

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

**BARSAKLARDAN PARASELÜLER İLAÇ
ABSORPSİYONU ÜZERİNE PERMEABİLİTE ARTIRICI
AJANLARIN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ecz. Müge ATEŞ

**Farmasötik Teknoloji Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA
2013**

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

**BARSAKLARDAN PARASELÜLER İLAÇ
ABSORPSİYONU ÜZERİNE PERMEABİLİTE ARTIRICI
AJANLARIN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ecz. Müge ATEŞ

**Farmasötik Teknoloji Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

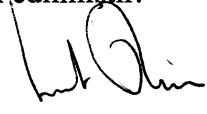



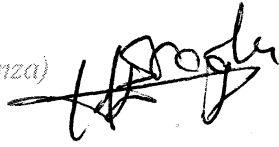
**TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. Selma ŞAHİN**

**İKİNCİ DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Mustafa Sinan KAYNAK**

**ANKARA
2013**


Anabilim Dalı :Farmasötik Teknoloji
 Program :Farmasötik Teknoloji
 Tez Başlığı :Barsaklardan Paraselüler İlaç Absorpsiyonu Üzerine Permealib Artırıcı Ajanların Etkisinin Araştırılması
 Öğrenci Adı-Soyadı :Müge Ateş
 Savunma Sınavı Tarihi :31.07.2013

Bu çalışma jürimiz tarafından yüksek lisans/doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: **Prof.Dr. Levent Öner** (İmza) 
 (H.Ü.Farmasötik Teknoloji ABD)
 Tez danışmanı: **Prof.Dr. Selma Şahin** (İmza) 
 (H.Ü.Farmasötik Teknoloji ABD)
 Üye: **Prof.Dr. İmran Vural** (İmza) 
 (H.Ü.Farmasötik Teknoloji ABD)
 Üye: **Doç.Dr. Zeynep Şafak Teksin** (İmza) 
 (G.Ü.Farmasötik Teknoloji ABD)
 Üye: **Doç.Dr. Hakan Eroğlu** (İmza) 
 (H.Ü.Farmasötik Teknoloji ABD)

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.


 Prof.Dr. Ersin FADILIOĞLU
 Müdür

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım sırasında benden bilgi birikimini ve desteğini esirgemeyip her türlü sıkıntımın giderilmesinde katkıları olan tez danışmanım ve değerli hocam Prof.Dr. Selma Şahin'e,

Çalışmaların planlanması ve yürütülmesindeki katkılarından dolayı, akademik eğitimimin başlangıcından beri hiçbir konuda desteğini esirgemeyen sayın hocam ve ikinci tez danışmanım Yrd.Doç.Dr. Mustafa Sinan Kaynak'a,

Başta Eczacılık Teknolojisi Bölüm Başkanımız Prof.Dr. Süeda Hekimoğlu ve Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Eski Başkanımız rahmetli hocamız Prof.Dr. Nurşen Ünlü ve Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanımız Prof.Dr. Sema Çalış'a,

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma ve sevgili bölüm arkadaşlarıma,

İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde yürüttüğüm tez çalışmalarım sırasında benden desteklerini esirgemeyen, bana her zaman motive etmeye çalışan tüm hocalarıma ve iş arkadaşlarıma,

Tez çalışmalarım ile alakalı olarak analitik yöntem geliştirilmesi çalışmalarında bana yardımcı olan sevgili arkadaşım Arş.Gör. Hatice Çağlar'a,

Yaşamım boyunca her anımda yanımda olan, bana karşı her zaman anlayışlı ve sabırlı davranan ve benden desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme ve sevgili eşim Tuna Ateş'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Tübitak tarafından desteklenmiştir (Proje No: 111S335).

ÖZET

Ateş M., Barsaklardan Paraselüler İlaç Absorpsiyonu Üzerine Permeabilite Artırıcı Ajanların Etkisinin Araştırılması. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Teknoloji Programı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2013. Bu çalışmanın amacı barsaklardan paraselüler ilaç absorpsiyonu üzerine permeabilite artırıcı ajanların etkisinin araştırılmasıdır. Bu amaçla Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi'ne göre Sınıf III (yüksek çözünürlük ve düşük permeabilite) 'de yer alan ve paraselüler yoldan pasif difüzyonla taşınan asiklovir model ilaç olarak kullanılmıştır. Asiklovirin sıçan barsağının farklı segmentlerinden (jejunum, ileum ve kolon) absorpsiyon ve permeabilitesi üzerine polimer ve sürfaktan özellikteki yardımcı maddelerin (suda çözünen kitosan, dimetil β -siklodekstrin, sodyum kaprat, sodyum lauril sülfat) etkisi *in situ* intestinal perfüzyon çalışmalarıyla incelenmiştir. Tüm segmentler simultane olarak önce asiklovir içeren perfüzyon çözeltisiyle daha sonra asiklovir ve permeabilite artırıcı ajan içeren perfüzyon çözeltisiyle perfüze edilmiştir. Tüm perfüzyon çözeltilerine referans madde olarak metoprolol ve fenol kırmızısı eklenmiştir. Asiklovir, metoprolol ve fenol kırmızısının numunelerdeki miktarları valide edilmiş HPLC yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir. Perfüzyon deneylerinden elde edilen bulgular en yüksek permeasyon artırıcı etkinin sodyum kaprata ait olduğunu göstermiştir. Sodyum kaprat, asiklovirin permeabilite değerlerini jejunumda 6.71 kat, ileumda 6.83 kat ve kolonda 4.14 kat artırmıştır. Dimetil β -siklodekstrinin seçilen model ilaç (asiklovir) üzerine permeabilite artırıcı etkisi gözlenmemiştir. Diğer taraftan suda çözünen kitosan ve sodyum lauril sülfatın permeabilite artırıcı etkisi bulunmakla birlikte, permeasyon artışının istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu tek segment ileum olmuştur ($p=0.043$). Jejunum ve kolonda permeasyon artışı gözlenmesine rağmen bu artış anlamlı değildir ($p>0.05$). Bu çalışmadan elde edilen bulgular paraselüler yolla absorplanan ve absorpsiyonu düşük olan ilaçların biyoyararlanımını artırmada permeasyon artırıcı ajanların etkisinin olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Asiklovir, Barsak perfüzyonu, Paraselüler Absorpsiyon, Permeabilite

Bu çalışma Tübitak tarafından desteklenmiştir (Proje No: 111S335).

ABSTRACT

Ateş M., Investigation of Effect of Permeability Enhancing Agents on the Paracellular Drug Absorption in the Intestine. Hacettepe University Health Sciences Institute, M.Sc. Thesis in Pharmaceutical Technology, Ankara, 2013.

The aim of this study was to investigate the effect of permeability enhancers on paracellular drug absorption. For this purpose, acyclovir classified as Class III drug (high solubility and low permeability) according to Biopharmaceutics Classification System and transported via paracellular pathway with passive diffusion was used as the model compound. Effect of excipients with polymer and surfactant properties (chitosan, dimethyl β -cyclodextrin, sodium caprate, sodium lauryl sulphate) on the absorption and permeability of acyclovir across different rat intestinal segments (jejunum, ileum and colon) was investigated using *in situ* intestinal perfusion studies. Initially, all segments were perfused simultaneously with acyclovir containing perfusion medium, and then perfused with acyclovir and permeability enhancer containing perfusion medium. Metoprolol and phenol red were added as the reference compounds to all perfusion mediums. Acyclovir, metoprolol and phenol red amounts in the samples were determined by means of a validated HPLC method. The results obtained from the perfusion studies indicated that sodium caprate has the highest permeability enhancing effect. Sodium caprate increased the permeability values of acyclovir 6.71-fold in jejunum, 6.83-fold in ileum and 4.14-fold in colon. Dimethyl β -cyclodextrin has not demonstrated permeability enhancing effect on the selected model compound (acyclovir). On the other hand, although chitosan and sodium lauryl sulphate have permeability enhancing effect this effect was statistically significant only in the jejunum ($p=0.043$). Even though, increase in permeation was observed in jejunum and colon, this increase was not significant ($p>0.05$). The results obtained from this study indicate that permeation enhancing agents can be effective in increasing bioavailability of compounds with low absorption and absorbed via paracellular route.

Keywords: Acyclovir, Intestinal perfusion, Paracellular absorption, Permeability

This study was supported by TUBITAK (Project No: 111S335).

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLOLAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Gastrointestinal Kanal	4
2.2. Membranlardan Geçiş Mekanizmaları	6
2.2.1. Transselüler Absorpsiyon Mekanizmaları	7
2.2.1.1. Pasif Difüzyon	7
2.2.1.2. Aktif Taşıma	9
2.2.1.3. Kolaylaştırılmış Difüzyon	9
2.2.1.4. Veziküler Taşıma	9
2.2.2. Paraselüler Absorpsiyon	10
2.2.2.1. Sıkı Kavşakların Yapısı	10
2.3. Permeasyon Artırıcı Ajanlar	14
2.3.1. Kitosan ve Türevleri	16
2.3.2. Sodyum Kaprat	19
2.3.3. Sodyum Lauril Sülfat	23
2.3.4. Dimetil β -Siklodekstrin	25
2.4. Asiklovir	28
2.4.1. Fizikokimyasal Özellikler	28
2.4.2. Kalitatif ve Kantitatif Analiz Yöntemleri	28
2.4.3. Farmakolojik Özellikler	29
2.4.4. Klinik Kullanımı ve Dozu	30
2.4.5. Yan Etkiler ve İlaç Etkileşimleri	30

2.4.6. Biyoyararlanımı ve Farmakokinetik Özellikleri	31
3. GEREÇ ve YÖNTEM	34
3.1. Gereçler	34
3.1.1. Kimyasal Maddeler	34
3.1.2. HPLC Gereçleri	34
3.1.3. Perfüzyon Gereçleri	34
3.1.4. Aletler	35
3.1.5. Deney Hayvanı	35
3.2. Yöntem	36
3.2.1. Perfüzyon Çözeltisi	36
3.2.2. <i>In situ</i> Üçlü Barsak Perfüzyonu	37
3.2.3. Yapılacak Ölçümler ve İzlenecek Parametreler	39
3.2.3.1. Asiklovirin Barsaklardan Absorpsiyonunun İncelenmesi Amacıyla	39
Yapılan Çalışmalar	
3.2.3.2. Çalışmada Kullanılan Maddeler İçin Miktar Tayini	43
3.2.3.2.1. Asiklovir	43
3.2.3.2.2. Metoprolol Tartarat	44
3.2.3.2.3. Fenol Kırmızısı	44
3.2.3.2.4. Furosemid	45
3.2.3.3. Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu	46
3.2.3.3.1. Özgüllük (Specificity)	46
3.2.3.3.2. Doğrusallık (Linearity)	48
3.2.3.3.3. Kesinlik (Precision)	49
3.2.3.3.4. Doğruluk (Accuracy)	50
3.2.3.3.5. Duyarlılık (Sensitivity)	51
3.2.3.3.6. Stabilité	51
3.2.4. Veri Analizi	51
3.2.5. İstatistiksel Analiz	53
4. BULGULAR	54
4.1. Çalışmada Kullanılan Maddeler İçin Miktar Tayini	54
4.2. Miktar Tayini Yöntemlerinin Validasyonu	57
4.2.1. Özgüllük	57

4.2.2. Doğrusallık	59
4.2.3. Kesinlik	61
4.2.4. Doğruluk	67
4.2.5. Duyarlılık	68
4.2.6. Stabilite	69
4.3. Perfüzyon Deneylei	70
4.3.1. Kontrol Grubuna Ait Bulgular	72
4.3.2. Deney Gruplarına Ait Bulgular	74
4.3.2.1. Sodyum Lauril Sülfat Grubuna Ait Bulgular	74
4.3.2.2. Sodyum Kaprat Grubuna Ait Bulgular	77
4.3.2.3. Dimetil β -Siklodekstrin Grubuna Ait Bulgular	80
4.3.2.4. Suda Çözünen Kitosan Grubuna Ait Bulgular	83
4.3.3. Asiklovirin Absorpsiyon ve Permeabilitesinin Barsak Segmentlerine Göre Kıyaslanması	86
4.3.4. Net Su Akışı Değerlerine Ait Bulgular	92
5. TARTIŞMA	93
5.1. Analitik Yöntem ve Validasyonu	93
5.2. Üçlü Barsak Perfüzyon Tekniğı	93
5.3. Asiklovirin Barsaklardan Paraselüler Absorpsiyonu ve Permeabilitesini İncelemek Amacıyla Yapılan Çalışmalar	95
5.3.1. Kontrol Grubuna Ait Bulgular	97
5.3.2. Deney Gruplarına Ait Bulgular	99
6. SONUÇLAR	107
KAYNAKLAR	109
ÖZGEÇMİŞ	126
EKLER	127

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BCS	Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi
Caco-2	Kolon adenokarsinom hücre hattı
DMC	Dimetil β -siklodekstrin
LOD	Dedeksiyon limiti
LOQ	Kantitatif olarak tayin edilebilen en düşük konsantrasyon
MDCK	Madin Darby Canine Kidney
NWF	Net su akışı
OBH	Ortalama bağıl hata
Ort	Ortalama
P_{app}	Görünür permeabilite
P_{eff}	Efektif permeabilite
SH	Standart hata
SLS	Sodyum lauril sülfat
SS	Standart sapma
TEER	Transepitelyal elektriksel direnç
VK	Varyasyon katsayısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Gastrointestinal kanal bölümleri ve pH değerleri (6)	5
Şekil 2.2.	İntestinal absorpsiyon yolları (A) Paraselüler difüzyon, (B) Sıkı kavşakları düzenleyici maddeler tarafından artırılmış paraselüler difüzyon, (C) transselüler pasif difüzyon (C* hücre içi metabolizasyon), (D) taşıyıcı aracılı transselüler taşınma, (E) Apikal yüzeydeki polarize eksorptif (efflux) mekanizmasıyla düzenlenmiş transselüler difüzyon, (F) transselüler veziküler taşınma (12)	6
Şekil 2.3.	Sıkı kavşakların yapısı (37)	12
Şekil 2.4.	Kitosanın kimyasal yapısı (52)	16
Şekil 2.5.	Sodyum kapratın kimyasal yapısı (69)	20
Şekil 2.6.	Sodyum kapratın etki mekanizması (62)	21
Şekil 2.7.	Sodyum lauril sülfatın kimyasal yapısı (87)	23
Şekil 2.8.	α -, β -, γ -siklodekstrinlerin (CD) kimyasal yapısı (94)	26
Şekil 2.9.	Asiklovirin kimyasal yapısı (101)	27
Şekil 3.1.	Perfüzyon sistemi ve cerrahi yöntemin şematik olarak gösterilmesi	38
Şekil 3.2.	Perfüzyon deneyi akış şeması	42
Şekil 4.1.	Asiklovir, metoprolol tartarat ve furosemid içeren Golytely çözeltisinin 227 nm dalga boyunda elde edilen HPLC kromatogramı (Asiklovir: 20 μ g/mL; Furosemid: 20 μ g/mL; Metoprolol tartarat: 20 μ g/mL).	54
Şekil 4.2.	Mobil fazla uygun seyreltmeler yapılarak hazırlanan asiklovir çözeltilerine ait kalibrasyon doğrusu ve denklemi (Ortalama \pm SH; n = 6)	55
Şekil 4.3.	Mobil fazla uygun seyreltmeler yapılarak hazırlanan metoprolol tartarat çözeltilerine ait kalibrasyon doğrusu ve denklemi (Ortalama \pm SH; n = 6)	55
Şekil 4.4.	Fenol kırmızısı içeren Golytely çözeltisinin 420 nm dalga boyunda elde edilen HPLC kromatogramı	56

- Şekil 4.5. Mobil fazla uygun seyreltmeler yapılarak hazırlanan fenol kırmızısı çözeltilerine ait kalibrasyon doğrusu ve denklemi (Ortalama \pm SH; n = 6) 56
- Şekil 4.6. Jejunum, ileum ve kolonun Golytely çözeltisiyle perfüzyonundan elde edilen perfüzet karışımının 227 nm'deki HPLC kromatogramı 57
- Şekil 4.7. Permeasyon artırıcı ajanları [Sodyum kaprat (A); Dimetil β -siklodekstrin (B); Sodyum lauril sülfat (C); Suda çözünen kitosan (D)] içeren Golytely çözeltisinin 254 nm dalga boyunda elde edilen HPLC kromatogramları 58
- Şekil 4.8. Kontrol grubunda jejunum, ileum ve kolonun asiklovir ile perfüzyonu sonucu elde edilen konsantrasyon-zaman profilleri 72
- Şekil 4.9. Kontrol grubunda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n = 6) 73
- Şekil 4.10. Permeasyon artırıcı ajan olarak sodyum lauril sülfat (SLS) kullanılan çalışmalarda jejunum (A), ileum (B) ve kolonun (C) asiklovir ile perfüzyonu sonucu elde edilen konsantrasyon-zaman profilleri (-): SLS yok; (+): SLS var. 75
- Şekil 4.11. Permeasyon artırıcı ajan olarak sodyum lauril sülfatın kullanıldığı çalışmalarda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n = 6) Enh(-): permeasyon artırıcı ajan yok; Enh(+):Permeasyon artırıcı ajan var. 77
- Şekil 4.12. Permeasyon artırıcı ajan olarak sodyum kaprat kullanılan çalışmalarda jejunum (A), ileum (B) ve kolonun (C) asiklovir ile perfüzyonu sonucu elde edilen konsantrasyon-zaman profilleri (-): Sodyum kaprat yok; (+):Sodyum kaprat var. 78
- Şekil 4.13. Permeasyon artırıcı ajan olarak sodyum kapratın kullanıldığı çalışmalarda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n = 6) Enh(-): permeasyon artırıcı ajan yok; Enh(+):Permeasyon artırıcı ajan var. 80

- Şekil 4.14. Permeasyon artırıcı ajan olarak dimetil β -siklodekstrin kullanılan çalışmalarda jejunum (A), ileum (B) ve kolonun (C) asiklovir ile perfüzyonu sonucu elde edilen konsantrasyon-zaman profilleri (-): DMC yok; (+):DMC var. 81
- Şekil 4.15. Permeasyon artırıcı ajan olarak dimetil β -siklodekstrin kullanılan çalışmalarda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n = 6) Enh(-): permeasyon artırıcı ajan yok; Enh(+):Permeasyon artırıcı ajan var. 83
- Şekil 4.16. Permeasyon artırıcı ajan olarak suda çözünen kitosan kullanılan çalışmalarda jejunum (A), ileum (B) ve kolonun (C) asiklovir ile perfüzyonu sonucu elde edilen konsantrasyon-zaman profilleri (-): Kitosan yok; (+): Kitosan var. 84
- Şekil 4.17. Permeasyon artırıcı ajan olarak suda çözünen kitosan kullanılan çalışmalarda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n = 6) Enh(-): permeasyon artırıcı ajan yok; Enh(+):Permeasyon artırıcı ajan var. 86
- Şekil 4.18. Çalışmada kullanılan permeabilite artırıcı ajanların asiklovirin farklı barsak segmentlerinden absorpsiyonu üzerine etkisini gösteren konsantrasyon-zaman profilleri (A) Grup 2 (% 0.015 Sodyum lauril sülfat; (B) Grup 3 (% 2 Sodyum kaprat); (C) Grup 4 (% 1 Dimetil β -siklodekstrin; (D) Grup 5 (% 0.1 Suda çözünen kitosan) 88
- Şekil 4.19. Permeasyon artırıcı ajan içermeyen [Enh (-)] ve içeren [Enh (+)] ortamlarda asiklovir (A) ve metoprolol tartarat (B) için jejunumdan tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS, n = 6) 89
- Şekil 4.20. Permeasyon artırıcı ajan içermeyen [Enh (-)] ve içeren [Enh (+)] ortamlarda asiklovir (A) ve metoprolol tartarat (B) için ileumdan tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS, n = 6) 90

