GÜLER SARIBEY

← Adınızı soyadınızı giriniz

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya (sol yandaki gibi) olacak .

↓

YÜKSEK LİSANS TEZİ

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ; Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

İSTANBUL-2013

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

ETODOLAK IN TOPİKAL MİKROEMÜLSİYON FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ VE İN VİTRO KARAKTERİZASYONU ÇALIŞMALARI

GÜLER SARIBEY

DANIŞMAN
DOÇ. DR. SEVGİ GÜNGÖR

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI /
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2013

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Farmasötik Teknoloji Programında Güler SARIBEY tarafından hazırlanan "Etodolak'ın Topikal Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Geliştirilmesi ve İn Vitro Karakterizasyonu Çalışmaları" başlıklı Yülsek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

10 / 06 / 2013

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı) İmzası

1.Doç. Dr. Sevgi GÜNGÖR(Danışman), İst. Ünv., Eczacılık Fak., Farmasötik Teknoloji ABD.

2.Prof. Dr.Ahmet O. ARAMAN, İst. Ünv., Eczacılık Fak., Farmasötik Teknoloji ABD.

3.Prof. Dr. Yıldız ÖZSOY-ERGİNER, İst. Ünv., Eczacılık Fak., Farmasötik Teknoloji ABD.

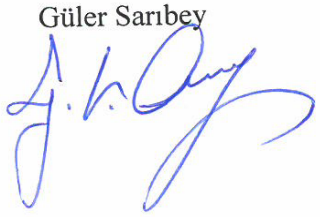
4.Doç. Dr. Alper OKYAR, İst. Ünv., Eczacılık Fak., Farmakoloji ABD.

5.Yrd. Doç.Dr. M.Sedef ERDAL, İst. Ünv., Eczacılık Fak., Farmasötik Teknoloji ABD.

BEYAN

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

Güler Sarıbey



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimi planlayıp yöneten, çalışmamın her aşamasında yol gösteren ve karşılaştığım bütün sorunların çözülmesine yardımcı olan, anlayışını, ilgisini, olumlu düşüncelerini ve manevi desteğini esirgemeyen, değerli hocam Sayın **Doç. Dr. Sevgi GÜNGÖR'**e

Yardım ve desteklerinden dolayı İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı ve Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın **Prof. Dr. Ahmet ARAMAN'**a,

Tez çalışmam boyunca beni destekleyen ve düşüncelerini dile getirerek beni onurlandıran Sayın **Prof. Dr. Yıldız ÖZSOY-ERGİNER'**e

Özellikle ATR-FTIR ile ilgili çalışmalarımda bana olan katkı, yardım ve desteklerinden dolayı güleryüzünü esirgemeyen Sayın **Yrd. Doç. Dr. Sedef ERDAL'**a

Çalışmalarım sırasında yardım ve desteklerinden dolayı Sayın **Doç. Dr. Erdal CEVHER'**e, Güleryüzü ve ilgisini her daim gösteren Sayın **Yrd. Doç. Dr. Ayca YILDIZ PEKÖZ'**e

Çalışmalarım sırasında bana olan destek ve yardımlarından dolayı araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Etkin maddemin teminini sağlayan **Nobel İlaç AŞ'**ye ve **Gattefossé** ürünlerinin teminini sağlayan **Kura Kimyevi Maddeler Ticaret A.Ş'**ye

Ve son olarak her anımda, özellikle zor günlerimde hoşgörü ve sevgileriyle bana destek olan **AİLEME,**

TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 19204

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI……..…….İİ
BEYAN.....İİİ
İTHAF..... İV
TEŞEKKÜR.....V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
TABLOLAR LİSTESİ.....X
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... XİV
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... XVİİ
ÖZET ..... XİX
ABSTRACT.....XX
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. Deri Hakkında Genel Bilgiler 4
2.1.1. Derinin Yapısı ve Genel Özellikleri.....4
2.1.2. Derinin Tabakaları 5
2.1.2.1. Hipodermis.....5
2.1.2.2. Dermis.....6
2.1.2.3. Epidermis 6
2.1.3. Derinin Bariyer Fonksiyonunu Etkileyen Diğer Faktörler 7
2.1.4. Deriden Emilim.....7
2.1.5. Deriden Geçiş Kinetiği.....9
2.1.6. Deriden Geçişin Değerlendirilmesinde Kulanılan Deri Modelleri 10
2.2. Deri Yolu ile İlaç Uygulamalarına Ait Genel Bilgiler.....11
2.2.1. İlaçlarınTopikal / Transdermal Uygulamanın Avantajları.....11
2.2.2. Topikal/Transdermal Uygulamada İlaçların Deriden Geçişini Etkileyen Faktörler.....13
2.3. Antienflamatuvar İlaçlar Hakkında Genel Bilgiler.....14
2.3.1. Antienflamatuvar İlaçlar 14
2.3.2. NSAI İlaçların Etki Mekanizması.....15
2.3.3. NSAI İlaçların Sınıflandırılması 17

2.3.4. NSAI İlaçlarınYan Etkileri 17
2.3.5. NSAI İlaçların Diğer Farmakolojik Etkileri 19
2.3.6. NSAI İlaçların Topikal Uygulanması 19
2.4. Etodolak Hakkında Genel Bilgiler 21
2.4.1. Etodolak'ın Yapısı ve Özellikleri 21
2.4.2. Etodolak'ın Farmakolojik Özellikleri 22
2.4.2.1. Endikasyonları Yan Etkileri Kullanım Dozu 22
2.4.2.2. Farmakokinetik Özellikleri 22
2.4.3. Diğer Farmakolojik Etkileri ve Kullanım Alanları 24
2.4.4. Etodolak'ın Farklı Uygulama Yolları ile İlgili Literatürlerdeki Kayıtlı Çalışmalar 25
2.5. Mikroemülsiyonlar Hakkında Genel Bilgiler 27
2.5.1. Mikroemülsiyonların Tarihçesi ve Tanımı 27
2.5.2. Mikroemülsiyonların Yapısı ve Özellikleri 27
2.5.3. Mikroemülsiyonların Formülasyonu.....29
2.5.3.1. Yağ Fazının Seçilmesi.....29
2.5.3.2. Sulu Fazın Seçilmesi 30
2.5.3.3. Sürfaktan ve Ko-Sürfaktanın Seçilmesi 30
2.5.4. Mikroemülsiyonların Hazırlanması 31
2.5.5. MikroemülsiyonlarınKarakterizasyonu 33
2.5.6. Mikroemülsiyonların Veriliş Şekilleri 34
2.5.7. Mikroemülsiyonların Avantajları.....34
2.5.8. Mikroemülsiyonların Dezavantajları 36
2.5.9. Mikroemülsiyonların Topikal Uygulanması 36
2.5.10. Mikroemülsiyonların Deriden Geçişi Arttırma Mekanizması 37
2.5.10.1. Mikroemülsiyonların Deri Üzerindeki Etkilerinin Infrared (IR) Spektroskopisi ile İncelenmesi.....40
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....42
3.1. GEREÇLER.....42
3.1.1. Kulullanılan Kimyasal Maddeler.....42
3.1.2. Kullanılan Aletler ve Malzemeler.....43
3.1.2.1. Kullanılan Aletler.....43
3.1.2.2. Kullanılan Malzemeler.....43

3.1.2.3. Kullanılan Bilgisayar Programları 44
3.2. YÖNTEM 44
3.2.1. Etodolak'ın Infrared (IR) Spektrumu 44
3.2.2. Analitik Yönteminin Geçerlilik Testi (Validasyonu) 44
3.2.2.1. Etodolak'ın Ultra-Viyole (UV) Spektrofotometresi ile Miktar Tayin Yönteminin Geliştirilmesi ve Geçerlilik Testi (Validasyonu) 45
3.2.2.2. Etodolak'ın Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi (HPLC) ile Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesi ve Geçerlilik Testi (Validasyonu) 46
3.2.3. Çözünürlük Çalışması 49
3.2.4. Ön Formülasyon Çalışmaları 50
3.2.5. Mikroemülsiyonların Hazırlanması 51
3.2.6. Üçgen Faz Diyagramlarının Oluşturulması 52
3.2.7. Seçilen Mikroemülsiyonlara Etodolak Yüklenmesi 52
3.2.8. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Seçilmesi 53
3.2.9. Seçilen Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar 53
3.2.9.1. Refraktif Indeks Değerlerinin Ölçülmesi 53
3.2.9.2. Damlacık Boyutunun İncelenmesi 53
3.2.9.3. Polidispersite Indeks Değerinin Ölçülmesi 54
3.2.9.4. pH'nın İncelenmesi 54
3.2.9.5. İletkenliğin İncelenmesi 54
3.2.9.6. Reolojik Özelliğin İncelenmesi 54
3.2.9.7. Optik İzotropinin Değerlendirilmesi 54
3.2.9.8. Mikroemülsiyonların cryo-TEM Görüntüleri 55
3.2.9.9. Stabilitenin İncelenmesi 55
3.2.10. *İn vitro* Salım Çalışması 55
3.2.11. *İn vitro* Permeasyon Çalışması 55
3.2.12. ATR FTIR Spektroskopisi 56
4. BULGULAR 58
4.1. Etodolak'ın Infrared (IR) Spektrumu 58
4.2. Analitik Yöntemin Geçerlilik Testi (Validasyonu) 58
4.2.1. Etodolak'ın UV Spektrofotometresi ile Miktar Tayini Yönteminin Geçerlilik Testi (Validasyonu) 58

4.2.2. Etodolak'ın HPLC ile Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesi ve Geçerlilik Testi (Validasyonu) 61
4.3. Çözünürlük Çalışması 70
4.4. Ön Formülasyon Çalışmaları 71
4.5. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması ve Üçgen Faz Diyagramlarının Oluşturulması 74
4.6. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Seçilmesi 77
4.7. Seçilen Mikroemülsiyon Formülasyonlarına Etodolak Yüklenmesi 78
4.8. Seçilen Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar 79
4.8.1. Refraktif Indeksin Değerlendirilmesi 79
4.8.2. Damlacık Boyutu ve Polidispersite Indeksinin Değerlendirilmesi 79
4.8.3. pH'nın değerlendirilmesi 87
4.8.4. İletkenliğin Değerlendirilmesi 88
4.8.5. Reolojik Özelliklerin Değerlendirilmesi 90
4.8.6. Optik İzotropinin Değerlendirilmesi 95
4.8.7. Mikroemülsiyonların cryo-TEM Görüntüleri 95
4.8.8. Stabilitenin Değerlendirilmesi 96
4.9. *In vitro* Salım Çalışması 96
4.10. *İn vitro* Permeasyon Çalışması 106
4.11. ATR-FTIR 116
5. TARTIŞMA 124
6. KAYNAKLAR 141
HAM VERİLER 155
FORMLAR 156
ETİK KURUL KARARI 157
PATENT HAKKI İZNİ 158
TELİF HAKKI İZNİ 159
ÖZGEÇMİŞ 160

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Emülsiyonlar ile mikroemülsiyonlar arasındaki farklılıklar 29
Tablo 2-2: Pazarda yer alan mikroemülsiyon formülasyonları 38
Tablo 2-3: Dermal yol ile uygulanmak üzere literatürlerde yer alan bazı NSAI ilaç mikroemülsiyonları 39
Tablo 2-4: Dermal yolla uygulanmak üzere literatürlerde yer alan bazı mikroemülsiyonlar 40
Tablo 3-1: Mikroemülsyon hazırlamada kullanılmak üzere uygun yağ fazı, sürfaktan ve ko-sürfaktanın seçilmesi için yapılan çözünürlük çalışmasında kullanılan maddeler ve HLB değerleri 50
Tablo 3-2: Ön formülasyon çalışmaları esnasında kullanılan yardımcı maddeler ve oranları 51
Tablo 4-1: UV Spektrofotometre validasyonu için reseptör faz ile yapılan doğrusallık çalışmasına ait absorbans değerleri 59
Tablo 4-2: Veriler doğrultusunda elde edilen r^2 ve doğru denklemi. 60
Tablo 4-3: UV Spektrofotometre validasyonu için reseptör faz ile yapılan gün içi kesinlik çalışması verileri 60
Tablo 4-4: UV Spektrofotometre validasyonu için reseptör faz ile yapılan günler arası kesinlik çalışması verileri 61
Tablo 4-5: HPLC validasyonunda reseptör faz ile hazırlanan örnekler için yapılan doğrusallık çalışmasına ait eğri altında kalan alan değerleri 63
Tablo 4-6: Veriler doğrultusunda elde edilen r^2 ve doğru denklemi 64
Tablo 4-7: HPLC validasyonunda ACN ile hazırlanan örnekler için yapılan doğrusallık çalışmasına ait eğri altında kalan alan değereleri 64
Tablo 4-8: Veriler doğrultusunda elde edilen r^2 ve doğru denklemi 65
Tablo 4-9: HPLC validasyonu için reseptör faz ile yapılan kesinlik çalışmasına ait eğri altında kalan alan değereleri (100 µg/mL) 66
Tablo 4-10: HPLC validasyonu için ACN ile yapılan kesinlik çalışmasına ait eğri altında kalan alan değereleri (100µg/mL) 66
Tablo 4-11: HPLC validasyonunda reseptör faz ile hazırlanan örnekler için yapılan günler arası kesinlik çalışmasına ait eğri altında kalan alan değereleri (100µg/mL) 67

Tablo 4-12: HPLC validasyonunda ACN ile hazırlanan örnekler için yapılan günler arası kesinlik çalışmasına ait eğri altında kalan alan değereleri (100 µg/mL) 67
Tablo 4-13: Yağ fazı oleik asit olan formülasyonlar için reseptör faz ile HPLC validasyonu doğruluk çalışması 68
Tablo 4-14: Yağ fazı IPM olan formülasyonlar için reseptör faz ile HPLC validasyonu doğruluk çalışması 68
Tablo 4-15: Yağ fazı oleik asit olan formülasyonlar için ACN ile HPLC validasyonu doğruluk çalışması 68
Tablo 4-16: Yağ fazı IPM olan formülasyonlar için ACN ile HPLC validasyonu doğruluk çalışması 69
Tablo 4-17: Reseptör faz ile hazırlanmış çözeltilerin stabilitesi 70
Tablo 4-18: ACN ile hazırlanmış çözeltilerin stabilitesi 70
Tablo 4-19: Reseptör faz ile hazırlanmış ve oda sıcaklığında saklanmış çözeltilerin belirtilen süreler sonunda stabilitesi 70
Tablo 4-20: Etodolak'ın yardımcı maddelerin içerisindeki çözünürlük değerleri 71
Tablo 4-21: Farklı oranlarda yağ, sürfaktan ve ko-sürfaktan kullanılarak hazırlanan mikroemülsiyonlar 72
Tablo 4-22: Yağ fazı oleik asit olan formülasyonların en yüksek su içerdiği andaki mikroemülsiyon formülasyon bileşenleri ve miktarları 73
Tablo 4-23: Yağ fazı IPM olan formülasyonların en yüksek su içerdiği andaki mikroemülsiyon formülasyon bileşenleri ve miktarları 74
Tablo 4-24: Yağ fazı oleik asit olan ve üçgen faz diyagramı oluşturarak mikroemülsiyon alanınının belirlenmesinde kullanılan formülasyon bileşenleri ve miktarları 75
Tablo 4-25: Yağ fazı IPM olan ve üçgen faz diyagramı oluşturarak mikroemülsiyon alanınının belirlenmesinde kullanılan formülasyon bileşenleri ve miktarları 76
Tablo 4-26: Etodolak yüklü mikroemülsiyonların refraktif indeks değerleri 79
Tablo 4-27: Mikroemülsiyonların damlacık boyutu 80
Tablo 4-28: Mikroemülsiyonların polidispersite indeks değerleri 87
Tablo 4-29: Mikroemülsiyonların pH değerleri 88
Tablo 4-30: Mikroemülsiyonların iletkenlik değerleri 89
Tablo 4-31: Etodolak yüklü mikroemülsiyonların akış özellikleri (değişken kayma oranı) 91
Tablo 4-32: Etodolak yüklü mikroemülsiyonların akış özellikleri (sabit kayma oranı) . 91

Tablo 4-33: Stabilite testine göre formülasyonların damlacık boyutu 96
Tablo 4-34: I-A mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)..... 97
Tablo 4-35: I-B mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)..... 98
Tablo 4-36: I-C mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)..... 99
Tablo 4-37: O-A mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)..... 100
Tablo 4-38: O-B mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)..... 101
Tablo 4-39: O-C mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)..... 102
Tablo 4-40: O-D mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)..... 103
Tablo 4-41: O-E mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)..... 104
Tablo 4-42: O-F mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)..... 105
Tablo 4-43: Etdolak'ın sentetik membrandan *in vitro* Higuchi kinetik modeline göre salım profillerine ait determinasyon katsayıları ve doğru denklemleri 106
Tablo 4-44: O-A mikroemülsiyonundan etodolak'ın domuz derisinden *in vitro* zamana karşı geçen kümülatif miktarları (µg/cm²)..... 107
Tablo 4-45: O-B mikroemülsiyonundan etodolak'ın domuz derisinden *in vitro* zamana karşı geçen kümülatif miktarları (µg/cm²)..... 108
Tablo 4-46: O-C mikroemülsiyonundan etodolak'ın domuz derisinden *in vitro* zamana karşı geçen kümülatif miktarları (µg/cm²)..... 109
Tablo 4-47: O-D mikroemülsiyonundan etodolak'ın domuz derisinden *in vitro* zamana karşı geçen kümülatif miktarları (µg/cm²)..... 110
Tablo 4-48: O-E mikroemülsiyonundan etodolak'ın domuz derisinden *in vitro* zamana karşı geçen kümülatif miktarları (µg/cm²)..... 111
Tablo 4-49: O-F mikroemülsiyonundan etodolak'ın domuz derisinden *in vitro* zamana karşı geçen kümülatif miktarları (µg/cm²)..... 112

Tablo 4-50: O-Kontrol formülasyonundan etodolak'ın domuz derisinden *in vitro* zamana karşı geçen kümülatif miktarları (µg/cm²)..... 113
Tablo 4-51: Etdolak'ın domuz derisinden *in vitro* Fick'in birinci yasasına modeline permeasyon profillerine ait determinasyon katsayıları ve doğru denklemleri..... 115
Tablo 4-52: Mikroemülsiyon formlasyonlarının akı, K_p, gecikme süresi değerleri 116
Tablo 4-53: ATR-FTIR sonuçlarına göre bant değişimleri 117

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Derinin tabakaları 5
Şekil 2-2: *Stratum corneum*un 'tuğla ve harç' yapısı 8
Şekil 2-3: Membran fosfolipitlerinin prostaglandinlere dönüşümü 16
Şekil 2-4: Araşidonik asitten mediatörlere dönüşüm basamakları 16
Şekil 2-5: NSAI ilaçlar ile tedaviye bağlı ülserasyon oranları 18
Şekil 2-6: Etodolak'ın kimyasal yapısı 21
Şekil 2-7: Etodolak ve metabolitleri 24
Şekil 4-1: Etodolak'ın IR spektrumu 58
Şekil 4-2: UV Spektrofotometre validasyonu için reseptör faz ile yapılan çalışmaya ait kalibrasyon eğrisi 59
Şekil 4-3: Reseptör faz ile hazırlanan etodolak'ın kullanılan metoda göre alıkonma zamanı 62
Şekil 4-4: ACN ile hazırlanan etodolak'ın kullanılan metoda göre alıkonma zamanı 62
Şekil 4-5: Reseptör faz ile hazırlanan örnekler için kalibrasyon eğrisi 63
Şekil 4-6: ACN ile hazırlanan örnekler için kalibrasyon eğrisi 65
Şekil 4-7: Tablo 4-24 kullanılarak çizilen üçgen faz diyagramı 75
Şekil 4-8: Tablo 4-25 kullanılarak çizilen üçgen faz diyagramı 76
Şekil 4-9: Yağ fazı oleik asit olan seçilmiş formülasyonların bileşenleri ve miktarları 77
Şekil 4-10: Yağ fazı IPM olan seçilmiş formülasyonların bileşenleri ve miktarları 78
Şekil 4-11: O-A formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi 81
Şekil 4-12: ETD yüklü O-A formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi 81
Şekil 4-13: O-B formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi 82
Şekil 4-14: ETD yüklü O-B formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi 82
Şekil 4-15: O-C formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi 83
Şekil 4-16: ETD yüklü O-C formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi 83
Şekil 4-17: O-D formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi 84
Şekil 4-18: ETD yüklü O-D formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi 84

Şekil 4-19: O-E formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi 85
Şekil 4-20: ETD yüklü O-E formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi 85
Şekil 4-21: O-F formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi 86
Şekil 4-22: ETD yüklü O-F formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi 86
Şekil 4-23: Elektirksel iletkenliğe karşı su yüzdesi 89
Şekil 4-24: Elektriksel iletkenliğin logaritmasına karşı su yüzdesi (%0-46 arası) 90
Şekil 4-25: Elektriksel iletkenliğin logaritmasına karşı su yüzdesi (%0-10,6 arası) 90
Şekil 4-26: O-A formülasyonuna ait akış özellikleri 92
Şekil 4-27: O-B formülasyonuna ait akış özellikleri 92
Şekil 4-28: O-C formülasyonuna ait akış özellikleri 93
Şekil 4-29: O-D formülasyonuna ait akış özellikleri 93
Şekil 4-30: O-E formülasyonuna ait akış özellikleri 94
Şekil 4-31: O-F formülasyonuna ait akış özellikleri 94
Şekil 4-32: Formülasyonlara ait TEM görüntüsü 95
Şekil 4-33: Etodolak'ın I-A mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili (µg/cm²) 97
Şekil 4-34: Etodolak'ın I-B mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili (µg/cm²) 98
Şekil 4-35: Etodolak'ın I-C mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili (µg/cm²) 99
Şekil 4-36: Etodolak'ın O-A mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili (µg/cm²) 100
Şekil 4-37: Etodolak'ın O-B mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili (µg/cm²) 101
Şekil 4-38: Etodolak'ın O-C mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili (µg/cm²) 102
Şekil 4-39: Etodolak'ın O-D mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili (µg/cm²) 103
Şekil 4-40: Etodolak'ın O-E mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili (µg/cm²) 104

Şekil 4-41: Etodolak'ın O-F mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili (µg/cm²) 105
Şekil 4-42: Etodolak'ın O-A mikroemülsiyonundan Fick'in birinci yasasına göre permeasyon profili (µg/cm²) 107
Şekil 4-43: Etodolak'ın O-B mikroemülsiyonundan Fick'in birinci yasasına göre permeasyon profili (µg/cm²) 108
Şekil 4-44: Etodolak'ın O-C mikroemülsiyonundan Fick'in birinci yasasına göre permeasyon profili (µg/cm²) 109
Şekil 4-45: Etodolak'ın O-D mikroemülsiyonundan Fick'in birinci yasasına göre permeasyon profili (µg/cm²) 110
Şekil 4-46: Etodolak'ın O-E mikroemülsiyonundan Fick'in birinci yasasına göre permeasyon profili (µg/cm²) 111
Şekil 4-47: Etodolak'ın O-F mikroemülsiyonundan Fick'in birinci yasasına göre permeasyon profili (µg/cm²) 112
Şekil 4-48: Etodolak'ın O-Kontrol formülasyonundan Fick'in birinci yasasına göre permeasyon profili (µg/cm²) 113
Şekil 4-49: Etodolak'ın mikroemülsiyon formülasyonlarından Higuchi kinetik modeline göre salım profili (µg/cm²) 114
Şekil 4-50: Etodolak'ın mikroemülsiyon formülasyonlarından Fick'in birinci yasasına göre permeasyon profili (µg/cm²) 114
Şekil 4-51: O-A formülasyonu ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu 118
Şekil 4-52: O-B formülasyonu ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu 118
Şekil 4-53: O-C formülasyonu ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu 119
Şekil 4-54: O-D formülasyonu ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu 119
Şekil 4-55: O-E formülasyonu ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu 120
Şekil 4-56: O-F formülasyonu ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu 120
Şekil 4-57: O-Kontrol formülasyonu ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu 121
Şekil 4-58: Labrasol ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu 121
Şekil 4-59: Transcutol P ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu 122
Şekil 4-60: Oleik asit ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu 122
Şekil 4-61: Kontrol grubu olarak kullanılan deriye ait bant absorbansları 123

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ACN: Asetonitril

ATR-FTIR: Hafifletilmilş Toplam Yansıtma-Fourier Dönüşümlü Infrared (Attenued Total Reflectance- Fourier Transformer Infrared)

a/a: Ağırlık/Ağırlık

BBM: Fırçamsı Yüzey Membran (Brush Border Membran)

BP: İngiliz Farmakopesi

C: Konsantrasyon

COX: Siklooksjenaz

Da: Dalton

ETD: Etodolak

GI: Gastrointestinal

HLB: Hidrofilik-Lipofilik denge

HPLC: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

h/h: Hacim/Hacim

IPM: İzopropil Miristat

IR: Infrared spektrumu

J_{ss}: Kararlı durum ilaç akısı

K_p: Permeasyon Katsayısı

Ko-S: Ko-sürfaktan

ME: Mikroemülsiyon

MLT: Miktar Tayin Limiti (LOD)

NaOH: Sodyum Hidroksit

NSAI İlaçlar: Steroid yapıda olmayan antienflmatuar ilaçlar

OA: Oleik asit

Ort: Ortalama

mPa: miliPascal

PBS: Fosfat Tamponu

PDI: Poli Dispersite Indeksi

PEG: Polietilen Glikol

PG: Prostaglandin

Ph USP: Amerika Farmakopesi

ROS: Reaktif Oksijen Ürünleri

r^2: Determinasyon Katsayısı

rpm: Dakikadaki Dönüş Sayısı

RSD: Bağıl Standart Sapma

S: Sürfaktan

SD: Standart Sapma

S/Y: Yağ İçinde Su

TEWL: Transepidermal su kaybı

TL: Teşhis Limiti (LOQ)

Tx: Tromboksan

UV: Ultraviyole Spektrumu

YEM: Yüzey Etkin Madde

Y/S: Su İçinde Yağ

ÖZET

Sarıbey, G. (2013). Etodolak'ın topikal mikroemülsiyon formülasyonlarının geliştirilmesi ve in vitro karakterizasyonu çalışmaları. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Bu çalışmanın amacı; artrit, osteoartrit gibi ağrı ve enflamasyona neden olan hastalıkların tedavisinde oral yol ile kullanılan etodolak'ın topikal uygulamaya yönelik mikroemülsiyon formülasyonlarını geliştirmek, optimize edilen formülasyonların fizikokimyasal özelliklerini incelemek ve etodolak'ın domuz derisinden in vitro geçişini değerlendirmektir.

Etodolak içeren mikroemülsiyonların formülasyonlarında; yağ fazı olarak izopropilmiristat (IPM) veya oleik asit (OA), sürfaktan (S) olarak Labrasol ve ko-sürfaktan (Ko-S) olarak Transcutol P kullanıldı. Mikroemülsiyonlar su ile titrasyon metoduna göre hazırlandı. Ön formülasyon çalışmaları dikkate alınarak belirlenen S/Ko-S oranları (1:1; 1:2; 3:2; 4:1) kullanılarak, üçgen faz diyagramları çizildi. Hazırlanan formülasyonların damlacık büyüklükleri ve dağılımı, pH, iletkenlik, reolojik özellikleri, refraktif indeks değerleri, optik izotropileri ve fiziksel stabiliteleri değerlendirildi. Fizikokimyasal özellikleri ve fiziksel stabiliteleri değerlendirilerek optimize edilen formülasyonlardan etodolak'ın salım ve domuz derisinden in vitro permeasyon karakteristiği Franz difüzyon hücreleri ile incelendi. Zamanın fonksiyonu olarak deriden geçen kümülatif etodolak miktarları ile oluşturulan permeasyon profilleri ile akı, permeasyon katsayısı ve gecikme süreleri hesaplandı. Mikroemülsiyonların stratum corneum tabakası üzerinde oluşturdukları yapısal değişiklikler ATR-FTIR spektroskopi analizleri ile değerlendirildi.

Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; sırası ile yağ fazı, S ve Ko-S olarak OA, Labrasol ve Transcutol P içeren etodolak yüklü mikroemülsiyonun, ilacın oral uygulanan preparatlarına alternatif, topikal taşıyıcı bir sistem olarak önerilebileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Etodolak, Mikroemülsiyon, Topikal, NSAI ilaçlar, Deriden emilim

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 19204

ABSTRACT

Sarıbey. G. (2013). Development of topical microemulsion formulations of etodolac and in vitro characterisation studies. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmaceutic Technology. Mater's Thesis. Istanbul

The aim of this study was to develop microemulsions intended for topical delivery of etodolac which is used orally on the treatment of diseases such as arthritis and osteoarthritis that causes pain and inflammation; to characterize the physicochemical properties of the microemulsions optimised and to assess in vitro permeation characteristics of etodolac from these formulations.

Etodolac loaded microemulsions were composed of either oleic acid (OA) or isopropylmyristat (IPM); Labrasol and Transcutol P as oil phase, surfactant (S) and co-surfactant (Co-S), respectively.Microemulsions were prepared with water titration method. Based on the pre-formulation study data, ratios of S/Co-S were determined (1:1, 1:2, 3:2, 4:1) and pseudo ternary phase diagrams were plotted. Microemulsions were prepared and characterized for droplet size, polidispersity index, pH, conductivity, viscosity, refractive index, optical isotropy and physical stability. In vitro release and permeation of etodolac from microemulsion formulations which are optimised based on their physicochemical properties and physical stability were determined using with Franz diffusion cells. The cumulative amounts of etodolac permeated across porcine skin were determined as a function of time. Flux, permeation coefficient and lag time values of etodolac were calculated from the linear part of the permeation profiles obtained. The effects of microemulsions on the integrity of stratum corneum structure were evaluated with ATR-FTIR spectroscopy analysis.

The data obtained in this study was interpretted, it was shown that microemulsions of etodolac composed of OA as oil phase, Labrasol as S, and Transcutol P as Co-S can be suggested as an alternative topical carrier for etodolac.

Key Words: Etodolac, Microemulsion, Topical, NSAI Drugs, Absorbtion through skin

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 19204

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Steroit yapıda olmayan antienflamatuvar (NSAI) ilaçlar, osteoartrit, romatoid artrit, tendonit, tenosinovit, burkulma, incinme gibi akut ve kronik iskelet-kas sistemi hastalıklarında oldukça yaygın bir şekilde tedavide kullanılmaktadır (Moore ve ark 1998; Lionberger ve Brennan 2010). NSAI ilaçların analjezik ve antienflamatuvar etkileri prostaglandin biyosentezinin inhibisyonuna bağlıdır. Ancak, sistemik etkinin sağlanabilmesi için gerekli dozda NSAI ilaçların oral yol ile kullanılması dispepsiden mide kanamasına kadar ciddi gastrointestinal (GI) yan etkilere yol açabilmektedir (Hooper ve ark 2004; Lionberger ve Brennan 2010). NSAI ilaçların topikal uygulanması ile serum konsantrasyonundaki azalma, prostaglandin inhibisyonuna bağlı olarak meydana gelen yan etkilerin de azalmasını sağlar. Ayrıca topikal tedavi ile olası akut böbrek yetmezliği, nefrotik sendrom, NSAI ilaç gastropatisi, kanama zamanının uzaması ve sıvı retansiyonu gibi yan etkiler ve ilaç-ilaç etkileşimi olasılığı da azalmaktadır (Heyneman ve ark 2000; Lionberger ve Brennan 2010).

Etodolak, indol türevi seçici siklooksijenaz-2 enzimi (*COX-2*) inhibitörü NSAI bir ilaçtır. Antienflamatuvar ve antiromatizmal etkilerinden dolayı tedavide tablet şeklindeki preparatları ile oral yoldan kullanılmaktadır (Martindale 2005). *COX-2* inhibitörü NSAI ilaçların, yan etkileri azalttığı ancak tamamen ortadan kaldırmadığı bilinmektedir. Seçici *COX-2* inhibitörü olmasına rağmen oral yoldan kullanıldığında etodolak, GI sistem üzerinde yan etkilere neden olmaktadır. Üstelik *COX-2* inhibisyonu istenen artrit, osteoartrit gibi hastalıklarda tedavinin uygulandığı hastalar belli bir yaşın üzerindedir ve genellikle çoklu hastalıkları nedeniyle kronik ilaç tedavileri söz konusudur. Dolayısı ile bu hastalarda zaten mevcut bir GI hasardan bahsetmek çoğu zaman mümkündür (Fosbol ve ark 2008). Ayrıca yapılan çalışmalar *COX-2* inhibitörlerinin sanıldığı kadar güvenli olmadığını göstermektedir (Sousa ve ark 2008). Bu nedenle, NSAI ilaçların topikal uygulanması; gerek ilaçların GI sistem üzerindeki yan etkilerinin ortadan kaldırılması, gerekse hedef bölgeye (enflamasyonlu deri dokusu gibi) ilacın doğrudan ulaştırılması açısından avantajlıdır. Bu yaklaşımla, çoğu NSAI ilacın topikal uygulanan dozaj şekilleri ilaç pazarında yer almaktadır. Etodolak'ın topikal bir preparatı pazarda henüz bulunmamaktadır. Sadece etodolak-lidokain

kombinasyonu şeklinde patentli topikal yama preparatının Faz III çalışmalarının devam ettiği bildirilmiştir (www.clinicaltrials.gov).

İlaç moleküllerinin deriden geçişi için düşük molekül ağırlığına (<500 Da), düşük erime derecesine (<200ºC) ve orta derecede lipofilik karaktere (logP 1-3) sahip olması gerektiği literatürde kayıtlıdır (Naik ve ark 2000; Brown ve ark 2006). Bu açıdan etodolak molekül ağırlığı (287.4 Da), lipofilik özelliği (log P 2.5) ve erime derecesi (142-148 ºC) gibi fizikokimyasal özellikleri nedeni ile topikal formülasyonunun geliştirilmesi için uygun bir adaydır (www.drugbank.ca).

Topikal uygulama pek çok avantajı beraberinde getirir: Öncelikle ilk geçiş etkisi ortadan kalkar, girişimsel bir yol değildir, hasta uyuncu yüksektir, doz miktarı azalır, etki yerindeki ilacın konsantrasyonu artar, pH ve tokluk gibi GI sisteme bağlı durumlar ortadan kalkar, kolayca uzaklaştırılabilir (Wiechers 1989; Heyneman ve ark 2000; Kreilgaard 2002; Li ve ark 2006; Bachhav ve Patravale 2010). Ancak, topikal uygulama için deri bariyerinin aşılması gerekir. Derininin bariyer fonksiyonu, en dış kısmında bulunan ince ve benzersiz biyolojik bir membran olan *stratum corneum* tarafından sağlanır (Naik ve ark 2000).

Derinin bariyer özelliğini geri dönüşümlü olarak ortadan kaldırmak ve ilaç moleküllerinin deriden geçişini arttırmak için çeşitli yaklaşımlar kullanılmaktadır (Kreilgaard 2002; Santos ve ark 2008). Mikroemülsiyonlar, gerek formülasyonlarının bileşiminde bulunan yardımcı çözücü ve yüzey etkin maddelerin *stratum corneum* un geçirgenliğini artırması, gerekse etkin maddenin formülasyondaki termodinamik aktivitesinin yüksek olması ve ilaçların deriye partisyonunu arttırması açısından önemli avantaj sağlayan ilaç taşıyıcılar olarak gösterilmektedir (Peltola ve ark 2003; Kogan ve Garti 2006).

Mikroemülsiyonlar, termodinamik olarak dayanıklı, düşük viskoziteli, saydam, çok küçük damlacık büyüklüğüne sahip ve kendiliğinden oluşan sistemlerdir. Genellikle yağ fazı, su fazı, sürfaktan (yüzey etkin madde) ve ko-sürfaktan olmak üzere dört bileşen içermektedirler. Mikroemülsiyonların üstünlükleri arasında; kolayca hazırlanıp uygulanmaları, ilaç yükleme kapasitelerinin yüksek olması, sürfaktan ve ko-sürfaktanların etkisiyle deri permeabilitesini artırmaları ve dolayısı ile emilimi kolaylaştırmaları sıralanabilir (Santos ve ark 2008; Goebel ve ark 2011; Hathout ve ark 2011).

Mikroemülsiyonların hazırlanmasında üçgen faz diyagramları ile mikroemülsiyon oluşma alanları belirlenir ve hazırlanmalarında genellikle su titrasyon yöntemi kullanılır (Rosano ve ark 1988). Mikroemülsiyonların yapısının karakterizasyonunda değişik yöntemler kulanılabilir. Mikroemülsiyonların reolojik davranış, bulanıklık, elektriksel iletkenlik, refraktif indeks, pH, faz ayrışması ve damlacık boyutları gibi özelliklerinin incelenmesi, optimizasyonları açısından önemlidir (Moulik ve Paul 1998; Hathout ve ark 2010a).

Bu tez çalışmasının amacı; fizikokimyasal ve farmakolojik özellikleri nedeni ile uygun özelliklere sahip bir molekül olan etodolak'ın, yan etkilerin azaltılması, hasta uyuncunun arttırılması açısından topikal uygulamaya yönelik mikroemülsiyon formülasyonlarının geliştirilmesi ve karakterizasyonu çalışmaları ile etodolak yüklü mikroemülsiyonların optimize edilmesidir. Optimize edilen formülasyonlardan etodolak'ın *in vitro* deriden geçişi incelenecek ve mikroemülsiyon bileşenlerinin derinin yapısal bütünlüğü üzerindeki etkileri ATR-FTIR spektroskopisi ile değerlendirilerek, etodolak'ın konvansiyonel oral uygulanan ilaç şekillerine alternatif olarak mikroemülsiyon şeklinde bir topikal taşıyıcısının geliştirilmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Deri Hakkında Genel Bilgiler

2.1.1. Derinin Yapısı ve Genel Özellikleri

Deri, toplam yüzey alanı yaklaşık olarak 1,7-2 m^2 ve ağırlığı 9 kg olan vücudun en büyük organıdır. İnsan vücudunun yaklaşık %10'unu oluşturur (Williams 2003 pp 1-25; Değim 2007; Benson 2012).

Deri yüzeyinin pH değeri 4-6 arasındadır (Li ve ark 2006). Derinin pH değeri de vücudun farklı bölgelerine göre farklılık gösterir. Ayrıca derinin pH'sı derinin nemliliğine de bağlıdır. Nemli bölgelerde pH da yüksektir. Derinin asidik pH'sına karşın vücudun iç kısımlarının pH değeri yaklaşık olarak nötrdür ve 7,35 ile 7,40 arasında değişmektedir (Yosipovitch ve Maibach 1996).

Asit bir manto olarak tanımlanan derinin mikroorganizma ve mantar enfeksiyonlarına karşı koruyucu görevi vardır (Yosipovitch ve Maibach 1996; Waller ve Maibach 2006). Doğal bir bariyer gibi vücudumuzu doğrudan temas halinde olduğu dış çevreden gelebilecek mikrobiyolojik etkenlere karşı korur ve enfeksiyonlara karşı ilk koruma etkisi sağlar. Bu bariyer etki vücudumuzu sadece mikrobiyolojik değil aynı zamanda fiziksel ve kimyasal dış etkenlere karşı da korur (Brodell ve Rosenthal 2008; Benson 2012). Bunun yanı sıra ter bezlerinin yardımı ile vücut ısısını düzenler ve terleme yoluyla da sıvı ve elektrolit dengesini korur ayrıca atıkların uzaklaştırılmasını sağlar (Değim 2007). Deri aynı zamanda karbondioksit, oksijen ve azot gibi gazların difüzyonunda da görev alır. Kan basıncını denetler ultraviyole ışınlarına karşı da iyi bir koruyucudur (Ağabeyoğlu 2002). Deri, çevresel faktörlerin neden olduğu oksidatif strese karşı kısmen de olsa kendini korur (Tan ve ark 2011). Sahip olduğu enzim sistemleri ile de ilaç metabolizmasındaki yerini alır. Bağışıklık sisteminde de rol alan bir organdır (Williams 2003 pp 1-25).

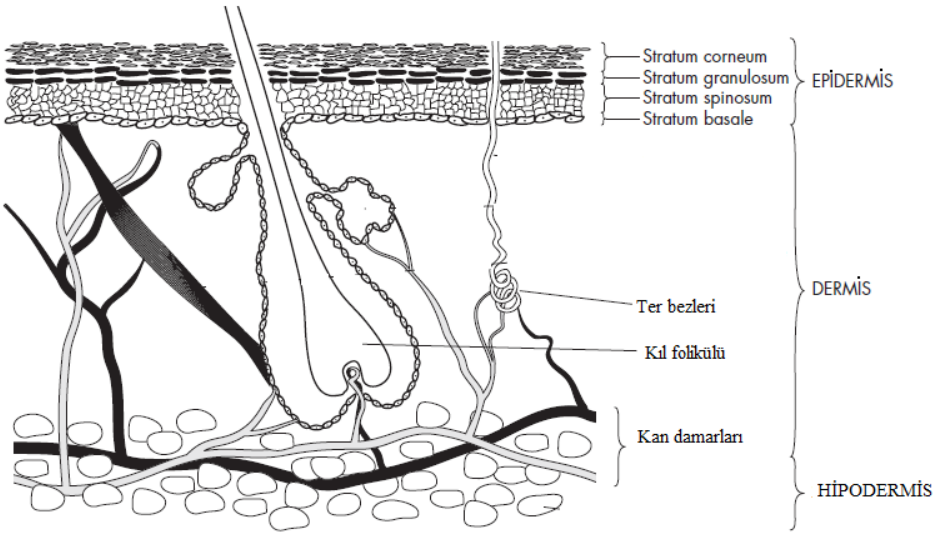
Deri bariyerinde meydana gelebilecek hasar ya da bozulmalar, ciddi problemlere neden olabilir (Brodell ve Rosenthal 2008). Bu bozulmalar bariyer fonksiyonunu etkiler, deride enflamasyon ve kuruluğa sebep olur. Derinin normal yapı ve fonksiyonunu korumak derideki homeostaziyi sağlamak açısından oldukça önemlidir (Obata ve ark 2009).

Vücudun farklı anatomik bölgelerinde deri fonksiyonu değişebilir. Farklı coğrafi bölgelerde iklime göre (iklim adaptasyonu sonucu) deri farklı yapı ve fonksiyonlar gösterebilir. Kan dolaşımındaki hormonlar da derinin durumunu etkileyebilir. Kadınların aylık hormon değişimi buna örnek gösterilebilir (Rawlings 2006).

2.1.2. Derinin Tabakaları

İnsan derisi anatomik olarak ve fonksiyonel açıdan etkileşim halinde olan iki ana tabakadan meydana gelir (Brodell ve Rosenthal 2008). En altta yer alan yağ tabakası ile beraber dıştan içe 3 tabakalıdır (Şekil 2-1) (Williams 2003 pp 1-25; Obata ve ark 2009).

- *Hipodermis* (deri altı yağ tabakası)
- *Dermis*
- *Epidermis*



Şekil 2-1: Derinin tabakaları **(**Williams 2003, pp 1-25)

2.1.2.1. Hipodermis

Deri altı yağ dokusu olarak da bilinen bu tabaka, büyük miktarlarda yağ üretir ve depolarken *dermis* ve vücudun iç organları arasında köprü görevi görür. Fiziksel şoklara

karşı mekanik koruma sağlar. Ayrıca ısı yalıtımından da sorumludur. Ana kan damarları, sinirler de bu tabakada yer alır (Williams 2003 pp 1-25; Değim 2007).

2.1.2.2. Dermis

Dermis, deriye güç veren, sinir hücreleri, kan damarları, saç folikülleri, ter bezleri, yağ bezleri gibi yapıları barındıran kalın fibröz kısımdır. *Mast* hücreleri ve *makrofaj* ların bulunduğu bu tabaka enflamatuvar reaksiyon ve immun yanıtın oluşmasını sağlar. *Dermis* in iskelet yapısı kollajen, lifler ve ekstraselüler matriksten oluşur (Jager ve ark 2007; Brodell ve Rosenthal 2008).

2.1.2.3. Epidermis

Epidermis, incinmeler sonrasında kolayca yenilenebilen, nemi içeride tutarken dışarıdan yabancı maddelerin girişini engelleyen, 50-150 μm kalınlığında, koruyucu bir örtüdür. *Langerhans* hücreleri ve *merkel* hücreleri bu kısımda yer alır (Jager ve ark 2007; Brodell ve Rosenthal 2008).

Epidermis; *stratum basale, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lucidum* ve *stratum corneum* olmak üzere 5 tabakadan meydana gelir (Şekil 2-1) (Değim 2007; Brodell ve Rosenthal 2008).

Epidermis in en dış tabakası olan *stratum corneum,* derinin bariyer fonksiyonundan sorumlu olan, 10-20 μm kalınlığında (Jager ve ark 2007; Obata ve ark 2009) ve 10-15 tabakadan oluşan, deri yüzeyine doğru yassılaşan ve ölen hücrelerden meydana gelen bir tabakadır (Wiechers 1989; Ağabeyoğlu 2002; Williams 2003 pp 1-25).

Stratum corneum, hem lipofilik hem de hidrofilik bölgeler içeren heterojen ve seçici geçirgen bir yapıdır (Wiechers 1989). *Stratum corneum* un yaklaşık % 75-80'ini oluşturan ve korneositlerin içerisinde yer alan proteinler ile geriye kalan % 5-15'lik kısmını oluşturan lipitler, derinin bariyer fonksiyonunda rol alır (Williams 2003 pp 1-25). *Stratum corneum* un ana hücreleri olan korneositler derinin su tutma kapasitesinden sorumludur. *Stratum corneum* un üst kısımları alt kısımlarına göre daha az su içerir. Ancak lipitler için durum tam tersidir. Üst kısımlarda yer alan lipitler daha fazladır ve daha heterojendir. Buna bağlı olarak geçişin azalmasını sağlayan daha sıkı bir yapı gözlenir (Norlén 2001; Rawlings ve Harding 2004; Obata ve ark 2009).

Stratum corneum un ağırlıkça yaklaşık % 10'luk kısmını oluşturan lipit tabakası yaşamın sürdürülebilmesi için gerekli olan permeabilite bariyerini sağlar. Bu tabakalı yapının oluşmasını sağlayan kolesterol ve seramitlerin (Norlén 2001; Obata ve ark 2009) bariyer fonksiyonunu sağlayabilmeleri; aşırı hidrofobik oluşları, hücrelerarası yerleşimleri ve organizasyonlarına dayandırılabilir (Grubauer ve ark 1989). Hücrelerarası lipit bileşiminin korunması derinin homeostazisinin korunması açısından önemlidir (Obata ve ark 2009).

2.1.3. Derinin Bariyer Fonksiyonunu Etkileyen Diğer Faktörler

Derinin bariyer fonksiyonunu etkileyebilen bazı faktörler vardır: Yaş, cinsiyet, derinin rengi, ırk, transepidermal su kaybı (TEWL) değeri, çevresel faktörler (UV, güneş ışığı vs.). (Williams 2003 pp 1-25; Waller ve Maibach 2005; Rawlings 2006; Obata ve ark 2009; Benson 2012).

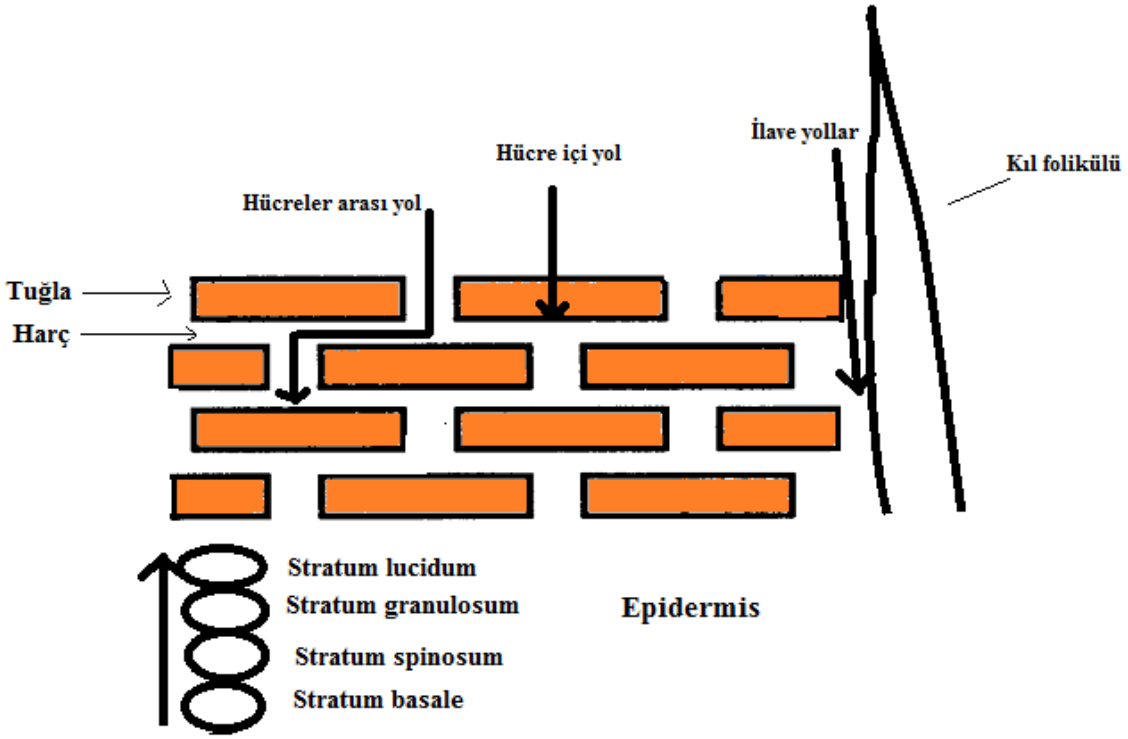
İlerleyen yaş ile beraber *stratum corneum* un seramit ve kolesterol miktarlarında meydana gelen azalmaya bağlı olarak tabakalı lipit yapısı bozulur ve derinin bariyer fonksiyonu azalır. Radyasyon, güneş ışığı gibi olası bir hasar durumunda derinin lipit bileşiminde meydana gelen değişimler de bariyer fonksiyonunu azaltır (Williams 2003 1-25; Obata ve ark 2009; Benson 2012).

Vücudun farklı anatomik bölgelerinde bariyer etkisi faklılıklar gösterir (Benson 2012). Derinin rengi ile bariyer fonksiyonu arasındaki ilişkiyi aydınlatmak için yapılan çalışmalar, daha koyu tenli derideki seramit miktarının daha düşük olmasına rağmen bariyer fonksiyonunun daha güçlü olduğunu göstermiştir. Bunun nedeni olarak bariyer etkisinin sadece seramitler ile değil yapının tamamı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Asyalı derisi ile beyaz ırk derisi benzer TEWL değeri göstermesi ve benzer miktarda seramit içermesine rağmen, bariyer fonksiyonu daha zayıftır. Sonuç olarak Asyalı derisi daha ince *stratum corneum* a ve daha fazla ekrin beze sahip olduğu için daha hassas olabilir. *Epidermis* ile *derimis*in yapıları arasındaki farklılıklar özellikle ışık etkisi ile (fotoyaşlanma) yaşlanma durumunda ortaya çıkar (Rawlings 2006).

2.1.4. Deriden Emilim

İlaçların deriden geçişi için en önemli tabaka *epidermis*, özellikle de en üstünde yer alan *stratum corneum* tabakasıdır. Derinin bariyer özelliğinin yapısı ve fonksiyonu ile ilgili pek çok model vardır. İlk model Michaels ve arkadaşları tarafından 1975 yılında

oluşturulan *'tuğla ve harç'* modelidir (Wiechers 1989; Wertz 2000; Barry 2001; Norlén 2001; Williams 2003 pp 1-25; Obata ve ark 2009; Benson 2012). Deri bariyeri, arasında harç tabakası olan tuğlalar ile örülmüş duvarı andıran bir yapı olarak tanımlanmaktadır (Wiechers 1989; Waller ve Maibach 2006). Bu modelde korneositler ve hidrate keratinler, duvarın tuğlalarını oluştururken, seramitler, yağ asitleri, kolesterol, kolesterol esterleri gibi çok tabakalı lipit bileşimi ise bu duvarın harç olarak isimlendirilen ve tuğlanın içine gömülmüş olan kısmını oluşturur (Barry 2001; Waller ve Maibach 2006; Benson 2012). Deriden geçecek olan moleküllerin sahip olduğu özelliklerine bağlı olarak izleyeceği ana yollar, *'tuğla'* veya *'harç'* kısmı olacaktır (Şekil 2-2).



Şekil 2-2: *Stratum corneum*un 'tuğla ve harç' yapısı (Ağabeyoğlu 2002 ve Jager ve ark 2007'den esinlenerek çizilmiştir**)**

İlaç moleküllerinin deriden geçerken izleyecekleri üç çeşit yol vardır (Wiechers 1989; Williams 2003 pp 1-25; Değim 2007) (Şekil 2-2);

- Hücreler arası yol (interselüler yol)
- Hücre içi yol (transselüler yol, intraselüler yol)

- Yan geçiş yolları (Shunt yollar: ter bezleri, yağ bezleri, kıl folikülleri)

Deriden geçiş, aktif ve pasif geçiş olmak üzere ikiye ayrılabilir. Bir ilacın pasif difüzyon esasına dayalı olarak deriden geçişi için uygun bir ilaç taşıyıcı ile derinin permeasyonunun arttırılması söz konusudur. Bunun için ilacın orta dercede lipofilik özellikte (log P 1-3) ve molekül ağırlığının 500 Dalton (Da) un altında olması gerekir. Pasif difüzyon esası ile deriden geçişe uygun olan maddeler, derinin yapısındaki protein ve lipitlerle etkileşerek hücreler arası yolu tercih ederler (Brown ve ark 2006; Jager ve ark 2007). Hücreler arası yol eğri-büğrü bir yoldur ve difüzyon yeteneği olan, küçük ve yüksüz moleküller için uygundur. Pek çok molekül bu yolu tercih eder (Ağabeyoğlu 2002; Williams 2003 pp 27-49; Jager ve ark 2007).

İlacın deriden aktif yöntemle geçişi ise çeşitli mekanik ve fiziksel yöntemler ile gerçekleşir. İyontoforez gibi elektriksel yöntemler, abrasyon, ablasyon, perforasyon gibi mekanik yöntemler ve de ultrason gibi enerji gerektiren yöntemler, lipofilik özelliği farklı ve molekül ağırlığı yüksek olan peptidler, oligonükleotitler için uygundur (Brown ve ark 2006).

Yan geçiş yolları (*shunt yollar)* olarak tanımlanan ter bezleri, kıl folikülleri ve bağlı oldukları yağ bezlerinden oluşur. Bu yollar, çok küçük bir alanı oluşturdukları için (%0,1'den daha az yüzey alanı) deriden emilim üzerinde önemli derecede etkiye sahip değillerdir (Wiechers 1989; Williams 2003 pp 27-49). Yani kıl folikülleri, iyi birer geçiş yolu olmasına rağmen deri yoluyla uygulanacak ilaçların *stratum corneum* u aşması gerekir (Barry 2001). Yan geçiş yolları; iyonik yapılar ve büyük polar bileşimler için önemli olabilir (Wiechers 1989). Moleküller; deri yüzeyindeki hücre çıkıntıları, mikroorganizmalar, sebumlar gibi permeasyonu önemli derecede etkilemeyen yapılarla da temas eder (Barry 2001).

