinden oluşan doğal yollardan geçiş sağlar. Deri ekleri tarafından oluşturulan yüzey alanı tüm derinin ancak %0,1-1,0'lik kısmına denk düşmektedir. Bu nedenle deri ekleri yoluyla geçiş çoğu etkin madde için uygun değildir. Deri eklerinin oluşturdukları etkin alanlar özellikle bazı vücut bölgelerinde yoğunluk göstermektedir, örneğin kıl folikülleri baş bölgesinde yoğunlaşmaktadır. Etkin maddelerin deri ekleri yoluyla geçişi, penetrasyon arttırıcıların kullanımı ile daha etkili olabilmektedir. Örneğin, yağ bezi kanalları bazı etkin maddeler için rezervuar görevi üstlenebilir veya iyontoforez tekniği ile deri eklerinden etkin geçiş sağlanabilir.

2.5. Deri Yoluyla Geçiş Etkilenen Faktörler⁽¹⁰⁾

Araştırma sonuçları insan derisinin ve laboratuvar hayvanlarının derilerinin etkin maddelerin geçişi açısından farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır.

2.5.1. Tür

Çoğu kimyasala karşı laboratuvar hayvanlarının derisi insan derisine kıyasla daha geçirgen özelliktedir. Bu farklılığın oluşmasında ana etmenler Stratum korneum kalınlığı, lipid içeriği ve yapısıdır. Laboratuvar hayvanlarında insularla kıyaslandığında birim alana düşen deri eklerinin fazlalığı da geçirgenlikte artışa sebep olabilmektedir. Domuz yavrusu ve maymun derisi, insan derisine en yakın özelliği göstermektedir.

2.5.2. Yaş, Cinsiyet, Irk

Prematüre ve düşük doğum ağırlığına sahip bebekler tam olarak gelişmemiş bir stratum korneuma sahiptir. Normal bir bebekte doğumdan yaklaşık 4 hafta sonrasında Stratum korneum tabakaları normal özelliklerine sahip olur. Bazı çalışmalar yaşlandıkça derinin bariyer fonksiyonunda artış gözlemlendiğini göstermektedir ancak absorpsiyona ilişkin veriler kısıtlıdır. Yaşlanmış deride gözlenen değişiklikler;

- 1) Stratum korneum tabakasının neminin azalması
- 2) Yağ bezi aktivitelerinin azalmasına bağlı olarak yüzey lipidlerinin azalması
- 3) Dermal, epidermal bağlantı noktalarında yassılaşma
- 4) Kapiler ağdaki azalma nedeniyle canlı dermis için sağlanan kanın azalması

Cinsiyet, etnik köken, dış ortam koşulları gibi farklılıkların benzoik asit, kafein ve asetilsalisik asitin perkütan absorpsiyonu üzerine etkisini görebilmek amacıyla Asya, Afrika ve Kafkas kökenli bireyler üzerinde çalışmalar yapmıştır. Bireylerden elde edilen verilere göre

perkütan absorbsiyonda anlamlı farklılıklar gözlenmemiştir. Ancak, çalışma sırasında kullanılan etkin maddelerin hidrofilik özellikte olması nedeniyle genelleme yapılması söz konusu değildir.

2.5.3. Anatomik Bölge

Deri kalınlığı insan göz çevresinde 0,05 cm, dirsekler ve topuklarda yaklaşık 0,4 cm civarındadır. Uygulamanın yapıldığı vücut bölgesine göre etkin madde geçişinde değişiklik görülebilmektedir.

2.5.4. Deri Koşulu

Deri koşullarının bozulmuş olduğu alanlarda penetrasyon ve dolayısı ile geçiş açısından belirgin farklılıklar görülmektedir. Derinin geçirgenliği hava koşulları, güneş ışığı, gibi fiziksel; çözücüler, deterjanlar, asitler, alkaliler gibi kimyasal; mekanik deformasyon, hastalıklı bölgeler gibi patolojik etmenler nedeniyle değişiklik gösterebilmektedir. Polar ve apolar çözücüler deriyi lipidlerden arındırarak bariyer fonksiyonda azalmaya sebep olabilmektedir. Sık rastlanılan deri hastalıklarından psoriasis, atopik ekzema gibi epidermisin granüler tabasında canlılık kaybı ile ortaya çıkan hastalıklarda derinin bariyer özellikleri patolojik bölgede farklılık gösterebilmektedir.

2.5.5. Sıcaklık ve Kan Akış Hızı

Derinin sıcaklığı penetrasyon üzerinde iki farklı şekilde etkili olmaktadır; 1) Artan sıcaklığa bağlı olarak difüzyonun artması nedeniyle artmış penetrasyon 2) Lipit çift tabakayı oluşturan kristal yapıdaki lipidlerin etkileşimi nedeniyle artmış penetrasyon. Yapılan araştırmalarda kan akım hızına bağlı olarak genellikle küçük ve lipofilik özellikteki etkin maddelerin penetrasyonun etkilendiği gözlenmiştir. Bu etkin maddeler bariyer tabakayı kolay aşmalarına rağmen kan tarafından daha yavaş absorbe edilmektedirler. Bu nedenle artan kan akım hızı artmış absorbsiyona neden olmamaktadır.

2.5.6. Hidrasyon

Stratum korneum ortalama olarak %5-20 kadar su içermektedir. Ancak Stratum korneum hidrate edildiğinde %50'ye varan oranda su içerebilir ve bu durum etkin maddelerin penetrasyonu üzerinde etkili olabilmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda artmış hidrasyon nedeniyle etkin maddelerin deriden penetrasyonunda artış gözlemlendiği bildirilmiştir. Ancak, oklüzif etki ile artırılmış hidrasyonda penetrasyon artışı gözlenmemiştir. Yapılan bazı çalışmalarda oklüzif etki ile su kaybının azaldığı ve bazı hidrofilik etkin maddelerin dermal absorbsiyonların arttığı bildirilmektedir. Hidrasyonun artışı çoğu araştırmacı tarafından geçişin artmasında önemli bir etken olarak bildirilmektedir. Ancak, bu çalışmalar sırasında sıcaklık ve terlemenin etkilerinin berteraf edilebilmesi veya dikate alınması gerekmektedir.

2.6. Rezervuar Etki

Araştırmalar, bazı etkin maddelerin deriden tamamen geçiş yapmak yerine deri üzerinde kümelenerek bir rezervuar oluşturduklarını göstermektedir. Rezervuar etkiden bazı topikal uygulamalarda yararlanılmıştır. Örneğin, salisilik asidin intradermal enjeksiyonu halinde uygulaması, topikal uygulanması ile kıyaslandığında daha yavaş absorbe edildiği görülmüştür. Absorbsiyon hızı nedeniyle bu türde bir uygulama difüzyonu daha geç olan etkin maddeler için tercih edilebilir. Rezervuar etki, derinin bazı etkin maddeler için bir depo görevi görebileceğini işaret etmektedir. Oluşturulan rezervuarın etki süresi kullanılan etkin maddeye, taşıyıcı sisteme, derinin sıcaklığına ve nem gibi faktörlere bağlıdır. Bir etkin maddenin rezervuar oluşturabilme özelliği, proteinlere bağlanmasına, deriden penetrayon hızına ve çözünürlük özelliklerine bağlıdır.

2.7. Deriden Geçiş Mekanizmaları^(10,18)

2.7.1. Deriden Geçiş

Perkütan absorbsiyon, bir etkin maddenin deriden penetrasyonundan, dermal-epidermal bağlantı noktasındaki kapiler ağ tarafından absorbe edilmesine kadar geçen süreci kapsar. Perkütan absorbsiyon çoğu etkin madde için genellikle transepidermal yolla gerçekleşir. Hiçbir penetrayon arttırıcının kullanılmadığı durumda deri ekleri ile gerçekleşen geçiş genellikle ihmal edilmektedir. Etkin maddelerin Stratum korneumdan geçişleri genellikle pasif difüzyon yolu ile olur ve aktif geçişin bir etkisi bulunmamaktadır. Stratum korneumun pasif difüzyona yüksek rezistans göstermesi etkin maddelerin deri yoluyla uygulanmalarının kısıtlanmasında etkilidir. Pasif difüzyonun hidrofilik özellikteki epidermis ve dermis tarafından kısıtlanması ise sadece yüksek lipofilik özellikteki etkin maddeler için, Stratum korneumun zarar gördüğü durumlarda gerçekleşir. Etkin madde canlı epidermis ve dermis tabakalarını geçtikten sonra kütan kan akımına ve lenf sistemine geçiş yapar. Ancak kan akımı yeterli değilse etkin madde canlı epidermiste, dermiste ve derin dokularda birikebilmektedir.

2.7.2. Pasif Difüzyonun Teorik Yönü

Fick'in birinci kanunu membranlardan pasif difüzyonu aşağıdaki denklemle açıklar;

$$J = -D \times \partial C / \partial x \quad (2.1)$$

J	:	Akı (etkin maddenin birim alandan transfer hızı)
D	:	Difüzyon katsayısı
∂C	:	Konsantrasyon
∂x	:	Mesafe
–	:	Net akı, azalan termodinamik aktivitenin etkisindedir
$\partial C / \partial x$	:	Konsantrasyon gradyanı

Fick'in ikinci kanunu membrandaki etkin madde konsantrasyonunu aşağıdaki denklemle açıklar;

$$\partial C / \partial t = D \times \partial^2 C / \partial x^2 \quad (2.2)$$

Fick, birinci kanununda etkin maddenin bir membrandaki miktarındaki değişimin, etkin maddenin deri tarafından bağlanmasına, metabolize edilmesine, difüzyon katsayısına, uygulamanın yapıldığı anatomik bölgeye ve taşıyıcı kompozisyona bağlı olarak değişmediğini farz etmektedir. Fick'in birinci kanunu bireysel deri katmanları arasındaki pasif difüzyonu açıklamada kullanılabilir.

Kalınlığı “h” olan bir membrandan kararlı haldeki akı aşağıdaki denklemle hesaplanır;

$$J_{ss} = D \times (C_1 - C_2) / h \quad (2.3)$$

C_1, C_2 : Etkin maddenin membranın iki farklı bölgesindeki konsantrasyonu

D : Difüzyon katsayısı

Dermal absorpsiyon hızını genellikle Stratum korneum kontrol etmektedir. Stratum korneumun kalınlığı “h” olarak belirtilirse, Sink koşulunu sağlayacak şekilde “x=h” olduğu anda konsantrasyon sıfır veya sıfıra yakın olarak kabul edilir. Etkin madde, kalınlığın “x=0” olduğu anda taşıyıcı ile denge halindedir. Bu durum aşağıdaki denklemle ifade edilir;

$$C_1 = K_m \times C_v \quad (2.4)$$

K_m : Stratum korneum ve taşıyıcı arasındaki etkin madde partitasyon katsayısı

C_v : Taşıyıcı içindeki etkin madde konsantrasyonu

Bu koşullarda denklem aşağıdaki hali alır;

$$J_{ss} = D \times K_m \times C_v / h \quad (2.5)$$

Deriden geçişte kararlı hal akısı bazen permeabilite katsayısı “ K_p ” ile ifade edilebilir;

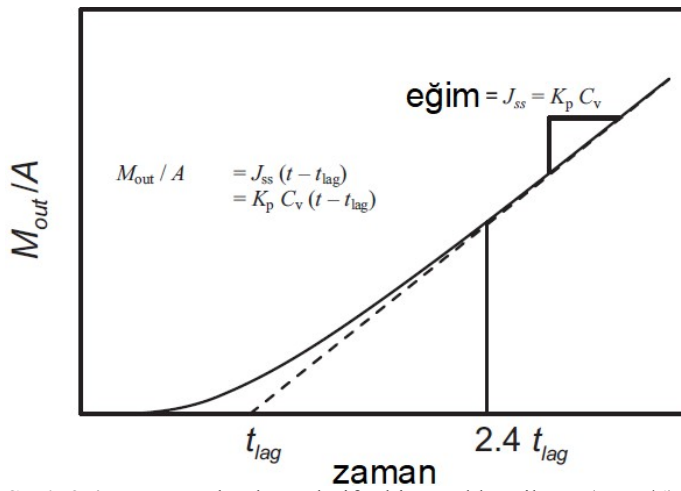
$$J_{ss} = K_p \times C_v \quad (2.6)$$

Eşitlik 2.5 ve 2.6 birbirine eşitlendiğinde;

$$K_p = K_m \times D / h \quad (2.7)$$

Partitasyon katsayısı, etkin maddenin Stratum korneumda ve taşıyıcı içerisindeki konsantrasyonlarının kütle/hacim olarak ifadesidir ve birimi bulunmamaktadır. Genel olarak kararlı hal akısı ve permeabilite katsayısı donör kompartımandaki etkin madde

konsantrasyonunun belirlendiği ve reseptör kompartımanın Sink koşulunu sağladığı *in vitro* bir deney ile belirlenebilir. Zamanla akı kararlı hale gelir ve deriden geçen kümülatif etkin madde miktarı artar. Elde edilen kümülatif etkin madde miktarının zamana karşı değişimini gösteren grafikte doğrusal kısım kararlı hal akısını vermektedir. Permeabilite katsayısı kararlı hal akısının ve etkin maddenin taşıyıcı içerisindeki konsantrasyonunun bir oranıdır. Gecikme zamanı “ t_{lag} ” grafiğin doğrusallığını engelleyen kısımdır. Bir membrandan geçiş hızının kararlı hal değerinin %95’ine ulaşması için geçmesi gereken süre yaklaşık olarak gecikme zamanının 2,4 katı kadardır. Elde edilen verilerle kararlı hal akısının ve permeabilite katsayısının uygun bir şekilde hesaplanabilmesi için gereken süre kararlı hale ulaşmak için geçen süreden fazla olmalıdır.



Şekil 2.4. Penetre olan kümülatif etkin madde miktarı (M_{out}/A), kararlı hal akısı (J_{ss}), permeabilite katsayısı (K_p) ve gecikme zamanı (t_{lag}) arasındaki ilişkiyi gösteren grafik

Bir etkin maddenin en yüksek kararlı hal akısı “ $J_{max, ss}$ ”, etkin maddenin saf katı haliyle veya aşırı doygun çözeltisi ile elde edilebilir. Bu durumda etkin maddenin taşıyıcıdaki aşırı doygun çözeltisi ile Stratum korneumda bulunan etkin madde miktarı “ S_{sc} ” bir denge içerisinde olacaktır.

Ayrıca, “ $J_{max, ss}$ ” etkin maddenin ilgili taşıyıcıdaki permeabilite katsayısı “ $K_{p, v}$ ” ve etkin maddenin bu taşıyıcıdaki çözünürlüğünden “ S_v ” de etkilenmektedir.

$$J_{max, ss} = S_{sc} \times D / h = K_{p, v} \times S_v \quad (2.8)$$

Teorik olarak en yüksek kararlı hal akısından “ $J_{max, ss}$ ” daha yüksek akı değerleri elde etmek kararlı olmayan sistemler ile mümkündür. Buna örnek olarak aşırı doygun çözeltiler verilebilir.

2.8. Deriden Geçiş Üzerine Etki Eden Fizikokimyasal Faktörler^(10,18)

2.8.1. Fiziksel Durum

Termodinamik anlamda bir etkin maddenin saf katı formu ve doymuş çözeltisi dermal absorpsiyon açısından benzer etkinliğe sahiptir. Bununla beraber deri yüzeyinde bulunma oranları absorpsiyon hızlarının farklı olmasına neden olur. Katı partiküllerden absorpsiyon yüzeyde nem içermeyen sistemler için dahi gerçekleşebilmektedir. Ancak çözelti formunda absorpsiyon katı forma kıyasla hızlı olabilir ancak bu konuda yeterli veri bulunmamaktadır. Partikül boyutu da etkin bir faktör olarak karşımıza çıkar keza daha büyük partikül boyutuna sahip olan maddeler ile daha yavaş absorpsiyon gözlenmektedir.

2.8.2. Molekül Ağırlığı

Membrandan geçişte molekül boyutu önemli bir etkidir. Teorik olarak molekül boyutu akı ve permeabilite katsayısının bir göstergesidir. Genellikle çoğu hidrokarbon için molekül ağırlığı ve molekül boyutu oranının sabit olması nedeniyle molekül boyutu yerine daha sık kullanımda olan molekül ağırlığı terimi kullanılmaktadır. Halojenli moleküller gibi yoğun moleküller için moleküler ağırlık genellikle moleküler boyuttan daha büyüktür. Yapılan araştırmalarda etkin maddenin membrandan geçiş hızı ve akısı etkin maddenin molekül ağırlığının üssel kuvveti ile orantılı olarak azalmaktadır. Bu nedenle ortalama olarak 500 Da'dan daha yüksek molekül ağırlığına sahip etkin maddelerin insan derisinden geçişleri daha zordur. Derinin geçirgenliğinin artırıldığı düşük frekanslı sonoforez veya iyontoforez çalışmalarında geçirgenliğin etkin maddenin boyutundan etkilendiği görülmüştür. Etkin maddelerin optimum geçiş yaptıkları por genişlikleri ise yine moleküler boyutları ile ilişkili bulunmuştur. Çalışmalar sonunda daha büyük moleküler boyuta sahip etkin maddelerin iyonlara veya daha düşük moleküler boyuttaki etkin maddelerle kıyasta daha düşük geçiş gösterdikleri belirlenmiştir.

2.8.3. Akı

Bir etkin maddenin en yüksek akısı dermal absorpsiyon için etkin maddenin fizikokimyasal özelliklerinden daha önemlidir. Etkin maddenin sudaki veya oktonal/su karışımındaki partitasyon katsayısı dermal absorpsiyonu ile ilgili bilgi vermektedir. Bir etkin maddenin en yüksek akısı o etkin maddenin çözünürlük limitlerinde gözlenir. Genel olarak bir etkin maddenin dermal absorpsiyonu en yüksek akısından daha yüksek oranda olamaz. Bunun aksi durumlar taşıyıcının özelliğini yitirdiği, hasar gördüğü, deri özelliklerinin değiştiği veya etkin maddenin aşırı doymuş çözeltisi halinde olduğu hallerde görülebilir. Bu tarz durumlarda risk değerlendirmesinin yapılabilmesinde etkin maddenin penetrasyonu önem kazanır veya etkin maddenin toksik etki gösterecek potansiyele sahip olmaması gerekir. Çok potent etkin maddeler

için toksisite ve terapötik aktivite düzeyleri özenle belirlenmelidir. Bazı koşullarda potent etkin maddeler ile en yüksek akı düşük olsa dahi toksikolojik etkiler gözlenebilmektedir.

2.8.4. İyonizasyon

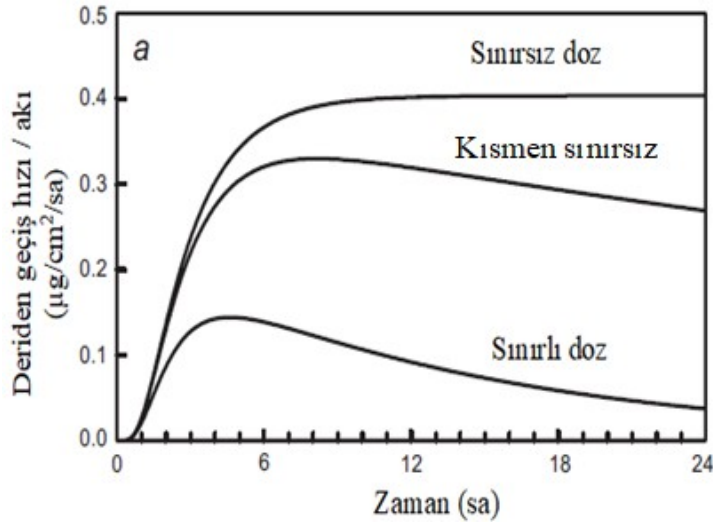
İyonize halde olan etkin maddelerin deriden penetrsayonları daha zordur. Stratum korneumun noniyonize haldeki etkin maddelere karşı geçirgenliği aynı etkin maddelerin iyonize halleri ile kıyasla birkaç kat fazladır. Bununla beraber en yüksek akı hesaplamalarında iyonizasyon etkisi yer bulmamaktadır. Noniyonize ve iyonize formlar arasındaki geçiş farklılıkları noniyonize formun lipofilitesine bağlanır. Ancak bu durum etkin maddenin taşıyıcısına ve tuz formuna da bağlıdır. Ayrıca iyon çiftleri iyonize haldeki etkin maddenin geçişinin arttırılmasında kullanılabilmektedir. İyonize ve noniyonize formların penetrasyonu arasındaki bağlantı hidrofilik etkin maddeler için benzer ve lipofilik maddeler için daha az benzer bulunmuştur. Ayrıca araştırmalar iyonize formun penetrasyon üzerine etkisinin asit ve bazlar için farklılık gösterebileceğini bildirmektedir.

2.8.5. Derinin Bağlayıcı Özelliği

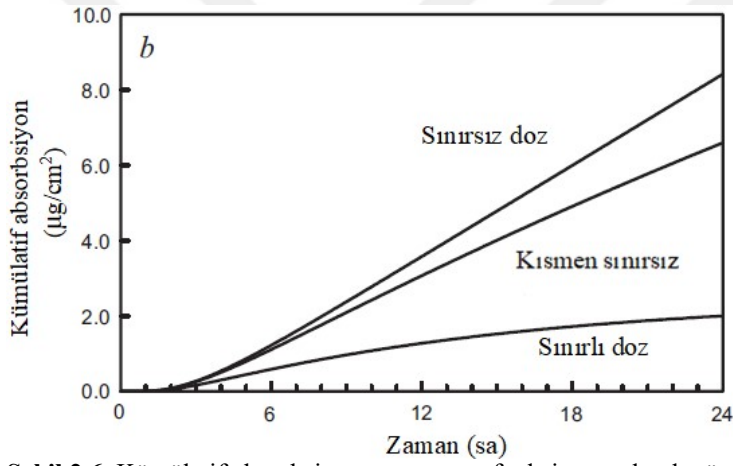
Bazı etkin maddelerin Stratum korneumdan geçişleri bu etkin maddelerin bağlanması nedeniyle beklenilenden daha düşük olmaktadır. Bunlara örnek olarak Ag^+ , Cd^{2+} , Be^{2+} , Hg^{2+} gibi metal iyonları, akrilatlar, kuaterner amonyum iyonları, heterosiklik amonyum iyonları, sülfonyum tuzları verilebilir. Bağlanma nedeniyle beklenenden daha düşük penetrasyonun görüldüğü diğer maddeler ise dietanolamin, kinin, alkil sülfidler, asit klorürler, halotriazinler ve dinitro- veya tri-nitrobenzen'dir.

2.8.6. Sınırlı ve Sınırsız Doz Uygulaması

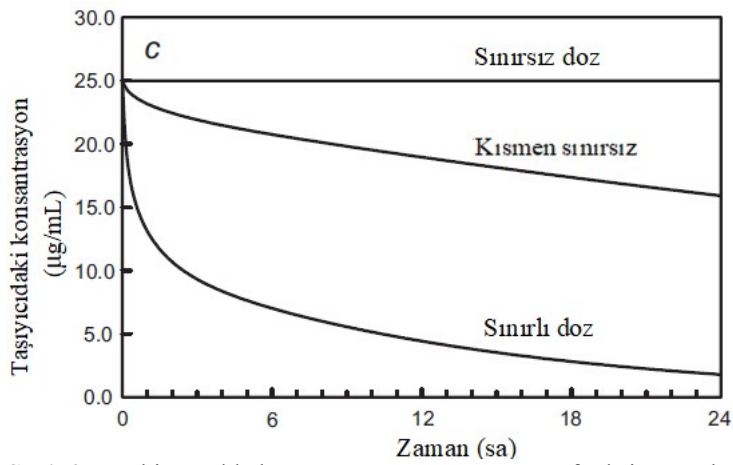
Sınırsız doz uygulaması, deriye uygulanan etkin madde miktarının uygulama alanındaki en yüksek absorpsiyon hızına göre ayarlanarak kullanıldığı durumdur. Sınırlı doz uygulamasında, belirli bir zaman sonunda en yüksek absorpsiyon değerlerine bazen ulaşılabilir. Ancak bu uygulamada etkin madde miktarı en yüksek absorpsiyon hızına göre ayarlanmamıştır. Aşağıda verilen şekilde sudaki çözünürlüğü 25 µg/mL, Stratum korneum/su partitasyon katsayısı 200 olan bir etkin maddenin taşıyıcı olarak su kullanılan bir sistem ile sınırsız, sınırlı ve kısmen sınırsız dozlar için elde edilen akılar verilmektedir.



Şekil 2.5. Sınırlı ve sınırsız doz uygulamasının dermal absorpsiyona etkisi



Şekil 2.6. Kümülatif absorpsiyonun zamanın fonksiyonu olarak gösterimi



Şekil 2.7. Etkin madde konsantrasyonunun zamanın fonksiyonu olarak gösterimi

2.9. Transdermal Yolla İlaç Uygulaması⁽¹⁵⁾

Deri, insanlık tarihi boyunca kozmetik veya tedavi amacıyla kullanılmıştır. Transdermal yolla ilaç uygulanması ilk kez 20. Yüzyılda gündeme gelmiştir ve farmasötik alanda yeni bir kavram olarak ilk kez 1944 yılında kullanılmaya başlanmıştır. Prausnitz ve Langer, transdermal yolla ilaç uygulaması için kullanılan sistemleri üç kuşağa ayırmıştır;

- 1. kuşak:** klonidin ve östrojen içeren geleneksel sistemler
- 2. kuşak:** etkin maddenin geçişini arttıran yardımcıları bulunduran sistemler
- 3. kuşak:** etkin maddenin geçişini arttıran teknolojileri barındıran sistemler

Etkin maddelerin transdermal yolla uygulanmalarında derinin bariyer özelliği etkin maddelerin geçişlerinde bir engel teşkil etmektedir. Bu nedenle derinin geçirgenliğini etkileyen faktörleri anlamak, deri yoluyla uygulanan etkin maddelerin terapötik konsantrasyonlarına ulaşmak açısından önem taşımaktadır. Etkin maddelerin deriden geçişlerinin artırılmasında bazı penetrasyon arttırıcı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler kimyasal, biyokimyasal ve fiziksel yöntemler olmak üzere üç ana başlık altında toplanmıştır.

2.9.1. Transdermal Yolla İlaç Uygulamasının Avantaj ve Dezavantajları

2.9.1.1. Avantajları

- a. Noninvazif bir uygulama olması
- b. Kişisel uygulamanın mümkün olması
- c. Etkin maddelerin uzatılmış etki göstermeleri
- d. Pık kan seviyelerinin görülmesinin mümkün olamaması
- e. Uzun süre boyunca tek bir uygulamanın yeterli olması
- f. Etkin maddenin karaciğer ilk geçiş eliminasyonuna uğramaması
- g. Etkin madde mide-bağırsak sistemi enzimleri tarafından bozulmaması
- h. Dozlama sıklığı düşük olduğundan yüksek hasta uyuncu sağlanması
- ı. Oral yolla tedavi olamayan hastalar için alternatif bir ilaç verilış yolu olması
- i. GIS etkileşimi olmaması nedeniyle tedavinin sürekli olması
- j. İstenmeyen durumda deri ile bağlantısının kesilebilir olması
- k. GIS nedeniyle görülen yan etkilerin görülmemesi

2.9.1.2. Dezavantajları

- a. Küçük molekül ağırlığa sahip ve lipofilik etkin maddelerle çalışılabilmesi
- b. Etkin maddenin düşük dozlarda etkili olması gerekliliği
- c. Yüksek miktarda etkin madde kullanımına uygun olmaması
- d. Yamanın tipine ve ortam koşuluna bağlı olarak yapışkanlığının değişmesi
- e. Deri iritasyonu veya hassasiyetinin gelişebilir olması
- f. Yaşa, bireye, uygulama alanına bağlı sebeplerden geçirgenliğin değişmesi

2.9.2. Transdermal Yama Tipleri, İçerikleri ve Hazırlanışları⁽¹⁵⁾

Etkin maddeyi içirme şekillerine göre yamalar üç ana başlık altında toplanabilir.

2.9.2.1. Rezervuar Sistemler

Etkin maddeyi taşıyan rezervuar sistem destek tabakası ile hız kontrolünü sağlayan bir mikro- veya nano-poröz membran arasına yerleştirilmiştir. Etkin maddenin salımı sadece hız kontrolü sağlayan membran tarafından kontrol edilir. Rezervuar sistemi içerisinde etkin madde çözeltisi, süspansiyonu veya jel formu halinde veya katı dispersiyonu olarak polimer matris içerisinde bulunabilir. Etkin madde, hipoalerjik bir adhezif polimer katman ve salım katmanı arasında bulunabilir veya membran etrafında eşmerkezli bir konfigürasyon da seçilebilir.

2.9.2.2. Matris Sistemler

a. Adhezif Matris Sistemi

Bu rezervuar tipinde etkin madde adhezif bir polimer içerisinde disperse edilmiştir. Etkin madde yüklü adhezif polimer çözücü ile eritilerek veya dökülerek destek tabakasına bağlanır. Rezervuar sistemine salım katmanı ilave edilerek koruyucu bir katman elde edilmiş olur.

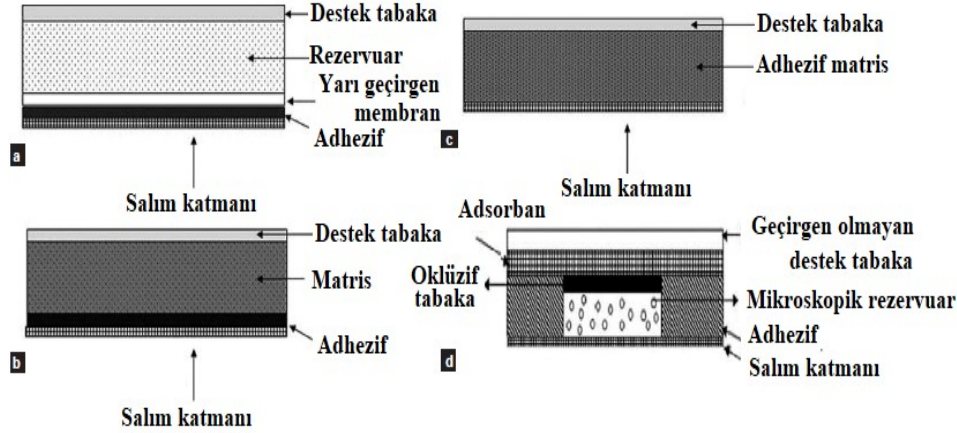
b. Matris Dispersiyon Sistemi

Bu rezervuar tipinde etkin madde hidrofilik veya lipofilik polimer matris içerisinde disperse edilir. Etkin madde içeren polimer disk oklüzif bir tabakaya oturtularak destek katmanına bağlanır. Salım katmanı uygulaması yerine bir şerit uygulaması yapılarak koruyuculuk sağlanır.

2.9.2.3. Mikrerezervuar Sistemler

Bu tipte bir sistem rezervuar ve matris dispersiyon sistemlerinin kombinasyonu ile oluşur. Rezervuar, ilk olarak etkin maddenin su bazlı çözeltisinin suda çözünür özellikteki polimere disperse edilmesi ve sonrasında bu homojen su bazlı dispersiyonun lipofilik bir

polimer içerisinde sayısız mikro- veya nano-küreler olarak elde edilmesiyle hazırlanır. Termodinamik olarak kararlı olmayan dispersiyon *in situ* olarak hızla çapraz bağlarla polimere bağlanarak kararlı hale getirilir.



Şekil 2.8. Yama tipleri a) Rezervuar b) Matris c) Adhezif matris d) Mikrorezervuar sistem

2.9.2.4. Transdermal Yama İçeriği

Basit bir transdermal yama polimer matris, etkin madde rezervuarı, etkin madde veya etkin maddeler, penetrasyon arttırıcı veya penetrasyon arttırıcılar, basınca duyarlı adhezif tabaka, destek tabakası, salım tabakası, plastikleştirici ve çözücüler gibi diğer yardımcı maddelerden oluşmaktadır.

a- Polimer Matris

Polimerler transdermal sistemlerin ana iskeletini oluşturan ve etkin maddenin salımını denetleyen kısımdır. Bir polimer matris etkin maddenin sıvı veya katı haldeki polimere dispersiyonu ile hazırlanır. Transdermal sistemde kullanılacak olan polimerin seçimi için geçerli olan bir kaç kriter bulunmaktadır; 1) Polimerin moleküler ağırlığı, camsı geçiş sıcaklığı ve kimyasal fonksiyonu etkin maddenin salımı ve difüzyonu için uygun olmalıdır. 2) Polimer kararlı olmalı, etkin madde ve diğer tabakalarla geçimli olmalı ve kolayca formülasyonun üretilmesini sağlamalıdır. 3) Polimer ve bozunma ürünleri toksik olmamalı ve antagonist etkiye sahip olmamalıdır. 4) Etkin maddenin yüksek miktarlarda yüklendiği durumlar için uygun mekanik özelliklere sahip olmalıdır.

Transdermal sistemlerde kullanılan polimer tipleri ve örnekleri aşağıda özetlenmiştir.

Tablo 2.1. Transdermal sistemlerde kullanılan polimer tipleri ^(2,11,14,16,17)

Doğal Polimerler	Sentetik Elastomerler	Sentetik Polimerler
Selüloz türevleri	Polibütadien	Polivinil alkol
Zein	Hidrin kauçuk	Polivinil klorür
Jelatin	Polisiloksan	Poliäten
Mumlar	Silikon	Polipropilen
Proteinler	Nitril	Poliakrilat
Doğal kauçuk	Akrilonitril	Poliüre
Nişasta	Bütillenmiş kauçuk	Polivinil pirolidon
Kitosan	Stiren	Polimetil metakrilat
	Bütadien	Epoksi
	Neopren	Etil selüloz
	Poliizobütilen	Hidroksipropil selüloz
		Hidroksipropil metil selüloz
		Poliamid
		Metil selüloz
		Selüloz asetat

b- Membran

Bir destek tabakası ile kapatılarak etkin maddeyi içeren matrisi veya tek tabakalı filmi içerecek şekilde hazırlanmış kısımdır. Membranın difüzyon özellikleri etkin maddenin salımını kontrol etmede kullanılabilir. Örneğin etilen vinil asetat, silikon, poliüretan etkin madde çıkışını kontrol altına almak için kullanılan membranlardır.

c- Etkin madde

Bir etkin maddenin deriden pasif difüzyonla geçişi için taşınması gereken ideal özellikler aşağıdaki özetlenmiştir.

Tablo 2.2. Pasif difüzyon için etkin maddelerin sahip olması gereken özellikler

Parametre	Gereken Özellikler
Doz	≤ 20 mg/gün
Yarılanma ömrü	≤ 10 saat
Molekül ağırlığı	< 500 Da
Partisyon katsayısı (Log P)	1,0 – 4,0 (<i>oktanol-su</i>)
Permeabilite katsayısı	$> 0,5 \times 10^{-3}$ cm/sa
Lipofilite	10 ila 1000 Ky/s
Oral biyoyararlanım	Düşük
Terapötik indeks	Düşük
Erime derecesi	< 200 °C
pH	5,0 - 9,0

d- Penetrasyon Arttıcılar^(1,13)

Derinin etkin maddelere karşı geçirgenliğini arttırmak amacıyla bazı kimyasal, biyokimyasal, fiziksel penetrasyon artırıcı yöntemler kullanılmaktadır. Aşağıda verilen tabloda bu yöntemler özet olarak verilmiştir.