Şekil 4.21. Permeasyon artırıcı ajan içermeyen [Enh (-)] ve içeren [Enh (+)] ortamlarda asiklovir (A) ve metoprolol tartarat (B) için kolondan tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS, n = 6)

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1.	Membranlardan geçiş mekanizmaları (3)	7
Tablo 2.2.	Permeasyon artırıcı ajanların sınıflandırılması ve etki mekanizmaları (48)	15
Tablo 2.3.	Siklodekstrinlerin fizikokimyasal özellikleri (95)	26
Tablo 2.4.	Caco-2 hücre hatlarında asiklovirin permeabilite değerleri (110)	33
Tablo 3.1.	Barsak perfüzyonu çalışmalarında kullanılan perfüzyon çözeltisinin bileşimi	37
Tablo 3.2.	Asiklovirin miktar tayini için kullanılan HPLC koşulları	43
Tablo 3.3.	Metoprolol tartaratın miktar tayini için kullanılan HPLC koşulları	44
Tablo 3.4.	Fenol kırmızısının miktar tayini için kullanılan HPLC koşulları	45
Tablo 3.5.	Furosemidin miktar tayini için kullanılan HPLC koşulları	46
Tablo 3.6.	Gün içi, günler arası kesinlik ve doğruluk çalışmalarında kullanılan madde konsantrasyonları	50
Tablo 4.1.	Asiklovire ait doğrusallık bulguları	59
Tablo 4.2.	Metoprolol tartarata ait doğrusallık bulguları	60
Tablo 4.3.	Fenol kırmızısına ait doğrusallık bulguları	60
Tablo 4.4.	Asiklovirin miktar tayininde kullanılan yöntemle ait gün içi ve günler arası kesinlik bulguları	62
Tablo 4.5.	Metoprolol tartaratın miktar tayininde kullanılan yöntemle ait gün içi ve günler arası kesinlik bulguları	63
Tablo 4.6.	Fenol kırmızısının miktar tayininde kullanılan yöntemle ait gün içi ve günler arası kesinlik bulguları	64
Tablo 4.7.	Asiklovir, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısı için cihaz kesinliği bulguları	65
Tablo 4.8.	Asiklovir, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısı için yöntem kesinliği bulguları	66

Tablo 4.9.	Asiklovire ait doğruluk çalışması bulguları (Ortalama \pm SS; n = 6)	67
Tablo 4.10.	Metoprolol tartarata ait doğruluk çalışması bulguları (Ortalama \pm SS; n = 6)	68
Tablo 4.11.	Fenol kırmızısına ait doğruluk çalışması bulguları (Ortalama \pm SS; n = 6)	68
Tablo 4.12.	Çalışmada kullanılan maddelere ait stabilite çalışması bulguları (Ortalama \pm SS; n =6)	69
Tablo 4.13.	Kontrol grubunda kullanılan sıçanlara ait bilgiler (Ortalama \pm SS)	70
Tablo 4.14.	Deney gruplarında kullanılan sıçanlara ait bilgiler (Ortalama \pm SS)	71
Tablo 4.15.	Kontrol grubunda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n = 6)	73
Tablo 4.16	Permeasyon artırıcı ajan olarak sodyum lauril sülfat kullanılan çalışmalarda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n = 6)	76
Tablo 4.17.	Permeasyon artırıcı ajan olarak sodyum kaprat kullanılan çalışmalarda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n = 6)	79
Tablo 4.18.	Permeasyon artırıcı ajan olarak dimetil β -siklodekstrin kullanılan çalışmalarda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n = 6)	82
Tablo 4.19.	Permeasyon artırıcı ajan olarak suda çözünen kitosan kullanılan çalışmalarda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n = 6)	85
Tablo 4.20.	Kontrol ve deney gruplarında hesaplanan NWF değerleri (μ L/dk/cm)	92

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İlaçların uygulama yolları ilacın özelliklerine ve tedavi amacına göre belirlenmektedir. Bu uygulama yolları enteral, parenteral ve diğer uygulama yolları olarak üç temel gruba ayrılmaktadır. Oral (enteral) uygulama, en güvenli ve en kolay uygulama olduğu için sistemik etki etmek amacıyla en çok tercih edilen uygulama yoludur.

Oral yolla verilen ilaçların absorpsiyonu ve biyoyararlanımı üzerine ilacın fizikokimyasal özellikleri, dozaj şekline ait faktörler ve fizyolojik faktörler önemli derecede etki etmektedir. Oral yolla uygulanan ilaçların gastrointestinal kanaldan absorpsiyonlarının kısıtlı olması düşük biyoyararlanım nedenlerinden biridir. İlaçların barsaklardan paraselüler (hücreler arası) yolla taşınması sırasında sıkı kavşaklar olarak adlandırılan ve hücrelerin apikal yüzeyinde bulunan hücresel uzantılar, gastrointestinal absorpsiyonu kısıtlayan bölgeler olarak bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda sıkı kavşak bağlantılarının yapısal düzenlenmesiyle ilaçların intestinal permeabilitelerinin artacağı gösterilmiştir. İlaç formülasyonlarına eklenen birçok yardımcı madde, barsak epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde bulunan sıkı kavşak bağlantılarında yapısal değişikliklere yol açarak ilaçların permeabilitelerini artırmaktadır. Permeasyon artırıcılar olarak da bilinen bu maddeler formülasyona eklenerek ilaçların absorpsiyon ve biyoyararlanımını artırılabilir. Farklı permeasyon artırıcıların model ilaçların absorpsiyonları üzerine etkilerinin incelendiği çok sayıda hücre kültürü çalışması bulunmasına rağmen literatürde *in situ* sıçan barsak perfüzyonu çalışması sınırlı sayıda yer almaktadır. Bu çalışmada çeşitli permeasyon artırıcı ajanların (suda çözünen kitosan, dimetil β -siklodekstrin, sodyum kaprat, sodyum lauril sülfat) seçilen model ilacın (asiklovir) barsaklardan paraselüler absorpsiyonu üzerine etkisi jejunum, ileum ve kolonun simultane olarak perfüze edileceği üçlü barsak perfüzyonu tekniği kullanılarak incelenecektir. Bu amaçla;

- Model ilacın (asiklovir) farklı barsak segmentlerinden absorpsiyonu ve permeabilitesi incelenecektir.
- Asiklovirin absorpsiyonu ve permeabilitesi ilaç formülasyonlarında yüzey etkin madde olarak kullanılan sodyum lauril sülfat varlığında incelenecektir.
- Asiklovirin absorpsiyonu ve permeabilitesi orta zincirli yağ asitlerinden biri olan sodyum kaprat varlığında incelenecektir.

- Asiklovirin absorpsiyonu ve permeabilitesi bir siklodekstrin türevi olan dimetil β -siklodekstrin varlığında incelenecektir.
- Asiklovirin absorpsiyonu ve permeabilitesi yeni ilaç taşıyıcı sistemlerde polimer olarak kullanılan suda çözünen kitosan varlığında incelenecektir.
- Metoprolol tartarat ve asiklovirin her bir barsak segmentinden permeabiliteleri kıyaslanarak asiklovirin Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS) içerisinde hangi sınıfta olduğu değerlendirilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

Teşhis, tedavi ve profilaktik amaçla kullanılan ilaçların uygulama yolu ilacın özelliklerine (suda veya yağda çözünürlük, iyonizasyon gibi) ve tedavi amacına (hızlı etki istenmesi, uzun dönem kullanılma ihtiyacı, sistemik veya lokal etki istenmesi gibi) göre belirlenir. İlaç uygulama yolları temel olarak 3 gruba ayrılır. Bunlar;

- Enteral (oral, sublingual gibi)
- Parenteral (intramusküler, intravasküler gibi)
- Diğer uygulama yolları (inhalasyon, intranasal, topikal gibi) dır.

Bunlar arasında en yaygın olarak kullanılan uygulama yolu oral yoldur (1). Oral yolla verilen ilaçların absorpsiyonu ve biyoyararlanımı üzerine ilacın fizikokimyasal özellikleri (partikül büyüklüğü, kristal şekli, polimorfizm, tuz-ester yapısı gibi), dozaj şekline ait faktörler (dozaj şeklinin tipi, üretim değişkenleri, formülasyondaki diğer bileşenler ve kullanılma oranları) ve fizyolojik faktörler (mide-barsak kanalından geçiş süresi, pH'sı, gastrointestinal membranın kalınlığı, kan akış hızı, bireysel farklılıklar gibi) önemli derecede etki etmektedir (2, 3). Dolayısıyla biyolojik sıvılarda düşük çözünürlük ve düşük çözünme hızı, fizyolojik pH'larda çözünmüş ilacın stabilite problemi, biyolojik membranlardan düşük permeasyon, aşırı presistemik metabolizasyon ve gastrointestinal kanaldan absorpsiyonun kısıtlanması oral yolla kullanılan ilaçlar için biyoyararlanımın azalmasına neden olmaktadır. Biyoyararlanımla ilgili problemleri giderebilmek için farklı yaklaşımlar bulunmaktadır. Genel olarak bu yaklaşımlar farmasötik, farmakokinetik ve biyolojik olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır (4). İlaç ürününün fizikokimyasal özellikleri ve üretim yöntemi değiştirilerek, formülasyonda değişiklikler yapılarak farmasötik yaklaşımla, kimyasal yapı değişiklikleriyle ilacın absorpsiyon, metabolizasyon ve eliminasyonu düzenlenerek farmakokinetik yaklaşımla veya ilacın uygulama yolu değiştirilerek biyolojik yaklaşımla biyoyararlanım değiştirilebilir.

Oral yolla uygulanan ilaçların stabilite ve çözünürlük problemleri, membranlardan permeasyonun düşük olması ve/veya gastrointestinal kanaldan absorpsiyonun sınırlanması düşük biyoyararlanım nedenleri arasındadır. Örneğin

ilaçların barsaklardan paraselüler (hücreler arası) yolla taşınımı esnasında sıkı kavşaklar (tight junctions) olarak adlandırılan ve hücrelerin apikal yüzeyinde bulunan hücresel uzantılar gastrointestinal absorpsiyonu kısıtlayan bölgeler olarak bilinmektedir. Sıkı kavşak bağlantılarının yapısal düzenlenmesi ilaçların intestinal permeabilitelerini artırmaktadır. İlaç formülasyonlarına eklenen birçok yardımcı madde, enterositlerin apikal yüzeyinde bulunan bu sıkı kavşak bağlantılarında yapısal değişikliklere yol açarak ilaçların intestinal permeabilitelerini artırmaktadır. Permeasyon artırıcılar olarak da bilinen bu maddeler formülasyona eklenerek özellikle paraselüler yoldan absorplanan ilaçların biyoyararlanımını artırılabilir.

Oral yolla uygulanan bir ilacın absorpsiyon ve biyoyararlanımında gastrointestinal kanalın fizyolojisi de önem taşımaktadır.

2.1. Gastrointestinal Kanal

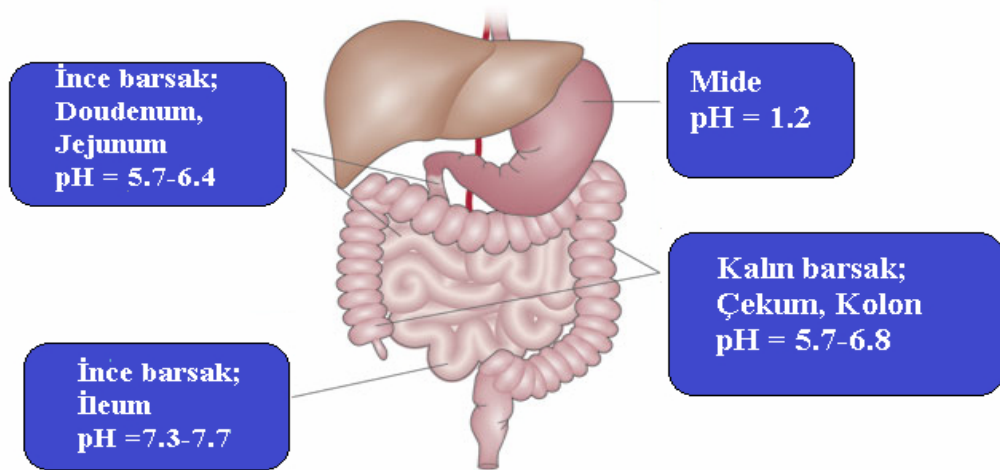
Gastrointestinal sistem fizyolojik ve histolojik özelliklerine göre ağız, özefagus, mide, ince barsak (duodenum, jejunum, ileum) ve kalın barsak (çekum, kolon, rektum) olmak üzere farklı bölümlerden oluşmaktadır (5). Gastrointestinal kanal bölümleri farklı pH değerlerine sahiptir (Şekil 2.1) (6).

Ağız, özefagus, mide: Ağız mukozasının yüzey alanı düşük olmakla birlikte bazı küçük moleküller genelde pasif difüzyonla emilir. Oral mukozadan emilen ilaçlar doğrudan sistemik dolaşıma katıldıkları için intravenöz uygulamaya benzer bir biyoyararlanım oluştururlar. **Özefagus** ise besinlerin ya da ilaçların ağız boşluğundan mideye taşınmasını sağlayan kaslı bir borudur (pH: 6-7). Sağlıklı kişilerde yutulan maddelerin özefagustan geçiş süresi oldukça kısa olduğu için özefagus mukozasından ilaç absorpsiyonu söz konusu değildir (7). **Mide**'nin absorpsiyon alanı (1m^2) düşük olmakla birlikte glikoz, bazı basit şekerler, amino asitler, yağda çözünen bazı maddeler, alkol ve aspirin mideden absorplanmaktadır. Mide her biri farklı fonksiyona sahip olan üç bölgeden (fundus, gövde ve pilor) oluşur. Sağlıklı bir kişide mide pH'sı 1-3 arasında olup, bu kadar düşük pH besinlerle yutulan bakterilerin yok edilmesi ve proteinlerin sindiriminden sorumlu olan pepsinin aktivasyonu için gereklidir (7, 8).

İnce barsak; duodenum (20-30 cm, pH: 6.5-7.6), jejunum (2.5 m, pH:6.3-7.3) ve ileum (3.5 m, pH: 7.6) olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır. İnce barsağın

yüzey alanı Kerckring kıvrımları, villi ve mikrovilli (firça kenar) adı verilen özel oluşumlar tarafından oldukça fazla artırılmıştır (200 m²). İnce barsak oldukça büyük yüzey alanı ve yüksek kan akımı (25 mL/dk) nedeniyle gastrointestinal kanalın absorpsiyon için en önemli bölgesidir. Yüksek kan akım hızı intestinal lümenle kan dolaşımı arasında konsantrasyon gradyanı oluşumuna yardım ettiği için pek çok ilacın absorpsiyonu bu bölgeden gerçekleşir (9). Gastrointestinal kanalda ilaç absorpsiyonu genellikle pasif difüzyonla gerçekleşmektedir. Ancak yapılan araştırmalarda gastrointestinal kanalda ilaç absorpsiyonunu etkileyebilecek taşıyıcıların (transporter) enterositlerin apikal ve bazolateral yüzeylerinde bulunduğu gösterilmiştir.

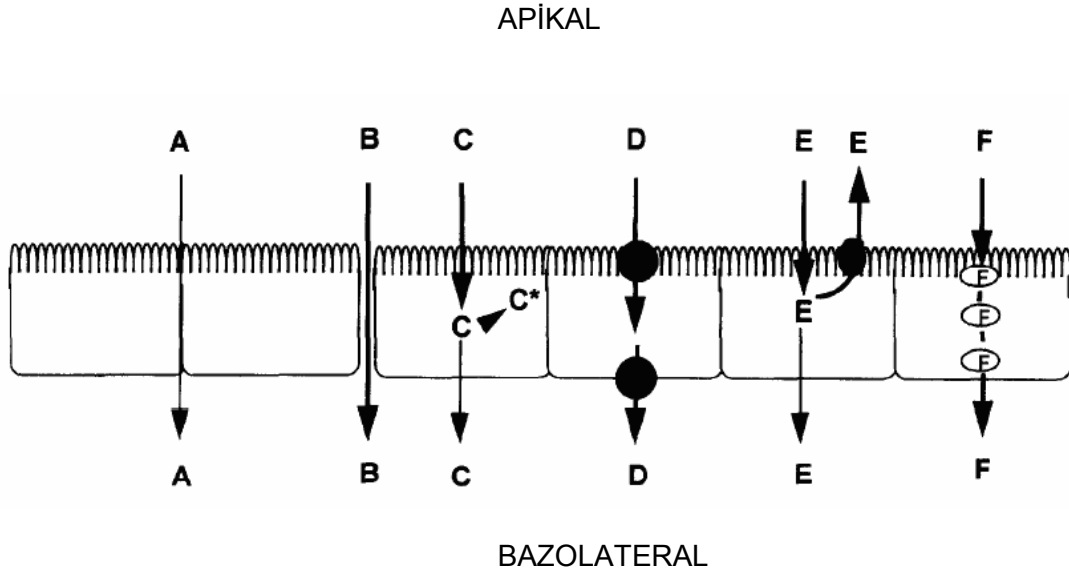
Kalın barsak yaklaşık 1.5 metre uzunluğunda olup (pH 5.5-7) çekum, kolon ve rektumdan oluşur. Kalın barsak, villiler olmadığı için ince barsağa göre çok daha küçük yüzey alanına sahiptir. Kolon su ve elektrolitlerin emilmesinden ve sindirilmeyen besinlerin uzaklaştırılmasından sorumludur (10). Bu bölgeden ilaç absorpsiyonu sınırlı olmakla birlikte çözünürlüğü az olan maddelerin ve geciktirilmiş salım yapan ürünlerin absorpsiyonunda önemli bir bölgedir (11).



Şekil 2.1. Gastrointestinal kanal bölümleri ve pH değerleri (6).

2.2. Membranlardan Geçiş Mekanizmaları

İlaçlar barsak epitelinden transselüler veya paraselüler yollarla absorbe olmaktadır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. İntestinal absorpsiyon yolları (A) Paraselüler difüzyon, (B) Sıkı kavşakları düzenleyici maddeler tarafından artırılmış paraselüler difüzyon, (C) transselüler pasif difüzyon (C* hücre içi metabolizasyon), (D) taşıyıcı aracılı transselüler taşınma, (E) Apikal yüzeydeki polarize eksorptif (efflux) mekanizmasıyla düzenlenmiş transselüler difüzyon, (F) transselüler veziküler taşınma (12).

Transselüler absorpsiyon epitel hücre membranından, paraselüler absorpsiyon ise epitel hücreler arasındaki sıkı kavşaklardan absorpsiyonu ifade eder (13-15). Her iki absorpsiyon yolağı da farklı mekanizmalarla gerçekleşmektedir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Membranlardan geçiş mekanizmaları (3).

Transselüler absorpsiyon mekanizmaları	Paraselüler absorpsiyon mekanizmaları
<ul style="list-style-type: none"> • Pasif Difüzyon • Aktif Transport • Kolaylaştırılmış Difüzyon • Veziküler Transport 	<ul style="list-style-type: none"> • Pasif Difüzyon

2.2.1. Transselüler Absorpsiyon Mekanizmaları

2.2.1.1. Pasif Difüzyon

Birçok ilacın barsak membranlarından taşınması daha yüksek konsantrasyonda olduğu yerden daha düşük konsantrasyonda bulunduğu tarafa doğru pasif difüzyonla gerçekleşmektedir. Herhangi bir dış enerjiye gerek olmayan pasif difüzyon Fick yasasıyla (Eşitlik 2.1) açıklanmaktadır.

$$\frac{dQ}{dt} = D.A.K \frac{C_{GI} - C_P}{h} \quad (2.1)$$

Eşitlikte:

dQ / dt : Difüzyon hızı

D : Difüzyon katsayısı

A : Membran yüzey alanı

K : Partisyon katsayısı

C_{GI} : Gastrointestinal kanaldaki ilaç konsantrasyonu

C_P : Plazmadaki ilaç konsantrasyonu

h : Membran kalınlığı

Oral yolla verilen ilaçlar için $C_{GI} \gg C_P$ olup absorpsiyon süresi boyunca bir konsantrasyon gradyanı oluşur. Birçok ilacın gastrointestinal kanaldan absorpsiyonu 1. derece kinetiğine göre gerçekleşir. Ayrıca gastrointestinal lümenle kan arasındaki büyük konsantrasyon gradyanına bağlı olarak absorpsiyon genelde eliminasyondan daha hızlı olarak gerçekleşir (16).