2.1.5. Deriden Geçiş Kinetiği

Bir etkin maddenin deriden geçebilmesi için *stratum corneum* u aşması gerekir. *Stratum corneum* dan penetrasyon pasif difüzyonla gerçekleşir. Bu da Fick'in birinci kanunu ile açıklanabilir. *İn vivo* ortamı taklit etmek isteyen aletlerde çözünme ortamındaki derişim doygunluğun çok altında olmalıdır yani *'sink koşul'* sağlanmalıdır. Bu durumda çözünme hızı değişmez. Fick'in birinci kanununa göre;

$$\left(J/A\right) = \frac{dQ}{dt} = K \bullet D \bullet \frac{(C_1 - C_2)}{\Delta x}$$

(J/A) :geçiş hızı = birim zamanda birim alandan geçen ilaç miktarı (mol cm^{-2} s^{-1})

A: membranın yüzey alanı(cm^2)

Δx: membranın kalınlığı (cm)

D: membranda ilacın difüzitesi (cm^{-2} s^{-1})

K: membran ve faz 1 arasındaki ilacın partisyon katsayısı

C_1 - C_2 : membranın her iki yüzeyi arasındaki konsantrasyon farkı (mol cm^{-3})

Ortamındaki derişimi doygunluğun çok altında iken yani *'sink koşul'* sağlandığı zaman (pratikte çoğu durumda); $C_0 >> C_i$;

Bu durumda eşitlik;

(J)= Kp x C_i; $\left(k_p\right) = \frac{KD}{h}$

k_p: Permeabilite katsayısı

k_p;

Hız birimidir. Birimi cm $h^{-1.}$

Heterojen bir hız sabitidir.

Hem partisyon hem de difüzyon karakteristiğinin her ikisini de içeren bir parametredir (Hadgraft ve Guy 2003).

2.1.6. Deriden Geçişin Değerlendirilmesinde Kulanılan Deri Modelleri

İn vitro çalışmalarda membran olarak insan derisi gerek etik yaklaşımlar gerekse teminindeki zorluklar nedeniyle çoğunlukla kullanılamamaktadır. Bu durumda genellikle memeli, kemirgen ve sürüngen hayvanların derileri model membran olarak kullanılmaktadır (Williams 2003 pp 54-56; Barbero ve Frasch 2009). *İn vitro* çalışmalarda çoğunlukla saçsız fare ya da sıçan derisi kullanılmıştır. Ancak, saçsız fare derisi insan derisinden oldukça farklıdır; lipit içeriği çok fazla olup difüzyon esnasında bütünlüğü hızla bozulmaktadır. Bu nedenle insan derisiden permeasyonda model membran olarak kabul edilemez (Williams 2003 pp 54-56). Kemirgenlerin derisi ise

insan derisine kıyasla daha geçirgendir (Barbero ve Frasch 2009). Kobay farelerinin derileri insan *stratum corneum* una benzer kalınlıktadır. Kulak arkası bölgesinde ise kıl folikülü ve yağ bezleri (yan geçit yolları) yoktur. Sürüngenlerden yılan belirli dönemlerde derisini yenilediği için yaşamlarına son verilmeden derileri kullanılabilir. Ancak derisindeki yüksek β-keratin içeriğinden dolayı *stratum corneum* yapıları farklıdır (Williams 2003 pp 54-56). Maymun ve domuz gibi memeli derileri kemirgenlerden daha iyi modeller olarak tanımlanmaktadır. Domuz derisinin kalınlığı, lipit içeriği insan derisine benzerdir. Morfolojik ve fonksiyonel özellikleri yanında, besin olarak tükeldiği için etik nedenlerin de etkisiyle, domuz derisi insan derisine en yakın model membran olarak *in vitro* permeasyon çalışmalarında sıklıkla tercih edilmektedir (Williams 2003 pp 54-56; Barbero ve Frasch 2009).

2.2. Deri Yolu ile İlaç Uygulamalarına Ait Genel Bilgiler

İlaçların deri yolu ile uygulanması, insan derisinin sağladığı geniş yüzey alanının da etkisi ile alternatif bir uygulama olarak yıllardır tedavide kullanılmaktadır. Deri yolu ile ilaçların uygulanmasında topikal ve transdermal olmak üzere iki yaklaşım söz konusudur (Moore ve ark 1998; Cao ve ark 2011). Topikal uygulamada, ilaçların derinin yüzeyinde ve/veya derinin hedef tabakalarında lokalizasyonu sağlanırken, transdermal uygulama ile ilaçların öncelikle epidermisi aşarak dermise ulaşması ve buradaki kan damarları ile sistemik dolaşıma geçişi sağlanır. Topikal olarak uygulanan ilaçlar, öncelikle formülasyondan serbestleşerek derinin *stratum corneum* tabakasına difüze olur, ardından da canlı epidermise ulaşırlar. Epidermise kadar ulaşan ilaçlar dermal mikrodolaşıma geçer ya da daha derin dokulara penetre olur. Bu şekilde ilaçların deri altındaki dokularda lokalizasyonu sağlanarak etkin konsantrasyonlarına ulaşabileceği gösterilmiştir (Brown ve ark 2006; Lee ve Maibach 2006). Bu nedenle günümüzde NSAI ilaçlar gibi bir çok ilaç molekülünün topikal olarak tedavide kullanılması mümkün olmaktadır. Transdermal olarak uygulama ile sistemik etki sağlanabilmesi amacıyla günümüzde özellikle kronik tedavide kulanılan ilaçların yama tipi preparatları pazarda bulunmaktadır. Ancak derinin en dış tabakasının doğal bariyer görevi nedeniyle hala sınırlı sayıda ilacın sistemik etkili transdermal preparatı geliştirilmiştir.

2.2.1. İlaçlarınTopikal / Transdermal Uygulamanın Avantajları

İlaçların topikal olarak uygulanmasının avantajları;

- Topikal uygulamada formülasyonun sürülebilirliğinin artmasına bağlı olarak ilaç permeasyonu için geniş yüzey alanı sağlanır.
- Sistemik dolaşıma geçen ilaç miktarı azaltılır ve/veya ortadan kalkar.
- Oral yol ile kullanımda görülen yan etkiler azalır ve/veya ortadan kalkar.
- GI sistem korunur.
- Sistemik dolaşıma hızlı giriş olmayacağı için yan etkiler azalabilir.
- Etki edeceği dokuda konsantrasyonu artar.
- Kontrollü ve sürekli ilaç salımı sağlanabilir.
- Oral yolu kullanamayan hastalar için alternatif yoldur.
- Gerekli durumlarda tedavinin hızla sonlandırılması mümkündür.
- İlacın kontrollü ve sabit salımının gerçekleşebilmesine bağlı olarak uygulanan ilacın dozu azalabilir dolayısı ile hasta uyuncu artabilir (Wiechers 1989; Heyneman ve ark 2000; Naik ve ark 2000; Kreilgaard 2002; Brown ve ark 2006; Jager ve ark 2007; Lionberger ve Brennan 2010; Alam ve ark 2011; Okyar ve ark 2011).

İlaçların transdermal olarak uygulanmasının avantajları;

- GI sistemdeki pH değişimleri, tokluk durumunda besinlerin varlığı, GI sistemin motilitesi gibi durumların etkisi topikal uygulama ile ortadan kalkar.
- İlaç-ilaç etkileşimleri azalır.
- Karaciğer ilk geçiş etkisi ortadan kalkacağı için ilacın aynı dozla elde edilen biyoyararlanımı artar.
- Kontrollü ve sürekli ilaç dağıtımı sağlar.
- İlacın kontrollü ve sabit salımının gerçekleşebilmesine bağlı olarak ilacın uygulanan dozu azalabilir dolayısı ile hasta uyuncu artabilir.

- Oral yolu kullanamayan hastalar için alternatif yoldur (Wiechers 1989; Guy 1996; Heyneman ve ark 2000; Lee ve Maibach 2006; Jager ve ark 2007; Lionberger ve Brennan 2010).

2.2.2. Topikal/Transdermal Uygulamada İlaçların Deriden Geçişini Etkileyen Faktörler

Lipofilik özellik: İlacın lipofilik özelliği yağ/su partisyon katsayısı (log P) ile tanımlanır ve bu değer logaritmik oktanol-su dağılım katsayısıdır (Barry 2001; Lee ve Maibach 2006; Li ve ark 2006). İlacın daha derin dokulara penetre olmasını sağlayan içsel bir faktör olarak gösterilmektedir. Molekülün hidrojen bağı yapma yeteneği arttıkça ve molekül üzerindeki pozitif yük arttıkça yağda çözünürlük de artmaktadır. Yağda iyi çözünen maddeler ise, lipit yapıdaki membran tabakalarından daha kolay geçebilmektedirler (Naik ve ark 2000; Değim 2007; Taş ve ark 2007). Madde ne kadar lipofilik ise log P değeri o kadar yüksektir (Barry 2001; Lee ve Maibach 2006). Genel olarak deri yolu ile uygulanması istenen ilaçların log P değerlerinin 1-3 arasında olması istenir (Naik ve ark 2000; Brown ve ark 2006). Topikal uygulanmak istenen ilaçlarla ilgili yapılmış olan çalışmalara göre NSAI ilaçlar ve salisilatların log P değeri 2-3 arasında iken perkütan emilimlerinin en yüksek olduğu bulunmuştur (Hadgraft ve ark 2000).

***Molekül ağırlığı*:** İlaçların epidermise ulaşabilmesinde molekül hacmi ve molekül ağırlığı da rol oynamaktadır. Molekül ağırlığı büyüdükçe ilacın klirensinin azaldığı bildirilmektedir. 600 Da ve daha düşük molekül ağırlığındaki ilaçlar, deriden geçiş için uygun adaylar olarak gösterilmektedir (Barry 2001; Williams 2003 pp 36-37 Lee ve Maibach 2006; Lionberger ve Brennan 2010).

Erime sıcaklığı: İlaç moleküllerinin erime noktasının düşük olması sudaki çözünürlüğü ile ilişkilidir. Buna bağlı olarak ideal çözünürlük elde edilebilir (Barry 2001). Deriden geçiş için ilaçların sudaki çözünürlüğünün >1mg/mL olması istenir (Naik ve ark 2000).

Permeabilite katsayısı: İlaçların permeabilite katsayılarının iyonize olmayan kısmı ile doğru orantılı olduğu ve log P değeri ile ise parabolik bir ilişki gösterdiği bildirilmiştir (Lee ve Maibach 2006; Barry 2001).

İyonizasyon: Zayıf asit ve bazik karakterdeki ilaçların iyonizasyonu deriden geçişleri açısından önemlidir. Yüklü moleküllerin *stratum corneum* dan geçişinin

iyonize olmayan şekillerine göre önemli oranda daha az olduğu bildirilmiştir (Hadgraft ve ark 2000; Barry 2001).

pH: İlaçların iyonizasyonu bulundukları ortamın pH sına bağlıdır (Hadgraft ve ark 2000; Değim 2007).

Sıcaklık: Sıcaklık arttıkça deriden emilim artar (Brown ve ark 2006; Değim 2007).

Oklüzyon: *Stratum corneum* un hidratasyonu ilaçların penetrasyon oranını arttırır. Su, bir penetrasyon arttırıcı madde olarak gösterilmektedir. *Stratum corneum* un sıkı ve düzenli yapısını genişleterek ilaçların deriden geçişini arttırır (Barry 2001; Zhai ve Maibach 2001).

Derinin yapısı: İlaçların geçişinde insan vücudundaki farklı bölgeler geçiş açısından farklılık gösterebilir. Bunun nedeni farklı bölgelerdeki derinin su ve lipit içeriğinin farklı olmasıdır. Ayrıca cinsiyete ve yaşa göre de farklılıklar görülebilmektedir (Wiechers 1989; Williams 2003 pp 14-18; Değim 2007).

İlacın konsantrasyonu

Deriden pasif difüzyon esasına göre geçen ilaçların taşıyıcı içerisindeki miktarlarının (konsantrasyon gradiyenti) itici güç olarak etki gösterdiği bilinmektedir (Wiechers 1989; Hadgraft 1999).

Formülasyonda kullanılan penetrasyon arttırıcı maddeler: Çeşitli kimyasal maddeler, derinin geçirgenliğini geri dönüşümlü olarak değiştirerek ilaçların deriden geçişini arttırmaktadırlar. Bu maddeler permeasyon arttırıcı maddeler olarak tanımlanmaktadır. Bazı topikal ve transdermal ürünler, yüksek oranda derideki lipitlerle etkileştiği bilinen etanol gibi çözücüleri içerir (Wiechers 1989; Hadgraft 1999; Değim 2007; Otto ve ark 2009).

2.3. Antienflamatuvar İlaçlar Hakkında Genel Bilgiler

2.3.1. Antienflamatuvar İlaçlar

Antienflamatuvar ilaçlar farklı, heterojen kimyasal ve fonksiyonel gruplardan oluşmaktadır. Antienflamatuvar ilaçların etki ve yan etkileri çoğu organik asit yapısında olan heterojen yapılardan kaynaklanmaktadır. Aspirin bu grup ilaçların prototipi olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle antienflamatuvarlar *'aspirin benzeri ilaçlar'* ya da daha

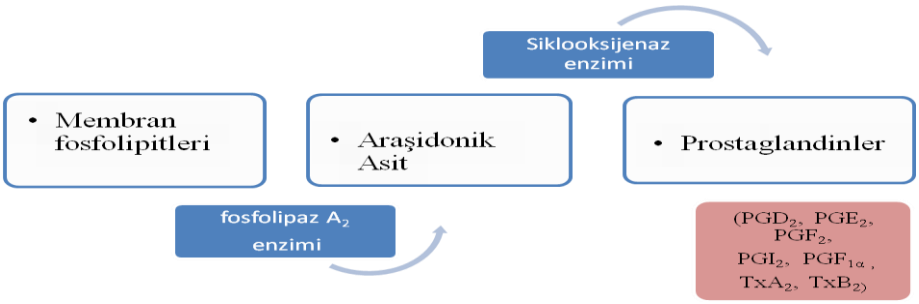
sık kullanılan ifadeyle *'steroit yapısında olmayan antienflamatuvar ilaçlar'* olarak tanımlanırlar (Carlucci 2009) ve genellikle NSAI ilaçlar şeklinde kısaltılarak ifade edilirler.

2.3.2. NSAI İlaçların Etki Mekanizması

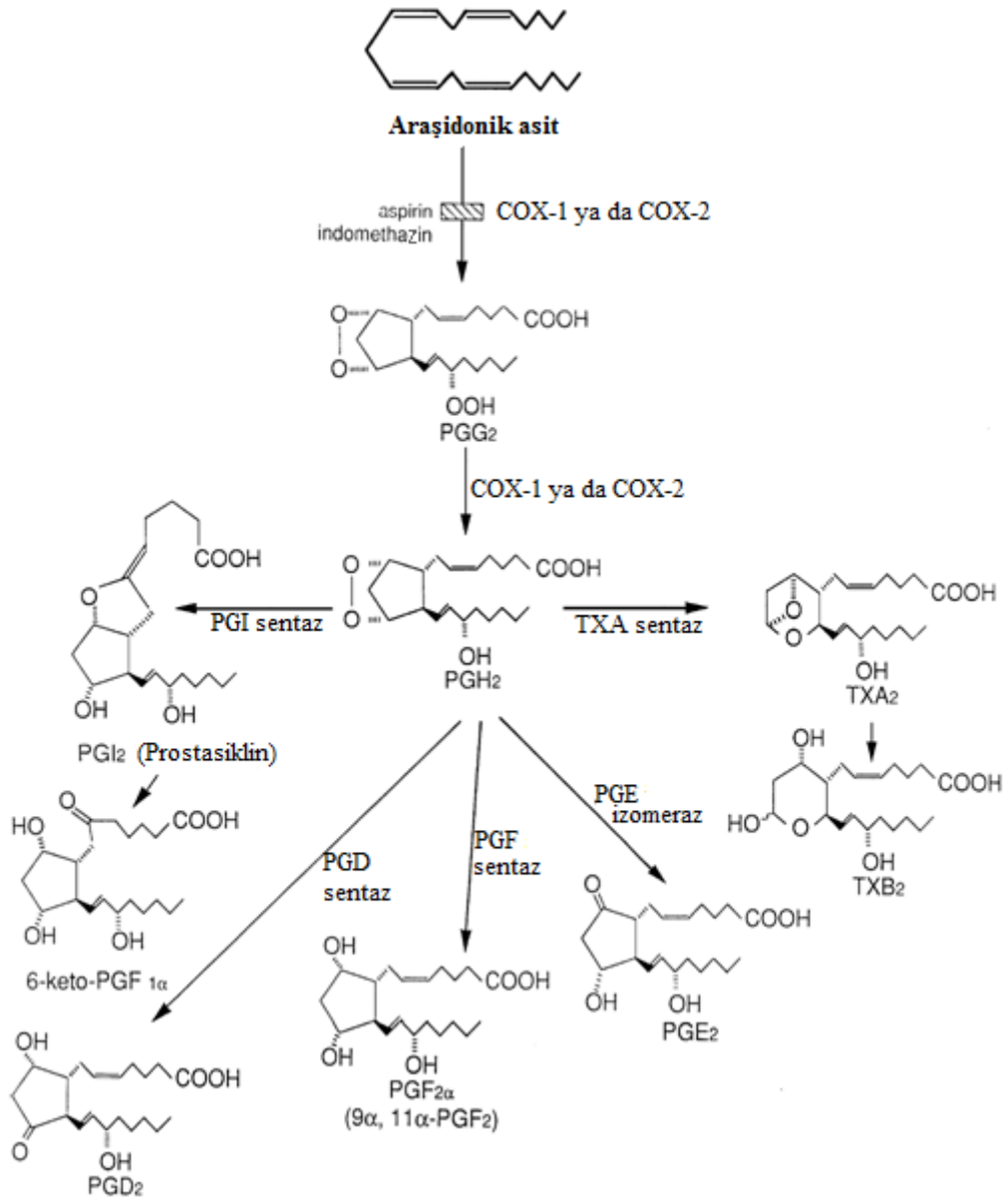
NSAI ilaçların etkisi farklı mekanizmalarla açıklanmaktadır. NSAI ilaçların ana mekanizmasının, otokoitlerle bağlantılı olan *prostaglandin* (PG) lerin biyosentezinde rol alan *siklooksijenaz* (COX) enziminin inhibisyonu olduğu düşünülmektedir (Carlucci 2009).

Araşidonik asitten PG sentezlenmesinde ana enzim olan *COX,* ilk defa 1976 yılında saflaştırılarak elde edilmiş ve 1988 yılında klonlanmıştır. 1991 yılında laboratuvarlarda yapılan pek çok çalışma sonucunda, diğer bir *COX* çeşidi daha keşfedilmiş ve *COX-2* enzimi olarak isimlendirilmiştir. *COX* enziminin her iki izomeri de yapısal olarak birbirine çok benzemektedir. Ancak substratları, inhibitör seçicilikleri ve hücre içerisindeki yerleşimleri açısından farklılık göstermektedirler (Vane ve ark 1998; Dannhardt ve Kiefer 2001). *COX-1* enzimi özelikle midede olmak üzere vücudun pekçok yerinde bulunur. Doku ve hücrelerde görülen *COX-1* hücreleri korur. Mide mukozası için hücre koruyucudur. *COX-2* ise normal şartlarda dokularda çok az miktarda bulunur. Büyüme faktörünün uyarılması, endotoksinler nedeniyle ve enflamasyon durumunda salgılanır (Vane 1996; Matsuyama ve ark 2010).

PG sentez mekanizmasının başlangıç maddesi olan araşidonik asit, hücre membranındaki fosfolipitlerin içinde bulunan, 20 karbonlu ester halinde, çoklu doygun olmayan bir yağ asitidir. Hücre membranında bulunan fosfolipitler, fosfolipaz A_2 enziminin etkisiyle hidroliz olduğu sırada araşidonik asit salımı gerçekleşir (Tosun 2005). PG sentez mekanizmasında rol alan enzim, *prostaglandin endoperoksit sentaz* ya da yağ asidi *siklooksijenaz* dır *(COX). COX*, PG sentezinin hız sınırlayıcı enzimidir. Bu enzim, araşidonik asidi kararlı olmayan ara ürün prostaglandin G_2 ye dönüştürür. PGG_2, *COX* un peroksidaz aktivitesi ile hızla prostaglandin H_2 (PGH_2) ye dönüştürür (Dannhardt ve Kiefer 2001; Hawkey 2002; Carlucci 2009). PGH_2 bir ara ürün olup, PG D_2, E_2, $F_{2\alpha}$, I_2 ve Tromboksan A_2 (TxA_2)'nin öncüsüdür. PGH_2 bir dizi enzim ve nanoenzimlerin etkisi ile PGE_2, PGF_2, PGD_2, PGI_2 ve TxA_2 ye dönüşür (Vane ve ark 1998; Dannhardt ve Kiefer 2001).



Şekil 2-3: Membran fosfolipitlerinin prostaglandinlere dönüşümü



Şekil 2-4: Araşidonik asitten mediatörlere dönüşüm basamakları (Vane ve ark 1998)

2.3.3. NSAI İlaçların Sınıflandırılması

NSAI ilaçlar kimyasal gruplarına göre sınıflandırılırlar (Okyar ve ark 2011);

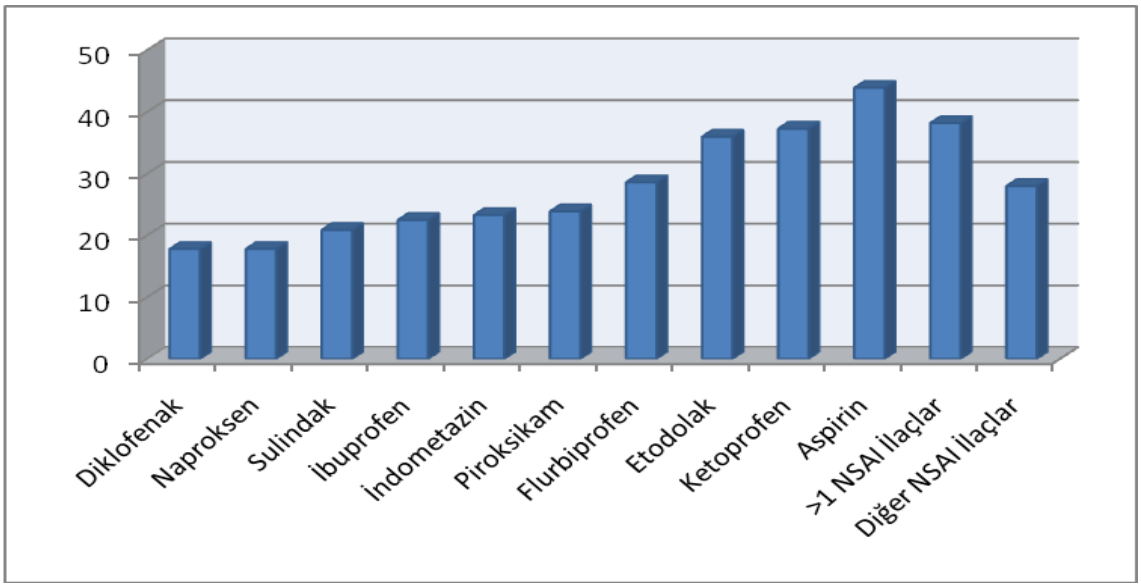
- Salisilik asitler (Asetil salisilik asit)
- P-aminofenol türevleri (Asetaminofen)
- Fenilpropiyonik asitler (İbuprofen)
- Fenilasetik asit türevleri (Diklofenak)
- İndolasetik asit (İndometazin)
- Fenamatlar (Etofenamat)
- Oksikamlar (Piroksikam)
- Pirazolonlar (Metamizol)

2.3.4. NSAI İlaçlarınYan Etkileri

NSAI ilaçlar dünya üzerinde en yaygın kullanılan ilaçlardır. Bildirilen ilaç yan etkilerinin dörtte biri bu ilaçlardan kaynaklanmaktadır. Bilinen ve en sık rastlanılan yan etkisi ise GI sistem ile ilgili şikayetleridir (Heyneman ve ark 2000; Hooper ve ark 2004). GI sistem ile ilgili şikayetlerin ana mekanizmasının, PG sentezinin inhibisyonu olduğu kabul edilmiştir. PG sentezi, mide mukozasındaki kan akışının artması sonucu, mukus ve bikarbonat sekresyonunun stimulasyonu ile koruyucu etki gösterir. Bunun aksine prostaglandin eklemlerde, ağrı ve bazı enflamasyon bileşenlerine neden olur (Hawkey 2002).

İngiltere'de yapılan araştırmalara göre her yıl 2000 kişi NSAI ilaçların yol açtığı ülser kanamaları ve mide delinmeleri nedeniyle hayatını kaybetmektedir. İleri yaş, geçirilmiş ülser hikayesi gibi risk faktörleri de önemlidir. NSAI ilaçların GI sistem üzerindeki etkileri, doza bağlı olarak artmaktadır. GI dokunun tamamını etkileyerek, yüksek düzeyde dispepsi ve GI doku boyunca mukoza hasarına neden olurlar. Ayrıca sıvı retansiyonu, hipertansiyon, böbrek hasarına neden olmaktadırlar. NSAI ilaçların kullanılmasına bağlı olarak renovasküler yan etkiler de görülebilmektedir. Bu yan etkilerin tedavi maliyetleri özellikle yaşlı nüfus için oldukça yüksektir (Hawkey 2002; Lionberger ve Brennan 2010).

COX-1 i etkilemeden sadece *COX-2* inhibisyonu yapan NSAI ilaçların yan etkileri daha düşüktür ancak tamamen ortadan kalkmamıştır. *COX-2* inhibisyonu genellikle artrit, osteoartrit gibi enflamasyon durumlarında tercih edilir. Bu tip hastalar belirli bir yaşın üzerindedir ve genellikle çoklu hastalıkları nedeniyle kronik ilaç tedavisi altındadırlar. Bu durumda ise GI bir hasarın olasılığı oldukça yüksektir (Fosbol ve ark 2008). Dolayısı ile *COX-2* inhibitörlerinin GI sistem üzerindeki düşük olan olumsuz etkilerinin yeniden artması beklenir. Yapılan çalışmalar da *COX-2* inhibitörlerinin sanıldığı kadar güvenli olmadığını göstermektedir. Özellikle uzun süreli tedavinin uygulanmasının gerektiği kronik enflamatuvar hastalıklarında kullanılan *COX-2* inhibitörü NSAI ilaçların, diğer NSAI ilaçlara göre mide lezyonlarını da içeren birçok yan etkilere neden olduğu bildirilmektedir. Güvenli olarak gösterilen NSAI ilaçların bile GI sistemin farklı noktalarındaki fırçamsı yüzeyli membran (Brush Border Membran, BBM)'larda biyofiziksel değişikliklere yol açarak intestinal toksisite gösterdikleri hipotezi de mevcuttur (Sousa ve ark 2008).



Şekil 2-5: NSAI ilaçlar ile tedaviye bağlı ülserasyon oranları (Cheatum ve ark 1999)

COX-2 nin renin-anjiyotensin siteminin dengesi üzerinde etkisi vardır. Bu etkiden dolayı hipertansiyon ve böbrek yetmezliğine neden olabilir (Dannhardt ve Kiefer 2001).

2.3.5. NSAI İlaçların Diğer Farmakolojik Etkileri

NSAI ilaçların ağrı kesici, ateş düşürücü, antienflamatuvar etkilerinin yanı sıra farklı farmakolojik etkiler gösterdiklerine dair araştırmalar mevcuttur. Örneğin mefenamik asitin Amiloid B peptidi içeren Alzheimer hastası farelerde öğrenme ve hafıza zayıflığını geliştirdiği için Alzheimer hastalığında terapötik ajan olarak kullanıldığı rapor edilmiştir. Enflamasyon yolağı Alzheimer hastalığının patofizyolojisi ile birleştiği için NSAI ilaçlar ile tedavinin Alzheimer riskini azalttığı düşünülmektedir (Sevgi ve ark 2009). Hipokampüs ve korteks gibi hafıza ile ilgili bölgelerde *COX-2* miktarının, biriken B-Amiloid proteinine bağlı olduğu bulunmuş ve Alzheimer hastalığının tedavisi için umut verici olduğu düşünülmüştür (Dannhardt ve Kiefer 2001).

Prostaglandinler (PGs), lökotrienler ve lipoksinlerle beraber enflamasyon yanıtı esnasında görülen plazma protein sızıntısı, ödem ve vazodilatasyona katkıda bulunan lipit mediatörlerdir (Matsuyama ve ark 2010).

COX-2, insanların kolon, meme, prostat ve akciğer neoplastik hücrelerinde gözlenmiştir. Selekoksib'in anjiyogenez modeli bir sıçandaki potansiyel anti-anjiyogenetik etkisi, yapılan çalışmalar sonucunda gösterilmiştir. Yani *COX-2* inhibitörü ilaçlarına anti-anjiyogenezis etkilerinden bahsedilebilir.

Ayrıca *COX-2* nin kolon karsinogenezisinde de etkili olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalardan elde edilen verilere göre *COX-2* nin santral sinir sistemindeki (SSS) enflamasyon ve ağrı durumlarında da önemli rol üstlendiği öne sürülmüştür (Dannhardt ve Kiefer 2001).

Çevresel karsinojen olarak bilinen Ultraviyole (UV) B ışınlarının etkisiyle deride *COX-2* salgılanır ve oksidan ürünlerin miktarı artar. Selekoksib ile yapılan çalışmalar sonucunda topikal yol ile uygulanan *COX-2* inhibitörlerinin UV ye bağlı deri kanseri gelişme riskini azalttığı bildirilmiştir (Wilgus ve ark 2003).

2.3.6. NSAI İlaçların Topikal Uygulanması

NSAI ilaçlar burkulma, zorlanma, spor ağrıları, osteoartrit, romatizma gibi akut ve kronik iskelet kas sistemi hastalıklarında yaygın bir şekilde kullanılır (Moore ve ark 1998). Bu ilaçların oral yol ile kullanımı oldukça etkilidir. Ancak GI mukozada meydana getirdiği ülserasyon ve iritasyon gibi yan etkileri, oral kullanımlarını kısıtlar

(Üstündağ-Okur ve ark 2011). NSAI ilaçların deri yolu ile uygulanması GI sistem üzerindeki, iritasyonun önlenmesi, sistemik toksisitesinin azaltılması ve daha iyi terapötik etki sağlanması açısından önemli avantajlar sağlar (Moore ve ark 1998; Lionberger ve Brennan 2010). Bu nedenle NSAI ilaçların özellikle iskelet kas sistemi hastalıklarında jel, krem, sprey, şeklinde topikal preparatları ile uygulanması her zaman tercih edilmektedir (Massey ve ark 2010).

Topikal NSAI ilaçların etkinliği deriden penetre olarak doku ya da eklem bağlantı noktalarına ulaşmaları ve ağrıya neden olan enflamasyon bölgesinde etkin konsantrasyonlarına ulaşmaları gerekmektedir (Massey ve ark 2010). Böylece topikal uygulanan NSAI ilaçların sistemik dolaşıma çok daha az miktarda geçmesi beklenir (Heyneman ve ark 2000). Genel olarak topikal uygulama ile elde edilen kan serum konsantrasyonunun oral kullanımda elde edilen kan serum konsantrasyonunun 1/20'sinden daha düşük olduğu kayıtlıdır (Massey ve ark 2010). Topikal uygulanan NSAI ilaçların plazma konsantrasyonlarının oral uygulamayı takiben ulaşılan plazma konsantrasyonlarından çok daha düşük olduğu bildirilmiştir (Moore ve ark 1998; Lee ve Maibach 2006). Topikal uygulama ile elde edilen biyoyararlanım ve en yüksek plazma konsantrasyonu, oral uygulamaya oranla sırasıyla %5 ve %15'ten azdır (Heyneman ve ark 2000). Diğer taraftan oral yol ile karşılaştırıldığında topikal uygulama sonrası dermisteki ilaç konsatrasyonu daha yüksektir. Uygulama bölgesinin altındaki kas dokusunda biriken ilaç miktarı değişkendir; ancak en az oral yolla uygulanan miktara eşittir. Topikal yolla uygulanan NSAI ilaçlar sinoviyal sıvıya kadar ulaşır (Heyneman ve ark 2000; Lee ve Maibach 2006) ve topikal NSAI ilaçların uygulama bölgesindeki yan etkileri plasebo ile benzerdir (Massey ve ark 2010). Topikal uygulamanın etkinliği ile ilgili yapılan çalışmalara göre topikal ve oral NSAI ilaç tedavisi ile elde edilen etki arasında pek fark bulunamamıştır ve topikal uygulanan NSAI ilaçların analjezik etkilerinin plasebolardan çok daha iyi olduğu düşünülmektedir (Lionberger ve Brennan 2010).

Topikal uygulanan NSAI ilaçların, uygulandığı bölgedeki dokularda terapötik konsantrasyona ulaşırken düşük serum seviyesi sağlıyor olmaları pek çok avantajı beraberinde getirir: Serum konsantrasyonunun yüksek olmasına bağlı olarak meydana gelen yan etkiler azalır. NSAI ilaçlara bağlı olan toksisite dozla ilişkili olduğu için serum konsantrasyonundaki azalmayla beraber *prostaglandin* inhibisyonuna bağlı

olarak meydana gelen yan etkilerin de azaldığı düşünülür. Bu yan etkiler arasında akut böbrek yetmezliği, nefrotik sendrom, NSAI ilaç gastropatisi, kanama zamanının uzaması ve sıvı retansiyonu yer alır ve ilaç ilaç etkileşimleri de azalmış olur (Heyneman ve ark 2000). Topikal uygulama ile sistemik yan etkiler azalırken deri reaksiyonları gibi daha kolay tolere edilebilir lokal yan etkiler gözlenebilir (Lionberger ve Brennan 2010).

2.4. Etodolak Hakkında Genel Bilgiler

2.4.1. Etodolak'ın Yapısı ve Özellikleri

Kimyasal Formülü: 1,8-dietil-1,3,4,9-tetrahidropirano[3,4-b] indol-1-asetik asit

Kapalı Formülü: $C_{17}H_{21}NO_3$

Molekül Ağırlığı: 287,4

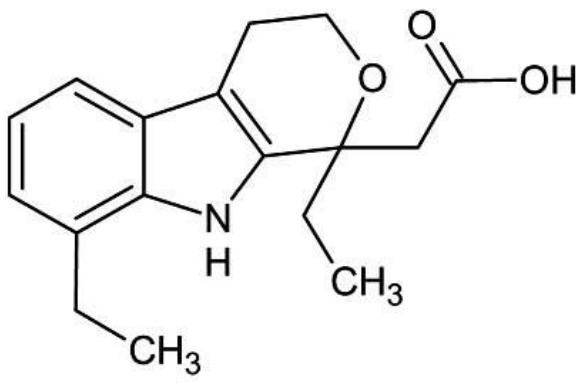
Erime Noktası : 146,5ºC

***Log P*:** 2,5

***pKa*:** 4,65

***Sudaki çözünürlüğü*:** 16mg/L

(www.drugbank.ca; Martindale 2005)



Şekil 2-6: Etodolak'ın kimyasal yapısı (Carlucci 2009)

Etodolak, beyaz kristal şeklindedir, pratik olarak suda çözünmez, alkolde (%96) ve asetonda iyi çözünür (Martindale 2005). Etodolak, S ve R enantiyomerlerinin rasemik karışımlarından oluşur. S ve R enantiyomerlerinin antienflamatuvar etkileri

incelendiğinde hem rasemik hem de S enantiyomerinin *COX-2* üzerinde etkisi vardır; diğer taraftan *COX-1* üzerindeki etkileri zayıftır. R enantiyomerinin hem *COX-1* hem de *COX-2* üzerine etkisi yoktur. Etodolak'ın *COX-2* inhibitör aktivitesi, antienflamatuvar etkisi ve anti-allodini etkisi S enantiyomerinden kaynaklanmaktadır (Shi ve ark 2004; Inoue ve ark 2011).

2.4.2. Etodolak'ın Farmakolojik Özellikleri

2.4.2.1. Endikasyonları Yan Etkileri Kullanım Dozu

Etodolak ağrı, ateş ve enflamasyona karşı kullanılan NSAI bir ilaçtır. Piranokarboksilik asit grubu NSAI ilaçlar arasında yer alır (Balfour ve Buckley 1991; Inoue ve ark 2011). Osteoartrit ya da romatoid artrit tedavisinde (Carlucci 2009; Lee ve ark 2008), operasyon sonrası ağrılarda, ankilozan spondilitte, gut hastalığında, travmatik incinmelerde (Balfour ve Buckley 1991) kullanılır. Etodolak'ın, osteoartrirt ya da romatoid artrit tedavisinde diğer NSAI ilaçlara göre klinik kullanımı daha geniştir (Carlucci 2009).

Romatoid artrit ve osteoartrit gibi hastalıkların tedavisinde önerilen kullanım dozu bölünmüş halde 600-1000 mg arasındadır. En yüksek kullanım dozu günlük 1200 mg'dır. Akut ağrı durumunda 6-8 saat arayla 200-400 mg dozda kullanımı önerilmektedir (Martindale 2005).

Diğer NSAI ilaçlarda olduğu gibi etodolak'ın en yaygın görülen yan etkisi GI sistem (dispepsi, abdominal ağrı, mide bulantısı) üzerinedir (Balfour ve Buckley 1991; Inoue ve ark 2011). GI sistem rahatsızlıklarını takiben en sık görülen yan etkiler; baş ağrısı, baş dönmesi, döküntü ve kızarıklıktır. Abdominal ağrı ve dispepsi oranı diğer NSAI ilaçların meydana getirdiği etkiye benzerdir. Ancak aspirinin neden olduğu yan etkiye göre daha azdır (Schattenkirchner 1990; Balfour ve Buckley 1991).

2.4.2.2. Farmakokinetik Özellikleri

Absorbsiyonu

Sağlıklı yetişkinlerde oral yol ile uygulanan etodolak hızlı ve iyi absorbe olur (Boni ve ark 1999) ve 1-2 saat içerisinde en yüksek plazma konsantrasyonuna ulaşır. Etodolak'ın plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi altında kalan alan, doza bağlı olarak doğrusal şekilde artar (Brocks ve Jamali 1994). Etodolak oral yol ile 200 ve 400 mg

dozlarda uygulandıktan 2 saat sonra elde edilen plazma konsantrasyonları sırasıyla yaklaşık olarak 12 - 15 mg/L ve 21 mg/L dir (Balfour ve Buckley 1991).

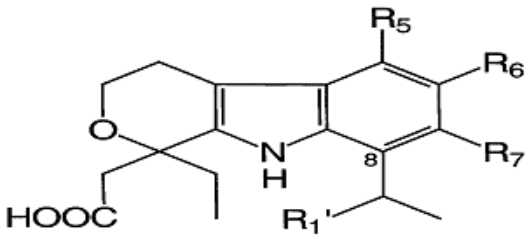
Dağılımı

Diğer NSAI ilaçlar gibi etodolak da yüksek oranda (yaklaşık %99) plazma proteinlerine bağlanır (Balfour ve Buckley 1991; Boni ve ark 1999). İnsanlardaki dağılım hacmi 0,3 - 0,5 L/kg iken oral klirensi (cL/F) 0,39 - 0,41 L/sa/kg'dır (Balfour ve Buckley 1991; Boni ve ark 1999). S-enantiyomerinin geniş dağılımından dolayı dağılım hacmi birçok NSAI ilacın dağılım hacminden yüksektir (Brocks ve Jamali 1994). Jüvenil romatoid artritli hastalarda serbest ilaç miktarının sağlıklı yetişkinlere göre daha yüksek olduğu, buna rağmen oral klirensin yaş ile ilişkili olmadığı bulunmuştur (Boni ve ark 1999). Etodolak'ın artritli hastalarda hızla sinoviyal sıvıya penetre olduğu bulunmuştur. Yapılan hayvan deneyleri ile de enflamasyonlu dokuda ilaç alımının artabileceği sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak değişmeyen etodolak ile beraber açil glukronitlerinin önemli konsantrasyonlarda plazmada ve artritli hastaların sinoviyal sıvılarında bulunduğu bildirilmiştir (Balfour ve Buckley 1991).

Metabolizması ve Metabolitleri

Etodolak, aktif olmayan oksidatif metabolitlerine, büyük oranda ve hızla, karaciğerde metabolize olur (Lee ve ark 2008). Etodolak insan vücudunda hidroksilasyon ve açil glukronidasyon ile metabolize olur (Carlucci 2009).

Etodolak'ın monohidroksillenmiş metabolitlerinden 6-hidroksi, 7-hidroksi ve 8-hidroksi bilinmekte idi. Daha sonraları bu metabolitlerin açil glukronitleri olan etodolak glukronit bulunmuştur. Yapılan çalışmalar sonucu 4-üreido etodolak'ın varlığından bahsedilmiştir. Bu çalışmalara ek olarak Strickmann ve Blaschke 5-hidroksi etodolak adını verdikleri metaboliti, insan idrarından izole etmişlerdir (Şekil 2-7) (Strickmann ve Blaschke 2001).



	R_5	R_6	R_7	$R_{1'}$
etodolak	H	H	H	H
5-hidroksi etodolak	OH	H	H	H
6-hidroksi etodolak	H	OH	H	H
7-hidroksi etodolak	H	H	OH	H
8-(1'-hidroksietil) etodolak	H	H	H	OH

Şekil 2-7: Etodolak ve metabolitleri (Strickmann ve Blaschke 2001)

Atılımı

Etodolak'ın vücuttan atılımının ana yolu böbreklerdir. Oral yoldan verilen etodolak'ın eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 6 - 7 saattir (Boni ve ark 1999). İlk 24 saat içerisinde uygulanan dozun yaklaşık %60'ı ve 7 gün içerisinde %73'ü konjuge etodolak ve hidroksillenmiş metabolitleri olarak idrarda görülmüştür (Balfour ve Buckley 1991).

Kolesistektomi yapılan hastaların safralarında konjuge etodolak'ın az bir miktarına rastlanmıştır. Yapılan çalışmalar ile, böbrek fonksiyonlarının ya da yaşlanmanın etodolak'ın farmakokinetiği üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Açil glukronitler, böbrekten atılıyor olmasına rağmen böbrek fonksiyonlarında bozukluk olduğu gözlenmemiştir (Brocks ve Jamali 1994).

2.4.3. Diğer Farmakolojik Etkileri ve Kullanım Alanları

Etodolak'ın etkisi *COX-2*'nin selektif inhibisyonuna bağlı *prostaglandin* sentezini bloke etmesine dayanır. Aynı zamanda enflamasyon bölgesinde meydana gelen serbest radikalleri temizleme etkisi, antioksidan özelliği de vardır (Garcia ve ark 2006).

Enflamasyon esnasında reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretildiği ve bu türlerin kontrolsüz şekilde salımının doku hasarına yol açtığı ile ilgili bilgiler vardır. Bu nedenle NSAI ilaçların *COX-2* ve lipooksijenaz enzimlerini inhibisyonu ile meydana gelen antienflamatuvar etkilerinin yanı sıra, antioksidan etkileri de araştırılmaktadır (Lúcio ve

ark 2008). Etodolak, *Helicobacter pylori* ile enfekte olmuş mukozada mide kanseri gelişimini doza bağlı olarak inhibe edebileceği gösterilmiştir (Magari ve ark 2005).

Enflamasyon durumunda gözlenen *COX-2* aynı zamanda pek çok kanser durumunda açığa çıkar. *COX -2* nin apopitoz inhibisyonu da dahil pekçok mekanizma ile tümör oluşumuna katkıda bulunduğu bildirilmiştir. *COX-2* inhibitörü etodolak'ın, *in vitro* ve *in vivo* insan prostat kanser hücrelerinde hücre apopitozunu başlatarak antitümör etki gösterdiği de kayıtlıdır. Ayrıca mesane kanseri üzerindeki etkinliği ile ilgili veriler elde edilmiştir (Okamoto ve ark 2008).

Etodolak'ın, antilösemik aktivitesi ile dikkat çeken bir NSAI ilaç olduğu bildirilmiştir. Etodolak'ın antitümör etkisinin olduğunu rapor eden çalışmaların ardından bu etki üzerine yeni çalışmalar yapılmıştır. Prostat ve kolon kanseri hücrelerinde de aynı aktivitenin elde edildiği gösterilmiştir. *COX-2* üzerinde etkisiz olan R (-) enantiyomerinin antitümör potansiyeli gösterdiği düşünülmektedir. Yapılan çalışmanın sonucunda indol-piran analoglarının kanser tedavisinde yeni bir ilaç sınıfı oluşturabileceği gösterilmiştir (Lindhagen ve ark 2007).

Etodolak, nöropatik ağrısı olan farelerde mekanik allodiniye karşı etkili bulunmuştur. Bu etkinin *COX* inhibisyonu ile bir ilgisi olmadığı için diğer NSAI ilaçlar için geçerli değildir. Etodolak'ın nöropatik ağrıdaki etkinliğinin kendisi ile karşılaştırıldığı pregabalinin etki mekanizmasından farklı olduğu bulunmuştur. Etodolak'ın nöropatik ağrıda klinik açıdan kullanılabileceği rapor edilmiştir (Inoue ve ark 2009).

Ayrıca kandaki ürik asit seviyesini düşürerek gut hastalığının tedavisinde kullanıldığı da rapor edilmiştir (İbrahim ve ark 2010).

2.4.4. Etodolak'ın Farklı Uygulama Yolları ile İlgili Literatürlerdeki Kayıtlı Çalışmalar

Etodolak günümüzde tedavide oral yolla tablet şeklindeki preparatları ile kullanılmaktadır. Oral tedavinin dezavantajlarının üstesinden gelmek ve özellikle spesifik artrit, osteoartrit gibi kronik hastalıkların tedavisinde topikal, rektal gibi alternatif uygulama yollarının üstünlüklerini sağlamak üzere yapılmış olan araştırmalar literatürlerde kayıtlıdır. Ayrıca oral kullanım ile emilimi ve biyoyararlanımınının arttırlıması için yapılmış çalışmalar da vardır.

Kayıtlı çalışmalardan birinde deri altı bölgesinde topikal etki elde etmek amacı ile penetrasyon arttırıcı mentol, anetol ve karvakrol gibi terpenler kullanılarak etodolak jel formülasyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan jellerin viskoziteleri incelenmiştir. *İn vitro* çalışmalar selüloz membran ile *ex vivo* çalışmalar ise sıçan derisi kullanılarak yapılmıştır. Lipofilik ilaçların deriden geçişinde penetrasyon arttırıcıların lipofilik özelliği belirleyici faktör olduğu bildirilmiştir. Bu yaklaşımla çalışma sonucunda mentol ve karvakrol gibi hidrofilik terpenlerin deriden geçişi anlamlı derecede arttırmadığı ancak hidrofobik özellikte bir terpen olan anetol'ün geçiş üzerinde oldukça etkili olduğu saptanmıştır. Bu çalışmadan, %1 anetol içeren topikal jel formülasyonları hazırlanmış ve GI sistem üzerinde yan etkiler meydana getiren oral kullanıma alternatif olabileceği sonucu çıkarılmıştır (Taş ve ark 2007).

Poloksamer ve biyoadezif polimerlerden meydana gelen rektal etodolak termojel sistemleri geliştirilmiş, *in vitro* ve *in vivo* olarak değerlendirilmiştir. Bu jel sistemlerinin jel kuvvetleri ve mukoadezif kuvvetleri ölçülmüştür. Formülasyondan salımları USP palet yöntemi ile çalışılmıştır. Bu formülasyonların antienflamatuvar etkileri ve hücre üzerindeki toksisiteleri sıçanlar üzerinde *in vivo* olarak denenmiştir. 6 saat sonra yapılan değerlendirmelere göre antienflamatuvar etkilerinin olduğu belirtilmiştir. Etodolak'ın supozituvardan Fick'in birinci yasasına göre salındığı sonucuna varılmıştır. Normal supozituvarlarla karşılaştırıldığında sıçanlarda etodolak'ın poloksamer jelden emiliminin daha hızlı olduğu bulunmuştur. Polimerin akışkanlığı ve biyoadezif kuvveti bunun nedeni olarak gösterilmiştir. Etodolak'ın supozituvarı rektal dokuda hasar yaratmamıştır. Sonuç olarak *in situ* etodolak ve mukoadezif polimerlerin akışkan jel supozituvarının, etodolak'ın rektal dozaj formu olarak güvenilir ve etkili olduğu bildirilmiştir (Barakat 2009).

Etodolak yüklü Poli (d,l-laktit-ko-glikolit) (PLGA) nanopartikülleri, etodolak'ın mide üzerindeki yan etkilerini azaltmak amacıyla hazırlanmıştır. Formülasyonun ilaç yükleme kapasitesinin %17 olduğu bulunmuştur. Nanopartikül formülasyonu 144 saate kadar uzayan kontrollü salım profili göstermiştir. Bu sonuçlardan, etodolak yüklü PLGA nanopartiküllerinin bu antienflamatuvar ilaç için umut vaadedici taşıyıcı sistemler olabileceği sonucu çıkarılmıştır (Çırpanlı ve ark 2009).

Suda çözünürlüğü zayıf olan etodolak'ın emiliminde hız sınırlayıcı basamak çözünme hızıdır. Oral yoldan kullanımda çözünme hızını dolayısı ile biyoyararlanımını

arttırmak için 2-hidroksipropil β-siklodekstrin ve trometamin kullanılarak çiğnenebilir etodolak tabletleri hazırlanmıştır. Sonuç olarak yüksek kan konsantrasyonu (C_{max}) ve daha kısa zaman (T_{max} , yaklaşık 2 saat) elde edilmiştir (İbrahim ve ark 2010).

2.5. Mikroemülsiyonlar Hakkında Genel Bilgiler

2.5.1. Mikroemülsiyonların Tarihçesi ve Tanımı

Mikroemülsiyonlar ile ilgili ilk çalışma 1943 yılında İngiliz kimyager Schulmann ve Hoar tarafından yapılmıştır. Schulmann ve Hoar; su, katyonik sürfaktan (setil trimetill amonyum bromit), yağ fazı ve alkol kullanarak emülsiyon benzeri yapılar hazırlamışlardır (Kreilgaard 2002). Su ile karışmayan organik sıvılar ve amfifilik maddeler, su ile karıştırıldıklarında öncelikle iki fazlı bulanık bir emülsiyon oluşur. Bir süre sonra bu sistem sulu faz ve organik faz olmak üzere ikiye ayrılır (Schwuger ve Stickdornt 1995). 1950 yılında Schulmann dayanıklı olmayan iki fazlı bu yapılara orta zincirli alkol ilave ederek ışığı geçiren ve dayanıklı emülsiyonlar hazırlamıştır (Çomoğlu ve Gönül 1997). 1959 yılında ise Schulmann ve arkadaşları hazırladıkları bu yapıları mikroskop ile inceleyerek ‘mikroemülsiyon’ olarak isimlendirmişlerdir (Kreilgaard 2002). 1981 yılında Danielsson ve Lindman ise mikroemülsiyonları, yapılarında bulunan yağ ve suyun optik açıdan izotropik ve tek fazlı çözeltiler olarak tanımlamışlardır (Kogan ve Garti 2006; Santos ve ark 2008).

Mikroemülsiyonlar su, yağ, sürfaktan ve genellikle kısa ya da orta zincirli alkollerden seçilen ko-sürfaktan olmak üzere dört bileşenden meydana gelmektedir (Kreilgaard 2002). Genel bir ifadeyle mikroemülsiyonlar, uygun oranlarda yağ fazı, su fazı, sürfaktan ve ko-sürfaktandan oluşan, ışığı geçirebilen dispersiyon sistemlerdir (Cao ve ark 2011).

2.5.2. Mikroemülsiyonların Yapısı ve Özellikleri

Mikroemülsiyonlar sürfaktan ve ko-sürfaktan ile stabilize edilmiş su ve yağdan oluşan şeffaf, izotropik ve düşük viskoziteli dağılımlardır (Moulik ve Paul 1998; Kreilgaard 2002; Kogan ve Garti 2006). Emülsiyonların aksine mikroemülsiyonlar oldukça kararlı kolloidal dispersiyonlardır. Bu sistemler, ko-sürfaktan kullanılmadan yalnız sürfaktan ile stabilize edilebilirler. Ancak ko-sürfaktan kullanılması, mikroemülsiyonlarda yüzeylerarası gerilimin daha fazla düşürülebilmesini sağlar (Santos ve ark 2008).

Mikroemülsiyonların damlacık büyüklüğü farklı kaynaklarda farklı gösterilmiştir. Bazen 1-100 nm arasında (Kawakami ve ark 2002) bazen 10-100 nm'dir (Kreilgaard 2002; Chen ve ark 2006; Zhao ve ark 2011; Goebel ve ark 2011). Genel olarak mikroemülsiyonların damlacık boyutlarının, 200 nm'den küçük olduğu bildirilmiştir (Prince 1970).

Mikroemülsiyon formülasyonlarının damlacık boyutu 200 nm'nin altında olduğu için (görünür dalga boyunun altında) elektron veya ışık mikroskobu ile görüntülenemiyor olmalarına rağmen ışığı dağıtabilme özelliklerinden dolayı varlıkları kolayca görülebilirler. Bu *'Tyndall Etkisi'* yansıyan ışıkta puslu mavi olarak ya da geçen ışıkta kırmızı-turuncu olarak görülür ve bu durum mikrofotometre ile ölçülür (Prince 1970; Kreilgaard 2002).

Mikroemülsiyon formülasyonlarının damlacık boyutunun bu kadar küçük olması, bu formülasyonların çökme, flokülasyon ve koalesense karşı kararlılıklarının artmasını sağlar (Hathout ve ark 2010a).

Mikroemülsiyonların S/Y veya Y/S yapısını sürfaktanlar belirler (Rosano ve ark 1988). Mikroemülsiyon bileşenlerinin oran ve miktarları dış fazın su veya yağ olmasına bağlı olarak değişir. Mikroemülsiyonlarda sulu fazda su ile karışabilen ya da suda çözünebilen maddeler de yer alabilir (Yazan 2002). Bileşenlerinin oranlarına bağlı olarak mikroemülsiyonlar normal, ters misel ya da *bicontinuous* yapıda olabilirler (Esposito ve ark 2003).

Sürfaktan, su ve yağ arasındaki film tabakası tarafından absorbe edilir. Ko-sürfaktan da yüzeylerarasında karışık çift yönlü film oluşturmak üzere etkileşim yapar. Ko-sürfaktan dinamik durumda etkilidir. Dispersiyon oluşumunun başlangıcında oluşum için gerekli olan yüzeylerarası gerilimi geçici olarak düşürür. Ardından ko-sürfaktan dağılımı eşitlendiği zaman, yüzeylerarası film tabakasının bir parçası olarak yüzeylerarasına sürfaktanla birlikte dağılır. Bu noktada sistem termodinamik açıdan kararlı, şişmiş misel karışımı (Y/S) ya da ters misel karışımı (S/Y) olabilir (Rosano ve ark 1988).

Mikroemülsiyonların, klasik emülsiyonlardan farklı yapı ve özellikleri Tablo 2-1 de özetlenmiştir (Prince 1970; Rosano ve ark 1988; Çomoğlu ve Gönül 1997; Moulik ve Paul 1998; Heuschkel ve ark 2008; Santos ve ark 2008).

Tablo 2-1: Emülsiyonlar ile mikroemülsiyonlar arasındaki farklılıklar

Özellikler	Emülsiyon	Mikroemülsiyon
Görünüm	Bulanık-opak	Şeffaf
Optik izotropi	Anizotrop	İzotrop
Damlacık Boyutu	>500 nm	<200nm
Stabilite	Termodinamik açıdan kararlı değil	Termodinamik açıdan kararlı, uzun raf ömrü
Hazırlama	Yüksek enerji ister	Spontan
Yüzeylerarası Gerilim	50 mN m^{-1}	Neredeyse 0 mN m^{-1}
Mikroyapı	Statik	Dinamik
Viskozite	Yüksek viskozite	Newton tipi akış gösteren düşük viskozite
Faz	İki fazlı	Tek fazlı

2.5.3. Mikroemülsiyonların Formülasyonu

Mikroemülsiyon formülasyonunun hazırlanmasında kullanılacak bileşenlerin genel olarak toksik olmayan, birbirleri ile uyumlu, optimum formülasyon oluşturabilecek özelliklere sahip olması istenir (Kreilgaard 2002).