Tablo 2.3. Transdermal yolla ilaç uygulanmasında geçiş artırma yöntemleri⁽¹⁸⁾

1.Kimyasal Yöntemler	<i>1.1. İlaç-taşıyıcı etkileşimi</i>	1.1.1. İlaç / ön ilaç
		1.1.2. Kimyasal potansiyel
	<i>1.2. SC modifikasyonu</i>	1.2.1. Hidrasyon
		1.2.2. Penetrasyon arttırıcılar
2.Biyokimyasal Yöntemler		2.1.1. Lipozomlar ve analogları
	<i>2.1. Veziküller ve partiküller</i>	2.1.2. Nano- / mikro-partiküller
		2.1.3. Hücre içi taşıyıcı peptit
3.Fiziksel Yöntemler		3.1.1. Mikro iğneler
	<i>3.1. SC'un by-pass edilmesi</i>	3.1.2. Ablasyon
		3.1.3. Foliküler taşıma
		3.1.4. Yüksek hızlı partiküller
		3.2.1. Ultrason
		3.2.2. Elektroporasyon
	<i>3.2. Elektriksel yöntemler</i>	3.2.3. İyontoforez
		3.2.4. Lazer
		3.2.5. Radyofrekans ablasyonu

e- Basınca Duyarlı Adhezifler

Basınca duyarlı adhezifler deriye yapışmayı sağlayan tabakadır. Deriden çıkarılması gerektiğinde kolayca ve hiçbir kalıntı bırakmadan ayrılabilmelidir.

f- Destek Tabaka

Destek tabaka esneklik ve oklüzif etki sağlamak amacıyla kullanılan en dış katmandır ve etkin maddeyi içeren matrise veya tek tabakalı filme destek görevi gördüğünden geçimlilik özellikleri oldukça önem taşımaktadır.

g- Salım Katmanı

Depolama koşulları boyunca etkin maddenin salımının gerçekleşeceği tabaka ince ve inert bir koruyucu bariyer ile kaplıdır. Salım katmanı adı verilen bu koruyucu bariyer deriye transdermal sistem uygulanmadan hemen önce kaldırılır ve deri ile temas etmez.

h- Plastikleştirici ve Çözücüler

Kloroform, aseton, metanol, izopropil alkol, diklorometan gibi pek çok çözücü etkin madde içeren rezervuarı hazırlanmasında kullanılmaktadır. Dibutil ftalat, trietil sitrat, polietilen glikol gibi pek çok madde de plastikleştirici olarak transdermal sistemlerde kullanılır.

2.10. Transdermal Yolla İlaç Uygulanmasında Geçiş Arttırma Yöntemleri

2.10.1. İlaç veya Ön İlaç ^(1,18)

Alternatif ilaç veriliş yolu olarak deri yolunun kullanıldığı durumda, aynı farmakolojik gruba dahil etkin maddeler arasından deriden geçiş için üstün özelliklere sahip olanı seçilebilir. Deriden geçişte üstün özelliklere sahip etkin madde yoksa ön ilaç “*prodrug*” uygulanabilir.

2.10.2. Kimyasal Potansiyelin Ayarlanması ^(1,18)

Etkin maddelerin deriden geçişlerinde termodinamik aktiviteleri önem taşımaktadır. Bu nedenle uygulama için etkin maddelerin yüksek termodinamik aktiviteye sahip oldukları doymun/aşırı doymun çözeltileri veya katı formları tercih edilmektedir.

2.10.3. Hidrasyon ^(1,18)

Stratum korneum içeriğinde bulunan %5-20 oranındaki su, hidrasyonla %50’ye kadar ulaşabilmektedir. Hidrasyon, etkin maddelerin deriden geçişlerinde artış sağlamaktadır. Derinin neminin arttırılması çoğu araştırmacı tarafından absorpsiyonu arttıran önemli bir etken olarak bildirilmektedir.

2.10.4. Kimyasal Penetrasyon Arttırıcılar ^(13,18)

Kimyasal penetrasyon arttırıcılar geri dönüşümlü olarak derinin bariyer özelliklerini değiştiren maddelerdir. Kimyasal penetrasyon arttırıcılar, interselüler lipit matris yapısı ve dizilimini bozarak veya intraselüler keratinler ile etkileşerek etkin maddelerin partitasyonunu arttırır, korneositler arasındaki desmozomal bağlantıları etkileyerek veya metabolik aktivitelerini engelleyerek veya etkin maddenin termodinamik aktivitesini arttırarak penetrasyon artışı sağlarlar. Birçok kimyasal penetrasyon arttırıcı bulunmasına rağmen güvenlik nedeniyle insan üzerinde kullanılabilenler aşağıdaki gibi sınırlandırılmıştır.

- a. Su
- b. Sülfoksitler
- c. Azon
- d. Prolidonlar
- e. Yağ asitleri
- f. Alkoller, yağ alkoller, glikoller
- g. Sürfaktanlar
- h. Üre
- i. Esansiyel yağlar, terpenler, terpenoidler
- j. Fosfolipitler
- k. Yüksek konsantrasyonlu çözücüler

2.10.5. Lipozomlar ve Analogları^(1,18)

Lipofilik etkin maddeler, hidrofilik etkin maddelere kıyasla deriden geçişte avantaj sahibidirlere. Kolesterol ve fosfolipitlerden oluşan kolloid yapılar olan lipozomlar, etkin maddeleri hidrofilik merkezde hapsederek deriden geçişlerinin artırılmasında yardımcı olurlar.

2.10.6. Nano- / Mikro-partiküller⁽²²⁾

Deri, partiküllerin penetrasyonlarına karşı doğal bir fiziksel engel teşkil eder ancak, hastalıklı deri ve kıl folikülleri açıklıkları nano- / mikro-partiküler sistemlerin verilisinde potansiyel bir yolak sağlar. Nano- / mikro-partiküler sistemler için yapılan araştırmalar 10 nm'den daha büyük boyuttaki partiküllerin Stratum korneum ve canlı epidermisten geçişinin mümkün olmadığını ancak kıl folikülleri açıklıklarından geçişin mümkün olduğunu göstermektedir. Nano- / mikro-partiküler sistemlerin iyontoforez gibi fiziksel penetrasyon artırıcılar kombine kullanımı düşünülebilir.

2.10.7. Deriden Penetre Olan Peptitler⁽¹³⁾

Yapılan araştırmada, makromoleküllerin deriden geçişlerinin artırılmasında peptit bir penetrasyon arttırıcı kullanılmış ve buna SPACE peptit adı verilmiştir. Küçük molekül ağırlığa sahip etkin maddeler ve elektriksel olarak yüklenmiş proteinlerden oluşan konjugatların Stratum korneum engelini aşmada ve epidermis ve dermise ulaşmada etkili olduğu keşfedilmiştir. Farklı bir araştırmada, 1,2 kDa moleküler ağırlığa sahip siklosporin A'yı model etkin madde olarak kullanan araştırmacılar etkin maddenin deriden penetre olmasında deriden penetre olan peptitlerin "*skin penetrating peptides, SPP*" etkisini incelemişlerdir. SPACE peptit ve TD-1'i

de içerecek şekilde beş farklı SPP üzerinde çalışmışlardır. Kullanılan tüm peptitler ile siklosporin A'nın deriden penetrasyonunda artış sağlandığı ve deneyler sırasında derinin lipid tabakasının özelliğinin değişmediği belirtilmiştir.

2.10.8. Mikroİğneler^(1,7,18)

Mikroİğneler, mikron boyutta iğneler olup, yükseklikleri 10-2000 µm, kalınlıkları 10-50 µm arasında olan epidermis tabakasını devre dışı bırakacak şekilde ağırlı oluşturmada dermal dokuya ulaşan yapılardır. Morfolojik olarak; katı mikroİğneler, kaplı mikroİğneler, çözünür özellikteki mikroİğneler, oluk şekilli mikroİğneler olmak üzere dört ana gruba ayrılırlar. Son zamanlarda mikroİğneler tek başlarına veya diğer penetrasyon arttırıcılarla beraber gen, protein, RNA, aşı alanlarında kullanılmaktadır.

2.10.9. Ablasyon^(1,18)

Derinin etkin maddelere karşı geçirgen hale getirilmesinde derinin üst tabakalarının uzaklaştırılarak daha geçirgen hale getirilmesi sağlanabilir. Dermatologlar tarafından da sıklıkla uygulanan yöntem mikrodermal ablasyon olarak adlandırılır ve akne, skar, hiperpigmentasyon, gibi hastlıklarda kullanılmaktadır. Kimyasal soyma, alüminyum oksit gibi kimyasal yöntemler ve/veya şerit soyma, lazer gibi fiziksel yöntemler kullanılarak derinin üst tabakalarının ablasyonu sağlanır. Ablasyon yoluyla etkin maddelerin absorpsiyonlarının 100 kata kadar arttırılabileceği görülmüştür.

2.10.10. Foliküler Geçiş^(1,18)

Etkin maddelerin, yağ bezi kanalları, ter bezi kanalları ve kıl foliküllerinden oluşan doğal yollardan transferi ile gerçekleşir. Etkin maddelerin deri ekleri yoluyla transferi, penetrasyon arttırıcıların beraber kullanımı ile daha etkili olabilir. Yağ bezi kanalları bazı etkin maddeler için rezervuar görevi üstlenebilir veya iyontoforez tekniği ile deri eklerinden etkin geçiş sağlanabilir.

2.10.11. Yüksek Hızlı Partiküller^(1,13,18)

İlk olarak 1866 yılında bir Fransız firması tarafından geliştirilen iğne içermeyen enjeksiyon yöntemleri ile partiküler etkin madde, ön-ilaç veya sistemlere hız kazandırılarak deri derinliklerine doğru itilmeleri ve istenilen etkiyi oluşturmaları sağlanabilir. Günümüzde prototip aşamasında olan ve geliştirilmeye devam edilen bazı yüksek hızlı partikül iletim enjektörleri aşağıda sıralanmıştır.

- a. Intraject
- b. Implaject

- c. Jet syringe
- d. Iject
- e. Miniject
- f. Crossject

2.10.12. Ultrason^(1,18)

Ultrason tekniğinde deriden geçişi arttırmada 20 KHz-16 MHz arasında ultrason enerjisi uygulanarak, etkin maddelerin geçişi arttırılmaktadır. Topikal dozaj formları ile ultrason kombine edilerek teknik uygulanır. Bu sayede ultrason enerjisi dozaj formu tarafından uygulamanın yapıldığı deri bölgesinde etkin maddelerin deriden geçişlerinde artış sağlamaktadır.

2.10.13. Elektrodelme^(1,18)

Elektrodelme uygulaması ile yüksek elektrik akımları kısıtlı süreler içinde deriye uygulanarak deri üzerinde geçici porlar oluşturulur. Etkin maddelerin bu porlardan geçerek deriden geçişleri arttırılmış olur. Genellikle yüksek voltaj uygulanması ile direkt akım uygulanarak 100 V/milisaniye uygulama gerçekleştirilir. Bu sayede açılan geçici porlardan makromoleküllerin geçişleri de sağlanabilir. Metoprolol, lidokain, tetrakain, askorbik asit, timolol, fentanil ve molekül ağırlığı yaklaşık 40 kDa olan siklosporin A, insulin, lüteinleştirici hormon salan hormon, dekstranlar gibi makromoleküller ve farklı molekül ağırlığına sahip etkin maddeler üzerinde yapılan *ex-vivo* çalışmalarda deriden geçişin yaklaşık 10^4 kat arttığı görülmüştür.

2.10.14. Lazer^(1,18)

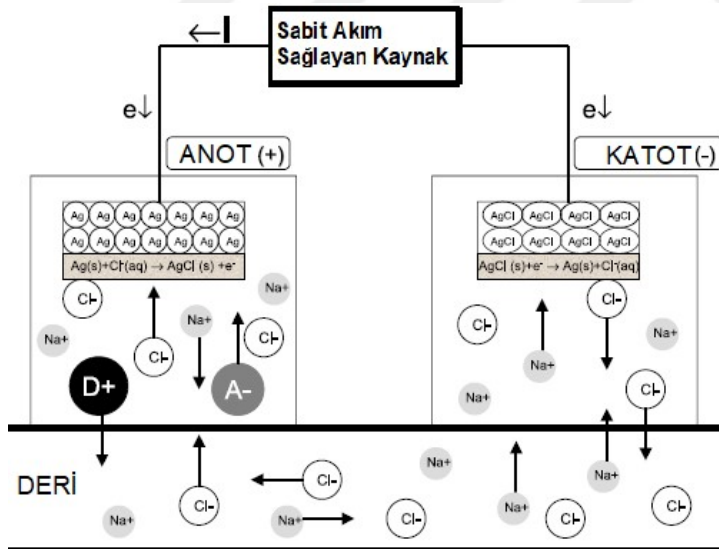
Lazer yöntemi ile deri üzerine yönlendirilen lazer ışını ablasyona sebep olarak Stratum korneumun uygulama bölgesinden uzaklaştırılmasını sağlar. İşlem sırasında Stratum korneum altında yer alan epidermis tabakasında herhangi bir deformasyon gözlenmez. Yapılan çalışmada, lazer uygulamasıyla yapılan ablasyonla lipofilik ve hidrofilik özellikteki etkin maddelerin deriden geçişlerinin arttırılabileceği bulunmuştur. 1 J/cm^2 şiddetinde lazer uygulamasıyla domuz derisinden hidrokortizon ve interferonun geçişlerinde artış sağlanmıştır.

2.10.15. Radyofrekans Ablasyonu^(1,18)

Radyofrekans ablasyonunda radyo dalgaları ile oluşan sıcaklık yardımı ile üst deri tabakalarının uzaklaştırılması ve derinin etkin maddelere karşı daha geçirgen hale getirilmesi sağlanır. Bu yöntemde de diğer ablasyon sağlayan tekniklerde olduğu gibi etkin maddelerin deriden geçişlerinde anlamlı artışlar sağlanmaktadır.

2.10.16. İyontoforez^(4,9,12,22)

İyontoforez tekniği ile düşük şiddette doğru akım uygulanarak deri ekleri olarak bilinen yağ bezi kanalları, ter bezi kanalları ve kıl foliküllerinden etkin maddelerin geçişleri sağlanır. Stratum korneum bariyer özelliği nedeniyle kısıtlı sayıda etkin maddenin pasif olarak geçişine izin vermektedir. Günümüzde transdermal yolla uygulaması olan etkin maddeler sırasıyla; klonidin, estradiol, nikotin, nitrogliserin, skopolamin, testosteron, oksibutinin, norelgestromin/etinil estradil ve estradiol/noretindron asetat kombinasyonlarıdır. Bu etkin maddelerin çoğu “ng/mL” konsantrasyonda bile etkili olan potent ve düşük moleküler ağırlığa sahip etkin maddelerdir. Etkin maddelerin deriden geçişlerini arttırmada kimyasal, biyokimyasal, fiziksel pek çok geçiş arttırma yöntemleri kullanılarak derinin özelliklerinde kalıcı bir değişikliğe neden olmadan ve iritasyon yapmadan arttırılmasına çalışılmaktadır.



Şekil 2.9. Ag/AgCl elektrot kullanılan bir iyontoforez sisteminin şematik olarak gösterimi

2.10.16.1. İyontoforetik Elektrokimya^(9,14)

Bir iyontoforez cihazı güç kaynağı ve güç kaynağına bağlı iki elektrottan oluşmaktadır. Etkin maddeyi iyonize halde içeren formülasyon etkin madde ile aynı yüke sahip olan kompartımana yerleştirilir. Örneğin lidokain gibi pozitif yüke sahip bir etkin madde anodal kompartımana yerleştirilir. Uygulamada kullanılmak üzere pek çok elektrot tipi bulunmaktadır. En çok kullanılan elektrotlar Ag/AgCl elektrotlardır. Ag/AgCl elektrotlar Pt elektrotlarda

görülen ani pH değişimine neden olmazlar. Ag/AgCl elektrotlar elektrokimyasal özelliklerinden dolayı düşük voltajlarda uygun akımı sağlar ve genellikle uygulanan voltaj suyun elektrolizi için gereken voltajdan daha düşüktür. Suyun elektrolizi iki sebepten dolayı istenmeyen bir etkidir. İlk olarak anotta oluşan protonlar hareketli ve küçük yapıları nedeniyle önemli ölçüde etkin maddenin geçişini azaltırlar. İkinci olarak anodol kompartımanda pH düşüşüne bağlı olarak deride yanma veya etkin madde kararlılığı üzerinde istenmeyen etkiler ortaya çıkabilmektedir. Akım uygulandığında anotta bulunan pozitif yükler katoda doğru hareket ederken anyonlar tersi istikamette hareket ederler. Anodal kompartımanın elektrokimyasal özelliği nedeniyle anodal kompartımanda “Cl⁻” iyonlarına gereksinim duyulur. Bu gereklilik genellikle etkin madde geçişinde azalma ile kendini gösterir. Bu nedenle NaCl genellikle Cl⁻ iyonunun sağlanmasında kullanılır, bunun sonucu olarak da yüksek hareketliliğe sahip “Na⁺” iyonları artar ve bu iyonlar etkin maddenin taşınmasında yarışmacı olurlar. “Cl⁻” iyonları elektrot-çözelti ara yüzeyine ulaştığında metalik Ag ile reaksiyona girerek AgCl oluşturular. AgCl elektrot yüzeyinde yoğunlaştıkça simultane olarak “e⁻” açığa çıkar. Anodal kompartımanın elektronötralizasyonu için bir katyonun kompartımandan çıkarak derinin derinliklerine doğru ilerlemesi veya bir anyonun deriden çıkarak anodal kompartımana doğru ilerlemesi gerekmektedir. Katodal kompartımanda AgCl elektron vasıtası ile indirgenir ve metalik “Ag⁺” ile “Cl⁻” iyonları açığa çıkar. Elektronötralizasyon nedeniyle bu değişiklik bir katyonun deriden katodal kompartımana ulaşmasıyla veya bir anyon kaybı ile gerçekleşir. Sonuç olarak elektriksel devre deride bulunan endojen inorganik iyonlar olan Na⁺ ve “Cl⁻” iyonları ile sağlanır. Bu sayede geçişinin etkinliği sağlanmış olur.

2.10.16.2. İyontoforetik Geçiş Mekanizması^(9,14)

Yüklü bir etkin maddenin iyontoforetik akısı “X”, kararlı halde iki ayrı geçiş mekanizmasının toplamı olarak değerlendirilebilir. Bunlardan ilki elektromigrasyon “J_x^{EM}”, ikincisi ise elektroozmoz “J_x^{EO}”dur. Pasif difüzyonun etkisi ise ihmal edilmektedir.

$$J_x^T = J_x^{EM} + J_x^{EO} \quad (2.9)$$

Elektromigrasyon iyonların uygulanan elektrik alanda hareketlerinden dolayı oluşur. Bir iyonun elektromigrasyon akısı Faraday sabitine bağlı olarak uygulanan akımın gücüne “i_x” bağlıdır.

$$J_x^{EM} = (1 / z_X \times A \times F) \times i_x \quad (2.10)$$

z_X : iyonik yük
A : deriden geçişin yapıldığı alan

Yüklü bir etkin maddenin “X” hareketinden kaynaklı iyonik akışı uygulanan akım şiddetine “ I ” ve katlı bir orantı olan “ t_x ”e bağlıdır. “X”in geçiş numarası “ t_x ”, “ $0 < t_x < 1$ ” toplam akımın bir fraksiyonu olarak “X” tarafından transfer edilen akıma bağlıdır.

$$J_x^{EM} = (1 / z_X \times A \times F) \times t_x \times I \quad (2.11)$$

Yüklü bir etkin maddenin “X” geçişinin fizikokimyasal özelliklerine ve taşıyıcı sistem içerisinde bulunan diğer yükün özelliklerine bağlıdır.

$$J_x^{EM} = (1 / z_X \times F) \times (z_X \times u_X \times c_X / \sum_{i=0}^i z_i \times u_i \times c_i) \times I_D \quad (2.12)$$

z_X	:	iyonik yük
A	:	deriden geçişin yapıldığı alan
I_D	:	uygulanan akımın şiddeti (= I / A)
z_X	:	etkin maddenin yükü
u_X	:	etkin maddenin hareketliliği
c_X	:	etkin maddenin konsantrasyonu

Paydada membran üzerinde transfer olmak amacıyla bekleyen her iki iyonun ait parametreler bulunmaktadır. Bu şekilde düzenlenmiş bir geçiş eşitliği neden iyonların yarışmasının etkin maddenin akışı üzerine olumsuz etkisi olduğunu göstermektedir. Ayrıca etkin maddenin geçişi elektriksel hareketliliğine ve membrandaki konsantrasyonuna da bağlı olacaktır. Sonuç olarak, küçük elektriksel hareketliliğe sahip yarışmacı bir iyonun varlığında daha az elektriksel hareketliliğe sahip bir etkin maddenin konsantrasyonunun artırılması etkin madde geçişi açısından artış sağlayacaktır. Elektrozmoz parametresinin anlaşılması ve kullanımı kolaydır. Kararsızlık durumu termodinamiği, birbiri ile ilişkisiz görünen akış prosesinin birbirlerini nasıl etkileyebileceğini ve pekiştirebileceğini açıklamak için kullanılabilir. Pikal, bu fenomeni oldukça derinlemesine analiz etmiş, basıncın ve bir membran boyunca oluşan potansiyel farkın, akım ve hacim akış özelliklerini oluşturmak için kullanılabileceğini açıklamıştır. Pikal, iki akış özelliğine ait eşitliği aşağıdaki gibi oluşturmuştur.

$$\text{Hacim akışı} = L_{11} \Delta \text{ basınç} + L_{12} (-\Delta \text{ potansiyel}) \quad (2.13)$$

$$\text{Akım akışı} = L_{21} \Delta \text{ basınç} + L_{22} (-\Delta \text{ potansiyel}) \quad (2.14)$$

Akış özellikleri nedensel olarak ilgili Onsager katsayıları “ L_{ii} ” ile veya konjugat kuvvetleriyle ilgilidir. “ L_{11} ”, bir basınç gradyanı uygulamasına cevap olarak hacim akış özelliklerini verir ve “ L_{22} ”, orantısal olarak akım ve potansiyel farkla ilgili bir sabittir ve Ohm Kanunu'na göre iletkenlik özelliğine karşılık gelir. Çapraz katsayılar “ L_{ij} ”, etkileşim terimlerini

açıklar. Böylece, “ L_{12} ” uygulanan potansiyel farkın membran üzerinde nasıl bir hacim akışı sağlayacağını belirtir ve nasıl uygulanacağını tanımlar. İyontoforez uygulamasında deriye bir elektrik alan uygulandığında “ $\Delta\text{basınç}=0$ ”dır ve eşitlik aşağıdaki hali alır,

$$\text{Hacim akışı} / \text{Akım akışı} = L_{12} / L_{22} = \text{Elektroozmotik akış} \quad (2.15)$$

Elektroozmoz, akım akışı tarafından indüklenen hacim akışı olarak veya başka bir ifade ile bir yükün membrandan geçişi olarak ifade edilebilir. Moleküler seviyede elektroozmozda, derinin izoelektriksel özelliği “ pI ” yaklaşık olarak 4,0-4,5 aralığında olduğundan membranda bulunan karboksilat gruplarının iyonize olmasıyla izlenebilir. Yüklü deri membranı üzerine bir elektrik akımı uygulanacak olursa membranı nötralize etmeye çalışan zıt yüklü iyonlara destek olacaktır ve bu da derinin katyon seçici geçirgenliğinde artışa sebep olmaktadır. Elektroozmoz, aynı zamanda birim zamanda, birim alanda görülen hacim akışına ait bir akış prosesi olarak da tanımlanabilir “*örn:* $\mu\text{L}\times\text{cm}^{-2}\times\text{sa}^{-1}$ ” veya bir çözücünün hızının “ v ” bir permeabilite katsayısının yerini alacak şekilde eşit olduğu “ $\text{cm}\times\text{sa}^{-1}$ ” durum olarak tanımlanabilir. Anottan katoda doğru çözücü akışının varlığı; nötral moleküllerin anodal iyontoforez yoluyla, katyonların ise elektromigrasyonun etkisi de dahil olacak şekilde geçişlerinin sağlanacağını göstermektedir. Sonuç olarak katyonik bir etkin maddenin akışı aşağıdaki eşitlik ile ifade edilir,

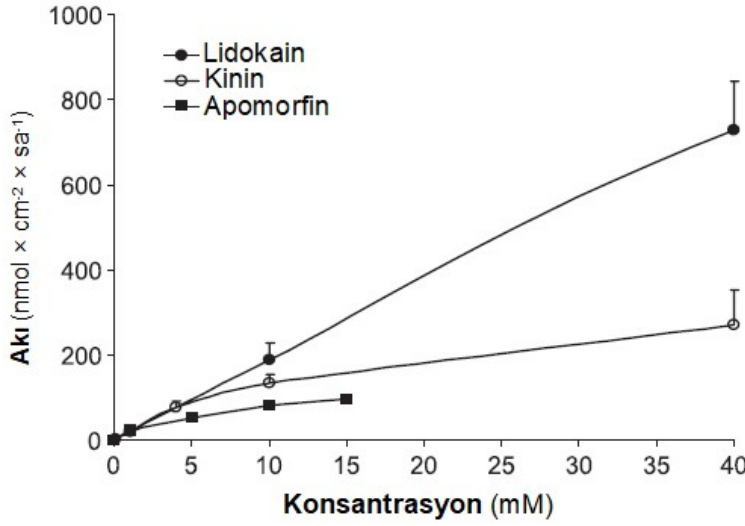
$$J_x^T = J_x^{EM} + J_x^{EO} = (1/z_X \times F) \times (z_X \times u_X \times c_X) / (\sum_{i=0}^i z_i \times u_i \times c_i) \times I_D + v c_X \quad (2.16)$$

Bu eşitliğe göre, iyontoforetik akı membrandaki etkin madde konsantrasyonu ve uygulanan akım şiddeti ile artacaktır. Elbetteki transdermal yamanın alanı arttırılarak etkin madde miktarında ve dolayısı ile etkin madde geçişinde artış sağlanabilir. Elektromigrasyon ve elektroozmozun toplam etkin madde akışına göreceli etkisi etkin maddenin fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır. Genel bir kanı olarak elektriksel hareketlilik etkin maddenin moleküler ağırlığı ile ters orantılı olarak artar bu nedenle teorik olarak daha büyük molekül ağırlığına sahip etkin maddeler için elektroozmoz katkısı daha büyük önem taşımaktadır.

2.10.16.3. Etkin Madde Konsantrasyonunun Etkisi^(9,14,17)

Etkin madde konsantrasyonunun iyontoforetik akı üzerine etkisi pek çok araştırmada incelenmiş parametrelerden biridir. Verilen eşitlikler ve açıklamalara rağmen deneysel sonuçlar etkin madde konsantrasyonuna bağlı olarak her zaman transdermal akıda artış gözlenmediğini göstermektedir. Bu deneysel sonuçlar birkaç sebepten dolayı açığa çıkabilmektedir, ilki formülasyonda artan etkin madde miktarı ile orantılı olarak deri üzerinde geçiş için hazır bulunan etkin madde miktarında artış gözlenmeyebilir. İkinci olarak iyonlar arasındaki yarışma etkin madde konsantrasyonundan kaynaklanan artışı maskeleyebilir. Üçüncü olarak etkin

maddenin fizikokimyasal özellikleri ve iyontoforetik taşınma yolunda gösterdiği etkileşimler etkin maddenin geçişini kısıtlayabilir. Bu nedenle çalışmayı basite indirgemede iki gruba ait veriler değerlendirilebilir. Bunu yaparken donör formülasyonun arka planda elektrolit içermesi “yarışmacı iyonların varlığı *örn.* NaCl çözeltisi” veya içermemesi değerlendirilmelidir. Lidokain gibi bazı etkin maddeler ilave elektrolit varlığında göreceli olarak etkin maddenin donör kompartımandaki konsantrasyonuna geniş bir konsantrasyon aralığında doğrusal olarak bağlıdır. Akı ile konsantrasyon ilişkisi eğrisel bir şekilde ilerler ve belirli bir konsantrasyondan sonra kararlı hale ulaşır. Aşağıda verilen şekilde apomorfının insan derisi üzerinde, lidokain ve kininin ise domuz derisi üzerinde yapılan $0,5 \text{ mA/cm}^2$ akım şiddetindeki iyontoforez uygulaması sonrası artan konsantrasyona karşılık gelen akılar verilmektedir.



Şekil 2.10. Etkin madde konsantrasyonunun iyontoforetik geçiş üzerine etkisinin şematik gösterimi

Bu etkin maddelerin geçişinin ve dolayısı ile akılarının asimtotik bir sınırlama değerinin olduğunu göstermektedir. Elektriksel hareketliliğin konsantrasyonun değişiminden etkilenmediğini farz edersek membran içerisindeki etkin madde konsantrasyonu donör kompartımanda bulunan etkin madde içeren formülasyondaki etkin madde konsantrasyonu artışından etkilenmeyecektir. Kasting ve Keister, oluşturdukları iyontoforetik modelde elektrodifüzyonun iyontoforetik geçiş üzerindeki değişken etkisini tarif ettiler. Lipofilik etkin maddeler, nafarelin ve löprolid içeren formülasyonlarda iyontoforetik akı ve etkin madde konsantrasyonu arasında daha kompleks bağlantılar olduğunu belirlediler. Çalışmalarının sonucunda etkin madde konsantrasyonunun arttığı durumlarda etkin madde geçişinin azalabildiğini gördüler. Bu da etkin maddelerin lipofilik özellikteki bölgelerde yoğunlaştığını ve geçişin önemli ölçüde etkilendiğine bir gösterge olmuştur. Nafarelin ve löprolid adlı peptitler sadece 6. konumda taşıdıkları amino asit ile farklılık göstermektedir. Bu lipofilik özellikteki ana yapıya 7. konumdan bağlı olan “Leu” pozitif yüklü konuma oldukça yakın,

geniş bir hidrofobik alan oluşturur. Bu nedenle bu etkin maddelerde bulunan hidrofob-hidrofob-kasyon motifinin alışılmışın dışında elde edilen iyontoforetik geçişte etkili olduğu düşünülmektedir.

Anlamli derecede hidrofobik özelliğın pozitif yüklü bölgeye yakın bulunması ile oluşan motifin elektroozmozun etkisinin azalmasında etkisini gösterebilmek için, konvektif çözücü akışının gösterilmesinde polar ve nötral bir molekül olan mannitolün geçişinde etkili olan üç kationik tripeptit “D-Nal-Leu-Arg, D-Nal-Gly-Arg ve Ala-Leu-Arg” incelenmiş ve nafarelin ve LNRH ile kıyaslanmıştır.

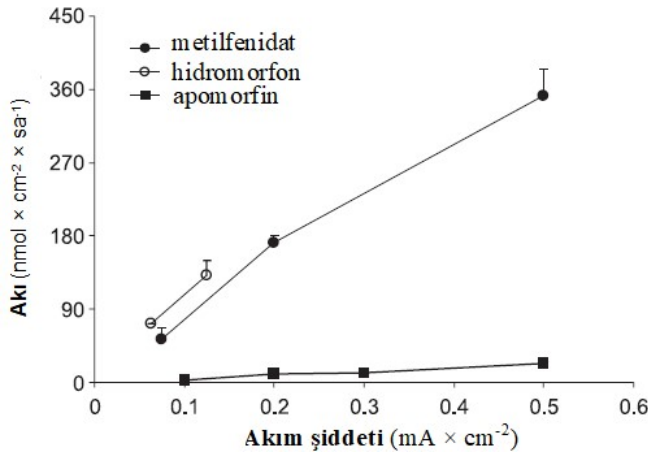
Pozitif yüklü “Arg” korunarak, lipofiliteden sorumlu diğer iki amino asite ait değişiklikler incelenmiştir. “D-Nal-Leu-Arg” tripeptidi nafarelinin 6-8 konumlarını oluşturmaktadır. “D-Nal-Gly-Arg” ve “Ala-Leu-Arg” tripeptitleri daha az lipofilik özellik göstermektedir. Sonuçlar, sadece nafarelin ve nafarelin çekirdeğı olarak adlandırılan “D-Nal-Leu-Arg” tripeptidinin elektrozmoz etkinliğinde belirgin bir inhibisyon oluşturmadığını göstermektedir. Hem LNRH hem de “Ala-Leu-Arg” tripeptidi gözlemlenebilir bir etki oluşturmazken, “D-Nal-Gly-Arg” tripeptidi ile orta düzey bir etki gözlemlenmiştir.

Ag/AgCl elektrotlarının kullanıldığı iyontoforez düzeneğinde, anotta gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyon için gerekli olan “Cl⁻” iyonu formülasyona NaCl ilave edilmesi ile elde edilebilir. Etkin maddenin HCl tuzu halinde olması ve suda uygun çözünürlüğe sahip olması durumunda anotta gerçekleşen elektrokimyasal reaksiyon için gerekli olan “Cl⁻” iyonu NaCl ilave edilmesini gerektirmeyebilir. Yarışmacı iyonların yokluğunda, örneğın lidokain HCl veya hidromorfon HCl için iyontoforez uygulamasında, iyontoforetik akının donör kompartımandaki etkin madde konsantrasyonundan bağımsız olduğu görülmüştür. Yapılan çalışma ile hidromorfon HCl konsantrasyonu 0,01M’den 0,8M’a kadar arttırmış ancak hidromorfonun iyontoforetik akısında bir artış gözlemlenmemiştir. Benzer bir araştırmada, etkin madde konsantrasyonunda 100 kata varan bir artış sağlandığında lidokainin iyontoforetik akısında bir artış gözlemlenmemiştir. Bunun yanı sıra, 133 mM NaCl kullanarak lidokainin iyontoforetik akısında yaklaşık olarak 70 kat artış gözlemlenmiştir. Bu deneysel koşullarda, iki önemli yük taşıyıcısı donör kompartımandaki etkin madde kasyonu ve reseptör kompartımanda bulunan “Cl⁻” iyonlarıdır. Kantitatif olarak, membrandaki etkin madde konsantrasyonu, etkin maddenin formülasyondaki miktarının arttırılmasından etkilenmemektedir. Kasting ve Keister, elektrodifüzyon modellerinde, reseptör kompartımanda NaCl varlığında ve donör kompartımanda monovalent bir etkin maddenin bulunduğu ancak formülasyonda NaCl’ün olmadığı durumu açıklamışlardır. Bu senaryoda etkin madde geçişini belirleyen faktörün etkin madde konsantrasyonundan bağımsız olduğu ve sadece difüzyon katsayıları arasındaki orana bağılı olduğunu belirtilmiştir,

$$t_M = D_M / (D_M + D_{Cl^-}) \quad (2.17)$$

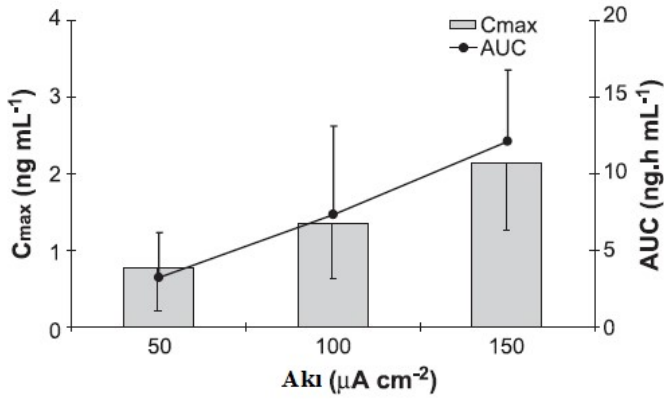
2.10.16.4. Akım Şiddetinin Etkisi^(9,14,17)

İyon konsantrasyonları sabit tutulduğunda elektromigrasyonun, iyontoforetik akıya katkısı uygulanan akım şiddeti ile doğrusal artış göstermektedir. Bu durum küçük molekül ağırlıklı etkin maddeler ve peptitler için genel olarak geçerlidir. Bununla beraber akım şiddetinin arttırılması iyontoforetik geçişte artış sağlamaktadır. Akım şiddetinin arttırılmasına bağlı artış yüksek akım şiddetlerinde kararlı hale ulaşır. Kararlı hal geçiş değerlerine ulaşıldıktan sonra akım şiddetindeki artış etkin olmamaktadır. Aşağıda verilen şekilde, düşük molekül ağırlığına sahip katyonik etkin maddeler 0,5M metilfenidat, 50M hidromorfon ve 15M apomorfın üzerinde akım şiddetinin etkisi gösterilmektedir.