Pek çok ilaç zayıf asidik veya zayıf bazik yapıda olup, iyonizasyon dereceleri membranlardan geçişi etkilemektedir. pH partiyon hipotezine göre sadece non-iyonize ilaç molekülleri membranı geçer ve membranın her iki tarafında non-iyonize ilaç konsantrasyonu eşitleninceye kadar bu geçiş devam eder. Bir ilacın iyonizasyon derecesi dolayısıyla absorpsiyonu o ilacın pK_a değerine ve ortamın pH'sına bağlı olarak değişmektedir. Bu ilişki, Henderson-Hasselbalch eşitliği ile ifade edilmektedir.

Zayıf bazlar:

$$pH = pK_a + \log \frac{C_{noniyonize}}{C_{iyonize}} \quad (2.2)$$

Eşitlikte :

$C_{iyonize}$: İyonize haldeki ilaç konsantrasyonu

$C_{noniyonize}$: İyonize halde olmayan ilaç konsantrasyonu

pK_a değeri 5'ten küçük olan bazik ilaçların absorpsiyonu pH'dan bağımsız olarak gerçekleşirken pK_a değeri 5.0-11.0 arasında olan kuvvetli bazların absorpsiyonu pH'ya bağımlıdır. Düşük pH'larda kuvvetli bazlar tamamen iyonize oldukları için absorpsiyonları çok azdır ancak alkali ortamda absorpsiyonları artar (17).

Zayıf asitler:

$$pH = pK_a + \log \frac{C_{iyonize}}{C_{noniyonize}} \quad (2.3)$$

pKa değeri 7.5'ten daha büyük olan zayıf asit ilaçlar tüm pH'larda non iyonize halde oldukları için absorpsiyonları pH'dan bağımsızdır. pKa değeri 3.0-7.5 arasında olan zayıf asit ilaçların iyonizasyonu pH tarafından etkileneceği için bu ilaçların absorpsiyon dereceleri pH'nın bir fonksiyonu olarak gerçekleşir. pKa değeri 2.5'ten daha küçük olan kuvvetli asitlerin membranlardan difüzyonu teorik olarak pH'ya bağlı olmakla birlikte non iyonize formun çok az olması nedeniyle absorpsiyon dereceleri her zaman düşüktür (17).

2.2.1.2. Aktif Taşıma

Aktif transport, konsantrasyon gradyanına karşı (düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru) taşıyıcı proteinler aracılığıyla taşınmayı ifade eder. İlaç molekülleri bu taşıyıcılarla kompleks oluşturarak membrandan geçerler ve membranın diğer tarafında ilaç molekülünü serbest bırakırlar. Sistem doygunluğa ulaşıncaya kadar absorpsiyon hızı ilaç konsantrasyonu ile orantılı olarak artar ancak yüksek konsantrasyonda absorpsiyon hızı sabittir. Aktif transport enerji gerektiren bir taşıma işlemi olup sistemde doygunluk ve taşıyıcı moleküller için yarışma söz konusudur (3).

2.2.1.3. Kolaylaştırılmış Difüzyon

Kolaylaştırılmış difüzyon konsantrasyon gradyanı yönünde (yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona doğru) taşıyıcılar aracılığıyla gerçekleşen absorpsiyonu ifade etmektedir. Kolaylaştırılmış difüzyonda enerjiye gereksinim yoktur. Ancak sistem doygunluğa ulaşabilir ve benzer yapıdaki ilaçlar arasında taşıyıcı için yarışma görülebilir (3).

2.2.1.4. Veziküler Taşıma

Makromoleküller ve partiküler yapıdaki maddelerin hücre içerisine alınması sırasında hücre membranının bir kısmı uzayarak nesneyi sarar ve hücre içine doğru çekerek vakuol oluşumuna yol açar. Makromoleküllerin bu şekilde hücre içerisine

alınması endositoz olarak adlandırılır. Pinositoz ve fagositoz veziküler transport çeşitleri olup hücre içerisine alınan materyal açısından farklılık gösterirler. Pinositozde küçük partiküller ve sıvılar hücre içerisine alınır. Daha büyük partiküller veya makromoleküllerin makrofajlar tarafından alınması ise fagositoz olarak adlandırılır. Büyük moleküllerin ve proteinlerin absorpsiyonu veziküler transport aracılığıyla gerçekleşmektedir (3).

2.2.2. Paraselüler Absorpsiyon

Komşu hücreler (enterositler) arasında kalan alan boyunca uzanan sulu ortam paraselüler yol, moleküllerin bu hücreler arasında bulunan boşluklardan (tight junctions, sıkı kavşak) geçmesi işlemi de paraselüler geçiş olarak adlandırılmaktadır. Paraselüler boşluk 10 ile 30-50 Å arasında olup, molekül büyüklüğü 3.5 kDa (molekül yarıçapı 15 Å)'nu aşmayan moleküllerin geçişine olanak sağlar (18). Paraselüler yolun sulu bir ortam olması nedeniyle suda çözülmüş besin, iyon gibi küçük maddelerin pasif difüzyon aracılığı ile geçişi kolaylaşmaktadır. Paraselüler transport küçük hidrofilik moleküller ve bazı ilaçların ana absorpsiyon yolu olup, paraselüler boşlukta yer alan su akımındaki değişiklikler maddelerin taşınmasını etkilemektedir. Paraselüler absorpsiyon ve permeabilite sıkı kavşaklar tarafından düzenlenmektedir (19, 20).

2.2.2.1. Sıkı Kavşakların Yapısı

Sıkı kavşaklar omurgalı canlılarda hem epitel hem de endotel hücrelerde bulunur. Bu sıkı kavşaklar epitel hücrelerde adherens kavşakların yanında yer alırken, endotel hücrelerde sıkı kavşaklar ve adherens kavşaklar birbiri içerisine geçmiş haldedir. Adherens kavşaklar sıkı kavşaklar gibi interselüler boşlukta yer alan çözülmüş maddelerin geçişini kontrol eden bariyerler olup, hücrelerin bazolateral yüzeylerinde yer almaktadır (21). Sıkı kavşaklar transmisyon elektron mikroskobunda kapalı hücre-hücre temasları gibi görünürken, freeze-fracture elektron mikroskobunda bir dizi transmembran protein partikülleri olarak görünmektedir. Bu transmembran proteinlerinin paraselüler boşlukla birleştikleri

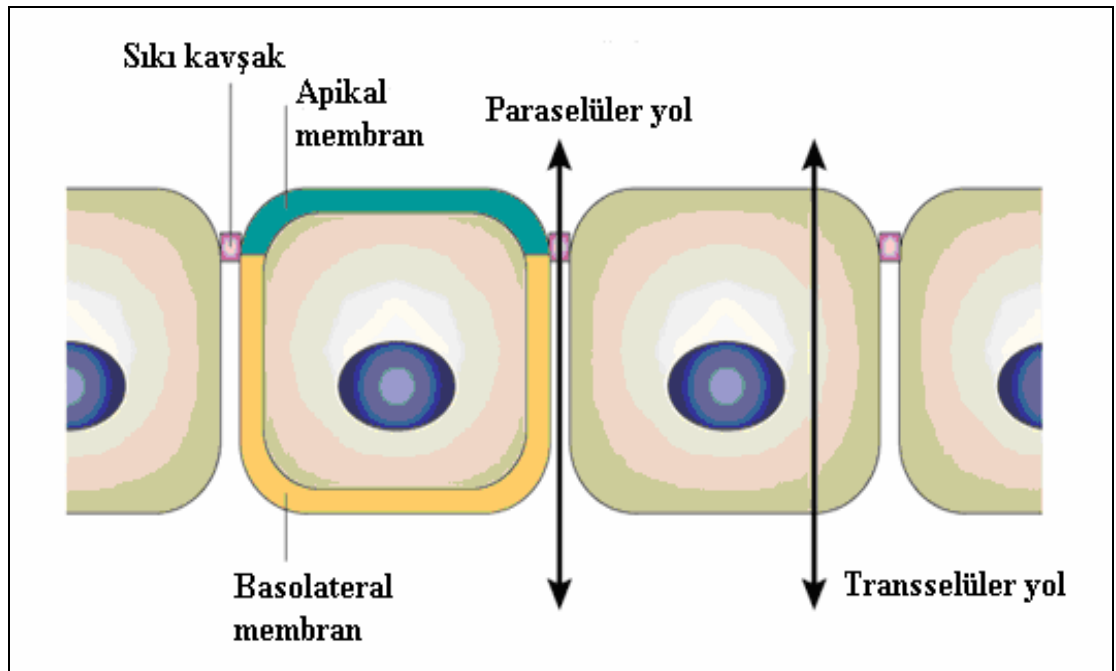
yerde sıkı kavşaklar oluşmaktadır (Şekil 2.3). Epitel, endotel ve miyelinli hücrelerde 40'dan fazla sıkı kavşak proteini bulunmaktadır (22).

Sıkı kavşakların en önemli bileşenleri geniş bir transmembran protein ailesi olan klaudinlerdir (23). Klaudin ailesi molekül büyüklükleri 20-27 kDa arasında değişen en az 24 üyeden oluşmaktadır. Tetraspan yapıda olan bu proteinler iki adet ekstraselüler loop, sitoplazmaya uzanmış amino- ve karboksil- terminal uçları ve dört adet transmembran alanından oluşur. Klaudinler dizim benzerliğine göre klasik ve klasik olmayan klaudinler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Buldukları dokuya, büyüklük ve yüklerine göre paraselüler transportu sınırlama görevini üstlenirler (24). Örneğin klaudin-1 deride, klaudin-5 kan-beyin engelinde, klaudin-14 iç kulak epitelinde bu görevi yerine getirmektedir (25). Klaudinler haricinde sıkı kavşakları oluşturan ve yapısı aydınlatılmış olan okludinler ve sitoplazmik plak proteinler (ZO: Zonula occludens, singulin ve 7H6) de bulunmaktadır (18). Okludin yaklaşık 65 kDa molekül büyüklüğüne sahip tetraspan bir protein olup sıkı kavşaklardaki lokalizasyonu fosforilasyon ile düzenlenir (26). Okludin proteinlerinin sıkı kavşak bariyerlerinin modülasyonunu sağlamaları haricinde yara iyileşmesinde de rolleri vardır. Okludin yıkımı yara kapanmasını engellemektedir. (27). Sitoplazmik plak proteinlerinden olan ZO proteinleri (ZO-1, ZO-2, ZO-3) membrana bağlı guanilat kinaz (membrane-associated guanylate kinase-MAGUK) homologları ailesinin üyesidir (26). İntegral membran proteinleri ile ipliksi hücre iskeleti arasında bağ görevi yapan ZO-proteinleri, hücre gelişiminde düzenleyici rol oynamaktadır (28, 29). Bu proteinlerden ZO-1 proteini hücre proliferasyonunu ve gen ekspresyonunu (30), ZO-2 proteini ise hücre proliferasyonu ve apoptozisi düzenler. Sıkı kavşakların yapısının ve bütünlüğünün korunması farklı fizyolojik ve patolojik olgulara bağlıdır. Sıkı kavşakların yapısında bulunan transmembran proteinleri ile aktomyozin halkası arasındaki etkileşim bazı sinyalizasyon proteinleri tarafından kontrol edilmektedir. Ayrıca sıkı kavşak yapısında bulunan proteinlerin fosforilasyonu epitel bariyerlerin fonksiyonlarını etkilemektedir. Örneğin yüksek TEER (Transepithelial Electrical Resistance) değerine sahip MDCK (Madin Darby Canine Kidney) hücrelerinde ZO-1 proteininin fosforilasyon derecesi, düşük TEER değerine sahip hücrelerden daha düşüktür. Yine klaudin proteinlerinin fosforilasyonu sıkı kavşak permeabilitesini

hem artırabilir hem de azaltabilir. Okludinin ise sıkı kavşaklarla olan bağlantısı fosforilasyon ile gerçekleşmektedir (31).

Sıkı kavşaklarının iki önemli görevi bulunmaktadır. Birinci görevi hücrede apikal ve bazolateral membranlar arasında membran proteinlerinin karışmasını önlemek, ikinci görevi ise hücreler arasından iyon ve moleküllerin paraselüler geçişini kontrol etmektir (26, 32, 33). Sıkı kavşaklar hücrel polariteyi korurken, vücutta farklı içerikteki sıvı kompartmanların oluşumunu da sağlamaktadır. İntestinal sıkı kavşaklar oldukça hareketli yapılar olup, hücre içi ve hücre dışından stimulanlarla uyarılarak permeabilite değişikliklerine yol açarlar. Sıkı kavşak permeabilitesi bakteriyel toksinler, sitokinler, hormonlar ve ilaçlarla modifiye edilebilir (34). Dinamik yapıda olan sıkı kavşaklar zararlı dış etkenleri vücuttan uzak tutarken, yararlı besinler, iyonlar ve suyun geçişine olanak sağlamaktadır (18, 35).

Sıkı kavşakların hareketli yapısı fizyolojik olarak düzenlenir ve bu yapının bozulması fizyolojik rahatsızlıklara yol açmaktadır (23). Bazı patojenik bakteri ve virüsler sıkı kavşak fonksiyonlarını etkileyerek gastrointestinal kanalda bakteriyel enteritlere neden olmaktadır (36).



Şekil 2.3. Sıkı kavşakların yapısı (37).

In vivo ve *in vitro* çalışmalarda barsağın farklı segmentlerinde absorpsiyon yüzey alanı ve sıkı kavşak yoğunluğunun farklı olması nedeniyle paraselüler permeabilitenin farklı olduğu gösterilmiştir. Sıçanlarda kolon epitelinin daha sıkı, elektriksel direncin daha yüksek, paraselüler permeabilitenin daha düşük ve bunun sonucu olarak pasif ilaç absorpsiyonunun daha az olduğu belirtilmiştir (38). Sıçanlarda yapılan bir *in vivo* perfüzyon çalışmasında ise pasif absorpsiyonun kolonda diğer segmentlere göre daha fazla olduğu bulunmuştur (39). Diğer taraftan küçük hidrofilik moleküllerin (Atenolol, PEG 400, Fenilalanin-aspartik asit) permeabilitelerinin kolon ve ileumda benzer olduğu bildirilmiştir. Sıçanlarda yapılan çalışmalarda ileum ve kolonda paraselüler transportta villiler ile artan total absorptif yüzey alanının önemli bir değişken olduğu belirtilmiştir (40).

Küçük hidrofilik moleküller (mannitol: molekül büyüklüğü 6.7 Å; PEG 400: molekül büyüklüğü 5.3 Å; ⁵¹Cr-EDTA: molekül büyüklüğü 10.5 Å) paraselüler yoldan absorplanmaları nedeniyle paraselüler transport için referans madde olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Genel olarak molekül büyüklüğü 11.5 Å'dan büyük olan maddeler paraselüler yolla absorplanmazlar. İnsanlarda sıkı kavşakların por büyüklüklerinin jejunumda 0.8 nm, ileum ve kolonda 0.3 nm olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle mikropartiküllerin transportu için paraselüler yolağın uygun olmadığı bildirilmiştir (41).

Paraselüler permeabilitenin iyileştirilmesi, ilaç absorpsiyonunun artırılmasında bir çözüm olarak düşünülmektedir. Bunun gerçekleştirilmesi için sıkı kavşakların yapısının anlaşılması ve düzenlenmesi gerekmektedir (42). Palomo ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada tavşan ileum mukozasının normalde lantana karşı geçirgen olmadığı bildirilmiştir. Ancak lizin ile hipertonic hale getirilmiş luminal çözeltinin lantan permeabilitesini artırdığı gösterilmiştir. Bu durumun sıkı kavşakların ağısı yapısının karmaşıklığı ile kavşakların ve kavşakları oluşturan fibrillerin özelliklerine bağlı olduğu belirtilmiştir (43).

Sıkı kavşakların yapısal olarak düzenlenmesi permeasyon artırıcı ajanlar aracılığıyla da gerçekleşmektedir. Bu sayede düşük permeabiliteye sahip ilaçların absorpsiyonu artırılmaktadır (44). Özellikle hidrofilik yapıdaki antibiyotikler, peptit ve protein yapılı ilaçların absorpsiyonlarını artırmada permeasyon artırıcı ajanlar etkin moleküller olarak değerlendirilmektedir (45, 46).

2.3. Permeasyon Artırıcı Ajanlar

Permeasyon artırıcı ajanlar intestinal permeabilityyi artırarak oral biyoyararlanımı iyileştiren yardımcı maddelerdir. Yüzey etkin maddeler, yağ asitleri, orta zincirli gliseridler, steroidal deterjanlar, açıl karnitin ve alkanoilkolinler, N-asetil α -amino asitler, suda çözünen kitosan ve diğer mukoadhezif polimerler permeasyon artırıcı ajanlara örnek olarak verilmektedir. Bu yardımcı maddeler önemli bir intestinal hasara neden olmaksızın, zayıf absorplanan ilaçların oral biyoyararlanımlarını artırmaktadır (42, 47).

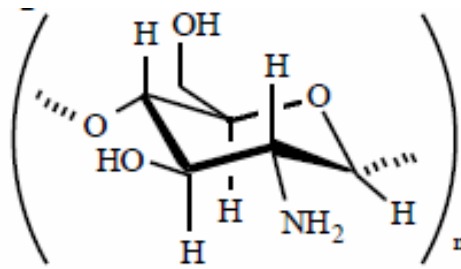
Junginger ve diğerleri tarafından permeasyon artırıcı ajanlar 'sistemik tedavide görülen yan etkileri azaltarak daha etkin tedavi sağlamak amacıyla biyolojik bariyerlere karşı ilaç absorpsiyonunu artırmak için ihtiyaç duyulan yardımcı maddeler' olarak tanımlanmıştır (48). Bu durum genellikle hidrofilik ilaçlar için geçerlidir. Çoğunlukla kronik hastalıkların tedavisinde kullanılan peptid yapılı ilaçlar yüksek molekül ağırlığı, yüksek çözünürlük ve stabilite sorunu nedeniyle etkin tedavi sağlayamaz. Permeasyon artırıcılar hidrofilik ilaçların absorpsiyonunu artırarak bu problemlerin çözümünü sağlayabilir. Permeasyon artırıcılar mukus tabakasını, membran bileşenlerini veya sıkı kavşakları etkileyerek etkilerini gösterirler. Düşük molekül ağırlığına sahip permeasyon artırıcı ajanlar fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak absorbe olabilecekleri için genellikle tercih edilmezler. Polimerik yapıda olan permeasyon artırıcı ajanlar absorbe olmadıkları ve sistemik yan etkileri bulunmadığı için daha çok kullanılmaktadır. Ayrıca polimerik yapılı ajanların daha güçlü mukoadhezif özellik gösterdikleri bulunmuştur (49). Permeasyon artırıcı ajanların herhangi bir farmakolojik aktiviteye sahip olmaması, alerjenik ve toksik olmaması istenir (50). Tablo 2.2'de çeşitli permeasyon artırıcılar sınıflandırılarak etki mekanizmaları ile birlikte verilmiştir (48). Bu çalışmada permeasyon artırıcı ajanlardan suda çözünen kitosan, sodyum kaprat, sodyum lauril sülfat ve dimetil β -siklodekstrin kullanılmıştır.

Tablo 2.2. Permeasyon artırıcı ajanların sınıflandırılması ve etki mekanizmaları (48).