2.5.3.1. Yağ Fazının Seçilmesi

Yağ asitleri, alkoller, yağ asidi ve alkollerin esterleri, orta zincirli trigliseritler, asetik asit, terpenler mikroemülsiyon formülasyonlarının yağ fazı olarak kullanılabilirler. En yaygın kullanılan esterler, izopropil miristat (IPM), izopropil palmitat ve etil oleattır (Kogan ve Garti 2006; Santos ve 2008).

Formülasyon bileşenleri seçilirken mikroemülsiyonun kullanım amacı ve yolu da dikkate alınır. Dermal uygulamaya yönelik hazırlanan mikroemülsiyonlarda doymuş

ve doymamış yağ asitleri penetrasyon arttırıcı etkilerinden dolayı tercih edilirler (Kreilgaard 2002; Kogan ve Garti 2006). Oleik asit, penetrasyon arttırıcı etkisi bilinen, en sık kullanılan yağ asididir (Kogan ve Garti 2006). Kaprik ve kaprilik asitin orta zincirli trigliseritleri de pek çok dermal formülasyonda yağ fazı olarak tercih edilir (Santos ve ark 2008).

2.5.3.2. Sulu Fazın Seçilmesi

Mikroemülsiyon formülasyonlarında sulu faz olarak genellikle su kullanılır. Bazı durumlarda sulu faz olarak pH 7,4 fosfat tamponunun kullanıldığı formülasyonlar vardır (Kogan ve Garti 2006). Suyun yanı sıra sodyum klorür, tamponlar, koruyucular, penetrasyon arttırıcılar da sulu fazı oluşturur (Santos ve ark 2008).

2.5.3.3. Sürfaktan ve Ko-Sürfaktanın Seçilmesi

Mikroemülsiyon formülasyonlarında kullanılan sürfaktan ve ko-sürfaktanların güvenli ve iritasyon potansiyellerinin oldukça düşük olması istenir. Bu nedenle iyonik olmayan sürfaktanların kullanılması, iyonik sürfaktanlara göre daha uygundur. Anyonik sürfaktanlar iritasyon özellikleri ile bilinirken katyonik olanlar hücre üzerindeki toksik etkileri ile dikkat çekerler (Lawrence 1996; Kreilgaard 2002; Kogan ve Garti 2006; Santos ve ark 2008). İyonik sürfaktanlara alternatif olarak fosfolipitler kullanılabilir. Lesitin ile yapılmış çalışmalar, insan derisi üzerindeki iritasyon potansiyelinin düşük olduğunu göstermiştir (Santos ve ark 2008). Tween 80, Tween 20, Span 20, Azone, Labrasol, Plurol izostearik, Plurol oleik, Aerosil iyonik olmayan sürfaktanlara örnek gösterilebilir (Kogan ve Garti 2006; Santos ve ark 2008).

Mikroemülsiyon formülasyonlarında ko-sürfaktan kullanılması şartı yoktur. Ancak ko-sürfaktan kullanıldığı zaman yüzeylerarası gerilimin büyüklüğünü üç dört kata kadar düşürür (Santos ve ark 2008). Esnek arayüzey görüşüne göre mikroemülsiyonlar su/yağ/sürfaktan üçlüsünün karıştırılması ile oluşan büyük halkalara, sıvı kristallerin birleşmesi sonucu ortaya çıkan karışık ve sıvı bir yapıya sahiptir. Ancak, birleşme ko-sürfaktan eklenmesi ile uyarılmaktadır (Yazan 2002). Ayrıca mikroemülsiyonların yüksek sürfaktan içeriği, deri iritasyonuna neden olabilir. Ko-sürfaktan ilavesi ile sürfaktan oranı düşürülerek iritasyon potansiyeli azaltılabilir (Djordjevic ve ark 2004).

Mikroemülsiyon formülasyonlarında ko-sürfaktan olarak genellikle orta zincirli olarak sınıflandırılan karbon sayısı 5-10 arasında değişen alkoller kullanılır (Rosano ve ark 1988). En yaygın kullanılan alkol, etil alkoldür. Deri yolu ile uygulanan mikroemülsiyon formülasyonlarında *stratum corneum* un lipit yapısını ekstraksiyon ile bozarak ilacın akısını arttırdığı düşünülmektedir (Kogan ve Garti 2006). Ko-sürfaktan olarak kullanılan diğer alkoller; 1,2-propandiol, 1,2-oktandiol, 1,2-hekzandiol, 2-etil-1,3-hekzandiol, izopropanol ve bütanoldür (Santos ve ark 2008).

2.5.4. Mikroemülsiyonların Hazırlanması

Mikroemülsiyon formülasyonları için öngörülmüş genel kurallar yoktur (Kawakami ve ark 2002). Mikroemülsiyonlarda makroemülsiyonlarda olduğu gibi HLB sistemi kullanılarak sürfaktan ve ko-sürfaktanların belirlenmesi pek kullanışlı değildir, mikroemülsiyon formülasyonu ampirik bir iştir (Yazan 2002). Ancak genelleme yapılacak olursa su içinde yağ mikroemülsiyonları hazırlayabilmek için kullanılan sürfaktanların HLB değerleri 12-18 arasında olmalıdır. Bir diğer gereklilik ise formülasyonda kullanılan maddelerin toksik özellikte olmamasıdır.

Alkil zincirlerinin sayısı ve uzunluğu arttıkça polarite azalır. Yağ fazının polaritesinin yüksek oluşu mikroemülsiyon formülasyonu hazırlamak için elverişlidir. Ester ve eterlerin mikroemülsiyon oluşturma farklılıkları yağ fazının penetrasyonu arttırmasındaki değişikliğe bağlıdır. Ester yapısı, polar yağın sürfaktan tabakası içerisine penetrasyonunu engeller. Yağ fazının sürfaktan tabakasına penetrasyonu ne kadar fazla olursa damlacık boyutu o kadar küçük olur (Kawakami ve ark 2002).

Su ve yağ birbiri ile karışmaz, bu tür sistemlerde iki sıvı, iki ayrı tabaka oluşturmaya meyillidir. Bu iki fazı bir araya getirmek için yüksek enerji gerekir (Rao ve ark 2009). Su ve yağdan oluşan sistemlerin yüzeylerarası gerilimi 30-50 dynes/cm olacak kadar yüksektir (Prince 1970). Bu gerilimi ortadan kaldırmak için sürfaktanlar kullanılır. Sürfaktanlar aktif yapılardır ve suyu seven (hidrofilik) ve yağı seven (lipofilik) kısımlardan oluşur. Baş kısımları polar ve kuyruk kısımları apolardır. Bu nedenle su ve yağ fazı arasında dağılarak gerilimi ortadan kaldırır ve bu iki fazın karışmasını sağlarlar. Sürfaktanlar, hidrofilik grupları sulu faza lipofilik grupları yağlı faza veya havaya gelecek şekilde ara yüzeye tutunurlar. Daha sonra miselizasyon olarak bilinen agregasyon yöntemi ile solventle arasındaki uyuşmazlığı azaltır (Rao ve ark 2009).

Sürfaktan ve ko-sürfaktandan (alkol) oluşan bir çift emülsifiyerin mikroemülsiyon olarak isimlendirilen bir emülsiyon sistemi oluşturması Griffin'in HLB şeması ile açıklanabilir. Griffin'e göre bir emülsifiyerin HLB değeri onun "su ve yağa olan bağıl eşzamanlı ilgisi" dir. Başka bir deyişle iki farklı faz arasındaki dağılım potansiyelidir. Kısa zincirli fraksiyonlar suda daha az çözünür ve ko-sürfaktan gibi davranırlar. Uzun zincirli fraksiyonlar ise suyu daha çok severler ve sürfaktan gibi davranırlar. Bu sürfaktan benzeri olan emülsifiyerlerin büyük bir kısmı yüzeylerarası tabakaya dağılırken az bir kısmı da su fazına dağılarak adsorbsiyon eşitliğinin sağlanmasına katkıda bulunur (Prince 1970; Yuan ve ark 2006).

Mikroemülsiyonların oluşumunun geçici yüzeylerarası negatif gerilimden kaynaklandığı şeklinde açıklanabilir. Yüzeylerarası alanı arttıracak daha fazla enerji kalmayana dek var olan yağ fazı kullanılarak olabildiğince küçük damlacık boyutu elde edilir. Bu eşitlenme negatif gerilim sıfırlanana kadar devam eder (Prince ve ark 1970).

Gibbs-Helmholtz eşitliğine göre mikroemülsiyonların kendiliğinden oluşabilmeleri negatif serbest enerji ΔG ile mümkündür.

$$\Delta G=\gamma\Delta A-T\Delta S \qquad (2\text{-}1)$$

Burada ΔG serbest enerji oluşumunu, γ yüzey gerilimini, ΔA oluşum esnasında yüzeylerarası alan değişimini, ΔS entropideki değişimi, T ise zamanı gösterir.

Yüzeylerarası alan olan A'da belirgin artış ile mikroemülsiyonlar meydana gelir. Yüzeylerarası gerilim olan γ bariz bir şekilde düşerken sistemin entropisindeki dramatik değişim ile yüzeylerarası enerji yani γA açığa çıkar. Bu kadar düşük yüzeylerarası gerilim için tek başına sürfaktan yeterli değildir. Ko-sürfaktanlar amfifilik yüzeylerarası tabakaya penetre olarak akışkanlığı arttırır (Heuschkel ve ark 2008; Santos ve ark 2008; Lawrence ve Rees 2012).

Mikroemülsiyonlar hazırlanırken bileşenlerin karıştırılma sırası farklı şekillerde sıralanmıştır. Rosano ve arkadaşlarına göre mikroemülsiyon hazırlanırken öncelikle sadece yağda çözünebilen bir sürfaktan seçilir, ardından su fazı eklenir. Bu yağ ve su karışımı ko-sürfaktan ile titre edilir (Çomoğlu ve Gönül 1997). Bir başka yaklaşım ise faz diyagramları hazırlamaktır (Rosano ve ark 1988; Patel ve ark 2011).

Üçgen faz diyagramları hazırlanırken su ile titrasyon yöntemi kullanılır. Diyagramları oluşturmak için sabit sürfaktan/ko-sürfaktan oranı belirlenir ve bu karışım yağ fazı ile farklı oranlarda karıştırılır. Karıştırma işlemi devam ederken titrasyon yöntemine göre damla damla su ilave edilerek mikroemülsiyonlar hazırlanır. Bu işlem sonrası üçgen faz diyagramı üzerinde mikroemülsiyon alanı oluşturulur.

2.5.5. MikroemülsiyonlarınKarakterizasyonu

Mikroemülsiyon formülasyonlarının yapılarının çeşitlilik göstermesine ve damlacık boyutlarının küçük olmasına bağlı olarak karakterizasyonları oldukça zordur (Moulik ve Paul 1998; Kreilgaard 2002; Heuschkel ve ark 2008; Santos ve ark 2008). Mikroemülsiyonların yapıları ile ilgili bilgi edinebilmek için indirekt ölçüm tekniklerinden faydalanılır (Kreilgaard 2002).

Hoar ve Schulmann 1943 yılında hazırlamış oldukları sisteme mikroemülsiyon ismini verirken elektron mikroskobundan yararlanmışlardır (Kreilgaard 2002). Elektron mikroskobu farklı hazırlama metotlarına göre *biocontinuous* ya da damlacık şeklindeki mikroemülsiyonların yapısal farklılıklarını görüntülemek için kullanılır. Ancak hazırlama tekniğindeki kişilerden kaynaklanan hataları dikkate almamak her zaman mümkün değildir ve elde edilen görüntüleri yorumlamak için ileri düzeyde deneyim gerekir (Gradzielski 2008; Heuschkel ve ark 2008). Bu nedenlerle elektron mikroskobu yerine TEM tercih edilebilir. Mikroemülsiyonların temel yapılarına karar verebilmek için polarize ışık mikroskopları ile optik açıdan izotropik olup olmadıkları değerlendirilir (Moulik ve Paul 1998; Santos ve ark 2008).

Statik ve dinamik ışık saçılımı (SLS, DLS), küçük açılı nötron ve X-Ray saçılımı (SANS, SAXS) gibi saçılım teknikleri mikroemülsiyonların karakterizasyonlarında kullanılabilir (Moulik ve Paul 1998; Gradzielski 2008).

Damlacık boyutu, polidipersite indeksi, iletkenlik, viskozite, IR, kalorimetre de mikroemülsiyonların yapılarının aydınlatılması için kullanılır (Moulik ve Paul 1998).

Mikroemülsiyonların damlacık boyutları 200 nm'nin altındadır. Polidispersite indeksi, mikroemülsiyonların damlacık boyutlarının homojenliği hakkında bilgi verir (Prince 1970; Moulik ve Paul 1998).

İletkenlik ölçümleri mikroemülsiyonların sürekli fazının değerlendirilmesi için kullanılır. Ayrıca perkolasyon eşiğinin belirlenmesi için de iletkenlik ölçümleri

kullanılır. Dış fazı su olan mikroemülsiyon formülasyonlarının elektriksel iletkenlikleri yüksek iken dış fazı yağ olan mikroemülsiyonlarda iletkenlik ya çok zayıftır ya da yoktur (Moulik ve Paul 1998; Kreilgaard 2002; Heuschkel ve ark 2008; Santos ve ark 2008).

Mikroemülsiyonların reolojik özellikleri oldukça önemlidir. Newton tipi akış gösteriler. Mikroemülsiyonların viskoziteleri bileşenlerine özellikle de sulu faza bağlıdır (Moulik ve Paul 1998). Ayrıca mikroemülsiyonların viskozite değerleri, ilacın salımı üzerinde de etkilidir (Santos ve ark 2008).

2.5.6. Mikroemülsiyonların Veriliş Şekilleri

Mikroemülsiyonlar; perkütan, oküler, oral, parenteral topikal, transdermal, vajinal, pulmoner uygulanmak üzere hazırlanabilirler. Mikroemülsiyonların damlacık boyutlarının oldukça küçük olması parenteral uygulama için uygunluk gösterir. Bu durum, suda az çözünen maddelerin mikroemülsiyon sistemi içerisinde *intra venöz* (IV) yoldan verilebilirliği açısından önem taşır. Ayrıca lipofilik özellikte maddelerin korneadan geçişini iyileştirebilirler (Kantarcı ve ark 2002; Kawakami ve ark 2002; Yazan 2002; Santos ve ark 2008; Lawrence ve Rees 2012).

2.5.7. Mikroemülsiyonların Avantajları

Mikroemülsiyonlar; termodinamik stabilite (uzun raf ömrü), kolay hazırlama (Paolino ve ark 2002; Santos ve ark 2008), düşük viskozite (Goebel ve ark 2011), güzel görünüm (Çomoğlu ve Gönül 1997), geniş yüzey alanı (yüksek çözünürlük kapasitesi) ve düşük damlacık büyüklüğü gibi özelliklerinden dolayı ilaçlar için uygun taşıyıcı sistemlerdir (Kogan ve Garti 2006; Heuschkel ve ark 2008; 2009; Cao ve ark 2011).

- Mikroemülsiyonların en önemli avantajlarından biri kuvvetli çözebilme kapasiteleridir. Bu özellikleri ile hem hidrofilik, hem lipofilik hem de amfifilik maddeleri çözebilirler, yani yüksek çözünürlük kapasitesi sağlarlar.

- Mikroemülsiyonlar, diğer sistemlerde çözünemeyen ilaçların kombinasyonunu içeren farmasötik formülasyonların oluşturulmasını sağlayabilir.

- Çözünürlük kapasitesinden dolayı ilaçların deriye karşı termodinamik aktiviteleri artabilir.

- Termodinamik açıdan kararlı olduklarından oluşumları için minimum enerjiye ihtiyaç duyarlar.
- Termodinamik aktivitelerinden dolayı raf ömürleri uzundur.
- Üretilmeleri kolaydır, büyük miktarlarda elde edilebilirler.
- Maliyetleri düşüktür.
- İlaç yükleme kapasiteleri yüksek olduğu için ilaç rezervuarı gibi davranırlar. Ayrıca deri tabakalarında biriken ilaç miktarı yüksektir.
- İlacın derideki lokalizasyonunu destekleyen rezervuar etkisinden dolayı arzu edildiği durumlarda uzatılmış salım sağlayabilirler.
- İlaç hedeflendirme ve kontrollü salım amacı ile geniş kullanımları vardır.
- İlaç ilk geçiş etkisinden korunmuş olur.
- Solüsyon, krem ve jel formlarına göre belirgin şekilde ilaçların absorbsiyonunun arttığına dair raporlar vardır.
- Damlacık boyutları çok küçük olduğundan temas yüzeyi artar.
- Biyolojik membranlardan geçiş artmış olur, biyoyararlanım artar
- Daha düşük doz ve miktarlarda ilaç ile terapötik etki sağlanabilir.
- Buna bağlı olarak klinik potansiyel artar, toksik etki azalır.
- Mikroemülsiyonlar, katı dozaj şekillerini yutmakta zorluk çeken yaşlılar ve çocuklar için de kullanım kolaylığına sahiptir.
- Mikroemülsiyonlar ayrıca yüksek çözünürlük kapasitesi sağlama özelliklerinden dolayı kısmen çözünebilen ilaçların i.v uygulaması için de kullanılmaktadırlar.
- İlaveten kolayca hazırlanıp uygulanmaları,vücutta kalış sürelerinin uzun olması, sürfaktan ve ko-sürfaktanların etkisiyle hücre permeabilitesini artırmaları ve dolayısı ile emilimi kolaylaştırmaları mikroemülsiyonların avantajları arasında sayılabilir (Çomoğlu ve Gönül 1997; Bolzinger ve ark 1998; Rhee ve ark 2001; Kantarcı ve ark 2002; Kawakami ve ark 2002; Paolino ve ark 2002; Esposito ve ark 2003; Peltola ve ark 2003; Chen ve ark 2006; Kogan ve Garti 2006; Yuan ve

ark 2006; Heuschkel ve ark 2008; Rao ve ark 2009; Cao ve ark 2011; Neubert 2011; Üstündağ-Okur ve ark 2011; Zhao ve ark 2011 Rhee ve ark 2001; Alam ve ark 2010).

2.5.8. Mikroemülsiyonların Dezavantajları

Yüksek miktarda YEM içeriyor olmaları olası toksisite durumunu akla getirir (Kreilgaard 2002; Yazan 2002). Alerjik ve iritan reaksiyonlara neden olabilirler (Kreilgaard 2002). Mikroemülsiyon hazırlamada kullanılan yağ, sürfaktan ve ko-sürfaktanların toksik etkileri, tahriş etme potansiyelleri ve henüz açıklanamamış etki mekanizmaları kullanımlarını kısıtlar (Patel ve ark 2011).

2.5.9. Mikroemülsiyonların Topikal Uygulanması

Mikroemülsiyonlar, ilaçların çeşitli yollarla uygulanmasına olanak tanıyor olmasına rağmen bu sistemler yaygın bir şekilde topikal uygulama için çalışılmaktadır (Baroli ve ark 2000). Mikroemülsiyonların kütanöz ilaç uygulamaları için taşıyıcı olarak kullanılması bu formülasyonların potansiyelleri anlaşıldıkça daha popüler hale gelmektedir (Kreilgaard 2002). Topikal uygulanan mikroemülsiyonlar farklı mekanizmalarla ilacın sistemik ya da lokal dağıtımını arttırırlar. İlk olarak bileşim ve yapıları klasik topikal formülasyonlar olan kremler, merhemler, jeller, losyonlarla kıyaslandığında büyük miktarlarda ilacın hapsedilmesine imkan tanır (Baroli ve ark 2000; Cao ve ark 2011). Mikroemülsiyon bileşenlerinin penetrasyon arttırıcı özellikleri vardır (Cao ve ark 2011; Chen ve ark 2006) ve mikroemülsiyonlar kendi bileşenlerinin permeasyon aktivitesini arttırır (Zhao ve ark 2011). Derideki ilaç dağıtımını arttırır ve derinin üst tabakalarında yüksek ilaç konsantrasyonu oluşturur (Chen ve ark 2006; Cao ve ark 2011). Hem çözünen madde konsantrasyonu hem de ilacın *stratum corneum* daki partisyonunun artışı mikroemülsiyonları, ilaç permeabilitesini arttırmak için faydalı taşıyıcılar yapar. Bu enerji zengini sistemdeki ilaç yüzeylerarası sürfaktan filmden difüze olabilir ve bu termodinamik işlem *stratum corneum* a difüzyon ve partisyonu arttırabilir (Alam ve ark 2009).

İlaçların *stratum corneum* a penetrasyonu için kullandıkları ana yolun hücrelerarası (interselüler) lipit alanı olduğu geniş olarak kabul edilmiştir. Bu sonuç, yapılan çalışmalar göz önünde bulundurularak ve lipit ekstraksiyonu ile *stratum corneum* un bariyer özelliğinin azalmasından yola çıkılarak elde edilmiştir.

Mikroemülsiyon bileşenleri *stratum corneum* daki hücreler arası lipitlerle açık bir şekilde etkileşir ve bariyerden ilacın taşınmasını kolaylaştırır (Hathout ve ark 2010b).

Deri, özellikle en dıştaki *stratum corneum* tabakası doğal bir bariyer fonksiyonu göstermesi nedeniyle geçirgenliği az olan bir membrandır. Bu nedenle deri yolu ile ilaçların uygulanmasında hız sınırlayıcı basamak olarak karşımıza çıkmaktadır (Kreilgaard 2002). Topikal uygulamanın başarılı olabilmesi için ilaçların bu bariyeri aşabilmesi gerekmektedir. Ancak ilaçların derinin hedef tabakalarında etkin konsantrasyon seviyelerine ulaşması genellikle çok zordur. Bunu sağlayabimek için çeşitli fiziksel ve kimyasal yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bu yaklaşımlar arasında ilaçların aşırı doymuş çözeltilerinin ve ötektik sistemlerin hazırlanması ve formülasyonlara permeasyon arttırıcı maddelerin ilave edilmesi yanında, lipozomlar, niozomlar, mikrosüngerler, nanopartiküller, mikroemülsiyonlar, nanoemülsiyonlar gibi yeni ilaç taşıyıcı sistemlerin optimizasyonu da yer almaktadır. Bu yeni taşıyıcı sistemler ilaçların hedeflendirilmesi, kontrollü ilaç salımı sağlanması açısından etkilidir (Kreilgaard 2002; Chen ve ark 2006; Kogan ve Garti 2006; Santos ve ark 2008; Elshafeey ve ark 2009).

Alkollerin mikroemülsiyonlara dahil edilmesi deri irritasyonundan dolayı kullanımlarını kısıtlayabilir (Sintov ve Botner 2006). Kısa ya da orta zincirli alkollerin mikroemülsiyonlarda ko-sürfaktan olarak kullanılması farmasötik açıdan kabul edilebilir değildir. Buna karşın iyonik olmayan sürfaktanların biyolojik olarak kabul edilebilir olması mikroemülsiyonlarda kullanılmasına imkan tanır (Kreilgaard 2002; Djordjevic ve ark 2004).

2.5.10. Mikroemülsiyonların Deriden Geçişi Arttırma Mekanizması

Mikroemülsiyonlarla yapılan çalışmalar, klasik formülasyonlara göre çok daha fazla permeabilite artışı olduğunu gösterir. Mikroemülsiyonların avantajlarını açıklayan pekçok mekanizmadan behsedilir. Öncelikle içerisine fazla miktarda ilaç hapsedildiği için deriye karşı olan termodinamik aktivite artar. İkinci olarak ilacın termodinamik aktivitesindeki artış deriye partisyonunu sağlıyor olabilir ve üçüncü olarak mikroemülsiyon içeriği *stratum corneum* un bariyer özelliğini azaltabilir ve penetrasyon arttırıcı etkisinden dolayı ilacın permeasyonunu arttırır. Ayrıca mikroemülsiyonun hidratasyon etkisi de formülasyonun permeasyon yeteneğini arttırabilir (Zhu ve ark 2008). Genelleme yapılacak olursa mikroemülsiyonların içerdiği su miktarı arttıkça penetrasyon oranı artar. Bu formülasyonlardan ilacın salımını etkileyen faktörler

arasında fizikokimyasal yapıları, deri ile etkileşimleri, hapsedilen ilaç miktarları yer alır. Mikroemülsiyonlar yüksek derecede dinamik yapılardır, monomer yapıdaki sürfaktan ya da yağlar deriye difüze olabilir ve geçiş arttırıcı olarak etki edebilirler. Bu şekilde ya *stratum corneum* un lipit yapısını bozarak bariyer fazdan difüzyonu kolaylaştıtır ya da derideki ilacın çözünürlüğünü arttırır yani ilacın deri ile taşıyıcı arasındaki dağılım katsayısını arttırır. *Stratum corneum* lipitlerinin bozulması hem transdermal hem de dermal ilaç alımını arttırır. Ancak taşıyıcı, geçiş arttırıcı olarak deri üzerindeki ilacın dağılımını arttırırsa dermal alımda artış olur (Kreilgaard 2002). Mikroemülsiyonlarda, makroemülsiyonlarda olduğu gibi partisyon katsayısı ile beraber yağ ve su fazı arasında ölçülebilir bir yüzeylerarası gerilim yoktur. Bu şekilde yüzeylerarası gerilimin çok düşük olması ya da olmaması mikroemülsiyonların *stratum corneum* tabakasına hızla penetre olarak burada bulunan derinin lipit örtüsüne karıştığını düşündürmektedir. Mikroemülsiyonlarda hem lipofilik hem de hidrofilik bölgeler vardır, bu durum mikroemülsiyonların *stratum corneum* a daha iyi penetrasyonunu açıklayabilir (Lehmann ve ark 2001).

Mikroemülsiyonların etki mekznimaları ile ilgli bir başka yaklaşım Peltola ve arkadaşları tarafından şu şekilde anlatılmıştır: Mikroemülsiyonlar ilaç rezervuarı gibi davranarak ilacı iç fazdan dış faza oradan da deri yüzeyine salar. Ya da mikroemülsiyon damlacıkları deri yüzeyinde parçalanır, bozulur ve içerisindeki ilacı serbest bırakır. Ya da -ki en kuvvetli tahmin budur- Etkin madde mikroemülsiyon olmadan direkt damlacıktan *stratum corneum* ile birleşir (füzyon) ardından permeasyon artışı olur (Peltola ve ark 2003).

Tablo 2-2: Pazarda yer alan mikroemülsiyon formülasyonları (Desai ve ark 2012)

Ticari Adı	**Etkin Madde**	**Farmakolojik etki**	**Firma Adı**
Sandummine Neoral®	Siklosporin	İmmün sistem destekleyici	Novartis
Gengraf®	Siklosporin	İmmün sistem destekleyici	Abbott Lab.
Norvir®	Ritonavir	Antiretroviral(Anti-HIV)	Abbott Lab
Fortovase®	Saquinavir	Antiretroviral(Anti-HIV)	Hoffman-La Roche

Tablo 2-3: Dermal yol ile uygulanmak üzere literatürlerde yer alan bazı NSAI ilaç mikroemülsiyonları

Etkin madde	Nedeni	Makalenin Yazarı
Niflumik asit (Topikal)	Biocontinuous ME	Bolzinger ve ark 1998
Piroksikam (Topikal)	Siklodekstrin ME	Dalmora ve ark 2001
Ketoprofen (Transdermal)	Yan etkiler	Rhee ve ark 2001
Ketoprofen (Topikal)	Lesitin ME	Paolino ve ark 2002
Diklofenak (Transdermal)	Gastropati	Escribano ve ark 2003
İbuprofen (Topikal)	Yan etkiler, ilk geçiş etkisi, diğer topikallerle düşük permeasyon	Chen ve ark 2006
Diklofenak (Transdermal)	ME formülasyonu	Sintov ve Botner 2006
Meloksikam (Transdermal)	Yan etkiler	Yuan ve ark 2006
İndometazin (Transdermal)	GI etkiler	Maghraby 2010
Diklofenak (Transdermal)	ME formülasyonu	Silva ve ark 2010
Naproksen (Topikal)	Yan etkiler	Üstündağ-Okur ve ark 2011
Naproksen (transdermal)	Deriden geçişin arttırılması	Tian ve ark 2012

Tablo 2-4: Dermal yolla uygulanmak üzere literatürlerde yer alan bazı mikroemülsiyonlar

Etkin madde	Nedeni	İlaç grubu	Makalenin Yazarı
Estradiol (Topikal)	İlk geçiş etkisi ve biyoyararlanım	Steroit	Peltola ve ark 2003
Triptolit	Toksik ve yan etkiler	İmmunosupresan	Chen ve ark 2004
Vinposetin	İlk geçiş etkisi	Serebrovasküler ilaç	Hua ve ark 2004
Tetrakain HCl (Transdermal)	Oral ve parenteral kullanımdaki yan etkiler	Lokal anestezik	Changez ve ark 2006
Kafein	Hipodermise hedeflendirme	Kozmetik ürün	Bolzinger ve ark 2008
Hidrokortizon (Transdermal)	Ökaliptus yağı ile Mikroemülsiyon	Kortikosteroit	Magrabhy 2008
Pensiklovir (dermal)	Zayıf çözünürlük	Antiviral	Zhu ve ark 2008
Testosteron	Alternatif	Steroit	Hathout ve ark2010
Nikardipin HCl	İlk geçiş etkisi ve	Antihipertansif	Wu ve ark 2010
Paenol	Mikroemülsiyon jel	Çin tıbbında çeşitli amaçlarla	Luo ve ark 2011
Buspiron HCl(Transdermal)	Mikroemülsiyon	Anksiyolitik	Tsai ve ark 2011
Tetrametilpirazin	Mikroemülsiyon	Kardiyovasküler ve Serebrovasküler	Zhao ve ark 2011

2.5.10.1. Mikroemülsiyonların Deri Üzerindeki Etkilerinin Infrared (IR) Spektroskopisi ile İncelenmesi

IR spektroskopisi derinin, özellikle de en dış tabakası olan *stratum corneum* un bariyer özelliğinin daha iyi anlaşılabilmesine yönelik araştırmalarda kullanılan ve yapısı ile ilgili önemli bulgular sağlayan biyofiziksel bir yöntemdir.

Stratum corneum ile yapılan spektroskopik çalışmalarda en çok lipitlerin alkil zincirlerinden kaynaklanan absorbanslar ile bilgi elde edilir. *Stratum corneum* daki hücreler arası lipitlerin alkil zincir düzeninde sıcaklığa bağlı olarak bozulmalar meydana gelir ve karbon-hidrojen (CH_2) asimetrik (2920 cm^{-1}) ve simetrik (2850 cm^{-1}) gerilme bantlarının dalga numaralarının daha yüksek değerlere kaymasına (blue shift) neden olur. Bu bantların altında kalan alan lipit miktarı ile ilgili bilgi verirken bant genişliği *stratum corneum* lipitlerinin yapısal düzeni hakkında bilgi verir. CH_2 simetrik gerilme bandına ait dalga numarasının 2850 cm^{-1} 'i geçmemesi tabakalı yapılar için karakteristiktir ve düzenli alkil zincirlerinin göstergesidir. Derinin hidratasyonu hakkında bilgi veren su moleküllerinin OH bantlarına ait absorbsiyon ölçümü yapılabilir. OH bantları yaklaşık 3300 cm^{-1} de absorbans verir. Amit I (1645 cm^{-1}) ve Amit II (1545 cm^{-1}) absorbansları C=O ve N-H gerilme bantları ile ilgili bilgi verirler. Lipitlerin C=O gerilme bantlarından kaynaklanan absorbanslar 1740 cm^{-1} ve 1710 cm^{-1}' de görülür ve sebum lipitlerinin göstergesidir. 2100 cm^{-1}'deki OH gerilme bandına ait absorbans yine *stratum corneum* un su içeriğinin tayinine yönelik kullanılır. Elde edilen bu piklerin düşük spektral aralığa kayması 'red shift' olarak isimlendirilirken yüksek spektral aralığa kayması 'blue shift' olarak isimlendirilir (Brancaleon ve ark 2001; Hathout ve ark 2010b; Kaushik ve Michniak-Kohn 2010; Güngör ve ark 2011).

Fourier Dönüşümlü IR Spektroskopi (FTIR) yöntemi ile IR spektroskopisine göre daha iyi çözünürlük elde edilmesini, hızlı, hassas ve doğru analiz yapılmasını sağlamaktadır. Çok bileşenli örneklerin çalışılması için de uygundur. FTIR'nin Transmisyon ve Hafifletilmiş Toplam Yansıtma (ATR) olmak üzere iki farklı tekniği vardır. Transmisyon tekniğinde örnek IR ışınının geçiş yolu üzerine konulmaktadır. ATR, derinin bariyer özelliğinin araştırılmasında önemli ve özel bir IR tekniğidir. *İn vitro* ölçümlerin yanı sıra *in vivo* değerlendirmeler için de oldukça faydalı bir tekniktir. ATR- FTIR yönteminde örnek IR'ye geçirgen olan özel bir kristal yüzeyi ile temas ettirilir. Radyasyonun penetrasyon derinliği cihaza, kristaline, dalga boyuna ve derinin hidratasyon seviyesine göre 0,3-3 μm arasındadır. Bu nedenle elde edilen spektrum, kristal ile temas eden ilk tabakalara aittir (Güngör ve ark 2011).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇLER

3.1.1. Kulullanılan Kimyasal Maddeler

- Etodolak (*Nobel İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş'den temin edilmiştir*)
- İzopropil Miristat (IPM) (*Merck*)
- Oleik Asit (*Sigma-Aldrich*)
- Labrasol (Kaprilokaproil macrogol-8 gliseritleri) (*Gattefossé*)
- Transcutol P (Yüksek saflıkta dietilen glikol monoetil eter) (*Gattefossé*)
- Tween 80 (Polietilen glikol sorbitan monooleat) (*Sigma-Aldrich*)
- Tween 20 (Polietilen glikol sorbitan monolaurat) (*Sigma-Aldrich*)
- Etil Oleat *(Fluca Chemica)*
- Cremophor RH 40 (Makrogol-gliserolhidroksistearat) (*Gattefossé*)
- Cremophor EL (Makrogol-gliserol risinoleat) (*Gattefossé*)
- Labrafac Lipophile WL 1340 (Orta zincirli Kaprik / Kaprilik Trigliserit) (*Gattefossé*)
- Plurol oleik CC 497 (Poligliseril-3 oleat) (*Gattefossé*)
- Asetonitril (*HPLC* Saflığında) *(Merck*)
- O-Fosforik Asit (*Merck*)
- 1,2-propandiol (Propilen glikol) (*Merck*)
- Polietilen Glikol (PEG) (*Merck*)
- Sodyum Klorür *(Riedel de Haen)*
- Potasyum Klorür *(Lachema)*
- Na_2HPO_4 *(Merck)*
- KH_2PO_4 *(Merck)*

3.1.2. Kullanılan Aletler ve Malzemeler

3.1.2.1. Kullanılan Aletler

- UV Spektrofotometresi (*Shimadzu, Model 1601*)
- Damlacık Büyüklüğü Ölçüm Aleti (*Malvern Zetasizer-Nano ZS*)
- Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (*Shimadzu, Model LC 10A*)
- Kolon (*Oktadesilsilan, ACE C8 4,6×150 mm, 5µm*)
- Franz Difüzyon Sistemi (*PermeGear, V6A Stirrer*)
- ATR-FTIR Spektroskopisi (*Perkin Elmer ZnSe spectrum one)*
- Ultrasonik banyo (*Bersonic*)
- Terazi (*Denver Instruments, TB-Series*)
- Santrifüj (*Hettich, D-7200, Type 2041*)
- Orbital Çalkalayıcı (*Thermo Electron Corporation, Model 420*)
- Manyetik karıştırıcı (*IKA®-Werke, R 15*)
- pH Metre / Kondüktometre (*Eutech Instruments, PC 2700*)
- Viskozimetre (*Brookfield R/S Plus SST*)
- cryo-TEM (*FEI Tecnai BioTWIN*)
- Distile Su Aleti (*Elga, Pure Lab Flex*)
- Nutche Erleni süzme sistemi (*Sartorius D-3400*)
- Refraktometre (*Abbe 5 Refraktometre B +S Code:44-571*)
- Reometre (*Brookfield R/S Plus SST*)
- Polarize ışık mikroskobu (*Olympus CX31-P*)
- Dermatom (*Zimmer™ Electric Dermatom*)

3.1.2.2. Kullanılan Malzemeler

- UV Spektrofotometre küveti
- Zetasizer Küveti (disposible)

- HPLC Vialleri
- Mikropipet ve Uçları
- Cam Malzeme (Beher, Erlen, Mezür, Cam şişe, Pipet, Balon joje, Petri kutusu vs.)
- Eppendörf (1,5- 2 mL)
- Domuz derisi
- 0,22 µm Membran Filtre (GSWP)
- 0,45µm Membran Filtre (HVLP)
- 0,45 µm Millex® -LCR (PTFE) Filtre

3.1.2.3. Kullanılan Bilgisayar Programları

Microsoft Office Word 2007

Mcrosoft Office Excel 2007

GraphPad Prism 5

Triplot v1-4-2

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Etodolak'ın Infrared (IR) Spektrumu

Bu çalışma için Perkin Elmer FTIR Spektrofotometresi kullanıldı. Toz halde etodolak, alete yerleştirildi ve 100 Newton kuvvet uygulanarak 4000-600 cm^{-1} dalga boyu aralığında spektrumu alındı.

3.2.2. Analitik Yönteminin Geçerlilik Testi (Validasyonu)

Amerikan Farmakopesi (USP XXIII/NF)'nde yer alan tanıma göre bir analitik yöntemin geçerlilik testi (validasyonu), bir analiz yönteminin performans özelliklerini istenilen analitik uygulamada, belirlenen gerekli koşullarda sağladığını göstermek için yapılan işlemlerin tümüdür. Analitik yöntemin kabul edilebilirliğini göstermek için kullanılan analitik parametreler: Doğrusallık (Linearity), Kesinlik (Precision), Tekrarlanabilirlik (Reproducibility), Doğruluk (Accuracy), Seçicilik (Selectivity),

Duyarlılık Limiti (Sensitivity Limit), Saklanan örneklerin stabilitesi (Stability) dir (Shabir 2003; ICH Hormonised Guideline 2005).

pH 7.4 izotonik fosfat tamponu (PBS)'nu İngiliz Farmakopesi (BP)'ne göre hazırlandı. Etodolak'ın pH 7.4 izotonik fosfat tamponunda düşük çözünürlükte olması nedeniyle daha sonra yapılacak *in vitro* salım ve permeasyon çalışmalarında sonsuz seyrelme koşulunu sağlamak için pH 7.4 PBS'e %30 oranında 1,2- propandiol (propilen glikol) ilave edildi. pH 7.4 PBS ve 1,2- propandiol (70:30) karışımı *'reseptör faz'* olarak isimlendirildi. Propilen glikol, topikal preparatlarda deriden permeasyonu arttıran ve/veya çözünürlüğü zayıf olan ilaçlar için yaygın şekilde kullanılan bir yardımcı çözücüdür (Watkinson ve ark 2009). Propilen glikol, topikal formülasyonlarda çözücü ya da yardımcı çözücü olarak toplam konsantrasyonun %5-80'i oranında kullanılabilir (Rowe ve ark 2009).

3.2.2.1. Etodolak'ın Ultra-Viyole (UV) Spektrofotometresi ile Miktar Tayin Yönteminin Geliştirilmesi ve Geçerlilik Testi (Validasyonu)

Çözücü sitemi olarak reseptör faz kullanıldı. Bu çözücü sisteminde en yüksek absorpsiyonu veren dalga boyu taraması yapıldı.

Doğrusallık

Geçerlilik testi parametrelerinin ilki olan doğrusallık, belirli bir konsantrasyon aralığında yöntem sonucu elde edilen verilerin numune içerisindeki maddenin miktarı ya da konsantrasyonu ile doğru orantılı olmasıdır. Doğrusallığın belirlenebilmesi için en az 5 konsantrasyon gereklidir (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005).

50 mg etodolak tartılıp yaklaşık 1 mL pH 7.4 PBS ve 1,2-propandiol karışımı (70:30) ile ultrasonik banyoda çözündürüldü. Hacmi balon jojede 50 mL'ye tamamlandı. Elde edilen 1000 µg/mL konsantrasyonda stok çözeltiden 1mL alınarak 10 mL lik balon jojede hacmi tamamlandı ve 100 µg/mL konsatrasyonda ara stok hazırlandı. Bu ara stoktan, her birinden 3 tane olmak üzere 0,25; 0,5; 1; 1,5 ve 2 mL hacimlerde alınarak 10 mL'lik balon jojelerde pH 7.4 izotonik PBS ve 1,2-propandiol (70:30) karışımı kullanılarak hacimleri tamamlandı. Ayrıca spektrofotometrenin diğer küveti de bu çözelti ile doldurularak, konsantrasyona karşı absorbans değerleri 280 nm'de analiz edildi.

Konsantrasyonlara karşılık gelen ortalama absorbans değerlerine karşı standart eğri çizildi, en küçük kareler yöntemiyle hesaplanarak doğru denklemi bulundu ve tayin katsayısı (r^2), standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (%RSD) değerleri hesaplandı.

Kesinlik

Bir analitik yöntemin kesinliği, belirli çalışma koşullarında hazırlanan aynı örnek çözeltisinden birden fazla seyreltme ile elde edilen bir serinin ölçümleri arasındaki uyumun yakınlığını ifade eder (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005). SD veya % RSD değerleri ile ifade edilir. Analitik yöntemin kesinliğinin tayini için doğrusallık bölümünde anlatıldığı gibi çalışıldı. 2,5; 5; 10; 15; 20 µg/mL konsantrasyonlarda stok çözelti hazırlandı. SD ve %RSD değerleri elde edildi.

Gün içi kesinlik: Etodolak'ın 2,5; 5; 10; 15; 20 µg/mL konsantrasyonlarda stok çözeltilerden 3'er adet hazırlandı ve 280 nm'de analiz edildi.

Günler arası kesinlik: Gün içerisinde yapılan kesinlik çalışmaları farklı günlerde tekrarlanarak 3 günlük sonuçlar elde edildi**,** değerlendirildi.

3.2.2.2. Etodolak'ın Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi (HPLC) ile Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesi ve Geçerlilik Testi (Validasyonu)

Hazırlanan mikroemülsiyonlardaki etkin madde miktarı ve *in vitro* salım ve permeasyon çalışmalarında örneklerdeki etkin maddenin analizi için Amerikan Farmakopesi (USP)'nde kayıtlı olan yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi modifiye edilerek kullanıldı.

Hareketli faz olarak asetonitril (ACN):su:fosforik asit (500:500:0.25 h/h) kullanıldı. Farmakope yönteminde 4,6 × 250 mm uzunluğunda 5µm partikül boyutuna sahip oktadesilsilan (interstil ODS-3 C18) kolon kullanılarak yapılan ön çalışmalarda etkin madde pikinin alıkonma süresi 12,5 dakika olarak belirlendi. Alıkonma süresini kısaltmak için 4,6×150 mm uzunluğunda 5 µm partikül boyutuna sahip oktadesilsilan (ACE 5, C18) kolonu kullanıldı. Hareketli fazın dakikadaki akış hızı yöntemde belirtildiği gibi 1,5 mL idi. Enjeksiyon hacmi 25 µL olarak uygulandı ve 25 °C'de UV dedektör 274 nm dalga boyuna ayarlandı (USP Etodolac / Official Monographs 2009).

Doğrusallık

Validasyon parametrelerinin ilki olan doğrusallık, belirli bir konsantrasyon aralığında yöntem sonucu elde edilen verilerin numune içerisindeki maddenin miktarı ya da konsantrasyonu ile doğru orantılı olmasıdır. Doğrusallığın belirlenebilmesi için en az 5 konsantrasyon gereklidir (Shabir 2003; ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005).

Etodolak'ın HPLC validasyonu reseptör faz olan pH 7.4 PBS ve 1,2-propandiol (70:30) karışımı ile ve çözünürlük çalışmasında kullanılan ACN ile ayrı ayrı yapıldı.

10 mg etodolak tartılıp yaklaşık 1 mL reseptör faz ile ultrasonik banyoda çözündürüldü. Hacmi balon jojede 10 mL'ye tamamlandı. Elde edilen 1000 µg/mL konsantrasyondaki stok çözeltiden 100; 50; 25; 10; 5; 1; 0,5; 0,25; 0,1 µg/mL aralığında standartlar hazırlandı. Hazırlanan stadartlar, filtrelerden süzülerek viallere dolduruldu. 1,5 mL/dk akış hızı ile 274 nm'de analiz edildi. Aynı işlem reseptör faz yerine ACN kullanılarak da yapıldı.

Konsantrasyonlara karşılık gelen eğri pik altında kalan alan değerlerine karşı standart eğri çizildi, en küçük kareler yöntemiyle hesaplanarak doğru denklemi bulundu ve tayin katsayısı (r^2), standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (%RSD) değerleri hesaplandı.

Kesinlik

Bir analitik yöntemin kesinliği, belirli çalışma koşullarında hazırlanan aynı örnek çözeltisinden birden fazla seyreltme ile elde edilen bir serinin ölçümleri arasındaki uyumun yakınlığını ifade eder (Shabir 2003; Söğüt-Ertaş ve Kayalı 2005; ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005). Kesinlik için kabul edilen kriter analizin tipine bağlıdır. Eczacılıkta, kalite kontrol analizi için bağıl standart sapma % 1 den daha iyi olan kesinlik kolaylıkla başarılabilirken, biyolojik örnek için % 15' den fazla ve diğer konsantrasyon seviyelerinde % 10 bağıl standart sapma ile kesinlik sağlanabilir (Söğüt-Ertaş ve Kayalı 2005).

Çalışmada ACN ve reseptör faz ile ayrı ayrı olmak üzere 100 µg/mL konsantrasyonda 6 adet örnek hazırlandı. 274nm'de HPLC'de analiz edildi.

Gün içi ve günler arası kesinlik olmak üzere iki farklı kesinlikten bahsedilebilir. Gün içi elde edilen değerlerin ortalaması alınarak gün içi SD ve %RSD hesaplandı.

Farklı günlerde aynı çalışmanın tekrarlanması ile elde edilen sonuçların ortalaması alınarak günler arası SD ve % RSD hesaplandı (Shabir 2003; ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005).

Doğruluk

Doğruluk, yöntem ile elde edilen değerlerin gerçek değere yakınlığını ifade eder (Shabir 2003; Söğüt-Ertaş ve Kayalı 2005; ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005). Kabul edilebilir kriter, doğruluk için nominal değerden %15'den fazla sapmanın olmamasıdır (Söğüt-Ertaş ve Kayalı 2005).

Kullanılan analitik yöntemin doğruluğu için %50, %100 ve %150'lik konsantrasyonlar hazırlandı. Seçicilik için formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelerin maksimum değerleri alındı. İzopropil miristat (IPM) ve oleik asit içeren formülasyonlar için ayrı ayrı çalışıldı. Formülasyonlardaki % 5'lik ilaç miktarını sağlayacak olan 20'şer mg formülasyon ve hazırlanan 1000 µg/mL'lik stok çözeltiden 0,5 ,1, 1,5 mL'lik hacimlerde alınarak 10 mL'lik balon jojelerde hacmi 10 mL'ye tamamlandı. Bu şekilde %50, %100 ve %150'lik konsantrasyonlar elde edilmiş oldu. Hazırlanan örnekler 274 nm'de okutuldu. Çalışma 3 defa tekrarlandı, ACN ve reseptör faz ile ayrı ayrı yapıldı. Doğru denklemi yardımıyla çözeltilerdeki etodolak konsantrasyonları hesaplandı.

Tekrarlanabilirlik

Tekrarlanabilirlik, aynı kişi tarafından aynı şartlarda kısa zaman içinde sabit bir örneğin belli bir yöntem kullanılarak yapılan bir dizi işlemin, kesinliği olarak tanımlanır. Tekrarlanabilirlik, kesinliğin bir göstergesidir (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005; Söğüt-Ertaş ve Kayalı 2005).

Seçicilik

Yöntemin seçiciliği; analiti, girişim yapabilme olasılığı olan yöntemdeki bileşenlerden farklı olarak ölçme yeteneğidir (Shabir 2003; Söğüt-Ertaş ve Kayalı 2005).

Seçicilik için boş mikroemülsiyon formülasyonu 25 µL hacimde kolona enjekte edildi. Pik olup olmadığı gözlendi.

Teşhis Limiti ve Miktar Tayini Limiti

Analitik yöntemin en düşük derişimleri saptayabilme yeteneğidir. Teşhis limiti (TL, LOQ) ve miktar tayini limiti (MTL, LOD) olarak değerlendirilir. Test örneklerindeki analitin tayin edilebilen en küçük miktarı veya konsantrasyonu teşhis limitini (LOQ) verir. Miktar tayini limiti (LOD) analitik bir yöntemle analitin, uygun doğruluk ve kesinlikle tayin edilebilecek en düşük konsantrasyonudur (Shabir 2003; ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005; Shabir ve ark 2007)

Teşhis limiti ve miktar tayin limiti için en az 3 tane kalibrasyon doğrusunun eğim ve kesişim noktalarına ait standart sapmalar (SD) kullanıldı. Aşağıdaki formüller yardımıyla hesaplandı.

TL= 3,3 SD/ Ort **(3-1)**

MTL= 10 SD/ Ort **(3-2)**

SD:Doğru eğimlerinin standart sapması

Ort: Doğru eğimlerinin ortalaması

(Shabir 2003; Shabir ve ark 2007)

Örneklerin Stabilitesi

10 mg etodolak tartıldı ve balon jojede 10 mL'ye tamamlanarak stok çözelti elde edildi. Bu stok çözeltiden 100 µg/mL konsantrasyonda örnek hazırlandı. Hazırlanan örneklerin 0 ve 24 saatte HPLC analizi ile elde edilen piklerinin alanları değerlendirildi. Ayrıca gün içerisinde reseptör faz ile hazırlanan 100 µg/mL konsantrasyonda standart ile aynı konsantrasyonda 9 ve 23 gün önce hazırlanarak oda sıcaklığında muhafaza edilen standartlar aynı anda analiz edilerek değerlendirildi.

3.2.3. Çözünürlük Çalışması

Etodolak'ın mikroemülsiyon formülasyonlarının bileşiminde kullanılacak yağ ve yüzey etkin maddeler (YEM) içerisindeki çözünürlüğü incelendi. Bu amaçla, mikroemülsiyon formülasyonlarında kulnılacak yardımcı maddelerden eppendörflere 1'er mL alındı, üzerlerine aşırı miktarda etodolak eklenerek 25°C'de orbital çalkalayıcıda 300 rpm'de çalkalanarak 24 saat bekletildi. Süre sonunda her karışım 15 dk 15000 rpm'de santrifüj edilerek çözünmeden kalan etodolak'ın çökmesi sağlandı.

0,45µm şırınga ucu filtreler ile süzüldükten sonra, üstte kalan süzüntüden alınarak ACN ile seyreltmeler yapıldı. Bu işlem her bir karışım için 3 defa tekrarlandı. Hazırlanan örnekler HPLC yöntemi ile analiz edildi. Çözünürlük çalışmasında kullanılan maddeler Tablo 3-1'de gösterilmiştir.

Tablo 3-1: Mikroemülsyon hazırlamada kullanılmak üzere uygun yağ fazı, sürfaktan ve ko-sürfaktanın seçilmesi için yapılan çözünürlük çalışmasında kullanılan maddeler ve HLB değerleri

		HLB Değerleri
Yağ fazı	IPM	11,1
	Oleik Asit	1
	Etil Oleat	11,3
Yüzey Etkin Madde ve Yardımcı Yüzey Etkin Madde (Sürfaktan ve Ko-Sürfaktan)	Labrasol	14
	Transcutol P	-
	Cremophor RH 40 (1)	14-16
	Cremophor EL	12-14
	Tween 20	16,7
	Tween 80	15
	Labrafac lipo WL 1349	1
	Plurol oleik	6

HLB: hidrofilik-lipofilik denge

(www.gattefosse.com; www.sigmaaldrich.com; www.pharma-ingredients.basf.com)

3.2.4. Ön Formülasyon Çalışmaları

Çalışmamızda etodolak'ın optimum formülasyonu/larını belirlemek için farklı oranlarda yardımcı maddeler kullanılarak mikroemülsiyon formülasyonları hazırlandı (Tablo 3-2). Sürfaktan ve ko-sürfaktan olarak belirlenen maddeler yağ fazı içerisine ilave edildi ve manyetik karıştırıcı yardımıyla bir süre karıştırıldı. Berrak karışımlarda

bulanıklaşma gözlenene kadar titrasyon yöntemine göre damla damla su ilavesi yapıldı. Bulanık karışımlarda ise berraklık elde edildiği andan tekrar bulanıklık meydana gelene kadar kullanılan su miktarları kaydedildi. Elde edilen formülasyonlar, su tutma kapasiteleri, damlacık boyutları, sürfaktan/ ko-sürfaktan oran ve yüzdeleri, yağ fazı yüzdeleri gibi pek çok açıdan değerlendirildi. Ayrıca üçgen faz diyagramı da optimum formülasyonu seçmek için kullanıldı.

Tablo 3-2: Ön formülasyon çalışmaları esnasında kullanılan yardımcı maddeler ve oranları

Yağ Fazı	Sürfaktan	Ko-Sürfaktan	S/Ko-S	Y/(S/Ko-S)
IPM	Cremophor RH 40	Transcutol P	1:1	4:1
IPM	Cremophor EL	Transcutol P	1:1	4:1
IPM	Cremophor RH 40	Plurol Oleik	2:1	9:1
IPM	Tween 20	Transcutol P	1:1	1:6
IPM	Tween 80	Transcutol P	1:1	1:8
IPM	Tween 80	Labrasol	1:1	1:8
IPM	Tween 80	Span 20	2:3	1:10
IPM	Labrasol	Transcutol P	1:1	1:2
Oleik asit	Labrasol	Transcutol P	1:1	1:2

3.2.5. Mikroemülsiyonların Hazırlanması

Ön formülasyon çalışmalarından elde edilen sonuçlar ve etkin maddenin çözünürlüğü ile ilgili veriler doğrultusunda yağ fazı olarak IPM veya oleik asit kullanıldı. Aynı şekilde ön formülasyon çalışmalarına göre kullanılacak olan sürfaktan/ko-sürfaktan oranı belirlendi. Yağ fazına önce sürfaktan ardından ko-

sürfaktan belirlenen oranlarda eklendi. Formülasyonların hazırlanmasında su titrasyon yöntemi kullanılarak bulanıklaşma noktasına kadar karışıma damla damla su eklendi. Titrasyon işlemi manyetik karıştırıcıda 1000 rpm de karıştırılarak gerçekleştirildi. Hazırlanan mikroemülsiyonlar ile önce üçgen faz diyagramları hazırlandı. Ardından bu diyagramlardan elde edilen mikroemülsiyon alanlarına ve mikroemülsiyonların incelenen özelliklerine (damlacık boyutu, su tutma kapasiteleri gibi) göre kullanılacak olan formülasyonlar seçildi.