Şekil 2.11. Düşük molekül ağırlıklı, katyonik EM'lerin akıları üzerine akım şiddetinin etkisi

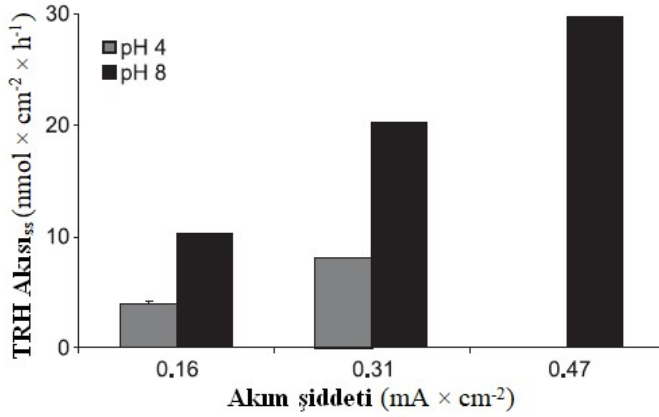
Tüm durumlarda etkin maddelere ait akıda artış görülmektedir. Etkin madde akısında görülen artış formülasyona ve etkin maddelerin fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Örnek olarak metilfenidat donör kompartımanda yüksek konsantrasyonda bulunmasına rağmen elde edilen akı hidromorfon için elde edilen akıdan daha düşüktür. Artan akım şiddetine bağlı olarak iyontoforetik akıda görülen artışa bir örnek de peptitler üzerinde yapılan çalışma üzerinde gösterilmiştir.



Şekil 2.12. Akım şiddetinin oktreotitin tavşan derisinden geçişine etkisi

2.10.16.5. pH Etkisi^(9,14,17)

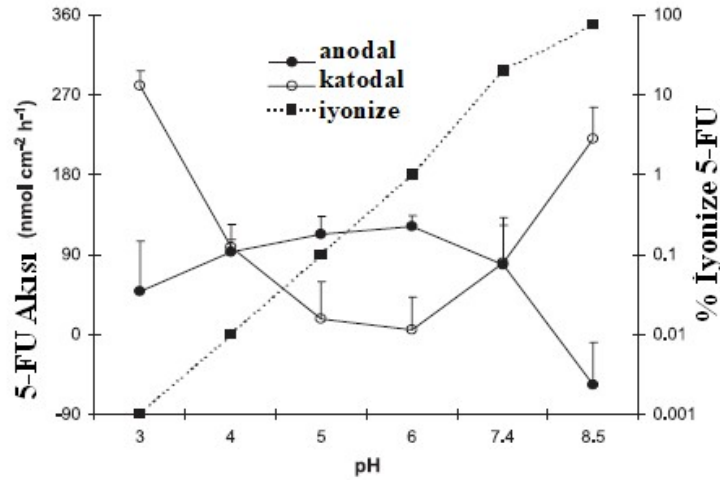
Deri ile temas halinde olan etkin madde içeren çözeltinin pH'sı iyontoforetik geçişe iki mekanizma üzerinden etki etmektedir. pH etkin maddelerin iyonizasyon derecesine etki ettiğinden, düşük baz özellikteki etkin maddeler için artan pH ile etkin maddenin iyonize olan fraksiyonu azalacak ve dolayısı ile etkin maddenin elektromigrasyonunda görülen azalma ile iyontoforetik geçişi de azalacaktır. Bununla beraber deri üzerindeki pH'nın da bir miktar etkisi bulunmaktadır. Derinin izoelektriksel noktası "pI" yaklaşık olarak 4,0-4,5'dur. Bu değer üzerinde pH değerlerinde karboksilik asit grupları iyonize haldedir ve bu nedenle yüksek pH değerlerinde deri seçici geçirgen özellik kazanır. Seçici geçirgenlik özellik kazanan deri elektroozmotik çözücü akışına izin vererek ikinci bir iyontoforetik geçiş mekanizmasını aktive eder. pH artışı zayıf bazik özellikteki etkin maddeler için iyontoforetik geçiş üzerinde iki şekilde etkili olur; etkin maddenin "pKa" değerine yaklaştıkça elektromigrasyonla iletimde azalma görülür. Ancak yüksek pH değerlerinde ">6,5-7,0" membran tamamen iyonize halde olduğundan elektroozmoz iyontoforetik geçişe katkıda bulunmaya başlayacaktır. Bu iki faktörün etkin maddenin iyontoforetik geçişi üzerine etkisi etkin maddenin fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır. Yapılan bir araştırmada, histidin ve lizin amino asitlerinin iyontoforetik geçişleri pH 4 ve pH 7,4'de incelenmiştir. "pKa" değeri 10,8 olan lizin için pH 7,4'de iyontoforetik geçişte artış gözlenmiştir. Tam aksine histidin ile pH 4'de iyontoforetik geçişte artış gözlenmiştir. Bunun sebebi olarak histidin pH 7,4'de %90'dan fazla oranda yüksüz olarak bulunması ve bu nedenle elektromigrasyonunun olmamasıdır, bu nedenle iyontoforetik geçişte ana etken elektroozmoz olmuştur. Elde edilen bu bilgiye tezat oluşturacak şekilde uygulanan akım şiddetinde TRH'nın iyontoforetik geçişi sırasında bu tripeptidin pKa=6,2 değerine sahip olması ve %90'dan fazla oranda yüksüz olarak bulunmasına rağmen pH 8'de, pH 4'den 2 kat daha fazla geçiş gerçekleşmiştir.



Şekil 2.13. Çözeltili pH'sının TRH fare derisi üzerindeki iyontoforetik geçiş üzerine etkisi

TRH için elde edilen sonuç yüksek pH'da artan elektroozmotik akı, elektromigrasyonun etkinliğinin azalmasından daha önemlidir.

Yapılan bir araştırmada, formülasyonun pH'sında yapılan değişikliklerin zayıf asidik özellik gösteren ve pKa değeri 8 olan 5-FU'nün anodal ve katodal iyontoforetik geçiş üzerine etkileri incelenmiştir.



Şekil 2.14. 5-FU'in pH ve etkin madde iyonizasyon derecesine göre iyontoforetik geçişi

5-FU pH 3 ile pH 6 arasında noniyonize formdadır ve bu durumda sadece elektroozmoz iyontoforetik geçişte etkindir. pH 3'de deri izoelektriksel nokta "pI" altındadır ve pozitif yüklü durumdadır dolayısı ile konvektif çözücü akışı katot yönünden anot yönüne doğrudur ve katodal iyontoforez üstündür. pH 4'de deri izoelektriksel noktasına "pI" çok yakındır ve membran nötraldir dolayısı ile katodal ve anodal akıların etkinliği eşdeğerdir. Deri pH'sı artmaya devam edecek olursa, derinin negatif yüklendiği ve elektroozmotik akışın tersine olduğu düşünülebilir. Bu durumda konvektif çözücü akışı anot yönünden katot yönüne doğrudur ve anodal iyontoforez üstündür. pH 7,4'de 5-FU %20 iyonize durumdadır ve her ne kadar etkin madde katodal iyontoforez ile mücadele etmek durumunda olsa da çözücü akışı ve

elektromigrasyon etkisi katottan etkin madde geçişi için yeterlidir. pH 8,5’de 5-FU %76 iyonize haldedir ve artan elektromigrasyon etkisine karşı konvektif çözücü akışını yenecek düzeydedir. Formölasyon pH’sı etkin madde geçişinde önemli bir etkiye sahiptir bununla beraber düşük ve yüksek pH değerlerinde sırasıyla önemli düzeyde hidroksonyum ve hidroksit iyonu değerlerine erişilir. İyonlar yüksek elektriksel hareketliliğe sahiptir ve yüksek konsantrasyonlarda yüksek moleküler ağırlıklı ve düşük hareketliliğe sahip etkin maddelerin iyonotoforetik geçişlerinde azalmaya sebep olacaktır ve hatta düşük konsantrasyonlarında dahi benzer etkiler gözlemlenebilir. Düşük moleköl ağırlığa ve sistemik etkiye sahip etkin maddeler için genellikle tercih edilen uygulama yolu oral yoldur. Bu açıdan iyontoforez tekniği düşük oral biyoyararlanım ve/veya kısa yarılanma ömrü nedeniyle çoklu doz olarak uygulanan etkin maddeler için gerçekçi bir alternatif özelliğine sahiptir. Farmakodinamik etkiler açısından, iyontoforez alternatif uygulama yolu olarak, arttırılmış terapötik etkinlik ve yan etki profilinde fark edilir azalma sağlamaktadır. İyontoforez tekniği lokal veya topikal etki oluşturmak için tercih edilen bir yöntem değildir. Pasif uygulamalara göre başlangıç etkinliğinde belirgin artış ve bu sayede büyük ve çoklu oral doz kullanımı yerine derinin tercih edilmesi için gereklilikleri ve terapötik etki elde etmek için gereken etkin madde düzeylerinin güvenilir bir şekilde elde edilmesini sağlar. İyontoforezin en önemli avantajı, etkin madde geçişi için sağladığı kinetik kontrol ve hastalar için bireyselleştirilebilir ve optimize edilmiş etkin madde verilif hızı sağlayabilmesidir. Dozlamanın ve yanıtın zamanın bir fonksiyonu olarak değişim göstermesi gerektiği uygulamaları mümkün kılar 1) koşulların hızlı bir şekilde kötüleştiği 2) bazal girişimler nedeniyle tam zamanında üst üste bolus doz uygulamalarının gerekli olduğu 3) tolerans ve hassasiyetin geliştirilmesinde, örneğin nörodejeneratif koşulların tedavisinde kullanılabilir. Önümüzdeki birkaç yıl içerisinde, ticari bir firma tarafından geliştirilen lidokain iyontoforetik yaması ve başka bir ticari firma tarafından geliştirilen fentanil iyontoforetik yaması ile lokal ve sistemik etki oluşturmak için kullanılan iyontoforetik sistemler için öncölük edecektir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kimyasallar

Tablo 3.1. Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler

Madde	İşlevi	Üretici	Seri numarası
Donepezil HCl WS	Çalışma standardı	Jubilant-Belçika	1000432
Memantin HCl WS	Çalışma standardı	Mylan-Hindistan	1000137820
Donepezil HCl	Etkin madde	Jubilant-Belçika	DPZ/1603010
Memantin HCl	Etkin madde	Mylan-ABD	25504600
HCl, konsantre	Asitlik verici ajan	Merck KGaA-Almanya	K50094514
Sodyum hidroksit	Alkali ajan	Merck KGaA-Almanya	B1256682
Etanol %96	Yardımcı çözücü	Greenfield-Kanada	024393
Aseton	Yardımcı çözücü	Merck KGaA-Almanya	K49821614
EPO	Polimer	Evonik-Almanya	B140101519
HPMC	Polimer	ShinEtsu-Japonya	8038085
EC	Polimer	Dow Chemicals-ABD	D011G31L02
PEG	Plastikleştirici ajan	Basf-Almanya	25240156P0
Potasyum fosfat	Hareketli faz	Merck KGaA-Almanya	AM0973577
Asetonitril	Hareketli faz	J.T.Baker-ABD	1521612003
n-bütülin	Hareketli faz	Acros Organics-ABD	A0376520
Dansil klorür	Türevlendirme ajanı	Acros Organics-ABD	A0369438
Sodyum bikarbonat	Hareketli faz	Merck KGaA-Almanya	K44832529
Sodyum karbonat	Hareketli faz	Merck KGaA-Almanya	A0541992
HCl, konsantre	Hareketli faz	J.T.Baker-ABD	1534707867
Sodyum hidroksit	Hareketli faz	Merck KGaA-Almanya	HC43015141
Trietilamin	Hareketli faz	Merck KGaA-Almanya	S5665152
Fosforik asit	Hareketli faz	Merck KGaA-Almanya	K4532073
Metanol	Hareketli faz	J.T.Baker-ABD	1706102802
Deiyonize su	Çözücü	Firma içi	Firma içi

3.1.2. Araç ve Cihazlar

Tablo 3.2. Deneysel çalışmalarda kullanılan cihazlar

Araç / Cihaz	İşlevi	Özellik	Üretici
Ag/AgCl elektrot	<i>in vivo</i> salım	Ag/AgCl elektrot	3M-Red Dot-ABD
İyontoforez cihazı	<i>in vivo</i> salım	Çalışma aralığı 0,1-25 mA, DC	Özel üretim
Diyaliz membranı	<i>in vitro</i> salım	50kD por çapı, tüp şeklinde	SpectraPor-ABD
Disolüsyon cihazı	<i>in vitro</i> salım	6 küvet, karıştırıcılı, ısıtmalı, yarı-otomatik	Erweka-ABD
LOD cihazı	Kurutma kaybı	Kalibrasyon aralığı: 0,1-1,0g / 105 °C	Metrohm-İsviçre
pH-metre	pH ölçümü	Kalibrasyon noktaları: pH 4-7-11 / Sapma: $\pm 0,002$	Metrohm-İsviçre
Texture CT3	Adeziflik, gerilmeye karşı direnç	Aralık: 0-100 g, rezolüsyon 0,01 g, Sapma: $\pm 0,5\%$ FSR	Brookfield-ABD
USP Aparat 5	<i>in vitro</i> salım	18 mm elek aralığı, 41,2 mm çap, çelik disk	Erweka-Almanya
HPLC	Donepezil miktar tayini	UV detektör, gradient pompa, soğutucu, otomatik örnekleyici	Shimatsu-Japonya
Kolon	Donepezil miktar tayini	GL Sciences C18, 5 μ ; 250 mm; 4,6 mm	GL Sciences-Japonya
HPLC	Memantin miktar tayini	Floresans detektör, gradient pompa, soğutucu, otomatik örnekleyici	Shimatsu-Japonya
Kolon	Memantin miktar tayini	Waters C18, 5 μ ; 150 mm; 4,6 mm	Waters-ABD
Disk	Döküm kalıbı	Silindirik, 57 mm çap, çelik, 25,5 cm ² döküm alanı	Çelik boru
Tabla	Kalıp desteği	Kare şeklinde, 80 mm kenar, çelik	Çelik tabaka
Kesit diski	Sabit kesit	Silindirik, 18 mm çap, alüminyum, 2,55 cm ² kesit alanı	Allpro-Çin
Beher	Formüllerin hazırlanması	20, 50, 100, 500, 1000 mL hacimlerde, cam malzeme	Isolab-Almanya
Daldırmalı karıştırıcı	Formülasyon	0-2000 rpm karıştırma aralığı, farklı karıştırma uçları	Heidolph-Almanya
IR spektrofotometre	IR spektrum	190-900 nm, doğruluk $\pm 0,1$ nm, spektral bant geçişleri 0,1- 0,5-1-2-4-5 nm	Shimatzu-Japonya
DSC cihazı	Geçimsizlik	150-725 °C, ölçüm aralığı ± 100 mW, hassasiyet 0,05 μ W/0,1 μ W	Shimatzu-Japonya
Mikrometre	Film kalınlığı	Çalışma aralığı 0-25 mm, hassasiyet 0,001 mm	Mitutoyo-Japonya
Balon joje	Çözündürme	10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 mL hacimlerde cam malzeme	Isolab-Almanya

3.2. Yöntemler

Donepezil HCl ve Memantin HCl'ün fizikokimyasal özellikleri belirlenerek bu etkin maddelerle oluşturulan formülasyonların optimizasyonu sağlanmıştır.

3.2.1. Etkin Maddelerin Fizikokimyasal Özellikleri

3.2.1.1. Etkin Maddelerin Çözünürlük Özellikleri

Tek tabakalı filmlerin elde edilmesi için kullanılan çözücü uçurma tekniği nedeniyle etkin maddelerin çözeltileri halinde elde edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla etkin madde çözünürlük özellikleri belirlenerek tek tabakalı filmlerin elde edilmesi için oluşturulacak bulk ürüne ait çözücü ve/veya çözücüler belirlenmiştir.

3.2.1.2. Etkin Maddelerin Analiz Sonuçları

Etkin maddelerin tanıma analizlerinin gerçekleştirilmesinden sonra, etkin maddelerin birim formüllerde standart miktarlarının kullanılabilmesi için, miktar tayini, nem miktarı, gibi kritik özellikler açısından analizleri gerçekleştirilmiş ve sertifikaları oluşturulmuştur.

3.2.2. Etkin Madde Miktar Tayini Analiz Yöntemleri⁽⁸⁾

Etkin maddelerin miktar tayini analizi yöntem validasyonunda uluslararası standartları belirleyen “ICH Q2(R1) Validation of Analytical Procedures” kılavuzuna bağlı kalınarak aşağıda belirtilen karakteristik validasyon parametreleri irdelenmiştir.

- a. Özgünlük
- b. Doğruluk
- c. Teşhis ve tayin limiti
- d. Doğrusallık ve aralığı
- e. Kesinlik
 - Tekrarlanabilirlik
 - Ara kesinlik

Tüm analizler aynı laboratuvarında gerçekleştirildiği için bir kesinlik parametresi olan tekrar üretilebilirlik parametresi çalışılmamıştır.

3.2.2.1. Özgünlük

Uygulanan analitik prosedürün analite olan seçiciliğinin kanıtlanmasına yöneliktir. Özgünlük parametresinin incelenmesi için Donepezil HCl'ün 0,1 mg/mL ve Memantin HCl'ün 0,015 mg/mL konsantrasyonda çözeltisi hazırlanarak sisteme enjekte edilmiştir.

3.2.2.2. Doğrusallık

Uygulanan analitik prosedürde analitin değişen konsantrasyonlarına doğrusal yanıtların alındığının kanıtlanmasına yöneliktir. Doğrusallık parametresinin incelenmesi için Donepezil HCl standart çözeltisinin %2.500, %1.000, %500, %100, %40, %10, %2, %1 ve LOQ seviyelerinde, Memantin HCl standart çözeltisinin %200, %100, %80, %50, %20, %10, %5, %2, LOQ ve LOD seviyelerinde çözeltileri hazırlanarak sisteme enjekte edilmiştir.

3.2.2.3. Çalışma Aralığı

Uygulanan analitik prosedürde analitin değişen konsantrasyonlarına doğrusal yanıtların alındığı kanıtlanmışsa, doğrusal yanıtın alındığı aralığın belirlenmesine yöneliktir. Çalışma aralığının belirlenmesinde doğrusallık çalışmasına ait veriler kullanılır.

3.2.2.4. Kesinlik

Uygulanan analitik prosedürde aynı numuneden çoklu örnekleme yöntemiyle elde edilen sonuçlar arasındaki benzerliğin ölçülmesine yöneliktir.

Tekrarlanabilirlik: Uygulanan analitik prosedürde kısa zaman aralıklarında tekrarlanabilirliğin elde edilmesine yöneliktir.

Ara kesinlik: Uygulanan analitik prosedür ile laboratuvar içi kesinliğin elde edilmesine yöneliktir. Bu amaçla farklı günlerde yapılan analizler karşılaştırılmıştır.

3.2.2.5. Sağlamlık

Uygulanan analitik prosedürde yapılacak minör değişikliklere karşı yöntemin sağlamlığının test edilmesidir. Sağlamlık parametresinin incelenebilmesi için kolon sıcaklığı ve enjeksiyon hacmi parametreleri incelenmiştir.

3.2.2.6. Kararlılık

Uygulanan analitik prosedür ile standart çözeltilerin kararlılıklarını koruyabildikleri sürenin belirlenmesine yöneliktir. Kararlılığın belirlenebilmesi için 4 saatlik zaman aralıklarında aynı numuneden elde edilen 48 saatlik sonuçlar karşılaştırılmıştır.

A. Donepezil HCl Miktar Tayini Analiz Yöntemi ve Sisteme Ait Özellikler

Tablo 3.3. Donepezil HCl miktar tayini analiz yöntemine ait sistem özellikleri

Sistem	HPLC, Dörtlü gradient pompa, Soğutuculu otomatik örnekleyici, Otomatik gaz giderici, UV dedektör
Kolon	GL Sciences C18, 5 µm ; 250 mm ; 4,6 mm
Kolon sıcaklığı	40°C
Otomatik örnekleyici sıcaklığı	25°C
Akış hızı	1,2 mL/dk
Dalga boyu	268 nm
Enjeksiyon hacmi	20 µL
Standart	Donepezil HCl WS
Çözücü	Hareketli faz
Hareketli faz	Metanol/Tampon çözeltisi (40/60 h/h)
Tampon çözeltisi	6,8 g KH ₂ PO ₄ , 1L balon joje içerisinde 400 mL deiyonize su ile çözündürülür, üzerine 5 mL trietilamin eklenerek pH'sı 2,2' ye 1M H ₃ PO ₄ ile ayarlanır ve hacmine tamamlanır.

B. Memantin HCl Miktar Tayini Analiz Yöntemi ve Sisteme Ait Özellikler

Tablo 3.4. Memantin HCl miktar tayini analiz yöntemine ait sistem özellikleri

Sistem	Dörtlü gradient pompa, Soğutuculu, otomatik örnekleyici ve gaz giderici, Floresans dedektör
Kolon	Waters C18, 5 µm ; 150 mm ; 4,6 mm
Kolon sıcaklığı	25 °C
Otomatik örnekleyici sıcaklığı	25 °C
Akış hızı	1,5 ml/dk
Dalga boyu	Floresans dedektör (EX: 235 nm, EM: 470 nm)
Enjeksiyon hacmi	20 µL
Standart	Memantin HCl WS
İnorganik faz	0,025M KHPO ₄ çözeltisi
Organik faz	Asetonitril : Fosforik asit : N-bütülin (730/0,5/0,6 h/h)
Hareketli faz	Organik faz : İnorganik faz (73/27 h/h)
Dansil klorür çözeltisi	50 mg dansil klorür 50 mL balon jojede asetonitril ile çözündürülür ve hacmine asetonitril ile tamamlanır.

3.2.3. Etkin Madde ve Yardımcı Madde Geçimliliği

Etkin maddeleri içeren tek tabakalı filmlerin üretilmesinde kullanılan yardımcı maddeler ile etkin maddeler arasındaki geçimliliğin belirlenmesinde bulk çözeltileri halinde miktar tayini analizleri gerçekleştirilmiştir. Tek tabakalı filmler halinde ise bileşenlerin bireysel ve/veya karışımları halinde DSC spektrumları elde edilerek geçimlilik açısından değerlendirilmiştir.

3.2.4. Çözücü Sistemi Belirlenmesi İçin Yapılan Çalışmalar

Etkin maddelerin tek tabakalı filmler halinde elde edilmeleri için çözücü uçurma tekniği kullanılmıştır. Çözücü sistemi kullanılarak hazırlanan bulk ürünün hesaplı miktarı, düzlemsel ve sabit yüzey alanına sahip kalıplara dökülerek 36 saat oda sıcaklığında bekletilmiş ve çözücü bileşenleri tamamen buharlaştırılarak uzaklaştırılmıştır. Bulk ürünlerin hazırlanmasında kullanılan hammaddeler farklı çözünürlük özelliklerine sahiptir, bu nedenle tüm hammaddelerin çözünür olduğu bir çözücü sisteminin belirlenmesi gerekmektedir. Deneysel çalışmalarda kullanılan hammaddelere ait çözünürlük özellikleri aşağıda verilen tablo ile özetlenmiştir.

Tablo 3.5. Etkin ve yardımcı maddelerin değişik ortamlardaki çözünürlük özellikleri

Hammadde	pH 1,0	pH 5,0	pH 6,0	pH 13,0	Su	Aseton	Metanol	Etanol	Etil asetat	Dimetil formamid	Kloroform	Metilen diklorür
Donepezil HCl	İ	Ç	Ç	İ	İ	*	*	*	*	*	Ç	Ç
Memantin HCl	Ç	İ	Ç	İ	Ç	*	*	Ç	K	İ	Ç	İ
HPMC	#	#	#	#	İ	M	M	M	*	*	*	*
EC	*	*	*	*	P	K	Ç	Ç+M	Ç	K	Ç	K
EPO	İ	*	*	*	*	İ	İ	İ	İ	*	*	*
Gliserol	İ	İ	İ	İ	İ	İ	İ	İ	*	*	İ	*
PEG	*	*	*	*	^İ	^İ	^İ	^İ	*	*	*	*

Bilgi yok (*), Çözünürlüğü üzerine pH etkisi yok (#), Sıvı haldeki türevleri (^), İyi çözünür (İ), Çok iyi çözünür (Ç), Bir miktar çözünür (K), Suyla karışımlarında çözünür (M), Pratik olarak çözünmez (P), Suyla karışımlarında çözünür (Ç+M)

Tablo 3.5’de hammaddeler için verilen çözünürlük özellikleri değerlendirilerek çözücü sistemine ait özellikler aşağıdaki gibi belirlenmiştir,

- a. Donepezil HCl ve Memantin HCl için çözücü ve/veya yardımcı çözücü olarak su veya etanol kullanılmalıdır.
- b. EPO için çözücü ve/veya yardımcı çözücü olarak 1N HCl, aseton, metanol veya etanol kullanılmalıdır.
- c. HPMC için çözücü olarak su ve yardımcı çözücü olarak aseton, metanol veya etanol kullanılmalıdır.
- d. EC için çözücü olarak aseton, metanol, etanol ve yardımcı çözücü olarak su kullanılmalıdır.
- e. Gliserol için çözücü olarak su, aseton, metanol veya etanol kullanılmalıdır.
- f. Sıvı formdaki PEG türevleri için çözücü olarak su, aseton, metanol veya etanol kullanılmalıdır.

Deneyisel çalışmalarda hazırlanan bulk ürünler ve plasebolar için, çözücü olarak seyreltik asit çözeltileri veya tampon sistemleri kullanılmıştır. Yardımcı çözücü olarak da metanol veya etanol içeren çözücü sistemlerinin kullanılmasına karar verilmiştir.

Çalışmalarda Kullanılan Çözelti ve Çözücüler:

%4 a/h sodyum hidroksit çözeltisi: 4 g sodyum hidroksit, hesaplı miktar su içerisinde çözündürülür. 100 mL’lik son hacmine su ile tamamlanır.

Ph. Eur. 8.4; pH 2,2 tampon çözeltisi (pH 2,2): 3,1 g fosforik asit R, hesaplı miktar su içerisinde çözündürülür, üzerine 12,5 mL %4 a/h sodyum hidroksit çözeltisi ilave edilir. 250 mL’lik son hacmine su ile tamamlanır.

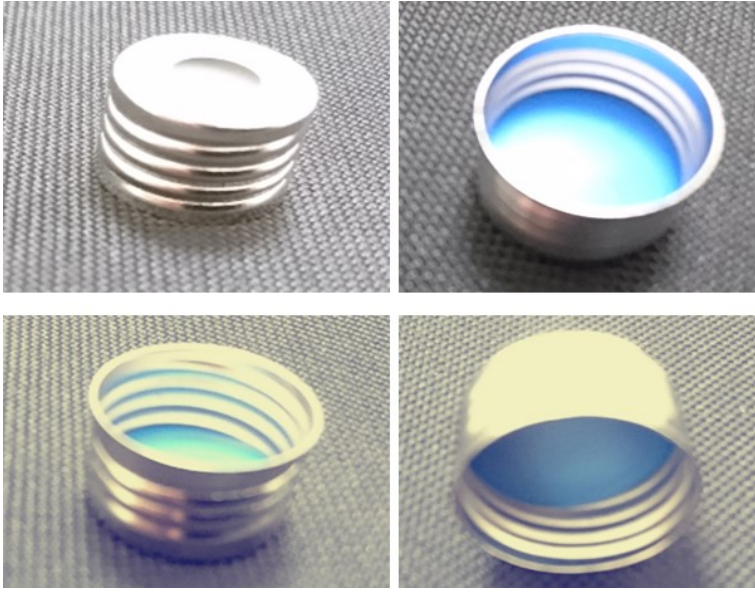
0,1 N hidroklorik asit çözeltisi (0,1N HCl): Hesaplı miktar su üzerine 8,29 mL %37 a/a hidroklorik asit stok çözeltisi ($d= 1,189 \text{ g/mL}$) ilave edilerek 1 L’lik son hacmine su ile tamamlanır.

MeOH: Metanol

EtOH: Mutlak etanol

3.2.5. Plasebo Formülleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Tek tabakalı filmleri elde edilebilmek için bulk çözeltiler düzlemsel ve sabit yüzey alana sahip bir kalıba dökülmelidir. Dökümün yapılacağı kalıpların elde edilmesi için düzlemsel paslanmaz çelik diskler, düzlemsel paslanmaz çelik tablalar üzerine sabitlenmiştir (**Şekil 3.2**) Elde edilen döküm alanı $25,5 \text{ cm}^2$ olarak hesaplanmıştır. Döküm alanında elde edilen tek tabakalı fimlerden uygulamaya yönelik sabit alanlı kesitlerin elde edilmesi için yüzey alanı $2,55 \text{ cm}^2$ olarak hesaplanan kapaklar kullanılmıştır (**Şekil 3.1**). Kesit alanıyla ve döküm alanıyla elde edilen tek tabakalı filmlerin alanları arasında 1/10 gibi bir “altın oran” elde edilmiştir.



Şekil 3.1. Uygulamaya yönelik sabit alanlı kesitlerin elde edilmesinde kullanılan 18 mm iç çaplı kapaklar



Şekil 3.2. Tek tabakalı filmlerin elde edildiği 57 mm çaplı kalıplar

Etkin madde yüklenmiş tek tabakalı filmlerin elde edilmesinden önce plasebo formülleri ile denemeler gerçekleştirilmiş ve sonrasında etkin maddeler uygun fiziksel özellikleri taşıyan plasebolara yüklenmiştir. Plasebo formülleri ile üretilen tek tabakalı filmlerin değerlendirilmesinde elde edilen sonuçların somut bir anlam taşıyabilmesi için tek tabakalı filmlerin fiziksel özelliklerine dayalı olarak puanlama yapılmış ve her fiziksel özellik “0” ile “10” arasında bir puanla değerlendirilmiştir. Toplamda yüksek puana sahip olan plasebo formülasyonu başarılı addedilmiştir. Hazırlanan tek tabakalı filmlerin değerlendirmesinde ideal fiziksel özellikler aşağıdaki gibi belirlenmiştir,

Tablo 3.6. İdeal Tek Tabaklı Filmin Sahip Olması Gereken Özellikler

Kalınlık	: 400-500 µm
Yüzey özellikleri	: Tektür olmalıdır
Adeziflik	: FDA skor testi*
Nem içeriği	: Yüksek oranda nem absorbe etmemelidir
Ağırlık tekdüzeliği	: Uygun olmalıdır

*U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (FDA) Center for Drug Evaluation and Research. *DRAFT GUIDANCE* for Industry. Assessing Adhesion With Transdermal and Topical Delivery Systems for ANDAs. October 2018⁽¹⁹⁾.

3.2.5.1. Plasebo Formülleri

Tablo 3.7. Kullanılan hammadde miktarları (g)

İçerik	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
pH 2,2 : MeOH (5:4, a/a)*	18,0	18,0	13,5	13,5	36,0	36,0	-	-	-	-
0,1N HCl : EtOH (5:3, a/a)*	-	-	-	-	-	-	32,0	32,0	32,0	32,0
EPO	1,5	2,0	1,0	4,0	2,0	4,0	4,0	-	2,0	2,0
HPMC	1,0	0,5	0,5	2,0	1,0	2,0	-	4,0	2,0	1,0
EC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0
PEG	1,0	1,5	0,5	1,0	0,75	1,5	1,2	1,2	1,2	1,2
Gliserol	1,5	1,0	-	-	-	-	0,8	0,8	0,8	1,2
Σ (g)	23,0	23,0	15,5	20,5	39,75	43,5	38,0	38,0	38,0	38,4

Tablo 3.8. Kullanılan hammadde miktarlarının toplam formüle oranı (% a/a)

Madde	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
EPO	30,0	40,0	50,0	57,1	53,3	53,3	66,7	-	33,3	25,0
HPMC	20,0	10,0	25,0	28,6	26,7	26,7	-	66,7	33,3	12,5
EC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12,5
PEG	20,0	30,0	25,0	14,3	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	18,8
Gliserol	30,0	20,0	-	-	-	-	13,3	13,3	13,3	18,8

Tablo 3.9. Kullanılan hammadde miktarlarının işlevsel oranları (% a/a)

Oran	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
Σ polimer / Σ çözücü	13,9	13,9	11,1	44,4	8,3	16,7	12,5	12,5	12,5	12,5
HPMC / Σ polimer	40,0	20,0	33,3	33,3	33,3	33,3	-	100,0	50,0	25,0
EPO / Σ polimer	60,0	80,0	66,7	66,7	66,7	66,7	100,0	-	50,0	50,0
EC / Σ polimer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25,0
Plastikleştirici / Σ polimer	40,0	60,0	33,3	16,7	25,0	25,0	30,0	30,0	30,0	30,0

Proses akışı:

D10 kodlu denemenin 200 g'lık seri üzerinden proses akışı aşağıdaki gibidir,

- 400 mL cam behere 60 g etanol tartılır ve 600 rpm'de karıştırılır.
- Üzerine 5 g EC ilave edilir 600 rpm'de 15 dk disperse edilir.
- Süre sonunda 15 g 0,1 N HCl ilave edilir 600 rpm'de 15 dk karıştırılır.
- Çözeltiliye 10 g EPO ilave edilir 600 rpm'de 15 dk disperse edilir.
- Dispersiyona 10 g HPMC ilave edilir 600 rpm'de 15 dk disperse edilir.
- Dispersiyona 85 g 0,1 N HCl ilave edilir 600 rpm'de 30 dk karıştırılır.
- Çözeltiliye 7,5 g gliserol ve 7,5 g PEG ilave edilir 600 rpm'de 15 dk karıştırılır.

Plasebo Formüllerden Tek Tabakalı Fimlerin Elde Ediliş Yöntemi:

Proses akışında belirtildiği şekilde hazırlanan plaseboların hesaplı miktarları kalıplara (Şekil 3.2) dökülerek 36 saat süreyle çözücüleri uçurulmuştur. Elde edilen tek tabakalı filmlerin kalınlık, yüzey özellikleri, adheziflik, nem içeriği ve ağırlık tekdüzeliği gibi fiziksel özellikleri incelenmiştir.