Sınıf	Örnek	Mekanizma	Taşınma yolu	Değerlendirme
Yüzey etkin maddeler	-Sodyum lauril sülfat -Polioksietilen-9-lauril eter	Fosfolipid açıl zincirinin pertürbasyonu (karışıklığı)	-Transselüler	TEER değerlerine bakılmıştır
	Safra tuzları -Sodyum deoksikolat -Sodyum glikokolat -Sodyum taurokolat	Mukus viskozitesinin azalması Peptidaz inhibisyonu	-Paraselüler	
	Yağ asitleri	-Oleik asit -Kısa zincirli yağ asitleri	-Transselüler -Paraselüler	Mannitolün P _{app} değerlerine bakılmıştır
	Siklodekstrinler	- α -, β -, γ -siklodekstrin -Metil β -siklodekstrin	Membran bileşenlerinin inklüzyonu	Mannitolün P _{app} ve TEER değerlerine bakılmıştır
Şelat yapıcı ajanlar	-EDTA -Poliakrilatlar	-Ca ⁺² kompleksi -Sıkı kavşakların açılması	-Transselüler -Paraselüler -Paraselüler	Referans maddelerin P _{app} değerlerine bakılmıştır
	Pozitif yüklü polimerler	-Kitosan tuzları -Trimetil kitosan	Glikokaliksın negatif yüklü grupları ile iyonik etkileşimler	Mannitolün P _{app} ve TEER değerlerine bakılmıştır
TEER: Transpitolyal elektriksel direnç P _{app} : Görünür permeabilite				

2.3.1. Kitosan ve Türevleri

Deniz kabuklarından elde edilen, biyobozunabilir ve non-toksik doğal bir polimer olan kitin (2-asetamido-2-deoksi β -1,4-D-glukan)'den deasetilasyonla sentezlenen katyonik bir polisakkarit olan kitosan (poli[β -(1-4)-2-amino-2-deoksi-D-glukopiranoz]; Şekil 2.4) hidrofilik, biyouyumlu ve biyodegradasyona uğrayabilen bir polimerdir (48). Katı halde iken yarı kristalize formdadır (51).



Şekil 2.4. Kitosanın kimyasal yapısı (52).

Kitosanın molekül ağırlığı yüksek olduğu için gastrointestinal kanaldan absorplanmaz ve sistemik bir yan etki göstermez. Kitosan (52) flokülasyon ajanı, afinite kromatografisi kolon matriksi, gaz-seçici membran, antikanser, yara iyileştirici ve antimikrobiyal olarak sıklıkla kullanılmaktadır (47). Kitosanın toksisitesi düşük olup, piyasa preparatlarında farklı molekül ağırlığına (kitosanın polimerleri 50.000 Da, oligomerleri 2000 Da) ve farklı deasetilasyon derecesine (% 40-98) sahip formları, farklı tuzları (glutamat, laktat gibi) mevcuttur (48). Kitosan nötral ve alkali pH'larda çözünmez. Glutamik asit, hidroklorik asit, laktik asit, asetik asit gibi organik ve inorganik asitlerle kitosanın tuzu oluşturulmaktadır (53). Kitosanın asidik ortamdaki çözünürlüğü, tekrarlayan D-glukozamin ünitelerinin C-2 pozisyonunda bulunan amin (-NH₂) fonksiyonel gruplarının protonlanmasıyla meydana gelir. Bu durum kitosanın asidik ortamda polielektrolit gibi davranmasından kaynaklanmaktadır (51). Kitosanın pH 7.0'nin altındaki sulu çözeltilerdeki çözünürlüğü deasetilasyon derecesi, moleküler yapı ve fiziksel durumu (konformasyon, partikül büyüklüğü gibi) ile ilişkilidir (47). Molekül içi ve

moleküller arası hidrojen bağları kitosanın kristalize yapısında önemli rol oynamaktadır. Bu durum kitosanın sudaki çözünürlüğüne etki etmektedir (54).

Kitosan lineer poliamin yapısında olup reaktif amino ve hidroksil grupları taşır. Değişik metal iyonları ile şelat yapmaktadır. Doğal, non-toksik ve biyoyumlu bir polimer olan kitosan, memeli ve mikrobiyal hücrelerle girişim yaparak bağlanır. Bağlandığı dokularda rejeneratif etki sağlar. Ayrıca hemostatik, fungustatik, spermidal, antitümoral etkileri vardır. Santral sinir sistemi depresanıdır (55). Kitosan katyonik poliamin yapısında olduğu için polianyonlarla jel oluşturmaktadır (56). Kitosan güçlü bir mukoadhezif özelliğe sahip olup C-2 pozisyonunda bulunan pozitif yüklü amino grubunun hücre yüzeyi ve sıkı kavşaklarda yer alan negatif yüklü gruplarla etkileşmesine bağlı olarak paraselüler geçişe olanak sağlar (57, 58).

Kitosan ve türevlerinin permeasyon artırıcı özellikleri *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla gösterilmiştir. Kitosan hidroklorür ve kitosan glutamat hafif asidik ortamda güçlü permeasyon artırıcı özellik göstermektedir (59). Caco-2 hücre hattı kullanarak yapılan bir çalışmada kitosan glutamatın C-mannitolün transportunu artırdığı bulunmuştur (60). Deasetilasyon derecesi ve molekül ağırlığı kitosanın permeasyon artırıcı özelliğini önemli derecede etkilemektedir. Yüksek deasetilasyon derecesine sahip formların hem düşük hem de yüksek molekül ağırlığına sahip türevleri etkin bir permeasyon artırıcı özellik gösterirken, düşük deasetilasyon derecesine sahip formların sadece yüksek molekül ağırlığına sahip türevleri permeasyon üzerine etkilidir. Ayrıca yüksek deasetilasyon derecesine sahip formlarda toksisite de daha düşüktür (58). Yüksek deasetilasyon derecesine ve yüksek molekül ağırlığına sahip formlarda sıkı kavşakların yapısal düzenlemesi ile paraselüler permeabilitede artış daha hızlı bir şekilde başlamaktadır (61).

Kitosanın çözünürlüğünün sınırlı olması ve nötral pH'ya sahip dokularda permeasyon artırıcı etkisinin olmaması nedeniyle kitosan türevleri kullanılmaktadır. Bu amaçla farklı katernizasyon derecelerine sahip N-trimetil kitosan hidroklorür (TMC) sentezlenmiştir. TMC sıkı kavşakların yapısındaki bileşenlere geri dönüşümlü olarak bağlanarak paraselüler yolun genişlemesini sağlar. Bu mekanizma ile paraselüler permeabiliteyi artırırken hücre membranına zarar vermez ve intestinal epitel hücrelerinin canlılığını değiştirmez. Caco-2 hücreleriyle yapılan bir çalışmada, TMC'nin nötral ve katyonik peptit analoglarının permeabilitesini önemli derecede

artırdığı gösterilmiştir. Başka bir kitosan türeviden olan mono-karboksümetil kitosan (MCC) poliamfolitik yapıda bir polimer olup sulu ortamlarda ve anyonik makromoleküllerle beraber nötral ortamlarda viskoelastik jel formuna dönüşebilmektedir. MCC'nin anyonik bir polisakkarit olan düşük molekül ağırlıklı heparinin intestinal epitel hücrelerinden absorpsiyon ve permeasyonunu artırdığı bulunmuştur (53). Kitosanın tiyol gruplarının immobilizasyonu ile oluşturulan kitosan-4-tiyo-bütülamidin (kitosan-TBA) konjugatı, permeasyon mediyatörü olan glutasyon (GSH) ile kombine edilerek permeasyon artırıcı etkisi incelenmiştir. Ussing chamber kullanılarak Rodamin 123'ün barsak mukozasından permeabilitesinin incelendiği bir çalışmada kitosan-TBA konjugatı/GSH'nin permeasyon artırıcı etkisinin modifiye edilmemiş kitosana oranla 3 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ayrıca kitosan-TBA konjugatının mukoadhezif özelliği pH 3.0, 5.0 ve 7.0'de dönen silindir yöntemi ile incelenmiş ve düşük pH'da konjugatın mukoadhezif özelliğinin daha fazla olduğu bulunmuştur (62). Floresein izotiyosiyanat dekstran yüklenmiş TMC nanopartiküllerinin Caco-2 hücrelerinin transepitelyal elektriksel direnç (TEER) değerleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, TEER değerlerinin azaldığı ve TMC'nin katernizasyon derecesi arttıkça mukoadhezif özelliğinin artmasına bağlı olarak nanopartiküllerin intestinal mukozada kalış süresinin uzadığı gösterilmiştir (63). Hem *everted intestinal sac* (Tersine çevrilmiş barsak) hem de barsak perfüzyonu yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilen bir çalışmada farklı katernizasyon derecelerine sahip TMC polimerlerinin (%0.0625 - %0.5) mannitolün permeasyonunu artırdığı bulunmuştur (64).

Guo ve diğerleri löprolid asetatinin intestinal permeabilitesi üzerine EDTA, kitosan, aljinat gibi maddelerin etkisini Caco-2 hücre hattı ve *everted gut sac* (tersine çevrilmiş barsak) tekniği kullanarak incelemiştir. Kitosan permeabilitede yaklaşık 5 katlık bir artış sağlayarak ($4.87 \pm 0.36 \times 10^{-7}$ cm/sn ve $2.53 \pm 0.17 \times 10^{-6}$ cm/sn) löprolidin absorpsiyonunu artırmıştır. Löprolidin permeabilitesindeki bu artış membrana bağlı glikoproteinlerin negatif yüklü siyalik grupları ile kitosanın pozitif yüklü amino gruplarının etkileşmesi sonucu komşu hücreler arasındaki sıkı kavşak bağlantılarının açılmasına bağlı olarak gerçekleşmiştir (65). Kitosanın içerdiği hidrofobik fonksiyonel grup tipi, N-sübstitüsyon oranı ve katernizasyon derecesi Caco-2 hücre hattında TEER değeri ve permeabilite üzerine etki etmektedir. Paraselüler yolla

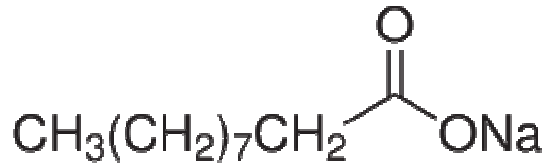
taşınan floresein izotiyosiyanat dekstran 4.400 (FD-4)'ın model madde olarak kullanıldığı bir çalışmada, suda çözünen katerner amonyum kitosan türevlerinin Caco-2 hücre hattında permeabilite üzerine etkisi incelenmiştir. Yüksek katernizasyon derecesi ve N-sübstitüsyon oranı, FD-4 permeabilitesinin artmasına yol açmaktadır. Optimum katernizasyon derecesinin % 60-73 arasında olduğu bulunmuştur. Kitosan hidrofobik fonksiyonel gruplarla [alifatik aldehit (n-oktil) veya aromatik aldehit (benzil)] sübstitüye edildiğinde FD-4 permeabilitesinin azaldığı tespit edilmiştir (66).

2.3.2.Sodyum Kaprat

Orta zincirli yağ asitleri (trigliseritler) gliserolün 6-12 karbonlu yağ asidi esterleridir. Diğer trigliseritler gibi bir gliserol ve üç yağ asidi omurgasına sahiptirler ve karbon sayılarına göre isimlendirilirler (C₆: kaproik asit, C₈: kaprilik asit, C₁₀: kaprik asit, C₁₂: laurik asit gibi). Orta zincirli yağ asitleri insan vücudu için inert ve biyolojik enerji kaynağıdır. Erime noktaları uzun zincirli yağ asitlerine nazaran daha düşük olup, küçük molekül ağırlığına sahip oldukları için suda nispeten çözünürler. Lipit metabolizmasındaki absorpsiyon bozukluklarına karşı ve hiperlipidemide klinik kullanımları da vardır (67).

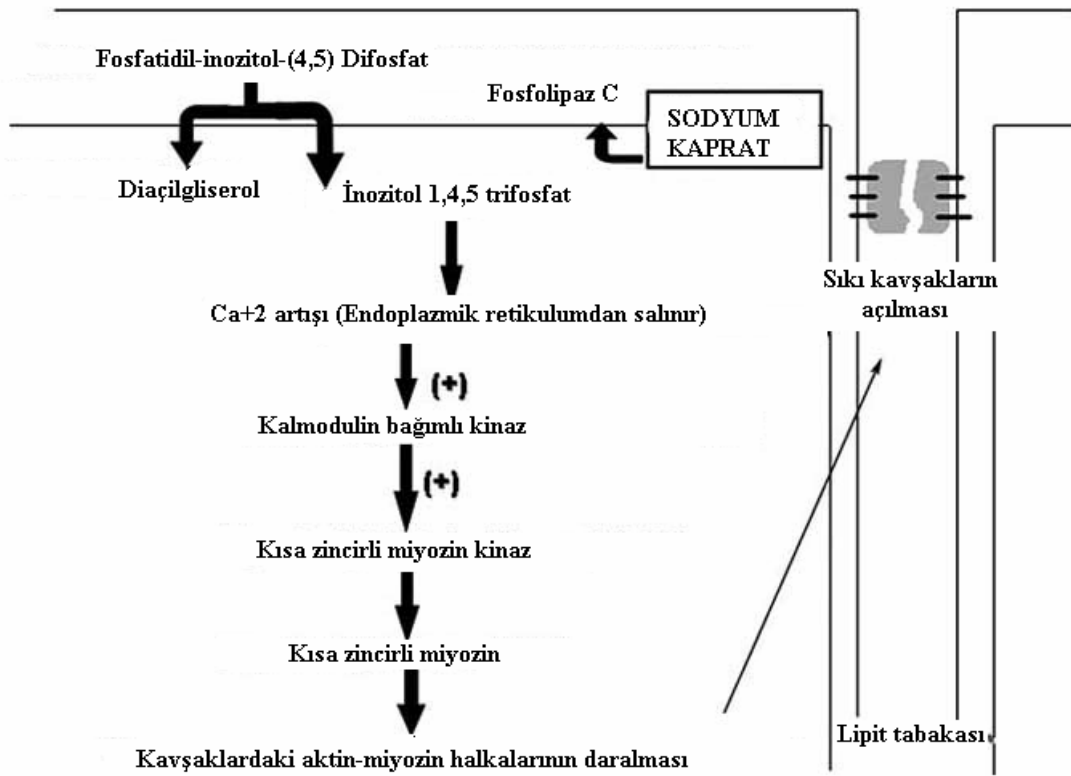
Orta zincirli yağ asitlerinin [kaprilat (C₈), kaprat (C₁₀), laurat (C₁₂)] sodyum tuzları hidrofilik ilaçların paraselüler permeabilitesini artırdığı için permeasyon artırıcı ajan olarak kullanılmaktadır. Sodyum kaprilat, kaprat, laurat ve kaproatın permeabilite artırıcı etkilerinin karşılaştırmalı olarak incelendiği bir çalışmada sodyum kaprilat, kaprat ve lauratın Caco-2 hücre hattından mannitolün geçişini doza bağlı olarak artırdıkları gözlenmiştir. Bu çalışmada sodyum kaproat etkisiz bulunurken, en etkili bileşiğin sodyum laurat olduğu belirtilmiştir (68). Orta zincirli yağ asitlerinden kaprik asidin sodyum tuzu olan sodyum kaprat (CH₃(CH₂)₈COONa M.A: 194.25 g/mol, Şekil 2.5) (69) bilinen en iyi permeasyon artırıcı maddeler arasındadır. Anyonik sürfaktan özelliğinde olan sodyum kaprat suda kolay çözünmektedir (70). Sodyum kaprat hidrofilik yapıdaki ilaçların paraselüler yolla, hidrofobik yapıdaki ilaçların hem paraselüler hem de transselüler yolla transportunu artırmaktadır (71). Sodyum kaprat sıkı kavşakları açarak paraselüler yolla ilaç

taşınmasını sağlar. Barsak mukozasında ise Ca^{+2} iyonlarını geçici olarak elimine ederek hücreler arası boşlukları daha girilebilir hale getirir (72). Caco-2 hücreleriyle yapılan çalışmalarda mannitol, fenol kırmızısı veya sodyum floresein gibi referans maddelerin paraselüler permeabilitelerinin sodyum kapratla önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir (73). Ayrıca sodyum kaprat peptit yapılı ilaçların Caco-2 hücrelerinden permeabilitesini artırmaktadır (73, 74). Absorpsiyonu düşük bir antibiyotik olan sefmetazolun jejunumdan absorpsiyonunun % 0.25 konsantrasyonda sodyum kaprat kullanılarak artırıldığı da bildirilmiştir (75). Sodyum kapratın permeabilite artırıcı etkisi doza bağımlı olarak gerçekleşmektedir.



Şekil 2.5. Sodyum kapratın kimyasal yapısı (69).

Sodyum kapratın etki mekanizmasını açıklamak amacıyla farklı mekanizmalar öne sürülmüştür. Plazma membranında bulunan fosfolipaz C'nin sodyum kaprat tarafından aktivasyonu sonucu intraselüler kalsiyum seviyesinin artmasıyla paraselüler permeabilitenin düzenlenmesinin mümkün olduğu ve kalsiyum seviyesindeki bu artışın kalmoduline bağımlı aktin mikrofilamentlerinin daralmasını indükleyerek paraselüler permeabiliteyi artırdığı belirtilmiştir (Şekil 2.6) (68, 76-78).



Şekil 2.6. Sodyum kapratın etki mekanizması (62).

Başka bir çalışmada ise sodyum kapratın sıkı kavşak porlarında dilatasyon yaparak değil, bu porların sayısında artış sağlayarak etki gösterdiği ileri sürülmüştür (79). Etki mekanizmasıyla ilgili olarak öne sürülen başka bir teoriye göre sodyum kaprat intraselüler ATP miktarını azaltarak maddelerin hücre içine alınabilmesi için gerekli potansiyel enerji yükünü artırarak paraselüler permeabiliteyi artırmaktadır. Sodyum kapratın farklı moleküllerin permeasyonunu artırıcı etkisi mitokondriyal dehidrojenaz aktivitesinin azalmasıyla ilişkilidir (80).