3.2.6. Üçgen Faz Diyagramlarının Oluşturulması

Üçgen faz diyagramları üç farklı bileşenin her birinin üçgenin bir köşesine yerleştirildiği ve bu noktalarda ağırlıkça %100 oranda olduğu diyagramlardır. Mikroemülsiyon formülasyonu hazırlamada yaygın olarak üçgen faz diyagramlarından faydalanılır. Kullanılmasına karar verilen bileşenlerden sabit orandaki sürafaktan/ko-sürfaktan (S/Ko-S) karışımı bu faz diyagramının bir bileşenini, yağ fazı ikinci bileşenini ve sulu faz ya da su fazı üçüncü bileşenini oluşturur. Bu üç bileşenin toplamı 100'dür. Bu durumda bileşenlerden birinin miktarının artması, aynı bileşenin yüzdesinin artmasına neden olurken diğer bileşenlerin yüzdelerini azaltır. Mikroemülsiyon sayısını tek tek belirlemek zor olduğu için üçgen faz diyagramı üzerinde sınırları belirlenen alan içerisinden formülasyonlar, kullanılmak üzere seçilir (Rosano ve ark 1988; Tırnaksız 2007; Patel ve ark 2011).

Mikroemülsiyonların hazırlanmasında su ile titrasyon metodu kullanıldı. Hazırlanan karışımlar oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde sisteme damla damla su ilave edilerek titre edildi. Örneklerin berrak ya da bulanık oluşuna göre değerlendirme yapıldı. Su ilavesine berraklık kayboluncaya kadar devam edildi. Sıvı, berrak ve faz ayrımı olmayan örnekler mikroemülsiyon olarak değerlendirildi. Bu şekilde denenen her sistem için mikroemülsiyon alanı belirlendi. S/Ko-S değeri 1:1 oranında sabit tutuldu. Yağ fazının S/Ko-S karışımına oranı 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1 olacak şekilde oda sıcaklığında faz diyagramları hazırlandı ve bu veriler kullanılarak Triplot 4 programı ile çizildi.

3.2.7. Seçilen Mikroemülsiyonlara Etodolak Yüklenmesi

Mikroemülsiyonlara ilaç yüklenmesi iki şekilde yapılır. Birinci yaklaşıma göre etkin madde yağ fazında çözündürülür ve daha sonra su ile titrasyon yapılır. İkinci yaklaşıma göre ise boş mikroemülsiyonlara ilaç sonradan eklenir ve dengeye gelmesi

beklenir (Chen ve ark 2006). Çalışmamızda önce boş mikroemülsiyonlar hazırlandı ve bu mikroemülsiyonlara %5 ve %3 olarak belirlenen etodolak, tartılarak ilave edildi. Manyetik karıştırıcıda, dengeye ulaşabilmesi için 72 saat beklendi.

3.2.8. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Seçilmesi

Yöntem 3.2.6'da anlatıldığı şekilde hazırlanan formülasyonlar faz diyagramları da kullanılarak su tutma kapasiteleri, damlacık boyutları, fiziksel görünümleri de dikkate alınarak seçildi.

3.2.9. Seçilen Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Seçilen formülasyonların refraktif indeks değerleri, damlacık boyutu, damlacık boyutu dağılımı, pH, iletkenlikleri, reolojik özellikleri, polarize ışık mikroskobu ve cryo-TEM görüntüleri değerlendirildi.

3.2.9.1. Refraktif Indeks Değerlerinin Ölçülmesi

Refraktif indeks, mikroemülsiyonların saydamlığı ile ilgili değerlendirmeleri yapabilmemizi sağlar (Silva ve ark 2010). Etodolak yüklü mikroemülsiyonların refraktif indeks değerleri Abbe 5 refraktometresi ile ölçüldü. Refraktometre prizmasının üzerine bir damla formülasyon damlatıldı ve kapağı kapatıldı. Görüntü netliği sağlanana kadar ayarlama yapıldı ve elde edilen değer okundu. Her formülasyon için 3'er yeni ölçüm yapılarak SD değerleri hesaplandı.

3.2.9.2. Damlacık Boyutunun İncelenmesi

Mikroemülsiyonların damlacık boyutu; dinamik ışık saçılımı esasına dayanan Malvern ZetaSizer Nano-ZS cihazı kullanılarak değerlendirildi. Damlacık boyutunun 100 nm'nin altında olması beklendi.

Malvern ZetaSizer Nano-ZS cihazı ile yapılan değerlendirmede oleik asit ile hazırlanan formülasyonlar için tek kullanımlık küvetler, IPM ile hazırlanan formülasyonlar için ise cam küvetler kullanıldı. Boş ve etodolak yüklü mikroemülsiyonların damlacık boyutları belirlendi. Etodolak yüklü mikroemülsiyonların damlacık boyutlarının dengeye ulaşma zamanını gözlemleyebilmek amacıyla etodolak'ın yüklendiği gün ve 72 saat sonrasında olmak üzere iki ayrı ölçüm yapıldı. Herbiri için yaklaşık 15 tarama olmak üzere toplamda 3'er ölçüm yapıldı.

3.2.9.3. Polidispersite Indeks Değerinin Ölçülmesi

Malvern ZetaSizer Nano ZS kullanılarak damlacık boyutu ölçümü ile eşzamanlı olarak polidispersite indeks değerleri ölçüldü. Ölçümler 3'er defa yapıldı.

3.2.9.4. pH'nın İncelenmesi

Seçilen mikroemülsiyonların pH ölçümleri Oakton Eutech Instruments Bench 2700 series pH metre/kondüktometresi ile yapıldı. Ölçüm öncesi pH 4, 7 ve 10 kullanılarak kalibrasyon yapıldı. Cam prop, boş ve etodolak yüklü formülasyonların bulunduğu beherlere daldırıldı ve pH değeri sabitlenene kadar beklendi. Ölçümler 3'er defa yapıldı.

3.2.9.5. İletkenliğin İncelenmesi

Mikroemülsiyonların iletkenlik değerleri Oakton Eutech Instruments Bench 2700 serisi pH metre/kondüktometresi kullanılarak mikrosiemens (µS) olarak ölçüldü. Kalibrasyon için 1413 µS iletkenliği olan solüsyon kullanıldı. Boş ve etodolak yüklü formülasyonlar için iletkenlik değerleri belirlendi. Elektrot mikroemülsiyonların bulunduğu beherlere daldırıldı ve değerin sabitlenmesi beklendi. Ölçümler 3'er defa yapıldı.

Mikroemülsiyon formülasyonu ile sulu faz hacim fraksiyonu arasındaki bağıntıyı değerlendirebilmek için su oranı oldukça yüksek olan O-F formülasyonu seçildi. Formülasyondaki su miktarı % 0 iken iletkenlik ölçümü yapıldı. Kademeli olarak su oranı arttırıldı ve iletkenlik değişimi gözlendi, grafik üzerinde değerlendirildi.

3.2.9.6. Reolojik Özelliğin İncelenmesi

Mikroemülsiyonların dinamik viskoziteleri Brookfield R/S-SST Reometre kullanılarak ölçüldü ve akış özellikleri belirlendi. Her formülasyon için ölçüm yapıldı. 0,7 mL formülasyon tabaka üzerine damlatıldı. Silindir–tabaka sistemi kullanılarak 0-200 1/s kayma oranı aralığında ve ayrıca 600 1/s sabit kayma oranında ölçüm yapıldı. RHEO3000 yazılımı kullanıldı.

3.2.9.7. Optik İzotropinin Değerlendirilmesi

Mikroemülsiyonların optik izotropisi Olympus CX31-P polarize ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Lamel üzerine damlatılan formülasyonlar 10x objektif (30 W) ile görüntülendi.

3.2.9.8. Mikroemülsiyonların cryo-TEM Görüntüleri

200 nm çapında bakır ızgaraların üzerine örnekten bir damla damlatıldı ve 10 dakika boyunca filtre kağıdındaki aşırı sıvının uçurulması için bekletildi. Damlacıklar, fosfotungustik boya ile boyanarak elektron mikroskobu ile incelendi.

3.2.9.9. Stabilitenin İncelenmesi

Fiziksel stabilitenin değerlendirilebilmesi için mikroemülsiyonlar, 'yüklenmemiş ilaç santrifüj ile ayrılır' ilkesine göre (Çırpanlı ve ark 2009) Hettich Zentrifügen D-7200 santrifüj aleti kullanılarak 15000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi ve faz ayrımının gerçekleşip gerçekleşmediği gözlendi. Ayrıca oda sıcaklığında muhafaza edilen mikroemülsiyonların 1 aylık ve 3 aylık süreler sonunda damlacık boyutlarındaki değişimler ölçülerek stabiliteleri değerlendirildi.

3.2.10. *İn vitro* Salım Çalışması

İn vitro salım çalışmaları 0,22 µm gözenek büyüklüğüne sahip (GSWP Type) selüloz membranlar kullanılarak çalışıldı. Salım profili Higuchi kinetik modeline göre değerlendirildi.

$$Q=k.\ t^{1/2} \qquad \textbf{(3-3)}$$

Burada; Q birim yüzeyden salınan ilaç miktarını, k salım hız sabitini ve t zamanı temsil eder (Çapan 2002).

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda domuz derisi kullanılarak çalışılacak formülasyonlar belirlendi. Membrandan salım çalışmaları için uygulanan formülasyon miktarı 0,2 mL, alınan örneklerin hacmi 0,3 mL idi ve 1, 2, 3, 4, 5 ve 6'ıncı saatlerde örnekler alınarak HPLC ile analiz edildi.

3.2.11. *İn vitro* Permeasyon Çalışması

750 µm kalınlığında Zimmer™ Electric Dermatom kullanılarak dermatom edilen domuz derileri kullanılacak zamana kadar -20°C'de muhafaza edildi. Dondurucudan çıkarılan deriler, kullanmadan önce bir müddet oda sıcaklığında bekletildi. % 0,9 'luk NaCl çözeltisinde ½ saat bekletilerek hidrate edildi. Hücrelerinin hacmi 12 mL, difüzyon alanı 1,77 cm^2 ve dönme hızı 500 rpm olan PermeGear Franz

Difüzyon Sistemi kullanılarak *in vitro* permeasyon gözlendi. %70 pH 7,4 izotonik PBS ve %30 1,2-propandiol içeren reseptör faz, ultrasonik banyoda degaze edildikten sonra hücrelere doldurulduu, her bir hücreye manyetik karıştırıcı kondu. Domuz derileri, *stratum corneum* kısmı üstte kalacak şekilde hücrelerin üzerine hava boşluğu oluşturmadan yerleştirildi. Hücrelerin etrafında kalan kısımlar kesildi. Su banyosu 37°C'ye ayarlandı ve dengenin sağlanabilmesi için yarım saat beklendi. Etodolak içeren formülasyondan 0,1 mL *stratum corneum* un üzerini kaplayacak şekilde mikropipet yardımıyla uygulandı ve üzerleri parafilm ile kapatıldı. Her bir formülasyon için 3 hücre ile çalışıldı. 1, 2, 4, 6, 8 ve 24 'üncü saatlerde 0,3 mL örnek alındı ve yerine aynı miktarlarda reseptör faz ilave edildi. Örnekler seyreltilmeden 0,45 µm gözenek büyüklüğüne sahip Millex® -LCR (PTFE) filtrelerden süzüldü ve 274 nm'de HPLC'de analiz edildi.

Ortamdaki derişimi doygunluğun çok altında olduğu yani *'sink koşul'* sağlandığı için; $C_0 >> C_i$;

Bu durumda Fick'in birinci yasasından hareketle;

(J)= Kp x Ci $$\left(k_p\right) = \frac{KD}{h}$$ **(3-4)**

Eşitliği elde edilir. Bu eşitliğe göre k_p: Permeabilite katsayısıdır.

k_p; Hız birimidir ve birimi cm h^{-1}

Bu denklemde J kümülatif ilaç miktarını veren eğrinin lineer iken eğimini, k_p permeasyon katsayısını ve C uygulanan formülasyondaki ilaç miktarını temsil eder (Hadgraft ve Guy 2003).

3.2.12. ATR FTIR Spektroskopisi

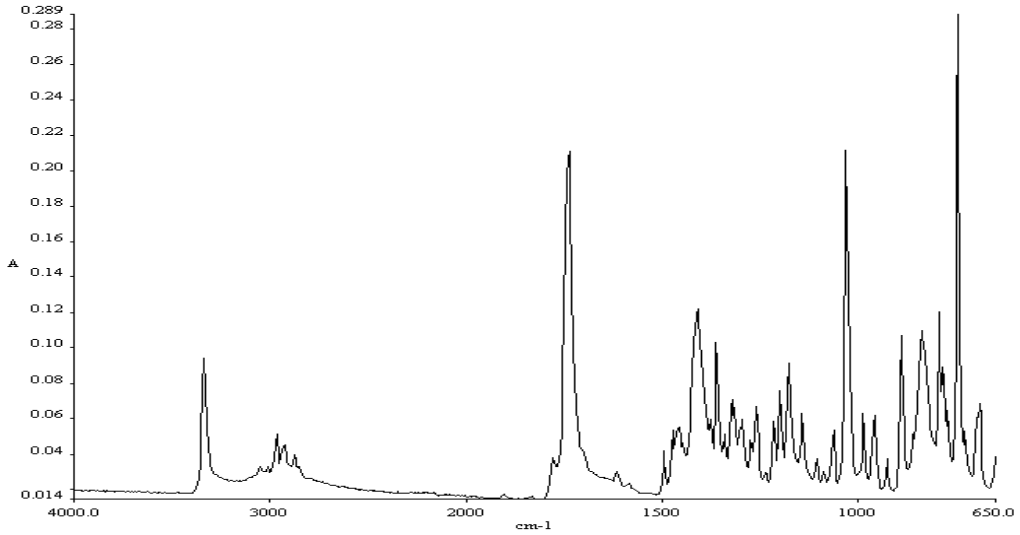
Perkin Elmer ATR-FTIR spektroskopisi kullanıldı. Yöntem 3.2.11'de anlatıldığı şekilde yapılan *in vitro* permeasyon çalışması sonrasında mikroemülsiyon formülasyonlarının uygulandığı deriler, formülasyonların uçurulması için çeker ocakta bekletildi. Her ATR spektrumu ortam sıcaklığında yaklaşık 40 defa tarandı. Ölçümün spektrum aralığı 4000-600 nm olarak belirlendi. Analiz için Perkin Elmer version 6.0.2

yazılımı kullanıldı. Deri lipitlerinden kaynaklanan CH_2 simetrik ve asimetrik bantların absorbanslarındaki değişimler, su moleküllerine ait O-H bantlarındaki değişimler değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Etodolak'ın Infrared (IR) Spektrumu

Yöntem 3.2.1'de anlatıldığı şekilde yapılan çalışmada etodolak'ın FT-IR spektrumu Şekil 4-1' de görülmektedir.



Şekil 4-1: Etodolak'ın IR spektrumu

4.2. Analitik Yöntemin Geçerlilik Testi (Validasyonu)

pH 7,4 izotonik PBS ve 1,2-propandiol (70:30) kullanılarak stok çözelti ve standartlar hazırlandı. PBS hazırlamak için maddelerden BP'de belirtilen miktarlarda tartılarak 500 mL hacimli bir balon jojeye alındı. Üzerine hacmi tamamlayacak kadar distile su ilave edildi. Magnet yardımıyla manyetik karıştırıcıda 10 dk karıştırıldı. pH metre ile pH değerin ölçüldü. pH ayarı için gereklilik halinde NaOH çözeltisi veya derişik fosforik asit kullanılarak pH 7,4'e ayarlandı.

4.2.1. Etodolak'ın UV Spektrofotometresi ile Miktar Tayini Yönteminin Geçerlilik Testi (Validasyonu)

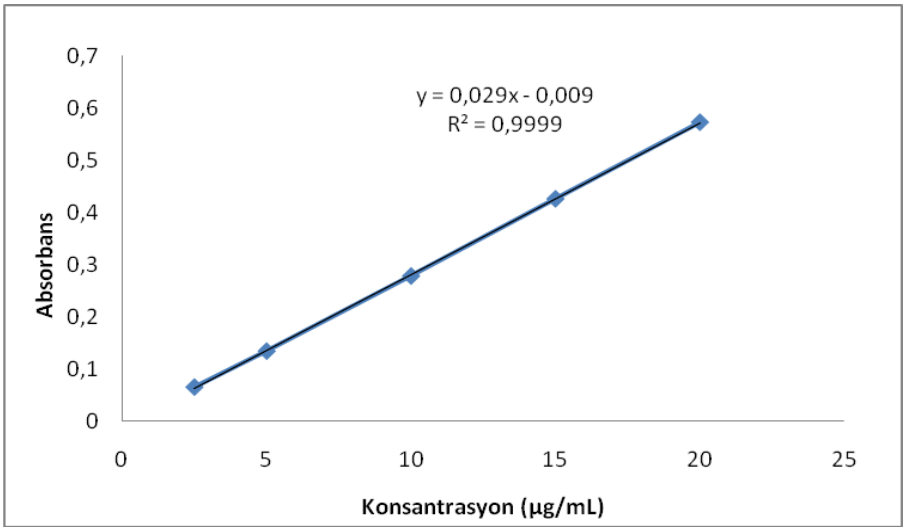
Doğrusallık

UV spektrofotometresi kullanılarak etodolak'ın absorbans verdiği dalga boyu taraması yapıldı. Literatürde de kayıtlı olan 280 nm dalga boyu olarak tayin edildi

(Çırpanlı ve ark 2009). Etodolak'ın yöntem 3.2.2.1'de anlatıldığı şekilde çalışılarak elde edilen konsantrasyonlara karşılık gelen ortalama absorbans değerlerine karşı standart eğri grafiği Şekil 4-2'de, en küçük kareler yöntemiyle hesaplanarak bulunan ve eğrinin hazırlanmasında kullanılan absorbans değerleri, standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (%RSD) değerleri Tablo 4-1'de, tayin katsayısı (r^2) ve doğru denklemi ise Tablo 4-2'de verilmiştir.

Tablo 4-1: UV Spektrofotometre validasyonu için reseptör faz ile yapılan doğrusallık çalışmasına ait absorbans değerleri

	Absorbans					
Konsantrasyon (µg/mL)	**n1**	**n2**	**n3**	**Ortalama**	**SD (±)**	**RSD (%)**
2,5	0,065	0,067	0,065	0,066	0,001	1,76
5	0,133	0,136	0,136	0,135	0,002	1,28
10	0,279	0,280	0,279	0,279	0,001	0,21
15	0,427	0,428	0,426	0,427	0,001	0,23
20	0,577	0,572	0,574	0,574	0,003	0,44



Şekil 4-2: UV Spektrofotometre validasyonu için reseptör faz ile yapılan çalışmaya ait kalibrasyon eğrisi

Tablo 4-2: Veriler doğrultusunda elde edilen r^2 ve doğru denklemi.

r^2 = 0,9999	y= Alan değeri
y= 0,0291 x -0,0095	x= Konsantrasyon (µg/mL)
	R^2= Determinasyon katsayısı

Kesinlik

Yöntem 3.2.2.1'de anlatıldığı şekilde kesinlik çalışması yapıldı. Gün içi kesinlik çalışmasına ait konsantrasyonlara karşılık gelen ortalama absorbans değerleri ile elde edilen standart sapma (SD), bağıl standart sapma (%RSD) değerleri Tablo 4-3'te verilmiştir.

Tablo 4-3: UV Spektrofotometre validasyonu için reseptör faz ile yapılan gün içi kesinlik çalışması verileri

Konsantrasyon (µg/mL)	**Absorbans**				**SD (±)**	**RSD (%)**
	n 1	**n 2**	**n 3**	**Ortalama**		
2,5	0,072	0,070	0,072	0,071	0,001	1,62
5	0,148	0,147	0,152	0,149	0,003	1,78
10	0,309	0,301	0,297	0,302	0,006	2,02
15	0,446	0,445	0,449	0,447	0,002	0,47
20	0,591	0,589	0,584	0,588	0,004	0,61

Günler arası kesinlik: Gün içerisinde yapılan kesinlik çalışmaları farklı günlerde tekrarlanarak 3 günlük sonuçlar elde edildi. Günler arası kesinlik çalışmasına

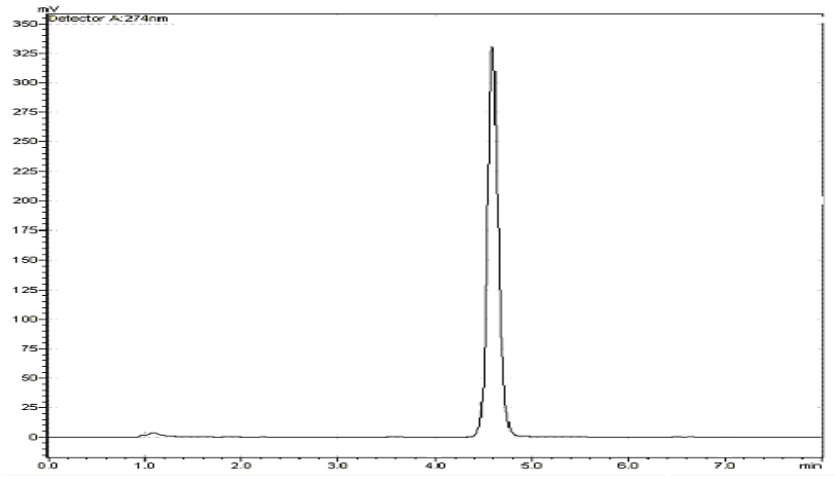
ait konsantrasyonlara karşılık gelen ortalama absorbans değerleri ile elde edilen standart sapma (SD), bağıl standart sapma (%RSD) değerleri Tablo 4-4'te verilmiştir.

Tablo 4-4: UV Spektrofotometre validasyonu için reseptör faz ile yapılan günler arası kesinlik çalışması verileri

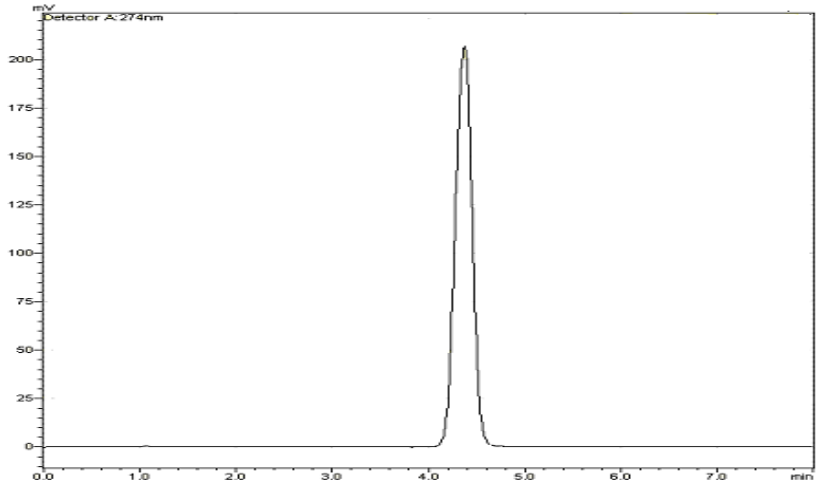
Konsantrasyon (µg/mL)	Absorbans				SD (±)	RSD (%)
	1.gün	2.gün	3.gün	Ortalama		
2,5	0,069	0,070	0,067	0,069	0,002	2,22
5	0,139	0,144	0,136	0,140	0,004	2,89
10	0,278	0,284	0,280	0,281	0,003	1,09
15	0,411	0,431	0,428	0,423	0,011	2,55
20	0,550	0,576	0,572	0,566	0,014	2,47

4.2.2. Etodolak'ın HPLC ile Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesi ve Geçerlilik Testi (Validasyonu)

Yöntem 3.2.2.2'de anlatıldığı şekilde etodolak'ın, hem ACN hem de reseptör faz kullanılarak HPLC ile geçerlilik testi yapıldı. Yapılan geçerlilik testine göre alıkonma zamanı reseptör faz ile hazırlanan standartlar için 4,5 dk (Şekil 4-3) olarak ve ACN ile hazırlanan standartlar için 4,4 dk (Şekil 4-4) olarak saptandı.



Şekil 4-3: Reseptör faz ile hazırlanan etodolak'ın kullanılan metoda göre alıkonma zamanı



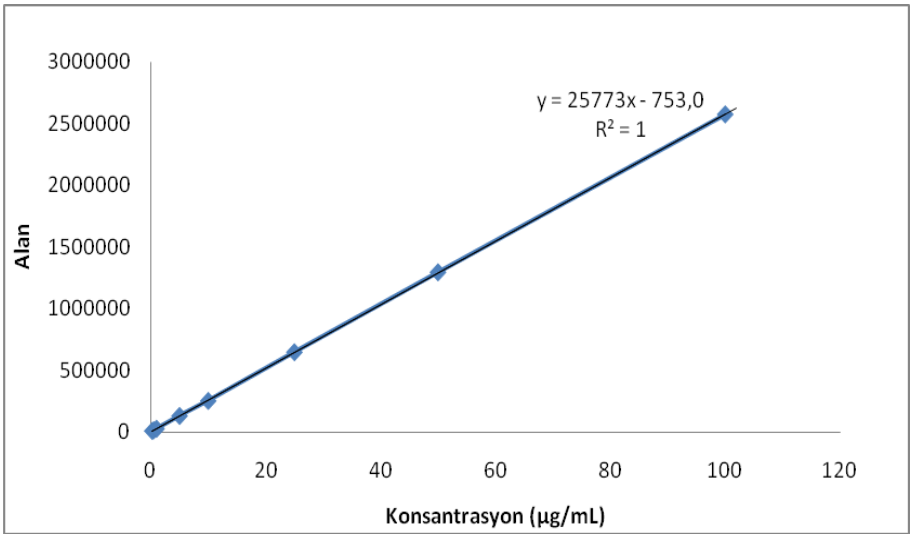
Şekil 4-4: ACN ile hazırlanan etodolak'ın kullanılan metoda göre alıkonma zamanı

Doğrusallık

Reseptör Faz için Doğrusallık: Yöntem 3.2.2.2'de anlatıldığı şekilde ve belirlenen konsantrasyon değerlerinde standartlar hazırlanarak HPLC ile analiz edildi. Her konsantrasyon değeri için eğri altında kalan alan değerlerine karşı standart eğri grafiği Şekil 4-5'te, en küçük kareler yöntemiyle hesaplanarak bulunan ve eğrinin hazırlanmasında kullanılan alan değerleri, standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (%RSD) değerleri Tablo 4-5'te, tayin katsayısı (r^2) ve doğru denklemi ise Tablo 4-6'da verilmiştir.

Tablo 4-5: HPLC validasyonunda reseptör faz ile hazırlanan örnekler için yapılan doğrusallık çalışmasına ait eğri altında kalan alan değerleri

Konsantrasyon (µg/mL)	Ortalama Alan	SD(±)	RSD (%)
0,25	6765,5	187,38	2,77
0,5	12781	451,13	3,53
1	24567	821,66	3,34
5	128319	1714,03	1,34
10	250773,5	4454,07	1,78
25	645240,5	13230,67	2,05
50	1293593,5	30462,87	2,35
100	2573849,5	39191,39	1,52



Şekil 4-5: Reseptör faz ile hazırlanan örnekler için kalibrasyon eğrisi

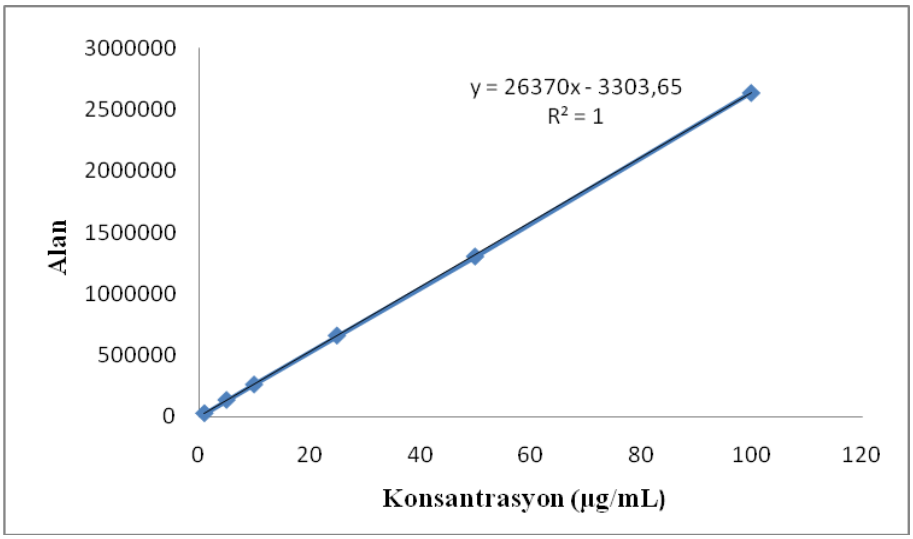
Tablo 4-6: Veriler doğrultusunda elde edilen r^2 ve doğru denklemi

r^2 = 0,9999	y= Alan değeri
y= 25772,7x-753,06	x= Konsantrasyon (µg/mL)
	R^2= Determinasyon katsayısı

ACN için Doğrusallık: Yöntem 3.2.2.2'de anlatıldığı şekilde ve belirlenen konsantrasyon değerlerinde standartlar hazırlanarak HPLC ile analiz edildi. Her konsantrasyon değeri için eğri altında kalan alan değerlerine karşı standart eğri grafiği Şekil 4-6'da, en küçük kareler yöntemiyle hesaplanarak bulunan ve eğrinin hazırlanmasında kullanılan alan değerleri, standart sapma (SD) ve bağıl standart sapma (%RSD) değerleri Tablo 4-7'de, tayin katsayısı (r^2) ve doğru denklemi ise Tablo 4-8'de verilmiştir.

Tablo 4-7: HPLC validasyonunda ACN ile hazırlanan örnekler için yapılan doğrusallık çalışmasına ait eğri altında kalan alan değereleri

Konsantrasyon (µg/mL)	**Ortalama Alan**	**SD(±)**	**RSD (%)**
1	24250	1197,84	4,94
5	132840,5	4578,52	3,45
25	258825	9107,54	3,52
50	658357,5	19941,12	3,03
100	1303960	64328,33	4,93



Şekil 4-6: ACN ile hazırlanan örnekler için kalibrasyon eğrisi

Tablo 4-8: Veriler doğrultusunda elde edilen r^2 ve doğru denklemi

r^2 = 0,9999	y= Alan değeri
y= 26370,47x-3303,65	x= Konsantrasyon (µg/mL)
	R^2= Determinasyon katsayısı

Kesinlik

Etodolak'ın geçerlilik testi için ACN ve reseptör faz ile ayrı ayrı olmak üzere 100 µg/mL konsantrasyonda 6 adet standart hazırlandı ve 274 nm'de HPLC ile analiz edildi. Elde edilen alan değerleri, SD ve % RSD değerleri Tablo 4-9 ve Tablo 4-10'da verilmiştir.

Geçerlilik testinin kesinliği için yapılan çalışmanın farklı günlerde tekrarlanması ile günler arası kesinlik sonuçları elde edildi SD ve % RSD hesaplandı (Tablo 4-11 ve Tablo 4-12).

Tablo 4-9: HPLC validasyonu için reseptör faz ile yapılan kesinlik çalışmasına ait eğri altında kalan alan değereleri (100 µg/mL)

Alan	Ortalama	SD (±)	RSD (%)
2575828			
2571607			
2658598			
	2609260	33706,32	1,29
2635573			
2604965			
2608989			

Tablo 4-10: HPLC validasyonu için ACN ile yapılan kesinlik çalışmasına ait eğri altında kalan alan değereleri (100µg/mL)

Alan	Ortalama	SD (±)	RSD (%)
2790300			
2888533			
2894193			
	2884025,5	46984,39	1,63
2910609			
2905441			
2915077			

Tablo 4-11: HPLC validasyonunda reseptör faz ile hazırlanan örnekler için yapılan günler arası kesinlik çalışmasına ait eğri altında kalan alan değereleri (100µg/mL)

Gün	Alan	Ortalama	SD (±)	RSD (%)
1.Gün	2575828			
2.Gün	2616111			
3.Gün	2571784	2590102	16475,63	0,64
4.Gün	2600353			
5.Gün	2584418			
6.Gün	2592121			

Tablo 4-12: HPLC validasyonunda ACN ile hazırlanan örnekler için yapılan günler arası kesinlik çalışmasına ait eğri altında kalan alan değereleri (100 µg/mL)

Gün	Alan	Ortalama	SD (±)	RSD (%)
1.Gün	2790300			
2.Gün	2762068			
3.Gün	2757587	2746979	30057,17	1,10
4.Gün	2712871			
5.Gün	2745765			
6.Gün	2713283			

Doğruluk

Yöntem 3.2.2.2'de anlatıldığı şekilde yöntemin doğruluğu çalışıldı. Her konsantrasyon için geri kazanma değeri (%), standart sapma (SD) ve bağıl standart

sapma (% RSD) değeri reseptör faz kullanılarak oleik asit için Tablo 4-13'te ve IPM için Tablo 4-14'te verilirken ACN kullanılarak oleik asit için Tablo 4-15'te ve IPM için Tablo 4-16'da verilmiştir.

Tablo 4-13: Yağ fazı oleik asit olan formülasyonlar için reseptör faz ile HPLC validasyonu doğruluk çalışması

Konsantrasyon	Geri Kazanma	Geri Kazanma (%)	SD (±)	RSD (%)
%50	49,91	99,83	1,07	1,07
%100	98,40	98,40	1,89	1,92
%150	151,40	100,93	0,66	0,65

Tablo 4-14: Yağ fazı IPM olan formülasyonlar için reseptör faz ile HPLC validasyonu doğruluk çalışması

Konsantrasyon	Geri Kazanma	Geri Kazanma (%)	SD (±)	RSD (%)
%50	50,65	101,31	1,36	1,34
%100	102,04	102,04	0,69	0,67
%150	153,13	102,09	0,62	0,60

Tablo 4-15: Yağ fazı oleik asit olan formülasyonlar için ACN ile HPLC validasyonu doğruluk çalışması

Konsantrasyon	Geri Kazanma	Geri Kazanma (%)	SD (±)	RSD (%)
%50	52,44	104,87	2,47	2,36
%100	100,85	100,85	2,40	2,38
%150	146,89	97,92	2,21	2,26

Tablo 4-16: Yağ fazı IPM olan formülasyonlar için ACN ile HPLC validasyonu doğruluk çalışması

Konsantrasyon	Geri Kazanma	Geri Kazanma (%)	SD (±)	RSD (%)
%50	51,18	102,35	1,56	1,52
%100	102,25	102,25	0,71	0,69
%150	155,02	103,35	1,41	1,37

Seçicilik

Belirtilen koşullarda yapılan çalışmalar sonucunda, formülasyonda kullanılan diğer maddelerin etodolak'ın alıkonma zamanında girişim yapmadığı tespit edildi.

Tekrarlanabilirlik

Günler arası kesinlik tekrarlanabilirliğin göstergesidir. Elde edilen verilere göre etodolak'ın HPLC geçerlilik testi yöntemi kesindir ve dolayısı ile tekrarlanabilirdir.

Teşhis Limiti ve Miktar Tayin Limiti

Denklem (3-1) ve (3-2)'ye göre sırasıyla

TL=0,04 (reseptör faz) ve **TL**=0,06 (ACN)

MTL= 0,13 (reseptör faz) ve **MTL**= 0,19 (ACN) 'dir.

Örneklerin Stabilitesi

Kullanılan yönteme göre standartlar 24 saat boyunca kararlıdır. Ayrıca, reseptör faz ile hazırlanmış ve oda sıcaklığında saklanmış çözeltilerin 1, 9 ve 23 gün sonra bile kararlılığını koruduğu saptandı (Tablo 4-17, Tablo 4-18 ve Tablo 4-19).

Tablo 4-17: Reseptör faz ile hazırlanmış çözeltilerin stabilitesi

Konsantrasyon (µg/mL)	Zaman	Alan	SD (±)	RSD (%)
100	0 sa	2606298	11681,4	0,45
	24 sa	2589778		

Tablo 4-18: ACN ile hazırlanmış çözeltilerin stabilitesi

Konsantrasyon (µg/mL)	Zaman	Alan	SD (±)	RSD (%)
100	0 sa	1947560	13234,9	0,68
	24 sa	1928843		

Tablo 4-19: Reseptör faz ile hazırlanmış ve oda sıcaklığında saklanmış çözeltilerin belirtilen süreler sonunda stabilitesi

Konsantrasyon (µg/mL)	Zaman	Alan	SD (±)	RSD (%)
100	1.gün	2524641	15133,54	0,60
	9 gün sonra	2550188		
	23 gün sonra	2523358		

4.3. Çözünürlük Çalışması

Yöntem 3.2.3'te anlatıldığı şekilde yapılan çözünürlük çalışmasına ait değerler Tablo 4-20'de verilmiştir. Elde edilen değerlere göre ve yardımcı maddelerin özellikleri dikkate alınarak ön formülasyon çalışmalarında kullanılabilecek yardımcı maddeler belirlendi.

Tablo 4-20: Etodolak'ın yardımcı maddelerin içerisindeki çözünürlük değerleri

Yardımcı madde	mL'deki çözünürlük değerleri (± SD)
IPM	12,56 mg ± 0,57
Oleik Asit	11,63 mg ± 1,07
Etil Oleat	2,38 mg ± 0,17
Labrasol	86,63 mg ± 2,75
Transcutol P	34,50 mg ± 2,72
Tween 20	2,13 mg ± 0,12
Tween 80	0,61 mg ± 0,08
Labrafac lipo WL 1349	3,40mg ± 0,38
Plurol oleik	12,76 mg ± 0,24
Cremophor RH 40	0,41 mg ± 0,09
Cremophor EL	0,68 mg ± 0,18

4.4. Ön Formülasyon Çalışmaları

Çözünürlük çalışmalarında elde edilen değerler de dikkate alınarak optimum formülasyonu/ları belirlemek için farklı oranlarda hazırlanan formülasyonlara ait bilgiler Tablo 4-21'de verilmiştir.

Tablo 4-21: Farklı oranlarda yağ, sürfaktan ve ko-sürfaktan kullanılarak hazırlanan mikroemülsiyonlar

No	Yağ Fazı	Sürfaktan	Ko-S	Su	S/Ko-S	Y/(S/Ko-S)	Sonuç	
							Önce	Sonra
1	IPM	Cremophor RH40	Transcutol P	%5,7	1:1	4:1	Bulanık	Jelleşme
2	IPM	Cremophor EL	Transcutol P	%6,3	1:1	4:1	Bulanık	Bulanıklaşma
3	IPM	Cremophor RH40	Plurol Oleik	%....	2:1	9:1	Bulanık	Bulanık
4	IPM	Tween 20	Transcutol P	% 3,25	1:1	1:6	Berrak	ME
5	IPM	Tween 80	Transcutol P	% 4,33	1:1	1:8	Berrak	ME
6	IPM	Tween 80	Labrasol	% 4,35	1:1	1:8	Berrak	ME
7	IPM	Tween 80	Span 20	%2,63	2:3	1:10	Berrak	ME
8	IPM	Labrasol	Transcutol P	%3,4	1:1	1:2	Berrak	ME
9	OleikA	Labrasol	Transcutol P	%6,28	1:1	1:1	Berrak	ME

Oleik A: Oleik asit **S:**sürfaktan**, Ko-S:** Ko-sürfaktan**, Y:** Yağ Fazı**, Bulanık:** Su İlavesine Rağmen Berraklaşmama**, Bulanıklaşma:** Kısmen Berraklaşıp Tekrar Bulanıklaşma **ME**:Mikroemülsiyon

- 1 no'lu formülasyonda bulanıklık gözlendi ve su ilavesi ile jelleşme meydana geldi.
- 2 no'lu formülasyonda bulanıklık gözlendi ve su ilavesi ile azalan bulanıklık su ilavesi devam ettikçe arttı.
- 3 no'lu formülasyonda bulanıklık gözlendi ve su ilavesine rağmen değişmedi.

Tablo 4-21'de gösterilen formülasyonların su tutma kapasiteleri çok düşük olduğu için ayrıca jelleşme/faz ayrımı gözlendiği için ve yanı sıra Tablo 4-20'de yer alan verilere göre etodolak'ın en çok çözündüğü yardımcı maddeler, mikroemülsiyon

bileşenleri olarak seçildi. Yağ fazı olarak hem IPM hem de oleik asitin kullanıldığı formülasyonlar hazırlandı. Bu çalışmada hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarında Labrasol sürfaktan olarak kullanılırken Transcutol P, ko-sürfaktan olarak kullanıldı. Birbirleri ile olumsuz etkileşimleri olmadığı gözlenen IPM, Labrasol, Transcutol P veya Oleik Asit, Labrasol, Transcutol P'den oluşan mikroemülsiyonlar farklı oranlarda hazırlandı.

Tablo 4-22: Yağ fazı oleik asit olan formülasyonların en yüksek su içerdiği andaki mikroemülsiyon formülasyon bileşenleri ve miktarları

No	Oleik Asit		Labrasol		Transcutol P		Alabildiği Su	S/Ko-S	Y/(S/Ko-S)
	%	Oran	%	Oran	%	Oran	%		
1	13,22	1	52,88	4	13,22	1	20,68	4:1	1:5
2	10,75	1	53,75	5	10,75	1	24,74	5:1	1:6
3	25,65	2	51,30	4	12,83	1	10,22	4:1	2:5
4	27,95	1	27,95	1	27,95	1	16,15	1:1	1:2
5	20,92	1	41,84	2	20,92	1	16,32	2:1	1:3
6	18,9	1	37,80	1	18,9	2	24,4	1:2	1:3
7	46,86	2	23,43	1	23,43	1	6,28	1:1	1:1

Tablo 4-23: Yağ fazı IPM olan formülasyonların en yüksek su içerdiği andaki mikroemülsiyon formülasyon bileşenleri ve miktarları

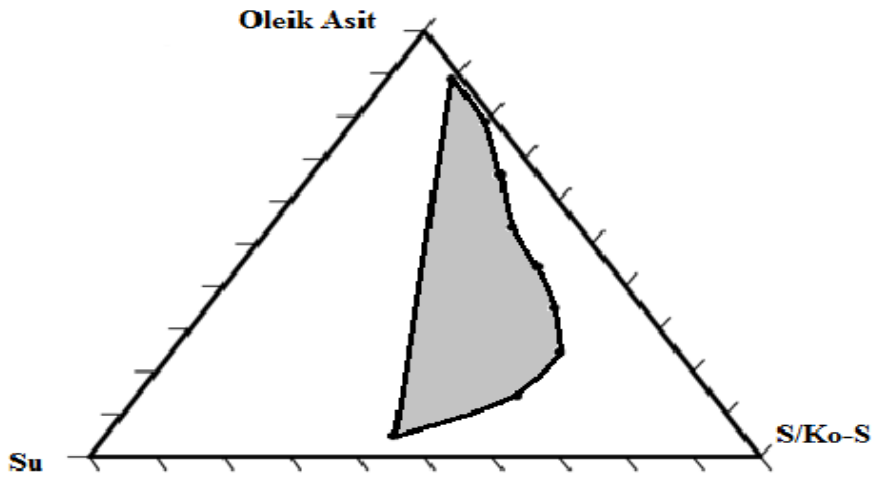
NO	IPM		Labrasol		Transcutol P		Alabildiği Su	S/Ko-S	Y/(S/Ko-S)
	%	Oran	%	Oran	%	Oran	%		
1	23,05	1	23,05	1	46,1	2	7,82	1:2	1:3
2	32,2	1	32,2	1	32,2	1	3,45	1:1	1:2
3	23,8	1	47,6	2	23,8	1	4,75	2:1	1:3
4	48,72	2	24,36	1	24,36	1	2,55	1:1	1:1
5	38,56	2	19,28	1	38,56	2	3,60	1:2	2:3
6	39,70	2	39,70	2	19,85	1	0,73	2:1	2:3
7	23,05	1	23,05	1	46,1	2	7,80	1:2	1:3

4.5. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Hazırlanması ve Üçgen Faz Diyagramlarının Oluşturulması

Etodolak'ın çözünürlük verileri ile ön formülasyon çalışmasından elde dilen veriler dikkate alındığı zaman sürfaktan/ko-sürfaktan oranının 1:1 olduğu formülasyonların hazırlanmasına karar verildi. Seçilen S/Ko-S oranı ile hazırlanabilecek mikroemülsiyon alanını belirlemek için Yöntem 3.2.4 ve 3.2.5'e göre üçgen faz diyagramları çizildi. Üçgen faz diyagramlarının çizilmesinde kullanılan formülasyon bileşenlerinin miktar ve oranları oleik asit içeren formülasyonlar için Tablo 4-24'te ve IPM içeren formülasyolar için Tablo 4-25'te verilmiştir.

Tablo 4-24: Yağ fazı oleik asit olan ve üçgen faz diyagramı oluşturarak mikroemülsiyon alanının belirlenmesinde kullanılan formülasyon bileşenleri ve miktarları

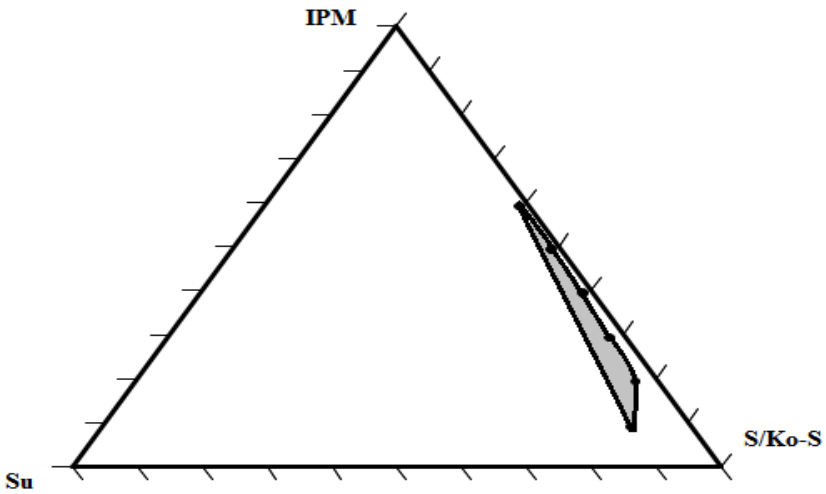
NO	Oleik Asit		Labrasol		Transcutol P		Su	S/Ko-S	Y/(S/Ko-S)
	%	Oran	%	Oran	%	Oran	%		
1	88,65	9	4,925	0,5	4,925	0,5	1,50	1:1	9:1
2	78,76	8	9,85	1	9,85	1	1,54	1:1	8:2
3	66,08	7	14,16	1,5	14,16	1,5	5,60	1:1	7:3
4	53,94	6	17,98	2	17,98	2	10,10	1:1	6:4
5	44,54	5	22,27	2,5	22,27	2,5	10,92	1:1	5:5
6	34,76	4	26,07	3	26,07	3	13,10	1:1	4:6
7	24,74	3	28,87	3,5	28,87	3,5	17,52	1:1	3:7
8	14,21	2	28,43	4	28,43	4	28,93	1:1	2:8
9	4,80	1	21,62	4,5	21,62	4,5	51,96	1:1	1:9



Şekil 4-7: Tablo 4-24 kullanılarak çizilen üçgen faz diyagramı

Tablo 4-25: Yağ fazı IPM olan ve üçgen faz diyagramı oluşturarak mikroemülsiyon alanının belirlenmesinde kullanılan formülasyon bileşenleri ve miktarları

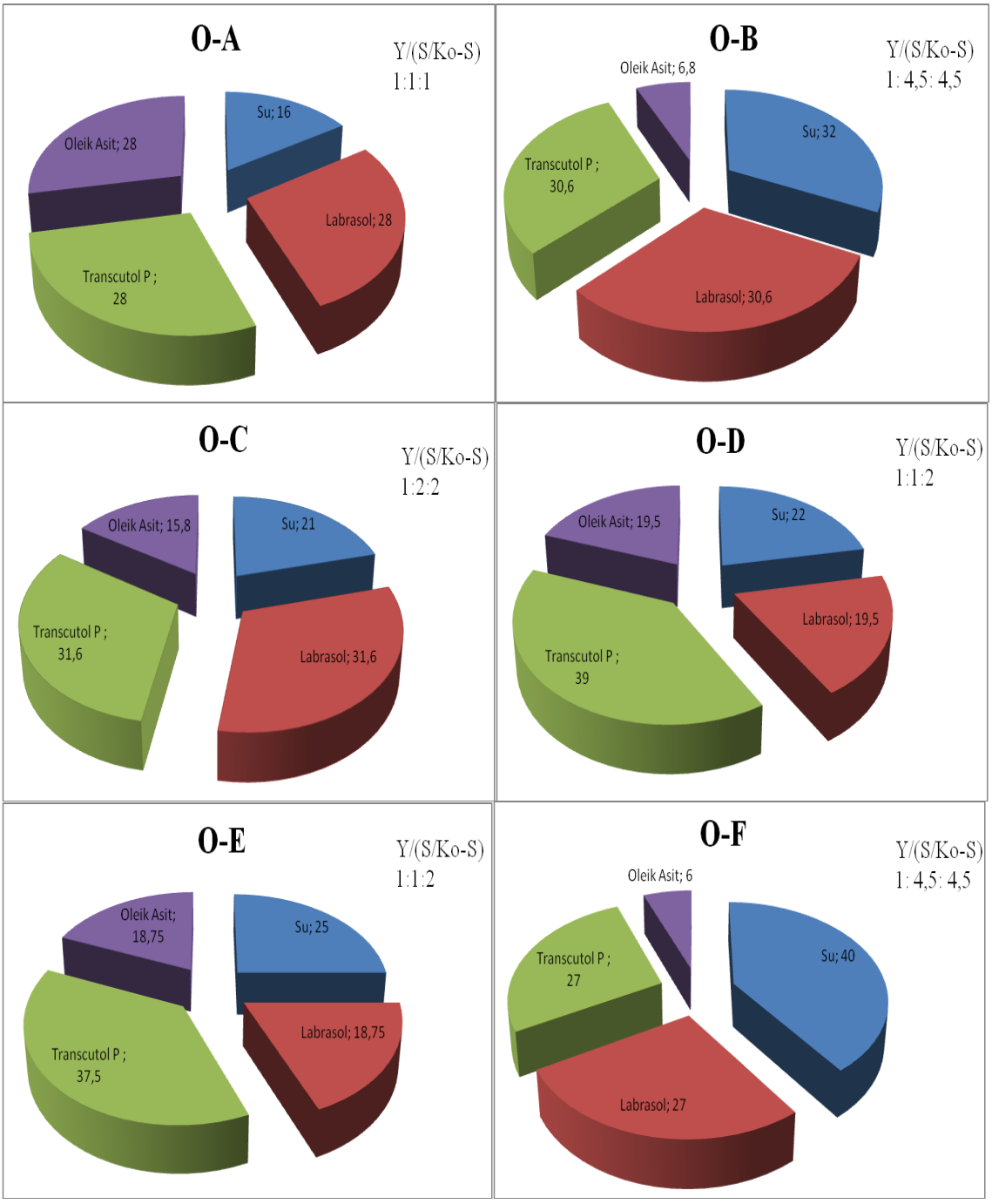
NO	IPM		Labrasol		Transcutol P		Su	S/Ko-S	Y/(S/Ko-S)
	%	Oran	%	Oran	%	Oran	%		
1	-	9	-	0,5	-	0,5	Bulanık -faz ayrımı	1:1	9:1
2	-	8	-	1	-	1	Bulanık -faz ayrımı	1:1	8:2
3	-	7	-	1,5	-	1,5	Bulanık-faz ayrımı	1:1	7:3
4	59,19	6	19,73	2	19,73	2	1,35	1:1	6:4
5	49,29	5	24,65	2,5	24,65	2,5	1,41	1:1	5:5
6	39,39	4	29,54	3	29,54	3	1,53	1:1	4:6
7	29,28	3	34,16	3,5	34,16	3,5	2,40	1:1	3:7
8	19,31	2	38,62	4	38,62	4	3,45	1:1	2:8
9	9,07	1	40,82	4,5	40,82	4,5	9,29	1:1	1:9



Şekil 4-8: Tablo 4-25 kullanılarak çizilen üçgen faz diyagramı

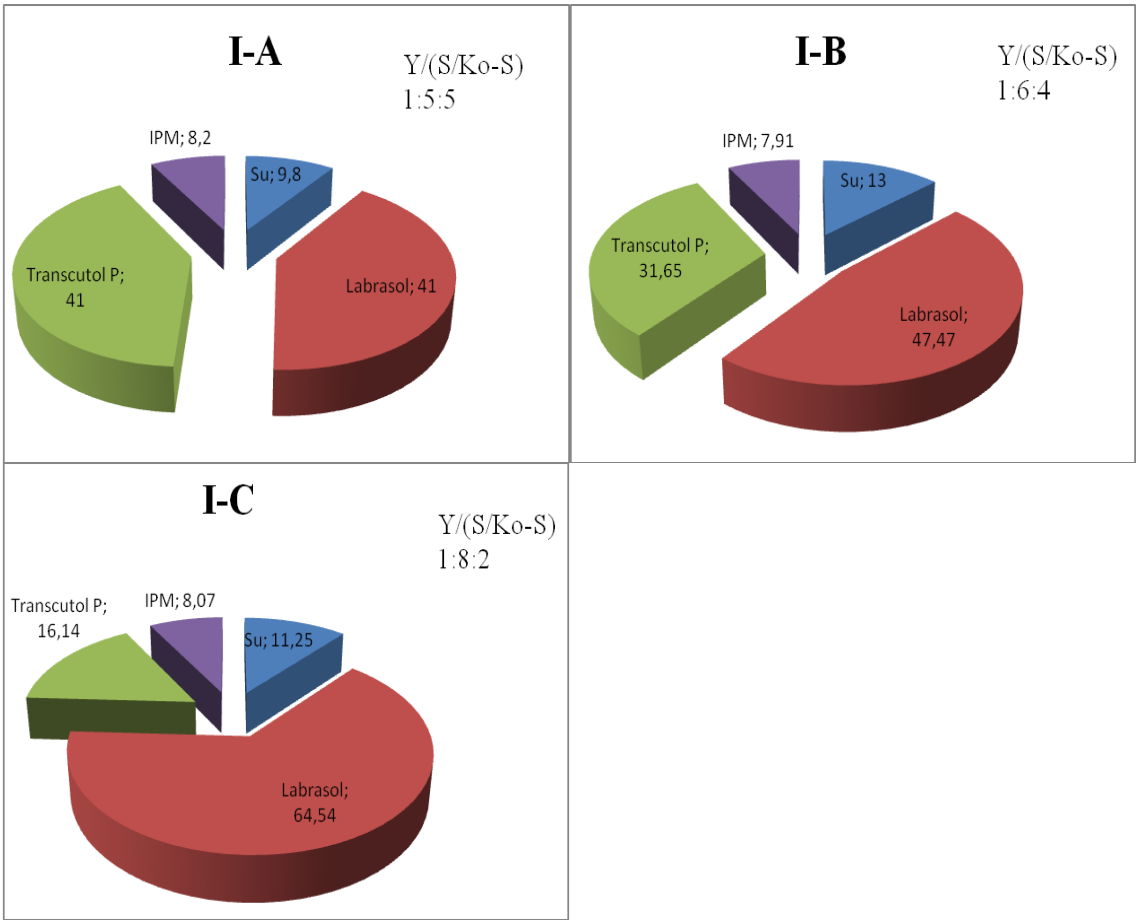
4.6. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Seçilmesi

Elde edilen üçgen faz diyagramının eğri içerisinde kalan mikroemülsiyon alanından (Şekil 4-7), oleik asit içeren O-A, O-B, O-C formülasyonları seçildi. Ayrıca su yüzdesinin etkisinin değerlendirilebilmesi için O-F ve Transcutol P'nin etkisinin değerlendirilebilmesi için O-D ve O-E formülasyonları (Şekil 4-9) seçildi.