3.2.6. Etkin Madde İçeren Formüller Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Plasebolarla elde edilen tek tabakalı filmler fiziksel özelliklerine göre değerlendirildikten sonra en uygun özelliğe sahip plasebo formülü D10 kodlu plasebo olarak belirlenmiş ve etkin maddeler bu formüle yüklenmiştir. Etkin madde içeren bulk ürünlerin hesaplı miktarlarının kalıplara dökülmesi ile elde edilen tek tabakalı filmlerde fiziksel analizler gerçekleştirilerek gerekli görülmesi halinde formüllerin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ideal etkin madde içeren formüllerde kalınlık, ağırlık tekdüzeliği, nem içeriği, taktür özellikleri, pH, adheziflik, yüzey özellikleri, gerilmeye karşı direnç, miktar tayini, verim hesabı ve *in vitro* etkin madde salım testleri gerçekleştirilmiştir.

Pasebo Formüllerine Etkin Madde Yüklenmesi:

Uygun plasebo formüllerine etkin maddelerin yüklenmesi öncesinde uygun döküm ağırlığı belirlenmiştir. Etkin madde içeren bulk ürünlerin hazırlanması sırasında döküm ağırlığının %25 fazlası üzerinden çalışılarak kayıpların giderilmesi hedeflenmiştir.

Donepezil HCl İçin Örnek Hesaplama (2 mg/film):

D10 kodlu plasebo formülü kullanılarak tek tabakalı film elde edilmesi amacıyla tartılması gereken etkin madde miktarları aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır.

Tek tabakalı film içeriği: 2 mg Donepezil HCl/2,55 cm²

Döküm kalıbı içeriği: 20 mg Donepezil HCl/25,5 cm²

Donepezil HCl nem içeriği: %5,45

Donepezil HCl miktar tayini analiz sonucu (kuru baz): %99,9

Tartılması gereken Donepezil HCl miktarı: $2 \times (100/99,9) / [100/(100-5,45)] = 2,1174 \text{ mg}$

2 : Donepezil HCl içrene tek tabakalı film etkin madde içeriği

100/99,9 : Miktar tayini sonucundan kaynaklı kaybın giderilmesi için kullanılan değişken

100/(100-5,45) : Su içeriğinden kaynaklı kaybın giderilmesi için kullanılan değişken

Döküm için gerekli Donepezil HCl miktarı: **21,174 mg**

%25 fazlası üzerinden hesaplama yapıldığında gerekli Donepezil HCl miktarı: **26,468 mg**

%25 fazlası üzerinden hesaplanan toplam formül ağırlığı: **12,5 g**

Proses akışı:

- 26,468 mg Donepezil HCl 20 mL'lik bir cam behere tartılır.
- Ağırlıkça D10 kodlu plasebo ile 12,5 g'a tamamlanır.
- Magnetik karıştırıcı yardımıyla 600 rpm'de 30 dk karıştırılır.

Memantin HCl İçin Örnek Hesaplama (10 mg/film):

D10 kodlu plasebo formülü kullanılarak tek tabakalı film elde edilmesi amacıyla tartılması gereken etkin madde miktarları aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır.

Tek tabakalı film içeriği: 10 mg Memantin HCl/2,55 cm²

Döküm kalıbı içeriği: 100 mg Memantin HCl/25,5 cm²

Memantin HCl nem içeriği: %0,66

Memantin HCl miktar tayini analiz sonucu (kuru baz): %100,0

Tartılması gereken Memantin HCl miktarı: $10 \times (100/100) / [100/(100-0,66)] = 10,066 \text{ mg}$

10 : Tek tabakalı film Memantin HCl içeriği

100/99,9 : Miktar tayini sonucundan kaynaklı kaybın giderilmesi için kullanılan değişken

100/(100-0,66) : Su içeriğinden kaynaklı kaybın giderilmesi için kullanılan değişken

Döküm için gerekli Memantin HCl miktarı: 100,664 mg

%25 fazlası üzerinden hesaplama yapıldığında gerekli Memantin HCl miktarı: 125,830 mg

%25 fazlası üzerinden hesaplanan toplam formül ağırlığı: 12,5 g

Proses akışı:

- a. 125,830 mg Memantin HCl 20 mL'lik bir cam behere tartılır.
- b. Ağırlıkça D10 kodlu plasebo ile 12,5 g'a tamamlanır.
- c. Magnetik karıştırıcı yardımıyla 600 rpm'de 30 dk karıştırılır.

3.2.6.1. Tek Tabakalı Filmlerin Kalınlıkları

Etkin madde içeren tek tabakalı filmlerin kalınlıkları mikrometre yardımıyla en az üç farklı bölgeden ölçüm alınarak gerçekleştirilmiştir. Tek bir kalıp için ortalama ve RSD değerleri hesaplanmıştır. Üç farklı kalıptan elde edilen ortalama kalınlık değerlerine ait ortalama ve RSD değerleri kalıplar arasındaki tekdüzeliğin belirlenebilmesi amacıyla hesaplanmıştır.

3.2.6.2. Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlıkları

Etkin madde içeren tek tabakalı filmlerin ağırlıkları hassas terazi yardımıyla en az üç farklı bölgeden ölçüm alınarak gerçekleştirilmiştir. Tek bir kalıp için ortalama ve RSD değerleri hesaplanmıştır. Üç farklı kalıptan elde edilen ortalama ağırlık değerlerine ait ortalama ve RSD değerleri kalıplar arasındaki tekdüzeliğin belirlenebilmesi amacıyla hesaplanmıştır.

3.2.6.3. Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçeriği

Etkin madde içeren tek tabakalı filmlerin nem içerikleri kurutma kaybı cihazı yardımıyla en az üç farklı bölgeden ölçüm alınarak gerçekleştirilmiştir. 105 °C'de test edilen tek tabakalı filmin sabit ağırlığa gelmesi için beklenmiştir. Tek tabakalı filme ait başlangıç ağırlık değeri ve sabit ağırlık değerine ulaştığında elde edilen ağırlık değeri arasındaki fark başlangıç ağırlık değerine oranlanarak %nem içerikleri tayin edilmiştir. Tek bir kalıp için ortalama ve RSD değerleri hesaplanmıştır. Üç farklı kalıptan elde edilen ortalama nem içeriklerine ait

ortalama ve RSD değerleri kalıplar arasındaki tekdüzeliğin belirlenebilmesi amacıyla hesaplanmıştır.

$$N\% = (M_i - M_s) / M_i \times 100 \quad (3.1)$$

$N\%$: %nem içeriği

M_i : tek tabakalı filmin başlangıç ağırlığı (mg)

M_s : tek tabakalı filmin sabit ağırlığa geldiği andaki ağırlığı (mg)

3.2.6.4. Tek Tabakalı Filmlerin Tektürlüğü

Etkin madde içeren tek tabakalı filmlerin tektürlük özellikleri görsel olarak kontrol edilmiştir. Değerlendirme kriteri olarak düzlemsellik, tektür yüzey özellikleri ve fiziksel görünüm incelenmiştir.

3.2.6.5. Tek Tabakalı Filmlerin pH Değerleri

Etkin madde içeren tek tabakalı filmlerin pH ölçümleri için 2,55 cm² kesit alanına sahip filmler 20 mL 1:1 a/a MeOH:su karışımında çözündürülerek pH-metre yardımıyla ölçümleri alınmıştır.

3.2.6.6. Tek Tabakalı Filmlerin Adheziflikleri

Plasebolar ile elde edilen tek tabakalı filmlerin adheziflik özelliklerini değerlendirmek için FDA tarafından yayınlanan “Assessing Adhesion With Transdermal and Topical Delivery Systems for ANDAs” adlı kılavuzdan yararlanılmış ve aşağıda tablo ile verilen değerlendirme kriterleri uygulanmıştır. Etkin madde içeren tek tabakalı filmlerin adhezif özelliklerini belirlenmesinde “Texture” adlı cihazdan yararlanılmıştır.

Tablo 3.10. Adheziflik Değerlendirme Kriterleri

Puan	Adhezyon oranı	Açıklama
0	≥ 90	Temelde deri ile temas etmeyen kısım yoktur
1	≥ 75 ila < 90	Sadece bazı köşelerde deri ile temas etmeyen kısımlar vardır
2	≥ 50 ila < 75	Yaklaşık olarak yarıdan az deri ile temas etmeyen kısım vardır
3	≥ 0 ila < 50	Yaklaşık yarıdan fazla deri ile temas etmeyen kısım vardır
4	≥ 0	Deri ile temas etmemektedir

3.2.6.7. Tek Tabakalı Filmlerin Gerilmeye Karşı Dirençleri

Etkin madde içeren tek tabakalı filmlerin gerilmeye karşı dirençlerinin ölçülebilmesi için bir “Texture” adlı cihazdan yararlanılmıştır. Tek tabakalı filmler üzerinde artan çekme kuvvetleri uygulanarak kopmanın veya kırılmanın gerçekleştiği kuvvet ölçülmüştür.

3.2.6.8. Tek Tabakalı Filmlerin Etkin Madde Miktar Tayini

Elde edilen etkin madde içeren tek tabakalı filmlerden 2,55 cm²'lik kesitler alınarak numune çözetlileri hazırlanmış ve “3.2.2. Etkin Madde Miktar Tayini Analiz Yöntemleri” bölümünde belirtilen parametreler ile analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.6.9. Tek Tabakalı Filmlerin Verim Hesabı

Etkin madde içeren tek tabakalı filmlerin HPLC sistemine enjekte edilmesiyle elde edilen miktar tayini sonuçları ve formüle ilave edilen pratik etkin madde miktarları üzerinden %verim hesaplanmıştır.

3.2.6.10. Tek Tabakalı Filmlerden *in vitro* Etkin Madde Salımı

Elde edilen etkin madde içeren tek tabakalı filmlerden *in vitro* etkin madde salımlarının değerlendirilmesi amacıyla kullanılan yöntem ve ortama ailt bilgiler aşağıda verilen tablo ile özetlenmiştir. Belirlenen zaman aralıklarında çekilen numunelerin “3.2.2. Etkin Madde Miktar Tayini Analiz Yöntemleri” bölümünde belirtilen parametreler ile analizleri gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.11. *in vitro* EM salımının değerlendirilmesi için kullanılan yönteme ait bilgiler

Cihaz parametreleri	Uygulanan değerler
Kullanılan yöntem	USP Aparat 5 (Paddle over disk)
Çözünme ortamı	Saf su
Çözünme ortamı sıcaklığı	32±3 °C
Pedal dönü hızı	50 rpm
Numune alma aralıkları	0, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24. saatler
Kullanılan membran	Önceden ıslatılmış tüp şekilli 50 kD diyaliz membranı
Çözünme ortamı hacmi	200 mL
Numune hacmi	1 mL

3.2.7. *in vivo* Çalışmalar İçin Deney Protokolü⁽⁵⁾

in vivo deneysel çalışmalar “Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu”nun “2018/239” tarih ve numaralı kararına istinaden “20.09.2018” tarihinde onanmış olan etik kurul kararı ile “BEDEHAL”de gerçekleştirilmiştir. İlgili deney protokolü aşağıda paylaşılmaktadır.

Çalışmalar sırasında anlamlı deneysel sonuçların elde edilebilmesi için 3 asil, 1 yedek denekten oluşan 4 bireylik gruplar oluşturulmuştur. Bu gruplar için aşağıda verilen uygulamalar gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda denek olarak en az 350 g ağırlığa sahip, 12-16 haftalık erkek Wistar albino sıçanlar kullanılmıştır.

Grup A: Kullanılan analitik yöntemin kesinliğinin sağlanması için oluşturulan grup

Grup B: IV uygulama için oluşturulan gruplar

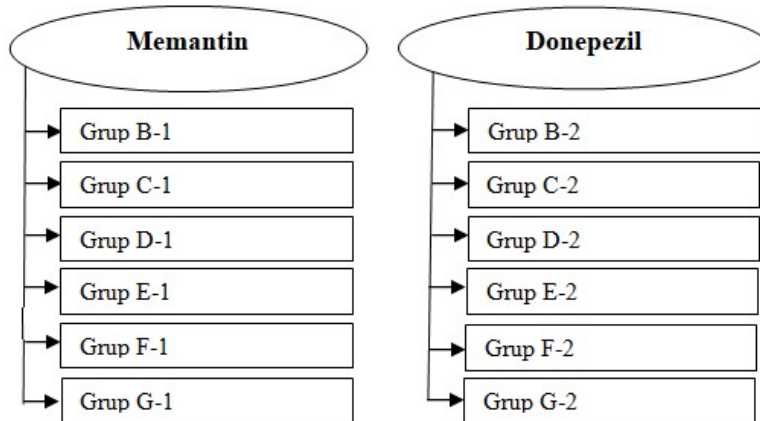
Grup C: Pasif difüzyon uygulaması için oluşturulan gruplar

Grup D: Düşük konsantrasyonda etkin madde içeren tek tabakalı filmlere 0.1 mA/cm² iyontoforez uygulaması için oluşturulan gruplar

Grup E: Düşük konsantrasyonda etkin madde içeren tek tabakalı filmlere 0.5 mA/cm² iyontoforez uygulaması için oluşturulan gruplar

Grup F: Yüksek konsantrasyonda etkin madde içeren tek tabakalı filmlere 0.1 mA/cm² iyontoforez uygulaması için oluşturulan gruplar

Grup G: Yüksek konsantrasyonda etkin madde içeren tek tabakalı filmlere 0.5 mA/cm² iyontoforez uygulaması için oluşturulan gruplar



Şekil 3.3. *in vivo* uygulamaların şematik gösterimi

3.2.7.1. Analitik Yöntemin Kesinliği İçin Yapılan Çalışmalar

Prosedür:

- Grup A bireylerinden toplanan kan örnekleri birleştirilmiştir.
- Toplanan kan örnekleri direkt olarak ilgili analitik yöntemde sisteme enjekte edilmiş ve standart çözeltisi ile girişim olup olmadığı tespit edilmiştir.
- Toplanan kan örnekleri etkin maddenin sudaki çözeltisine, etkin madde içeren plaseboya ve plaseboya spike edilerek standart çözeltisi ve kör çözeltilerine karşı değerlendirilmiş ve girişim olup olmadığı tespit edilmiştir.

3.2.7.2. IV Uygulama

Etkin maddelerin *in vivo* davranışlarının izlenmesi ve transdermal yolla yapılan uygulama ile elde edilen verilerle karşılaştırma yapılabilmesi amacıyla etkin maddeler IV yolla su bazlı çözeltileri halinde uygulanmıştır. Çözeltilerin hazırlanışı sırasında “3.2.6. Etkin Madde İçeren Formüller Üzerinde Yapılan Çalışmalar” adlı başlık altında yapılan hesaplamalarda bulunan etkin madde miktarlarına göre tartım yapılmıştır.

20 mg/mL Etkin Madde İçeren Çözeltilerin Hazırlanışı:

211,74 mg Donepezil HCl ve 201,54 mg Memantin HCl, 10 mL’lik bir balon jöjeye tartılır. 6 mL %0.9 a/h sodyum klorür çözeltisi ilave edilerek çözündürülür. Hacmine %0.9 a/h sodyum klorür çözeltisi ile tamamlanır. Elde edilen çözelti %70 EtOH ile yıkanmış ve kuru hava geçirilmiş amber renkli flakonlara 0,22 µm por çaplı naylon filtrelerden süzülerek aktarılır. Flakon ağzı tıpa ile kapatılır ve alüminyum çember ile sızdırmaz hale getirilir.

Prosedür:

- Grup B-1 ve B-2 bireylerine 20 mg/mL konsantrasyona sahip Donepezil HCl ve Memantin HCl çözeltilerinden 0,5 mL IV yolla uygulanmış, belirlenmiş zaman aralıklarında (0, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24. saatler) kan örnekleri alınmıştır.
- Alınan kan örnekleri edetat disodyum içeren tüpler içerisinde 2-8 °C’de en fazla 24 saate kadar muhafaza edilerek analize alınmıştır.
- Bireyler deney sonunda ötenazi ile feda edilmiştir.

3.2.7.3. Pasif Difüzyon Uygulaması

Prosedür:

- Uygulama öncesi Grup C-1 ve C-2 bireylerinin sırt derileri tüylerinden arındırılmıştır.
- Prosedür öncesi uygulama alanının fotoğrafı çekilmiştir. Prosedür sonrası uygulama alanının tekrar fotoğrafı çekilerek görsel değerlendirme yapılmıştır.
- Uygulama için $2,55 \text{ cm}^2$ yüzey alanına sahip standart tek tabakalı filmlere 10 mg etkin madde yüklenmiştir.
- Bireyler izofluran ile kısa süreli anestezi altına alınmıştır.
- Tek tabakalı filmler deneğin tüysüz sırt derisi ile 24 saat süre ile temasta olacak şekilde yerleştirilmiş ve önceden belirlenmiş zaman aralıklarında (0, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24. saatler) analizler için yeter miktarda (0,5 mL) kan örnekleri alınmıştır.
- Uygulama sırasında tek tabakalı filmlerin bulunduğu alan ortopedik fiksator bant ile sabitlenmiş ve denek tarafından verilebilecek olası hasar önlenmiştir.
- Alınan kan örnekleri edetat disodyum içeren tüpler içerisinde $2-8^\circ\text{C}$ 'de en fazla 24 saate kadar muhafaza edilerek analize alınmıştır.
- Uygulama sonunda deneğin derisi üzerinde kalan bakiye alınarak analiz edilmiştir.
- Bireyler deney sonunda ötenazi ile feda edilmiştir.

3.2.7.4. İyontoforez Uygulaması

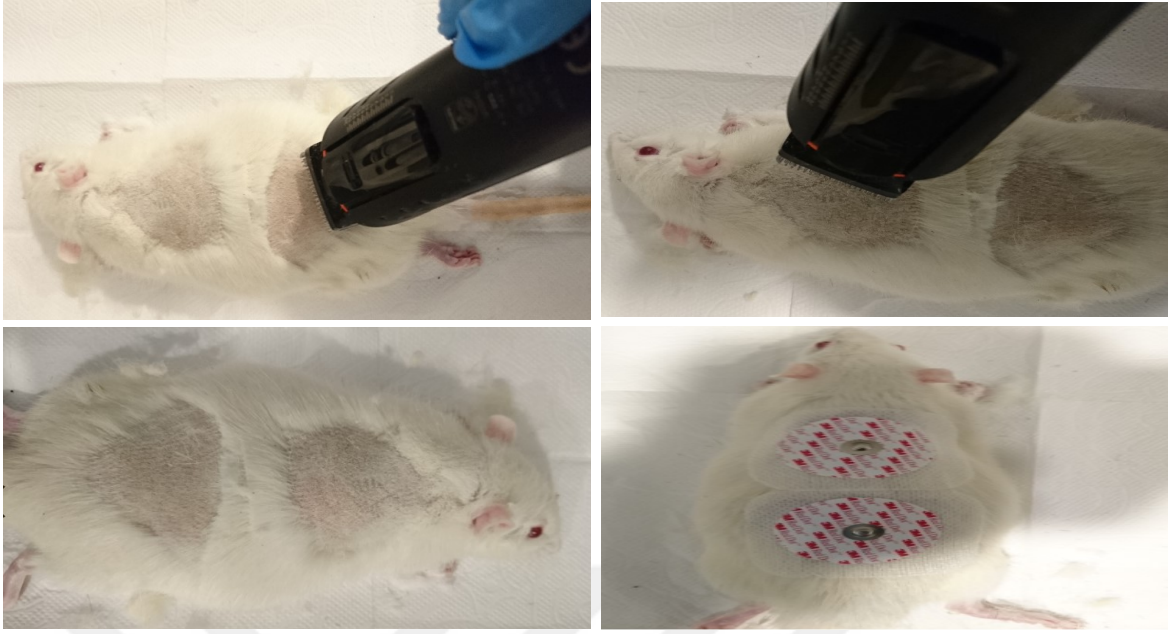
Prosedür:

- Uygulama öncesi tüm grup bireylerinin sırt derileri tüylerinden arındırılmıştır.
- Prosedür öncesi uygulama alanının fotoğrafı çekilmiştir. Prosedür sonrası uygulama alanının tekrar fotoğrafı çekilerek görsel değerlendirme yapılmıştır.
- Uygulama için $2,55 \text{ cm}^2$ yüzey alanına sahip standart tek tabakalı filmlere 2 mg ve 10 mg etkin madde yüklenmiştir.
- Bireyler ketamin (75 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) intra-peritoneal (karın içi) enjeksiyonuyla anestezi altına alınmıştır.
- İyotoforez uygulaması için Ag/AgCl elektrotlar kullanılmıştır. Anodal iyontoforez için anot etkin madde içeren tek tabakalı film üzerine yerleştirilmiş ve katot ise direkt olarak deneğin tıraşlı derisi üzerine yerleştirilmiştir.
- Grup D-1 ve D-2'ye düşük etkin madde içeren tek tabakalı filmler uygulanmış ve 1 saat süreyle $0,1 \text{ mA/cm}^2$ akım şiddetine maruz bırakılmıştır. İyontoforez uygulamasının ardından önceden belirlenmiş zaman aralıklarında (0, 0,5, 1, 2, 4, 8, 24. saatler) analizler için yeter miktarda (0,5 mL) kan örnekleri alınmıştır.

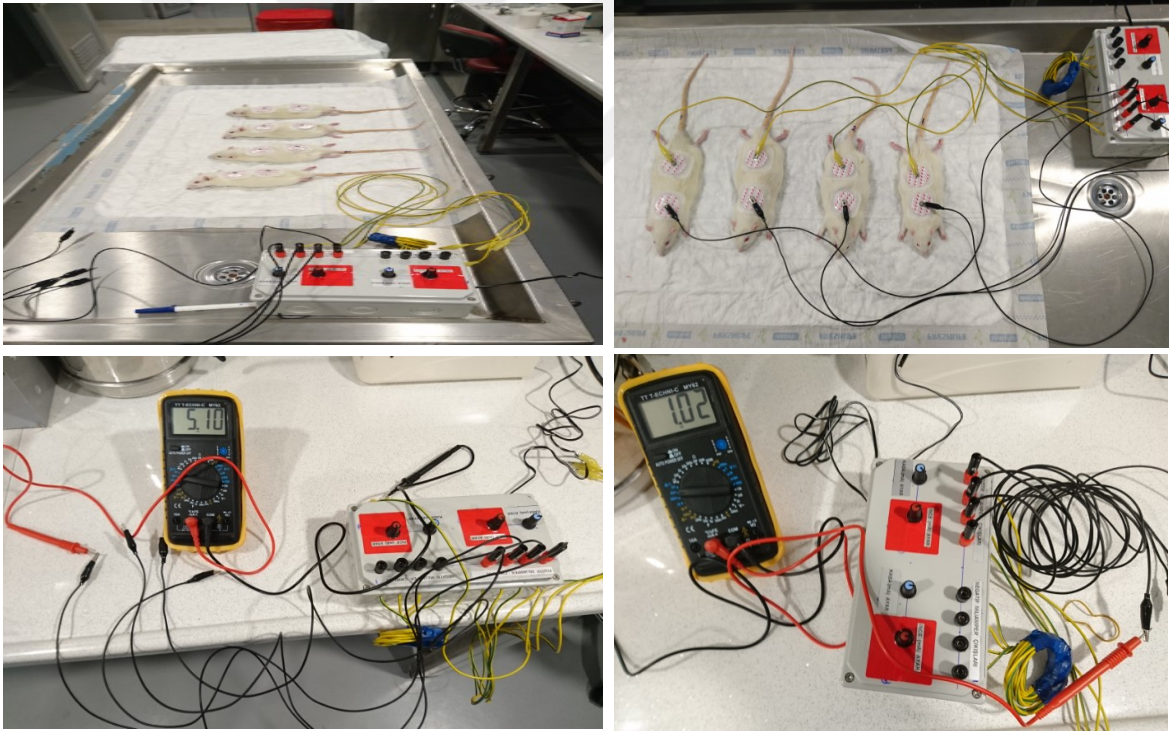
- g. Grup E-1 ve E-2'ye düşük etkin madde içeren tek tabakalı filmler uygulanmış ve 1 saat süreyle 0,5 mA/cm² akım şiddetine maruz bırakılmıştır. İyontoforez uygulamasının ardından önceden belirlenmiş zaman aralıklarında analizler için yeter miktarda (0,5 mL) kan örnekleri alınmıştır.
- h. Grup F-1 ve F-2'ye yüksek etkin madde içeren tek tabakalı filmler uygulanmış ve 1 saat süreyle 0,1 mA/cm² akım şiddetine maruz bırakılmıştır. İyontoforez uygulamasının ardından önceden belirlenmiş zaman aralıklarında analizler için yeter miktarda (0,5 mL) kan örnekleri alınmıştır.
- i. Grup G-1 ve G-2'ye yüksek etkin madde içeren tek tabakalı filmler uygulanmış ve 1 saat süreyle 0,5 mA/cm² akım şiddetine maruz bırakılmıştır. İyontoforez uygulamasının ardından önceden belirlenmiş zaman aralıklarında analizler için yeter miktarda (0,5 mL) kan örnekleri alınmıştır.
- j. Uygulama sırasında tek tabakalı filmlerin bulunduğu alan 1 saat iyontoforez uygulamasının ardından ortopedik fiksator bant ile sabitlenmiş ve denek tarafından verilebilecek olası hasar önlenmiştir.
- k. Alınan kan örnekleri edetat disodyum içeren tüpler içerisinde 2-8 °C'de en fazla 24 saate kadar muhafaza edilerek analize alınmıştır.
- l. Uygulama sonunda deneğin derisi üzerinde kalan bakiye alınarak analiz edilmiştir.
- m. Bireyler deney sonunda ötenazi ile feda edilmiştir.

Tablo 3.12. Her bir etkin madde için *in vivo* uygulamada kullanılan birey sayısı

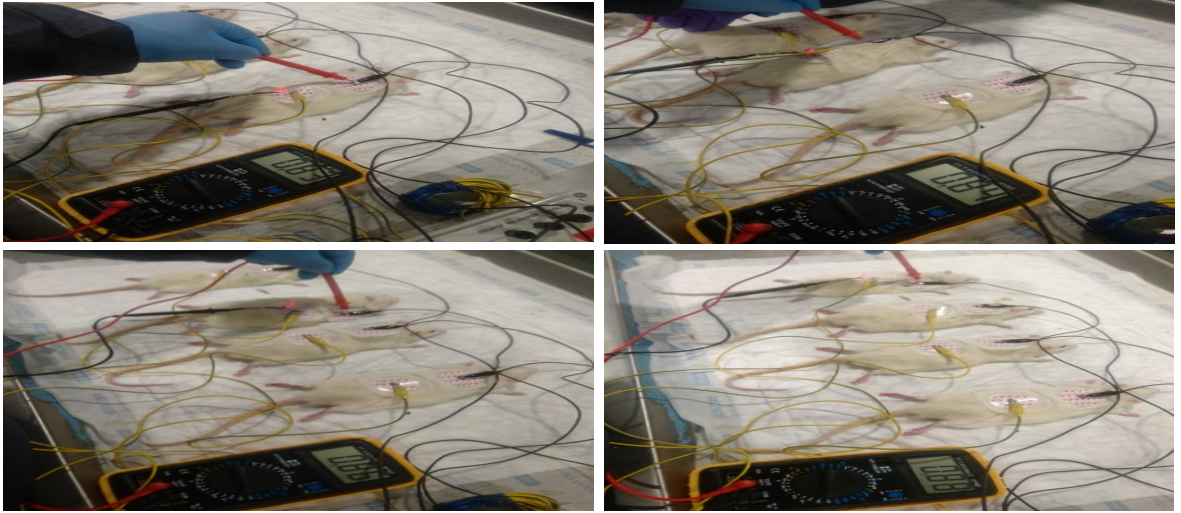
Uygulama tipi	Açıklama	Deney Sayısı
IV	20mg/mL konsantrasyondaki çözeltiden 0,5mL	4
Pasif difüzyon	10 mg/film	4
0,1 mA/cm ²	2 mg/film ve 10 mg/film	8 (4+4)
0,5 mA/cm ²	2 mg/film ve 10 mg/film	8 (4+4)



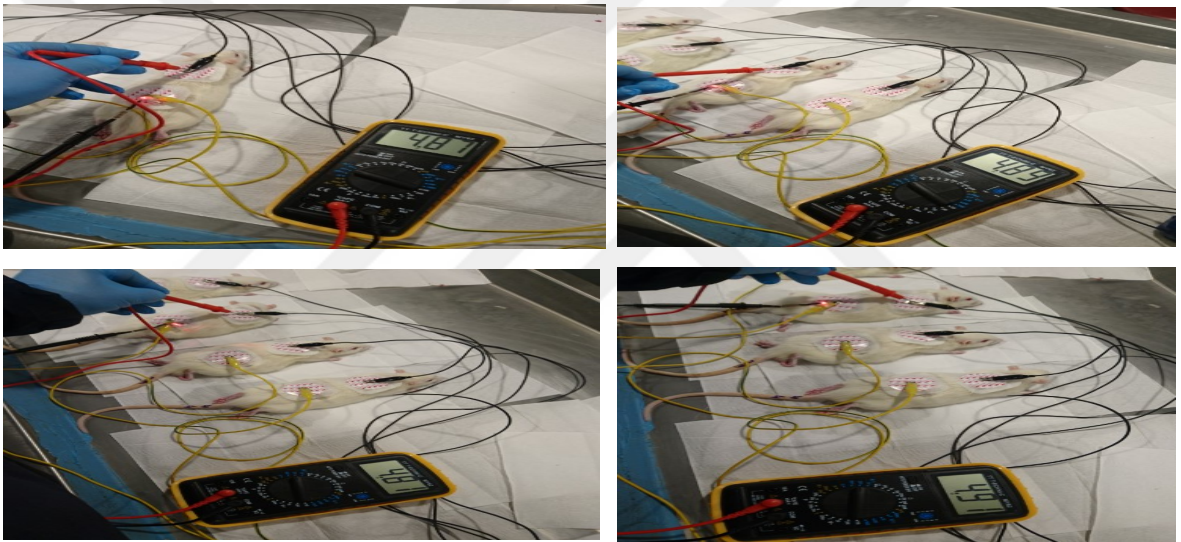
Şekil 3.4. Deneklerin sırt derilerinin tıraşlanması ve yamaların yapıştırılması



Şekil 3.5. Deneklere paralel akım bağlanması



Şekil 3.6. Deneklere 0,1 mA/cm² paralel akım uygulanması



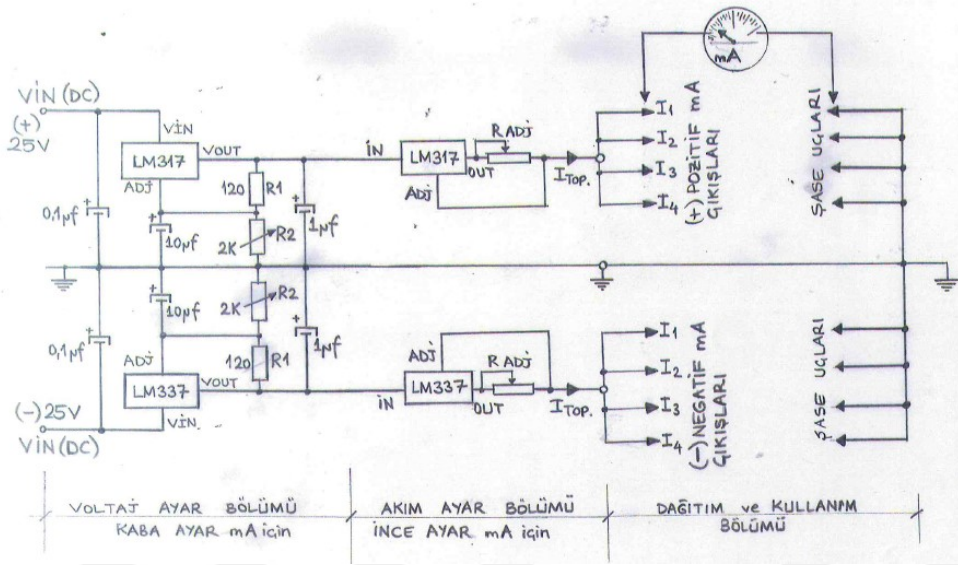
Şekil 3.7. Deneklere 0,5 mA/cm² paralel akım uygulanması



Şekil 3.8. 1 saat iyontoforez sonrası veya direkt olarak pasif difüzyon uygulama

3.2.7.5. Akım Değerlerinin Teorik Olarak Hesaplanması

Uygulama amacı ile kalıplardan kesilerek alınan sabit alanlı tek tabakalı filmler $2,55 \text{ cm}^2$ 'lik yüzey alanına sahiptir. Dört denekten oluşan gruplara eş zamanlı olarak $0,1 \text{ mA/cm}^2$ ve $0,5 \text{ mA/cm}^2$ akım uygulayabilmek için birbirine paralel olarak bağlı dört anot ve bunlara karşılık gelen şase uçları kullanılmıştır. Her paralel bölmede teorik olarak eş direnç olduğu farz edilerek akımın eşit olarak dağıldığı düşünülmüştür. Bu sistemde giren akım şiddeti paralel bağlı akımların toplamına eşit olacaktır.



Şekil 3.9. Özel yapım iyontoforez cihazına ait devre şeması

$$\dot{I}_T = \dot{I}_1 + \dot{I}_2 + \dot{I}_3 + \dot{I}_4$$

$$\mathbf{0,1 \text{ mA/cm}^2 \text{ akım uygulaması: } \dot{I}_1 = \dot{I}_2 = \dot{I}_3 = \dot{I}_4 = (0,1 \times 2,55) = 0,255 \text{ mA/cm}^2}$$

$$\dot{I}_T = (\dot{I}_1 + \dot{I}_2 + \dot{I}_3 + \dot{I}_4) = (0,255 + 0,255 + 0,255 + 0,255) = 1,02 \text{ mA/cm}^2$$

$$\mathbf{0,5 \text{ mA/cm}^2 \text{ akım uygulaması: } \dot{I}_1 = \dot{I}_2 = \dot{I}_3 = \dot{I}_4 = (0,5 \times 2,55) = 1,275 \text{ mA/cm}^2}$$

$$\dot{I}_T = (\dot{I}_1 + \dot{I}_2 + \dot{I}_3 + \dot{I}_4) = (1,275 + 1,275 + 1,275 + 1,275) = 5,10 \text{ mA/cm}^2$$

3.2.7.6. Analiz İçin Numune Hazırlanması (*in vivo*)

A. Donepezil HCl

Kan Örneklerinin Hazırlanması:

Belirlenen zaman noktalarında deneklerden alınan 0,5 mL kan, 5 dk süreyle 10.000 rpm’de santrifüj edilmiştir. 5 mL hacimli balon jojelere üst fazın 200 µL’si mikropipet yardımıyla alınmış ve son hacmine tamamlanmıştır. Donepezil için “3.2.2. Etkin Madde Miktar Tayini Analiz Yöntemleri” bölümünde belirtilen parametreler ile analizleri gerçekleştirilmiştir.