Caco-2 hücreleri kullanılarak yapılan bir çalışmada sodyum kapratın sıkı kavşaklarda yapısal değişikliklere yol açarak etkisini gösterdiği bulunmuştur. Sodyum kapratın etkisinin doza ve uygulama süresine bağlı olarak değişip değişmediğini incelemek amacıyla model ilaç olarak mannitol kullanılmıştır. Çalışmadan elde edilen bulgular 10-24 mM doz aralığında sodyum kapratın etkisinin doza bağımlı olduğunu göstermiştir. Diğer taraftan 10 mM konsantrasyonda zamana bağlı olarak etkide önemli bir değişiklik gözlenmezken 13 mM ve daha yüksek konsantrasyonlarda sodyum kapratın sıkı kavşaklar üzerine etkisinin zamana bağlı

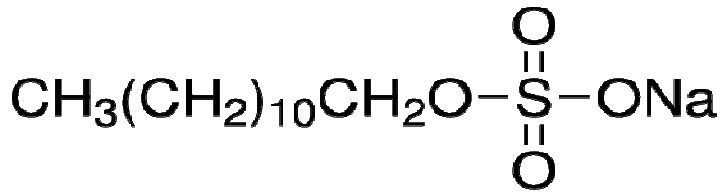
olarak değiştiği bulunmuştur. Caco-2 hücresleri sodyum kapratla muamele edildikten sonraki ilk 20 dk içinde manitolün permeabilite değerleri ($P_{app} = 9.22 \pm 5.55 \times 10^{-7}$ cm/dk) kontrol grubuna göre ($P_{app} = 2.36 \pm 0.54 \times 10^{-7}$ cm/dk) daha yüksek bulunmuştur. İkinci 20 dk içinde de sodyum kaprat grubundaki manitolün permeabilite değerleri ($P_{app} = 3.82 \pm 1.37 \times 10^{-6}$ cm/dk) kontrol grubundan ($P_{app} = 2.62 \pm 0.20 \times 10^{-7}$ cm/dk) oldukça yüksek bulunmuştur (81). Başka bir çalışmada ise farklı permeasyon artırıcı ajanlar ve farklı lipofiliteye sahip etken maddeler kullanılarak permeasyon artırıcı etkileri değerlendirilmiştir. Bu amaçla absorpsiyon artırıcı ajan olarak yağ asitleri (sodyum kaprat, sodyum kaprilat), siklodekstrinler (β -siklodekstrin, hidroksipropil β -siklodekstrin) ve safra tuzları (sodyum deoksikolat, sodyum kolat), farklı lipofiliteye sahip etken maddeler olarak hidrofilik ilaçlar (sefoksim sodyum, seftazidim pentahidrat) ve lipofilik ilaçlar (lovastatin, siklosporin A) kullanılmıştır. *In vitro everted sıçan intestinal sac* (tersine çevrilmiş barsak) tekniği ile yapılan çalışmalar sonucunda sodyum kaprat ve kaprilatın lovastatinin permeasyonunu sırasıyla 10 ve 8 kat artırdığı bildirilmiştir. Yağ asitlerinin permeasyon artırıcı bu etkilerini hem sıkı kavşakların açılmasını sağlayarak hem de çift katlı membran tabakasını bozarak gosterdikleri belirtilmiştir (82). Sasaki ve diğerlerinin sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada glisirizin ve sodyum kapratın oral yolla uygulamasından sonra ilk dört saat içerisinde plazma konsantrasyon-zaman eğrisi altında kalan alan değerleri tayin edilerek etkinin doza bağımlı olup olmadığı incelenmiştir. Ayrıca birden fazla orta zincirli yağ asidinin *in vivo* etkileri de değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar etki gücünün sodyum kaprat > laurat > kaprilat sırasına göre azaldığını göstermiştir (83). Sodyum kapratın toksisitesini incelemek amacıyla yapılan çalışmalarda farklı dozlarda [intrajejunal-intrakolonik: %0.5-1, intraileal: 0.05, 0.2, 0.5 mmol/kg (1 ml/kg), intrajejunal: 25, 50 ve 100 mg/kg (0.5 ml/kg)] çözelti uygulaması yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar çalışılan dozlarda intestinal mukozada herhangi bir hasara yol açmadığını göstermiştir (84). Berberinin barsaklardan (duodenum, jejunum ve ileum) absorpsiyonu üzerine sodyum kapratın etkisinin incelendiği bir çalışmada, sodyum kapratın intestinal mukozaya önemli bir hasar vermeden absorpsiyonu arttırdığı bildirilmiştir (85). Levotroksin sodyumun MDCK hücrelerinden permeabilitesi üzerine farklı yağ asitlerinin (kaprik asit, laurik asit ve oleik asit) etkisinin incelendiği bir çalışmada ise

TEER değerlerinin azaldığı ve permeabilitenin arttığı bulunmuştur. Ayrıca diğer yağ asitleri yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik etkiye yol açarken sodyum kapratta böyle bir etkiye rastlanmamıştır (86).

2.3.3. Sodyum Lauril Sülfat

Yüzey etkin maddeler iki sıvı veya bir sıvı ile bir katı arasındaki yüzeyler arası gerilimi azaltarak deterjan, ıslatıcı ajan, emülgatör, köpürtücü ajan veya dispersiyon ajanı olarak kullanılmaktadırlar. Katyonik (ör. setiltrimetil amonyum bromür), anyonik (ör. sodyum lauril sülfat) ve nötral yüzey etkin maddeler (ör. dodesil betain) olarak sınıflandırılırlar (50). Çeşitli yüzey etkin maddelerin intestinal permeasyonu artırıcı etkileri araştırılmıştır. Örneğin noniyonik yüzey etkin maddeler için hem alkil zinciri hem de polar grubun yapısı ve büyüklüğü absorpsiyon artırıcı etkilerini değiştirmektedir. Genel olarak membran bileşenlerini çözerek hücre membranına etki etmektedirler (42). Yüzey etkin maddeler farklı mukozal yüzeylerde ve deride de permeasyon artırıcı etki göstermektedirler.

Anyonik bir sürfaktan olan sodyum lauril (dodesil) sülfat (SLS) permeasyon artırıcı ajan olarak birçok çalışmada kullanılmıştır. Sodyum lauril sülfat'ın formülü $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3\text{Na}$ (M.A: 288.372 g/mol) olup, Şekil 2.7'de gösterilmiştir (87). Beyaz toz şeklinde olan SLS suda çözünür (1g/10 mL), etanolde az çözünür (88).



Şekil 2.7. Sodyum lauril sülfatın kimyasal yapısı (87).

Farklı konsantrasyonlarda (%2, 3, 4) sodyum lauril sülfat kullanılarak hazırlanan mukoadhezif asiklovir tabletlerinin permeabilitesinin piyasada bulunan asiklovir tabletleri ile kıyaslandığı bir çalışmada, piyasadaki tabletlerin permeabilite değerlerinin mukoadhezif tabletlerden daha düşük olduğu bulunmuştur. Ayrıca sodyum lauril sülfat konsantrasyonu arttıkça permeabilitenin de arttığı ve en yüksek

permeasyon artırıcı etkinin %4 sodyum lauril sülfat içeren mukoadhezif tablette gözlemlendiği bildirilmiştir (89).

Anderberg ve diğerleri anyonik (sodyum lauril sülfat, sodyum dioktil sülfosüksinat), noniyonik (polisorbat 80, polioksil 40), sentetik yüzey etkin maddeler ve safra asitlerinin (sodyum taurokolat, sodyum taurodeoksikolat, sodyum taurodihidrofusidat) Caco-2 hücrelerinin permeabilite, enzim aktivitesi ve hücre morfolojisi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Permeabilite üzerine etki referans moleküllerin (mannitol ve polietilen glikol) transportu ve TEER değerleri ölçülerek belirlenmiştir. Elde edilen bulgular çalışmada kullanılan yüzey etkin maddelerin permeabilite artırıcı etkisinin konsantrasyona bağımlı olduğunu ve anyonik yüzey etkin maddelerin permeabilite artırıcı etkisinin noniyonik yüzey etkin maddelere kıyasla çok daha fazla olduğunu göstermiştir (81). Sürfaktanların membran permeabilitesini hangi mekanizma ile artırdığını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, sürfaktanların membran ile sulu yüzey arasına yerleştiği gösterilmiştir. Sürfaktanların membranla etkileşim derecesi membran ve sürfaktanın özelliklerine bağlı olup, kritik yüzey basıncı değerinin üzerinde membranda birikme, membran permeabilitesinde artma ve buna bağlı olarak akut membran hasarı gözlenmektedir (90).

Farklı ekspiyanların (laktoz, sodyum lauril sülfat, Tween 80, hidroksipropil metil selüloz, dokusat sodyum, EDTA, propilen glikol, PEG 400, susuz çilek aroması) ve permeabilitesi düşük ilaçların (asiklovir, atenolol, simetidin, furosemid, hidroklorotiyazid, ranitidin hidroklorür, mannitol) kullanıldığı bir çalışmada, Caco-2 hücre hattında en fazla permeabilite artırıcı etki gösteren ekspiyanın SLS olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada SLS 0.139 mM dozda kullanılmış ve atenolol hariç diğer ilaçlarda permeabilite artırıcı etki göstermiştir. Sadece apikal kompartmana SLS eklendiğinde ranitidin hidroklorür, asiklovir ve hidroklorotiyazidin permeabilite değerleri sırasıyla 1.53, 1.27 ve 1.42 kat artmıştır. Hem apikal hem bazolateral kompartmana SLS eklendiğinde ise bir saat içerisinde simetidin permeabilitesi 1.43 kat artarken, furosemidin permeabilitesinde önemli bir değişim gözlenmemiştir. Ancak 2. ve 3. saat içerisinde zamana bağlı olarak furosemid ve simetidin permeabilitesi artmıştır. Her iki kompartmana da SLS eklendiğinde sıkı kavşakların yapısında ciddi bozulmalara neden olarak permeabiliteyi artırdığı belirtilmiştir (91).

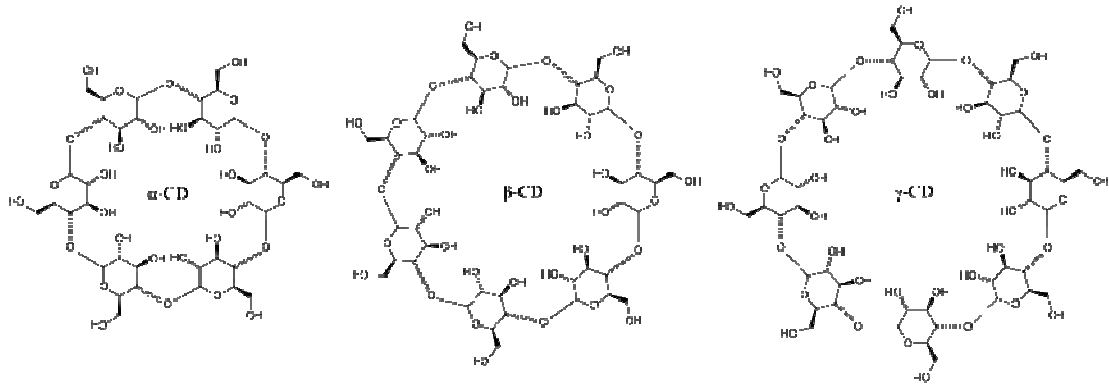
Diğer bir çalışmada ise sodyum lauril sülfatın 80 mg/L konsantrasyon üzerinde sıkı kavşakların açılmasını sağladığı ve mannitolün paraselüler transportunu geri dönüşümlü olarak artırdığı bulunmuştur (92).

Caco-2 ve MDCK hücre hatlarından asiklovirin transepitelyal permeasyonu üzerine absorpsiyon artırıcıların (dimetil β -siklodekstrin, kitosan hidroklorür, sodyum lauril sülfat ve bunların kombinasyonları) etkisi incelenmiş, bu hücrelerde sıkı kavşakların ve paraselüler bütünlüğün değerlendirilmesinde referans madde olarak mannitolün permeabilite değeri ve TEER değeri esas alınmıştır. Asiklovirin permeabilitesi absorpsiyon artırıcıların varlığında daha yüksek bulunmuştur. Absorpsiyon artırıcıların kombine halde kullanıldığı gruplarda ise sinerjistik etki ile asiklovirin permeabilitesi daha da artmıştır. Caco-2 hücrelerinde % 0.015 konsantrasyonda sodyum lauril sülfat kullanıldığında mannitolün permeabilite değeri kontrol grubuna kıyasla 6 kat artarken, MDCK hücrelerinde 8 kat artmıştır (93).

2.3.4. Dimetil β -Siklodekstrin

Siklodekstrinler siklik yapıdaki oligosakkaritler olup, (α -1,4 bağlı) α -D-glikopiranoz ünitelerinden oluşmuş, kesik koni şeklinde esnek olmayan (rijit) moleküllerdir. Nişastadan enzimatik yolla üretilmektedirler. Yapılarında hidrofilik dış yüzey ve merkezde hidrofobik özellikte bir boşluk bulunmaktadır. Bu boşluk, ilaç moleküllerin bağlanması için uygun bir bölgedir.

Siklodekstrinler ilaç formülasyonlarına absorpsiyon artırıcı olarak eklenmektedir. İyi bilinen ve doğal olarak oluşturulan türevleri α , β , γ – siklodekstrinler olup, α -siklodekstrin siklik yapı içerisinde 6 glikoz monomeri, β -siklodekstrin 7 glikoz monomeri ve γ -siklodekstrin 8 glikoz monomeri taşımaktadır (Şekil 2.8) (94). α -, β -, γ -siklodekstrinlerin bazı fizikokimyasal özellikleri Tablo 2.3’de verilmiştir (95).



Şekil 2.8. α -, β -, γ -siklodekstrinlerin (CD) kimyasal yapısı (94).

Tablo 2.3. Siklodekstrinlerin fizikokimyasal özellikleri (95).

	α -siklodekstrin	β -siklodekstrin	γ -siklodekstrin
Glikopiranoz Ünite Sayısı	6	7	8
Molekül Ağırlığı (g/mol)	972	1135	1297
Merkezi Boşluk Çapı (Å)	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3
Suda Çözünürlük (g/100 mL; 25 °C)	14.5	1.85	23.2

Diğer siklodekstrin türevleri (hidroksipropil β -siklodekstrin, sülfobütileter β -siklodekstrin gibi) suda çözünürlüğün artırılması veya parenteral uygulamadaki stabilite sorunları nedeniyle kimyasal modifikasyonla üretilmektedir (96). Suda çözünürlüğü çok az olan siklodekstrin türevlerine serbest -OH (hidroksil) grupları üzerinden metil, etil, propil gibi alkil zincirlerinin bağlanmasıyla suda çözünürlük önemli derecede artar. Örneğin β -siklodekstrinin sudaki çözünürlüğü %1.85 (a/h) iken, (2-hidroksipropil)- β -siklodekstrinin sudaki çözünürlüğü %60 (a/h)'dır.

Siklodekstrinler üzerinde yapılan kimyasal modifikasyonlarla ilaç molekülleriyle etkileşim ve kompleks oluşturma eğilimleri artırılmıştır

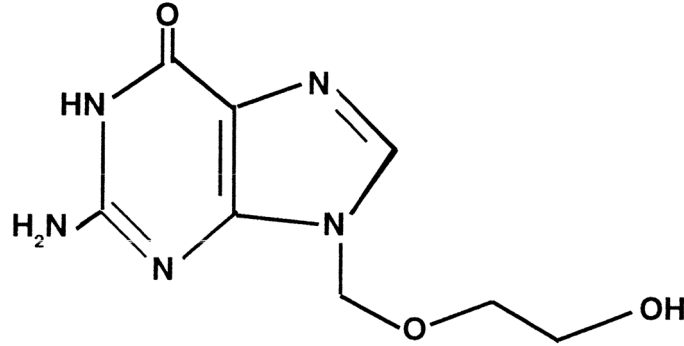
Farmasötik formülasyonlarda β -siklodekstrin, özellikle hidrokispropil β -siklodekstrin (HP- β -CD), sülfobütileter β -siklodekstrin (SBE- β -CD) oral ilaç absorpsiyonunu artırmak için kullanılmaktadır. β -siklodekstrinlerin absorpsiyon artırıcı etkisi iki mekanizma ile ilişkilendirilmiştir. Bu mekanizmalardan birincisinde β -siklodekstrinler intestinal membran yüzeyinde ilaçların permeabilitesini artırarak direkt etki göstermektedirler (97). Diğer mekanizmada ise β -siklodekstrinler ilaç taşıyıcı olarak görev yaparak ilaçların çözünürlüğünü artırır ve gastrointestinal sıvıda ilacın bozunmasını engellerler (98). Başka çalışmalarda ise metillenmiş β -siklodekstrinlerin membran kolesterolünün ekstraksiyonu ile hidrofilik ilaçların mukozal permeabilitesini geçici olarak değiştirdiği ve sıkı kavşakları açtığı belirtilmiştir (99, 100).

Asiklovirin permeasyonunun absorpsiyon artırıcılar varlığında *in vitro* olarak değerlendirildiği bir çalışmada ise dimetil β -siklodekstrin, kitosan hidroklorür, sodyum lauril sülfat ve bunların kombinasyonları kullanılmıştır. Etkinin değerlendirilmesi için mannitolün permeabilite (P_{app}) ve TEER değerleri kullanılmıştır. Çalışma, %1, 3, 5 (a/h) oranlarında dimetil β -siklodekstrin kullanılarak Caco-2 ve MDCK hücre hatlarında yapılmıştır. Her iki hücre hattında da absorpsiyon artırıcılar varlığında mannitolün permeasyon katsayısı doza bağımlı olarak artmıştır. Caco-2 hücrelerinde %5 (a/h) oranında dimetil β -siklodekstrin kullanıldığında mannitolün permeabilitesi 11 kat artarken, MDCK hücrelerinde 14 kat artmıştır. Caco-2 hücrelerinde %5 (a/h) oranında dimetil β -siklodekstrin kullanıldığında TEER değeri 2 saatte başlangıç değerinin %42'sine ulaşırken, MDCK hücrelerinde başlangıç değerinin %39'una ulaşmıştır. Bununla birlikte %5(a/h) oranında dimetil β -siklodekstrin kullanıldığı durumda asiklovirin permeabilitesi Caco-2 hücre hattında 11 kat, MDCK hücre hattında 15 kat artmıştır (93).

2.4.Asiklovir

2.4.1. Fizikokimyasal Özellikler

Asiklovir ($C_8H_{11}N_5O_3$ M.A: 225.2 g/mol, Şekil 2.9) (101) genellikle herpes virüslerinin tedavisinde kullanılan antiviral bir ilaçtır (102).



Şekil 2.9. Asiklovirin kimyasal yapısı (101).

Beyaz bir toz olan asiklovir polar bir yapıya sahip olması nedeniyle suda çözünür (0.7 mg/mL) ancak organik çözücülerde çözünmez (103). Asiklovir (9-[(2-hidroksietoksi)-metil]metil]-güanozin) asiklik bir güanozin türevidir ve yapısal olarak endojen maddelere benzemektedir. Güaninden hareketle sentezlenen sentetik bir pürin nükleozid analogudur (104, 105). Zwitter iyon (106) olan asiklovir iki ayrı pK_a değerine (2.16 - 2.27 ve 9.04 - 9.95) sahiptir (107-109). Asiklovirin *n*-oktanol içerisindeki logP değeri iki farklı araştırmacı tarafından oldukça benzer bulunmuştur (-1.57 ve -1.59) (110, 111).

2.4.2. Kalitatif ve Kantitatif Analiz Yöntemleri

Asiklovirin miktar tayini amacıyla HPLC ve spektrofotometrik yöntemler sıklıkla kullanılmıştır. İnsan serum (LOQ:100 ng/mL, LOD: 25 ng/mL; 112), serebrospinal sıvı (LOQ: 0.5 μ M; 113), ve plazma (LOQ: 400 \pm 0.9 ng/mL; 114)'sından asiklovirin tayini HPLC kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca kitosan mikroküreleri (115) ve krem formülasyonlarından (LOQ: 0.15 mg/L; 116) asiklovir

tayini amacıyla da HPLC yöntemi kullanılmıştır. Asiklovirin farmasötik dozaj formlarından (tablet, kapsül, krem ve göz merhemi) miktar tayini için spektrofotometrik yöntem de mevcuttur (LOD :1.14-157.00 µg/mL; 117).

2.4.3. Farmakolojik Özellikler

Asiklovir herpes simpleks ve varicella zoster virüslerine karşı kullanılan antiviral bir ilaçtır. Özellikle vajinal herpes simpleks (HSV) ve tekrarlayan orofasial herpes simpleks enfeksiyonlarında yüksek terapötik etki gösterir (118). Asiklovir antiviral aktivitesini gösterirken viral DNA'yı yarışmalı olarak inhibe eder. HSV-timidin kinaza memeli enziminden 200 kat daha fazla afiniteyle seçici olarak bağlanır (119). Asiklovirin etki mekanizmasının açıklandığı çalışmalarda antiviral aktivitenin viral kodlu timidin kinaz enzimlerine spesifik olduğu belirtilmiştir. Asiklovir enfekte hücreler tarafından seçici olarak absorbe edilerek viral timidin kinaz ile asikloguanozin monofosfata metabolize edilir. Sağlıklı hücrelerde timidin kinaz asikloguanozini kullanmaz. Enfekte hücrelerin kinaz enzimleri monofosfatı trifosfata dönüştürür. Aktif asikloguanozin trifosfat viral DNA polimeraz aracılığıyla çoğalan DNA zincirleriyle birleşerek virüs DNA'sının çoğalması inhibe edilir. Asikloguanozin trifosfat enfekte DNA çoğalmasını enfekte olmayan DNA çoğalmasından 10-30 kat daha fazla inhibe eder (120, 121). Asiklovir trifosfat viral DNA replikasyonunu 3 yolla durdurmaktadır. Bunlar viral DNA polimerazın yarışmalı inhibisyonu, viral DNA polimerazın inaktivasyonu ve viral DNA zincirinin büyümesini sonlandırma şeklindedir. Asiklovir sitomegalovirus ve Epstein Barr virus enfeksiyonlarına karşı da kullanılmaktadır (105). Aynı zamanda immünosüpresif hastalarda sitomegalovirüs enfeksiyonlarının proflaksisinde de kullanımı vardır (122). Asiklovir, *in vivo* herpes simpleks enfeksiyon modellerinde, diğer nükleozid analoglarına kıyasla daha etkili bulunmuştur. (118).