Şekil 4-9: Yağ fazı oleik asit olan seçilmiş formülasyonların bileşenleri ve miktarları

Tablo 4-25'ten elde edilen üçgen faz diyagramının (Şekil 4-8) eğri içerisinde kalan alandan yola çıkılarak IPM içeren I-A formülasyonu (Şekil 4-10) seçildi. Ayrıca oran değişiminin formülasyonlar üzerindeki etkisini değerlendirmek üzere I-B ve I-C formülasyonları da hazırlanarak değerlendirildi.



Şekil 4-10: Yağ fazı IPM olan seçilmiş formülasyonların bileşenleri ve miktarları

4.7. Seçilen Mikroemülsiyon Formülasyonlarına Etodolak Yüklenmesi

Seçilen ve yöntem 3.2.5'te anlatıldığı şekilde hazırlanan formülasyonlara % 5 olarak belirlenen etodolak, tartılarak ilave edildi. Yalnız seçilen formülasyonlardan O-F'nin su oranı çok yüksek olduğu için % 5 oranında etodolak ilave edildiği zaman bir kısmının çözünmeden kaldığı tespit edildi ve oran % 3'e düşürüldü. Sistemin dengeye gelebilmesi için 72 saat beklendi.

4.8. Seçilen Formülasyonlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

4.8.1. Refraktif Indeksin Değerlendirilmesi

Mikroemülsiyon formülasyonlarının refraktif indeks değerleri Yöntem 3.2.9.1'de anlatıldığı şekilde yapılarak elde edilen değerler Tablo 4-26'da verilmiştir.

Tablo 4-26: Etodolak yüklü mikroemülsiyonların refraktif indeks değerleri

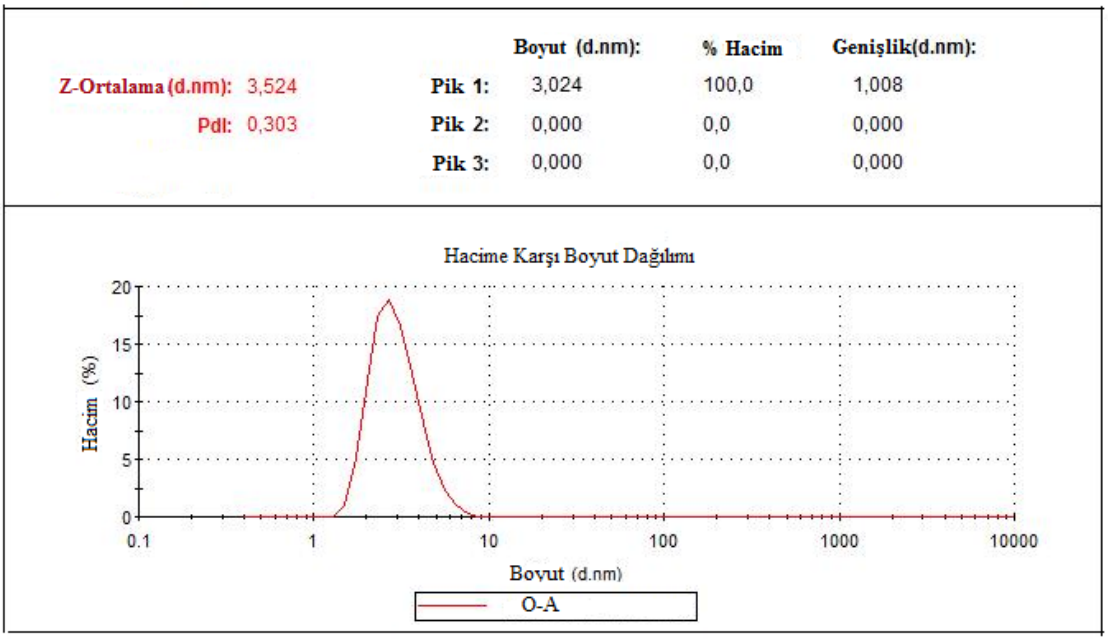
Formülasyon	Refraktif Indeks (ETD yüklü ME)
O-A	1,4400±0
O-B	1,4220±0
O-C	1,4335±0
O-D	1,4305±0
O-E	1,4280±0
O-F	1,4110±0

4.8.2. Damlacık Boyutu ve Polidispersite Indeksinin Değerlendirilmesi

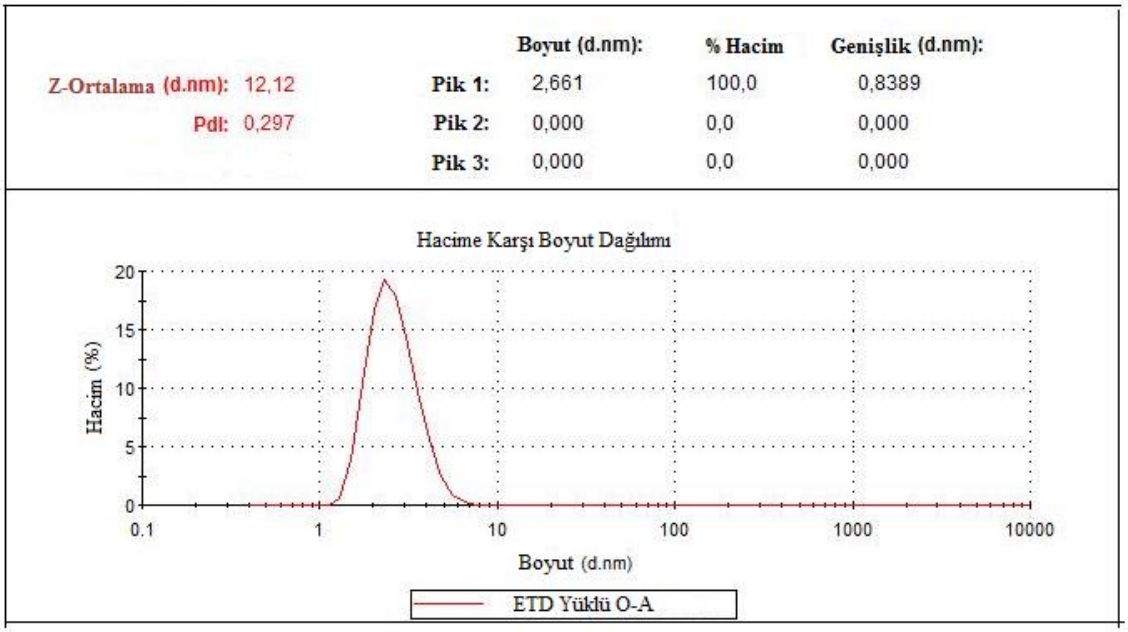
Yöntem 3.2.9.2'de anlatıldığı şekilde damlacık boyutu ve polidispersite indeksi ölçümleri yapıldı. Damlacık boyutuna ait veriler Tablo 4-27'de ve polidispersite indeksine ait veriler Tablo 4-28'de gösterilmiştir. Oleik asit ile hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarının damlacık boyutu ölçümlerine ait grafikler Şekil 4-11 ve Şekil 4-22 arasında gösterilmiştir. Etodolak ilavesi ile damlacık boyutlarında aşırı artış gözlenen IPM ile hazırlanan formülasyonların damlacık boyutu ölçümlerine ait grafiklere yer verilmedi.

Tablo 4-27: Mikroemülsiyonların damlacık boyutu (25ºC)

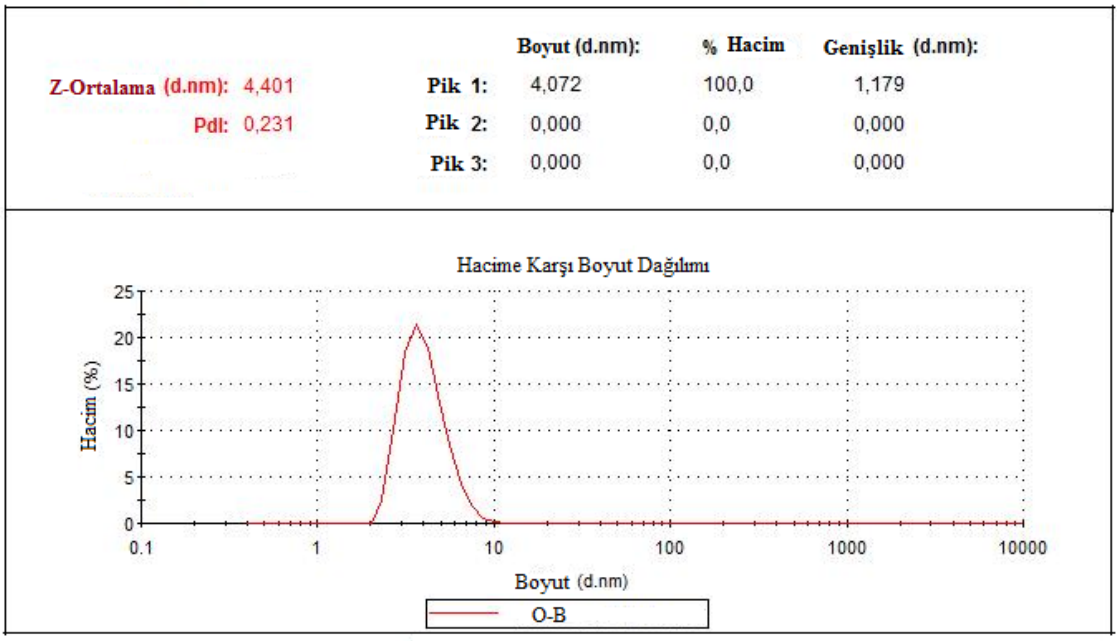
Formülasyon	Damlacık Boyutu (nm)		
	Boş ME	**ETD Yüklü ME (Gün içerisinde)**	**ETD Yüklü ME (72 saat sonra)**
I-A	5,51±0,66	80,82±12,43	125,87±16,95
I-B	7,71.±0,1	156,90±65,80	76,67 (Tek ölçüm)
I-C	11,62±2,89	3524,30±2654	Ölçüm yapılmadı
I-A (%1)	5,51±0,66	104,37±3,39	Ölçüm yapılmadı
O-A	3,42±0,1	13,58±3,57	12,07±0,53
O-B	4,41±0,08	6,28±0,08	5,97±0,07
O-C	3,59±0,05	5,17±0,68	4,95±0,86
O-D	3,42±0,01	6,12±0,59	3,41±0,12
O-E	4,57±0,19	4,96±0,10	6,35±0,01
O-F	5,40±0,04	10,25±0,02	10,02±0,12



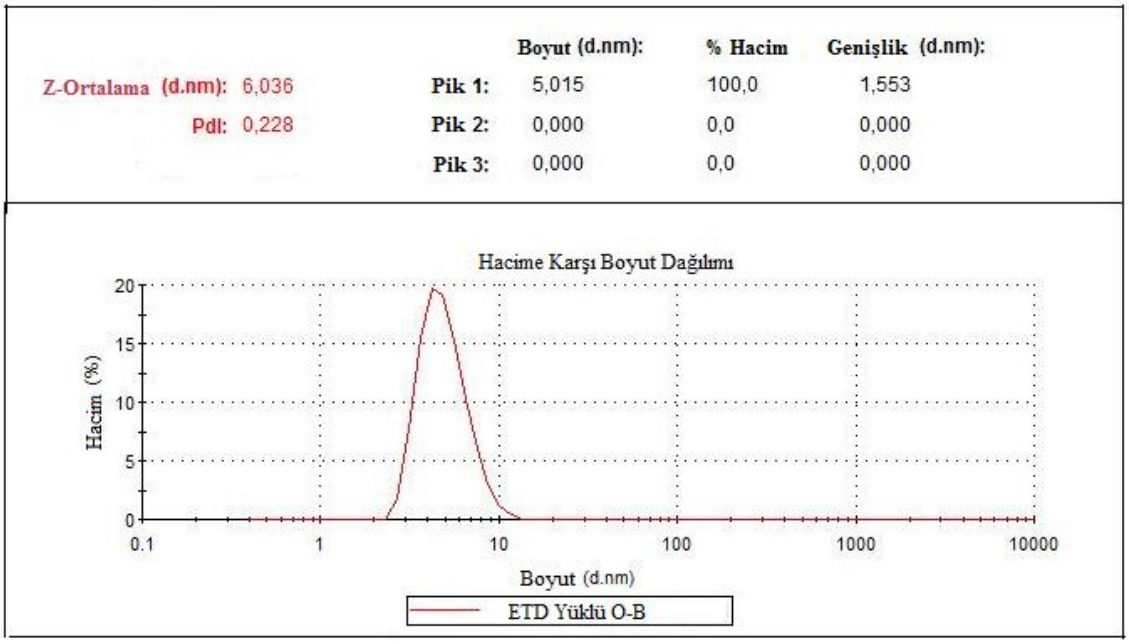
Şekil 4-11: O-A formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



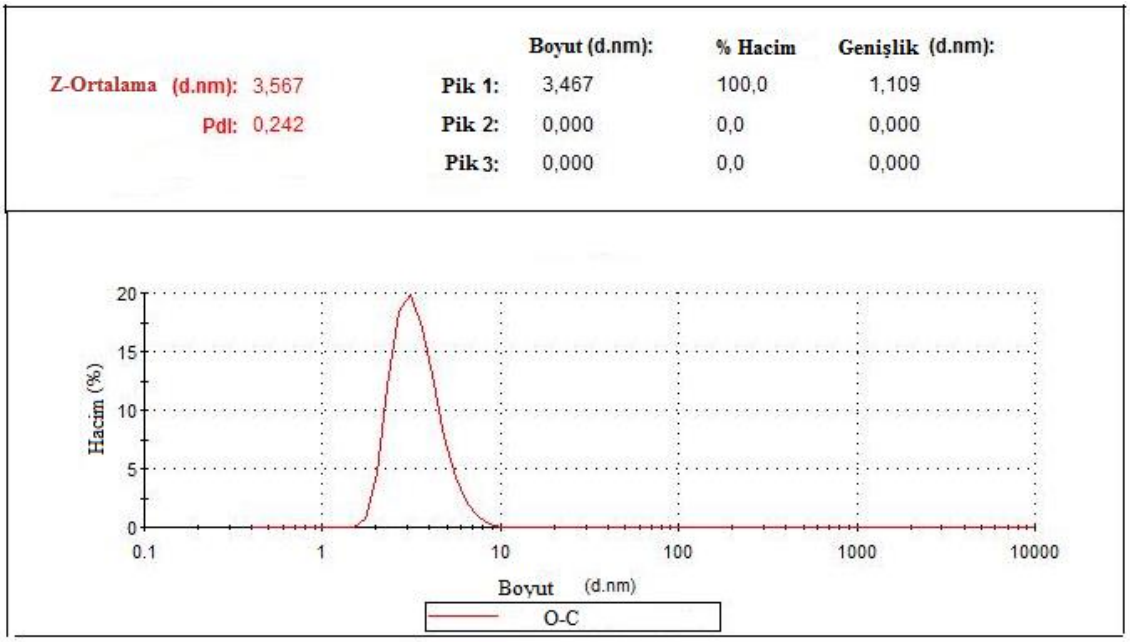
Şekil 4-12: ETD yüklü O-A formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



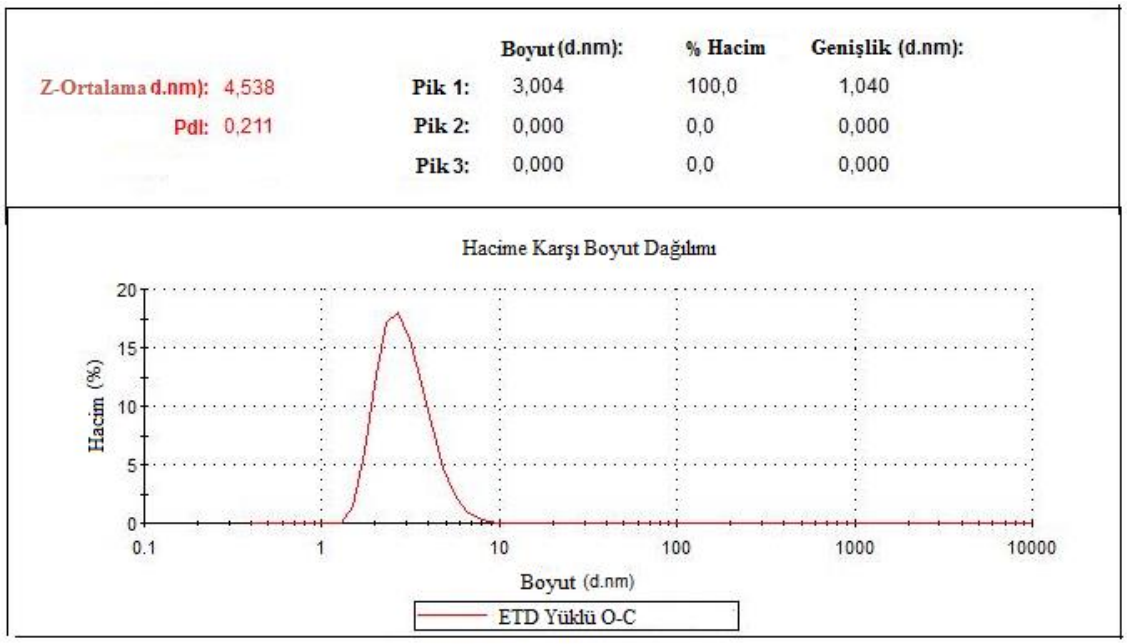
Şekil 4-13: O-B formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



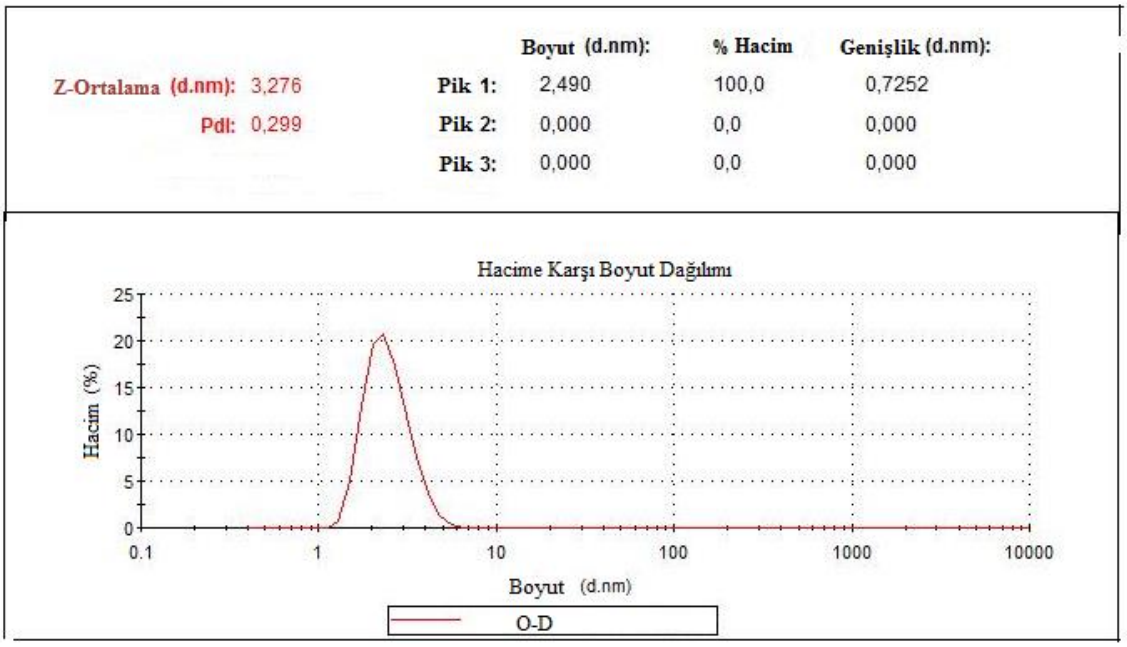
Şekil 4-14: ETD yüklü O-B formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



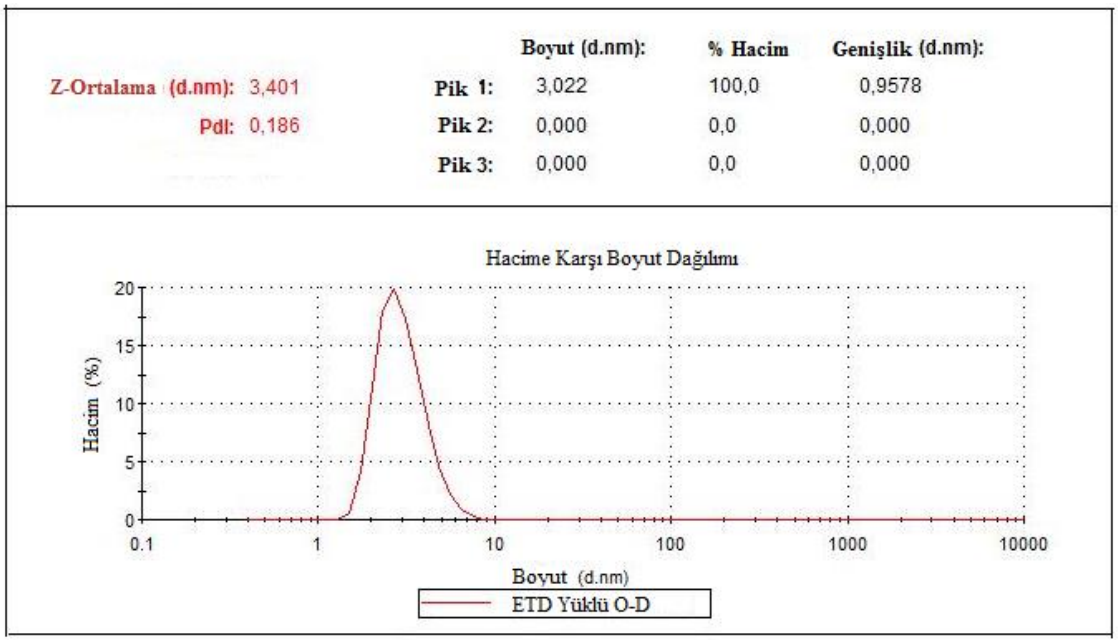
Şekil 4-15: O-C formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



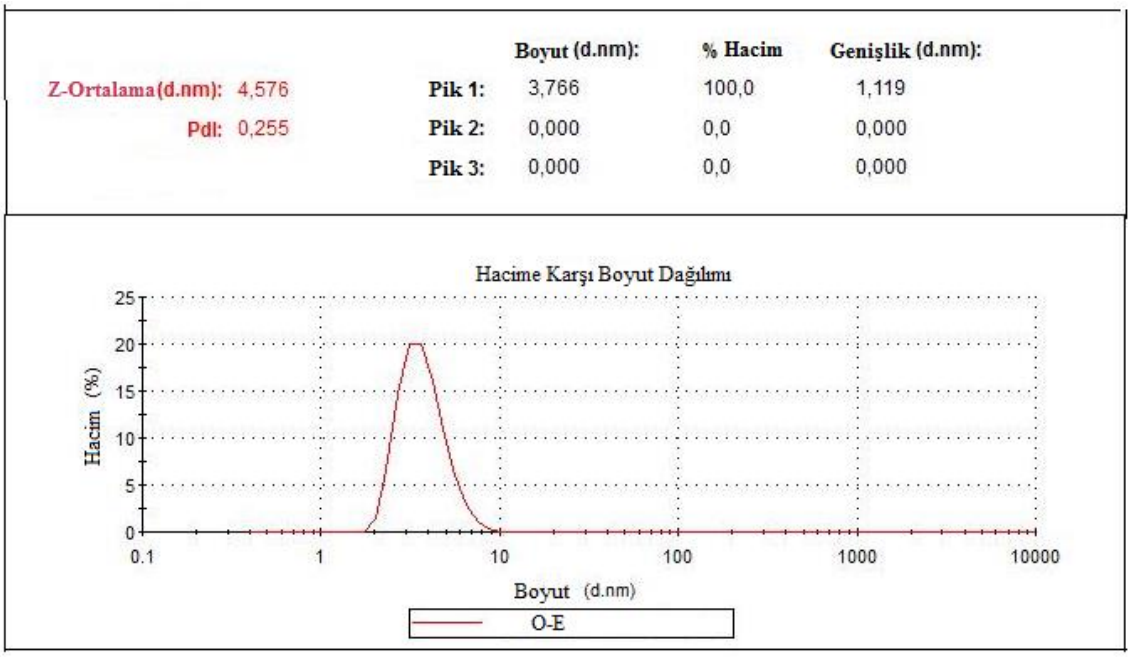
Şekil 4-16: ETD yüklü O-C formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



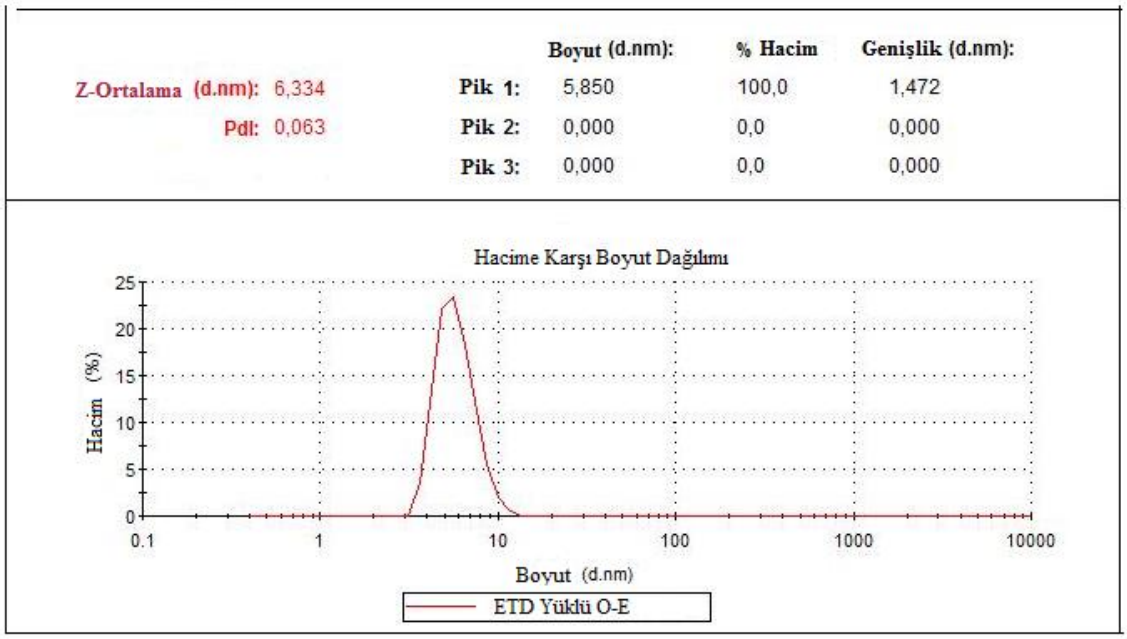
Şekil 4-17: O-D formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



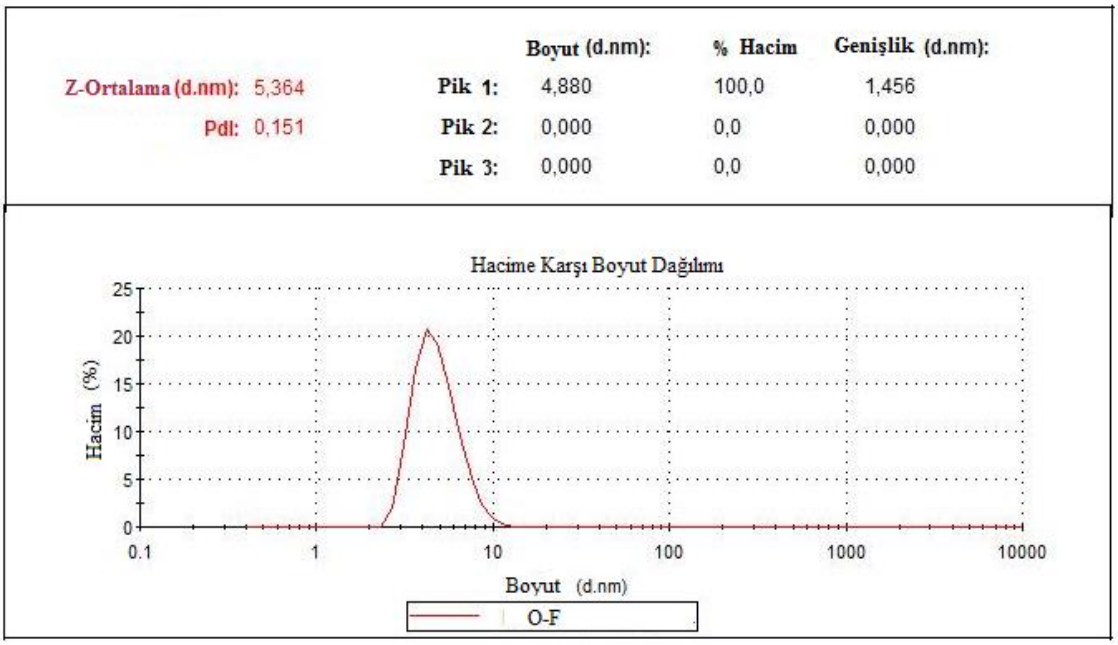
Şekil 4-18: ETD yüklü O-D formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



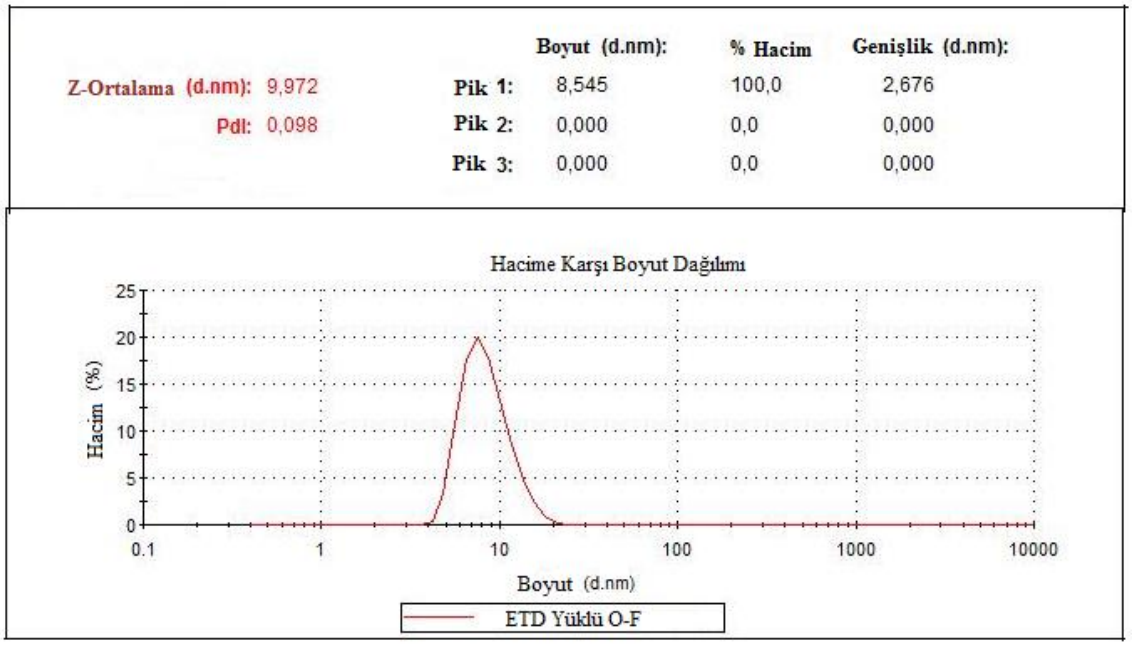
Şekil 4-19: O-E formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



Şekil 4-20: ETD yüklü O-E formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



Şekil 4-21: O-F formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi



Şekil 4-22: ETD yüklü O-F formülasyonunun damlacık boyutu ve polidispersite indeksi

Tablo 4-28: Mikroemülsiyonların polidispersite indeks değerleri

Formülasyon	Polidispersite Indeksi		
	Boş ME	**ETD Yüklü ME (Gün içerisinde)**	**ETD Yüklü ME (72 saat sonra)**
I-A	0,23±0,07	0,95±0,04	1±0
I-B	0,35±0,06	1±0	0,87(Tek ölçüm)
I-C	0,28±0,06	0,63±0,45	Ölçüm yapılmadı
I-A(%1)	0,23±0,07	1±0	Ölçüm yapılmadı
O-A	0,27±0,03	0,37±0,05	O,30±0,01
O-B	0,25±0,02	0,23±0,02	0,22±0,01
O-C	0,25±0,02	0,27±0,02	0,24±0,04
O-D	0,21±0,03	0,22±0,01	0,26±0,05
O-E	0,24±0,04	0,24±0,03	0,08±0,01
O-F	0,17±0,01	0,08±0,01	0,13±0,03

4.8.3. pH'nın değerlendirilmesi

Mikroemülsiyon formülasyonlarının pH ölçümleri Yöntem 3.2.9.4'te de anlatıldığı şekilde hem boş hem de etodolak yüklü mikroemülsiyonlar için yapılarak elde edilen değerler Tablo 4-29'da gösterilmiştir.

Tablo 4-29: Mikroemülsiyonların pH değerleri

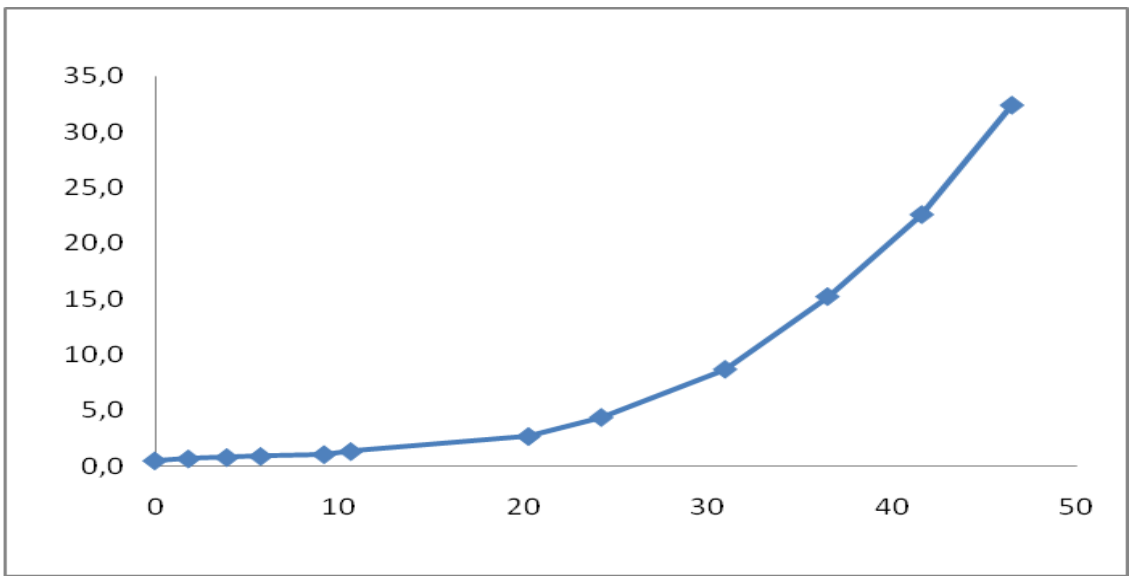
Formülasyon	pH	
	Boş Mikroemülsiyon	**ETD Yüklü Mikroemülsiyon**
O-A	4,10±0,12	3,69±0,01
O-B	4,18±0,12	3,79±0,01
O-C	4,12±0,08	3,82±0,04
O-D	4,08±0,04	3,75±0,02
O-E	4,02±0,05	3,67±0,02
O-F	3,98±0,04	3,68±0,02

4.8.4. İletkenliğin Değerlendirilmesi

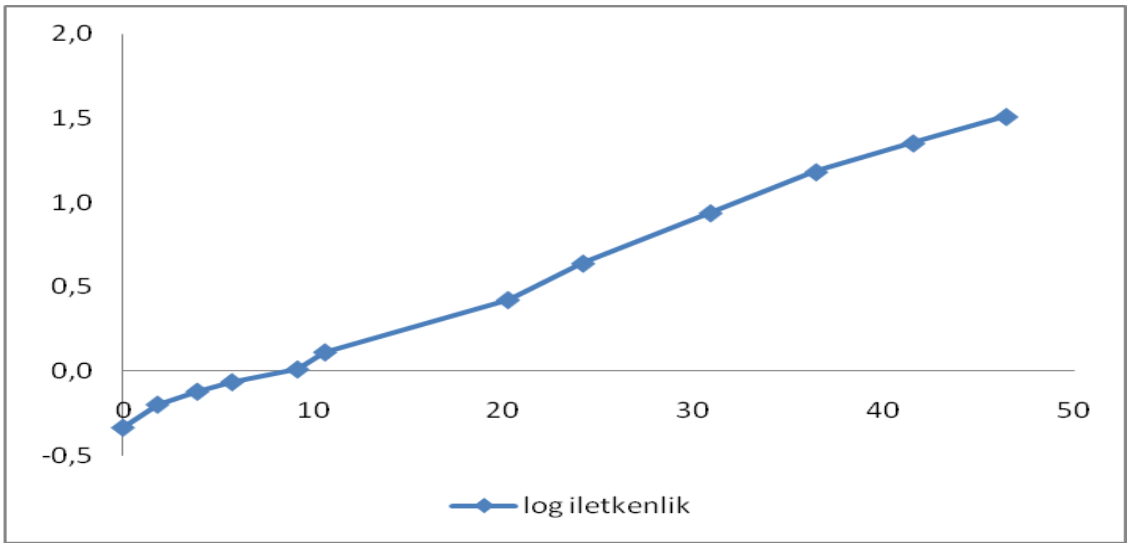
Formülasyonların elektriksel iletkenlik ölçümleri Yöntem 3.2.9.5'te anlatıldığı şekilde yapılarak elde edilen değerler Tablo 4-30'da verilmiştir. Ayrıca O-F formülasyonunun iletkenlik değeri ile sulu faz hacim fraksiyonu arasındaki bağıntı Şekil 4-23'te ve aynı çalışmaya ait su yüzdesinin logaritması alınarak çizilen ve kırılmaların daha net gözlenebilmesini sağlayan yarı logaritmik grafik, Şekil 4-24'te gösterilmiştir. Ayrıca kırılmaların daha net gösterilebilmesi için Şekil 4-24'ten alınmış bir kesite ait grafik Şekil 4-25'te yer almaktadır.

Tablo 4-30: Mikroemülsiyonların iletkenlik değerleri

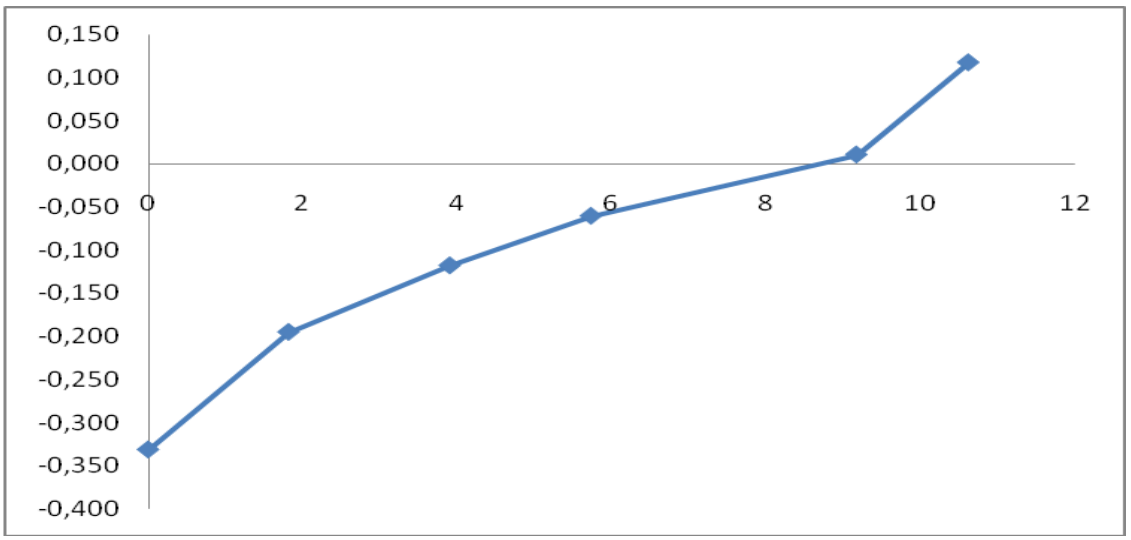
Formülasyon	İletkenlik (µS)	
	Boş Mikroemülsiyon	**ETD Yüklü Mikroemülsiyon**
O-A	1,54±0,04	1,72±0,02
O-B	10,06±0,03	11,81±0,09
O-C	3±0,07	3,03±0,05
O-D	3,60±0,04	3,98±0,05
O-E	4,8±0,1	5,70±0,20
O-F	18,17±0,2	21,03±0,04



Şekil 4-23: Elektirksel iletkenliğe karşı su yüzdesi



Şekil 4-24: Elektriksel iletkenliğin logaritmasına karşı su yüzdesi (%0-46 arası)



Şekil 4-25: Elektriksel iletkenliğin logaritmasına karşı su yüzdesi (%0-10,6 arası)

4.8.5. Reolojik Özelliklerin Değerlendirilmesi

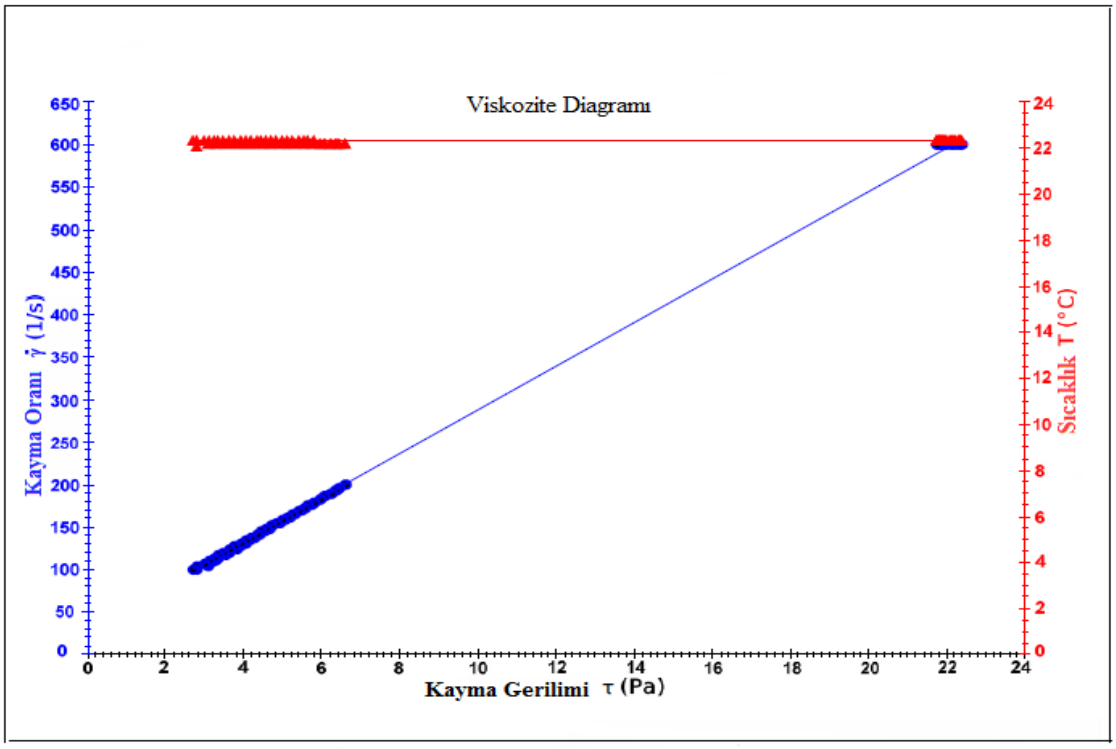
Formülasyonların reolojik ölçümleri Yöntem 3.2.9.6'da anlatıldığı şekilde yapıldı. 0-200 1/s kayma oranı aralığında ve 600 sabit kayma oranında analiz edilen mikroemülsiyonlara ait reolojik parametreler ve değerleri sırasıyla Tablo 4-31'de ve Tablo 4-32'de gösterilmiştir. Her bir formülasyona ait Şekil 4-26 ve Şekil 4-31 aralığında gösterilen akış diyagramlarına göre tüm formülasyonlar kayma gerilimi ve kayma oranının orantılı olduğu, newtonian akış göstermiştir.

Tablo 4-31: Etodolak yüklü mikroemülsiyonların akış özellikleri (değişken kayma oranı)

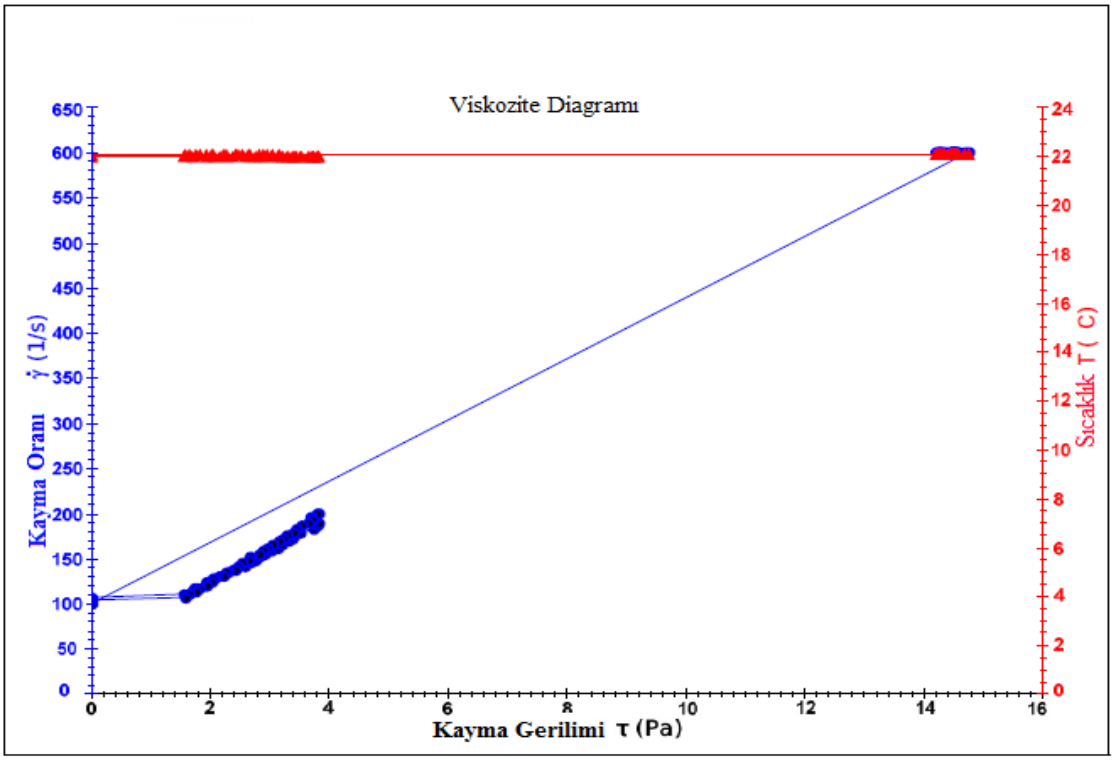
Formülasyon	Viskozite(mPa.s)	Kayma Gerilimi(Pa)	Kayma Oranı(1/s)	Sıcaklık(ºC)
O-A	27,7-33,0	2,767-6,602	100-200	22,2±0,10
O-B	0-19,1	0-3,829	100-200	22,05±0,05
O-C	21,6-27,8	2,164-5,560	100-200	21,9±0,10
O-D	0-22,0	0-4,399	100-200	21,6±0,10
O-E	16,2-21,5	1,617-4,303	100-200	21,3±0,10
O-F	0-19,4	0-3,889	100-200	20,75±0,05

Tablo 4-32: Etodolak yüklü mikroemülsiyonların akış özellikleri (sabit kayma oranı)

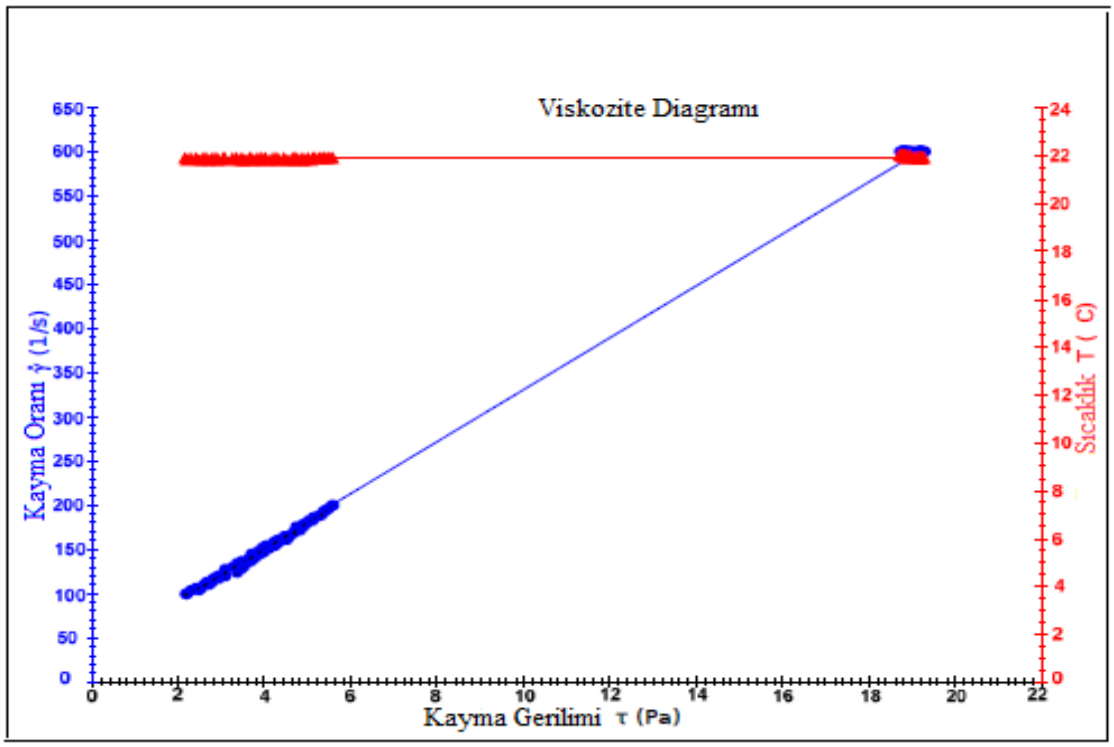
Formülasyon	Viskozite(mPa.s)	Kayma Gerilimi(Pa)	Kayma Oranı(1/s)	Sıcaklık(ºC)
O-A	36,2-37,0	21,736-22,200	600	22,3
O-B	23,8-24,6	14,267-14,754	600	22,±0,1
O-C	31,3-32,0	19,201-18,791	600	21,9±0,1
O-D	24,7-25,2	14,809-15,124	600	21,7
O-E	25,6-25,2	15,347-15,502	600	21,4
O-F	22,3-23,2	13,404-13,923	600	20,8



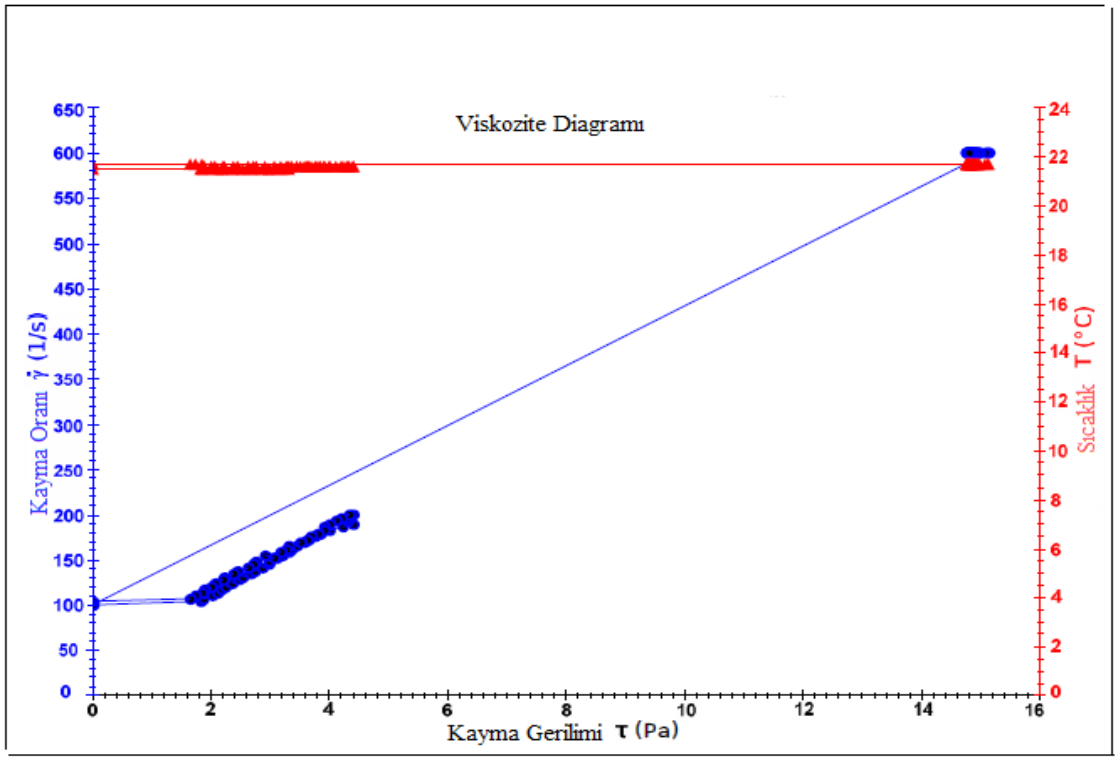
Şekil 4-26: O-A formülasyonuna ait akış özellikleri



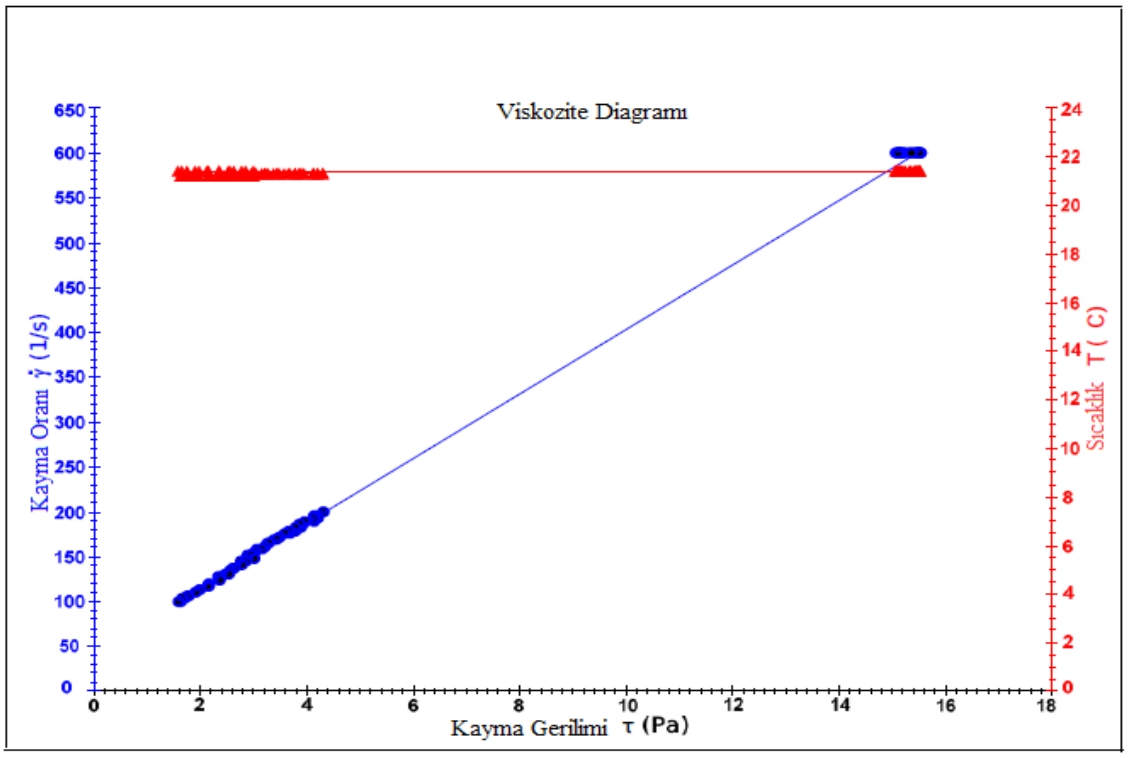
Şekil 4-27: O-B formülasyonuna ait akış özellikleri



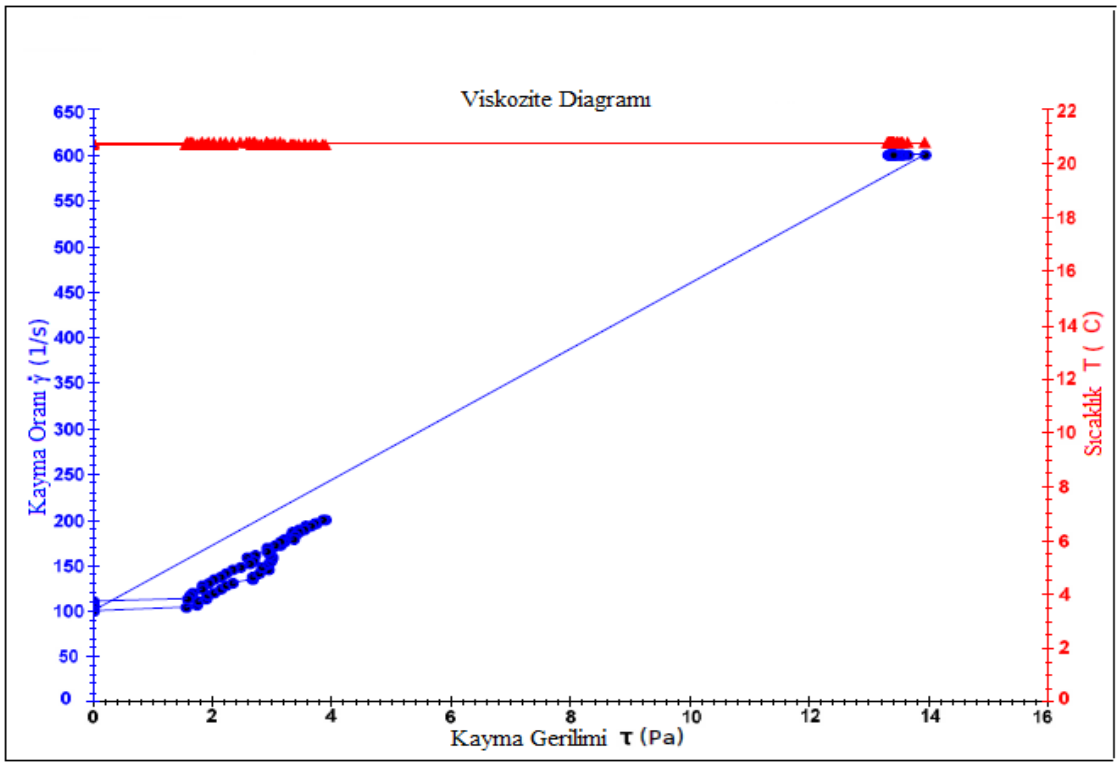
Şekil 4-28: O-C formülasyonuna ait akış özellikleri



Şekil 4-29: O-D formülasyonuna ait akış özellikleri



Şekil 4-30: O-E formülasyonuna ait akış özellikleri



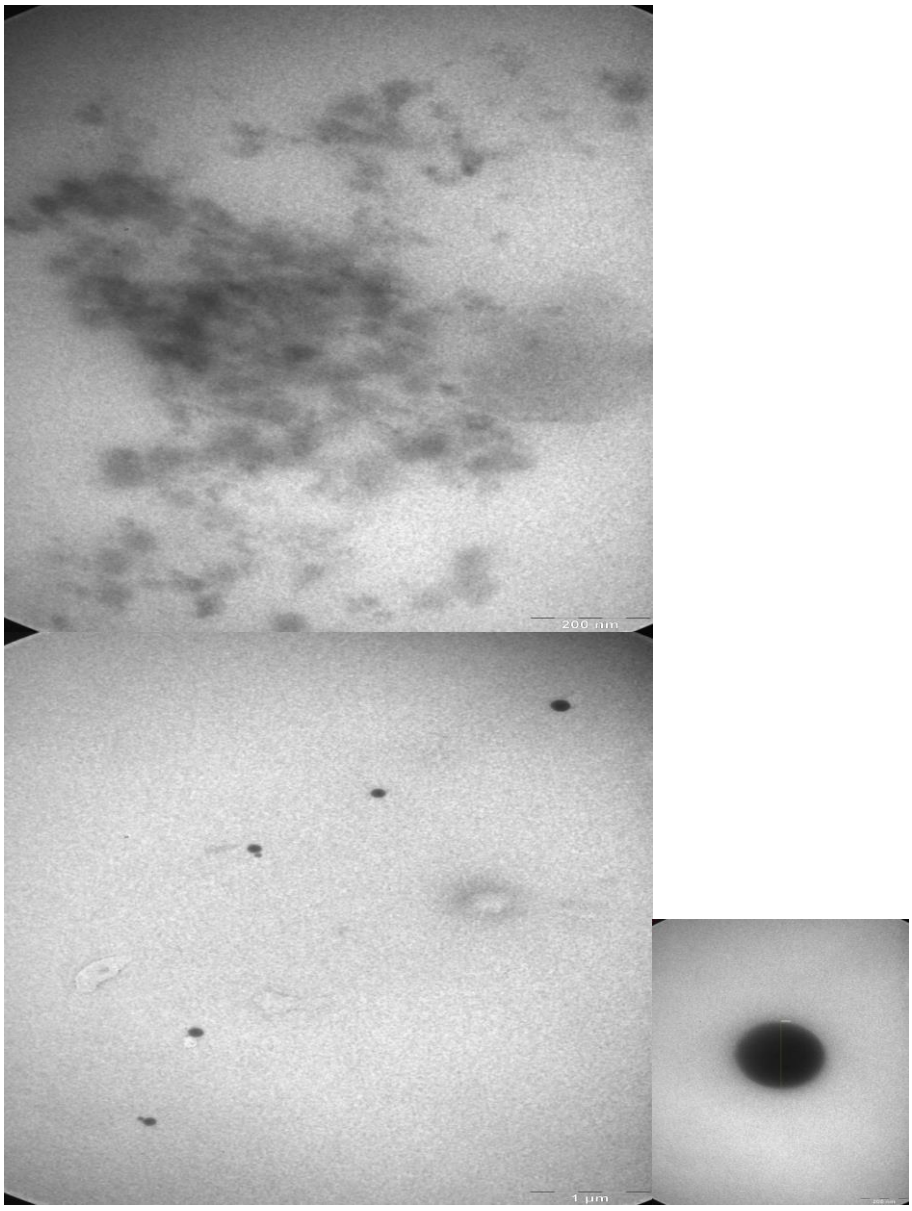
Şekil 4-31: O-F formülasyonuna ait akış özellikleri

4.8.6. Optik İzotropinin Değerlendirilmesi

Yöntem 3.2.9.7'de anlatıldığı şekilde yapılan optik izotropi çalışmalarında polarize ışık mikroskobu görüntülerine göre formülasyonlar karanlık görünümdedir yani optik açıdan izotropiktir.