Film Örneklerinin Hazırlanması:

Deney sonunda deneklerin sırt bölgesine yerleştirilen tek tabakalı filmler alınarak 10 mg etkin madde içeren filmler 1:100 ve 2 mg etkin madde içeren filmler 1:20 seyreltilerek, Donepezil için “3.2.2. Etkin Madde Miktar Tayini Analiz Yöntemleri” bölümünde belirtilen parametreler ile analizleri gerçekleştirilmiştir.

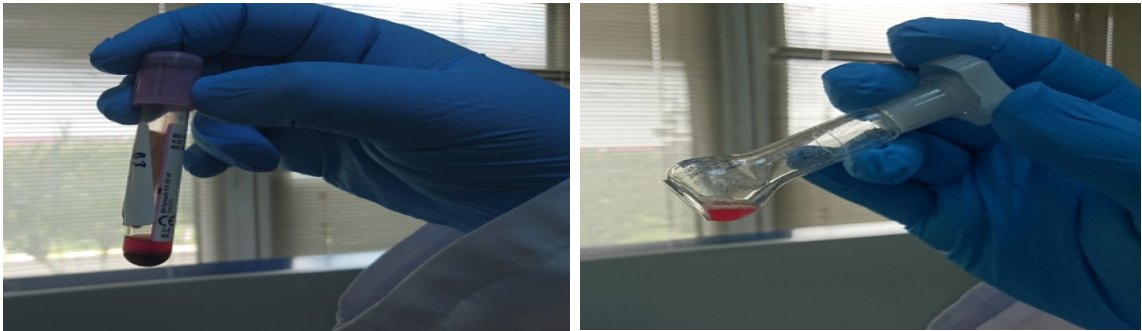
B. Memantin HCl

Kan Örneklerinin Hazırlanması:

Belirlenen zaman noktalarında deneklerden alınan 0,5 mL kan, 5 dk süreyle 10.000 rpm’de santrifüj edilmiştir. 5 mL hacimli balon jojelere üst fazın 200 µL’si mikropipet yardımıyla alınmış ve son hacmine tamamlanmıştır. Memantin için “3.2.2. Etkin Madde Miktar Tayini Analiz Yöntemleri” bölümünde belirtilen parametreler ile analizleri gerçekleştirilmiştir.

Film Örneklerinin Hazırlanması:

Deney sonunda deneklerin sırt bölgesine yerleştirilen tek tabakalı filmler alınarak 10 mg etkin madde içeren filmler 1:500 ve 2 mg etkin madde içeren filmler 1:100 seyreltilerek, Memantin için “3.2.2. Etkin Madde Miktar Tayini Analiz Yöntemleri” bölümünde belirtilen parametreler ile analizleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.10. Miktar tayini analizleri için numune hazırlanması (*in vivo*)

3.2.8. *in vivo* Testler

3.2.8.1. İritasyon Testi

in vivo deneysel çalışmaların başlangıcında ve sonunda uygulamanın yapıldığı bölgelerin fotoğrafları çekilerek deri üzerindeki iritasyon görsel olarak değerlendirilmiştir.

3.2.8.2. Etkin Madde Salım Kinetiği⁽⁶⁾

in vivo deneysel çalışmalar sonunda etkin madde içeren tek tabakalı filmlerden belirlenmiş zaman noktalarında elde edilen kümülatif etkin madde salım verileri aşağıda belirtilen matematiksel modellere göre değerlendirilmiştir. Elde edilen kinetik verilere göre etkin maddelerin hangi matematiksel modele uygun salım gerçekleştiği belirlenmiştir.

0 derece kinetik: Etkin madde salımının etkin madde konsantrasyonundan bağımsız ve sabit olduğu hal.

1. derece kinetik: Etkin madde salımının, etkin madde konsantrasyonuna bağımlı olduğu hal.

Higuchi modeli: Suda çözünür özellikteki etkin maddelerin suda çözünmez özellikteki matrisden Fick yasalarında belirtildiği gibi difüzyon yoluyla ve zamanın karekökü ile bağlantılı olduğu hal.

Hixson-Crowell küp kök modeli: Bir sistemden etkin madde salımının yüzey alanına veya partikül çapına veya sisteme bağlı olduğunu ve difüzyon mekanizması içermediğini belirtir.

Korsmeyer-Peppas modeli: Salınan etkin madde fraksiyonunun zamana bağlı olduğunu belirtir. Bu model genellikle polimerik dozaj formlarında, salım mekanizmasının çok iyi bilinmediği veya birden fazla salım fenomeni olduğu durumlarda tercih edilir.

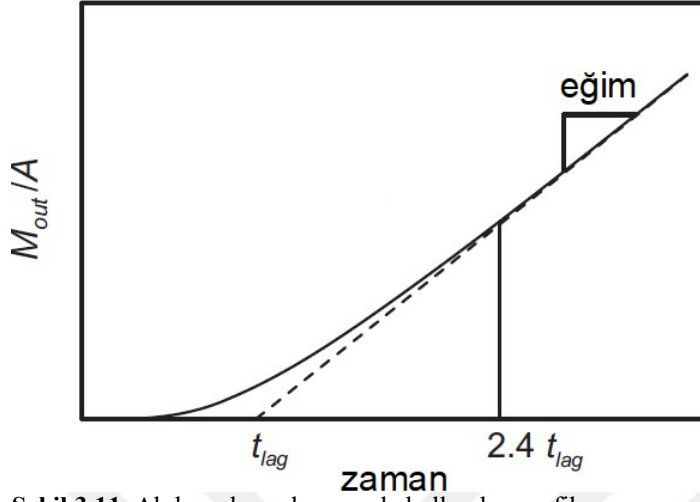
3.2.8.3. Bakiye Etkin Madde Miktarı

in vivo deneysel çalışmaların sonunda deneğin derisi üzerinde kalan bakiye alınarak etkin madde miktar tayini analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlardan deri üzerinde kalan etkin madde miktarları ve dolayısı ile deri üzerinde geçiş için hazır bulunan etkin madde miktarları hesaplanmıştır.

3.2.8.4. Akıların Hesaplanması

in vivo deneysel çalışmaların sonunda deneklerden belirlenmiş zaman aralıklarında alınan kan örnekleri analiz edilerek içerdikleri etkin madde miktarları belirlenmiş ve elde edilen kümülatif etkin madde miktarları zamana karşı grafiğe geçirilmiştir. Elde edilen grafikte doğrusal kısmı oluşturan noktalar ile “ $y=mx+n$ ” şeklinde formülize edilebilecek bir doğru

denklemleri oluşturulur. Bu doğru denkleminde eğime karşılık gelen “m” değeri ile akıllar hesaplanmış ve farklı *in vivo* uygulama prosedürleri için değerlendirilmiştir.



Şekil 3.11. Akılların hesaplamasında kullanılan grafik

3.2.8.5. *in vitro-in vivo* Korelasyonun Hesaplanması (IVIVC) ⁽²¹⁾

Aynı zaman noktalarında örnekleme yapıldığı selofan membran kullanıldığı *in vitro* veriler ile *in vivo* veriler arasındaki korelasyon incelenmiştir. Korelasyonun hesaplanması için eş zaman noktalarında alınan *in vitro* örneklere ait miktar tayini sonuçları “x eksenine” ve *in vivo* örneklere ait miktar tayini sonuçları da “y eksenine” geçirilerek korelasyon katsayıları hesaplanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Etkin Maddelerin Çözünürlük Özellikleri

4.1.1. Donepezil HCl

Donepezil HCl, $C_{24}H_{29}NO_3 \cdot HCl$ kapalı formülüne sahip, molekül ağırlığı 415,95 Da olan, sahip olduğu kiral merkez nedeniyle izomerizm gösteren ve ilgili üretici tarafından rasemik karışım halinde ve polimorfik form-1 olarak tedarik edilen bir etkin maddedir.

Tablo 4.1. Donepezil HCl'ün sudaki çözünürlüğü

pH	Çözünürlük (g/10mL, 25 °C)
1,0	0,40
2,0	0,78
3,0	0,80
4,0	0,90
5,0	1,80
6,0	1,50
7,0	1,50
8,0	1,50

Tablo 4.2. Donepezil HCl'ün diğer çözücülerdeki çözünürlüğü

Çözücü	Çözünürlük (g/10mL, 25 °C)
Kloroform	2,10
Su	1,20
Metilen diklorür	4,45
Asetonitril	0,20
Etil asetat	Pratik olarak çözünmez

Tablo 4.3. Donepezil HCl deriden pasif difüzyon için sahip olduğu özellikler

Parametre	Sahip Olunan Özellikler
Doz	2 mg/film ve 10 mg/film
Yarılanma ömrü	≈70 saat
Molekül ağırlığı	415,95 Da
Partitasyon katsayısı (Log P)	2,3 (<i>oktanol-su</i>)
Oral biyoyararlanım	Yüksek
Terapötik indeks	3 mg - 23 mg / Günlük doz: 10 mg veya 23 mg
Erime derecesi	412 °C
pH	5,2
pKa	8,90

4.1.2. Memantin HCl

Memantin HCl, $C_{12}H_{21}N.HCl$ kapalı formülüne sahip, molekül ağırlığı 215,77 Da olan, iki kiral merkeze sahip olmasına rağmen izomerizm göstermeyen ve ilgili üretici tarafından polimorfik form-1 olarak tedarik edilen bir etkin maddedir.

Tablo 4.4. Memantin HCl'ün sudaki çözünürlüğü

pH	Çözünürlük (g/10mL, 25 °C)
1,2	35,0
6,0	11,0
8,0	43,0

Tablo 4.5. Memantin HCl'ün diğer çözücülerdeki çözünürlüğü

pH	Çözünürlük (g/10mL, 25 °C)
Etanol	94,0
Etil asetat	Pratik olarak çözünmez
Su	52,0
Metilen diklorür	2,0
Kloroform	35,0
Aseton	Pratik olarak çözünmez
Dimetil formamid	20,0
Dimetil sülfoksit	120,0

Tablo 4.6. Memantin HCl deriden pasif difüzyon için sahip olduğu özellikler

Parametre	Sahip Olunan Özellikler
Doz	2 mg/film ve 10 mg/film
Yarılanma ömrü	60 ila 80 saat
Molekül ağırlığı	< 215,77 Da
Partisyon katsayısı (Log P)	3,28 (oktanol-su)
Oral biyoyararlanım	Yüksek
Terapötik indeks	10 mg - 40 mg / Günlük doz: 20 mg
Erime derecesi	292 °C
pH	5,9 (sudaki %1 a/h çözeltisi)
pKa	9,2

4.2. Etkin Maddelerin Analiz Sonuçları

4.2.1. Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

4.2.1.1. 1000432 Seri Numaralı Donepezil HCl'e Ait Analiz Sonuçları

Etkin madde : Donepezil HCl
 Seri numarası : 1000432
 Üretim tarihi : 03.2016
 Re-test tarihi : 03.2020

Tablo 4.7. Çalışmalarda kullanılan Donepezil HCl'e ait analiz sonuçları

Test	Spesifikasyon	Sonuç
Görünüş	Beyazımsı ila krem renkte toz	Beyazımsı toz
Tanıma		
-IR absorpsiyonu	KBr ile hazırlanan numune ve Donepezil HCl standardına ait absorpsiyon spektrumları benzerdir	Uygun
-HPLC	Miktar tayini yönteminde numune ve standart alıkonma süreleri benzerdir	Uygun
Su içeriği	%4,5-6,5 a/a	%5,45
Miktar tayini	%98,5 a/a ila %101,0 a/a	%99,9

4.2.1.2. 1000137820 Seri Numaralı Memantin HCl'e Ait Analiz Sonuçları

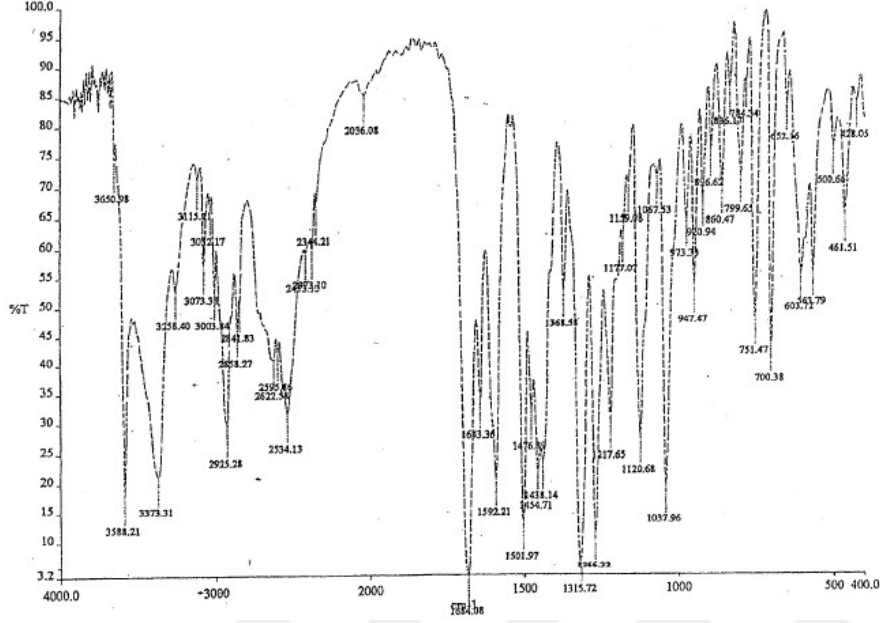
Etkin madde : Memantin HCl
 Seri numarası : 1000137820
 Üretim tarihi : 01.2014
 Re-test tarihi : 01.2019
 SKT tarihi : 02.2019

Tablo 4.8. Çalışmalarda kullanılan Memantin HCl'e ait analiz sonuçları

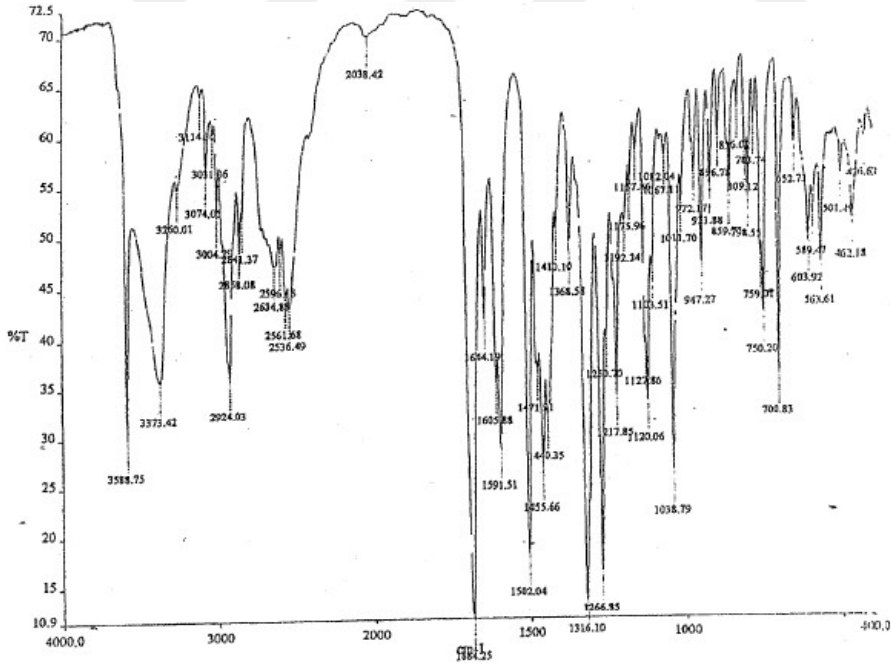
Test	Spesifikasyon	Sonuç
Görünüş	Beyazımsı ila krem renkte toz	Beyazımsı toz
Tanıma		
-IR absorpsiyonu	KBr ile hazırlanan numune ve Memantin HCl standardına ait absorpsiyon spektrumları benzerdir	Uygun
-HPLC	Miktar tayini yönteminde numune ve standart alıkonma süreleri benzerdir	Uygun
Su içeriği	En fazla %1,0 a/a	%0,66
Miktar tayini	%98,0-%102	%100,0

4.2.2. Etkin Maddelere Ait IR Spektrumları

Çalışmalarda kullanılan Donepezil HCl ve referans standarda ait IR spektrumları aşağıda paylaşılmıştır.

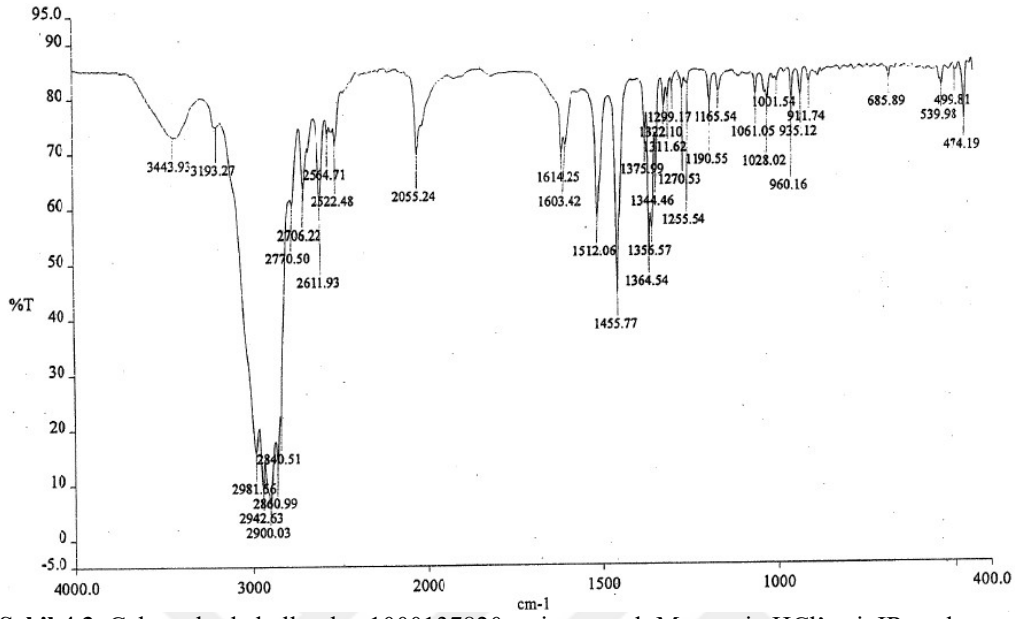


Şekil 4.1. Çalışmalarda kullanılan 1000432 seri numaralı Donepezil HCl'e ait IR spektrumu

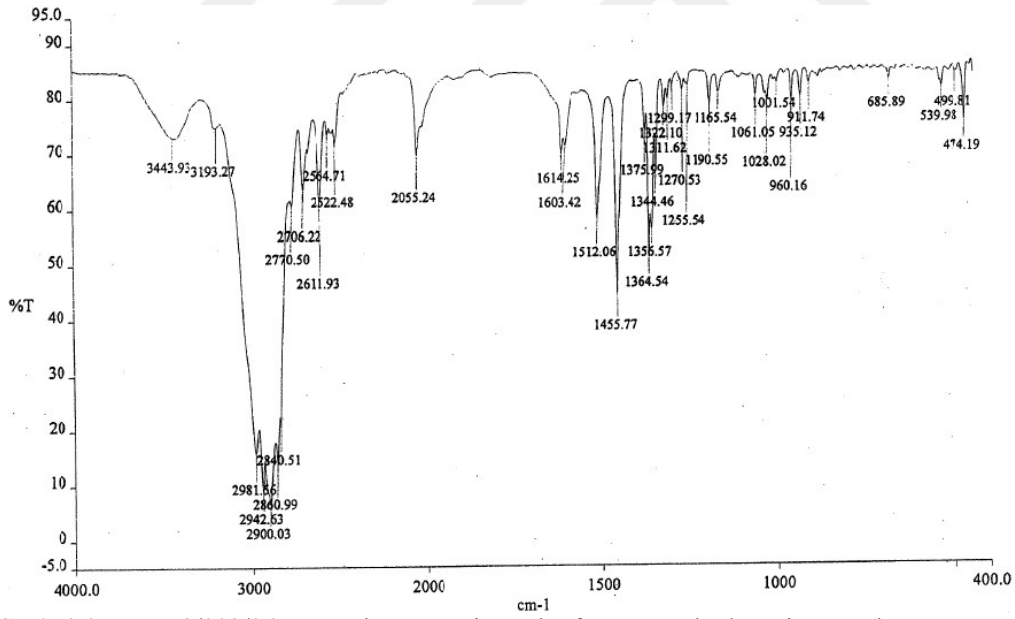


Şekil 4.2. DPZ/RS/001/RD/05 numaralı Donepezil HCl referans standardına ait IR spektrumu

Çalışmalarda kullanılan Memantin HCl ve referans standarda ait IR spektrumları aşağıda paylaşılmıştır.



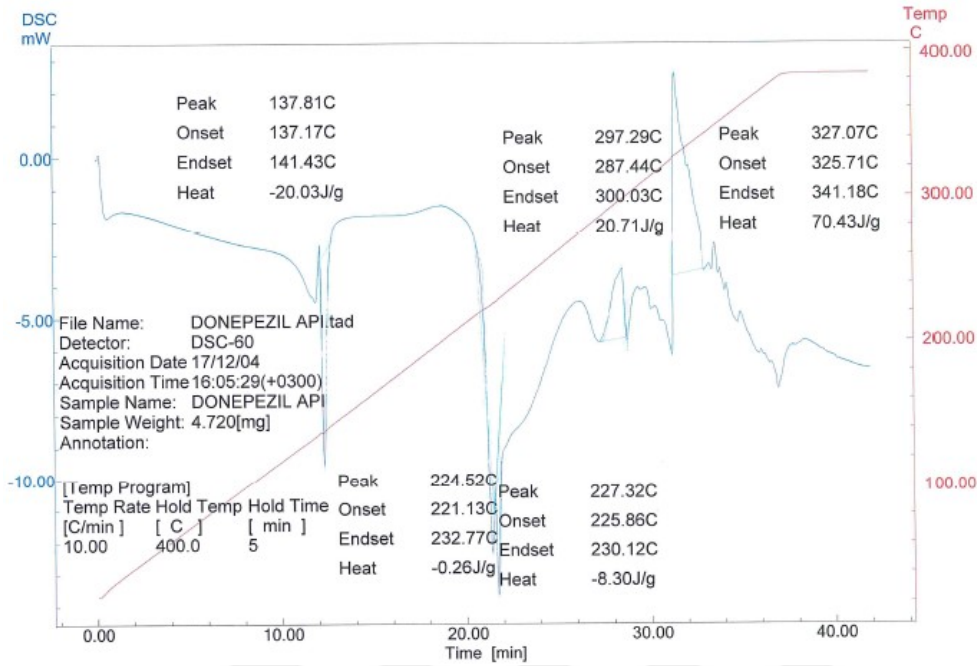
Şekil 4.3. Çalışmalarda kullanılan 1000137820 seri numaralı Memantin HCl'e ait IR spektrumu



Şekil 4.4. MMT-3/003/06 numaralı Memantin HCl referans standardına ait IR spektrumu

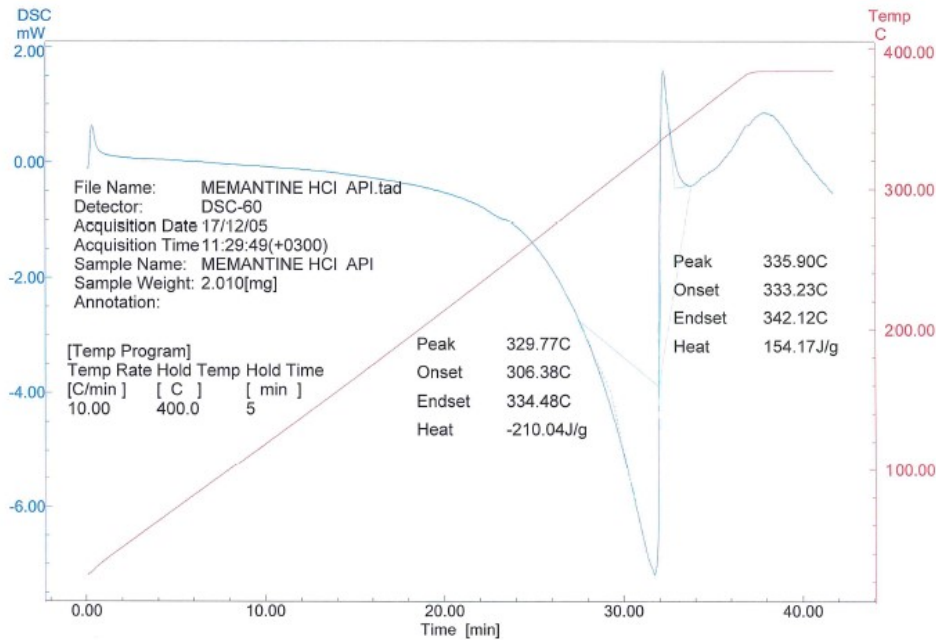
4.2.3. Etkin Maddelere Ait DSC Spektrumları

Çalışmalarda kullanılan Donepezil HCl'e ait DSC spektrumu aşağıda paylaşılmıştır.



Şekil 4.5. 1000432 seri numaralı Donepezil HCl etkin maddesine ait DSC spektrumu

Çalışmalarda kullanılan Memantin HCl'e ait DSC spektrumu aşağıda paylaşılmıştır.



Şekil 4.6. 1000137820 seri numaralı Memantin HCl etkin maddesine ait DSC spektrumu

4.3. Etkin Madde Miktar Tayini Analiz Yöntemleri

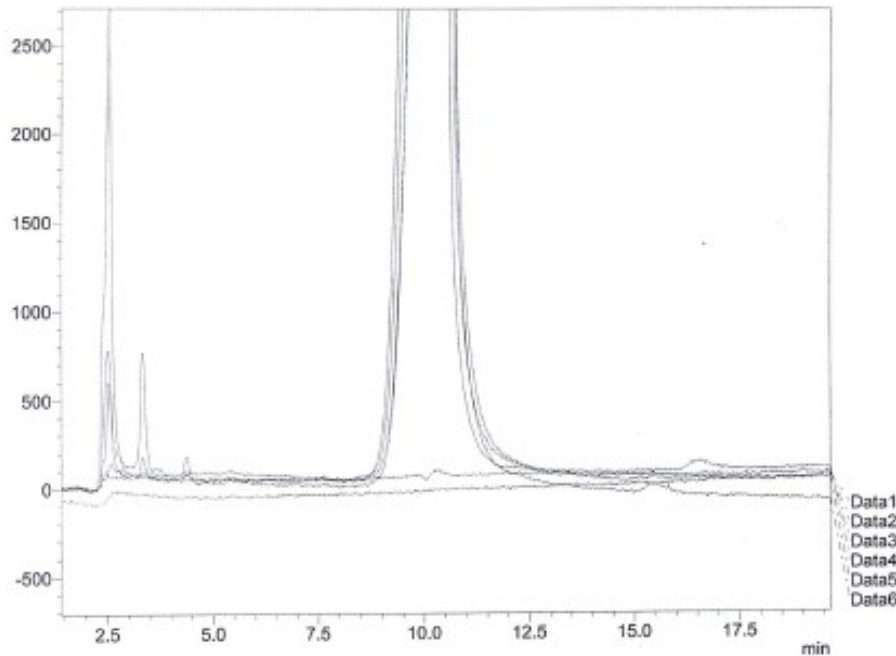
4.3.1. Donepezil HCl

Donepezil HCl için yapılan miktar tayini analiz yöntemi validasyonuna ilişkin sonuçlar aşağıda verilen tablo ile özetlenmiştir.

Tablo 4.9. Donepezil HCl miktar tayini analiz yöntemi validasyonu özet sonuçları

Parametre	Açıklama
Özgünlük-1	Donepezil HCl ile kullanılan çözücü arasında herhangi bir girişim gözlenmemiştir
Özgünlük-2	Deney hayvanlarından alınan kan numunesi, etkin madde içeren çözeltilere spike edildiğinde herhangi bir girişim gözlenmemiştir
Doğrusallık	%100 = 100 µg/mL y : 26.383.323,1634 x + 68.641,5497 r ² : 1,0000 Doğrusallık aralığı : %0.0013 - %2.500
LOQ ve LOD	LOD: %0,0013 (0.013 µg/mL) LOQ: %0.0040 (0.040 µg/mL)
Çalışma aralığı	%0.004-2500 (0.040 µg/mL – 2,5 mg/mL)
Kararlılık	Test çözeltisi 25 °C'de 48 saate kadar kararlıdır

Data1 : @C:\LabSolutions\Data\DP_HCNETKEN_KAN\HPT-RD-HPLC-05+PDA_1_UV.lcd
Data2 : @C:\LabSolutions\Data\DP_HCNETKEN_KAN\HPT-RD-HPLC-05+PDA_2_UV.lcd
Data3 : @C:\LabSolutions\Data\DP_HCNETKEN_KAN\HPT-RD-HPLC-05+PDA_3_UV.lcd
Data4 : @C:\LabSolutions\Data\DP_HCNETKEN_KAN\HPT-RD-HPLC-05+PDA_4_UV.lcd
Data5 : @C:\LabSolutions\Data\DP_HCNETKEN_KAN\HPT-RD-HPLC-05+PDA_5_UV.lcd
Data6 : @C:\LabSolutions\Data\DP_HCNETKEN_KAN\HPT-RD-HPLC-05+PDA_6_UV.lcd
uV



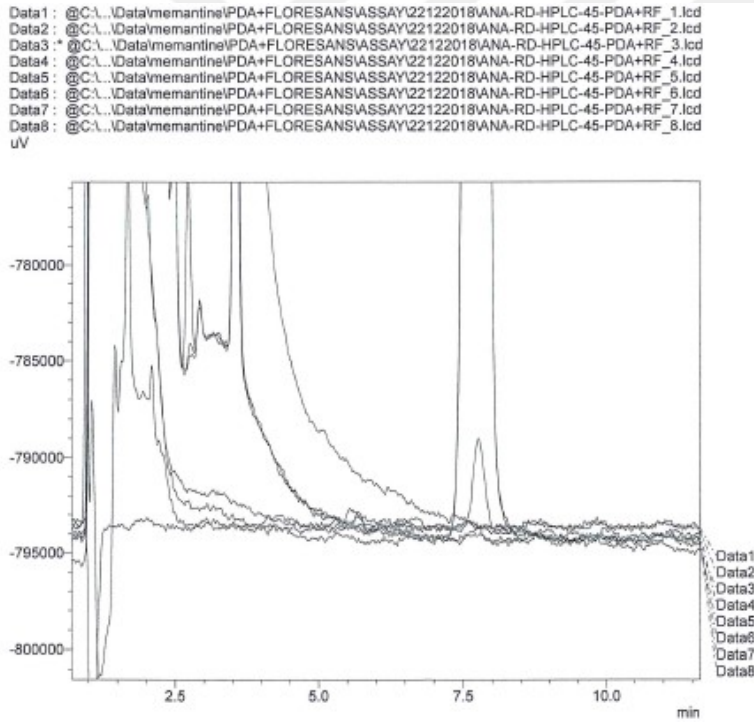
Şekil 4.7. Grup A kan numunesinin Donepezil HCl içeren çözeltilere spike edilmesiyle elde edilen pikler

4.3.2. Memantin HCl

Memantin HCl için yapılan miktar tayini analiz yöntemi validasyonuna ilişkin sonuçlar aşağıda verilen tablo ile özetlenmiştir.

Tablo 4.10. Memantin HCl miktar tayini analiz yöntemi validasyonu özet sonuçları

Parametre	Açıklama
Özgünlük-1	Memantin HCl ile kullanılan çözücü arasında herhangi bir girişim gözlenmemiştir.
Özgünlük-2	Deney hayvanlarından alınan kan numunesi, etkin madde içeren çözeltilere spike edildiğinde herhangi bir girişim gözlenmemiştir.
Doğrusallık	%100 = 15 µg/mL $y : 331.261.342,4461 x + 53.795,1666$ $r^2 : 0,9994$ Doğrusallık aralığı : %0.01 - %200
LOQ ve LOD	LOD: %0,0012 (0.059 µg/mL) LOQ: %0.0036 (0.181 µg/mL)
Çalışma aralığı	%0.01 - %200 (0.059 µg/mL – 0,03 mg/mL)
Kararlılık	Test çözeltisi 25 °C’de 32 saate kadar kararlıdır



Şekil 4.8. Grup A kan numunesinin Memantin HCl içeren çözeltilere spike edilmesiyle elde edilen pikler

4.4. Geçimlilik

4.4.1. Bulk Çözeltileri Halinde Geçimlilik

Etkin maddelerin, bulk çözeltileri halinde oda sıcaklığında kararlılıkları aşağıda verilen tablolarda verilmiştir.

Tablo 4.11. Donepezil HCl'ün D12 kodlu plasebo çözeltisi içerisindeki kararlılığı

Başlangıç	T=4. sa	T=8. sa	T=12. sa	T=16. sa	T=20. sa	T=24. sa	T=36. sa
3.427.823	3.423.557	3.412.604	3.405.688	3.404.046	3.412.241	3.406.591	3.389.365
%100	%99,88	%99,56	%99,35	%99,31	%99,55	%99,38	%98,88

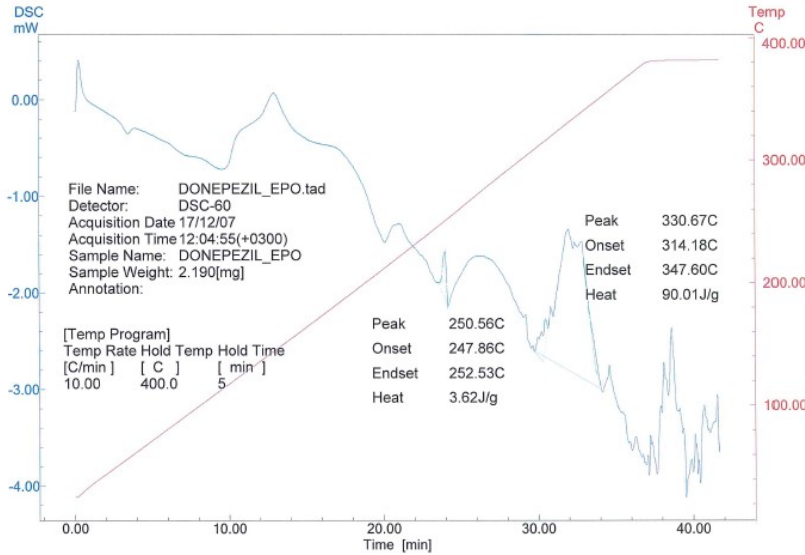
Tablo 4.12. Memantin HCl'ün D12 kodlu plasebo çözeltisi içerisindeki kararlılığı

Başlangıç	T=4. sa	T=8. sa	T=12. sa	T=16. sa	T=20. sa	T=24. sa	T=36. sa
5.232.860	5.217.570	5.230.606	5.229.981	5.359.560	5.259.685	5.266.608	5.297.788
%100	%99,71	%99,96	%99,94	102,42	%100,51	%100,64	%101,24

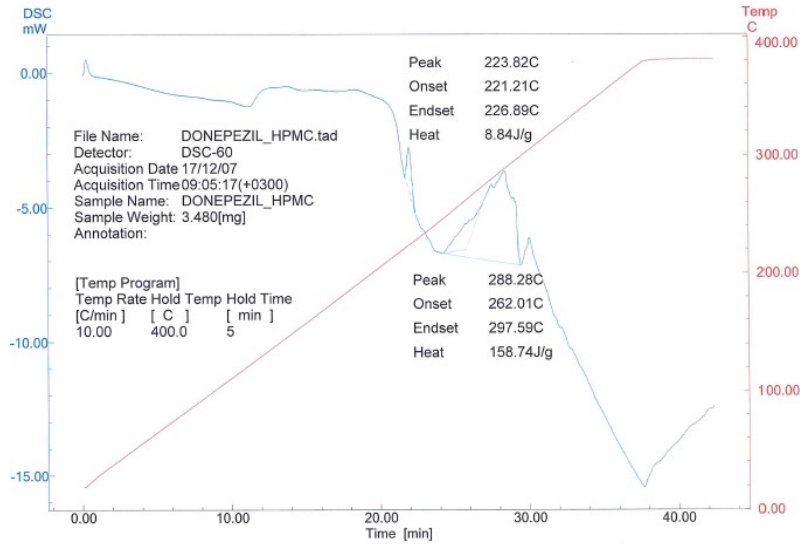
4.4.2. Tek Tabakalı Filmleri Halinde Geçimlilik

4.4.2.1. Donepezil HCl

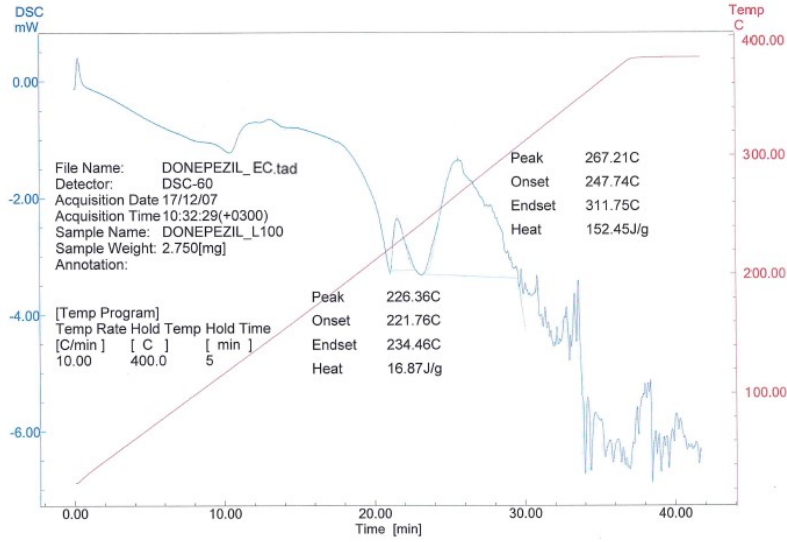
Donepezil HCl ile EPO, HPMC, EC'nin 1:1 a/a fiziksel karışımları ve Donepezil HCl yüklenmiş D12 kodlu plasebo ile elde edilen tek tabakalı filme ait DSC spektrumları aşağıda paylaşılmıştır.