Herpes simpleks ve varicella zoster virüsleri latent enfeksiyon oluşturmaktadırlar. Hem ilk hem de tekrarlayan hastalıklar deri ve mukoz membranlarda vezikül ve ülser oluşumuna yol açmaktadır. Asiklovir virüs kodlu enzimler gibi davranmasına rağmen virüslerin diğer hücrelere yayılımı ve erken lezyonların gelişimi gözlenebilir. Genel kural olarak tedavinin başlarında hastalığın

etkilerinin devam etme olasılığı vardır. Bu nedenle çoğu hasta tedavi olması gerektiğini geç fark etmektedir (123).

2.4.4. Klinik Kullanımı ve Dozu

Herpes simpleks ve varicella zoster enfeksiyonlarında kullanılan asiklovirin ticari olarak kullanılan intravenöz, oral ve topikal preparatları mevcuttur. Oral tablet formülasyonları 200, 400 ve 800 mg asiklovir içerirken oral süspansiyon formülasyonları 200mg/5mL ve 400 mg/5 mL dozda asiklovir içerir. IV dozaj formu 5 mg/kg dozda 8 saat arayla uygulanmaktadır. Topikal olarak uygulanan krem formülasyonları %5 asiklovir içerirken, oftalmik merhem formülasyonu %3 asiklovir içermektedir (124). İntravenöz yolla uygulamada kandaki ilaç seviyesinde hızlı bir artış görülmesine rağmen, bu uygulama sadece akut durumlarda tercih edilir. Herpes simpleks enfeksiyonları kronik tedavi gerektirir. Bu durum düşük hasta uyuncuna ve enjeksiyon bölgesinde lokal toksisiteye yol açar. Asiklovirin topikal uygulamasında ise absorpsiyon oldukça yavaştır. Bu nedenle oral uygulama en çok tercih edilen uygulama yoludur. Oral uygulamanın dezavantajı ise ilacın gastrointestinal kanaldan absorpsiyonunun düşük, zayıf ve değişken olmasıdır.

2.4.5. Yan Etkiler ve İlaç Etkileşimleri

Asiklovir genellikle iyi tolere edilmektedir. Oftalmik uygulamada nadiren reaksiyon gözlenebilir. Topikal uygulamada ise yanma, batma, hafif kızarıklık ve ciltte kuruma oluşabilir. İntravenöz asiklovir uygulamasında enjeksiyon bölgesinde inflamasyon ve flebit oluşumu bildirilmiştir. İntravenöz uygulamanın ardından uyuşukluk, titreme, konfüzyon, halüsinasyon ve nöbet gibi nörolojik ve psikiyatrik etkiler gözlenebilir. Asiklovirin kısa süreli oral kullanımında en yaygın görülen yan etkiler bulantı ve kusmadır (118). Bu yan etkilere ek olarak baş ağrısı, ensefalopati, kristalüri ve renal tübüler obstrüksiyon gibi etkiler de gözlenebilir.

Asiklovirin tenofovir (antiretroviral), telbivudin (antiviral) ve entekavir (antiviral) ile birlikte kullanılması durumunda bu ilaçların plazma konsantrasyonu değişebilir. Bu ilaçlar böbrekler aracılığıyla elimine edildikleri için asiklovirin

nefrotoksisitesine bağılı olarak plazma konsantrasyonları değişebilmektedir. Bu durum ciddi yan etkilere yol açmaktadır. Ayrıca seçici immünsupresif bir ajan olan mikofenolik asit ile asiklovir bir arada kullanıldığında hastanın kan hücresi sayımlarının izlenmesi gerekmektedir. Her iki etkin madde renal tübüler sekresyona uğradığı için, özellikle böbrek yetmezliği olan hastalarda lökopeni gibi yan etkiler gözlenebilir (125).

2.4.6. Biyoyararlanımı ve Farmakokinetik Özellikleri

Asiklovirin oral biyoyararlanımı %10-30 arasında değişmektedir. Azalan doza bağılı olarak biyoyararlanım da azalmaktadır. 200 mg asiklovir alımının ardından ölçülen en yüksek plazma konsantrasyonu 0.4-0.8 µg/mL, 800 mg asiklovir alımının ardından ölçülen en yüksek plazma konsantrasyonu ise 1.6 µg/mL'dir (119). Köpek ve insanlarda yapılan bir çalışmada insanlarda verilen dozun %20'si, köpeklerde ise %100'ü absoplanmaktadır (106). Plazmada kararlı durum konsantrasyonuna (6.7-20.6 mg/L) 2.5-15.0 mg/kg dozda 8 saat intravenöz uygulama ile ulaşılmaktadır (118). Renal fonksiyonları normal olan sağlıklı yetişkin bireylerde asiklovirin eliminasyon yarı ömrü ($t_{1/2}$) 1.5-6 saat arasında değişmektedir. Yetersiz böbrek fonksiyonu olan bireylerde bu süre 20 saate kadar uzamaktadır.

Asiklovirin yiyeceklerle birlikte kullanımında barsaklardan absorpsiyonu değişmektedir. Aşırı yağlı diyetle beslenen kişilerde, barsaklardaki taşıyıcı proteinlerin inhibisyonu nedeniyle biyoyararlanım azalmaktadır. Aynı zamanda mide boşalmasının gecikmesi ve yavaş absorpsiyon nedeniyle maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşmak için gerekli süre (T_{maks}) uzamaktadır (126). İnsanlardaki açlık ve tokluk durumlarını taklit etmek amacıyla gerçekleştirilen hücre kültürü çalışmalarında iki saat içerisinde apikalden bazolateral kompartmana geçen ilaç miktarı incelenmiştir. İki saat sonunda açlık durumunu taklit eden koşullarda başlangıç dozunun % 0.049'u, tokluk durumunu taklit eden koşullarda ise başlangıç dozunun % 0.029'u bazolateral kompartmana geçmiştir. (127). Sağlıklı gönüllülerde yapılan bir çalışmada asiklovirin hafif ve ağır bir kahvaltı sonrası absorpsiyonları incelenmiş ve ağır beslenme sonucu gastrik boşalma hızının yavaşlamasına bağılı olarak ilaç absorpsiyonunun önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir (128).

Vücut dokularına (akciğer, beyin, böbrek, dalak, kalp, karaciğer, kas, plasenta, uterus gibi) yaygın olarak dağılan asiklovir, terapötik plazma konsantrasyonlarında plazma proteinlerine düşük oranda (%9-33) bağlanmaktadır (108, 109).

Asiklovirin gastrointestinal kanaldan absorpsiyonu yavaş, değişken ve tam değildir. Verilen oral dozun yaklaşık %80'i absorbe olmadan feçesle atılır. Glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyon ile değişmemiş ilaç halinde böbreklerden atılımı ana eliminasyon yoludur. Düşük oranda (%8-14) oranında karaciğerde metabolize edilerek farmakolojik olarak inaktif metaboliti olan 9-karboksimetilguanine dönüştürülerek böbreklerden atılır (110, 119). Böbrek hücre hattı (HEK293) kullanılarak yapılan bir çalışmada, asiklovirin insan göğüs kanseri resistans proteininin (BCRP) substratı olduğu gösterilmiştir (129).

Amidon ve diğerleri tarafından geliştirilen Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (Biopharmaceutical Classification System-BCS) ilaç etkin maddelerini çözünürlük ve permeabilitelerine göre 4 sınıfa ayırır. Yüksek çözünürlük ve yüksek permeabiliteye sahip ilaçlar Sınıf I'de, düşük çözünürlük ve yüksek permeabiliteye sahip ilaçlar Sınıf II'de, yüksek çözünürlük ve düşük permeabiliteye sahip ilaçlar Sınıf III'te ve düşük çözünürlük ve düşük permeabiliteye sahip ilaçlar ise Sınıf IV'te yer alırlar (130). Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi'ne göre Sınıf III'de yer alan asiklovirin çözünürlüğü yüksek permeabilitesi ise düşüktür (131). Paraselüler yoldan pasif difüzyonla taşınan asiklovirin (93) Caco-2 hücre hattı kullanılarak tayin edilen permeabilite değerleri Tablo 2.4.'te özetlenmiştir.

Tablo 2.4. Caco-2 hücre hatlarında asiklovirin permeabilite değerleri (110).

Konsantrasyon	pH	Görünür Permeabilite (P_{app}) ($\times 10^{-6}$ cm/s)
0.02-6 mM	7.4	0.12
0.01-0.1 mM	7.4	0.25
10 mM	7.4	0.43
Belirtilmemiştir	-	1.08
Doygunluk değerinin altındadır	6.8	1.26
Belirtilmemiştir	6.5 (Apikal) 7.4 (Basolateral)	2.00
0.5 mCi/mL	7.0	11.9

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kimyasal Maddeler

Asetonitril	Sigma-Aldrich / Almanya
Asiklovir	Nobel / Türkiye
Dimetil β -siklodekstrin	Sigma-Aldrich / Almanya
Fenol Kırmızısı	Merck / Almanya
Furosemid	Sanofi Aventis / Türkiye
Suda çözünen kitosan	Novamatrix / Norveç
Mannitol	Merck / Almanya
Metanol	Sigma-Aldrich / Almanya
Metoprolol Tartarat	Novartis Pharma AG / İsviçre
Sodyum Bikarbonat	Sigma-Aldrich / Almanya
Sodyum Kaprat	Sigma-Aldrich / Almanya
Sodyum Klorür	Sigma-Aldrich / Almanya
Sodyum Lauril Sülfat	Sigma-Aldrich / Almanya
Sodyum Sülfat	Sigma-Aldrich / Almanya
Potasyum Dihidrojen Fosfat	Sigma-Aldrich / Almanya
Potasyum Klorür	Sigma-Aldrich / Almanya

3.1.2. HPLC Gereçleri

Dedektör (Agilent DAD G1315B)	Agilent / U.S.
Vakumlu Pompa (Agilent G1311A)	Agilent / U.S.
Manuel Enjektör (Agilent G1328B)	Agilent / U.S.
Kolon (C18; 250 x 4.6 mm, 5 μ m)	Fortis HPLC Coloums / İngiltere

3.1.3. Perfüzyon Gereçleri

Peristaltik Pompa	Gilson / Fransa
Tubingler	Gilson / Fransa

3.1.4. Aletler

Derin Dondurucu (-20 °C)

İlShin Lab. Co. Ltd. / Amerika

Membran Filtre (0.45 µm)

Alltech Ass. Inc. / Avustralya

Mikropipet (10-100 µL, 100-1000 µL)

Brand / Almanya

Ultrasonik Banyo

Bandelin / Almanya

pH Metre

Hana Ins. / ABD

3.1.5. Deney Hayvanı

Sprague-Dawley Dişi Sıçan

Fırat Üniversitesi / Türkiye

3.2. Yöntem

Tüm perfüzyon deneylerinde lümeden kayıp esasına dayanan ve farklı barsak segmentlerinin (jejunum, ileum ve kolon) simultane olarak sirküle edilmeden perfüzyonuna imkan veren *in situ* barsak perfüzyon tekniği kullanılmıştır (132, 133). Barsaklardan paraselüler ilaç absorpsiyonu üzerine permeasyon artırıcı ajanların etkisini incelemek için model ilaç olarak asiklovir, permeasyon artırıcı ajan olarak suda çözünen kitosan, sodyum kaprat, sodyum lauril sülfat ve dimetil β -siklodekstrin kullanılmıştır.

3.2.1. Perfüzyon Çözeltisi

Tüm perfüzyon çalışmalarında perfüzyon ortamı olarak Golytely (Tablo 3.1) olarak adlandırılan izo-ozmotik çözelti kullanılmıştır. Taze olarak hazırlanan perfüzyon çözeltisine model ilaç (asiklovir) ve permeasyon artırıcı ajan (suda çözünen kitosan, sodyum kaprat, sodyum lauril sülfat, dimetil β -siklodekstrin) ilavesinin ardından gerekli hacme tamamlama yapılarak iyice karıştırılmıştır. Perfüzyon çözeltisine eklenen madde konsantrasyonlarına literatürdeki verilerden yararlanılarak karar verilmiştir. [Asiklovir: 45 $\mu\text{g}/\text{mL}$, suda çözünen kitosan %0.1 (93), sodyum kaprat %2 (74), sodyum lauril sülfat: %0.015 (93), dimetil β -siklodekstrin: %1 (93)]. Barsak permeabilitesi oldukça yüksek olan metoprolol tartarat referans madde olarak 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ konsantrasyonda, su dengesine ulaşıp ulaşılmadığını tayin etmek amacıyla referans madde olarak fenol kırmızısı 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ konsantrasyonda perfüzyon çözeltisine eklenmiştir.

Tablo 3.1. Barsak perfüzyonu çalışmalarında kullanılan perfüzyon çözeltisinin bileşimi.

Madde	Konsantrasyon (mmol/L)	
	(A)	(B)
NaCl	25	105
KCl	10	10
Na ₂ SO ₄	40	-
NaHCO ₃	20	20
Mannitol	80	80
(A) Permeasyon artırıcı olarak sodyum kaprat, sodyum lauril sülfat ve dimetil β-siklodekstrinin kullanıldığı deney gruplarında kullanılan perfüzyon çözeltisi bileşimi		
(B) Permeasyon artırıcı olarak suda çözünen kitosanın kullanıldığı deney grubunda kullanılan perfüzyon çözeltisi bileşimi		

Sodyum kaprat, sodyum lauril sülfat ve dimetil β-siklodekstrinin permeasyon artırıcı olarak kullanıldığı deney gruplarında perfüzyon çalışmalarında kullanılan Golytely çözeltisinin pH değeri 7.4'e ayarlanmıştır. Suda çözünen kitosanın permeasyon artırıcı olarak kullanıldığı deney grubunda ise kitosanın çözünürlüğünün sağlanması amacıyla Golytely çözeltisinin pH değeri 6.2'ye ayarlanmıştır. Ayrıca perfüzyon çözeltisinde yer alan sodyum sülfat tuzu suda çözünen kitosanın çözelti içerisinde çökmesine yol açtığı için Golytely çözeltisinin ozmotik dengesi değişmeyecek şekilde içeriği değiştirilmiştir (Tablo 3.1B).

3.2.2. *In situ* Üçlü Barsak Perfüzyonu

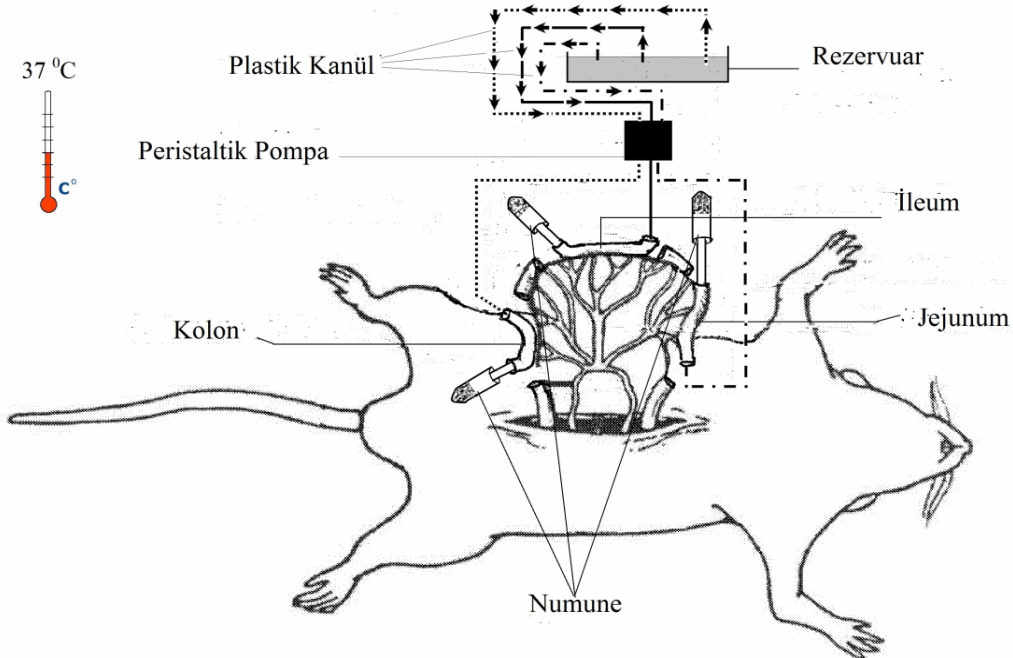
Perfüzyon deneylerinde 200-250g ağırlığındaki Sprague-Dawley cinsi dişi sıçanlar kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan alınan izinle gerçekleştirilmiştir (EK I).

Deneyden bir gece önce içme suları kısıtlanmadan aç bırakılan hayvanlarda anestezi ketamin (90 mg/kg) ve ksilazinin (5 mg/kg) intraperitoneal enjeksiyonu yoluyla sağlanmıştır. Anestezi derinliği deney hayvanlarının ayak parmaklarının

sıkıştırılmasına verilen reaksiyona göre değerlendirilmiştir. Deney süresince anestezi derinliği takip edilerek gerektiğinde ek doz anestezi yapılmıştır.

Anestezi altında karın duvarı kesilerek jejunum, ileum ve kolon açığa çıkarılmıştır. Perfüze edilecek segment uzunlukları jejunum için 4.0-10.0 cm, ileum için 3.0-4.8 cm ve kolon için 2.0-3.0 cm olarak ayarlanarak izole edilen barsak segmentlerinin proksimal ve distal uçlarına silikon tüpler yerleştirilip cerrahi iplikle sabitlenmiştir. İzole segment serum fizyolojik (37°C) ile yıkanarak temizlenmiş ve temizlenme göstergesi olarak çözeltinin berrak gelmesi esas alınmıştır. Peristaltik pompa aracılığıyla akış hızı 0.2 mL/dk olacak şekilde ayarlanmış ve deney süresince perfüzyon çözeltisi sirküle edilmemiştir.

Deney süresince sıçanların vücut sıcaklığı 37°C'de sabit tutulmuştur. Perfüze edilen segmentlerin kurummasını önlemek için serum fizyolojikle ara ara ıslatılmış ve üzerleri parafilm ile kapatılmıştır. Deney sonunda hayvanlar servikal dislokasyon yöntemiyle öldürülmüştür ve her deney sonunda perfüze edilen barsak segmentleri çıkarılarak uzunluklar tekrar ölçülmüştür. Perfüzyon sistemi ve cerrahi işlem Şekil 3.1'de şematik olarak gösterilmiştir (132, 133).



Şekil 3.1. Pefüzyon sistemi ve cerrahi yöntemin şematik olarak gösterilmesi.

3.2.3. Yapılacak Ölçümler ve İzlenecek Parametreler

3.2.3.1. Asiklovir'in Barsaklardan Absorpsiyonunun İncelenmesi Amacıyla Yapılan Çalışmalar

İzole edilen barsak segmentleri serum fizyolojikle yıkandıktan sonra Golytely perfüzyon çözeltisiyle 0.2 mL/dk hızda dengeye ulaşana kadar (yaklaşık 30 dk) perfüze edilmiştir. Perfüze edilen barsak segmentleri dengeye ulaştıktan sonra asiklovirin barsaklardan absorpsiyon ve permeabilitesini incelemek amacıyla yapılan deneyler 5 grup altında gerçekleştirilmiştir.