4.8.7. Mikroemülsiyonların cryo-TEM Görüntüleri

Yöntem 3.2.9.8'de anlatıldığı şekilde yapılan cryo-TEM çalışması sonucu elde edilen görüntüler Şekil 4-32'de gösterilmiştir.



Şekil 4-32: Formülasyonlara ait TEM görüntüsü

4.8.8. Stabilitenin Değerlendirilmesi

Yöntem 3.2.9.9'da anlatıldığı şekilde yapılan stabilite çalışmasına göre mikroemülsiyon formülasyonlarının 1 ve 3 ay sonunda damlacık boyutlarındaki değişim tablo 4-33'te gösterilmiştir. 3 ay oda sıcaklığında muhafaza edildikte sonra santrifüjlenen formülasyonlarda faz ayrımı gözlenmedi. 1 ay sonunda neredeyse bütün formülasyonlar kararlı yapılarını korurken 3 ay sonunda bazı formülasyonların damlacık boyutlarının büyüdüğü tespit edildi. O-A, O-C ve O-D formülasyonları 3'üncü ayın sonunda kararlı değillerdir.

Tablo 4-33: Stabilite testine göre formülasyonların damlacık boyutu

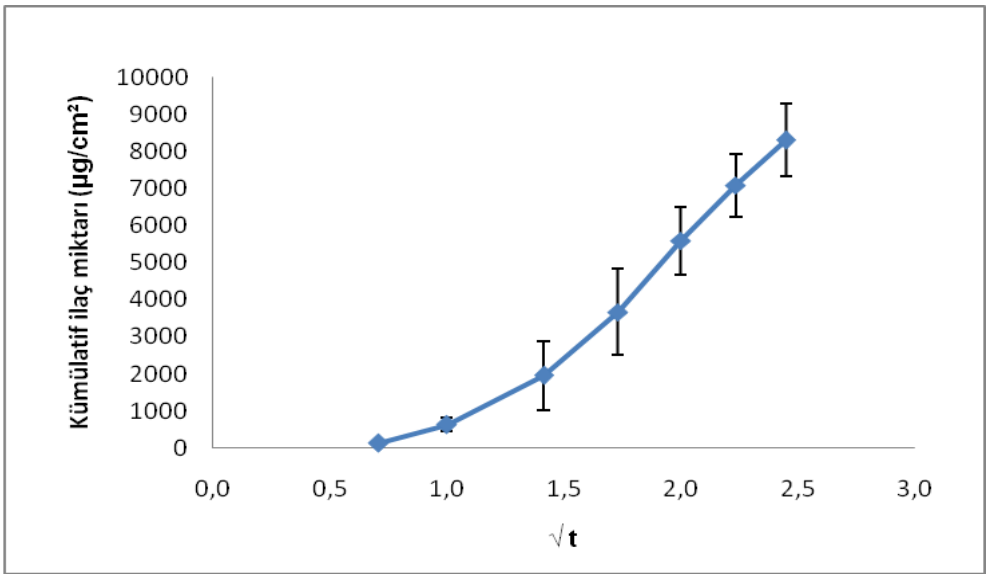
Formülasyon	1 Ay	3 Ay
O-A	5,19±1,06	23,48±3,09
O-B	5,10±0,09	5,12±0,07
O-C	4,36±0,30	7,31±3,87
O-D	3,59±0,23	455,40±236,71
O-E	6,07±0,12	6,34±0,17
O-F	12,09±0,03	12,96±0,01

4.9. *In vitro* Salım Çalışması

Yöntem 3.2.10'da anlatıldığı şekilde membran (0,22µm GSWP Type) kullanılarak *in vitro* salımı izlendi (Şekil 4-33 - Şekil 4-41) . Salım profilleri Higuchi kinetik modeline göre değerlendirildi. Herbir formülasyona ait veriler hesaplandı ve farklı tablolarda ardarda gösterildi (Tablo 4-43). √t 'ye karşı zaman grafikleri çizildi.

Tablo 4-34: I-A mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)

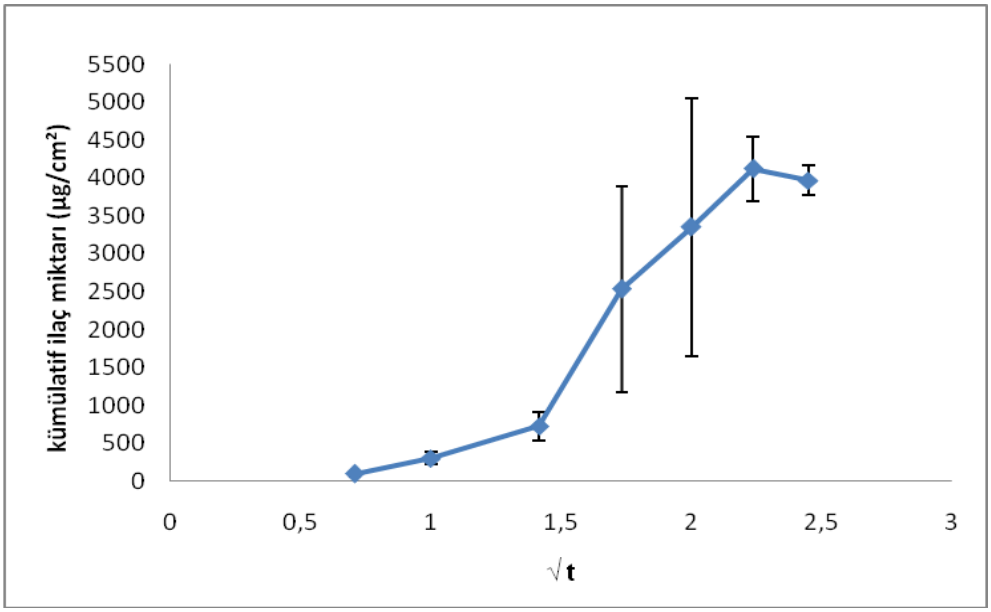
Saat	Ortalama	SD (±)
0,5	134,00	43,71
1	631,67	191,89
2	1948,00	923,33
3	3672,33	1162,92
4	5591,00	923,39
5	7084,67	853,37
6	8307,33	985,46



Şekil 4-33: Etodolak'ın I-A mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili

Tablo 4-35: I-B mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)

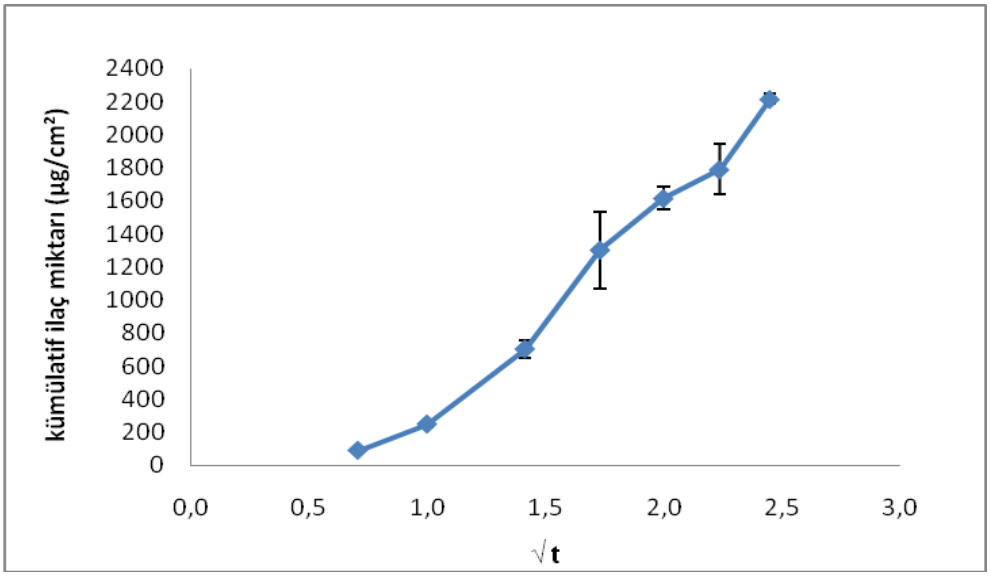
Saat	Ortalama	SD (±)
0,5	94,00	29,61
1	305,67	86,00
2	727,33	187,89
3	2533,33	1358,22
4	3350,00	1701,48
5	4123,67	423,50
6	3968,67	199,14



Şekil 4-34: Etodolak'ın I-B mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili

Tablo 4-36: I-C mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)

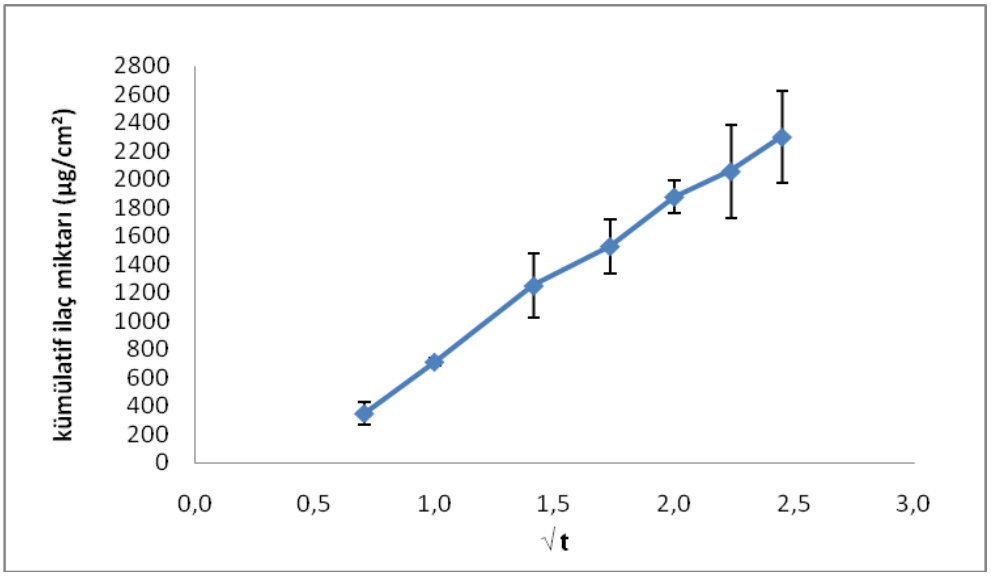
Saat	Ortalama	SD (±)
0,5	88,00	2,00
1	247,33	15,63
2	702,67	54,37
3	1302,00	234,78
4	1615,00	69,29
5	1789,00	152,42
6	2216,00	31,18



Şekil 4-35: Etodolak'ın I-C mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili

Tablo 4-37: O-A mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)

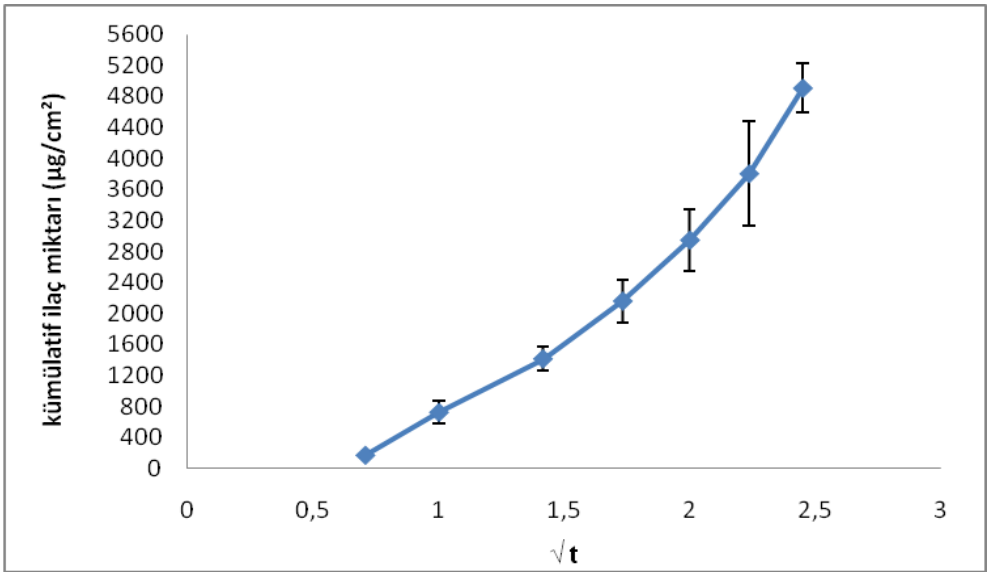
Saat	Ortalama	SD (±)
0,5	347,33	77,82
1	711,50	23,33
2	1249,33	225,70
3	1528,00	192,63
4	1877,67	114,15
5	2058,00	329,03
6	2300,33	325,93



Şekil 4-36: Etodolak'ın O-A mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili

Tablo 4-38: O-B mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)

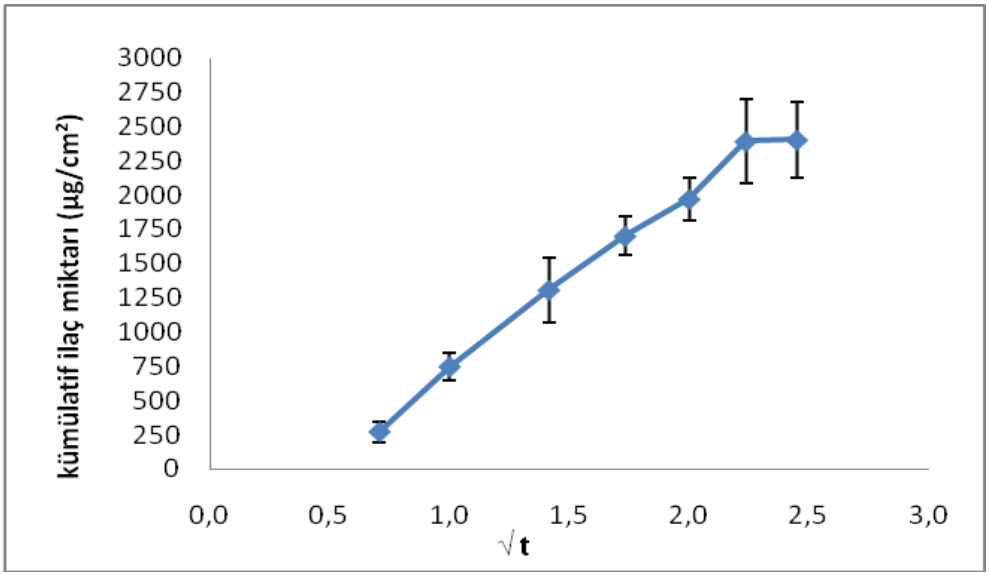
Saat	Ortalama	SD (±)
0,5	172,00	24,06
1	726,00	148,01
2	1416,33	152,43
3	2161,00	273,30
4	2947,00	397,12
5	3804,00	669,69
6	4906,67	316,44



Şekil 4-37: Etodolak'ın O-B mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili (µg/cm²)

Tablo 4-39: O-C mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)

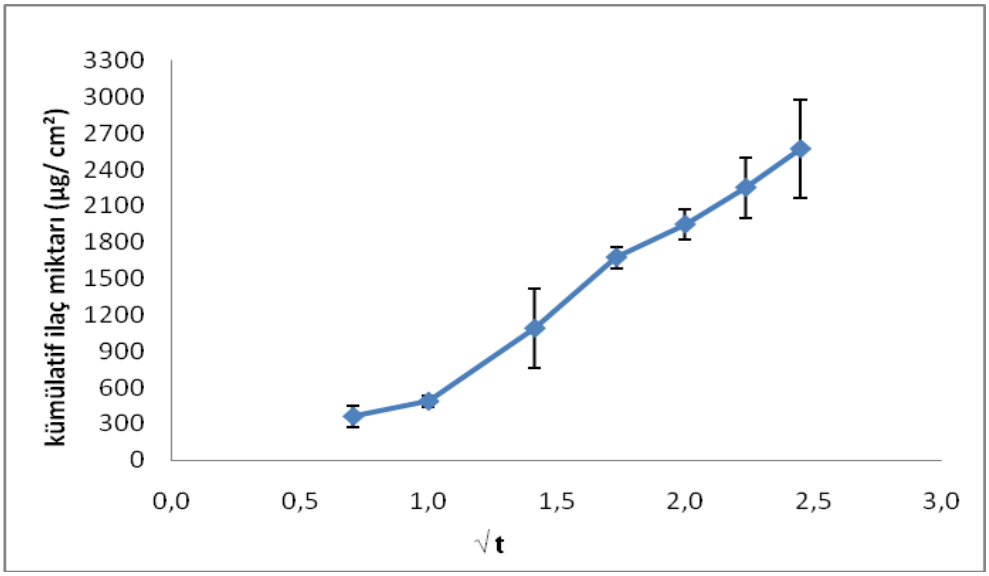
Saat	Ortalama	SD (±)
0,5	271,33	74,27
1	746,67	96,04
2	1306,33	237,59
3	1700,00	139,15
4	1969,67	152,51
5	2392,50	307,07
6	2403,00	279,73



Şekil 4-38: Etodolak'ın O-C mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili (µg/cm²)

Tablo 4-40: O-D mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)

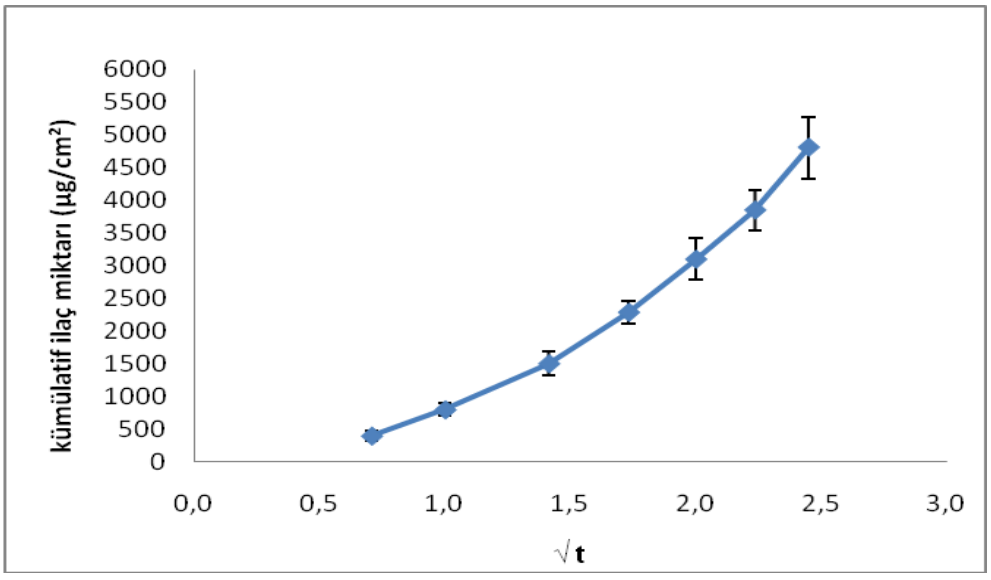
Saat	Ortalama	SD (±)
0,5	360,33	89,91
1	484,33	48,50
2	1088,00	329,31
3	1675,00	87,50
4	1947,67	123,70
5	2252,00	250,28
6	2571,33	406,33



Şekil 4-39: Etodolak'ın O-D mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili (µg/cm²)

Tablo 4-41: O-E mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)

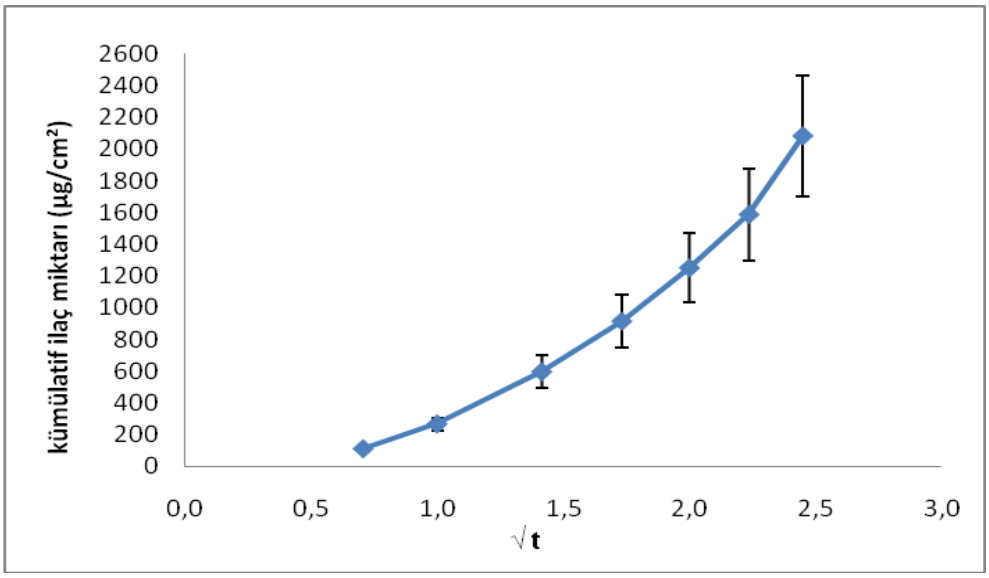
Saat	Ortalama	SD (±)
0,5	395,33	78,68
1	796,00	98,53
2	1500,33	187,36
3	2284,67	177,59
4	3094,67	316,72
5	3846,33	308,69
6	4804,00	472,85



Şekil 4-40: Etodolak'ın O-E mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili (µg/cm²)

Tablo 4-42: O-F mikroemülsiyonundan etodolak'ın sentetik membrandan *in vitro* zamana karşı salınan kümülatif miktarları (µg/cm²)

Saat	Ortalama	SD (±)
0,5	110,00	11,14
1	266,00	39,40
2	595,33	103,03
3	914,00	166,32
4	1250,00	218,24
5	1586,67	288,19
6	2082,67	381,60



Şekil 4-41: Etodolak'ın O-F mikroemülsiyonundan Higuchi kinetik modeline göre salım profili (µg/cm²)

Tablo 4-43: Etdolak'ın sentetik membrandan *in vitro* Higuchi kinetik modeline göre salım profillerine ait determinasyon katsayıları ve doğru denklemleri

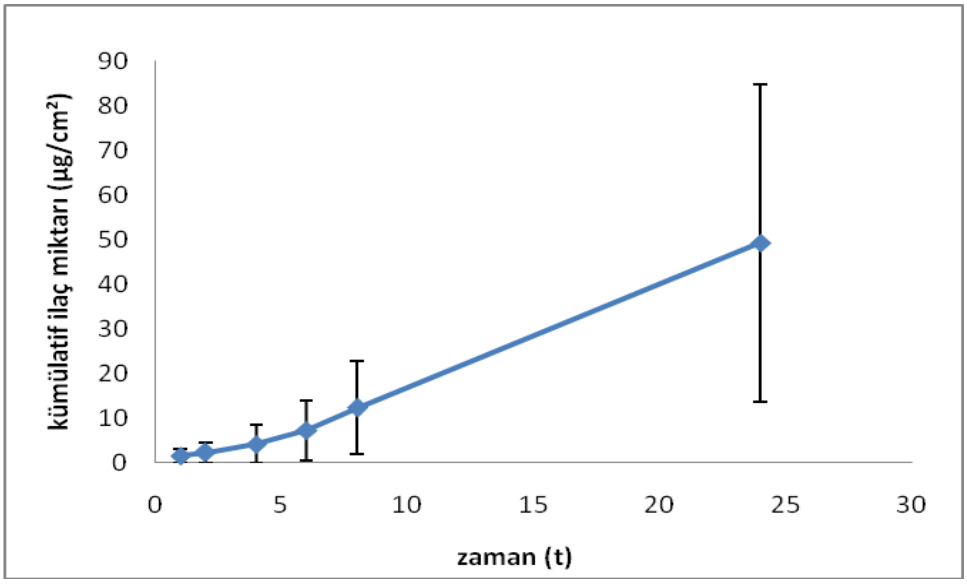
Formülasyon	r^2	Doğru denklemi
I-A	0,9656	y=4880,5x-4135,3
I-B	0,9341	y=2636,2x-2188
I-C	0,9846	y=1248,6x-921,1
O-A	0,9963	y=1113,0x-395,8
O-B	0,9616	y=2589,1x-1963,2
O-C	0,9879	y=1258,6x-533,3
O-D	0,9889	y=1331,2x-711,7
O-E	0,9671	y=2480,1x-1699,4
O-F	0,9571	y=1089,6x-824,1

4.10. *İn vitro* Permeasyon Çalışması

Deri ile *in vitro* permeasyon çalışması bölüm 3.2.11'de anlatıldığı şekilde yapıldı. Bu çalışmada pasif difüzyon ile geçiş yapan mikroemülsiyon formülasyonları Fick'in birinci kanununa göre davranış gösterir. Herbir formülasyona ait veriler hesaplandı ve farklı tablolarda ve şekillerde ardarda gösterildi. Grafiklerde yer alan eğrinin x eksenini kestiği nokta gecikme zamanını , eğimi ise ilaç akısını verir. Herbir formülasyonun gecikme zamanları ve ilaç akısı hesaplandı. Ayrıca Denklem 3-4 kullanılarak mikroemülsiyon formülasyonlarının ilaç akısı ve başlangıç ilaç konsantrasyonundan, permeasyon katsayısı hesaplandı.

Tablo 4-44: O-A mikroemülsiyonundan etodolak'ın domuz derisinden *in vitro* zamana karşı geçen kümülatif miktarları (µg/cm²)

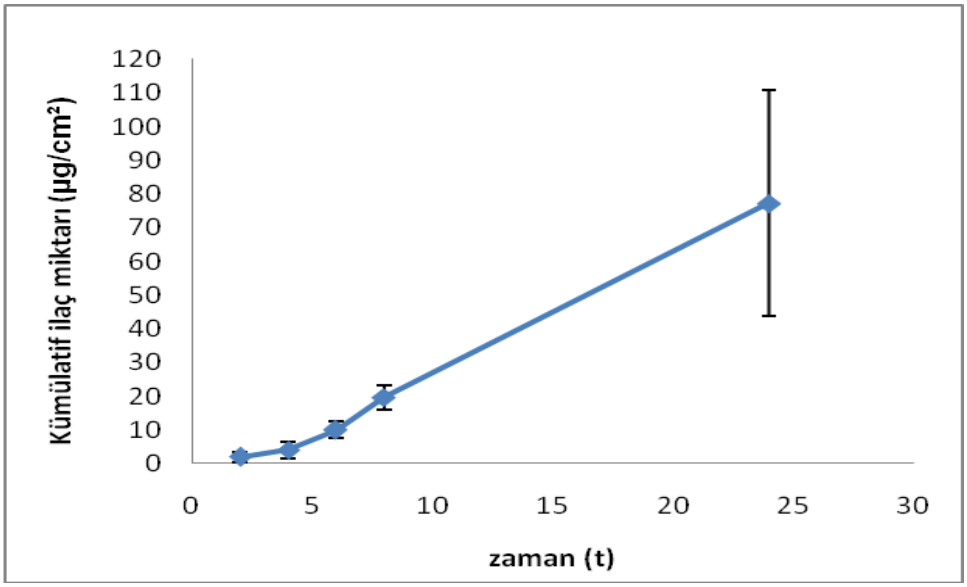
Saat	Ortalama	SD (±)
1	1,61	1,50
2	2,30	2,24
4	4,23	4,24
6	7,33	6,73
8	12,30	10,43
24	49,31	35,56



Şekil 4-42: Etodolak'ın O-A mikroemülsiyonundan Fick'in birinci yasasına göre permeasyon profili (µg/cm²)

Tablo 4-45: O-B mikroemülsiyonundan etodolak'ın domuz derisinden *in vitro* zamana karşı geçen kümülatif miktarları (µg/cm²)

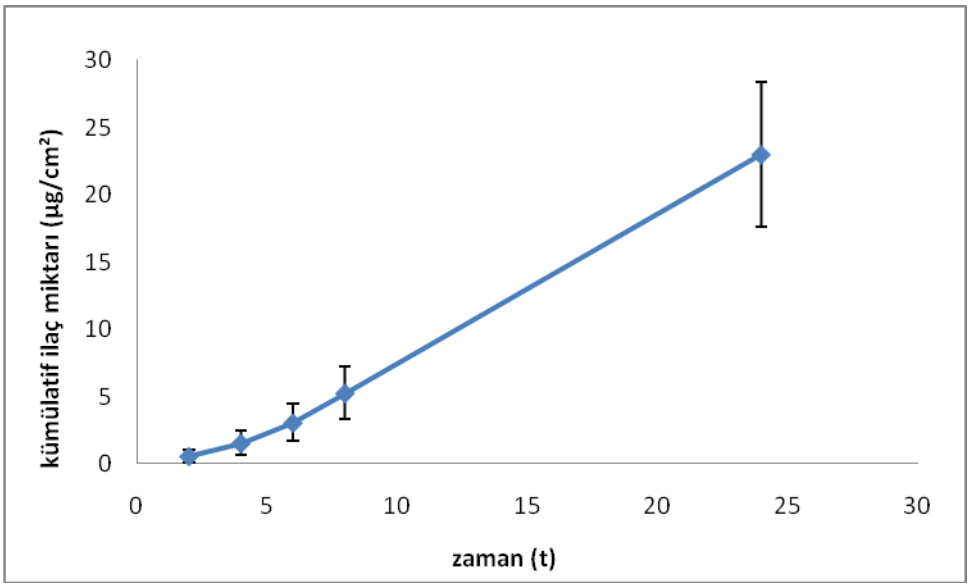
Saat	Ortalama	SD (±)
1	-	-
2	1,93	1,61
4	4,09	2,49
6	10,01	2,51
8	19,71	3,64
24	77,26	33,58



Şekil 4-43: Etodolak'ın O-B mikroemülsiyonundan Fick'in birinci yasasına göre permeasyon profili (µg/cm²)

Tablo 4-46: O-C mikroemülsiyonundan etodolak'ın domuz derisinden *in vitro* zamana karşı geçen kümülatif miktarları (µg/cm²)

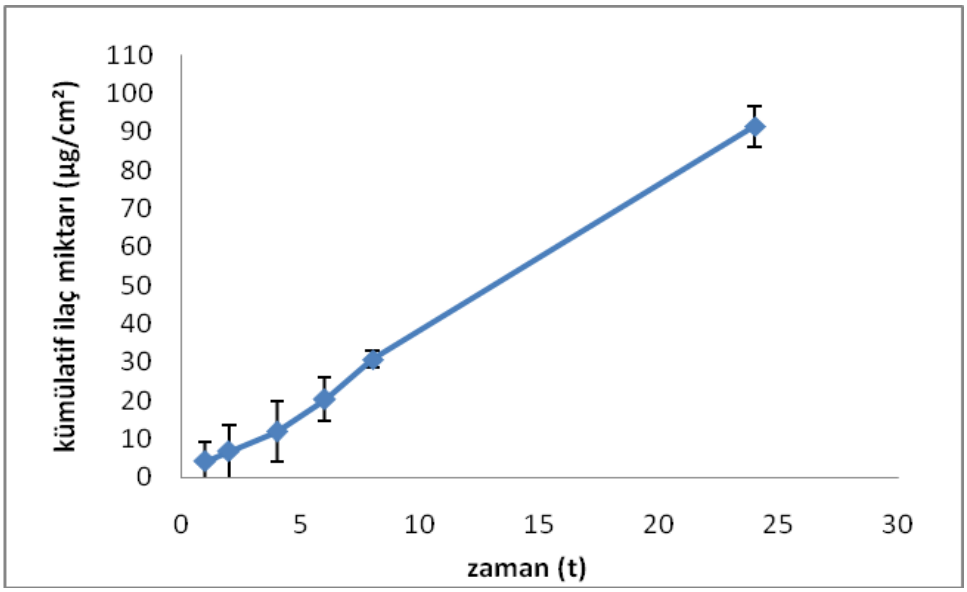
Saat	Ortalama	SD (±)
1	-	-
2	0,58	0,50
4	1,54	0,93
6	3,06	1,36
8	5,27	1,99
24	23,00	5,38



Şekil 4-44: Etodolak'ın O-C mikroemülsiyonundan Fick'in birinci yasasına göre permeasyon profili (µg/cm²)

Tablo 4-47: O-D mikroemülsiyonundan etodolak'ın domuz derisinden *in vitro* zamana karşı geçen kümülatif miktarları (µg/cm²)

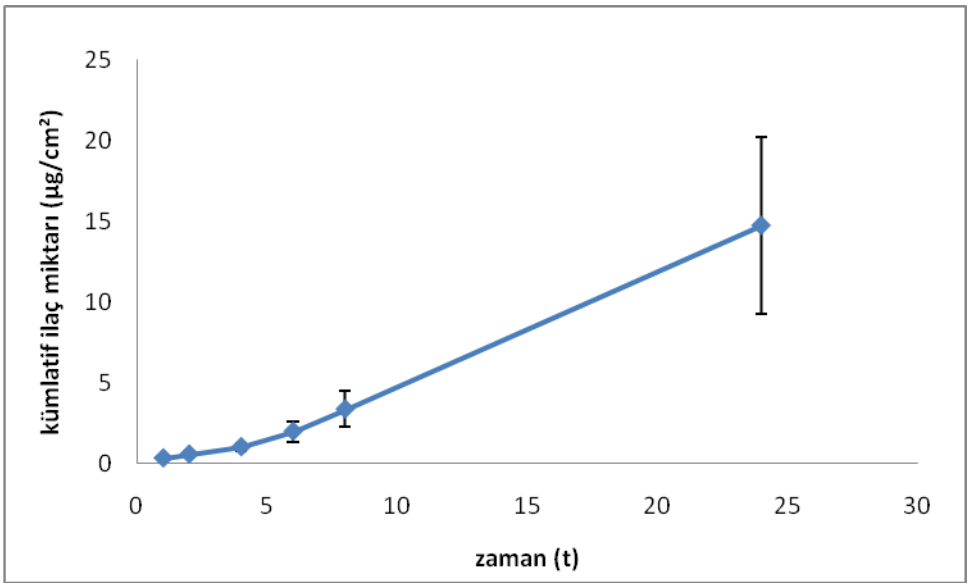
Saat	Ortalama	SD (±)
1	4,10	4,94
2	6,69	7,09
4	11,92	7,91
6	20,36	5,55
8	30,73	2,24
24	91,52	5,26



Şekil 4-45: Etodolak'ın O-D mikroemülsiyonundan Fick'in birinci yasasına göre permeasyon profili (µg/cm²)

Tablo 4-48: O-E mikroemülsiyonundan etodolak'ın domuz derisinden *in vitro* zamana karşı geçen kümülatif miktarları (µg/cm²)

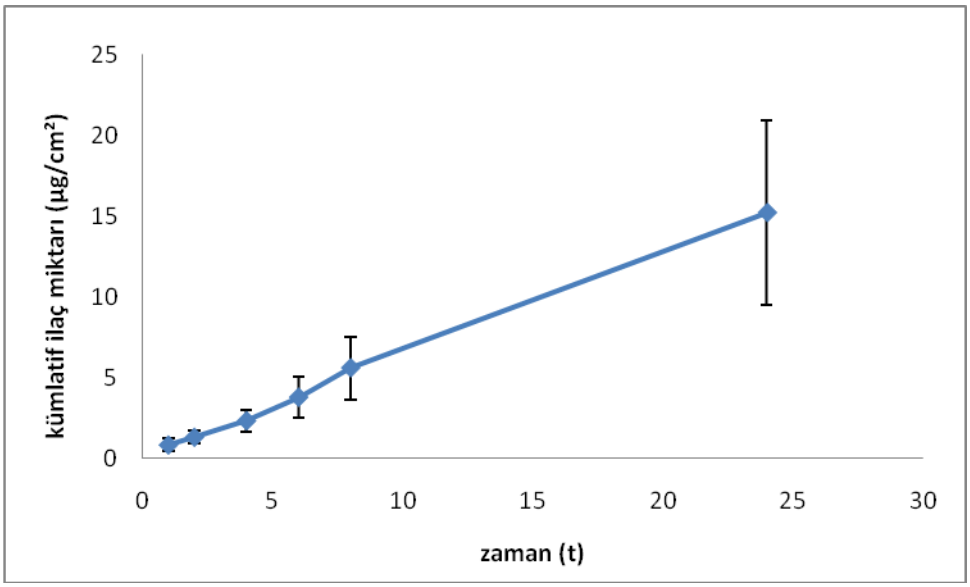
Saat	Ortalama	SD (±)
1	0,34	0,07
2	0,58	0,14
4	1,04	0,26
6	2,00	0,64
8	3,38	1,11
24	14,78	5,47



Şekil 4-46: Etodolak'ın O-E mikroemülsiyonundan Fick'in birinci yasasına göre permeasyon profili (µg/cm²)

Tablo 4-49: O-F mikroemülsiyonundan etodolak'ın domuz derisinden *in vitro* zamana karşı geçen kümülatif miktarları (µg/cm²)

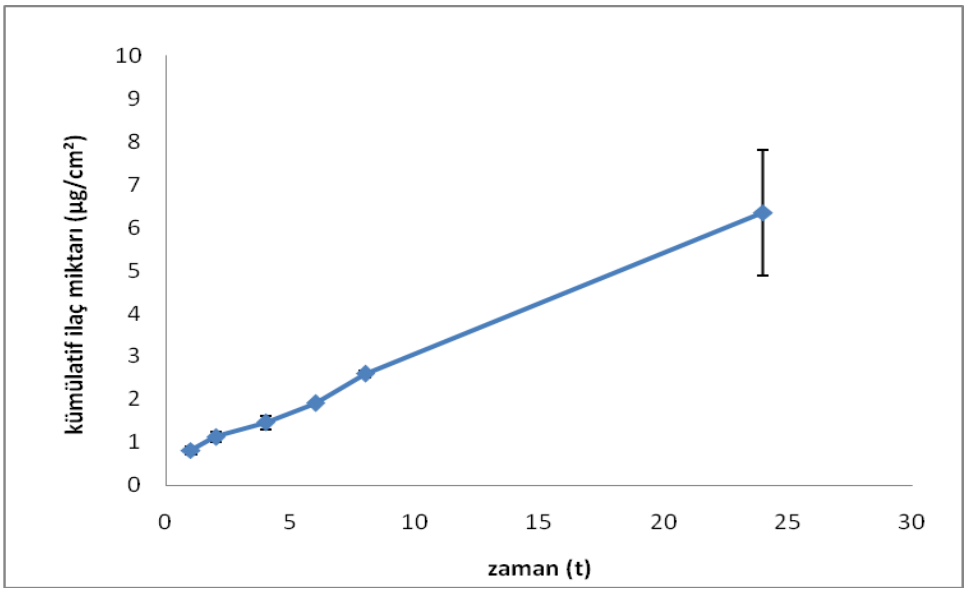
Saat	Ortalama	SD (±)
1	0,84	0,41
2	1,31	0,39
4	2,33	0,68
6	3,79	1,24
8	5,61	1,94
24	15,20	5,72



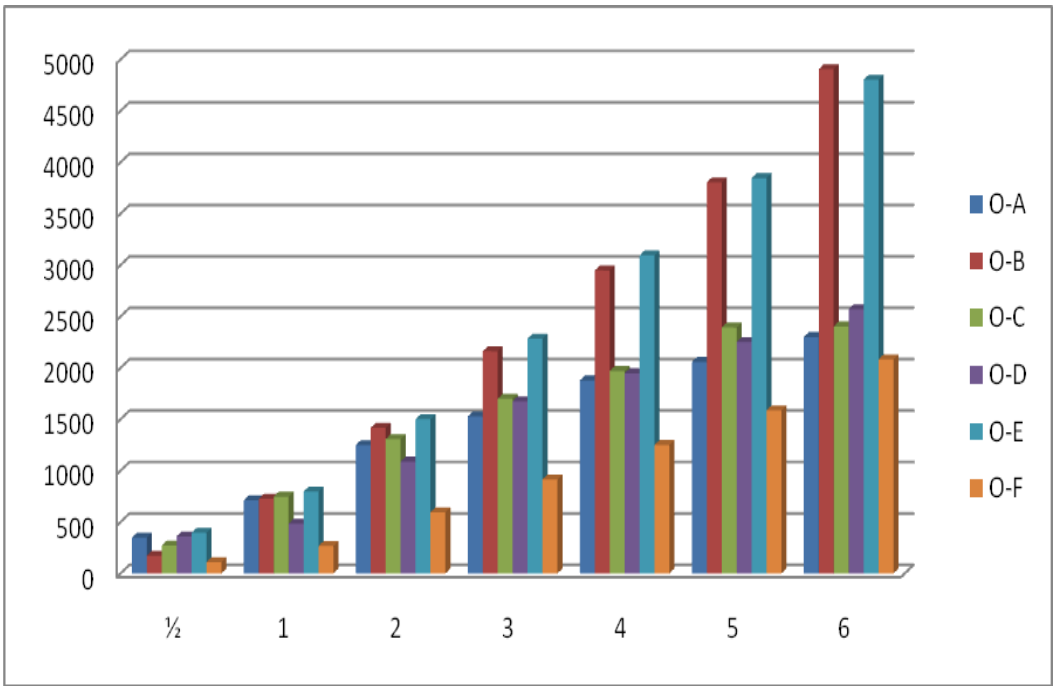
Şekil 4-47: Etodolak'ın O-F mikroemülsiyonundan Fick'in birinci yasasına göre permeasyon profili (µg/cm²)

Tablo 4-50: O-Kontrol formülasyonundan etodolak'ın domuz derisinden *in vitro* zamana karşı geçen kümülatif miktarları (µg/cm²)

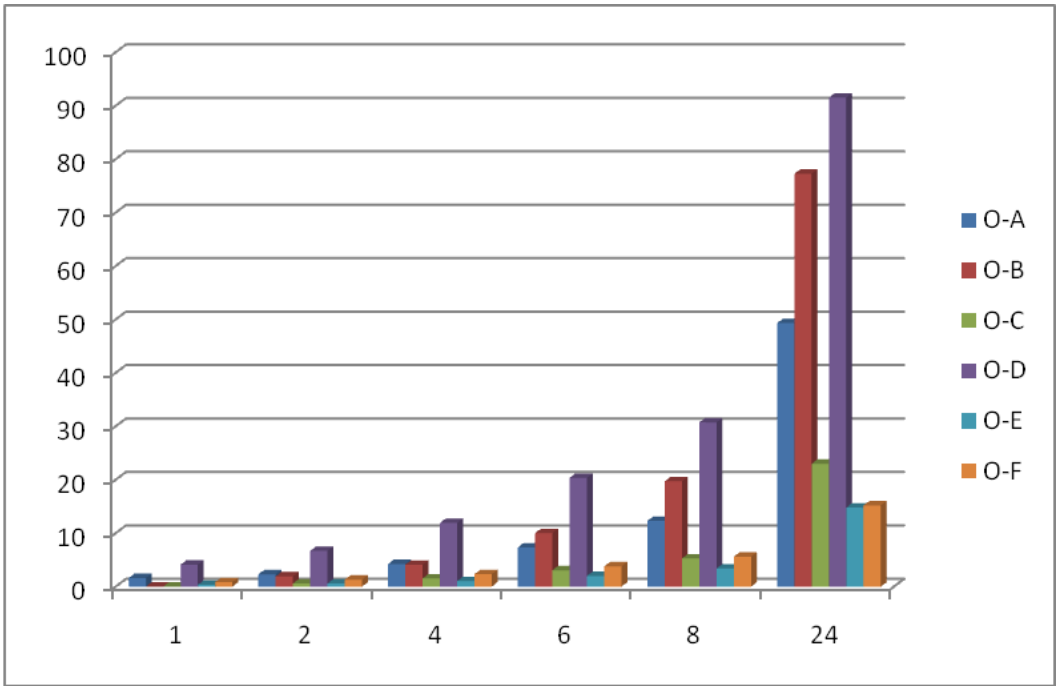
Saat	Ortalama	SD (±)
1	0,82	0,09
2	1,12	0,12
4	1,46	0,16
6	1,91	0,04
8	2,59	0,07
24	6,35	1,46



Şekil 4-48: Etodolak'ın O-Kontrol formülasyonundan Fick'in birinci yasasına göre permeasyon profili (µg/cm²)



Şekil 4-49: Etodolak'ın mikroemülsiyon formülasyonlarından Higuchi kinetik modeline göre salım profili (µg/cm²)



Şekil 4-50: Etodolak'ın mikroemülsiyon formülasyonlarından Fick'in birinci yasasına göre permeasyon profili (µg/cm²)

Tablo 4-51: Etdolak'ın domuz derisinden *in vitro* Fick'in birinci yasasına modeline permeasyon profillerine ait determinasyon katsayıları ve doğru denklemleri

Formülasyon	r^2	Doğru denklemi
O-A	0,9885	y=2,14x-3,24
O-B	0,9945	y=3,56x-8,69
O-C	0,9942	y=1,05x-2,59
O-D	0,9880	y=3,87x-1,44
O-E	0,9859	y=0,65x-1,19
O-F	0,9977	y=0,63x+0,11
O-Kontrol	0,9986	y=0,24x+0,57

Zamana karşı kümülatif miktarlarının grafikleri çizildi. Aynı zamanda permeasyon katsayısı gibi parametreler sıfırıncı derece salım kinetiği ile Denklem 3-4'e göre hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Tablo 4-52'de gösterilmiştir.