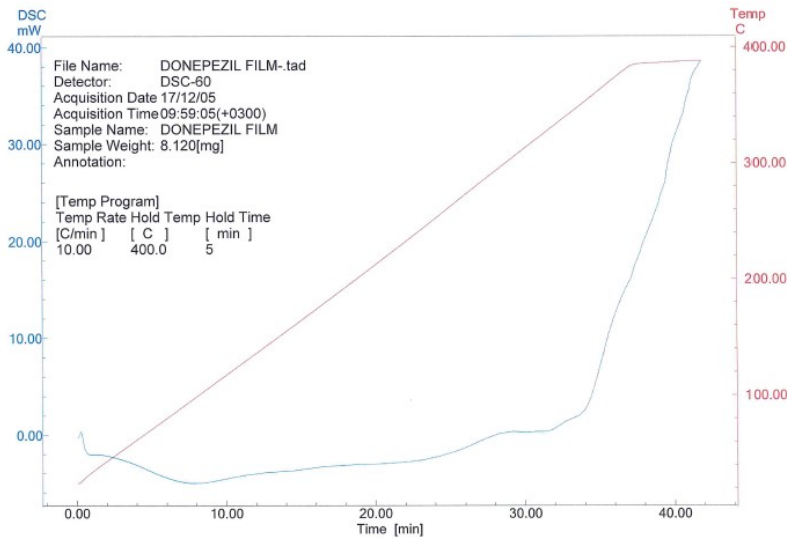
Şekil 4.9. Donepezil HCl:EPO 1:1 a/a fiziksel karışımına ait DSC spektrumu



Şekil 4.10. Donepezil HCl:HPMC 1:1 a/a fiziksel karışımına ait DSC spektrumu



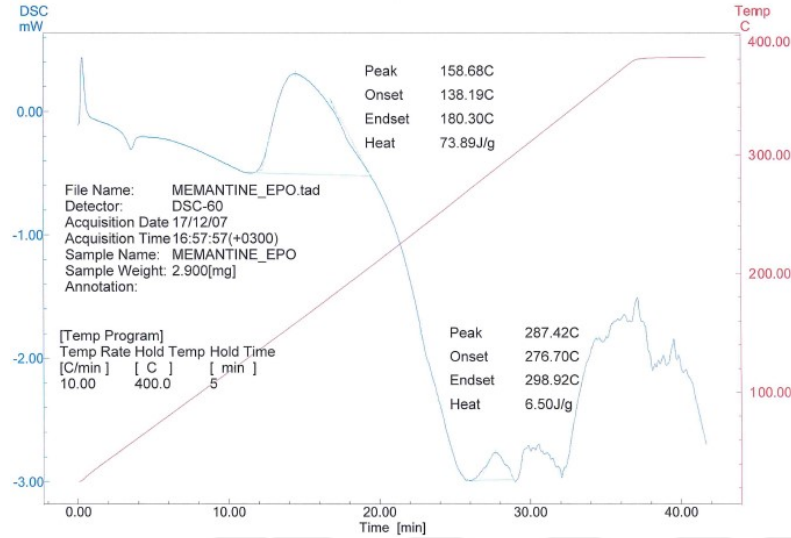
Şekil 4.11. Donepezil HCl:EC 1:1 a/a fiziksel karışımına ait DSC spektrumu



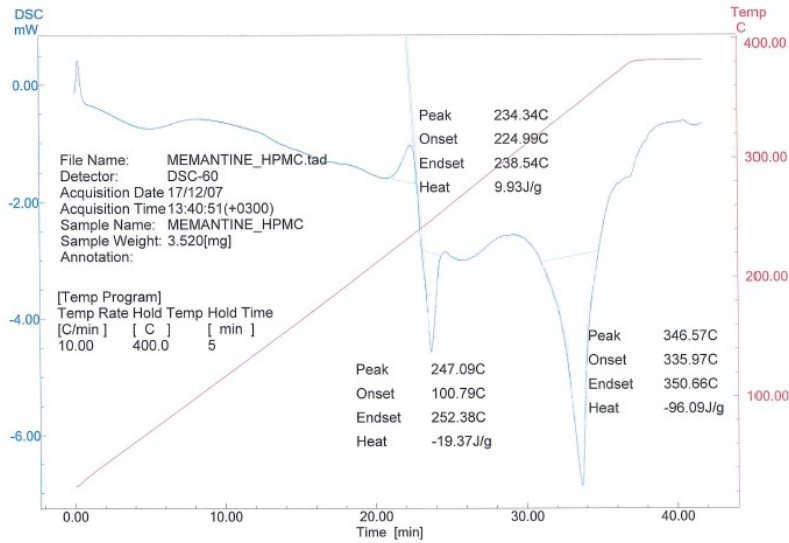
Şekil 4.12. Donepezil HCl ile elde edilen tek tabakalı filme ait DSC spektrumu

4.4.2.2. Memantin HCl

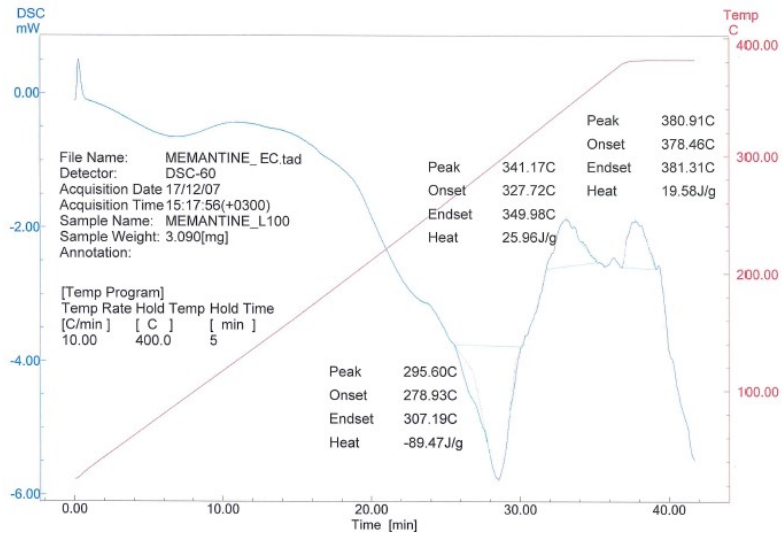
Memantin HCl ile EPO, HPMC, EC'nin 1:1 a/a fiziksel karışımları ve Donepezil HCl yüklenmiş D12 kodlu plasebo ile elde edilen tek tabakalı filme ait DSC spektrumları aşağıda paylaşılmıştır.



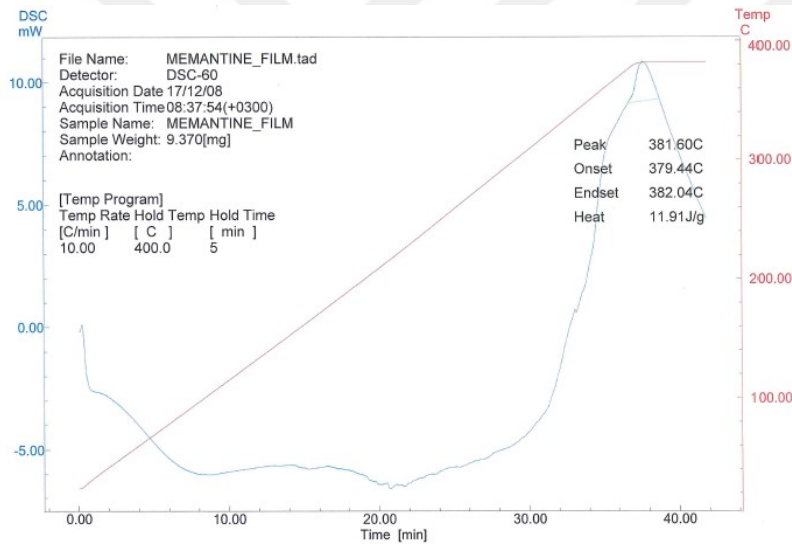
Şekil 4.13. Memantin HCl:EPO 1:1 a/a fiziksel karışımına ait DSC spektrumu



Şekil 4.14. Memantin HCl:HPMC 1:1 a/a fiziksel karışımına ait DSC spektrumu



Şekil 4.15. Memantin HCl:EC 1:1 a/a fiziksel karışımına ait DSC spektrumu



Şekil 4.16. Memantin HCl ile elde edilen tek tabakalı filme ait DSC spektrumu

4.5. Plasebolar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

“3.2.5.1. Plasebo Formülleri” bölümünde belirtilen proses akışına göre hazırlanan plaseboların kalıplara dökülmesi ile elde edilen tek tabakalı filmlerin kalınlık, yüzey özellikleri, adheziflik, nem içeriği ve ağırlık tekdüzeliği gibi fiziksel özellikleri incelenmiştir.

4.5.1. Plasebo ile Elde Edilen Tek Tabakalı Filmlerin Kalınlıkları

Tablo 4.13. Tek Tabakalı Filmlerin Kalınlıkları

Deneme	Kalıba dökülen bulk çözelti miktarı (g)	Tek tabakalı film kalınlıkları (μm)	$\bar{X}$	SS	RSD
D8	8,0	304	320	21	6
		343			
		312			
	10,0	432	434	22	5
		413			
		457			
	12,0	493	526	35	7
		521			
		563			
D9	8,0	312	325	11	4
		334			
		328			
	10,0	423	433	9	2
		440			
		435			
	12,0	486	492	20	4
		515			
		476			
D10	8,0	318	330	12	4
		341			
		332			
	10,0	416	426	11	3
		424			
		438			
	12,0	497	493	11	2
		481			
		501			

4.5.2. Plasebo ile Elde Edilen Tek Tabakalı Filmlerin Yüzey Özellikleri

Tablo 4.14. Tek Tabakalı Filmlerin Yüzey Özellikleri

Deneme	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
Tektür	±	±	±	-	-	-	+	+	+	+

-: Uygun değil / +: Uygun / ±: Kısmen uygun

4.5.3. Plasebo Formülleri ile Elde Edilen Tek Tabakalı Filmlerin Adheziflikleri

Tek tabakalı filmlerin adheziflik özelliklerinin belirlenmesinde FDA tarafından yayınlanmış olan adhezyon kılavuzu kullanılmıştır.

Tablo 4.15. Tek Tabakalı Filmlerin Adheziflik Sonuçları

Deneme	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
Puan	3	2	3	3	3	3	1	4	3	1

4.5.4. Plasebo ile Elde Edilen Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri

Tablo 4.16. Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (8 g dolum)

Deneme	D10 (1)	D10 (2)	D10 (3)
	4,79	5,01	4,87
Nem içeriği %a/a	4,32	4,77	4,53
	4,47	4,68	4,27
$\bar{X}$	4,53	4,82	4,56
SS	0,24	0,17	0,30
RSD	5,30	3,54	6,60
$\bar{X}^{\Sigma}$		4,63	
SS^{Σ}		0,25	
RSD^{Σ}		5,45	

Tablo 4.17. Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (10 g dolum)

Deneme	D10 (1)	D10 (2)	D10 (3)
	6,55	6,01	5,98
Nem içeriği %a/a	6,42	6,17	5,86
	6,37	6,28	6,12
$\bar{X}$	6,45	6,15	5,99
SS	0,09	0,14	0,13
RSD	1,44	2,21	2,17
$\bar{X}^{\Sigma}$		6,20	
SS^{Σ}		0,23	
RSD^{Σ}		3,67	

Tablo 4.18. Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (12 g dolum)

Deneme	D10 (1)	D10 (2)	D10 (3)
	6,98	6,83	7,58
Nem içeriği %a/a	7,42	7,19	6,99
	6,67	7,41	7,19
$\bar{X}$	7,02	7,14	7,25
SS	0,38	0,29	0,30
RSD	5,37	4,10	4,14
$\bar{X}^{\Sigma}$		7,14	
SS^{Σ}		0,30	
RSD^{Σ}		4,19	

4.5.5. Plasebo ile Elde Edilen Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzelikleri

Tablo 4.19. Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği (8 g dolum)

Deneme	D10 (1)	D10 (2)	D10 (3)
	148	153	161
Nem içeriği %a/a	162	161	170
	154	158	167
$\bar{X}$	154,7	157,3	166,0
SS	7,0	4,0	4,6
RSD	4,5	2,6	2,8
$\bar{X}^{\Sigma}$		159,3	
SS^{Σ}		6,9	
RSD^{Σ}		4,3	

Tablo 4.20. Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği (10 g dolum)

Deneme	D10 (1)	D10 (2)	D10 (3)
	212	234	221
Nem içeriği %a/a	221	219	232
	230	221	228
$\bar{X}$	221,0	224,7	227,0
SS	9,0	8,1	5,6
RSD	4,1	3,6	2,5
$\bar{X}^{\Sigma}$		224,2	
SS^{Σ}		7,2	
RSD^{Σ}		3,2	

Tablo 4.21. Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği (12 g dolum)

Deneme	D10 (1)	D10 (2)	D10 (3)
	268	279	231
Nem içeriği %a/a	261	281	224
	253	247	267
$\bar{X}$	260,7	269,0	240,7
SS	7,5	19,1	23,1
RSD	2,9	7,1	9,6
$\bar{X}^{\Sigma}$		256,8	
SS^{Σ}		19,9	
RSD^{Σ}		7,8	

4.5.6. Plasebo ile Elde Edilen Tek Tabakalı Filmlerin Değerlendirilmesi

Tablo 4.22. Tek Tabakalı Filmlerin Değerlendirilmesi

Deneme	Kalınlık	Tektür	Adeziflik	Nem	Ağırlık	Σ
D1	6	7	4	5	6	28
D2	7	9	5	6	5	32
D3	4	7	4	5	6	26
D4	6	8	6	5	6	31
D5	6	8	7	6	7	34
D6	4	7	5	7	7	30
D7	*	7	10	3	*	20
D8	6	8	0	4	6	24
D9	7	8	6	8	7	36
D10	8	8	9	8	8	41

*Sadece EPO'nun kullanıldığı formülde yüksek adhezif özellikte ve tektür olmayan filmler elde edilmiştir.

4.6. Etkin Madde İçeren Formüller Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Etkin madde içeren formüllerin optimizasyonu için 2 deneme daha yapılmıştır. İlk denemede çözücü sistemindeki değişikliğin etkisi incelenmiş, ikinci denemede ise EPO ve EC miktarı sabit tutularak HPMC miktarı optimize edilmiş, plastikleştirici ajan olarak kullanılan PEG ve nem kaybını önlemek için kullanılan gliserol miktarları toplam polimer miktarının %30 a/a'ı olacak şekilde ayarlanmıştır.

Tablo 4.23. Etkin Madde İçeren Formüller (g)

İçerik	D10	D11	D12
0,1N HCl : EtOH (5:3, a/a)	32,0	-	32,0
0,1N HCl : EtOH (1:1, a/a)	-	32,0	-
EPO	2,0	2,0	2,0
HPMC	1,0	1,0	0,3
EC	1,0	1,0	1,0
PEG	1,2	1,2	1,0
Gliserol	1,2	1,2	1,0
Σ (g)	38,4	38,4	37,3

Elde edilen veriler doğrultusunda D12 kodlu formülasyon ideal olarak belirlenmiştir.

4.6.1. Tek Tabakalı Filmlerin Ortalama Kalınlıkları

Etkin madde içeren tek tabakalı filmlerin ağırlıkları “3.2.6.1. Tek Tabakalı Filmlerin Kalınlıkları” adlı bölümde belirtildiği şekilde incelenmiştir.

Tablo 4.24. Tek Tabakalı Filmlerin Kalınlıkları (Donepezil HCl)

Deneme	Kalıba dökülen bulk çözelti miktarı (g)	Tek tabakalı film kalınlıkları (μm)	$\bar{X}$	SS	RSD
D10	8,0	282	302	17	6
		311			
		313			
	10,0	403	407	9	2
		418			
		401			
D11	12,0	501	509	11	2
		504			
		521			
	8,0	310	320	18	6
		309			
		341			
D12	10,0	419	426	6	1
		431			
		428			
	12,0	514	524	13	2
		538			
		519			
D12	8,0	310	328	16	5
		334			
		341			
	10,0	416	419	3	1
		421			
		419			
D12	12,0	511	521	12	2
		535			
		517			

Tablo 4.25. Tek Tabakalı Filmlerin Kalınlıkları (Memantin HCl)

Deneme	Kalıba dökülen bulk çözelti miktarı (g)	Tek tabakalı film kalınlıkları (μm)	$\bar{X}$	SS	RSD
D10	8,0	312	324	10	3
		331			
		329			
	10,0	437	436	8	2
		428			
		443			
	12,0	513	544	30	6
		546			
		573			
D11	8,0	328	349	22	6
		347			
		371			
	10,0	443	454	10	2
		461			
		458			
	12,0	526	537	28	5
		568			
		516			
D12	8,0	320	341	18	5
		353			
		349			
	10,0	436	431	15	3
		414			
		442			
	12,0	519	514	21	4
		532			
		491			

4.6.2. Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği

Tablo 4.26. Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği (Donepezil HCl, 8g dolum)

Deneme	D12 (1)	D12 (2)	D12 (3)
	186	197	171
Ağırlık (mg)	191	182	201
	176	179	187
$\bar{X}$	184,3	186,0	186,3
SS	7,6	9,6	15,0
RSD	4,1	5,2	8,1
$\bar{X}^{\Sigma}$		185,6	
SS^{Σ}		9,7	
RSD^{Σ}		5,3	

Tablo 4.27. Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği (Donepezil HCl, 10g dolum)

Deneme	D12 (1)	D12 (2)	D12 (3)
	225	241	234
Ağırlık (mg)	234	235	231
	228	249	240
$\bar{X}$	229,0	241,7	235,0
SS	4,6	7,0	4,6
RSD	2,0	2,9	2,0
$\bar{X}^{\Sigma}$		235,2	
SS^{Σ}		7,3	
RSD^{Σ}		3,1	

Tablo 4.28. Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği (Donepezil HCl, 12g dolum)

Deneme	D12 (1)	D12 (2)	D12 (3)
	276	267	273
Ağırlık (mg)	291	293	298
	280	281	300
$\bar{X}$	282,3	280,3	290,3
SS	7,8	13,0	15,0
RSD	2,8	4,6	5,2
$\bar{X}^{\Sigma}$		284,3	
SS^{Σ}		11,6	
RSD^{Σ}		4,1	

Tablo 4.29. Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliliği (Memantin HCl, 8g dolum)

Deneme	D12 (1)	D12 (2)	D12 (3)
	197	191	191
Ağırlık (mg)	211	221	231
	189	182	197
$\bar{X}$	199,0	198,0	206,3
SS	11,1	20,4	21,6
RSD	5,6	10,3	10,5
$\bar{X}^{\Sigma}$		201,1	
SS^{Σ}		16,3	
RSD^{Σ}		8,1	

Tablo 4.30. Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliği (Memantin HCl, 10g dolum)

Deneme	D12 (1)	D12 (2)	D12 (3)
	237	221	237
Ağırlık (mg)	214	242	222
	248	239	236
$\bar{X}$	233,0	234,0	231,7
SS	17,3	11,4	8,4
RSD	7,4	4,9	3,6
$\bar{X}^{\Sigma}$		232,9	
SS^{Σ}		11,2	
RSD^{Σ}		4,8	

Tablo 4.31. Tek Tabakalı Filmlerin Ağırlık Tekdüzeliği (Memantin HCl, 12g dolum)

Deneme	D12 (1)	D12 (2)	D12 (3)
	291	257	299
Ağırlık (mg)	321	298	283
	283	301	297
$\bar{X}$	298,3	285,3	293,0
SS	20,0	24,6	8,7
RSD	6,7	8,6	3,0
$\bar{X}^{\Sigma}$		292,2	
SS^{Σ}		17,4	
RSD^{Σ}		6,0	

4.6.3. Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçeriği

Tablo 4.32. Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (Donepezil HCl, 8g dolum)

Deneme	D12 (1)	D12 (2)	D12 (3)
	4,51	4,03	3,96
Nem içeriği %a/a	3,97	6,01	5,11
	4,01	4,31	4,63
$\bar{X}$	4,2	4,8	4,6
SS	0,3	1,1	0,6
RSD	7,2	22,4	12,6
$\bar{X}^{\Sigma}$		4,5	
SS^{Σ}		0,7	
RSD^{Σ}		15,2	

Tablo 4.33. Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (Donepezil HCl, 10g dolum)

Deneme	D12 (1)	D12 (2)	D12 (3)
	6,55	6,01	5,98
Nem içeriği %a/a	5,97	6,78	6,12
	7,01	5,97	6,43
$\bar{X}$	6,5	6,3	6,2
SS	0,5	0,5	0,2
RSD	8,0	7,3	3,7
$\bar{X}^{\Sigma}$		6,3	
SS^{Σ}		0,4	
RSD^{Σ}		6,3	

Tablo 4.34. Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (Donepezil HCl, 12g dolum)

Deneme	D12 (1)	D12 (2)	D12 (3)
	6,97	7,79	7,98
Nem içeriği %a/a	7,37	6,72	7,02
	6,92	6,93	6,34
$\bar{X}$	7,1	7,1	7,1
SS	0,2	0,6	0,8
RSD	3,5	7,9	11,6
$\bar{X}^{\Sigma}$		7,1	
SS^{Σ}		0,5	
RSD^{Σ}		7,2	

Tablo 4.35. Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (Memantin HCl, 8g dolum)

Deneme	D12 (1)	D12 (2)	D12 (3)
	3,81	4,21	4,16
Nem içeriği %a/a	4,12	4,56	4,97
	3,86	5,01	4,23
$\bar{X}$	3,9	4,6	4,5
SS	0,2	0,4	0,4
RSD	4,2	8,7	10,1
$\bar{X}^{\Sigma}$		4,3	
SS^{Σ}		0,4	
RSD^{Σ}		10,1	

Tablo 4.36. Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (Memantin HCl, 10g dolum)

Deneme	D12 (1)	D12 (2)	D12 (3)
	5,12	5,01	4,91
Nem içeriği %a/a	5,08	4,73	5,12
	4,82	4,67	5,32
$\bar{X}$	5,0	4,8	5,1
SS	0,2	0,2	0,2
RSD	3,3	3,8	4,0
$\bar{X}^{\Sigma}$		5,0	
SS^{Σ}		0,2	
RSD^{Σ}		4,2	

Tablo 4.37. Tek Tabakalı Filmlerin Nem İçerikleri (Memantin HCl, 12g dolum)

Deneme	D12 (1)	D12 (2)	D12 (3)
	5,82	7,13	6,16
Nem içeriği %a/a	6,43	6,89	6,22
	6,32	5,95	5,44
$\bar{X}$	6,2	6,7	5,9
SS	0,3	0,6	0,4
RSD	5,3	9,4	7,3
$\bar{X}^{\Sigma}$		6,3	
SS^{Σ}		0,5	
RSD^{Σ}		8,3	

4.6.4. Tek Tabakalı Filmlerin Fiziksel Tektürlüğü

Tablo 4.38. Tek Tabakalı Filmlerin Yüzey Özellikleri (10 g dolum)

Deneme	D10	D11	D12
Tektür	+	+	+

-: Uygun değil / +: Uygun / ±: Kısmen uygun

4.6.5. Tek Tabakalı Filmlerin pH Ölçümleri

Tablo 4.39. Tek Tabakalı Filmlerin pH Ölçümleri (Donepezil HCl, 10 g dolum)

Deneme	D12	D12	D12
pH ölçümü	7,32	7,41	6,99

Tablo 4.40. Tek Tabakalı Filmlerin pH Ölçümleri (Memantin HCl, 10 g dolum)

Deneme	D12	D12	D12
pH ölçümü	6,43	6,56	6,43

4.6.6. Tek Tabakalı Filmlerin Adhezif Özellikleri

“4.5.3. Plasebo Formülleri ile Elde edilen Tek Tabakalı Filmlerin Adeziflikleri” bölümünde belirtildiği şekilde etkin madde içeren tek tabakalı filmlerin adeziflik özellikleri değerlendirilmiştir.

Tablo 4.41. Tek Tabakalı Filmlerin Adheziflik Sonuçları (Donepezil HCl, 10 mg/film)

Parametre	D12	D12	D12
Adheziflik (N)	0,8	0,7	0,5
$\bar{X}$		0,67	
SS		0,15	
RSD		22,91	

Tablo 4.42. Tek Tabakalı Filmlerin Adheziflik Sonuçları (Memantin HCl, 10 mg/film)

Parametre	D12	D12	D12
Adheziflik (N)	0,3	0,2	0,4
$\bar{X}$		0,30	
SS		0,10	
RSD		33,33	

Tablo 4.43. Tek Tabakalı Filmlerin Adheziflik Sonuçları (Donepezil HCl, 2 mg/film)

Parametre	D12	D12	D12
Adheziflik (N)	0,3	0,3	0,5
$\bar{X}$		0,37	
SS		0,12	
RSD		31,49	

Tablo 4.44. Tek Tabakalı Filmlerin Adheziflik Sonuçları (Memantin HCl, 2 mg/film)

Parametre	D12	D12	D12
Adheziflik (N)	0,1	0,2	0,1
$\bar{X}$		0,13	
SS		0,06	
RSD		43,30	

4.6.7. Tek Tabakalı Filmlerin Gerilmeye Karşı Direnci

Tablo 4.45. Tek Tabakalı Filmlerin Gerilmeye Karşı Dirençleri (Donepezil HCl, 10 mg/film)

Deneme	D12	D12	D12
Gerilmeye karşı direnç (N)	17,9	15,4	19,1
$\bar{X}$		17,47	
SS		1,89	
RSD		10,81	

Tablo 4.46. Tek Tabakalı Filmlerin Gerilmeye Karşı Dirençleri (Memantin HCl, 10 mg/film)

Deneme	D12	D12	D12
Gerilmeye karşı direnç (N)	11,9	10,4	11,6
$\bar{X}$		11,30	
SS		0,79	
RSD		7,02	

Tablo 4.47. Tek Tabakalı Filmlerin Gerilmeye Karşı Dirençleri (Donepezil HCl, 2 mg/film)

Deneme	D12	D12	D12
Gerilmeye karşı direnç (N)	25,1	27,5	31,2
$\bar{X}$		27,93	
SS		3,07	
RSD		11,00	

Tablo 4.48. Tek Tabakalı Filmlerin Gerilmeye Karşı Dirençleri (Memantin HCl, 2 mg/film)

Deneme	D12	D12	D12
Gerilmeye karşı direnç (N)	17,9	14,6	16,8
$\bar{X}$		16,43	
SS		1,68	
RSD		10,22	

4.6.8. Tek Tabakalı Filmlerin Etkin Madde Miktar Tayini

Tablo 4.49. Tek Tabakalı Filmlerin Etkin Madde Miktar Tayini (Donepezil HCl, 10 mg/film)

Deneme	D12 (1)	D12 (2)	D12 (3)
	86	108	93
Miktar tayini %a/a	107	91	111
	89	114	94
$\bar{X}$	94,0	104,3	99,3
SS	11,4	11,9	10,1
RSD	12,1	11,4	10,2
$\bar{X}^{\Sigma}$		99,2	
SS^{Σ}		10,7	
RSD^{Σ}		10,7	

Tablo 4.50. Tek Tabakalı Filmlerin Etkin Madde Miktar Tayini (Memantin HCl, 10 mg/film)

Deneme	D12 (1)	D12 (2)	D12 (3)
	94	109	94
Miktar tayini %a/a	87	103	117
	109	97	89
$\bar{X}$	96,7	103,0	100,0
SS	11,2	6,0	14,9
RSD	11,6	5,8	14,9
$\bar{X}^{\Sigma}$		99,9	
SS^{Σ}		10,2	
RSD^{Σ}		10,2	

4.6.9. Tek Tabakalı Filmlerin Verim Hesabı

Tablo 4.51. Tek Tabakalı Filmlerin Verim Hesabı (10 mg/film)

Deneme	Donepezil HCl	Memantin HCl
Ortalama miktar tayini sonucu (% a/a)	99,2	99,9
Verim (%)	98,9	99,8

4.6.10. Tek Tabakalı Filmlerden *in vitro* Etkin Madde Salımı

4.6.10.1. Selofan Membranın Kullanılmadığı *in vitro* Çalışma Sonuçları

Tablo 4.52. D12 kodlu plasebo ile hazırlanan tek tabakalı filmlerden *in vitro* etkin madde salımı (10 mg Donepezil HCl)

Zaman (saat)	% Salınan Etkin Madde						$\bar{X}$	SS	RSD
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6			
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	-
1/2	42,6	36,0	42,7	37,9	39,4	43,6	40,37	3,07	7,59
1	59,9	55,2	60,8	59,2	62,1	59,4	59,43	2,33	3,92
2	77,2	74,4	78,9	80,5	84,8	75,2	78,50	3,83	4,88
4	91,9	93,4	95,7	98,6	98,6	93,1	95,22	2,90	3,04
8	98,4	109,2	100,4	106,6	105,3	102,4	103,72	4,05	3,90
24	99,7	110,3	101,4	107,5	105,6	103,5	104,67	3,93	3,76

Tablo 4.53. D12 kodlu plasebo ile hazırlanan tek tabakalı filmlerden *in vitro* etkin madde salımı (2 mg Donepezil HCl)

Zaman (saat)	% Salınan Etkin Madde						$\bar{X}$	SS	RSD
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6			
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	-
1/2	73,2	69,8	80,2	71,2	70,2	68,4	72,17	4,25	5,89
1	91,4	85,0	99,4	92,4	87,6	88,2	90,67	5,05	5,57
2	100,6	100,2	100,6	103,6	95,0	103,0	100,50	3,04	3,03
4	104,8	103,8	103,0	106,2	100,9	105,4	104,02	1,90	1,83
8	108,3	105,4	106,8	107,6	103,2	109,8	106,85	2,31	2,17
24	109,4	107,6	107,2	109,4	104,2	109,1	107,82	2,01	1,86

Tablo 4.54. D12 kodlu plasebo ile hazırlanan tek tabakalı filmlerden *in vitro* etkin madde salımı (10 mg Memantin HCl)

Zaman (saat)	% Salınan Etkin Madde						$\bar{X}$	SS	RSD
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6			
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	-
1/2	80,4	78,5	76,5	80,3	77,5	75,3	78,08	2,05	2,63
1	72,5	84,8	75,2	81,1	83,2	78,0	79,13	4,76	6,01
2	89,0	92,1	91,1	98,6	87,0	82,1	89,98	5,51	6,13
4	94,3	98,0	98,5	100,6	96,6	91,5	96,58	3,25	3,37
8	99,8	92,3	93,3	96,8	100,5	92,5	95,87	3,70	3,86
24	98,0	99,5	97,2	106,4	93,8	106,7	100,27	5,21	5,20

Tablo 4.55. D12 kodlu plasebo ile hazırlanan tek tabakalı filmlerden *in vitro* etkin madde salımı (2 mg Memantin HCl)

Zaman (saat)	% Salınan Etkin Madde						$\bar{X}$	SS	RSD
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6			
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	-
1/2	70,1	60,7	68,1	71,3	68,2	71,7	68,35	4,04	5,91
1	78,4	70,6	79,3	80,4	78,9	81,9	78,25	3,95	5,05
2	86,7	80,5	90,5	89,5	89,6	92,1	88,15	4,14	4,70
4	93,6	86,1	98,6	96,8	96,4	100,2	95,28	5,02	5,27
8	96,6	89,7	104,1	100,9	99,0	104,2	99,08	5,46	5,51
24	97,5	91,0	104,8	102,0	99,9	105,0	100,03	5,28	5,28

4.6.10.2. Selofan Membranın Kullanıldığı *in vitro* Çalışma Sonuçları**Tablo 4.56.** D12 kodlu plasebo ile hazırlanan tek tabakalı filmlerden *in vitro* etkin madde salımı (2 mg Donepezil HCl)

Zaman (saat)	% Salınan Etkin Madde						$\bar{X}$	SS	RSD
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6			
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	-
1/2	5,5	5,2	5,1	5,5	5,0	5,5	5,30	0,23	4,30
1	7,6	6,0	5,7	6,0	5,6	6,1	6,17	0,73	11,81
2	6,7	5,5	6,0	5,6	6,5	6,2	6,08	0,48	7,88
4	11,1	12,0	12,1	14,5	16,1	12,6	13,07	1,87	14,28
8	32,1	29,0	30,5	36,2	31,5	31,1	31,73	2,43	7,66
24	40,1	42,1	38,7	49,2	43,5	45,5	43,18	3,81	8,81

Tablo 4.57. D12 kodlu plasebo ile hazırlanan tek tabakalı filmlerden *in vitro* etkin madde salımı (10 mg Donepezil HCl)