- **Kontrol grubu**
 - **(Grup 1):** Asiklovir (45 µg/mL) kullanılarak yapılan çalışmalar
- **Deney grupları**
 - **Grup 2:** Asiklovir (45 µg/mL) ve sodyum lauril sülfat (% 0.015) kullanılarak yapılan çalışmalar
 - **Grup 3:** Asiklovir (45 µg/mL) ve sodyum kaprat (% 2) kullanılarak yapılan çalışmalar
 - **Grup 4:** Asiklovir (45 µg/mL) ve dimetil β-siklodekstrin (% 1) kullanılarak yapılan çalışmalar
 - **Grup 5:** Asiklovir (45 µg/mL) ve suda çözünen kitosan (% 0.1) kullanılarak yapılan çalışmalar

Her bir grup kapsamında yapılan çalışmalar aşağıda belirtildiği üzere gerçekleştirilmiş ve perfüzyon akış şeması Şekil 3.2'de verilmiştir.

- **Kontrol Grubu**

Grup 1: Uygun konsantrasyonda asiklovir (45 µg/mL), metoprolol tartarat (20 µg/mL) ve fenol kırmızısı (50 µg/mL) perfüzyon çözeltisine eklenerek her bir barsak segmenti (jejunum, ileum ve kolon) 60 dk süreyle perfüze edilmiş ve her 10 dakikada bir örnek toplanmıştır.

- **Deney Grupları**

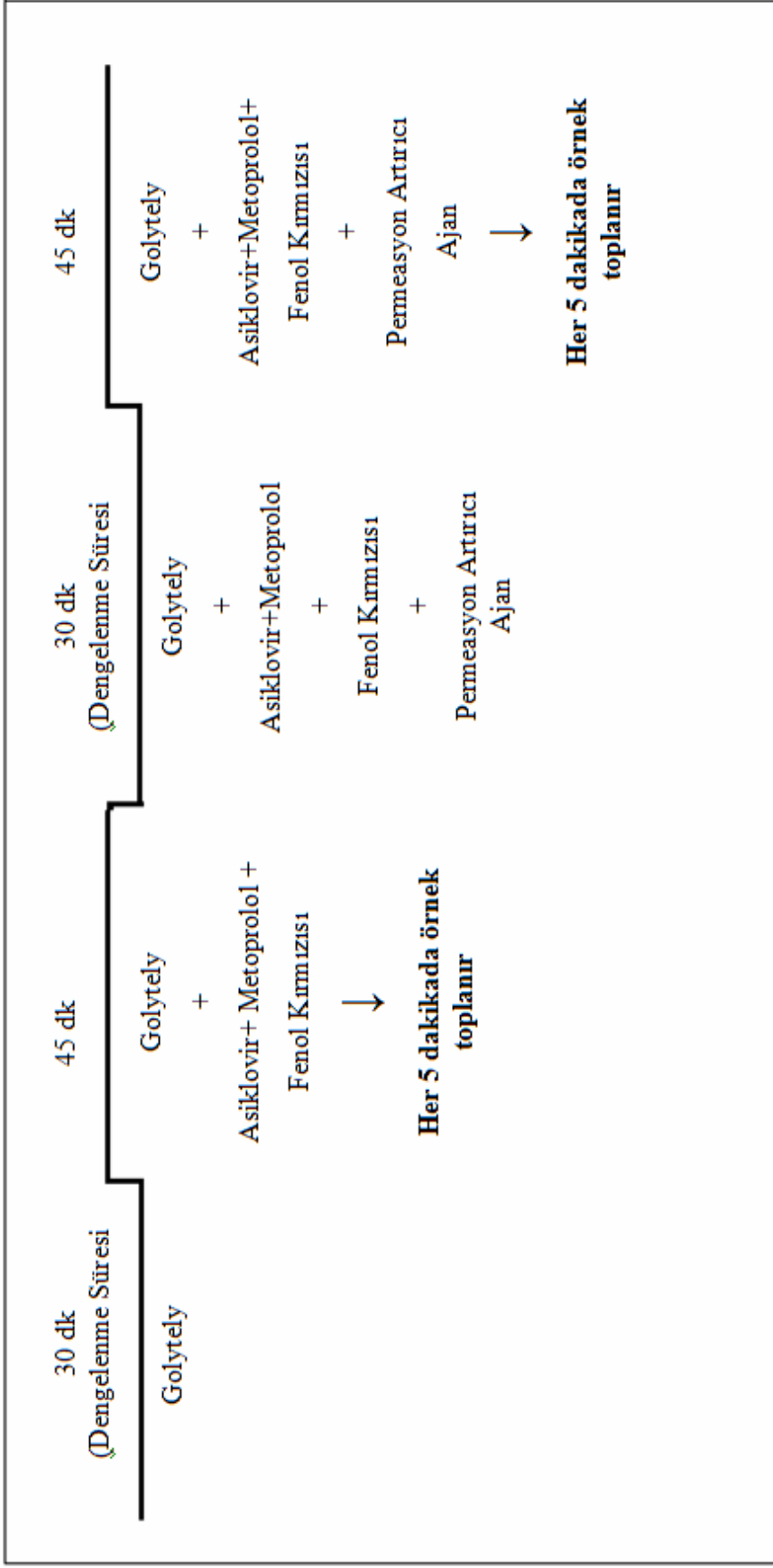
Grup 2: İzole segment perfüzyon çözeltisiyle dengeye ulaşana kadar (yaklaşık 30 dk) perfüze edilmiştir. Ardından uygun konsantrasyonda asiklovir (45 µg/mL), metoprolol tartarat (20 µg/mL) ve fenol kırmızısı (50 µg/mL) içeren perfüzyon çözeltisi ile her bir barsak segmenti (jejunum, ileum ve kolon) 45 dk süre boyunca perfüze edilmiş ve her 5 dakikada bir örnek toplanmıştır. Daha sonra sodyum lauril sülfat (% 0.015) perfüzyon çözeltisine eklenerek jejunum, ileum ve kolon 30 dk süreyle perfüze edilerek perfüzyon dengesine ulaşılması sağlanmıştır. Bu süre sonunda izole edilen segmentler sodyum lauril sülfat içeren perfüzyon çözeltisiyle tekrar 45 dk süreyle perfüze edilerek her 5 dakikada bir örnek toplanmış ve asiklovirin absorpsiyonunda bir değişiklik olup olmadığı incelenmiştir.

Grup 3: İzole segment perfüzyon çözeltisiyle dengeye ulaşana kadar (yaklaşık 30 dk) perfüze edilmiştir. Ardından uygun konsantrasyonda asiklovir (45 µg/mL), metoprolol tartarat (20 µg/mL) ve fenol kırmızısı (50 µg/mL) içeren perfüzyon çözeltisi ile her bir barsak segmenti (jejunum, ileum ve kolon) 45 dk süre boyunca perfüze edilmiş ve her 5 dakikada bir örnek toplanmıştır. Daha sonra sodyum kaprat (% 2) perfüzyon çözeltisine eklenerek jejunum, ileum ve kolon 30 dk süreyle perfüze edilerek perfüzyon dengesine ulaşılması sağlanmıştır. Bu süre sonunda izole edilen segmentler sodyum kaprat içeren perfüzyon çözeltisiyle tekrar 45 dk süreyle perfüze edilerek her 5 dakikada bir örnek toplanmış ve asiklovirin absorpsiyonunda bir değişiklik olup olmadığı incelenmiştir.

Grup 4: İzole segment perfüzyon çözeltisiyle dengeye ulaşana kadar (yaklaşık 30 dk) perfüze edilmiştir. Ardından uygun konsantrasyonda asiklovir (45 µg/mL), metoprolol tartarat (20 µg/mL) ve fenol kırmızısı (50 µg/mL) içeren perfüzyon çözeltisi ile her bir barsak segmenti (jejunum, ileum ve kolon) 45 dk süre boyunca perfüze edilmiş ve her 5 dakikada bir örnek toplanmıştır. Daha sonra dimetil β-siklodekstrin (% 1) perfüzyon çözeltisine eklenerek jejunum, ileum ve kolon 30 dk süreyle perfüze edilerek perfüzyon dengesine ulaşılması sağlanmıştır. Bu süre sonunda izole edilen segmentler dimetil β-siklodekstrin içeren perfüzyon çözeltisiyle tekrar 45 dk süreyle perfüze edilerek her 5 dakikada bir örnek toplanmış ve asiklovirin absorpsiyonunda bir değişiklik olup olmadığı incelenmiştir.

Grup 5: İzole segment perfüzyon çözeltisiyle dengeye ulaşana kadar (yaklaşık 30 dk) perfüze edilmiştir. Ardından uygun konsantrasyonda asiklovir (45 µg/mL), metoprolol tartarat (20 µg/mL) ve fenol kırmızısı (50 µg/mL) içeren perfüzyon çözeltisi ile her bir barsak segmenti (jejunum, ileum ve kolon) 45 dk süre boyunca perfüze edilmiş ve her 5 dakikada bir örnek toplanmıştır. Daha sonra suda çözünen kitosan (% 0.1) perfüzyon çözeltisine eklenerek jejunum, ileum ve kolon 30 dk süreyle perfüze edilerek perfüzyon dengesine ulaşılması sağlanmıştır. Bu süre sonunda izole edilen segmentler suda çözünen kitosan içeren perfüzyon çözeltisiyle tekrar 45 dk süreyle perfüze edilerek her 5 dakikada bir örnek toplanmış ve asiklovirin absorpsiyonunda bir değişiklik olup olmadığı incelenmiştir.

Deney süresince toplanan tüm perfüzyon örnekleri analiz edilinceye kadar -20°C' de dondurularak saklanmıştır. Toplanan örnekler analiz öncesi çözündürülerek 1000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Üstte kalan berrak kısım ayrıldıktan sonra iç standart (furosemid) eklenmiş ve mobil faz ile uygun seyreltmeler yapılarak HPLC kolonuna enjekte edilmiştir.



Şekil 3.2. Perfüzyon deneyi akış şeması.

3.2.3.2. Çalışmada Kullanılan Maddeler İçin Miktar Tayini

3.2.3.2.1. Asiklovir

Barsaklardan parasetol absorpsiyonu incelemek amacıyla model madde olarak asiklovir seçilmiştir. Bu etkin maddenin tek başına ve bazı parasetol absorpsiyon artırıcı ajanlar varlığında barsaklardan absorpsiyonu incelenmiştir. Asiklovirin miktar tayini HPLC yöntemi kullanılarak aşağıdaki koşullarda gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Asiklovirin miktar tayini için kullanılan HPLC koşulları.

Kolon	Fortis C18 (5µm; 250x4.6 mm)
Mobil Faz	0.0125 M KH ₂ PO ₄ (pH:7.0) : Metanol (45:55)
Akış Hızı	1 mL/dk
Enjeksiyon Hacmi	20 µL
Dalga Boyu	254 nm
Alınma Süresi	2.8 dk

Distile su içerisinde 1000 µg/mL konsantrasyonda asiklovir içeren stok çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan stoktan uygun seyreltmeler yapılarak 1, 5, 10, 20, 30, 40, 60 µg/mL konsantrasyonda asiklovir içeren standart çözeltiler hazırlanmıştır. Stok çözeltilerin seyreltilmesinde mobil faz kullanılmıştır. Hazırlanan örneklerin HPLC kolonuna enjeksiyonu ile elde edilen pik alanı yanıt olarak kabul edilmiştir. Her bir konsantrasyona karşılık gelen pik alanı değerleri iç standardın (Furosemid) pik alanı değerlerine bölünerek grafiklenmiş ve lineer regresyon analizi ile standart doğru denklemi ve korelasyon katsayısı tayin edilmiştir.

3.2.3.2.2. Metoprolol Tartarat

Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemine göre Sınıf I (yüksek çözünürlük, yüksek permeabilite)'de yer alan metoprolol tartarat hem kullanılacak permeabilite yönteminin uygunluğunun değerlendirilmesinde hem de permeabilitesi tayin edilecek maddenin (asiklovir) permeabilitesini karşılaştırmak amacıyla referans madde olarak kullanılmıştır. Metoprolol tartaratın miktar tayini HPLC yöntemi kullanılarak aşağıdaki koşullarda gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Metoprolol tartaratın miktar tayini için kullanılan HPLC koşulları.

Kolon	Fortis C18 (5 μ m; 250x4.6 mm)
Mobil Faz	0.0125 M KH ₂ PO ₄ (pH:7.0) : Metanol (45:55)
Akış Hızı	1 mL/dk
Enjeksiyon Hacmi	20 μ L
Dalga Boyu	227 nm
Alınma Süresi	8.6 dk

Distile su içerisinde 1000 μ g/mL konsantrasyonda metoprolol tartarat içeren stok çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan stoktan uygun seyreltmeler yapılarak 1, 5, 10, 20, 30, 40, 60 μ g/mL konsantrasyonda metoprolol tartarat içeren standart çözeltiler hazırlanmıştır. Stok çözeltilerin seyreltilmesinde mobil faz kullanılmıştır. Hazırlanan örneklerin HPLC kolonuna enjeksiyonu ile elde edilen pik alanı yanıt olarak kabul edilmiştir. Her bir konsantrasyona karşılık gelen pik alanı değerleri iç standardın (Furosemid) pik alanı değerlerine bölünerek grafiklenmiş ve lineer regresyon analizi ile standart doğru denklemi ve korelasyon katsayısı tayin edilmiştir.

3.2.3.2.3. Fenol Kırmızısı

Barsak perfüzyonu çalışmalarında su dengesine ulaşıp ulaşılmadığını tayin etmek amacıyla referans madde olarak fenol kırmızısı kullanılmıştır. Fenol

kırmızısının miktar tayini HPLC yöntemi kullanılarak aşağıdaki koşullarda gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. Fenol kırmızısının miktar tayini için kullanılan HPLC koşulları.

Kolon	Fortis C18 (5µm; 250x4.6 mm)
Mobil Faz	0.0125 M KH ₂ PO ₄ (pH:7.0) : Metanol (45:55)
Akış Hızı	1 mL/dk
Enjeksiyon Hacmi	20 µL
Dalga Boyu	420 nm
Alınma Süresi	5.6 dk

Etanol içerisinde 1000 µg/mL konsantrasyonda fenol kırmızısı içeren stok çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan stoktan uygun seyreltmeler yapılarak 1, 2.5, 7.5, 12.5, 15, 20, 30 µg/mL konsantrasyonda fenol kırmızısı içeren standart çözeltiler hazırlanmıştır. Stok çözeltilerin seyreltilmesinde mobil faz kullanılmıştır. Hazırlanan örneklerin HPLC kolonuna enjeksiyonu ile elde edilen pik alanı yanıt olarak kabul edilmiştir. Her bir konsantrasyona karşılık gelen pik alanı değerleri iç standardın (Furosemid) pik alanı değerlerine bölünerek grafiklenmiş ve lineer regresyon analizi ile standart doğru denklemi ve korelasyon katsayısı tayin edilmiştir.

3.2.3.2.4. Furosemid

Analitik yöntem ve validasyonu çalışmalarında standart madde olarak furosemid kullanılmıştır. Bu amaçla furosemid numunelere bilinen miktarda (20 µg/mL) eklenerek, analiz edilecek maddenin pik alanı furosemidin pik alanına oranlanarak verilmiştir. Bu sayede yöntemde oluşabilecek hata(lar) telafi edilecektir. Furosemidin tayini HPLC yöntemi kullanılarak aşağıdaki şartlar altında gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.5).

Tablo 3.5. Furosemidin miktar tayini için kullanılan HPLC koşulları.

Kolon	Fortis C18 (5µm; 250x4.6 mm)
Mobil Faz	0.0125 M KH ₂ PO ₄ (pH:7.0) : Metanol (45:55)
Akış Hızı	1 mL/dk
Enjeksiyon Hacmi	20 µL
Dalga Boyu	270 nm
Altkonma Süresi	4.4 dk

Metanol içerisinde 1000 µg/mL konsantrasyonda furosemid içeren stok çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan stoktan mobil faz ile seyreltme yapılarak 20 µg/mL konsantrasyonda furosemid içeren standart çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan standart çözeltilerin HPLC kolonuna enjeksiyonu ile elde edilen pik alanı yanıt olarak kabul edilmiştir. Çalışmada kullanılan diğer maddelerin (asiklovir, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısı) pik alanı değerleri furosemidin pik alanı değerlerine bölünerek grafiklenmiş ve daha sonra lineer regresyon analizi ile her bir madde için standart doğru denklemleri ve korelasyon katsayıları tayin edilmiştir.

3.2.3.3. Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

Analitik yöntemin validasyonu bir test yönteminin doğru ve kesin bir şekilde bekleneni gerçekleştirdiğini kanıtlamaktadır. Kullanılacak analitik yöntemin geçerliliğini kontrol etmek amacıyla özgüllük, doğrusallık, duyarlılık, kesinlik ve doğruluk parametreleri incelenmiştir.

3.2.3.3.1. Özgüllük (Specificity)

Analizi yapılacak maddenin ortamda bulunan diğer maddelerden etkilenmemesi gerekmektedir. Kullanılacak analitik yöntemin sadece tayini yapılacak madde veya maddeleri tayin edebilmesi özgüllük olarak tanımlanmaktadır.

Asiklovir: Jejunum, ileum ve kolonun Golytely çözeltisi ile perfüzyonundan toplanan perfüzyon çözeltisi karışımının, ayrıca çalışmada kullanılan diğer maddeleri (metoprolol tartarat, fenol kırmızısı, furosemid, sodyum kaprat, sodyum lauril sülfat, suda çözünen kitosan, dimetil β -siklodekstrin) içeren Golytely çözeltisinin asiklovirin alıkonma zamanında (~2.8 dk) pik vererek girişim yapıp yapmadığı incelenmiştir. Özgüllük çalışmalarında kullanılan asiklovir konsantrasyonu (9 $\mu\text{g/mL}$) perfüzyon deneylerinde kullanılan konsantrasyona göre belirlenmiştir.

Metoprolol tartarat: Jejunum, ileum ve kolonun Golytely ile perfüzyonundan toplanan perfüzyon çözeltisi karışımının, ayrıca çalışmada kullanılan diğer maddeleri (asiklovir, fenol kırmızısı, furosemid, sodyum kaprat, sodyum lauril sülfat, suda çözünen kitosan, dimetil β -siklodekstrin) içeren Golytely çözeltisinin metoprolol tartaratın alıkonma zamanında (~8.6 dk) pik vererek girişim yapıp yapmadığı incelenmiştir. Özgüllük çalışmalarında kullanılan metoprolol tartarat konsantrasyonu (4 $\mu\text{g/mL}$) perfüzyon deneylerinde kullanılan konsantrasyona göre belirlenmiştir.

Fenol Kırmızısı: Jejunum, ileum ve kolonun Golytely çözeltisi ile perfüzyonundan toplanan perfüzyon çözeltisi karışımının, ayrıca çalışmada kullanılan diğer maddeleri (asiklovir, metoprolol tartarat, furosemid, sodyum kaprat, sodyum lauril sülfat, suda çözünen kitosan, dimetil β -siklodekstrin) içeren Golytely çözeltisinin fenol kırmızısının alıkonma zamanında (~5.6 dk) pik vererek girişim yapıp yapmadığı incelenmiştir. Özgüllük çalışmalarında kullanılan fenol kırmızısı konsantrasyonu (10 $\mu\text{g/mL}$) perfüzyon deneylerinde kullanılan konsantrasyona göre belirlenmiştir.