Tablo 4-52: Mikroemülsiyon formlasyonlarının akı, K_p, gecikme süresi değerleri

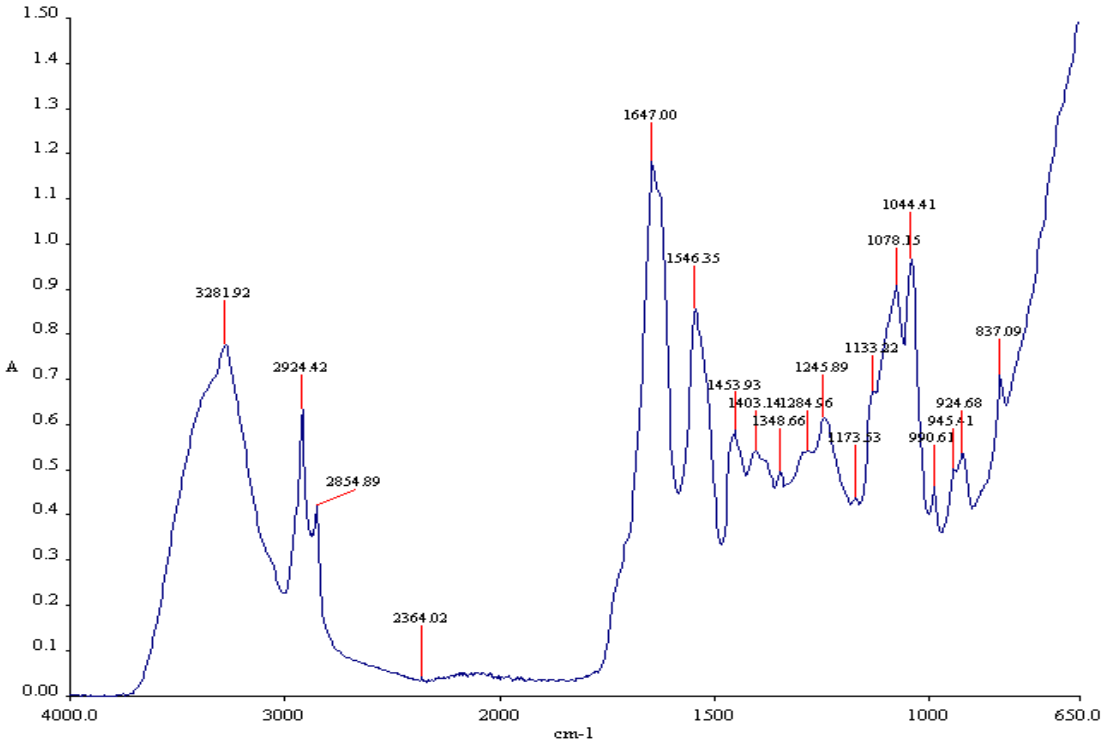
Formülasyon	Akı (µg/cm²/sa)		$K_p x10^3$ (cm/sa)		Gecikme Süresi (t)	
	Ortalama	**SD**	**Ortalama**	**SD**	**Ortalama**	**SD**
O-A	2,29	1,60	0,46	0,32	2,66	0,99
O-B	3,67	1,87	0,73	0,37	2,42	1,58
O-C	1,09	0,22	0,22	0,04	3,06	0,83
O-D	3,94	0,61	0,79	0,12	0,53	2,20
O-E	0,70	0,27	0,14	0,05	2,87	0,21
O-F	0,63	0,25	0,13	0,05	-0,34	0,91
O-Kontrol	0,24	0,07	0,24	0,07	-2,70	2,28

4.11. ATR-FTIR

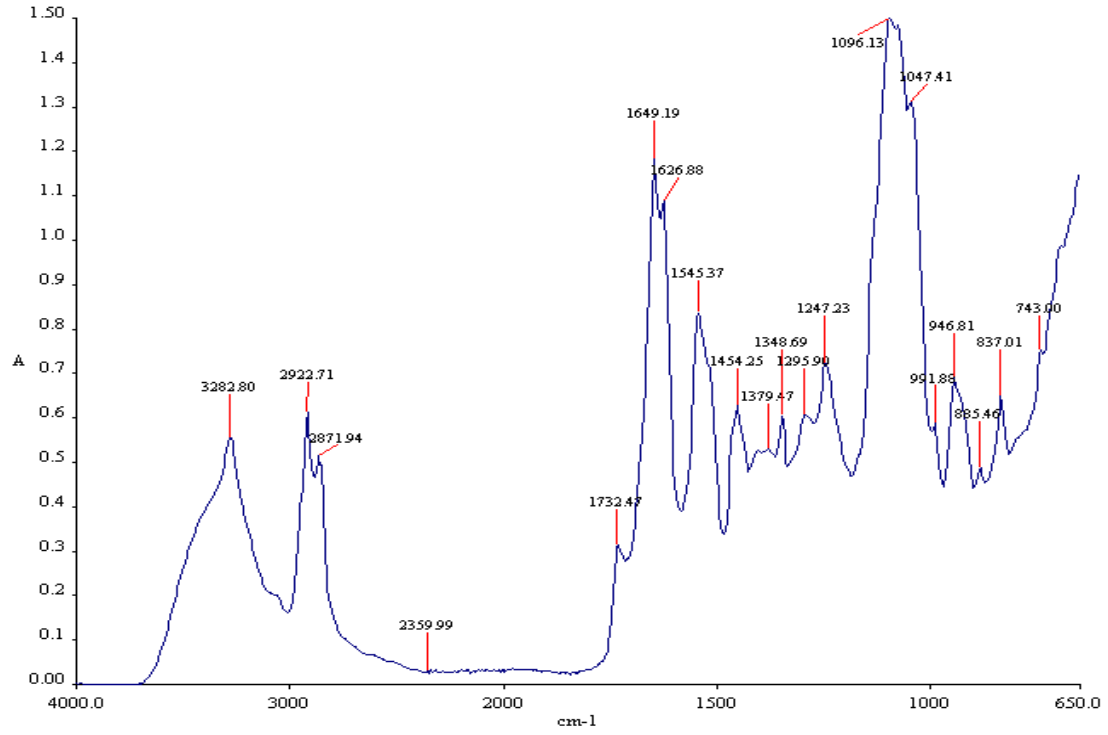
ATR-FTIR çalışması yöntem 3.2.12'de anlatıldığı şekilde yapıldı. Formülasyonların etkisi ile 24 saat sonra bantlardaki değişimler Tablo 4-53 deki gibidir. Formülasyonlara ait ATR-FTIR spektrumu sırasıyla Şekil 4-51 ile Şekil 4-56 aralığındadır. Kontrol formülasyonuna ait ATR-FTIR spektrumu Şekil 4-57'de gösterilmiştir. Ayrıca formülasyon bileşenlerinin lipitler üzerindeki etkisi Labrasol için Şekil 4-58'de, Transcutol P için Şekil 4-59'da ve oleik asit için Şekil 4-60 'da gösterilmiştir. Herhangi bir işelem görmemiş, uygulama yapılmamış olan kontrol derisine ait spektrum ise Şekil 4-61'de gösterilmiştir.

Tablo 4-53: ATR-FTIR sonuçlarına göre bant değişimleri

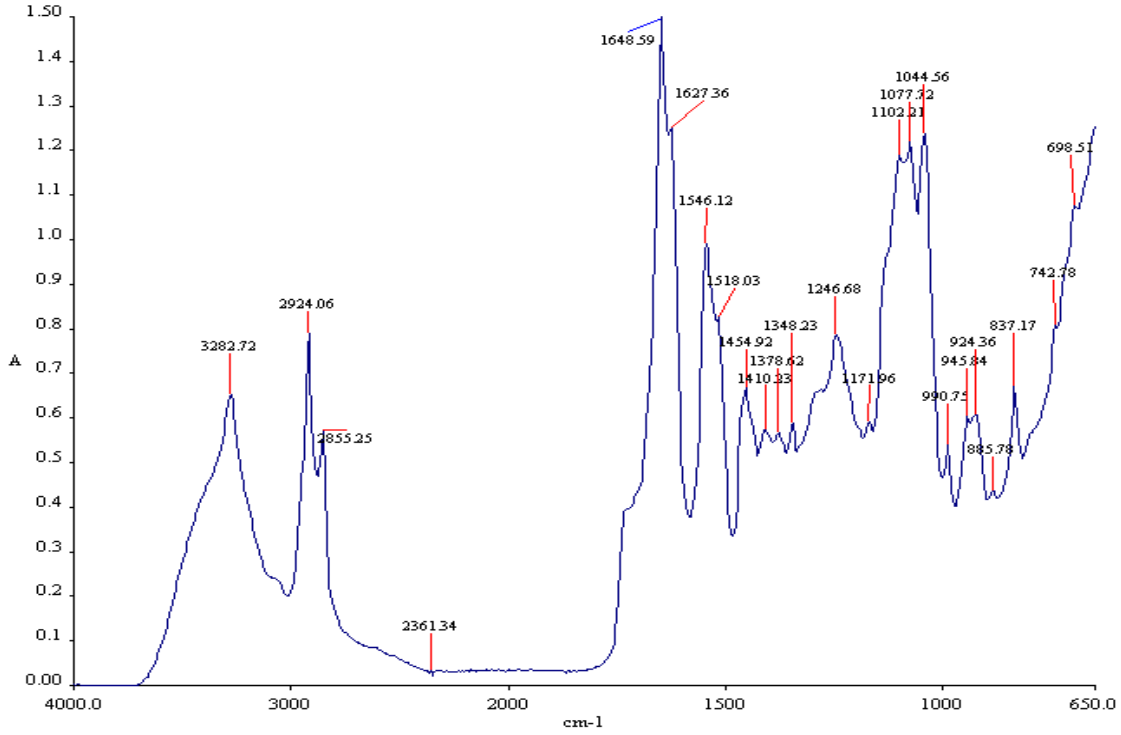
Formülasyon	OH	CH asimetrik	CH simetrik
O-A	3280,4±0,87	2923,9±0,10	2854,7±0,10
O-B	3282,0±0,93	2923,0±0,38	2872,4±0,10
O-C	3281,8±0,80	2923,8±0,35	2855,4±0,10
O-D	3280,3±0,42	2924,1±0,23	2854,6±0,10
O-E	3280,6±0,10	2922,9±1,12	2854,2±0,23
O-F	3283,0±0,30	2919,7±0,16	2854,15±1,39
O-Kontrol	3281,1±3,83	2924,2±0,21	2854,1±0,21
Labrasol	3283,8±0,14	2921,2±0,37	2870,9±0,43
Transcutol P	3281,6±0,56	2922,2±0,29	2852,7±0,33
Oleik Asit	3278,5±0,28	2923,5±0,68	2853,3±0,49
Kontrol derisi	3281,5±0,72	2919,7±1,09	2851,2±1,09



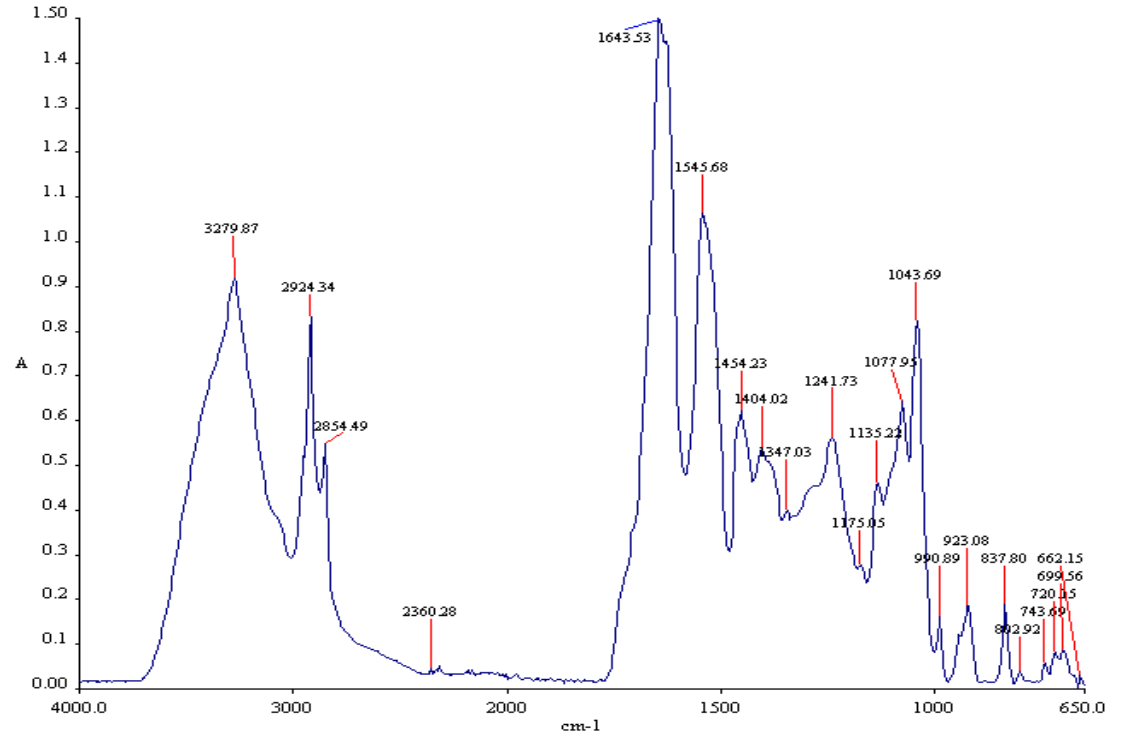
Şekil 4-51: O-A formülasyonu ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu



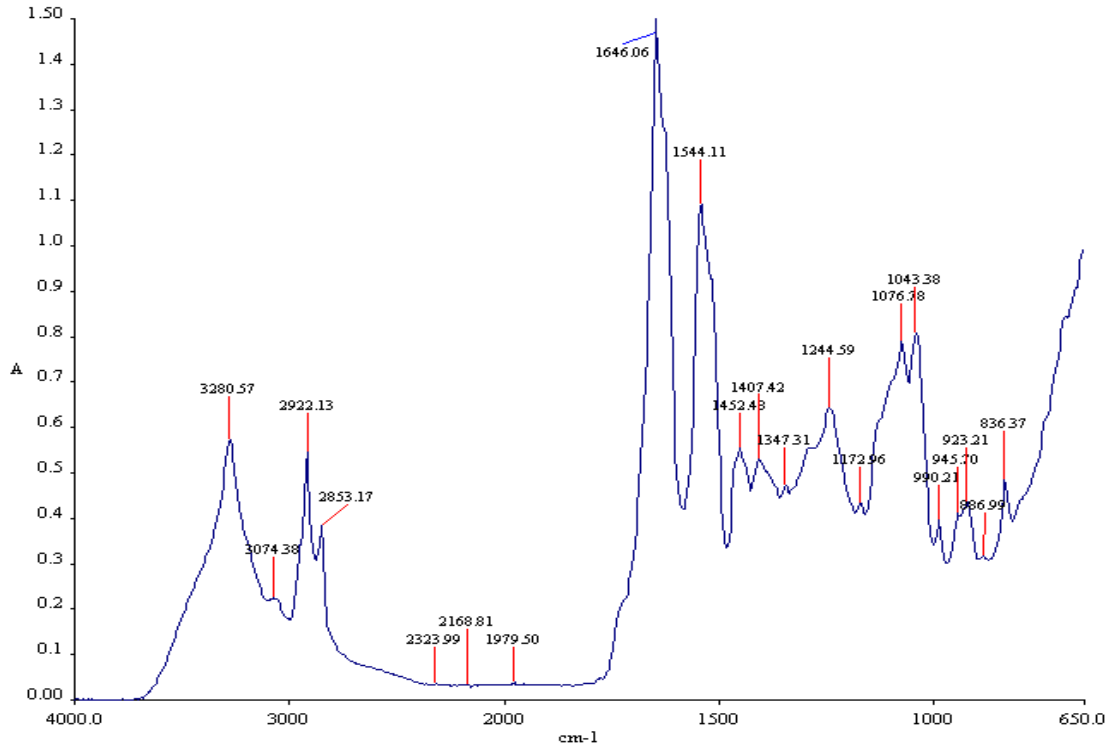
Şekil 4-52: O-B formülasyonu ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu



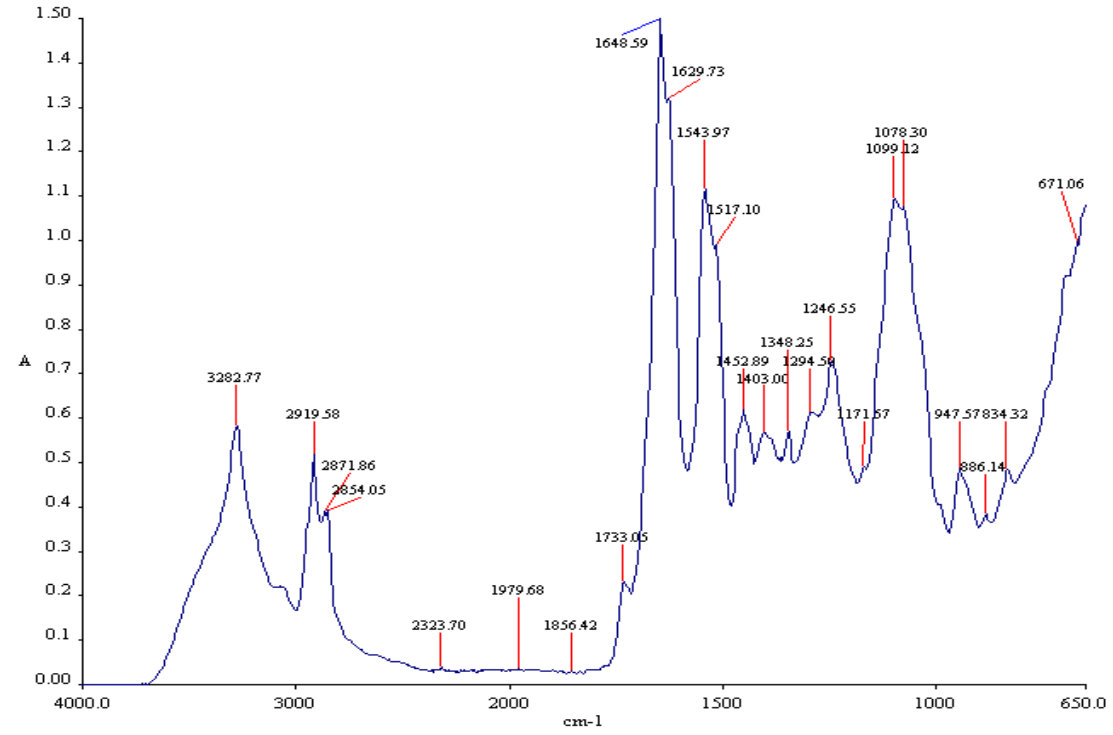
Şekil 4-53: O-C formülasyonu ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu



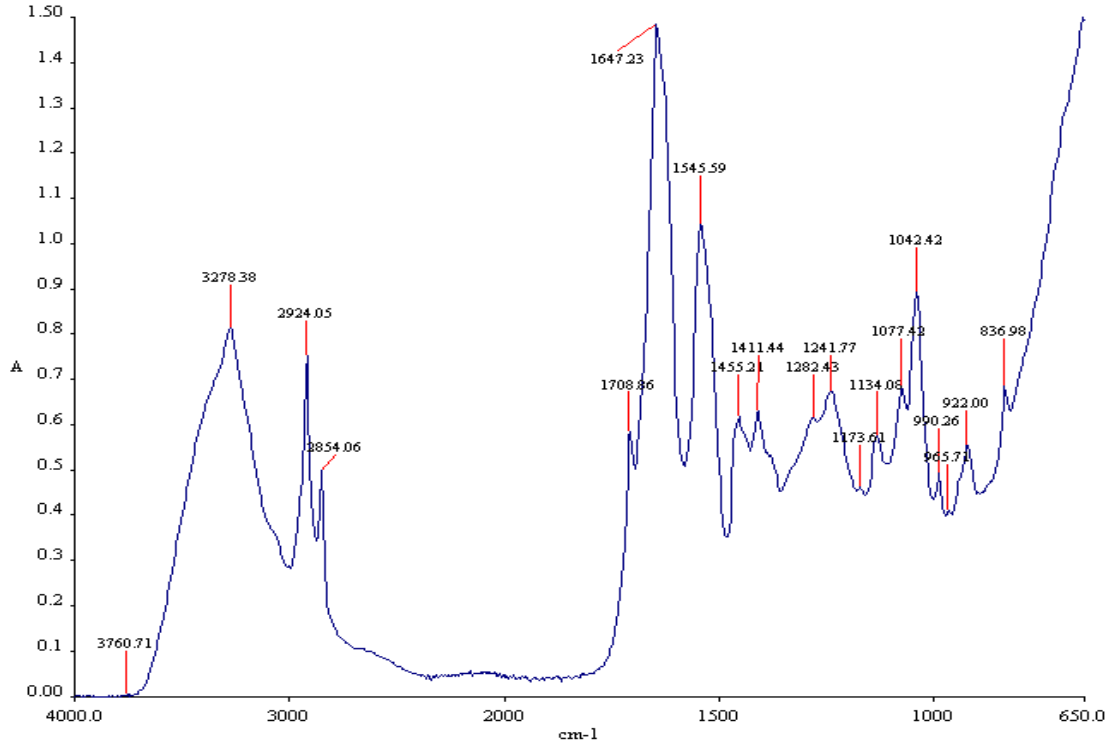
Şekil 4-54: O-D formülasyonu ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu



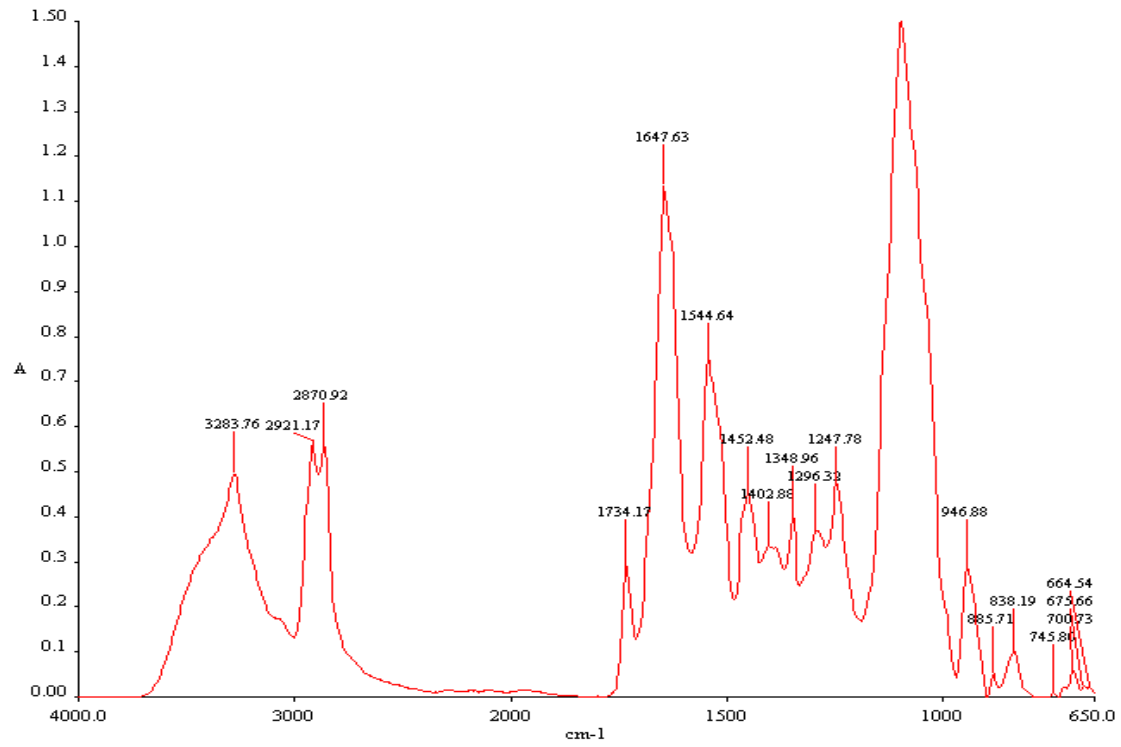
Şekil 4-55: O-E formülasyonu ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu



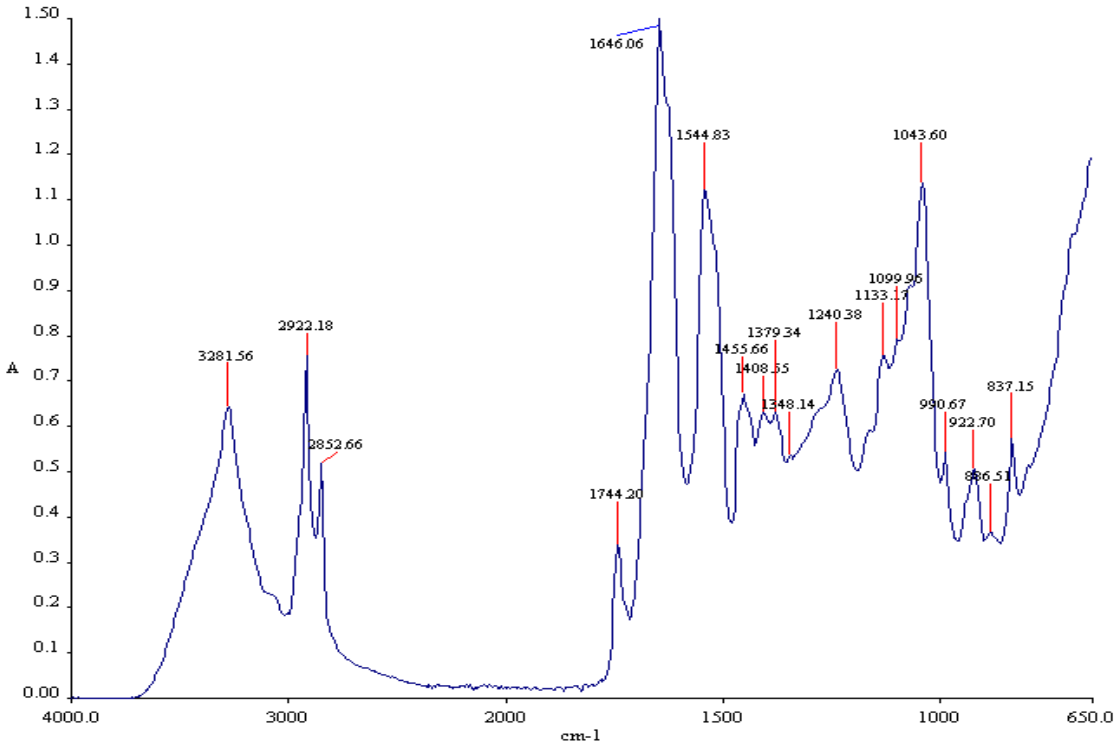
Şekil 4-56: O-F formülasyonu ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu



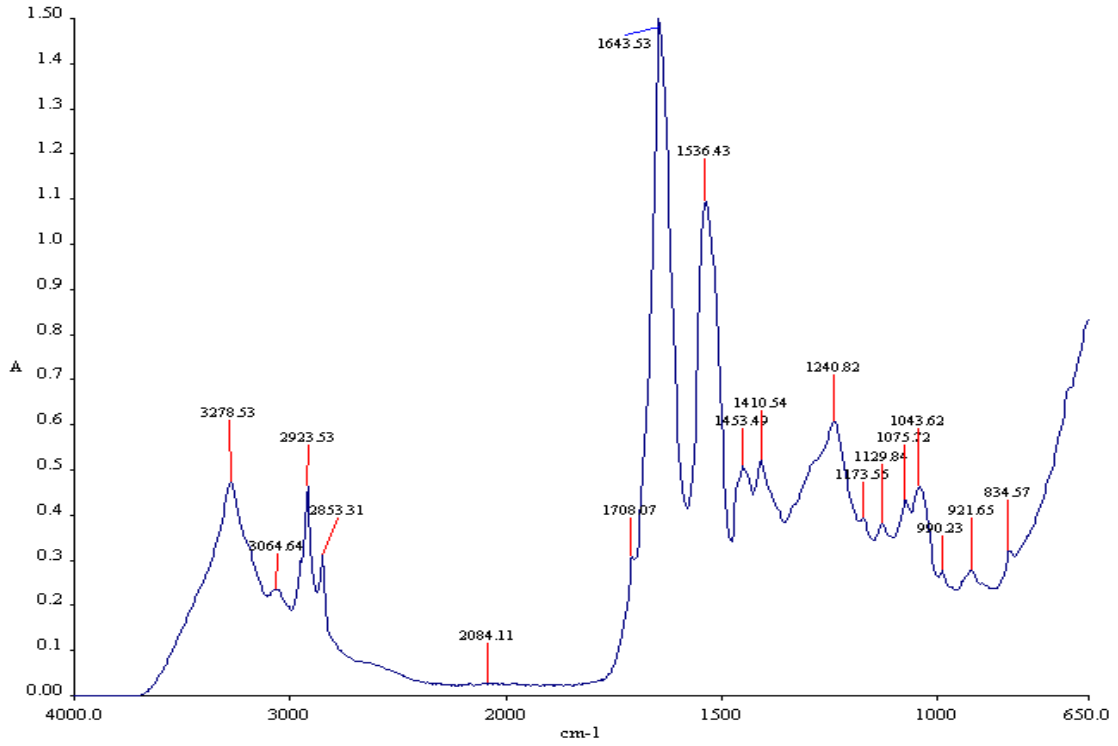
Şekil 4-57: O-Kontrol formülasyonu ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu



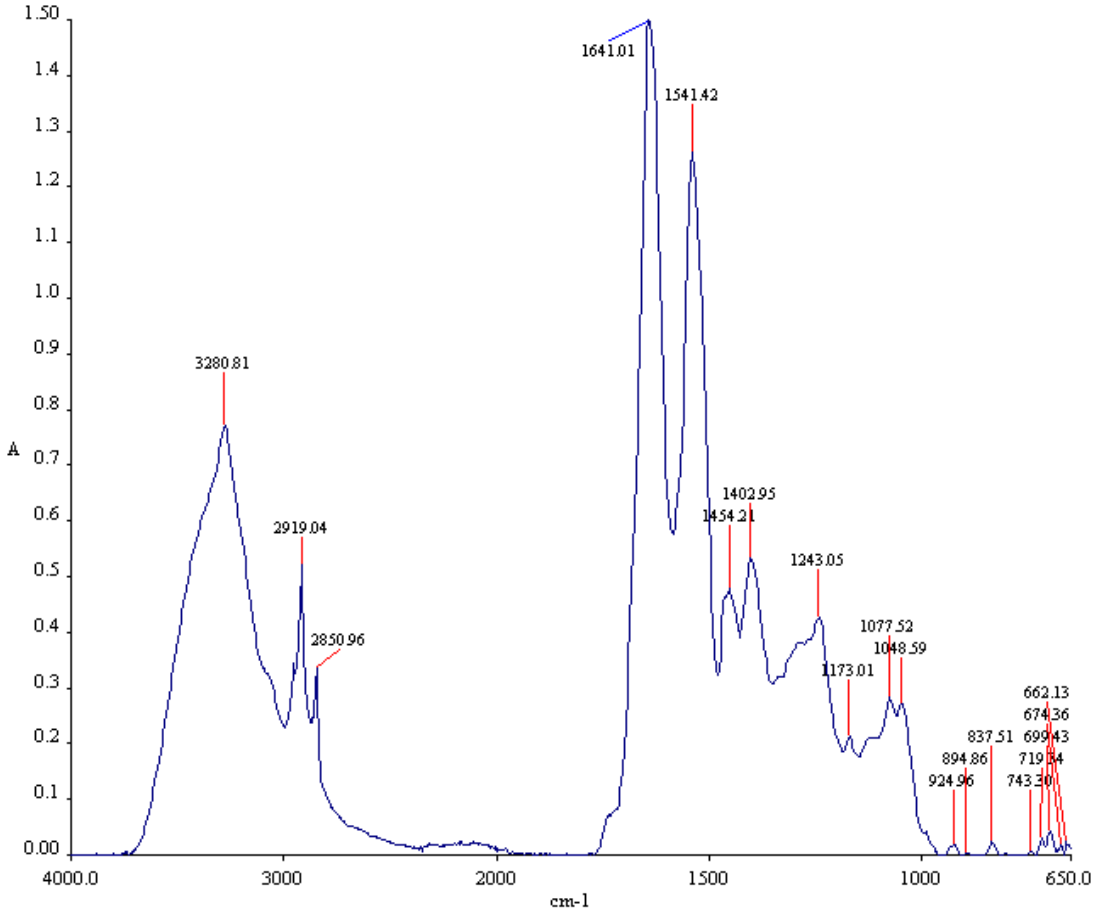
Şekil 4-58: Labrasol ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu



Şekil 4-59: Transcutol P ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu



Şekil 4-60: Oleik asit ile elde edilen ATR-FTIR spektrumu



Şekil 4-61: Kontrol grubu olarak kullanılan deriye ait bant absorbansları

5. TARTIŞMA

Etodolak, pratik olarak suda çözünmeyen, lipofilik özellikte, indol türevi NSAI bir ilaçtır (Martindale 2005). Osteoartrit, romatoid artrit gibi iskelet kas sistemi hastalıklarının tedavisinde diğer NSAI ilaçlara göre klinik kullanımı daha yaygın olan etkili seçici *COX-2* bir inhibitörüdür (Carlucci 2009). Etodolak da seçici *COX-2* inhibitörü olmasına rağmen, diğer NSAI ilaçlar gibi GI sistem açısından riskli bir ilaçtır (Inoue ve ark 2011; Martindale 2005). Etodolak'ın antienflamatuvar aktivitesi prostaglandin sentezinin inhibisyonu ile ilişkilidir (Carlucci 2009). Tedavide etodolak tablet şeklindeki preparatları ile oral yol ile kullanılmaktadır. Ayrıca, topikal uygulanmak üzere etodolak-lidokain içeren yama şeklinde bir dozaj şekli de geliştirilmiş ve Faz III çalışmalarının devam ettiği bildirilmiştir (www.clinicaltrials.gov).

NSAI ilaçların topikal uygulanması özellikle GI sistem başta olmak üzere sistemik yan etkilerinin üstesinden gelinmesi açısından önem taşımaktadır (Heyneman ve ark 2000). Bu nedenle özellikle osteoartrirt ya da romatoid artrit gibi iskelet kas sistemi hastalıklarının tedavisinde, spor yaralanmalarında ve eklem incinmelerinde, NSAI ilaçların sistemik yan etkilerini ortadan kaldıran ve bu ilaçların derinin hedef bölgesinde lokalizasyonunu sağlayan topikal jel, krem ve sprey şeklinde preparatları yaygın olarak kullanılmaktadır. Topikal uygulanan NSAI ilaçların etkili olabilmesi için deriden penetre olması, hedef bölgeye ulaşması ve etkin konsantrasyon seviyesine ulaşması gerekmektedir (Moore ve ark 1998; Massey ve ark 2010). Ancak, ilaçların deriden penetre olabilmesi için derinin en dış tabakası olan *stratum corneum* bariyerini aşmaları gerekir. Derinin bariyer özelliğinin üstesinden gelebilmek, ilaç moleküllerinin hedeflenen deri tabakalarına uşabilmesi için deriden geçirgenliklerini arttırmak için çeşitli formülasyon yaklaşımları öngörülmektedir (Norlen 2001; Brown ve ark 2006). Deriden geçişin sağlanması/arttırılmasına yönelik yaklaşımlar arasında mikroemülsiyonlar gibi kolloidal ilaç taşıyıcı sistemler de yer almaktadır.

Mikroemülsiyonlar, küçük damlacık boyutuna sahip, düşük viskoziteli, şeffaf kolloidal ilaç taşıyıcılarıdır (Kreilgaard 2002). Mikroemülsiyonların en önemli özellikleri, etkin maddeleri çözme kapasitelerinin oldukça yüksek olmasıdır. Bu özelliklerinden dolayı yüksek konsantrasyonlarda etkin maddenin hapsedilmesine

olanak tanırlar. Ayrıca termodinamik olarak kararlı olan mikroemülsiyonların raf ömürlerinin uzun ve yüzey geriliminin düşük olması, kolayca hazırlanabilmelerini sağlar (Kreilgaard 2002; Santos ve ark 2008; Lawrence ve Rees 2012).

Mikroemülsiyonlar, yağ fazı, sürfaktan, ko-sürfaktan ve su fazı olmak üzere dört bileşenden oluşurlar (Kreilgaard 2002; Santos ve ark 2008; Lawrence ve Rees 2012). Bileşenlerinde kullanılan sürfaktan ve ko-sürfaktanın etkisi ile yüzeylerarası gerilimin düşmesi sonucu enerji gerektirmeden kendiliğinden oluşurlar. Hazırlanmaları için dışarıdan bir enerji uygulanmasını gerektirmemeleri bu sistemlerin karalılıklarının yüksek olmasını sağladığı gibi, endüstriyel boyutta üretimlerinde ölçek büyütme çalışmalarını da kolaylaştırır (Santos ve ark 2008; Lawrence ve Rees 2012).

Mikroemülsiyonlar diğer uygulama yolları dışında topikal ilaç taşıyıcı sistem olarak da kullanılmaktadır (Baroli ve ark 2000). Deri, özellikle en dıştaki *stratum corneum* tabakasının organizma için doğal bir bariyer fonksiyonu göstermesi nedeniyle geçirgenliği az olan bir membrandır. Bu nedenle deri yolu ile ilaçların uygulanmasında hız sınırlayıcı basamaktır (Kreilgaard 2002). Topikal uygulamanın başarılı olabilmesi için ilaçların bu bariyeri aşabilmesi gerekmektedir. Topikal uygulanan mikroemülsiyonlar farklı mekanizmalarla etkin maddelerin sistemik dolaşıma katılmasını ya da derinin tabakalarında lokalizasyonunu sağlarlar. Mikroemülsiyonların topikal taşıyıcı olarak etkinliği temel olarak formülasyon bileşenlerinin (sürfaktan, ko-sürfaktan) penetrasyon arttırıcı özelliği ile ilişkilir (Chen ve ark 2006; Cao ve ark 2011). Mikroemülsiyon bileşenlerinin *stratum corneum* daki hücreler arası lipitlerle etkileşerek ilaç moleküllerinin deriden geçişini kolaylaştırdığı bildirilmiştir (Hathout ve ark 2010b). Ayrıca yüksek oranda çözücü etkileri nedeniyle etkin maddenin formülasyondaki termodinamik aktivitesini de arttırarak etki gösteriler (Zhao ve ark 2011). Etkin maddenin formülasyondaki çözünürlüğünü ve *stratum corneum* daki partisyonunu artırmaları nedeniyle mikroemülsiyonlar, ilaç moleküllerinin deriden emiliminin arttırılması için etkin taşıyıcılar olarak gösterilmektedir.

Etodolak; günümüzde tedavide oral yol ile kulanılan NSAI bir ilaç olup, çok yakın zamanda lidokain ile kombinasyonu şeklinde yama tipi bir prepratı geliştirilmiştir. Literatürde etodolak'ın topikal uygulanmasına yönelik penetrasyon arttırıcı madddelerin denendiği *in vitro* çalışmalar mevcuttur. Ancak topikal uygulanmasına yönelik mikroemülsiyonlarının hazırlanması ile ilgili bir çalışma mevcut değildir.

Bu çalışmanın amacı, günümüzde oral yol ile tedavide yaygın olarak kullanılan etodolak'ın topikal uygulamaya yönelik mikroemülsiyon formülasyonlarının optimizasyonu, hazırlanan formülasyonların karakterizasyonu yapılarak seçilen formülasyonların *in vitro* deriden geçiçlerinin incelenmesi ve mikroemülsiyonların deri üzerindeki etkilerinin ATR-FTIR spektroskopisi ile değerlendirilmesidir.

Çalışmamızda öncelikle etodolak'ın miktar tayini için kullanılması planlanan UV spektrofotometresine ait geçerlilik testi çalışmaları yapıldı (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005). Doğrusallık çalışmasından elde edilen standart eğrinin (Şekil 4-2) determinasyon katsayısının yüksek olması (R^2=0,9999) ve bağıl standart sapma değerlerinin düşük olması (% RSD < 2) nedeni ile doğru denkleminin miktar tayininde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Gün içi kesinlik (Tablo 4-3) ve günler arası kesinlik (Tablo 4-4) çalışmalarında elde edilen RSD değerlerinin gün içi için 0,47 ile 2,02 aralığında ve günler arası için 1,09 ile 2,89 aralığında olduğu hesaplanmıştır. Elde edilen RSD değerleri dikkate alındığı zaman, yöntemin geçerliliği gösterilmiştir.

Etodolak'ın miktar tayini için kullanılan HPLC yöntemine ait geçerlilik testi yapılarak yöntemin doğrusallığı, kesinliği (gün içi ve günler arası), doğruluğu, seçiciliği, teşhis limiti, miktar tayin limiti ve stabilitesi araştırıldı (ICH Harmonised Tripartite Guideline 2005). HPLC yönteminin geçerlilik testi reseptör faz olarak kullanılan propilen glikol: PBS pH 7,4 (30:70) ve çözünürlük çalışmasında kullanılan ACN içeren örnekler için yapıldı.

Reseptör faz ile hazırlanan örnekler ile yapılan geçerlilik testine göre, doğrusallık çalışmasından elde edilen standart eğrinin (Şekil 4-5) determinasyon katsayısının (R^2=0,9999) yüksek olması ve %RSD değerinin <%5 olması nedeniyle doğru denkleminin miktar tayininde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Gün içi (Tablo 4-9) ve günler arası kesinlik (Tablo 4-11) çalışmalarından elde edilen %RSD değerleri < %2 olarak bulunmuştur. Doğruluk çalışması oleik asit (Tablo 4-13) ve IPM içeren (Tablo 4-14) formülasyonlar için ayrı ayrı yapıldı. Geri kazanma değerleri sırasıyla %98,40 - %100,93 ve %101,31 - 102,09 olarak hesaplandı. Seçicilik çalışması sonuçlarına göre, formülasyonda kullanılan yardımcı maddelerin, etodolak'ın alıkonma zamanında girişim yapmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca yöntemin teşhis limiti 0,04 µg/mL ve miktar tayin limiti 0,13 µg/mL olarak bulunmuştur.

ACN ile hazırlanan örnekler ile yapılan geçerlilik testine göre doğrusallık çalışmasından elde edilen standart eğrinin (Şekil 4-6) determinasyon katsayısının (R^2=0,9999) yüksek olması ve %RSD değerinin <%5 olması nedeniyle doğru denkleminin miktar tayininde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Gün içi (Tablo 4-10) ve günler arası (Tablo 4-12) kesinlik çalışmalarından elde edilen %RSD değerleri <%2 olarak bulunmuştur. Doğruluk çalışması oleik asit içeren (Tablo 4-15) ve IPM içeren (Tablo 4-16) formülasyonlar için ayrı ayrı yapıldı. Geri kazanma değerleri sırasıyla %97,92 - %104,87 ve %102,25 – 103,35 olarak hesaplandı. Seçicilik çalışması sonuçlarına göre, formülasyonda kullanılan diğer maddelerin, etodolak'ın alıkonma zamanında girişim yapmadığı tespit edilmiştir. Teşhis limiti 0,06 μg/mL ve miktar tayin limiti 0,19 μg/mL olarak bulunmuştur.

Mikroemülsiyonların optimizasyonunda etkin maddenin yüklenme kapasitesi açısından mikroemülsiyon formülasyonu bileşenlerindeki çözünürlüğü önemlidir (Kogan ve Garti 2006; Heuschkel ve ark 2008; 2009). Bu nedenle çalışmamızda öncelikle etodolak'ın mikroemülsiyonlarının hazırlanmasında kulanılacak yağ, sürfaktan ve ko-sürfaktanlardaki çözünürlükleri incelendi. Çözünürlük çalışmalarından elde edilen sonuçlar, etodolak'ın yağ fazı olarak IPM içerisindeki çözünürlüğünün daha yüksek olduğunu göstermiştir (Tablo 4-20). Ancak etodolak'ın diğer yağ fazı olarak oleik asitteki çözünürlüğünün anlamlı olarak düşük olmaması nedeniyle, mikroemülsiyonların hazırlanmasında yağ fazı olarak her iki yağın da (IPM ve oleik asit) kullanılmasına karar verildi.

Mikroemülsiyon oluşturulurken formülasyonda kullanılan sulu faz, yağ fazı, sürfaktan ve ko-sürfaktanın fizikokimyasal yapıları çok önemlidir; fakat bunların bir aradayken göstermiş oldukları fizikokimyasal etkileşimler oldukça karmaşıktır ve bunun için genelleme yapılması zordur (Kreilgaard 2002). Bu nedenle, çözünürlük çalışmaları da dikkate alınarak farklı oranlarda yağ, sürfaktan ve ko-sürfaktanlar kullanılarak mikroemülsiyonların optimizasyonuna yönelik ön formülasyon çalışmaları yapıldı.

Çalışmamızda mikroemülsiyon formülasyonlarının hazırlanmasında yağ fazı olarak IPM veya oleik asit kullanılırken, sürfaktan olarak Cremophor RH 40, Cremophor EL, Tween 20, Tween 80 veya Labrasol, ko-sürfaktan olarak ise Transcutol P, Plurol oleik, Labrasol veya Span 20 kullanıldı (Tablo 4-21). Yapılan bu

önformülasyon çalışmaları sonucu hazırlanan formülasyonların bir kısmında jelleşme olduğu, bir kısmında su ilavesi ile azalan bulanıklığın su ilavesine devam edildikçe arttığı, bir kısmında ise su ilavesine rağmen bulanıklık seviyesinin değişmediği tespit edildi (Tablo 4-21).

Ön formülasyon çalışmalarında formülasyonların su tutma kapasiteleri, berrak görünümde olması gibi bulgulara dayanarak ve çözünürlük çalışmalarından elde edilen veriler dikkate alınarak çalışmamızda hazırlanacak mikroemülsiyonlardaki formülasyon bileşenlerinin seçimi yapıldı. Mikroemülsiyonların hazırlanmasında yukarıda da belirtildiği gibi yağ fazı olarak IPM veya oleik asit; sürfaktan ve ko-sürfaktan (S/Ko-S) olarak ise sırasıyla Labrasol ve Transcutol P kullanılmasına karar verildi.

Yağ fazı olarak oleik asit kullanılan formülasyonlarda, yağ oranının artmasının formülasyonun su tutma kapasitesini azalttığı saptandı. Yağ/S/Ko-S oranı sabit tutulduğunda, S/Ko-S oranının 1:2 olduğu formülasyonların, aynı oranın 2:1 olduğu formülasyonlardan daha yüksek su tutma kapasitesine sahip olduğu saptandı. Formülasyonda ko-sürfaktan olarak kullanılan Transcutol P oranının artmasının, su tutma kapasitesinde artışa neden olduğu sonucuna varıldı.

Oleik asit oranının en düşük, S/Ko-S oranının en yüksek olduğu formülasyonun, hazırlanan formülasyonlar arasında en yüksek su tutma kapasitesine sahip formülasyon olduğu saptandı (Tablo 4-22).

Yağ fazı olarak IPM'nin kullanıldığı formülasyonlarda da aynı şekilde yağ oranının artması ile su tutma kapasitesinin azaldığı gözlendi. Bu formülasyonlarda da Transcutol P oranının artması ile su tutma kapasitesinde artış sağlandı (Tablo 4-23).

Topikal uygulanan ilaçların deri bariyerini aşmasında derinin hidratasyonu önemlidir (Hadgraft 1999; Zhu ve ark 2008; Lionberger ve Brenannan 2010). Çünkü epidermisin en dış tabakası olan *stratum corneum* un yapısında bulunan korneositler membranın su tutma kapasitesini kontrol ederler. Korneositlerin düşük hidratasyon seviyelerinde (%18-26, a/a) şişme göstermediği, yüksek hidratasyon durumunda (%57-87, a/a) ise *stratum corneum* un orta kısmındaki korneositlerin daha yüzeydeki ve derindeki korneositlerden daha fazla şişme gösterdiği saptanmıştır (Rawlings ve Harding 2004). Dolayısı ile topikal uygulanan formülasyonun membranın geçirgenliği açısından etkinliğinde, su içeriği önemli rol oynamaktadır. Lipofilik karakterdeki ilaç moleküllerinin *stratum corneum* a partisyonu için genellikle lipofilik yapıdaki taşıyıcılar

kullanılır. Ancak bu durum, ilacın lipofilik yapıdaki *stratum corneum* a geçişini kısıtlayabilmektedir. Bu yaklaşımla, daha fazla su tutma kapasitesine sahip mikroemülsiyonlar derinin hidratasyonunu sağlayarak, *stratum corneum* daki korneosit hücrelerinin şişmesine neden olur ve geçiş kanalları oluşturarak, ilacın permeasyonunu arttırırlar (Yuan ve ark 2006). Mikroemülsiyon formülasyonlarının optimizasyonunda su tutma kapasitesinin yüksek olması mikremülsiyonun geçirgenlik üzerine etkisi için önemlidir.

Ancak bir mikroemülsiyon formülasyonundaki su miktarının artması bileşenindeki yağ miktarının azalmasına bağlıdır. Çalışmamızda mikroemülsiyonlara yüklemeyi hedeflediğimiz etkin madde olan etodolak, pratikte suda çözünmeyen ve yağdaki çözünürlüğü daha yüksek bir etkin madde olduğu için formülasyondaki yağ oranı ve miktarı önem taşımaktadır. Bu nedenle, çalışmamızda hazırlanacak mikroemülsiyonlarda etkin maddenin çözünürlüğü de dikkate alınarak, S/Ko-S oranı 1:1 olan formülasyonların hazırlanmasına karar verildi.

S/Ko-S oranı 1:1 olarak sabit tutularak farklı oranlarda yağ içeren mikroemülsiyonlar, su titrasyon yöntemi ile hazırlandı ve üçgen faz diyagramları çizildi. Yağ fazı olarak IPM veya oleik asit içeren formülasyonlar için ayrı ayrı çizilen faz diyagramlarından (Şekil 4-7 ve Şekil 4-8) mikroemülsiyon oluşma alanları dikkate alınarak formülasyonlar seçildi. Mikroemülsiyonların hazırlanmasında klasik yaklaşım faz diyagramları ile mikroemülsyon oluşma alanlarının belirlenmesidir. Faz diyagramı oluştururken karşılaşılan temel sorun, çok sayıda sürfaktan, ko-sürfaktan, yağ fazı seçeneği olduğu için yöntemin çok zaman alıcı olmasıdır (Rosano ve ark1988).

Su tutma kapasiteleri, damlacık boyutları, *in vitro* geçiş çalışmasındaki davranışlarını değerlendirmek ve karşılaştırmak için, 1:1 S/Ko-S oranı dışında, farklı oranlar da S/Ko-S içeren mikroemülsiyonlar hazırlandı. Bu kapsamda, oleik asit içeren formülasyonlar için 1:2 oranında S/Ko-S, IPM içerenler için ise 3:2 ve 4:1 oranlarında da S/Ko-S içeren formülasyonlar hazırlandı.

Mikroemülsiyonların hazırlanmasında kulanılan yöntemin ve formülasyon bileşenlerinin eklenme sırasının önemi konusunda farklı yaklaşımlar vardır. Genel görüşe göre, termodinamik olarak kararlı olan bu yapıların hazırlanmasında formülasyon bileşenlerinin eklenme sırası önemli değildir (Rosano ve ark 1988). Çalışmamızda mikroemülsyonların hazırlanmasında genel olarak formülasyon

bileşenlerinin eklenmesi için; önce S/Ko-S karışımı hazırlandıktan sonra bu karışıma yağ fazı eklendi. En son su titrasyonu esas alınarak manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak önceden belirlenmiş olan miktarda su ilave edildi. Çalışmamızda oleik asit ile hazırlanan formülasyonlar, O-A, O-B, O-C, O-D, O-E ve O-F (Şekil 4-9) olarak isimlendirilirken IPM ile hazırlan formülasyonlar I-A, I-B ve I-C (Şekil 4-10) olarak isimlendirilmişlerdir.

Mikroemülsiyonlara etkin madde yüklenmesi ile ilgili iki yöntem vardır. Bunlardan birincisi, etkin maddenin çözündüğü faza eklenmesi ve daha sonra yağ ve su fazlarının karıştırılması şeklindedir. İkinci yaklaşım ise, hazırlanan boş mikroemülsiyonlara etkin maddenin doğrudan ilave edilmesidir.

Chen ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmaya göre, ibuprofen kullanılarak hazırlanan mikroemülsiyon yapılı hidrojeller hazırlanırken ibuprofen önce yağda çözündürüldüğünde hemen mikroemülsiyon oluştuğu gözlenmiş fakat boş mikroemülsiyona etkin madde eklendiği zaman dengeye gelme zamanının uzadığı gözlenmiştir (Chen ve ark 2006). Etkin maddenin boş mikroemülsiyonlara eklenmesi durumuda dengeye gelmesi için genellikle 48 ya da 72 saat karıştırılarak bekletilmektedir (Peltola ve ark 2003; Zhao ve ark 2011). Çalışmamızda öncelikle boş mikroemülsiyonlar hazırlandı ve daha sonra etodolak yüklendi. Etkin madde yüklenmesinin dengeye gelme süresi olarak 72 saat beklenmesi gerektiği saptandı.

Hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarının fizikokimyasal özellikleri ile ilgili değerlendirmeler yapıldı. Bu kapsamda, mikroemülsiyonların refraktif indeks, damlacık boyutu, damlacık boyutu dağılımı (PDI), pH, iletkenlik, optik izotropileri ve reolojik özellikleri incelendi.

Refraktif indeks ölçümleri, mikroemülsiyonların saydamlığı ile ilgili değerlendirmelerin yapılmasını sağlar (Silva ve ark 2009). Refraktif indeks değeri, mikroemülsiyonun bileşenlerine bağlıdır ve mikroemülsiyonların optik açıdan izotropik yapısından sorumludur (Alam ve ark 2010). Mikroemülsiyonların refraktif indeks değerleri, yağ ve sürfaktan oranındaki artışa bağlı olarak artar (Chen ve ark 2004). Çalışmamızda hazırlanan oleik asit içeren mikroemülsiyonlardaki su miktarının ve oranının artmasının, refraktif indeks değerlerinin azalmasına yol açtığı gözlendi (Tablo 4-26). Hazırlanan mikroemülsiyonların refraktif indeks değerleri 1,4110 - 1,4400 arasında olduğu saptandı.

Mikroemülsiyonların damlacık boyutunun 200 nm'nin altında olması gerektiği literatürde kayıtlıdır (Prince 1970). Çalışmamızda hazırlanan oleik asit ve IPM ile hazırlanan boş mikroemülsiyonların damlacık boyutlarının 3,42–11,62 nm arasında olduğu saptandı (Tablo 4-27). Etkin madde (etodolak) yüklenmesi sonrası, yağ fazı olarak oleik asit içeren mikroemülsiyonların damlacık boyutlarında boş mikroemülsiyonlara göre anlamlı bir değişikliğe yol açmazken (3,41-12,07 nm), yağ fazı olarak IPM içerenlerin ise etodolak yüklendikten sonra damlacık boyutlarının çok fazla büyüdüğü gözlendi (Tablo 4-27). Mikroemülsiyonlarda ilaç yüklendikten sonra damlacık boyutunun az oranda artmasının, ilacın yüzeylerarası film tabakasına gömülmesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Chen ve ark 2004). Oleik asit ile hazırlanan boş mikroemülsiyonlara etodolak ilavesi ile damlacık boyutlarında az da olsa artış gözlenmesi ilacın iç fazda çözündüğüne ve Y/S mikroemülsiyonu elde edildiğine işaret etmektedir.

Etkin maddenin mikroemülsiyonlara eklenme yönteminin etkisinin olup olmadığını göstermek için, aynı formülasyon bileşenlerine etkin madde yüklemesi mikroemülsiyon hazırlama işlemi sırasında da yapıldı. Ancak, aynı şekilde IPM ile hazırlanan etodolak yüklü mikroemülsiyonların damlacık boyutunun büyük olduğu saptandı (Tablo 4-27). Ayrıca, etkin madde yükleme kapsitesinin etkisini de değerlendirmek için %5 olan etkin madde yükleme oranı %1'e düşürüldü. Aynı şekilde, damlacık boyutunun çok fazla arttığı saptandı. Bunun nedeni mikroemülsiyona etkin madde ilave edildiği zaman yapısının kısmen ve/veya tamamen değişmesine bağlandı (Tablo 4-27).

Çalışmamızda hazırlanan oleik asit içeren mikroemülsiyonların damlacık boyutları oldukça küçüktür (Tablo 4-27). Mikroemülsiyonların damlacık boyutunun küçük olmasının sedimentasyon, flokülasyon ve koalesense karşı kararlılığını arttırdığı bildirilmiştir (Hathout ve ark 2010a). Oleik asit içeren mikroemülsiyonlarda Y/(S/Ko-S) oranı aynı olduğunda (O-B ve O-F); su yüzdesinin artışının (O-F) damlacık boyutunu artırdığı saptandı. Diğer taraftan, Y/(S/Ko-S) oranı 1:2:2 olan mikroemülsiyon (O-C) 1:(4,5:4,5) oranındaY/(S/Ko-S) içeren O-B formülasyonu ile karşılaştırıldığında; su yüzdesi daha yüksek olan O-B nin damlacık boyutunun daha büyük olduğu gözlendi. Y/(S/Ko-S) 1:1:2 oranlarındaki O-D ve O-E mikroemülsiyonlarının damlacık boyutları karşılaştırıldığında; su yüzdesi daha yüksek O-E kodlu mikroemülsiyonun damlacık

boyutunun daha büyük olduğu saptandı (Tablo 4-27). Dolayısı ile, mikroemülsiyonlardaki ko-sürfaktan (Transcutol P) oranının artmasının damlacık boyutunu etkilemediği görüldü. Mikroemülsiyon bileşimindeki su miktarının ise damlacık boyutunu belirlediği saptandı. S/Ko-S oranı değiştirildiğinde ise (O-D ve O-F) su yüzdesi yüksek olan O-F kodlu mikroemülsiyonun damlacık boyutunun daha büyük olduğu gözlendi (Tablo 4-27). Sonuç olarak, S/Ko-S oranı değişmesine rağmen, yağ miktarına bağlı olmak koşulu ile su yüzdesi yüksek olduğunda mikroemülsiyonların damlacık boyutlarının büyüdüğü gözlendi. Literatürde de mikremülsiyonların bileşimdeki su miktarı arttıkça damlacık boyutunun da arttığı bildirilmiştir (Kogan ve Garti 2006).