Zaman (saat)	% Salınan Etkin Madde						$\bar{X}$	SS	RSD
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6			
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	-
1/2	1,5	2,2	1,0	1,3	1,5	1,5	1,50	0,39	26,33
1	2,3	1,5	1,5	1,3	1,5	1,5	1,60	0,35	22,01
2	1,5	1,5	1,5	1,8	1,8	1,5	1,60	0,15	9,68
4	3,1	2,5	2,6	2,9	2,9	2,3	2,72	0,30	11,02
8	2,5	3,9	4,6	3,8	2,5	4,1	3,57	0,87	24,42
24	13,4	12,6	17,4	23,4	24,0	25,5	19,38	5,67	29,24

Tablo 4.58. D12 kodlu plasebo ile hazırlanan tek tabakalı filmlerden *in vitro* etkin madde salımı (2 mg Memantin HCl)

Zaman (saat)	% Salınan Etkin Madde						$\bar{X}$	SS	RSD
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6			
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	-
1/2	9,0	10,5	9,5	11,0	12,0	10,5	10,42	1,07	10,26
1	10,5	11,5	12,0	10,5	12,0	14,5	11,83	1,47	12,44
2	11,0	15,5	14,5	11,0	14,0	21,0	14,50	3,69	25,43
4	16,0	17,5	16,0	12,0	16,0	19,0	16,08	2,33	14,50
8	31,5	32,0	32,0	35,5	34,5	37,0	33,75	2,25	6,67
24	51,0	47,0	59,0	45,5	51,0	46,5	50,00	4,99	9,98

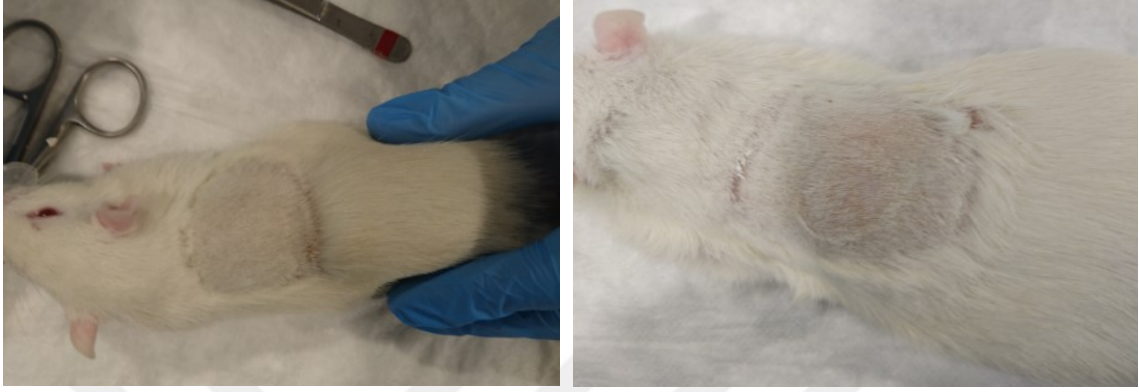
Tablo 4.59. D12 kodlu plasebo ile hazırlanan tek tabakalı filmlerden *in vitro* etkin madde salımı (10 mg Memantin HCl)

Zaman (saat)	% Salınan Etkin Madde						$\bar{X}$	SS	RSD
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6			
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00	-
1/2	3,3	2,5	1,5	2,0	1,5	3,0	2,30	0,76	33,11
1	2,5	2,8	3,0	4,2	4,6	3,6	3,45	0,83	24,02
2	3,8	4,4	4,2	3,7	3,4	4,4	3,98	0,41	10,34
4	4,9	5,6	5,7	6,1	7,3	6,3	5,98	0,81	13,47
8	7,9	6,4	6,7	7,3	8,1	10,5	7,82	1,47	18,81
24	13,6	19,9	19,4	21,3	18,7	25,3	19,70	3,80	19,30

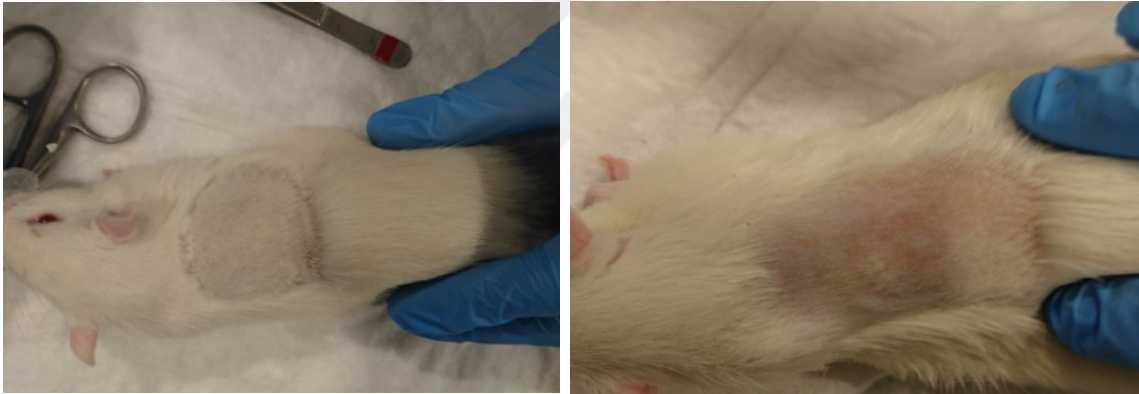
4.7. *in vivo* Çalışma Sonuçları

4.7.1. Deri İritasyon Testi

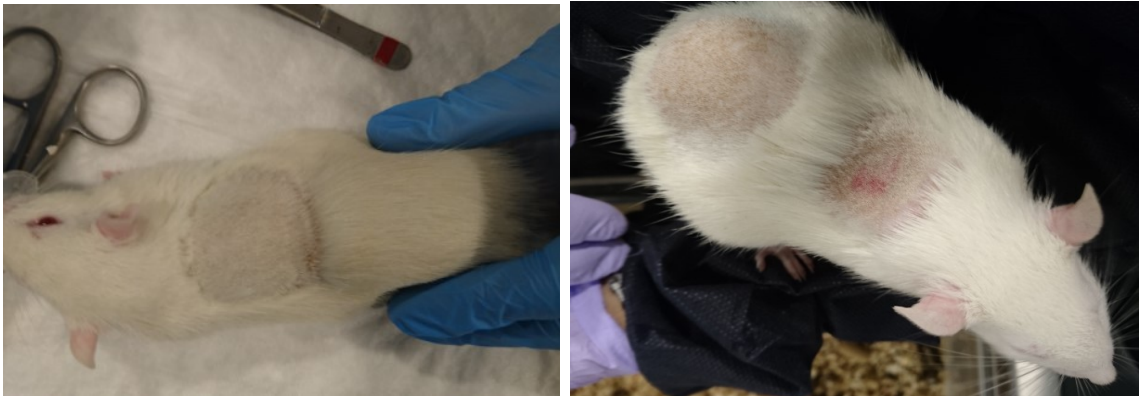
Deneklerin tıraşlı derileri uygulama öncesi ve sonrasında görsel olarak karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.17. Pasif difüzyon öncesi (Sol) , sonrası (Sağ). Pasif difüzyon çalışması sonrasında deri üzerinde herhangi bir farklılık gözlenmemiştir.



Şekil 4.18. 0,1 mA/cm² akım uygulaması öncesi (Sol) , sonrası (Sağ). 0,1 mA/cm² akım uygulaması sonrasında deri üzerinde hafif bir kızarıklık gözlenmiştir.



Şekil 4.19. 0,5 mA/cm² akım uygulaması öncesi (Sol) , sonrası (Sağ). 0,5 mA/cm² akım uygulaması sonrasında deri üzerinde iritasyon gözlenmiştir.

4.7.2. Bakiye Etkin Madde Miktarı

Deneklere uygulanan tek tabakalı filmlerin uygulama sonunda analizleri yapılmıştır.

Tablo 4.60. Pasif difüzyon sonunda bakiye etkin madde sonuçları (10 mg Donepezil)

Denek	P-D1	P-D2	P-D3	P-D4
Miktar tayini %a/a	%99,61	%93,41	%88,08	%95,48
$\bar{X}$		%94,15		
SS		4,80		
RSD		5,09		

Tablo 4.61. Pasif difüzyon sonunda bakiye etkin madde sonuçları (10 mg Memantin)

Denek	P-M1	P-M2	P-M3	P-M4
Miktar tayini %a/a	%87,62	%89,06	%94,83	%95,20
$\bar{X}$		%91,68		
SS		3,90		
RSD		4,26		

Tablo 4.62. 0,1 mA/cm² akım uygulaması, bakiye etkin madde sonuçları (10 mg Donepezil)

Denek	İ01-D1	İ01-D2	İ01-D3	İ01-D4
Miktar tayini %a/a	%82,57	%91,14	%69,61	%82,71
$\bar{X}$		%81,51		
SS		8,89		
RSD		10,90		

Tablo 4.63. 0,1 mA/cm² akım uygulaması, bakiye etkin madde sonuçları (10 mg Memantin)

Denek	İ01-M1	İ01-M2	İ01-M3	İ01-M4
Miktar tayini %a/a	69,28	50,90	65,94	71,25
$\bar{X}$		%64,34		
SS		9,23		
RSD		14,34		

Tablo 4.64. 0,5 mA/cm² akım uygulaması, bakiye etkin madde sonuçları (10 mg Donepezil)

Denek	İ05-D1	İ05-D2	İ05-D3	İ05-D4
Miktar tayini %a/a	%47,74	%58,36	%52,27	%62,01
$\bar{X}$		%55,10		
SS		6,34		
RSD		11,50		

Tablo 4.65. 0,5 mA/cm² akım uygulaması, bakiye etkin madde sonuçları (10 mg Memantin)

Denek	İ05-M1	İ05-M2	İ05-M3	İ05-M4
Miktar tayini %a/a	%47,22	%41,60	%40,53	%34,82
$\bar{X}$		%41,04		
SS		5,08		
RSD		12,38		

Tablo 4.66. 0,1 mA/cm² akım uygulaması, bakiye etkin madde sonuçları (2 mg Donepezil)

Denek	İ01-D1	İ01-D2	İ01-D3	İ01-D4
Miktar tayini %a/a	%31,39	%52,73	%77,77	*
$\bar{X}$		%53,96		
SS		23,22		
RSD		43,02		

*Birey deneyi tamamlayamamıştır.

Tablo 4.67. 0,1 mA/cm² akım uygulaması, bakiye etkin madde sonuçları (2 mg Memantin)

Denek	İ01-M1	İ01-M2	İ01-M3	İ01-M3
Miktar tayini %a/a	%72,49	%30,51	%40,23	%49,42
$\bar{X}$		%48,16		
SS		17,96		
RSD		37,30		

Tablo 4.68. 0,5 mA/cm² akım uygulaması, bakiye etkin madde sonuçları (2 mg Donepezil)

Denek	İ05-D1	İ05-D2	İ05-D3	İ05-D4
Miktar tayini %a/a	%42,51	%33,26	%37,50	%28,50
$\bar{X}$		%35,44		
SS		5,98		
RSD		16,87		

Tablo 4.69. 0,5 mA/cm² akım uygulaması, bakiye etkin madde sonuçları (2 mg Memantin)

Denek	İ05-M1	İ05-M2	İ05-M3	İ05-M4
Miktar tayini %a/a	*	%36,79	%56,45	%38,45
$\bar{X}$		%43,90		
SS		10,91		
RSD		24,84		

Tablo 4.70. Donepezil HCl içeren filmler için toplu bakiye etkin madde sonuçları

Denek	P-D $\bar{X}$ (10 mg)	I01-D $\bar{X}$ (10 mg)	I05-D $\bar{X}$ (10 mg)	I01-D $\bar{X}$ (2 mg)	I05-D $\bar{X}$ (2 mg)
$\bar{X}$ (% a/a)	%94,15	%81,51	%55,10	%53,96	%35,44
SS	4,80	8,89	6,34	23,22	5,98
RSD	5,09	10,90	11,50	43,02	16,87

Tablo 4.71. Memantin HCl içeren filmler için toplu bakiye etkin madde sonuçları

Denek	P-M $\bar{X}$ (10 mg)	I01-M $\bar{X}$ (10 mg)	I05-M $\bar{X}$ (10 mg)	I01-M $\bar{X}$ (2 mg)	I05-M $\bar{X}$ (2 mg)
$\bar{X}$ (% a/a)	%91,68	64,34	%41,04	%48,16	%43,90
SS	3,90	9,23	5,08	17,96	10,91
RSD	4,26	14,34	12,38	37,30	24,84

4.7.3. *in vivo* Sonuçları

4.7.3.1. IV Uygulamaya Ait Sonuçlar

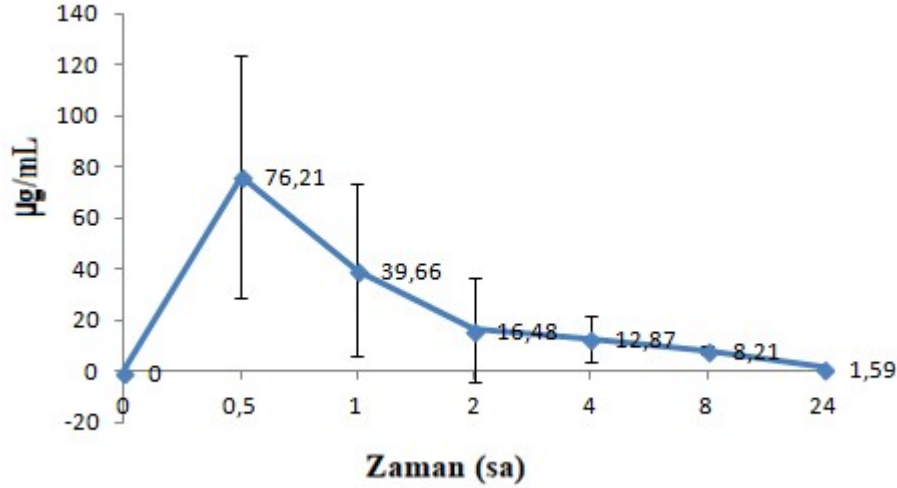
A. Donepezil HCl

Donepezil HCl'ün %0.9'luk NaCl çözeltisi ile hazırlanmış 20 mg/mL konsantrasyondaki çözeltisinden 10 mg etkin madde içerecek şekilde 0,5 mL bolus doz ilk deneye IV yoluyla uygulandıktan hemen sonra denek ölmüştür. Dozun yarıya indirilmesiyle yapılan ikinci uygulamada da denek 3 dk içerisinde ölmüştür. Bu sebeple Donepezil HCl için IV bolus uygulaması gerçekleştirilememiştir.

B. Memantin HCl

Tablo 4.72. Memantin HCl IV uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları ($\mu\text{g/mL}$)

Zaman (sa)	IV-M1	IV-M2	IV-M3	IV-M4	$\bar{X}$
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	49,48	107,84	23,96	123,56	76,21
1	1,17	63,45	22,05	71,95	39,65
2	1,89	0,00	20,13	43,89	16,48
4	0,65	20,39	11,04	19,38	12,86
8	7,38	9,25	9,69	6,53	8,21
24	<LOQ	<LOQ	0,99	2,19	1,59



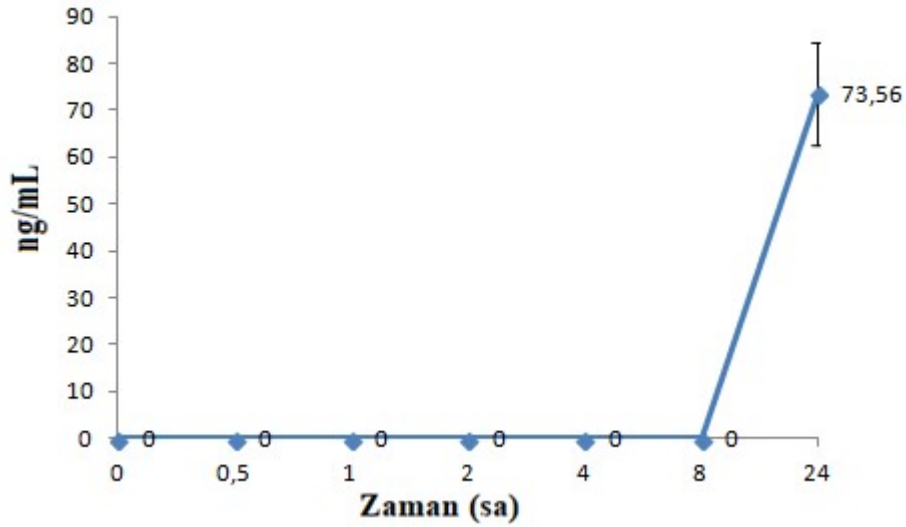
Şekil 4.20. Memantin HCl IV uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonlarına ait grafik

4.7.3.2. Pasif Difüzyon Uygulamasına Ait Sonuçlar

A. Donepezil HCl

Tablo 4.73. 10 mg Donepezil HCl içeren tek tabakalı filmlerden pasif difüzyon ile elde edilen kan konsantrasyonları (ng/mL)

Zaman (sa)	D-M1	D-M2	D-M3	D-M4	$\bar{X}$
0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
0,5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
8	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
24	66,38	86,20	62,75	78,93	73,56

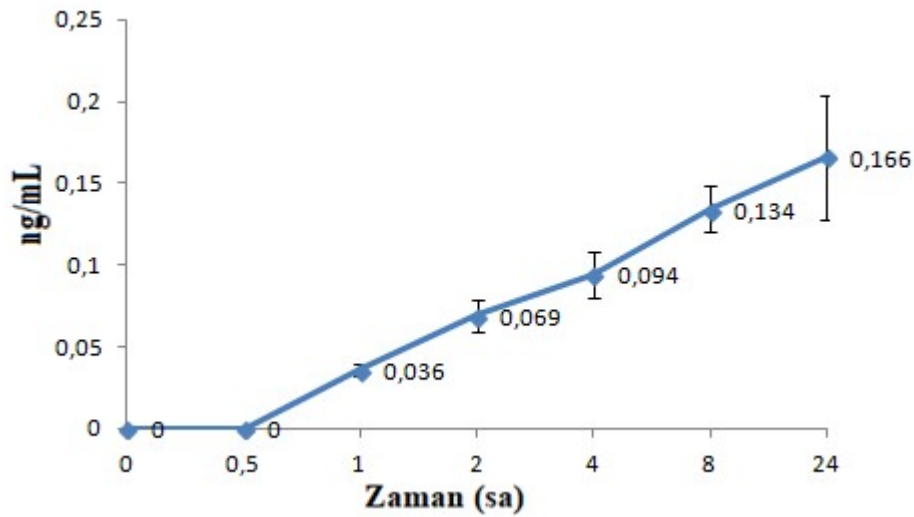


Şekil 4.21. Donepezil HCl pasif difüzyon uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonlarına ait grafik

B. Memantin HCl

Tablo 4.74. 10 mg Memantin HCl içeren tek tabakalı filmlerden pasif difüzyon ile elde edilen kan konsantrasyonları (ng/mL)

Zaman (sa)	P-M1	P-M2	P-M3	P-M4	$\bar{X}$
0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
0,5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
1	39,22	<LOQ	<LOQ	33,16	0,036
2	62,50	64,09	84,18	64,09	0,069
4	82,91	86,73	114,79	89,92	0,094
8	125,64	154,01	133,29	122,45	0,134
24	133,29	184,95	211,09	135,20	0,166



Şekil 4.22. Memantin HCl pasif difüzyon uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonlarına ait grafik

4.7.3.3. İyontoforez Uygulamasına Ait Sonuçlar

A. Donepezil HCl

Tablo 4.75. 10 mg Donepezil HCl içeren tek tabakalı filmlerden 0,1 mA/cm² iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları (ng/mL)

Zaman (sa)	I01-D1	I01-D2	I01-D3	I01-D4	$\bar{X}$
0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
0,5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
1	46,90	33,36	46,90	32,36	39,88
2	57,13	39,30	55,81	76,29	57,13
4	79,92	70,67	92,80	82,23	81,41
8	105,35	129,46	119,55	95,11	112,37
24	223,91	258,59	307,80	283,03	268,33

Tablo 4.76. 2 mg Donepezil HCl içeren tek tabakalı filmlerden 0,1 mA/cm² iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları (ng/mL)

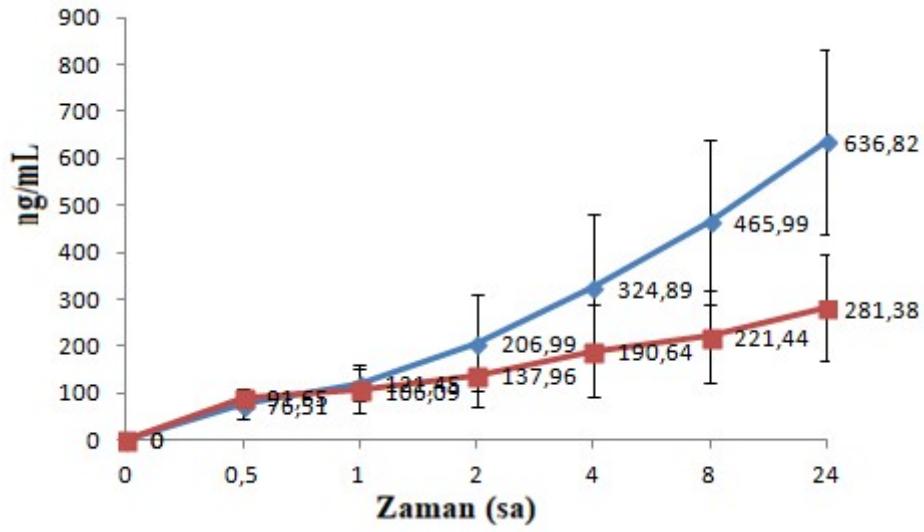
Zaman (sa)	I01-D1	I01-D2	I01-D3	I01-D4	$\bar{X}$
0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
0,5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
1	<LOQ	<LOQ	36,99	<LOQ	36,99
2	<LOQ	38,97	42,60	40,62	40,73
4	90,49	70,01	72,33	49,21	70,51
8	103,04	127,48	102,38	62,09	98,75
24	157,86	185,60	159,18	72,33	143,74

Tablo 4.77. 10 mg Donepezil HCl içeren tek tabakalı filmlerden 0,5 mA/cm² iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları (ng/mL)

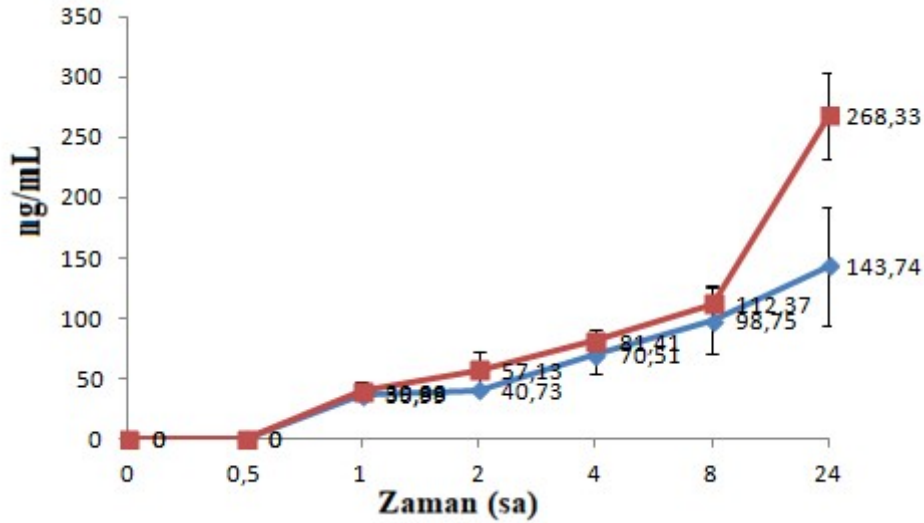
Zaman (sa)	I05-D1	I05-D2	I05-D3	I05-D4	$\bar{X}$
0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
0,5	89,83	<LOQ	99,74	39,96	76,51
1	169,09	112,95	126,49	77,28	121,45
2	357,34	188,91	128,47	153,24	206,99
4	552,19	306,81	208,39	232,17	324,89
8	690,89	512,89	291,95	368,23	465,99
24	883,76	707,74	468,30	487,46	636,81

Tablo 4.78. 2 mg Donepezil HCl içeren tek tabakalı filmlerden 0,5 mA/cm² iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları (ng/mL)

Zaman (sa)	I05-D1	I05-D2	I05-D3	I05-D4	$\bar{X}$
0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
0,5	<LOQ	<LOQ	101,06	82,23	91,65
1	42,60	149,61	136,06	96,10	106,09
2	66,38	221,93	160,50	103,04	137,96
4	93,13	316,38	210,37	142,67	190,64
8	109,64	345,12	237,45	193,53	221,44
24	160,50	407,53	340,49	216,98	281,38



Şekil 4.23. Donepezil HCl 0,5 mA iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonlarına ait grafik (Mavi renk: 10 mg, Kırmızı renk: 2 mg Donepezil HCl içeren tek tabakalı filmlere aittir)



Şekil 4.24. Donepezil HCl 0,1 mA iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonlarına ait grafik (Kırmızı renk: 10 mg, Mavi renk: 2 mg Donepezil HCl içeren tek tabakalı filmlere aittir)

B. Memantin HCl

Tablo 4.79. 10 mg Memantin HCl içeren tek tabakalı filmlerden 0,1 mA/cm² iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları (µg/mL)

Zaman (sa)	I01-M1	I01-M2	I01-M3	I01-M4	$\bar{X}$
0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
0,5	0,47	<LOQ	<LOQ	1,07	0,77
1	0,80	0,81	1,52	1,24	1,09
2	1,11	1,56	2,47	1,41	1,64
4	1,49	1,79	2,86	1,53	1,92
8	1,75	1,88	3,23	1,73	2,15
24	2,83	2,44	4,77	1,99	3,00

Tablo 4.80. 2 mg Memantin HCl içeren tek tabakalı filmlerden 0,1 mA/cm² iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları (µg/mL)

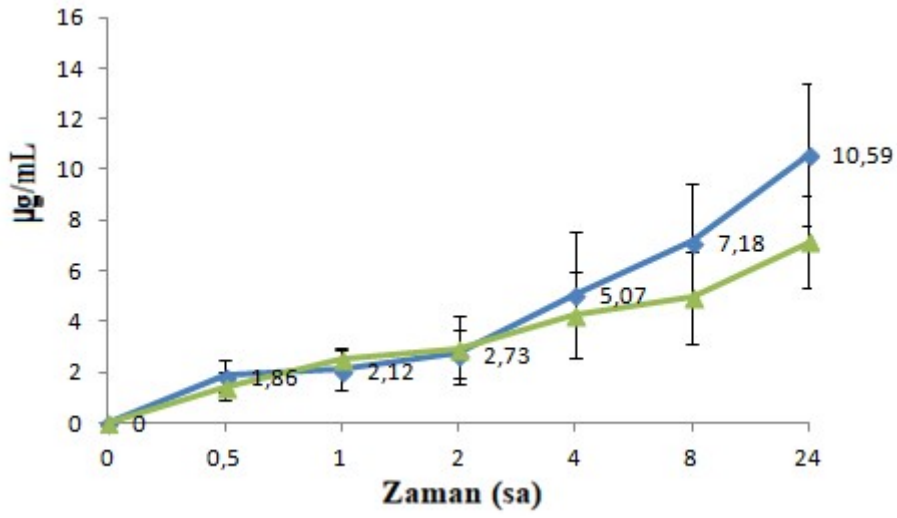
Zaman (sa)	I01-M1	I01-M2	I01-M3	I01-M4	$\bar{X}$
0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
0,5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
2	0,81	1,35	1,45	<LOQ	1,20
4	2,26	2,21	1,90	1,77	2,04
8	3,16	2,49	4,09	3,60	3,33
24	3,27	2,58	2,89	3,27	3,00

Tablo 4.81. 10 mg Memantin HCl içeren tek tabakalı filmlerden 0,5 mA/cm² iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları (µg/mL)

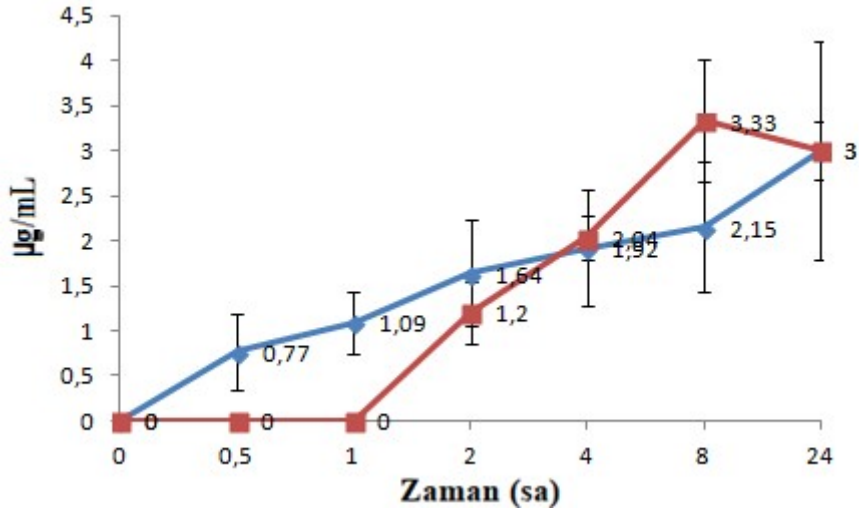
Zaman (sa)	I05-M1	I05-M2	I05-M3	I05-M4	$\bar{X}$
0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
0,5	1,85	1,57	2,77	1,23	1,86
1	2,68	1,48	3,01	1,32	2,12
2	3,22	1,80	3,83	2,07	2,73
4	5,52	2,65	8,33	3,77	5,07
8	6,70	9,33	8,46	4,21	7,18
24	13,20	11,40	11,15	6,59	10,59

Tablo 4.82. 2 mg Memantin HCl içeren tek tabakalı filmlerden 0,5 mA/cm² iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonları (µg/mL)

Zaman (sa)	I05-M1	I05-M2	I05-M3	I05-M4	$\bar{X}$
0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,00
0,5	1,82	<LOQ	1,04	<LOQ	1,43
1	2,90	<LOQ	2,40	2,18	2,50
2	3,62	0,90	3,23	3,80	2,89
4	4,76	2,05	4,05	6,19	4,26
8	4,55	2,68	5,68	6,86	4,94
24	6,66	5,93	6,16	9,85	7,15



Şekil 4.25. Memantin HCl 0,5 mA iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonlarına ait grafik (Mavi renk: 10 mg, Yeşil renk: 2 mg Memantin HCl içeren tek tabakalı filmlere aittir)



Şekil 4.26. Memantin HCl 0,1 mA iyontoforez uygulaması ile elde edilen kan konsantrasyonlarına ait grafik (Kırmızı renk: 10 mg, Mavi renk: 2 mg Memantin HCl içeren tek tabakalı filmlere aittir)

4.7.4. Hesaplanan Akı Değerleri

A. Donepezil HCl

Tablo 4.83. Donepezil HCl için elde edilen akı değerleri

Parametre	P-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ01-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ05-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ01-D $\bar{X}$ (2 mg)	İ05-D $\bar{X}$ (2 mg)
Akı değeri	0,0291	0,0906	0,1467	0,0338	0,0752

B. Memantin HCl

Tablo 4.84. Memantin HCl için elde edilen akı değerleri

Parametre	P-M $\bar{X}$ (10 mg)	İ01-M $\bar{X}$ (10 mg)	İ05-M $\bar{X}$ (10 mg)	İ01-M $\bar{X}$ (2 mg)	İ05-M $\bar{X}$ (2 mg)
Akı değeri	0,1126	6,1541	4,3784	1,0162	2,7912

4.7.5. Etkin Maddelerin Salın Kinetikleri

A. Donepezil HCl

Tablo 4.85. Donepezil HCl için elde edilen kinetik sonuçları (0 derece)

Parametre	P-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ01-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ05-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ01-D $\bar{X}$ (2 mg)	İ05-D $\bar{X}$ (2 mg)
k	3,0805	10,639	24,052	5,5559	8,9143
r ²	0,8969	0,9643	0,8131	0,815	0,6708

Tablo 4.86. Donepezil HCl için elde edilen kinetik sonuçları (1. derece)

Parametre	P-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ01-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ05-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ01-D $\bar{X}$ (2 mg)	İ05-D $\bar{X}$ (2 mg)
k	-0,0275	-0,0371	-0,0718	-0,039	-0,0846
r ²	0,0015	0,004	0,0225	0,0056	0,0405

Tablo 4.87. Donepezil HCl için elde edilen kinetik sonuçları (Higuchi)

Parametre	P-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ01-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ05-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ01-D $\bar{X}$ (2 mg)	İ05-D $\bar{X}$ (2 mg)
k	14,159	55,893	137,72	31,536	54,225
r ²	0,6879	0,9664	0,9679	0,9534	0,9011

Tablo 4.88. Donepezil HCl için elde edilen kinetik sonuçları (Korsmeyer-Peppas)

Parametre	P-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ01-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ05-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ01-D $\bar{X}$ (2 mg)	İ05-D $\bar{X}$ (2 mg)
k	0,8708	1,3809	0,9836	1,2498	0,7147
r ²	0,5269	0,6787	0,3673	0,6398	0,2447

Tablo 4.89. Donepezil HCl için elde edilen kinetik sonuçları (Hixson-Crowell)

Parametre	P-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ01-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ05-D $\bar{X}$ (10 mg)	İ01-D $\bar{X}$ (2 mg)	İ05-D $\bar{X}$ (2 mg)
k	0,1755	0,2116	0,2248	0,1649	0,1394
r ²	0,8969	0,5544	0,4531	0,4377	0,2967

B. Memantin HCl

Tablo 4.90. Memantin HCl için elde edilen kinetik sonuçları (0 derece)

Parametre	P-M $\bar{X}$ (10 mg)	I01-M $\bar{X}$ (10 mg)	I05-M $\bar{X}$ (10 mg)	I01-M $\bar{X}$ (2 mg)	I05-M $\bar{X}$ (2 mg)
k	0,0168	0,1048	0,4179	0,1259	0,2595
r ²	0,8941	0,6451	0,8339	0,5513	0,7244

Tablo 4.91. Memantin HCl için elde edilen kinetik sonuçları (1. derece)

Parametre	P-M $\bar{X}$ (10 mg)	I01-M $\bar{X}$ (10 mg)	I05-M $\bar{X}$ (10 mg)	I01-M $\bar{X}$ (2 mg)	I05-M $\bar{X}$ (2 mg)
k	-0,2272	-0,1649	-0,1205	-0,1385	-0,1198
r ²	0,0784	0,0568	0,0331	0,0498	0,0406

Tablo 4.92. Memantin HCl için elde edilen kinetik sonuçları (Higuchi)

Parametre	P-M $\bar{X}$ (10 mg)	I01-M $\bar{X}$ (10 mg)	I05-M $\bar{X}$ (10 mg)	I01-M $\bar{X}$ (2 mg)	I05-M $\bar{X}$ (2 mg)
k	0,0376	0,6308	2,3551	0,7745	1,5207
r ²	0,9058	0,8481	0,9614	0,7573	0,903

Tablo 4.93. Memantin HCl için elde edilen kinetik sonuçları (Korsmeyer-Peppas)

Parametre	P-M $\bar{X}$ (10 mg)	I01-M $\bar{X}$ (10 mg)	I05-M $\bar{X}$ (10 mg)	I01-M $\bar{X}$ (2 mg)	I05-M $\bar{X}$ (2 mg)
k	-0,3158	0,3082	0,657	0,3703	0,5165
r ²	0,1108	0,95	0,9183	0,869	0,8375

Tablo 4.94. Memantin HCl için elde edilen kinetik sonuçları (Hixson-Crowell)

Parametre	P-M $\bar{X}$ (10 mg)	I01-M $\bar{X}$ (10 mg)	I05-M $\bar{X}$ (10 mg)	I01-M $\bar{X}$ (2 mg)	I05-M $\bar{X}$ (2 mg)
k	0,1716	0,042	0,0707	0,0548	0,0575
r ²	0,4031	0,3393	0,4643	0,4273	0,3728

4.7.6. *in vitro-in vivo* Korelasyon Sonuçları (IVIVC)

Tablo 4.95. Donepezil HCl için elde edilen IVIV korelasyon sonuçları

Parametre	I01-D $\bar{X}$ (10 mg)	I05-D $\bar{X}$ (10 mg)	I01-D $\bar{X}$ (2 mg)	I05-D $\bar{X}$ (2 mg)
r ²	0,9039	0,6786	0,9104	0,8192

Tablo 4.96. Memantin HCl için elde edilen IVIV korelasyon sonuçları

Parametre	I01-M $\bar{X}$ (10 mg)	I05-M $\bar{X}$ (10 mg)	I01-M $\bar{X}$ (2 mg)	I05-M $\bar{X}$ (2 mg)
r ²	0,7366	0,878	0,7429	0,8357

5. TARTIŞMA

Etkin maddelere ait çözünürlük verileri her iki etkin maddenin suda pH'dan bağımsız olarak iyi çözünür özellikte olduğu göstermiştir. Çözücü sistemin hazırlanması için D1 ile D6 kodlu plasebo formüllerinde pH 2,2 tampon (Ph. Eur.):metanol (5:4 a/a) kullanılmış ancak fosforik asidin düşük sıcaklıklarda renksiz kristaller oluşturması, metanolün buharlaşma sıcaklığının düşük olması nedeniyle gözlenen yüzey tektür özellik uygunsuzlukları ve hammaddelerin asit ortamlardaki kararlılıkları göz önünde tutularak polimerlerin nötralizasyonu için 0,1N HCl kullanılmasına karar verilmiştir. D7 ile D12 kodlu plasebo formüllerinde çözücü sistemi olarak 0,1 N HCl:etanol (5:3 a/a) kullanılmıştır.