Mikroemülsiyonların damlacık boyutlarının homojenliğini değerlendirimek için; polidispersite indeksi parametresi değerlendirildi. Etodolak yüklenmeden önce ve yüklendikten sonra oleik asit içeren mikroemülsiyonların polidispersite indekslerinin sırası ile 0,17 - 0,27 ve 0,08 - 0,30 arasında ve oldukça küçük bir değer olduğu belirlendi. Ancak IPM ile hazırlanan etkin madde içermeyen mikroemülsiyonlarda bu değer 0,23 - 0,35 iken etodolak yüklü mikroemülsiyonlarda bu değerin yaklaşık 1 civarında olduğu saptandı (Tablo 4-28).

Zayıf asit ve bazik karakterdeki iyonize olabilen ilaç molekülleri için formülasyonun pH değeri iyonizasyon derecesi açısından önemlidir. Çalışmamızda hazırlanan boş mikroemülsiyonların asidik pH değerine (3,98 - 4,18) sahip olduğu saptandı. Bunun nedeni yapılarında bulunan oleik asite bağlanmıştır. Mikroemülsiyonlara etodolak yüklendikten sonra pH (3,67 - 3,82) değerinde belirgin bir değişim gözlenmedi (Tablo 4-29).

Mikroemülsiyonların faz sistemlerinin yapısının aydınlatılması (Y/S veya S/Y tipinin belirlenmesi) iletkenlik ölçümleri ile belirlenir (Peltola ve ark 2003; Yuan ve ark 2006). Mikroemülsiyonun yapısı ile elektrokondüktivitesi arasında güçlü bir bağlantı vardır. Formülasyondaki su yüzdesi arttıkça iletkenlik de artar. Elektrik iletkenliğinde anormal bir değişim olursa faz değişiminin söz konusu olduğu bildirilmiştir (Hathout ve ark 2010a). Seçilen formülasyonların elektriksel iletkenliği sulu faz hacim fraksiyonunun fonksiyonudur. İyonik sürfaktanların kullanımı ile mikroemülsiyon sistemlerinin yapısı ve elektriksel iletkenliği arasında kuvvetli ilişki vardır (Djordjevic ve ark 2004). Su hacim fraksiyonu kritik değere ulaşıncaya kadar arttırıldıkça

elektriksel iletkenlik değerinde ani artış gözlenir, bu durum "*perkolasyon*" olarak bilinir. İyonik olmayan amfifil bileşenler kullanılarak hazırlanan mikroemülsiyon sistemleri iyonik olmayan tipe uygun elektrisel iletkenlik sergiler. Su içeriğinin düşük olduğu bölgelerde S/Y mikroemülsiyonları oluşur (Djordjevic ve ark 2004).

Çalışmamızda, yağ fazı olarak oleik asit içeren mikroemülsiyonlardan su yüzdesi daha yüksek olanların elektriksel iletkenliğinin daha yüksek olduğu gösterildi (Tablo 4-30). Boş mikroemülsiyonların iletkenlik değerleri 1,54 - 18,17 µS aralığında, etodolak yüklü mikroemülsiyonlar için ise 1,72 - 21,03 µS aralığında olduğu saptandı. Elde edilen iletkenlik verilerine göre, hazırlanan mikroemülsiyonların Y/S şeklinde sistemler olduğu sonucuna varıldı. Su içeriği en yüksek olan O-F formülasyonu kullanılarak su yüzdesi-iletkenlik arasındaki bağıntı değerlendirildi. Formülasyona su ilave edilmeden önce elektriksel iletkenliği 0,46 µS olarak ölçüldü. Su yüzdesi arttıkça iletkenlik değerinde artış meydana geldiği gözlendi (Şekil 4-23). Elektrik iletkenliğindeki anormal değişimleri daha net görebilmek için iletkenliğin logaritması alınarak su yüzdesine karşı grafiklendirildi (Şekil 4-24). Kırılmaların olduğu kısımların daha net görülebilmesi için, Şekil 4-24 üzerinden bir kesit alındı ve aralık değişimi ile Şekil 4-25'te gösterildi. Her kırılma noktası bir faz geçişini temsil ettiği için yaklaşık %20 ve üzeri Y/S mikroemülsiyon alanı olarak saptandı.

Mikroemülsiyonlar, düşük viskoziteli sistemleridir ve Newtonian akış modeline uyarlar. İdeal olmayan bir viskozite *biocontinuous* sistemlerde görülür (Goebel ve ark 2011). Bir mikroemülsiyonun viskozitesi içerdiği sürfaktan, su ve yağ fazlarının ve bu bileşenlerin miktarlarının fonksiyonudur (Moulik ve Paul 1998; Hathout ve ark 2010a). Hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonları ile değişken ve sabit kayma oranında yapılan analiz sonuçları (Tablo 4-31 ve Tablo 4-32) ve analiz sonucu elde edilen grafikler (Şekil 4-26 - Şekil 4-31), mikroemülsiyonların düşük viskozite değerine (22,3 -37,0 mPa) sahip olduğunu gösterdi. Ayrıca mikroemülsiyonların Newton tipi akış özelliği gösterdiği saptandı. Su oranı daha yüksek olan mikroemülsiyonların viskozite değerinin daha düşük olduğu görüldü. Bu durum, mikroemülsiyonların sulu faz hacim fraksiyonunun artmasının viskozitesinin düşmesine neden olmasından kaynaklanmaktadır.

Mikroemülsiyonlar optik açıdan izotropik yapıdadırlar (Kogan ve Garti 2006; Santos ve ark 2008). Hazırlananan mikroemülsiyon formülasyonları polarize ışık

mikroskobu altında incelendiğinde, karanlık bir görüntü elde edildi. Bu durumda formülasyonların optik açıdan izotropik olduğu sonucuna varıldı.

Formülasyonların TEM görüntüleri incelendiği zaman damlacıkların oldukça düzgün yapıda olduğu görülmüştür (Şekil 4-32).

Mikroemülsiyon formülasyonlarının fiziksel kararlılıklarının değerlendirilebilmesi için santrifüjleme işlemi uygulanır (Çırpanlı ve ark 2009). Formülasyonların kararlılıklarını değerlendirmek üzere yapılan santrifüj çalışması sonucu herhangi bir faz ayrımı gözlenmedi. Yapılan damlacık boyutu ölçümleri dikkate alındığında; birinci ayın sonunda mikroemülsiyonların kararlı olduğu gözlendi; ancak üçüncü ay sonunda bazı mikroemülsiyonların damlacık büyüklüğünde artış gözlendi (Tablo 4-33).

Topikal olarak uygulanmak üzere hazırlanan formülasyonlarda etkin maddenin deriye olan ilgisinin formülasyon bileşimine olan ilgisinden çok daha fazla olması gerekir (Escribano ve ark 2003). Mikrosistemlerin küçük boyutları daha derinlere penetrasyonu açısından topikal uygulamada önem taşır. Hem çözünen konsantrasyonunun artması hem de ilacın *stratum corneum* a partisyonunun artmaya meyilli oluşu mikroemülsiyonların permeabilite arttırıcı taşıyıcılar olmasını sağlar (Sintov ve Botner 2006).

Mikroemülsiyonlar, ilacın iç fazdan dış faza oradan da deriye salımını sağlayan ilaç rezervuarı gibi davranır (Bolzinger ve ark 1998; Chen ve ark 2006). İlacın lipofilik özelliğindeki değişkenlik, sürfaktanlarla etkileşiminden dolayı mikroemülsiyonun dispers fazının rezervuar etkisini modifiye edebilir. Yani sürfaktanlarla ilaç arasındaki etkileşim, ilacın lipofilitesine bağlıdır ve ilacın formülasyondan salımını etkiler (Bolzinger ve ark 1998; Djordjevic ve ark 2004).

Topikal yol ile uygulanmak üzere hazırlanan ve fizikokimyasal özellikleri değerlendirilen mikroemülsiyonlardan etkin maddenin salım karakteristiği selülöz yapısındaki sentetik bir membran ve Franz difüzyon hücreleri kullanılarak değerlendirildi. Çalışmamızda hazırlanan oleik asit (O-A, O-B, O-C, O-D, O-E, O-F) ve IPM (I-A, I-B, I-C) içeren formülasyonlardan etodolak'ın salımı 6 saat süre ile izlendi (Şekil 4-33 – Şekil 4-41). Franz difüzyon sistemi kullanılarak yapılan *in vitro* salım çalışmalarına göre elde edilen veriler Higuchi kinetik modeli ile değerlendirildi. Elde edilen bulgular, oleik asit içeren mikroemülsiyonların matriks sistemler için uygunluğu

gösterilen Higuchi kinetik modeline göre (r2 > 0.99) etkin madde salımı gösterdiği saptandı. Ancak, IPM ile hazırlanan mikroemülsiyonlardan ilk zaman noktalarında yüksek miktarda etkin maddenin serbestleştiği görüldü (Şekil 4-33−Şekil 4-35). Bu durumun sentetik membran ile IPM arasındaki olası geçimsizliğe bağlı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca IPM içeren mikroemülsiyonlardan etodolak salımı Higuchi kinetik modeline göre değerlendirildiğinde daha düşük determinasyon katsayıları elde edildi (Tablo 4-43).

Elde edilen *in vitro* salım bulgularına ve fiziksel kararlılık verilerine dayanarak, çalışmamızda sadece oleik asit içeren formülasyonlardan (Şekil 4-36–Şekil 4-41) etodolak'ın domuz derisinden *in vitro* permeasyonu 24 saat süre ile izlendi ve değerlendirildi. Zamana karşı kümülatif deriden geçen etodolak miktarları garafiklendirildiğinde; mikroemülsiyonların Fick'in birinci yasası olan difüzyon ilkesine göre sıfırıncı derece etkin madde salımı gösterdiği saptandı. Elde edilen doğruların doğrusal kısmının eğiminden etodolak'ın deriden geçişinin kararlı durmuma ulaştığı kabul edilerek, akı değerleri hesaplandı. Bu doğrunun x eksenini kestiği noktadan ilacın deriden geçişi için gecikme zamanı (*lag time*) değeri olarak kestirimi yapıldı, ayrıca çalışmada donör fazda uygulanan formülasyondaki ilaç konsantrasyonu dikkate alınarak mikroemülsiyonlardan etodolak'ın permeabilite katsayısı değerleri hesaplandı (Tablo 4-52).

İn vitro permeasyon çalışmalarında mikroemülsiyonlardan ilacın difüzyonun sıfırıncı derce salım kinetiğine göre gerçekleşmesi; sürfaktan ve ko-sürfaktanların mikroemülsiyonun her fazında bulunabileceği, yani dış fazda da bir miktar ilaç çözünmüş olabileceğinden dış fazdaki ilaç tükendiği zaman deriye permeasyonu için iç fazdan ilaç salımının olması ile açıklanmıştır. Bu şekilde kontrollü ilaç salımını ifade eden sıfırıncı derece salım kinetiğinin söz konusu olabileceği, sürekli, kontrollü ve uzatılmış salım sağlanabileceği bildirilmiştir (Chen ve ark 2004; Zhao ve ark 2011).

Mikroemülsiyonlarda en kritik nokta, bileşenlerinde kullanılan sürfaktan miktarının yüksek olmasıdır. Ancak iyi tolere edilebilen sürfaktanların seçilmesi ile bu taşıyıcı sistemlerin kullanımı başarıyla gerçekleşmiştir (Sintov ve Botner 2006). Sürfaktanlar hücreler arası lipitleri sıvılaştırarak *stratum corneum* un bariyer fonksiyonunu azaltabilirler. İyonik olmayan sürfaktanların deri üzerindeki etkilerinin daha az olduğu bilinmektedir (Bolzinher ve ark 1998).

Labrasol ve Transcutol P topikal formülasyonlarda sıklıkla kullanılan yardımcı maddelerdir. Transcutol P'nin, topikal ve transdermal uygulamada toksik olmayan, deri ile biyolojik olarak uyumlu, polar ve polar olmayan çözücüler ile karışabilen güçlü bir çözücü olduğu bildirilmiştir (Wiechers 1989; Escribano ve ark 2003; Hathout ve ark 2010a; www.gattefosse.com). Bu nedenle Transcutol P bir çok ilacın çözünmesinde etkili bir yardımcı çözücüdür (Escribano ve ark 2003; Hathout ve ark 2010b) ve mikroemülsiyon formülasyonlarında ko-sürfaktan olarak geniş kullanıma sahiptir (Yuan ve ark 2006). Bu nedenle çalışmamızda da güvenilir olarak tanımlanan sürfaktan ve kosürfaktan maddeler seçilmiştir.

Damlacık boyutunun küçük olması mikroemülsiyon formülasyonlarında deriden permeasyon açısından önemlidir (Paolino ve ark 2002). Damlacık boyutunun küçüklüğü ve mikroemülsiyonlardaki yağlı iç fazın yüksek miktarda oluşu damlacık yoğunluğunu ve yüzey alanını arttırır (Peltola ve ark 2003) ve dolayısı ile bu durum ilaçların deriden geçişini etkileyebilir. Aynı bileşenlerin farklı konsantrasyonları ile hazırlanan mikroemülsiyonlar ilacın permeabilite oranını farklı etkiler. Ayrıca penetrasyon arttırıcının yüzdesinin düşük olması da deriden geçen ilaç miktarını etkileyebilir (Kogan ve Garti 2006).

O-D formülasyonun daha yüksek akıya sahip olması kullanılan S/Ko-S oranının 1:2 olması ihtimalini akla getirse de, aynı orana sahip O-E formülasyonu ile daha düşük etodolak akısı olduğu gözlendi. Bunun nedeni daha yüksek su yüzdesinden dolayı O-E'nin damlacık boyutunun O-D'nin damlacık boyutundan daha büyük olması ile açıklanabilir. Nitekim, O-D çalışmamızda hazırlanan mikroemülsiyonlar içinde damlacık boyutu en küçük olan formülasyondur.

Fick'in birinci yasasına göre formülasyonun yardımcı maddeleri *stratum corneum* a geçiyorsa derideki lipitlerin paketsi yapısına zarar vererek daha sıvı bir hal almasına neden olur ve difüzyon katsayısı artar (Hadgraft 1999).

Yağ fazının etkin maddeyi çözebilme kapasitesinin yüksek olması istenir. Bunun nedeni, daha az miktarda formülasyon uygulanması ile terapötik etki elde edilebilmesini sağlayabilmektir (Zhao ve ark 2011). Mikroemülsiyonlar bileşenlerindeki bu maddelerin özelliklerine bağlı olarak ilaçların deriden permeasyonunu arttırabilir (Peltola ve ark 2003). Doymuş ve doymamış yağ asitleri (sırasıyla laurik asit ve oleik asit) gibi yağların aynı zamanda penetrasyon arttırıcı olarak da kullanıldığı dikkat

çekmektedir. Bu yağlar *stratum corneum* un lipit tabakasının hidrofobik kuyruk kısımlarına girer, lipit yapıdaki dizilimi bozar, yüksek permeabilite sağlayan yolları arttırcak şekilde lipit bariyeri kısımlara ayırarak harap eder, membranın akışkanlığını arttırır ve deriden geçecek olan bileşiklerin difüzyon direncini düşürür (Escribano ve ark 2003; Peltola ve ark 2003; Hathout ve ark 2010b). Oleik asit alkil zincirinde bükülmeye neden olan C9 daki çift cis bağlarından dolayı, deri lipitlerini daha etkili parçaladığı için laurik aside göre daha iyi bir penetrasyon arttırıcı olarak gösterilmektedir (Escribano ve ark 2003). Penetrasyon arttırıcıların genel mekanizması hücreler arası lipit tabakası ve hücre içi proteinleri etkileyerek ilacın *stratum corneum* daki partisyonunu arttırmaktır (Zhu ve ark 2008).

O-A formülasyonu en büyük damlacık boyutuna sahip olmasına rağmen, yüksek akı gösterdi. Bunun nedeni mikroemülsiyon bileşimindeki oleik asitin miktarının çok yüksek olması ile açıklanabilir. O-B ve O-C formülasyonlarını kıyasladığımızda, O-C'nin damlacık boyutu daha küçük olmasına rağmen O-B kodlu mikroemülsiyon daha yüksek etodolak akısı sağladı. Bunun iki nedeni olabilir: İlki O-B'nin su oranının yüksek olmasına bağlı olarak derinin hidratasyonu ve buna bağlı olarak etkin maddenin geçişinin artmasıdır. İkinci olasılık ise O-C formülasyonunun toplam S/Ko-S oranının daha yüksek olmasıdır. Ayrıca, O-C formülasyonunun viskozitesinin daha yüksek olması da etodolak akısını etkileyen faktörler arasında sayılabilir.

Mevcut çalışmalara göre mikroemülsiyondaki sürfaktan oranı arttıkça mikroemülsiyon içerisindeki ilacın termodinamik aktivitesindeki azalmaya bağlı olarak ilaç akısı azalır (Chen ve ark 2004; Zhao ve ark 2011). Ancak O-B formülasyonu O-C formülasyonundan sonra en yüksek S/Ko-S oranına sahip olmasına rağmen, diğer formülasyonlardan daha yüksek akı gösterdi (Şekil 4-50). Bunun nedeni bu mikroemülsiyonun düşük viskozitesi ile ilişkilendirilebilir. Zhao ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada benzer bir sonuç elde edilmiştir ve çift tabakalı mikroemülsiyondan ilaç difüzyonunun hız sınırlayıcı basamak olabileceği, nitekim viskozitenin ilaç salımının kontrol edilmesinde önemli rol oynadığı vurgulanmıştır. Çalışmamızda da S/Ko-S oranının yüksek olmasına bağlı olarak ilaç akısında artış gözlenmesi bu şekilde açıklanabilir. Bunun nedeni kullanılan sürfaktan miktarındaki artışla elde edilen viskozitenin daha önceki çalışmalarda elde edilen viskozite kadar artmamış olmasıdır (Zhao ve ark 2011). Ayrıca kullanılan ko-sürfaktan yani Transcutol

P'nin penetrasyon arttırıcı etkisi de akının daha yüksek olmasına neden olmuş olabilir. (Güngör ve Bergişadi 2004).

Etkin maddenin mikroemülsiyon bileşenleri içerisindeki çözünürlüğü de deriden permeasyonu arttırır, destekler (Peltola ve ark 2003). Donör kompartmandaki konsantrasyon gradiyentinin artması deriden akıyı (flux) arttırır (Hadgraft 1999; Peltola ve ark 2003; Chen ve ark 2006; Kogan ve Garti 2006). Çünkü konsantrasyon garadiyentinin yüksek oluşu mikroemülsiyonların deriye permeasyonunun ana mekanizması olabilir (Chen ve ark 2006). O-F formülasyonun su içeriğinin yüksek olmasından dolayı etkin madde yükleme kapasitesi %3 tür. Bu nedenle O-B ile kıyaslandığında çok daha düşük akıya sahip olduğu saptandı (Şekil 4-50 ve Tablo 4-52). O-F formülasyonu daha düşük viskozitede olmasına rağmen, en düşük etodolak akısına sahiptir. Bunun nedeni düşük ilaç yükleme kapasitesinin yanı sıra, toplam S/Ko-S oranının en düşük olduğu formülasyon olması ve bileşimindeki Transcutol P'nin miktarının düşük olması olarak açıklanabilir.

Viskozitesi daha düşük olan sistemlerden etkin madde salımı daha hızlıdır (Kogan ve Garti 2006; Taş ve ark 2007). Jel ya da izotropik jel sistemlerin viskoziteler yüksek ve etkin maddenin salımı yavaştır (Kogan ve Garti 2006). Mikroemülsiyonların jel formuna getirilmesi viskozitesini arttırır ancak deriden permeasyonunda düşüşe neden olur (Peltola ve ark 2003).

En yüksek permeabilite katsayısına sahip olan O-D formülasyonun uygulanmasını takiben elde edilen gecikme süresi de kısadır (Tablo 4-52). Ancak O-D formülasyonunun 3 aylık stabilite değerleri dikkate alındığında 455,40 nm olduğu gözlendi ve bu nedenle çalışmamızda hazırlanan formülasyonlar içinde O-B'nin etodolak'ın topikal uygulanması için daha ideal bir taşıyıcı olabileceğine karar verildi.

Çalışmamızda elde edilen permeasyon verileri değerlendirildiğinde; sentetik membran ve deri ile yapılan çalışmalara ait sonuçlar karşılaştırıldığı zaman formülasyonlardan etkin maddenin salım hızı ile deriden geçiş hızları arasında (akı) farklılık olduğu gözlendi (Şekil 4-49 ve Şekil 4-50). Bu durumun formülasyon bileşenlerinin deri üzeridne oluşturdukları permeasyon arttırıcı etkisine, bir başka ifadeyele *stratum corneum* un bariyer etkisini sağlayan yapısındaki lipit tabaka ile etkileşimine bağlı olabileceği düşünülmektedir (Heuschkel ve ark. 2008). Ayrıca korneositlerin hidratasyonu da deriden geçişi etkileyen bir faktör olduğu için,

formülasyonlardaki su yüzdelerindeki farklılığın da etkili olması söz konusudur (Hadgraft 1999; Lionberger ve Brenannan 2010).

Permeasyon çalışması bulgularını yorumlayabilmek ve mikroemülsiyonların deri üzerindek etkilerini gösterebilmek için *in vitro* permeasyon çalışmasını takiben deri örnekleri ATR-FTIR spektroskopisi ile analiz edildi. ATR-FTIR spektroskopisi, *stratum corneum* un moleküler bileşimindeki farklılıkları inceleyebilen spektroskopik bir yöntemdir. Bu farklılıklar derinin anatomik bölgesine ve tabakalı yapısının derinliğine göre ve zamana göre değişkenlik gösterir ve dokunun biyoloji ve fizyolojisini değerlendirebilmek açısından önem taşır. ATR-FTIR deri yüzeyini 5000 ile 600 cm^{-1} spektral aralıkta hızlı bir şekilde değerlendirmek için kullanılır (Brancaleon ve ark 2001).

ATR-FTIR kullanılarak derinin hidratasyonu hakkında bilgi veren su moleküllerimin OH bantlarına ait absorbsiyon ölçümü yapılabilir. OH bantları yaklaşık 3300 cm^{-1}'de pik oluşturur. Lipitlerin (seramitler, fosfolipitler vs.) alifatik zincirlerinden kaynaklanan asimetrik ve simetrik bantlar sırasıyla 2920 cm^{-1} ve 2850 cm^{-1}'de pik oluşturur. Bu pikler lipit tabakasının iç bileşimi hakkında bilgi verir. Pek çok lipitte (trigliserit, fosfolipit, yağ asitleri) bulunan karbonil (C=O) bağlarından kaynaklanan pikler 1740 cm^{-1} ve 1710 cm^{-1}'de gözlenir. (Brancaleon ve ark 2001; Hathout ve ark 2010b; Kaushik ve Michniak-Kohn 2010).

Deri bariyerinin moleküler biyofiziği FTIR ile oldukça yoğun biçimde araştırılmaktadır. ATR-FTIR spektroskopisi, gerek *in vivo* gerekse *in vitro* koşullarda gerçekleştirilen deri çalışmalarında, *stratum corneum* un hücreler arası lipitlerinin moleküler organizasyonu hakkında doğrudan bilgi sağlayan önemli bir biyofiziksel yöntemdir. *Stratum corneum* lipitlerinin biçimsel düzeni konusunda en fazla bilgi veren absorbanslar 2920 ve 2850 cm^{-1} de yer alan asimetrik ve simetrik CH_2 gerilme bantlarıdır.

Çalışmamızda hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonları, CH_2 asimetrik ve simetrik gerilme bantlarında daha yüksek dalga numarasına kaymaya yol açmışlardır. Mikroemülsiyon uygulaması ile görülen kayma formülasyonda yer alan yağ, sürfaktan ve ko-sürfaktanların yol açtığı kaymadan daha fazladır (Tablo 4-53). Bu da mikroemülsiyon bileşenlerinin bir arada sinerjik etki göstererek *stratum corneum*

hücreler arası lipitlerinin alkil zincirlerinde daha fazla akışkanlığa yol açtıklarını düşündürmektedir.

Mikroemülsiyon uygulaması yapılan deride CH_2 simetrik gerilme bantlarının absorbans değerlerinde kontrol derisi ile karşılaştırıldığında ortaya çıkan 3-4 cm^{-1}'lik kayma *stratum corneum* lipitlerinin sıvı kristal fazda olduklarını ve hücreler arası lipit bölgenin akışkanlığının arttığını göstermektedir.

%30.6 oranlarında Labrasol ve Transcutol (1:1) içeren ve su içeriği fazla olan (%32) O-B formülasyonu ile yapılan uygulama, CH_2 simetrik gerilme bandının bozulmasına yol açmıştır. Benzer şekilde söz konusu gerilme bantlarındaki bozulma sadece Labrasol uygulaması sonrası da görüldü. Bu durum Labrasol ün amfifilik özelliği ve düşük viskozitesinden dolayı deri lipitleri ile kolay karışmasına bağlanabilir. Etodolak'ın deriden geçiş hızı açısından en yüksek ikinci akı değerini sağlayan mikroemülsyon O-B kodlu formülasyondur. Bu veri de göz önüne alındığında; O-B formülasyonun da *stratum corneum* lipitleri ile daha fazla karışabildiği ve bu şekilde etkin maddenin deriden geçişine katkıda bulunduğu öne sürülebilmektedir.

Sonuç olarak elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; sırası ile yağ fazı, S ve Ko-S olarak OA, Labrasol ve Transcutol P içeren etodolak yüklü mikroemülsiyon formülasyonun ilacın oral uygulanan preparatlarına alternatif topikal taşıyıcı bir sistem olarak önerilebileceği gösterilmiştir.

6. KAYNAKLAR

Alam, S., Iqbal, Z., Ali, A., Khar, R.K., Ahmad, F.J. ve Akhter, S. (2010). Microemulsion as a potential transdermal carrier for poorly water soluble antifungal drug itraconazole. *Journal of Dispersion Science and Technology*, **31**, 84-94.

Ağabeyoğlu, İ. (2002). Transdermal sistemler. İçinde A.Z. Gürsoy (Ed.), *Kontrollü Salım Sistemleri.* İstanbul: Elma Bilgisayar Basım ve Ambalaj San. Tic. Ltd. Şti.; 239-260.

Ağabeyoğlu, İ. (2007). Biyofamasötik. İçinde Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi Yayını, *Modern Farmasötik Teknoloji.* Ankara: Fersa Matbaacılık Ltd. Şti; 408-457.

Bachhav, Y.G. ve Patravale, V.B. (2010). Formulation of meloxicam gel for topical application: in vitro and in vivo evaluation. *Acta Pharmaceutica*, **60**, 153-163.

Balfour, J.A. ve Buckley, M.M. (1991). Etodolac: A reappraisal of its pharmacology and therapeutic use in rheumatic diseases and pain state. *Drugs*, **42,** 274-299.

Barakat, N.S. (2009). In vitro and in vivo characteristics of a thermogelling rectal delivery system of etodolac. *American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSciTech, **10,*** 724-731.

Barbero, A.M. ve Frasch, H.F. (2009). Pig and guinea pig skin as surrogates for human in vitro penetration studies: a quantitative review. *Toxicology in Vitro*, **23**, 1-13.

Baroli, B., Lopéz-Quintela, M.A., Delgado-Charro, M.B., Fadda, A.M. ve Blanco-Méndez, J. (2000). Microemulsions for topical delivery of 8-methoxsalen. *Journal of Controlled Release,* **69**, 209-218.

Barry, B.W. (2001). Novel mechanism and devices to enable succesful transdermal delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **14**, 101-114.

Benson, H.A.E. (2012). Skin Structure, Function, and Preparation. İçinde Benson, H.A.E ve Watkinson, A.C.(Ed.), Transdermal and Topical Drug Delivery: Principles and Practice. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.; 3-22.

Bolzinger, M.A., Carduner, T.C. ve Poelman, M.C. (1998). Biocontinuous sucrose ester microemulsion: a new vehicle for topical delivery of niflumic acid. *International Journal of Pharmaceutics,* **176**, 39-45.

Bolzinger, M.A., Briançon, S., Pelletier, J., Fessi, H. ve Chevalier, Y. (2008). Percutaneous release of caffeine from microemulsion, emulsion and gel dosage forms. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **68**, 446-451.

Boni, J.P., Korth-Bradley, J.M., Martin, P., Simcoe, D.K.,. Richards, L.S., Rennebohm, R. ve ark. (1999). Pharmacokinetics of Etodolac in Patients with Stable Juvenile Rheumatoid Arthritis. *Clinical Therapeutics***, 21**, 1715-1724.

Brancaleon, L., Bamberg, M.P., Sakamaki, T. ve Kollias, N. (2001). Attenuated total reflection-fourier transform infrared spectroskopy as a possible method to investigate biophysical parameters of stratum corneum in vivo. *Journal of Investigative Dermatology,* **116**, 380-386.

Brocks, D.R. ve Jamali, F. (1994). Etodolac clinical pharmacokinetics. *Clinical Pharmacokinetics,* **26,** 259-74.

Brodell, L.A. ve Rosenthal, K.S. (2008). Skin structure and function the body's primary defense against infection. *Infectious Diseases in Clinical Practice*, **16**, 113-117.

Brown, M.B., Martin, G.P., Jones, S.A. ve Akomeah, F.K. (2006). Dermal and transdermal drug delvery systems: current and future prospects. *Drug Delivery*, **13,** 175-187.

Cao, F-H., OuYang, W-Q., Wang, Y-P., Yue, P-F. ve Li, S-P. (2011). A combination of a microemulsion and a phospholipid complex for topical delivery of oxymatrine. *Archieves of Pharmacal Research,* **34,** 552-562.

Carlucci, G. (2009). Analytical procedure for determination of cyclooxgenase-2 inhibitors in biological fluids by high performance liquid chromatography: a review. *Anti-Inflammatory & Anti- Allergy Agents in Medicinal Chemistry*, **8**, 22-37.

Cheatum, D.E., Arvanitakis, C., Gumpel, M., Stead, H. ve Geis, G.S. (1999). An endoscopic study of gastroduodenal lesions induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clinical Therapeutics*, **21,** 992-1003.

Chen, H., Chang, X., Weng, t., Zhao, X., Gao, Z., Yang, Y., Xu, H. ve Yang, X. (2004). A study of microemulsion systems for transdermal delivery of triptolide. *Journal of Controlled Release,* **98**, 427-436.

Chen, H., Chang, X., Du, D., Li, J., Xu, H. ve Yang, X. (2006). Microemulsion-based hydrogel formulation of ibuprofen for topical delivery. *International Journal of Pharmaceutics,* **315**, 52-58.

Çapan, Y. (2002). Kontrollü salım sistemlerinin salım mekanizmaları ve kullanılış yolları. İçinde A.Z. Gürsoy (Ed.), *Kontrollü Salım Sistemleri*. İstanbul: Elma Bilgisayar Basım ve Ambalaj San. Tic Ltd. Şti.; 41-64

Çırpanlı, Y., Robineau, C., Çapan, Y. ve Çalış, S. (2009). Etodolac loaded poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles: formulation and in vitro characterization. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy,* **29,** 105-114.

Çomoğlu, T. ve Gönül, N. (1997). Microemulsions. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara,* **26,** 95-108.

Dalmora, M.E., Dalmora, S.L. ve Oliveira, A.G. (2001). Inclusion complex of piroxicam with β-siklodextrin and incorporation in cationic microemulsion. in vitro drug release and in vivo topical anti-inflammatory effect. *International Journal of Pharmaceutics*, **222**, 45-55.

Dannhardt, G. ve Kiefer, W. (2001). Cyclooxygenase inhibitors- current status and future prospects. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **36**, 109-126.

Değim, T. (2007). Deriden emilim ve deriye uygulanan yarı katı preparatlar. İçinde Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi Yayını, *Modern Farmasötik Teknoloji.* Ankara: Fersa Matbaacılık Ltd. Şti.; 337-364.

Desai, P.P., Date, A.A. ve Patravale, V.B. (2012). Overcaming poor oral bioavailability using nanoparticle formulations-opportunities and limitations. *Drug Discovery Today*: Technolgies, **9**, e87-e95.

Djordjevic, L., Primorac, M., Stupar, M. ve Krajisnik, D. (2004). Characterization of caprylocaproyl macrogliserides based microemulsion drug delivery vehicles for an amphihilic drug. *International Journal of Pharmaceutics*, **271**, 11-19.

El Maghraby, G.M. (2008). Transdermal delivery of hydrocortisone from eucalyptus oil microemulsion: Effects of cosurfactants. *International Journal of Pharmaceutics*, **355**, 285-292.

El Maghraby, G.M. (2010). Self-microemulsifying and microemulsion systems for transdermal delivery of indomethacin: effect of phase transition. *Colloidals and Surfaces B: Biointerfaces,* **75**, 595-600.

Elshafeey, A.H., Kamel, A.O. ve Fathallah, M.M. (2009). Utility of nanosizde microemulsion for transdermal delivery of tolteradine tartrate: *ex-vivo* permeation and in-vivo pharmacokinetic studies. *Pharmaceutical Research*, **26,** 2446-2453.

Escribano, E., Calpena, A.C., Queralt, J., Rossen, O. ve Deménech, J. (2003). Assesment of diclofenac permeation with different formulations: anti-inflammatory study of a selected Formula. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **19**, 203-210.

Esposito, E., Bortolotti, F., Menegatti, E. ve Cortesi, R. (2003). Amphiphilic association systems for amphotericin B delivey. *International Journal of Pharmaceutics*, **260**, 249-260.

Fosbol, E.L., Gislason, G.H., Jacobsen, S., Abildstrom, S.Z., Hansen, M.L., Schramn, T.K. ve ark. (2008). The pattern of use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) from 1997 to 2005: a nationwide study on 4,6 million people. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*, **17,** 822-833.

Garcia, J.B., Saraiva, M.L.M.F.S. ve Lima, J.L.F.C. (2006). Determination and antioxidant activity evaluation of etodolac, an anti-inflammatory drug, by sequential injection analysis. *Analytica Chimica Acta*, **573-574**, 371-375.

Goebel, A.S.B., Neubert, R.H.H. ve Wohlrab, J. (2011). Dermal targeting of tacrolimus using colloidal carrier systems. *International Journal of Pharmaceutics,* **404**, 159-168.

Gradzielski, M. (2008). Recent developments in the characterisation of microemulsions. *Current Opinion in Colloidal & Interface Sciences,* **13**, 263-269.

Grubauer, G., Elias, P.M. ve Feingold, K.R. (1989). Transepidermal water loss: the signal for recovery of barrier structure and function. *Journal of Lipid Research*, **30**, 323-333.

Güngör, S. ve Bergişadi, N. (2004). Effect of penetration enhancers on in vitro percutaneous penetration of nimesulide through rat skin. *Pharmazie*, **59**, 39-41

Güngör, S., Erdal, M.S. ve Özdin, D. (2011). Derinin yapısının aydınlatılması ve geçirgenliğinin değerlendirilmesinde kullanılan biyofiziksel yöntemler. *Türkiye Klinikleri Dermatoloji Dergisi*, **21,** 25-39

Guy, R.H. (1996). Current status and future prospects of transdermal drug delivery. *Pharmaceutical Research*, **13**, 1765-1769.

Hadgraft, J. (1999). Passive enhancement strategies in topical and transdermal drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, **184**, 1-6.

Hadgraft, J., Plessis, J. ve Goosen, C. (2000). The selection of non-steroidal anti-inflammatory agents for dermal delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, **207**, 31-37.

Hadgraft, J. ve Guy, R.H. (2003). Feasibility assessment in topical and transdermal delivery: mathematical models and *in vitro* studies. İçinde R.H.Guy ve J. Hadgraft (Ed.), *Transdermal Drug Delivery*. (2nd ed.). New York, USA: Marcel Dekker, Inc.

Hathout, R.M., Woodman, T.J., Mansour, S., Mortada, N.D., Geneidi, A.S. ve Guy, R.H. (2010a). Microemulsion formulations for the transdermal delivery of testosteron. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **40**, 188-196.

Hathout, R.M., Mansour, S., Mortada, N.D., Geneidi, A.S. ve Guy, R.H. (2010b). Uptake of microemulsion components into the stratum corneum and their molecular effects on skin barrier function. *Molecular Pharmaceutics*, **7**, 1266-1273.

Hathout, R.M., Mansour, Geneidi, A.S. ve Mortada, N.D. (2011). Visualization, dermatopharmacokinetic analysis and monitoring the conformational effects of a microemulsion formulation in the skin stratum corneum. *Journal of Colloid and Interface Science*, **354**, 124-130.

Hawkey, C.J. (2002). Cyclooxygenase inhibition: between the devil and the deep blue sea. *Gut*, **50 (Suppl III**), iii25-iii30.

Heuschkel, S., Goebel, A. ve Neubert, R.H.H (2008). Microemulsion-modern colloidal carrier for dermal and transdermal drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **7,** 603-631.

Heuschkel, S., Wohlrab, J. ve Neubert, R.H.H. (2009). Dermal and transdermal targeting of dihydroavenanthramide D using enhancer molecules and novel microemulsions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **72**, 552-560.

Heyneman, C.A., Lawless-Liday, C. ve Wall, G.C. (2000). Oral versus topical NSAIDs in rheumatic diseases. *Drugs*, **60,** 555-574.

Hooper, L., Brown, T.J., Elliott, R., Payne, K., Roberts, C. ve Symmons, D. (2004). The effectiveness of five strategies for the prevention of gastrointestinal toxicity induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: systematic review. *British Medical Journal*, **329**, 948-957.

Hua, L., Weisan, P., Jiayu, L. ve Hongfei, L. (2004). Preparation and evaluation of microemulsion of vinpocetine for transdermal delivery. *Pharmazie*, **59**, 274-278.

http://clinicaltrials.gov/show/NCT01161615 Erişim19/03/2013.

http://www.drugbank.ca/drugs/DB00749 Erişim 08.05.2013.

http://www.gattefosse.com/media/document/regulatory-summary-table-topical.pdf Erişim 03.04.2012

http://www.pharma-ingredients.basf.com/Products.aspx Erişim27.03.2012

http://www.sigmaaldrich.com (Product Information Sheet), Erişim03.04.2012

ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1). 2005.

http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf Erişim 01.03.2013

Inoue, N., Ito, S., Tajima, K., Nogawa, M., Takahashi, Y., Sasagawa, T. ve ark. (2009). Etodolac attenuates mechanical allodynia in a mouse model of neuropathic pain. *Journal of Pharmacological Sciences*, **109**, 600-605.

Inoue, N., Nogawa, M., Ito, S., Tajima, K., Kume, S. ve Kyoi, T. (2011). The enantiomers of etodolac, a racemic anti-inflammatory agent, play different roles in efficacy and gastrointestinal safety. *Biological Pharmaceutical Bulletin*, **34**, 655-659.

İbrahim, M.M., El-Nabarawi, M., El-Setouhy, D.A. ve Fadlalla, M.A. (2010). Polymeric surfactant based etodolac chewable tablets: formulation and *in vivo* evaluation. *American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSciTech*, **11**, 1730-1737.

Jager, M.W., Ponec, M. ve Bouwstra, J.A. (2007). The lipit organization in startum corneum and model systems based on ceramides. İçinde Touitou, E. ve Barry, B.W. (Ed.), *Enhancement in Drug Delivery*. New York: CRC Press; 217-232.

Kantarcı, G.,Karasulu, H.Y., Özgüney, I. ve Güneri, T. (2002). Phase behaviour of microemulsion systes containing short-chain alcohols as co-surfactant. *Acta Pharmaceutica Turcica*, **44**, 77-85.

Kaushik, D. ve Michniak-Kohn, B. (2010). Percutaneous penetration modifiers and formulation effects: thermal and spectral analyses. *American Assosiation of Pharmaceutical Scientists*, **11**, 1068-1083.

Kawakami, K., Yoshikawa, T., Moroto, Y., Kanaoka, E., Takahashi, K., Nishihara, Y. ve ark. (2002). Microemulsion formulation for enhanced absorbtion of poorly soluble drugs I.prescription design. *Journal of Controlled Release*, **81**, 65-74.

Kogan, A ve Garti, N. (2006). Microemulsions as transdermal drug delivery. *Advances in Colloid and Interface Science,* **123-126**, 369-385.

Kreilgard, M., (2002). Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **54 Supp. l**, S77-S98.

Lawrence, M.J. (1996). Microemulsions as drug delivery vehicles. *Current Opinion in Colloid and Interface Science,* **1**, 826-832.

Lawrence, M.J. ve Rees, G.D. (2012). Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **64**, 175-193.

Lee, C.M. ve Maibach, H.I. (2006). Deep percutaneous penetration into muscle and joints. *American Pharmacist Association Journal of Pharmaceutical Sciences*, **95**, 1405-1413.

Lee, H-S., Kang, I-M., Lee, H-W., Seo, J-H., Ryu, J-H., Choi, S-J. ve arkadaşları. (2008). Development and validation of a high performance liquid chromatography-

tandem mass spectrometry for the determination of etodolac in human plasma. *Journal of Choromatography B*, **863**, 158-162.

Lehmann, L., Keipert, S. ve Gloor, M. (2001). Effects of microemulsions on the stratum corneum and hydrocortisone penetration. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **52**, 129-136.

Li, Q., Tsuji, H., Kato, Y., Sai, Y., Kubo, Y. ve Tsuji, A. (2006). Characterizaton of the transdermal transport of flurbiprofen and indomethacin. *Journal of Controlled Release*, **110**, 542-556.

Lindhagen, E., Rickardson, L., Elliott, G., Leoni, L., Nygren, P., Larsson, R. ve arkadaşları. (2007). Pharmacological profiling of novel non-COX-inhibiting indole-pyran analogues of etodolac reveals high solid tumour activity of SDX-308 in vitro. *Investigational New Drugs*, **25,** 297-303.

Lionberger, D.R. ve Brennan, M.J. (2010). Topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of pain due to soft tissue injury: diclofenac epolamine topical patch. *Journal of Pain Research*, **3**, 223-233.

Lúcio, M., Ferreira, H., Lima, J.L.F.C. ve Reis, S. (2008). Use of liposomes as membrane models to evaluate the contribution of drug-membrane interactions to antioxidant properties of etodolac. *Redox Report*, **13 ,** 225-236.

Luo, M., Shen, Q. ve Chen., J. (2011). Transdermal delivery of paenol using cubic gel and microemulsion gel. *International Journal of Nanomedicine*, **6**, 1603-1610.

Magari, H., Shimizu, Y., Inada, K., Enomoto, S., Tomeki, T., Yanaoka, K. ve ark. (2005). Inhibitory effect of etodolac, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, on stomach carcinogenesis in *Helicobacter pylori*-infected mongolian gerbils. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **334**, 606-612.

Martindale The Complete Drug Delivery (2005). (34th ed.), Londra, pp 37-38

Matsuyama, M., Yoshimura, R., Hase, T., Chargut, J., Yoshimura, N. ve Touraine, J-L. (2010). Administration of selective cyclooxigenase (COX)-2 inhibitor etodolac prolongs cardiac allograft survival in a mouse model. *Molecuar Medicine Reports*, **3**, 771-774.

Massey, T., Derry, S., Moore, R.A ve McQuay,H.J. (2010). Topical NSAIDs for acute pain in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 16, Art. No: CD007402.

Moore, R.A., Tramér, M.R., Carroll, D., Wiffen, P.J. ve McQuay, H.J. (1998). Quantitive systematic review of topically applied non-steroidal anti-inflammatory drugs. *British Medical Journal,* **316**, 333-338.

Moulik, S.P ve Paul, B.K. (1998). Structure, Dynamics and transport properties of microemulsions. *Advences in Colloidal and Interface Science*, **78**, 99-195.

Naik, A., Kalia, Y. ve Guy, R.H. (2000) Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function. *Pharmaceutical Science and Technology Today,* **3,** 318-326.

Norlén, L., (2001). Skin barrier structure and function: the single gel phase model. *Journal of Investigative Dermatology*, **117**, 830-836.

Obata, Y., Takahashi, S., Ishida, K. ve Takayama, K. (2009). Evaluation of the structure and barrier function of a skin care formulation containing optically active ceramide 2 and cholesterol. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **4**, 292-299.

Okamoto, A., Shirakawa, T., Bito, T., Shigemura, K., Hamada, K., Gotoh, A. ve arkadaşları. (2008). Etodolac, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, induces upregulation of E-cadherin and has antitumor effect on humn bladder cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Urology*, **71**, 156-160.

Okyar, A., Özsoy, Y. ve Güngör, S. (2011). Novel formulation aproaches for dermal and transdermal delivery of non-steroidal anti-inflammatory drugs. İçinde A.B. Lemmey (Ed.) *Rheumatoit Artritis –Treatment.* Rijeka, Hırvatistan: InTech, 1-25.

Otto, A., Plessis, J. ve Wiechers, J.W. (2009). Formulation effects of topical emulsions on transdermal and dermal delivery. *International Journal of Cosmetic Science*, **31**, 1-19.

Paolino, D., Ventura, C.A., Nistico, S.,Puglisi, G. ve Fresta, M. (2002). Lechitin microemulsions for the topical administration of ketoprofen: percutaneous adsorbtion through human skin and in vivo human skin tolerability. *International Journal of Pharmaceutics*, **244**, 21-31.

Patel, D.R., Patel, N.M., Patel, M.R. Patel, K.R. ve Shah, S.B.M. (2011) Microemulsions: a novel drug carrier system. *International Journal of Drug Formulation and Research*, **2,** 41-56

Peltola, S., Saarinen-Savolainen, P.,Kiesvaara, J., Suhonen, T.M. ve Urtti, A. (2003). Microemulsions for topical delivery of estradiol. *International Journal of Pharmaceutics*, **254**, 99-107.

Prince, L.M. (1970). Microemulsions. *Journal of the Society of the Cosmetic Chemists*, **21**, 193-204.

Rao, Y.S., Deepthi, K.S. ve Chowdary, K.P.R. (2009). Microemulsions: a novel drug carrier system. *International Journal of Drug Delivery Technology*, **1**, 39-41.

Rawlings, A.V. ve Harding, C.R. (2004). Moisturization and skin barrier function. *Dermatologic Therapy*, **17**, 43-48.

Rawlings, A.V. (2006). Ethnic skin types: are there differences in skin structure and function?. *International Journal of Cosmetic Science*, **28**, 79-93.

Rhee, Y.-S., Choi, j.-G., Park, E.-S. ve Chi, S.-C. (2001). Transdermal delivery of ketoprofen using microemulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, **228**, 161-170.

Rosano, H.L., Cavallo, J.L., Chang, D.L. ve Whittam, J.H. (1988). Microemulsions: a commentary on their prepataion. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **39**, 201-209.

Rowe, R.C., Sheskey, P.J. ve Quinn, M.E. (Ed.). (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (6th. ed.).Londra: Pharmaceutical Press, pp 466 ve 592

Santos,P., Watkinson, A.C., Hadgraft, J. ve Lane, M.E. (2008). Application of microemulsions in dermal and transdermal drug delivery. *Skin Pharmacology and Physiology*, **21**, 246-259.

Schattenkirchner, M. (1990). An update safety profile of etodolac in several thousand patients. *European Journal of Rheumatology and Inflammation*, **10**, 56-65.

Schwuger, M.J. ve Stickdorn, K. (1995). Microemulsion in technical processes. *Chemical Reviews*, **95,** 849-864.

Sevgi, F., Yurdasiper, A., Kaynarsoy, B., Turunç, E., Güneri, T. ve Yalçın, A. (2009). Studies on mefenamic acid microparticles: formulation, in vitro release, and in situ studies in rats. *American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSciTech*, **10,** 104-112.

Shabir, G.A. (2003). Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis Understanding the differences and smilaritties between validation requirements of the US food and drug administration, the US pharmacopeia and the international conference on harmonization. *Journal of Chromatography* A, **987**, 57-66.

Shabir, G.A., Lough, W.J., Arain, A.A. ve Bradshaw, T.K. (2007). Evaluation and application in analytical method validation. *Journal of liquid Chromatography and related Technologies*, **30,** 311-333.

Shi, J., Lai, S., Xu, C., Duan, G. ve Li, D. (2004). Pharmacokinetic difference between S (+) and R (-) etodolac in rats. *Acta Pharmacologica Sinica*, **25,** 996-999.

Silva, J.A., Bedor, D.C.G., Damasceno, B.P.G.L., Oliveira, A.G., Egito, E.S.T. ve Santana, D.P. (2010). Physicochemical characterization and development of a microemulsion System for tarnsdermal use. *Journal of Dispersion Science and Technology*, **31**, 1-8.

Sintov, A.C. ve Botner, S. (2006). Transdermal drug delivery using microemulsion and aqueous systems: influence of skin storage conditions on the in vitro permeability of diclofenac from aqueous vehicle systems. *International Journal of Pharmaceutics*, **311**, 55-62.

Sousa, C., Nunes, C., Lucio,M., Ferreira, H., Lima, J.L.F.C., Tavares, J., Cordeiro-Da-Silva, A. ve Reis, S. (2008). Effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the cellular membrane fluidity. *American Pharmacist Association Journal of Pharmaceutical Sciences*, **97**, 3195-3206.

Söğüt-Ertaş, Ö. ve Kayalı, A. (2005). Analitik yöntem geçerliliğine genel bakış. *Ankara Eczacılık Fakültesi Derigisi,* **34,** 41-57.

Strickmann, D.B ve Blaschke, G. (2001). Isolation of an unknown metabolite of the non-steroidal anti-inflammatory drug etodolac and its identification as 5-hydroxy etodolac. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **25**, 977-984.

Tan, Q., Liu, W., Guo, C. ve Zhai, G. (2011). Preparation and evaluation of quercetin-loaded lechitin-chitosan nanoparticles for topical delivery. *International Journal of Nanomedicine*, **6**, 1621-1630.

Taş, Ç., Özkan, Y., Okyar, A. ve Savaşer, A. (2007). In vitro and ex vivo permeation studies of etodolac from hydrophilic gels and effect of terpenes as enhancers. *Drug Delivery*, **14**, 453-459.

Tian, Q., Ren, F., Xu, Z., Xie, Y. ve Zhang, S. (2012). Preparation of high solubilizable microemulsion of naproxen and its solubilization mechanism. *International Journal of Pharmaceutics*, **426**, 202-210.

Tırnaksız, F. (2007). Fazlararası denge ve faz kuralları. İçinde Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi Yayını. *Modern Farmasötik Teknoloji.* Ankara: Fersa Matbaacılık Ltd. Şti.; 105-112.

Tosun, S. (2005). Gastroenteropankreatik nöroendokrin tümörlerde *COX-2* ekspresyonunun immunohistokimyasal olarak araştırılması, klinik ve histopatolojik değişkenlerle karşılaştırılması. (T.C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarı Uzmanlık Tezi).

Tsai, Y., Chang, J.T., Chang, J., Huang, C.,Huang, Y. ve Wu, P. (2011). The effect of component of microemulsions on transdermal delivery of buspirone hydrochloride. *American Pharmacist Association Journal of Pharmaceutical Sciences*, **100**, 2358-2365.

USP Official Monographs Etodolac, Etodolac Extended-Release Tablets. (2009). Revision Bulteni (http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/etodolacTablets.pdf) Erişim tarihi 06/05/2011)

Üstündağ-Okur, N., Apaydın, Ş., Karabay-Yavaşoğlu, N.Ü., Yavaşoğlu, A. ve Karasulu, H.Y. (2011). Evaluation of skin permeation and anti-inflammatory and analgesic effects of new naproxen microemulsion formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, **416**,136-144.

Vane, J.R. (1996). Introduction: mechanism of action of NSAIDs. *British Journal of Rheumatology*, **35 (Suppl.1)**, 1-3.

Vane, J.R., Bakhle, Y.S ve Botting, R.M. (1998). Cyclooxygenases 1 and 2. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, **38**, 97-120.

Waller, J.M. ve Maibach, H.I. (2005). Age and skin structure and function, a quantative approach (I): blood flow, pH, thickness, and ultrasound echogenicity. *Skin Research and Technology,* **11,** 221-235.

Waller, J.M. ve Maibach, H.I. (2006). Age and skin structure and function, a quantitative approach (II): protein, glycosaminoglycan, water, and lipid content and structure. *Skin Research and Technology*,**12**, 145-154.

Watkinson, R.M., Guy, R.H., Hadgraft, J. ve Lane, M.E. (2009). Optimisation of cosolvent concentration for topical drug delivery- II: ınfluence of propylene glycol on ibuprofen permeation. *Skin Pharmacology and Physicology*, **22**, 225-230.

Wertz, P.W. (2000). Lipids and barrier function of the skin. *Acta Dermato Venereologica*, **208**, 7-11.

Wiechers, J.W. (1989). The barrier function of the skin in relation to percutaneous absorbtion of drugs. *Pharmaceutisch Weekblad, Scientific Edition*, **11**, 185-198.

Wilgus, T.A., Koki, A.T., Zweifel, B.S., Kusewitt, D.F., Rubal, P.A. ve Oberyszyn, T.M. (2003). Inhibition of cutaneous ultraviolet B-mediated inflamation and tumor formation with topical celecoxib teatment. *Molecular Carcinogenesis*, **38**, 49-58.

Williams, A.C. (2003). *Transdermal and Topical Drug Delivery: From theory to clinical practice.* London*:* Pharmaceutical Press.

Wu, P., Lin, Y., Chang, J., Huang, Y. ve Tsai, Y. (2010). The effect of component of microemulsion for transdermal delivery of nicardipine hydrochloride. *Drug Delivery and Industrial Pharmacy*, **36**, 1398-1403.

Yazan, Y. (2002). Emülsiyon sistemler. İçinde A.Z. Gürsoy (Ed.), *Kontrollü Salım Sistemleri*. İstanbul: Elma Bilgisayar Basım ve Ambalaj San. Tic Ltd. Şti.; 133-150

Yosipovitch, G. ve Maibach, H.I. (1996). Skin surface pH: a protective acid mantle. *Cosmetic and Toiletries® Magazine,* **111,** 101.

Yuan, Y., Li, S., Mo, F. Ve Zhong, D. (2006). Investigation of microemulsion system for transdermal delivery of meloxicam. *International Journal of Pharmaceutics*, **321**, 117-123.

Zhai, H. ve Maibach, H.I. (2001). Effects of skin occlusion on percutaneous absorbtion: an overview. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, **14**, 1-10.

Zhao, J-H., Ji, L., Wang, H., Chen, Z-Q., Zhang, Y-T., Liu, Y., Feng, N-P. (2011). Microemulsion-based novel transdermal delivery system of tetramehylpyrazine: preparation and evaluation in vitro and in vivo. *International Journal of Nanomedicine*, **6**, 1611-1619

Zhu, W., Yu, A., Wang, W., Dong, R., Wu, J. ve Zhai, G. (2008). Formulation design of microemulsion for dermal delivery of penciclovir. *International Journal of Pharmaceutics*, **360**, 184-190.

HAM VERİLER

FORMLAR

ETİK KURUL KARARI

PATENT HAKKI İZNİ

TELİF HAKKI İZNİ

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Güler	**Soyadı**	Sarıbey
Doğ.Yeri	Tarsus	**Doğ.Tar.**	13/10/1985
Uyruğu	T.C	**TC Kim No**	50329566770
Email	gulersaribey@gmail.com	**Tel**	05052760957

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Doktora		
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2013
Lisans	Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2008
Lise	Muş Anadolu Lisesi	2003

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

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

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***	**KPDS Puanı**	**(Diğer) Puanı**
İngilizce	İyi	İyi	İyi	65	

***Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı	82,52	77,00	70,54
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Microsoft Office	İyi
Graphpad	Orta

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Gitar, Karakalem resim