IR absorpsiyon spektrumu sonuçları, çalışmalarda etkin madde olarak kullanılan 1000432 seri numaralı donepezile ait IR spektrumu ile DPZ/RS/001/RD/05 seri numaralı donepezil referans standardına ait IR spektrumunun ve 1000137820 seri numaralı memantine ait IR spektrumu ile MMT-3/003/06 numaralı memantin referans standardına ait IR spektrumunun benzer olduğunu göstermiştir. HPLC miktar tayini analiz yöntemi sonuçları, çalışmalarda etkin madde olarak kullanılan 1000432 seri numaralı donepezile ait alıkonma süresi ile DPZ/RS/001/RD/05 seri numaralı donepezil referans standardına ait alıkonma süresinin ve 1000137820 seri numaralı memantine ait alıkonma süresi ile MMT-3/003/06 numaralı memantin referans standardına ait alıkonma süresinin benzer olduğunu göstermiştir. Tanıma testi olarak kullanılan IR absorpsiyon spektrumu ve HPLC miktar tayini analiz yöntemi alıkonma süreleri çalışmada kullanılan etkin maddeler ile ilgili referans standartların benzer olduklarını ve kimyasal analizlerinin gerçekleştirilecek formülasyona girecek olan miktarlarının hesaplanabileceğini göstermiştir. “Bölüm 3.2.6.”de etkin madde içeren formüllerde kullanılacak donepezil ve memantin miktarlarının belirlenmesinde ilgili etkin maddelerin miktar tayini analiz sonuçlarına göre hesaplanan miktarları kullanılmıştır.

D12 kodlu plasebo çözeltilerinde etkin maddelerin hesaplı miktarlarının çözündürülmesi ile elde edilen bulk çözeltiler ait kararlılık çalışmaları sonucunda “Tablo 4.11” ve Tablo 4.12” ile verilen sonuçlar her iki etkin maddenin de tek tabakalı filmlerin oluşturulması amacıyla çözücülerinin uçurulması süresince kararlı olduğunu göstermektedir.

DSC cihazı ile elde edilen termogramlar, donepezile ait 220-230 °C'deki endotermik ve 330-340 °C'deki ekzotermik piklerin ve memantine ait 320-330 °C endotermik ve 330-340 °C ekzotermik piklerin HPMC, EPO ve EC ile hazırlanan 1:1 a/a karışımlarında korunduğunu göstermektedir. Etkin maddelerin D12 kodlu plasebolara yüklenmesi ile elde edilen tek tabakalı filmlerde donepezile ait 220-230 °C endotermik ve memantine ait 330-340 °C ekzotermik

piklerin minör kaymalarla korunduğunu göstermektedir. Etkin maddeler ile kullanılan yardımcı maddeler arasında herhangi bir geçimsizlik tespit edilmemiştir.

“Tablo 3.6”da çalışmada elde edilmek istenen ideal tek tabakalı filmlere ait kalınlık, yüzey özellikleri, adeziflik, nem içerikleri ve ağırlık tekdüzelikleri verilmiştir. “Tablo 4.13”de verilen farklı döküm ağırlıkları kullanılarak uygun film kalınlıklarının elde edilmesi için yapılan çalışmada hedeflenen 400-500 μm kalınlık değerine D10 kodu ile belirtilen plasebo formülü ile yapılan 10 g döküm ağırlığı ile ulaşılmıştır. Kalıplardan elde edilen bireysel ortalamalar sırasıyla 416 μm , 424 μm , 438 μm olarak bulunmuş ve üç farklı kalıba ait ortalama $426 \pm 11 \mu\text{m}$ olarak hesaplanmıştır. “Tablo 4.14”de D7, D8, D9, D10 kodlu plasebo formülleri ile elde edilen tek tabakalı filmlerin tektür yüzey özelliklerine sahip olduğu belirlenmiştir. Plasebo formülleri ile elde edilen tek tabakalı filmlerin adezif özelliklerinin belirlenmesinde “FDA” tarafından yayınlanan “Assessing Adhesion With Transdermal and Topical Delivery Systems for ANDAs” kılavuzdan yararlanılmıştır. “Tablo 4.15”de verilen fiziksel gözleme dayalı puanlama sonucunda en uygun formüller “sadece bazı bölgelerde deri ile temas etmeyen bölgeleri bulunan” D7 ve D10 kodlu plasebo formülleri olarak belirlenmiştir. “Tablo 4.16”, “Tablo 4.17” ve “Tablo 4.18”de verilen farklı döküm ağırlıkları ile elde edilen nem içerikleri D10 kodlu plasebo formülü ile elde edilen sonuçların hesaplanan standart sapma ve kırılma kırılma özellikleri bakımından uygun nem içeriklerinin elde edilmesi için kullanılabileceğini göstermiştir. “Tablo 4.19”, “Tablo 4.20” ve “Tablo 4.21”de verilen farklı döküm ağırlıkları ile elde edilen ağırlık tekdüzeliği sonuçları D10 kodlu plasebo formülü ile elde edilen sonuçların hesaplanan standart sapma ve kırılma kırılma özellikleri bakımından uygun ağırlık tekdüzeliği sonuçlarının elde edilmesi için kullanılabileceğini göstermiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda ideal özelliklere en yakın ve en uzak olan formülasyonlar “Bölüm 3.2.5”de belirtilen şekilde skorlandırma yapılarak ideal formülasyon belirlenmiştir. “Tablo 4.22” ile verilen değerlendirme sonucunda en yüksek skorun D10 kodu plasebo formülü ile elde edildiği belirlenmiştir. Devam eden çalışmalarda etkin maddeler D10 kodlu plasebo formülüne yüklenmiştir. Etkin maddelerin D10 kodlu plasebo formülüne yüklenmesinin ardından görülen adezif özellikte azalma nedeniyle formülasyon optimize edilerek D12 kodlu final plasebo formülü elde edilmiştir.

“Bölüm 4.6”da belirtildiği şekilde etkin madde içeren D10, D11, D12 kodlu plasebo formülleri ile elde edilen tek tabakalı filmlerde kalınlık, ağırlık tekdüzeliği, nem içerikleri, fiziksel tektürlük, pH, adeziflik, gerilmeye karşı direnç, miktar tayini ve verim hesabı analizleri gerçekleştirilmiştir. “Tablo 4.24” ve “Tablo 4.25”de verilen farklı döküm ağırlıkları kullanılarak uygun film kalınlıklarının elde edilmesi için yapılan çalışmada hedeflenen 400-500 μm kalınlık değerine D12 kodu ile belirtilen plasebo formülü ile yapılan 10 g döküm ağırlığı ile ulaşılmıştır. Donepezil için kalıplardan elde edilen bireysel ortalamalar sırasıyla 419 μm , 421 μm , 419 μm olarak bulunmuş ve üç farklı kalıba ait ortalama $419 \pm 3 \mu\text{m}$ olarak hesaplanmıştır.

Memantin için kalıplardan elde edilen bireysel ortalamalar sırasıyla 436 μm , 414 μm , 442 μm olarak bulunmuş ve üç farklı kalıba ait ortalama $431 \pm 15 \mu\text{m}$ olarak hesaplanmıştır. Tek tabakalı filmlerin ağırlık tekdüzeliklerine ait “Tablo 4.26”, “Tablo 4.27”, “Tablo 4.28”de donepezil için ve “Tablo 4.29”, “Tablo 4.30”, “Tablo 4.31”de memantin için D12 kodlu plasebo formülü ile 10 g döküm ağırlığı ile elde edilen sonuçların hesaplanan standart sapma ve kırılmalık özellikleri bakımından uygun ağırlık tekdüzeliği sonuçlarının elde edilmesi için kullanılabileceğini göstermiştir. Tek tabakalı filmlerin nem içeriklerine ait “Tablo 4.32”, “Tablo 4.33”, “Tablo 4.34”de donepezil için ve “Tablo 4.35”, “Tablo 4.36”, “Tablo 4.37”de memantin için D12 kodlu plasebo formülü ile 10 g döküm ağırlığı ile elde edilen sonuçların hesaplanan standart sapma ve kırılmalık özellikleri bakımından uygun ağırlık tekdüzeliği sonuçlarının elde edilmesi için kullanılabileceğini göstermiştir. Tek tabakalı filmlerin fiziksel tektür özelliklerine ait “Tablo 4.38”de verilen sonuçlar D10, D11, D12 kodlu plasebo formülleri ile elde edilen tek tabakalı filmlerin tektür yüzey özelliklerine sahip olduğunu göstermektedir. Tek tabakalı filmlerin pH ölçümlerine ait sonuçların verildiği “Tablo 4.39”ve “Tablo 4.40”da D12 kodlu plasebo formülüne etkin maddelerin yüklenmesi ile elde edilen tek tabakalı filmelere ait pH aralığı donepezil için 6,9-7,3, memantin için 6,4-6,6 olarak bulunmuştur. D12 kodlu plasebo formülüne etkin maddelerin yüklenmesi ile elde edilen tek tabakalı filmelere ait adeziflik ve gerilme direnci ölçümleri 0-100 g ölçüm aralığına ve 0,01 g hassasiyete sahip Texture CT3 cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Adeziflik sonuçlarını içeren “Tablo 4.41” ve “Tablo 4.43”de 10 mg/film ve 2 mg/film etkin madde içeren tek tabakalı filmlere ait adeziflik sonuçları donepezil için sırasıyla $0,67 \pm 0,15$ ve $0,37 \pm 0,12$ N olarak, memantin için sırasıyla $0,30 \pm 0,10$ ve $0,13 \pm 0,06$ N olarak bulunmuştur. Gerilme direnci sonuçlarını içeren “Tablo 4.45” ve “Tablo 4.47”de 10 mg/film ve 2 mg/film etkin madde içeren tek tabakalı filmlere ait adeziflik sonuçları donepezil için sırasıyla $17,47 \pm 1,89$ ve $27,93 \pm 3,07$ N olarak, memantin için sırasıyla $11,30 \pm 0,79$ ve $16,43 \pm 1,68$ N olarak bulunmuştur. Miktar tayini sonuçlarını içeren “Tablo 4.49” ve “Tablo 4.50”de 10 mg/film etkin madde yüklü tek tabakalı filmlerde donepezil için bireysel ortalamalar sırası ile $94,0 \pm 11,4$, $104,3 \pm 11,9$, $99,3 \pm 10,1$ ve üç farklı kalıba ait ortalamanın $99,2 \pm 10,7$ olarak, memantin için bireysel ortalamalar sırası ile $96,7 \pm 11,2$, $103,0 \pm 6,0$, $100,0 \pm 14,9$ ve üç farklı kalıba ait ortalamanın $99,9 \pm 10,2$ olarak elde edilmiştir. “Tablo 4.51”de tartımı yapılan pratik etkin madde miktarı ve elde edilen analiz sonuçlarından hesaplanan verimler donepezil ve memantin için sırasıyla $98,9$ ve $99,8$ olarak elde edilmiştir.

Donepezil ve memantin için farklı konsantrasyonlarını içeren tek tabakalı filmlerde etkin madde performanslarının formülasyona bağlı faktörlerden etkilenmemesi amacıyla her iki etkin madde de D12 kodlu plasebo formülüne yüklenmiştir. Polimer matris olarak EPO, HPMC ve EC kullanılmıştır. Uygun özellikte tek tabakalı filmlerin elde edilmesinde bireysel olarak

kırılgenlik, elastikiyet ve adeziflik özellikleri üzerinde direkt olarak etkili olan bu polimerlerin optimum miktarları belirlenmiştir. Tek tabakalı filmlerde kırılgen özellik için HPMC, elastik özellik için EPO, adezif özellik için EC kullanılmıştır. Tek tabakalı filmlerde nem içeriklerinin korunması için gliserol, plastikleştirici ajan olarak da PEG ilave edilmiştir. Donepezil için D12 kodlu plasebo formülüne yükleme kapasitesi 10 mg/2,55 cm² olarak bulunmuş ve her iki etkin madde için en yüksek konsantrasyon 10 mg olarak uygulanmıştır. Etkin madde yer tutması nedeniyle düşük etkin madde konsantrasyonuna sahip olan tek tabakalı filmler göreceli olarak yüksek etkin madde konsantrasyonuna sahip olan tek tabakalı filmlere kıyasla daha fazla adezif özellik göstermektedir.

D12 kodlu plasebo formülüne etkin maddelerin farklı konsantrasyonlarda yüklenmesi ile elde edilen in vitro salım çalışmaları “Tablo 3.11”de belirtilen yöntem ve “Tablo 3.3” ve “Tablo 3.4” ile verilen valide edilmiş ilgili analiz yöntemleri kullanılarak elde edilmiştir. Çalışmalar tek tabakalı filmler direkt olarak çözünme ortamı ile temas etmesi sağlanarak ve tek tabakalı filmlerin etrafı tüp şekilli 50 kDa por çapına sahip selofan membranlar ile sarılarak iki farklı şekilde gerçekleştirilmiştir. Tek tabakalı filmler direkt olarak çözünme ortamı ile temas ettiği çalışmada, 10 mg donepezil içeren tek tabakalı filmlerden 4 saat sonunda ortalama %95,22 etkin madde salımı gözlenmiş ve 8. saatten itibaren filmlere yüklenen donepezilin tamamı salınmıştır. 2 mg donepezil içeren tek tabakalı filmlerden 4 saat sonunda ortalama %90,67 etkin madde salımı gözlenmiş ve 2. saatten itibaren filmlere yüklenen donepezilin tamamı salınmıştır. 10 mg memantin içeren tek tabakalı filmlerden 4 saat sonunda ortalama %96,58 etkin madde salımı gözlenmiş ve 8. saatten itibaren filmlere yüklenen memantin tamamı salınmıştır. 2 mg memantin içeren tek tabakalı filmlerden 4 saat sonunda ortalama %95,28 etkin madde salımı gözlenmiş ve 8. saatten itibaren filmlere yüklenen memantin tamamı salınmıştır. Salım hızının düşük konsantrasyonda etkin madde içeren filmlerde yüksek konsantrasyonda etkin madde içeren filmlere kıyasla yüksek olmasının birim etkin madde başına düşen çözücü hacminin fazla olmasından kaynaklandığı belirlenmiştir. 50 kDa por genişliğine sahip selofan membran salımı baskılamak amacıyla kullanıldığı çalışmalarda, 10 mg donepezil içeren tek tabakalı filmlerden 24 saat sonunda ortalama %19,38 etkin madde salımı, 2 mg donepezil içeren tek tabakalı filmlerden 24 saat sonunda ortalama %43,18 etkin madde salımı gözlenmiştir. 10 mg memantin içeren tek tabakalı filmlerden 24 saat sonunda ortalama %19,70 etkin madde salımı, 2 mg memantin içeren tek tabakalı filmlerden 24 saat sonunda ortalama %50,00 etkin madde salımı gözlenmiştir. Selofan membran kullanımı ile salımın baskılandığı görülmüştür. Selofan membran kullanımı ile düşük konsantrasyonda etkin madde içeren filmlerden yüksek konsantrasyonda etkin madde içeren filmlere kıyasla çözünme ortamına geçişin daha yüksek olmasının selofan membran içerisinde oluşan minör çözünme ortamının aşırı doygun hale

gelmesi nedeniyle daha fazla etkin maddenin salınarak ortama geçişine engel olduğu düşünülmektedir.

Deney sonunda deneğin sırtından alınan tek tabakalı filmlerden elde edilen bakiye etkin madde miktarları, 10 mg/film donepezil yüklü tek tabakalı filmlerde pasif difüzyon sonunda ortalama $94,15 \pm 4,80$, 1 saat süre ile 0,1mA/cm² anodal iyontoforez ön uygulaması sonunda ortalama $81,51 \pm 8,89$, 1 saat süre ile 0.5mA/cm² anodal iyontoforez ön uygulaması sonunda ortalama $55,10 \pm 6,34$ olarak elde edilmiştir. 2 mg/film donepezil yüklü tek tabakalı filmlerde 1 saat süre ile 0,1mA/cm² anodal iyontoforez ön uygulaması sonunda ortalama $53,96 \pm 23,22$, 1 saat süre ile 0.5mA/cm² anodal iyontoforez ön uygulaması sonunda ortalama $35,44 \pm 5,98$ olarak elde edilmiştir. 10 mg/film memantin yüklü tek tabakalı filmlerde pasif difüzyon sonunda ortalama $91,68 \pm 3,90$, 1 saat süre ile 0,1mA/cm² anodal iyontoforez ön uygulaması sonunda ortalama $64,34 \pm 9,23$, 1 saat süre ile 0.5mA/cm² anodal iyontoforez ön uygulaması sonunda ortalama $41,04 \pm 5,08$ olarak elde edilmiştir. 2 mg/film memantin yüklü tek tabakalı filmlerde 1 saat süre ile 0,1mA/cm² anodal iyontoforez ön uygulaması sonunda ortalama $48,16 \pm 17,96$, 1 saat süre ile 0.5mA/cm² anodal iyontoforez ön uygulaması sonunda ortalama $43,90 \pm 10,91$ olarak elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar iyontoforez uygulaması ile deriden geçen etkin madde miktarında pasif difüzyon ile kıyaslandığında artış gözlemlendiğini göstermektedir. Memantin ile elde edilen kan konstrasyonlarının, donepezil ile elde edilenlerle kıyasta daha düşük olmasının donepezilin deri tabakaları tarafından bağlanma potansiyelinin daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir^(10,14).

Etkin maddelerin *in vivo* davranışlarını değerlendirmek ve kıyaslama yapabilmek amacı ile etkin maddeler 10 mg IV bolus dozda Grup B1 ve B2 deneklere verilmiştir. Donepezil ve Memantin için denekler (sıçan) üzerinde yapılan pre-klinik çalışmalarda 40 mg/kg/gün oral doz uygulamasının her iki etkin madde için de 1 yılı aşan sürekli kullanım boyunca herhangi bir karsinojenik etkiye sebep olmadığı bildirilmektedir^(5,16). Çalışmamızda kullanılan en düşük denek ağırlığı üzerinden hesaplandığında kullanılabilecek oral doz en az 14 mg/gün olarak hesaplanmıştır. Bu nedenle IV uygulama için 10 mg'lık bolus enjeksiyon tercih edilmiştir. Uygulama sonunda "Bölüm 4.7.3"de belirtilen sebeplerden donepezil ile yapılan çalışma tamamlanamamıştır. Elde edilen tüm *in vivo* sonuçlar aşağıda verilen tablo 5.1 ve 5.2 ile özetlenmiştir.

Tablo 5.1. Donepezil için elde edilen *in vivo* kan konsantrasyonları (ng/mL)

Zaman (saat)	Pasif (10 mg)	0.1mA/cm ² (10 mg)	0.5mA/cm ² (10 mg)	0.1mA/cm ² (2 mg)	0.5mA/cm ² (2 mg)
0	-	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	-	0,00	76,51±32,04	0,00	91,65±13,31
1	-	39,88±8,12	121,45±37,94	36,99*	106,09±48,04
2	-	57,13±15,13	206,99±103,26	40,73±1,82	137,96±68,07
4	-	81,41±9,09	324,89±157,23	70,51±16,90	190,64±96,62
8	-	112,37±15,17	465,99±175,71	98,75±27,09	221,44±98,03
24	73,56±10,91	268,33±35,79	636,82±197,24	143,74±49,29	281,38±112,79

Tablo 5.2. Memantin için elde edilen *in vivo* kan konsantrasyonları (µg/mL)

Zaman (saat)	IV bolus (10 mg)	Pasif (10 mg)	0.1mA/cm ² (10 mg)	0.5mA/cm ² (10 mg)	0.1mA/cm ² (2 mg)	0.5mA/cm ² (2 mg)
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	76,21±47,21	0,00	0,77±0,42	1,86±0,66	0,00	1,43±0,55
1	39,66±33,67	0,036±0,004	1,09±0,35	2,12±0,85	0,00	2,50±0,37
2	16,48±20,40	0,069±0,010	1,64±0,59	2,73±0,96	1,20±0,34	2,89±1,35
4	12,87±9,16	0,094±0,014	1,92±0,64	5,07±2,47	2,04±0,24	4,26±1,72
8	8,21±1,50	0,134±0,014	2,15±0,72	7,18±2,26	3,33±0,68	4,94±1,78
24	1,59±0,85	0,166±0,038	3,00±1,22	10,59±2,82	3,00±0,33	7,15±1,83

Elde edilen *in vivo* sonuçlar her iki etkin madde için de elektrik akımı ve konsantrasyon artışına bağlı olarak kan konsantrasyonlarında artış sağlandığı görülmektedir. 10 mg IV bolus uygulaması sonunda Memantin için deneklerden elde edilen pik plazma konsantrasyonu 0,5. saatte 76,21 µg/mL'dir. Pik plazma konsantrasyonundan hareketle hesaplanan teorik dağılım hacmi 13,12 mL olarak hesaplanmıştır. Çalışmada elde edilen en yüksek plazma konsantrasyonu 10 mg Memantin yüklenmiş tek tabakalı filmlerle gerçekleştirilen ve 1 saat süre ile 0,5 mA/cm² iyontoforez ön uygulamasının yapıldığı uygulama ile elde edilmiştir. Sistemik dolaşıma geçen en yüksek etkin madde oranı Memantin için yaklaşık olarak %9 olarak hesaplanmıştır. *in vivo* sonuçlara göre memantin için elde edilen plazma konsantrasyonları donepezil ile kıyasta yüksek bulunmuştur. Bu durumun, Memantin'in daha lipofilik ve daha düşük molekül ağırlığına sahip olması, Donepezil'in ise daha hidrofilik olması nedeniyle derinin hidrofilik tabakaları tarafından sistemik dolaşıma geçişinin kısıtlanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. 1 saat süre ile 0,5 mA/cm² iyontoforez ön uygulamasının yapıldığı çalışma sonunda deriden geçiş için hazır bulunan etkin madde miktarlarının daha düşük olmasına rağmen Memantin için daha yüksek geçişin elde edilmesi de bu savı desteklemektedir^(4, 9, 12, 14, 17).

“Bölüm 3.2.8.4”de belirtildiği şekilde hesaplanan akı değerleri tablo 5.3 ile özetlenmiştir. Memantin için elde edilen akı değerleri yüksek kan konsantrasyonlarını destekleyecek şekilde donepezil ile kıyasla yüksek olarak hesaplanmıştır.

Tablo 5.3. Hesaplanan Akı Değerleri

Uygulama	Donepezil	Memantin
Pasif (10 mg)	0,0291	0,1126
0.1mA/cm ² (10 mg)	0,0906	6,1541
0.5mA/cm ² (10 mg)	0,1467	4,3784
0.1mA/cm ² (2 mg)	0,0338	1,0162
0.5mA/cm ² (2 mg)	0,0752	2,7912

“Bölüm 3.2.8.2”de belirtildiği şekilde hesaplanan kinetik kolerasyon katsayıları tablo 5.4 ve 5.5 ile özetlenmiştir.

Tablo 5.4. Donepezil İçin Hesaplanan Kinetik Kolerasyon Katsayıları

Uygulama	0 derece	1. derece	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	Hixson-Crowell
Pasif difüzyon (10 mg)	0,8969	0,0015	0,6879	0,5269	0,8969
0.1mA/cm ² (10 mg)	0,9643	0,0040	0,9664	0,6787	0,5544
0.5mA/cm ² (10 mg)	0,8131	0,0225	0,9679	0,3673	0,4531
0.1mA/cm ² (2 mg)	0,8150	0,0056	0,9534	0,6398	0,4377
0.5mA/cm ² (2 mg)	0,6708	0,0405	0,9011	0,2447	0,2967

Tablo 5.5. Memantin İçin Hesaplanan Kinetik Kolerasyon Katsayıları

Uygulama	0 derece	1. derece	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	Hixson-Crowell
Pasif difüzyon (10 mg)	0,8941	0,0784	0,9058	0,1108	0,4031
0.1mA/cm ² (10 mg)	0,6451	0,0568	0,8481	0,9500	0,3393
0.5mA/cm ² (10 mg)	0,8339	0,0331	0,9614	0,9183	0,4643
0.1mA/cm ² (2 mg)	0,5513	0,0498	0,7573	0,8690	0,4273
0.5mA/cm ² (2 mg)	0,7244	0,0406	0,9030	0,8375	0,3728

Elde edilen kinetik sonuçları, Donepezil’in pasif difüzyon ve iyontoforez uygulamalarında Higuchi modeline uyum sağladığını ve sistemik dolaşıma geçişi için ana etkenin difüzyon olduğunu göstermektedir. Memantin’in pasif difüzyon ve 0,5 mA/cm² iyontoforez uygulamalarında Higuchi modeline uyum sağladığı, 0,1 mA/cm² iyontoforez uygulamalarında ise Korsmeyer-Peppas modeline uyum sağladığı ve sistemik dolaşıma geçişi için ana etkenin birden fazla olduğunu göstermektedir. Memantin için difüzyonun yanı sıra elektromigrasyon etkisinin de görüldüğü ve Donepezil’in sistemik dolaşıma geçişinde artan akım değerlerinin etkisinin gözlenmediği görülmektedir ve artan iyontoforetik akıya karşı etkin maddelerin verdiği yanıtın farklı olabileceği savını desteklemektedir^(6, 9,14).

“Bölüm 3.2.8.5”de belirtildiği şekilde hesaplanan *in vitro* – *in vivo* korelasyon katsayıları tablo 5.6 ile özetlenmiştir. Elde edilen korelasyon sonuçları IVIVC sonuçlarının optimize edilebilir olduğunu göstermektedir.

Tablo 5.6. IVIVC sonuçları

Uygulama	Donepezil	Memantin
0.1mA/cm ² (10 mg)	0,9643	0,7366
0.5mA/cm ² (10 mg)	0,8131	0,8780
0.1mA/cm ² (2 mg)	0,8150	0,7429
0.5mA/cm ² (2 mg)	0,6708	0,8357

Seçilen model etkin maddeler fizikokimyasal özellikleri ve *in vitro* salım profilleri açısından bakımından benzerdir. Memantin, deriden geçiş açısından donepezile olan üstünlükleri düşük molekül moleküler ağırlığa ve daha yüksek partitasyon katsayısına sahip olmasıdır. Elde edilen sonuçlar fiziksel penetrasyon artırıcı olarak kullanılan iyontoforetik akım şiddeti değişikliklerinin ve konsantrasyonun etkilerinin Memantin için Donepezil’e nazaran daha etkin olduğu görülmüştür. Bu tez çalışmasında, model etkin maddelerin deriden geçişlerinde konsantrasyon ve akım şiddeti ile artış sağlanabileceği ancak etkin maddelerin fizikokimyasal özelliklerinin bu artışın niceliğinin belirlenmesi açısından önemli bir rolü olduğu ve transdermal uygulama için her etkin maddenin bireysel olarak değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Adrian C., Brian W., Penetration enhancers. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 128–137. 2012.
2. Chauhan N.P.S., Pathak A.K., Bhanat K., Ameta R., Rawal M.K., Punjabi P.B, *Pharmaceutical Polymers. Encyclopedia of Biomedical Polymers and Polymeric Biomaterials*. S5929-5942. 2016.
3. Di Stefano A., Iannitelli A., Laserra S., Sozio P. Drug delivery strategies for Alzheimer's disease treatment. *Expert Opin Drug Deliv*. May;8(5):581-603. 2011.
4. Giri T.P, Chakrabarty S, Ghosh B. Transdermal reverse iontophoresis: A novel technique for therapeutic drug monitoring. *Journal of Controlled Release*. S 30–38. 2017.
5. Godin B, Touitou E. Transdermal skin delivery: Predictions for humans from in vivo, ex vivo and animal models *Advanced Drug Delivery Reviews*. S 1152–1161. 2007.
6. Gouda R., Baishya H., Qing Z. Application of Mathematical Models in Drug Release Kinetics of Carbidopa and Levodopa ER Tablets. *Journal of Developing Drugs*. 6:2. 2017.
7. Hao Y, Li W, Zhou X, Yang F, Qian Z. Microneedles-Based Transdermal Drug Delivery Systems. *Journal of Biomed Nanotechnology*. 1581-1597. 2017.
8. ICH Q2(R1) “Validation of Analytical Procedures”
9. Kalia Y.N., Naik A., Garrison J., Hadgraft G. R. Iontophoretic drug delivery *Advanced Drug Delivery Reviews* 619– 658. 2004.
10. Kielhorn J., Melching-Kollmus S., Mangelsdorf I. Dermal absorption (Environmental health criteria; 235). WHO Library. 2006.
11. Lade U.B, Amgaonkar Y.M, Chikhale R.V, Biyani D.M, Umekar M.J. Design, Formulation and Evaluation of Transdermal Drug Delivery System of Budesonide. *Pharmacology & Pharmacy*. S199-211. 2011.
12. Musazzi U.M., Casiraghi A., Franzé S., Cilurzon F., Minghetti P. Data on the determination of human epidermis integrity in skin permeation experiments by electrical resistance. *Data in Brief*. S1258–1262. 2018.

13. Münch S., Wohlrab J., Neubert R.H.H. Dermal and transdermal delivery of pharmaceutically relevant macromolecules. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 235–242. 2017.
14. Oh S.Y, Guy R.H, Effects of iontophoresis on the electrical properties of human skin in vivo. *International Journal of Pharmaceutics*. 137-142. 1995.
15. Rastogi V., Yadav P. Transdermal drug delivery system: An overview. *Asian Journal of Pasific*. S161-170. 2012.
16. Sachdevaa V., Kimb H.D., Fridenb P.M., Bangaa A.K., Iontophoresis mediated in vivo intradermal delivery of terbinafine hydrochloride. *International Journal of Pharmaceutics*. S112–118. 2010.
17. Singh P, Maibach H.I, Iontophoresis: an alternative to the use of carriers in cutaneous drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. S 379-394. 1996.
18. Thanh-Nga T. Cutaneous Drug Delivery. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. S67–S69. 2013.
19. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research. DRAFT GUIDANCE for Industry. Assessing Adhesion With Transdermal and Topical Delivery Systems for ANDAs. October 2018.
20. World Health Organization. Dementia fact sheet. 2017.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs362/en>. Accessed December 12, 2017.
21. Yang Y., Manda P., Pavurala N., Khan M.A., Krishnaiah Y.S.R. Development and validation of in vitro–in vivo correlation (IVIVC) forestradiol transdermal drug delivery system. *Journal of Controlled Release*. S58–66. 2015.
22. Yuqi Z., Yu Kahkoska A. R., Wang J., Buse B. J., Gu Z. Advances in transdermal insulin delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Article in poress (XXX). 2018.
23. Wise D.L. Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology. Cambrige Scientific, Inc. Copyright 2000 by Deckker M.

ETİK KURUL KARARI



**T.C.
BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
KARAR METNİ**

SAYI: 2018/223

20.09.2018

KONU: Sn. Prof. Dr. Gülgün YENER

Sayın, Prof. Dr. Gülgün YENER

“Model etkin maddelerin deri yoluyla uygulamalarında taşıyıcı bir sistemin geliştirilmesi ve transdermal akılarının konsantrasyon-akım gradyanı ile ayarlanması” başlıklı projenize ait başvurunuz 20.09.2018 tarihinde yapılan Yerel Etik Kurul toplantısında değerlendirilmiş ve onanmıştır.

Doç. Dr. Fahir AKBAŞ
Etik Kurul Başkanı

Prof. Dr. Ahmet BELCE
Üye
KATILMADI

Prof. Dr. Erhan AYSAN
Üye

Prof. Dr. İsmail MERAL
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Fatma BAHADORI
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Ömer UYSAL
Üye

Vet. Hek. Metin ÇELİKTEM
Üye

Harun SARIKAMIŞ
Üye

Senife GÖNÜD
Üye

- Etik kurulunuzdan onam alan her proje için, çalışma başlamadan üç ay önce çalışılacak hayvan rezervinin uygunluğunu (tör, yaş, cinsiyet) belirlemek amacıyla Deney Hayvanları Laboratuvarına başvurulmalıdır.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Evrin Atılay	Soyadı	Takmaz
Doğ.Yeri	Kayseri	Doğ.Tar.	21.04.1981
Email	atilay.takmaz@gmail.com	Uyruğu	TC

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji A.b.D	2019
Yük.Lis.	Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji A.b.D	2013
Lisans	Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi	2004
Lise	Malatya, Fen Lisesi	1999

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Ar-Ge Farm. Geliş. Müd. Yrd.	DEVA HOLDİNG A.Ş.	2018-devam
2.	Ar-Ge Farm. Geliş. Proje Lid.	DEVA HOLDİNG A.Ş.	2013-2018
3.	Ar-Ge Farm. Geliş. Proje Yön.	DROGSAN İLAÇLARI A.Ş.	2010-2013

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	-	-

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	-	-	-

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	Çok iyi
Minitab	İyi
SAP	İyi

Yayınlari/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Takmaz E.A., İnal Ö., Baykara T. Studies on Transdermal Delivery Enhancement of Zidovudine. AAPS PharmSciTech. S88-97. 2009.

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Tiyatro, Basketbol