Furosemid: Jejunum, ileum ve kolonun Golytely çözeltisi ile perfüzyonundan toplanan perfüzyon çözeltisi karışımının, ayrıca çalışmada kullanılan diğer maddeleri (asiklovir, metoprolol tartarat, fenol kırmızısı, sodyum kaprat, sodyum lauril sülfat, suda çözünen kitosan, dimetil β -siklodekstrin) içeren Golytely çözeltisinin furosemidin alıkonma zamanında (~4.4 dk) pik vererek girişim yapıp yapmadığı incelenmiştir. Özgüllük çalışmalarında kullanılan furosemid konsantrasyonu (20 $\mu\text{g/mL}$) perfüzyon deneylerinde kullanılan konsantrasyona göre belirlenmiştir.

3.2.3.3.2. Doğrusallık (Linearity)

Asiklovir: Standart doğru denklemi oluşturmak amacıyla 1000 µg/mL asiklovir içeren stok çözeltiler hazırlanmış ve her stoktan uygun seyreltmeler yapılarak 1, 5, 10, 20, 30, 40, 60 µg/mL konsantrasyonlarda etkin madde içeren standart çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin HPLC kolonuna enjeksiyonuyla elde edilen pik alanı yanıt olarak kabul edilmiştir. Konsantrasyonlar ve bunlara karşılık gelen pik alanları kullanılarak standart doğru denklemi ve korelasyon katsayısı tayin edilmiştir. Korelasyon katsayısının 1'e yakın olmasına göre değerlendirme yapılmıştır.

Metoprolol tartarat: Standart doğru denklemi oluşturmak amacıyla 1000 µg/mL metoprolol tartarat içeren stok çözeltiler hazırlanmış ve her stoktan uygun seyreltmeler yapılarak 1, 5, 10, 20, 30, 40, 60 µg/mL konsantrasyonlarda etkin madde içeren standart çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin HPLC kolonuna enjeksiyonuyla elde edilen pik alanı yanıt olarak kabul edilmiştir. Konsantrasyonlar ve bunlara karşılık gelen pik alanları kullanılarak standart doğru denklemi ve korelasyon katsayısı tayin edilmiştir. Korelasyon katsayısının 1'e yakın olmasına göre değerlendirme yapılmıştır.

Fenol Kırmızısı: Standart doğru denklemi oluşturmak amacıyla 1000 µg/mL fenol kırmızısı içeren stok çözeltiler hazırlanmış ve her stoktan uygun seyreltmeler yapılarak 1, 2.5, 7.5, 12.5, 15, 20, 30 µg/mL konsantrasyonlarda fenol kırmızısı içeren standart çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin HPLC kolonuna enjeksiyonuyla elde edilen pik alanı yanıt olarak kabul edilmiştir. Konsantrasyonlar ve bunlara karşılık gelen pik alanları kullanılarak standart doğru denklemi ve korelasyon katsayısı tayin edilmiştir. Korelasyon katsayısının 1'e yakın olmasına göre değerlendirme yapılmıştır.

Furosemid: 1000 µg/mL furosemid içeren stok çözeltiler hazırlanmış ve her stoktan uygun seyreltmeler yapılarak 20 µg/mL konsantrasyonda furosemid içeren standart çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin HPLC kolonuna enjeksiyonuyla elde edilen pik alanı yanıt olarak kabul edilmiştir. Çalışmada kullanılan diğer maddelerin pik alanı değerleri iç standardın (furosemid) pik alanı

değerlerine bölünerek grafiklenmiş ve diğer maddelere ait standart doğru denklemi ile korelasyon katsayısı tayin edilmiştir.

3.2.3.3.3. Kesinlik (Precision)

Kesinlik aynı analitik koşullar altında yapılan belirli sayıdaki ölçümlerin birbirlerine ne kadar yakın olduğunun göstergesidir. Yöntemlerin kesinliği için gün içi ve günler arası kesinlik çalışmaları yapılmıştır. Analitik yöntemin kesinliğini göstermek için ortalama değer bulunarak standart sapma (SS) ve varyasyon katsayısı (VK) parametreleri tayin edilmiştir.

Gün içi kesinlik çalışmaları için kalibrasyon doğrusu aralığında kalan ve çalışılacak numunelerin konsantrasyonları da göz önüne alınarak düşük (kalibrasyonun düşük noktası), orta (kalibrasyonun orta noktası) ve yüksek (kalibrasyonun en yüksek noktası) düzeyde üç konsantrasyon belirlenerek her konsantrasyon noktası için 6 tane standart hazırlanmıştır. Hazırlanan standartların aynı gün içerisinde maddeye ait miktar tayini yöntemi kullanılarak analizleri yapılmış ve elde edilen bulgulardan hareketle ortalama, SS ve VK hesaplanmıştır.

Günler arası kesinlik çalışmaları için kalibrasyon doğrusu aralığında kalan ve çalışılacak numunelerin konsantrasyonları da göz önüne alınarak düşük (kalibrasyonun düşük noktası), orta (kalibrasyonun orta noktası) ve yüksek (kalibrasyonun en yüksek noktası) düzeyde üç konsantrasyon belirlenerek her konsantrasyon noktası için 6 farklı günde standartlar hazırlanmıştır. Hazırlanan standartların maddeye ait miktar tayini yöntemi kullanılarak analizleri yapılmış ve elde edilen bulgulardan hareketle ortalama, SS ve VK hesaplanmıştır. Gün içi ve günler arası kesinlik çalışmalarında kullanılan konsantrasyonlar Tablo 3.6'da verilmiştir.

Tablo 3.6. Gün içi, günler arası kesinlik ve doğruluk çalışmalarında kullanılan madde konsantrasyonları.

Deney	Düzye	Çalışılan Madde Konsantrasyonu (µg/mL)		
		Asiklovir	Metoprolol Tartarat	Fenol Kırmızısı
Barsak Permeabilitesi	Düşük	5	5	2.5
	Orta	20	20	12.5
	Yüksek	40	40	20

Cihaz Kesinliği, analitik yöntemin aynı ölçüm koşulları altında kısa zaman aralıkları içerisindeki kesinliğini belirtmektedir. Deney-içi kesinlik olarak da adlandırılmaktadır. Analizde kullanılan cihazın kesinliğini tayin etmek amacıyla hazırlanan asiklovir (20 µg/mL), metoprolol tartarat (20 µg/mL) ve fenol kırmızısı (12.5 µg/mL) çözeltilerinin HPLC’de peş peşe altı kez ölçümü yapılmıştır.

Yöntem Kesinliği, bir analitik yöntemin farklı laboratuvarlar arasındaki kesinliğini gösteren bir parametredir. Kullanılan analitik yöntemin kesinliğini tayin etmek amacıyla 6’şar adet asiklovir (20 µg/mL), metoprolol tartarat (20 µg/mL) ve fenol kırmızısı (12.5 µg/mL) çözeltileri hazırlanarak HPLC’de ölçümleri yapılmıştır.

3.2.3.3.4. Doğruluk (Accuracy)

Doğruluk, deneysel verilerin gerçek verilere olan yakınlığının ölçütüdür. % ortalama bağıl hata (OBH) olarak ifade edilmiştir. Değerlendirme % ortalama bağıl hatanın \pm %15’ten küçük olmasına göre yapılmıştır.

$$\%OBH = \frac{A - B}{B} \times 100 \quad (3.1)$$

A: Tayin edilen konsantrasyon

B: Gerçek konsantrasyon

Asiklovir, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısının miktar tayininde kullanılan analiz yönteminin doğruluğunun tayini için gün içi kesinlik çalışmalarından elde edilen sonuçlar kullanılmıştır. Doğruluk çalışmalarında kullanılan madde konsantrasyonları Tablo 3.7’de verilmiştir.

3.2.3.3.5. Duyarlılık (Sensitivity)

Bir analitik yöntemin saptayabileceği en küçük konsantrasyon değeri olup saptayabilme sınırı (limit of detection; LOD) ve kantitatif olarak tayin edebileceği (limit of quantification; LOQ) en küçük konsantrasyon değeri ile ifade edilir.

Çalışmada kullanılan maddelerin (asiklovir, metoprolol tartarat, fenol kırmızısı) bilinen konsantrasyonlardaki stok çözeltilerinin seyreltilmesiyle elde edilen örneklerin her bir maddeye özgü yöntemle analizi yapılarak sinyal/gürültü oranları tespit edilmiştir. Sinyal/gürültü oranı 3.3 olan konsantrasyon LOD, 10 olan konsantrasyon ise LOQ olarak belirlenmiştir (134).

3.2.3.3.6. Stabilite

Perfüzyon deneylerine başlamadan önce gerçekleştirilen ön deneme çalışmasından elde edilen numuneler hemen ve -20°C ’de dondurulduktan 24 saat sonra çözündürülerek kullanılan miktar tayin yöntemi ile analiz edilmiştir.

3.2.4. Veri Analizi

Barsak perfüzyonu çalışmalarında zamanın fonksiyonu olarak toplanan örneklerdeki madde miktarları hazırlanan standart doğru denklemleri kullanılarak konsantrasyon olarak ifade edilmiştir. Tayin edilen konsantrasyon değerleri rezervardaki madde konsantrasyonuna oranlanarak normalize edilmiştir. Normalize edilen bu konsantrasyon değerleri zamana karşı grafiklenerek her bir barsak segmentinin (jejunum, ileum ve kolon) lümeninden zamanın fonksiyonu olarak absorpsiyonu gösteren konsantrasyon zaman profilleri elde edilmiştir. Ayrıca

permeabilite artırıcı ajanların farklı barsak segmentleri üzerine etkilerini kıyaslamak amacıyla neden oldukları % değişim değerleri zamana karşı grafiğe geçirilmiştir.

Asiklovir ve metoprolol tartaratin permeabilite değerleri (P_{eff}) üzerine permeasyon artırıcı ajanların etkisini incelemek amacıyla her grup kendi kontrol değerleri ile karşılaştırılmıştır. P_{eff} değerlerinin hesaplanmasında aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır (135):

$$P_{eff} = -\frac{Q \ln\left(\frac{C_{out}}{C_{in}}\right)^t}{2\pi \cdot r \cdot L} \quad (3.2)$$

Q : Akış hızı (mL/sn)

C_{out} : Segmentten çıkan perfüzyon çözeltisindeki ilaç konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$)

C_{in} : Segmente giren perfüzyon çözeltisindeki ilaç konsantrasyonu ($\mu\text{g/mL}$)

r : Perfüze edilen barsak segmentinin yarıçapı (cm)

L : Perfüze edilen barsak segmentinin uzunluğu (cm)

Segmentlerin ortalama yarıçapları jejunum ve ileum için 0.18 cm, kolon için 0.2 cm olarak kabul edilmiştir (136).

Eşitlik 3.2'de verilen $(C_{out}/C_{in})^t$ oranı aşağıda verilen eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır (137):

$$\left(\frac{C_{out}}{C_{in}}\right)^t = \left(\frac{C_{out}}{C_{in}}\right)_{ilaç} \times \left(\frac{C_{in}}{C_{out}}\right)_{FK} \quad (3.3)$$

$(C_{out}/C_{in})_{ilaç}$: Segmentten çıkan ve segmente giren perfüzyon çözeltisindeki ilaç konsantrasyonlarının oranı

$(C_{in}/C_{out})_{FK}$: Segmente giren ve segmentten çıkan perfüzyon çözeltisindeki fenol kırmızısı konsantrasyonlarının oranı

Segmente giren ve segmentten çıkan perfüzyon çözeltisindeki fenol kırmızısı konsantrasyon değerleri kullanılarak net su akışı (net water flux; NWF) değerleri hesaplanmıştır (137):

$$NWF = \frac{Q \cdot \left[1 - \left(\frac{C_{out}}{C_{in}} \right) FK \right]}{L} \quad (3.4)$$

- Q : Akış hızı ($\mu\text{L}/\text{dk}$)
L : Perfüze edilen barsak segmentinin uzunluğu (cm)
 $(C_{out}/C_{in})_{FK}$: Segmentten çıkan ve segmente giren perfüzyon çözeltisindeki fenol kırmızısı konsantrasyonlarının oranı

Net su akışı değerinin negatif çıkması mukozal bölgeden (lümen) serozal bölgeye (kan) sıvı kaybı olduğunu ifade etmektedir. Bu değer pozitif çıkması ise mukozal bölgeye sıvı girişi olduğunu ifade etmektedir. Yapılan deneyler sonucunda hesaplanan net su akışı değerleri bu doğrultuda değerlendirilmiştir.

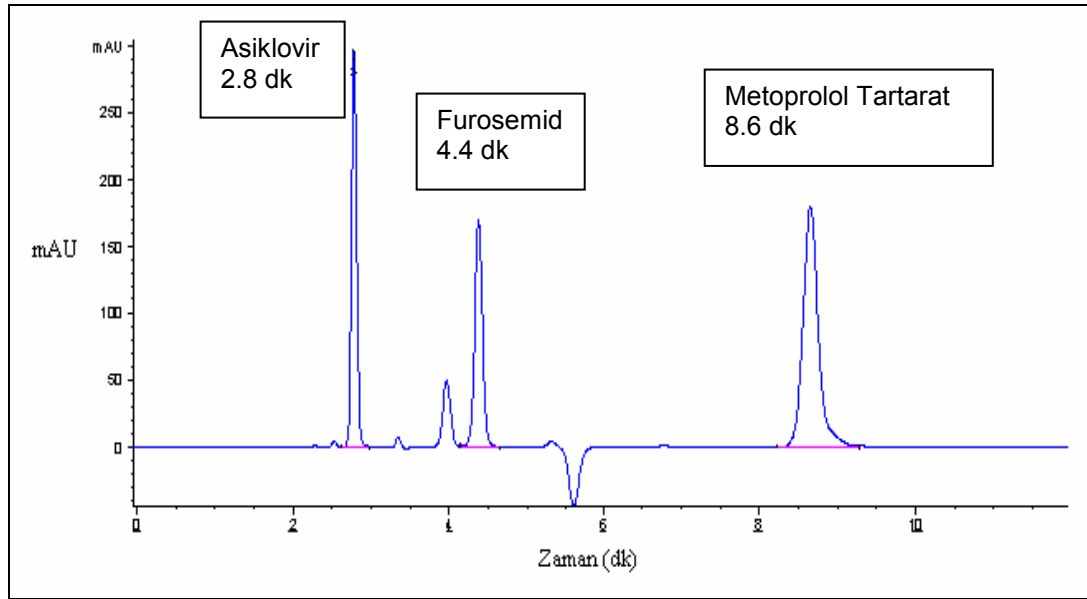
3.2.5. İstatistiksel Analiz

Elde edilen bütün veriler ortalama \pm standart sapma (SS) olarak tablolanmıştır. Konsantrasyon-zaman profillerinin karşılaştırılmasında yapılan istatistiksel analizlerde güven aralığı en az % 95 olarak seçilmiştir. Grup içi verilerin istatistiksel karşılaştırılmasında non-parametrik bir test olan Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanılmıştır. Analizler GraphPad Prism 5.01 for Windows programı kullanılarak bilgisayar ortamında gerçekleştirilmiştir. Gruplar arasındaki farkın önemliliği elde edilen p değerinin α yanılma düzeyinden büyük ($p > \alpha$; istatistiksel olarak anlamsız) veya küçük ($p < \alpha$; istatistiksel olarak anlamlı) olmasına göre değerlendirilmiştir. Analitik yöntem için ise validasyon ölçütlerinin varyasyon katsayısı (VK) değerleri hesaplanmıştır.

4. BULGULAR

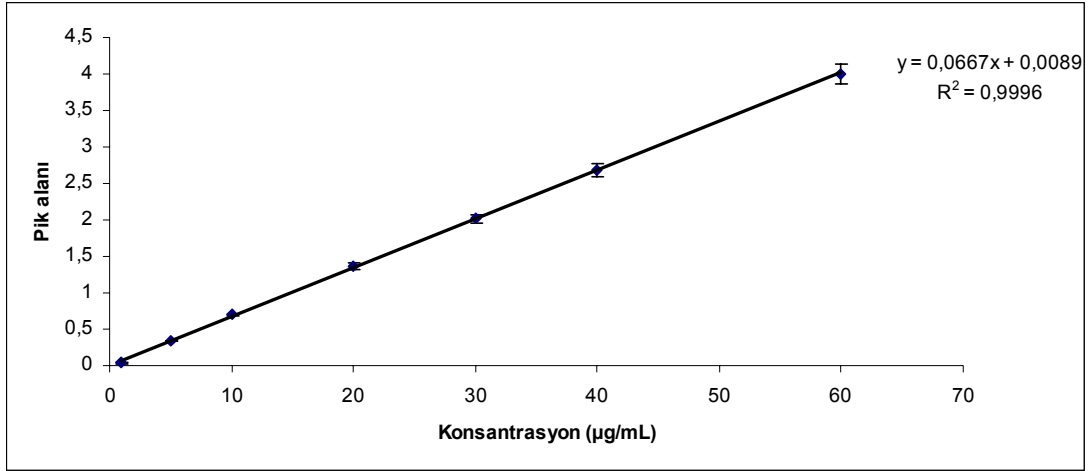
4.1. Çalışmada Kullanılan Maddeler İçin Miktar Tayini

Farklı barsak segmentlerinin Golytely çözeltisiyle perfüzyonundan elde edilen perfüzet karışımına çalışmada kullanılan maddelerin eklenmesiyle elde edilen çözelti HPLC kolonuna enjekte edilmiştir. Etkin ve referans maddelerin analizi DAD (Diode array dedector) dedektör kullanılarak kendi dalga boylarında (Asiklovir: 254 nm; Metoprolol tartarat: 227 nm; Fenol kırmızısı: 420 nm; Furosemid: 270 nm) gerçekleştirilmiştir. Asiklovir, furosemid ve metoprolol tartarat için alıkonma zamanları sırasıyla 2.8, 4.4 ve 8.6 dakika olarak tayin edilmiştir (Şekil 4.1).



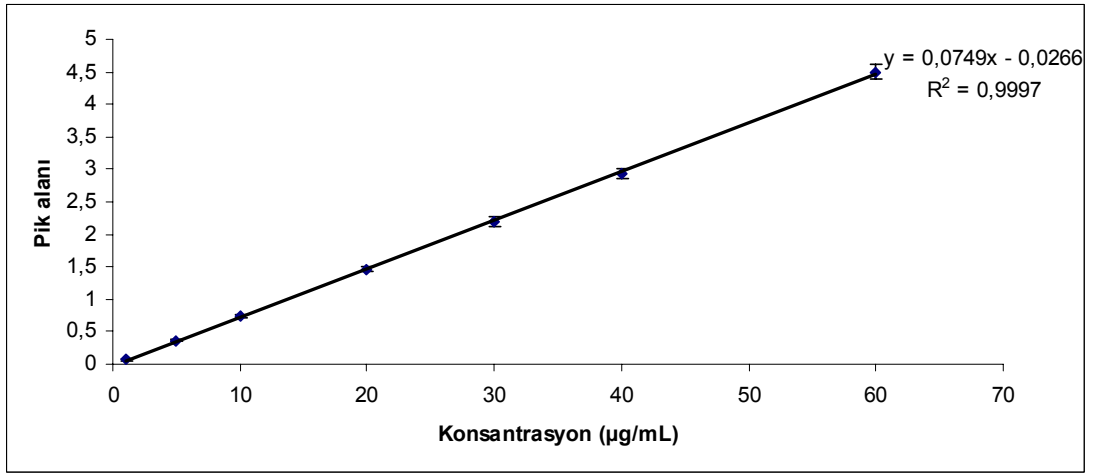
Şekil 4.1. Asiklovir, metoprolol tartarat ve furosemid içeren Golytely çözeltisinin 227 nm dalga boyunda elde edilen HPLC kromatogramı (Asiklovir: 20 µg/mL; Furosemid: 20 µg/mL; Metoprolol tartarat: 20 µg/mL).

Bölüm 3.2.3.2.1'de verilen HPLC yöntemiyle tayini yapılan asiklovire ait kalibrasyon doğrusu ve denklemi Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Mobil fazla uygun seyreltmeler yapılarak hazırlanan asiklovir çözeltilerine ait kalibrasyon doğrusu ve denklemi (Ortalama \pm SH; n=6).

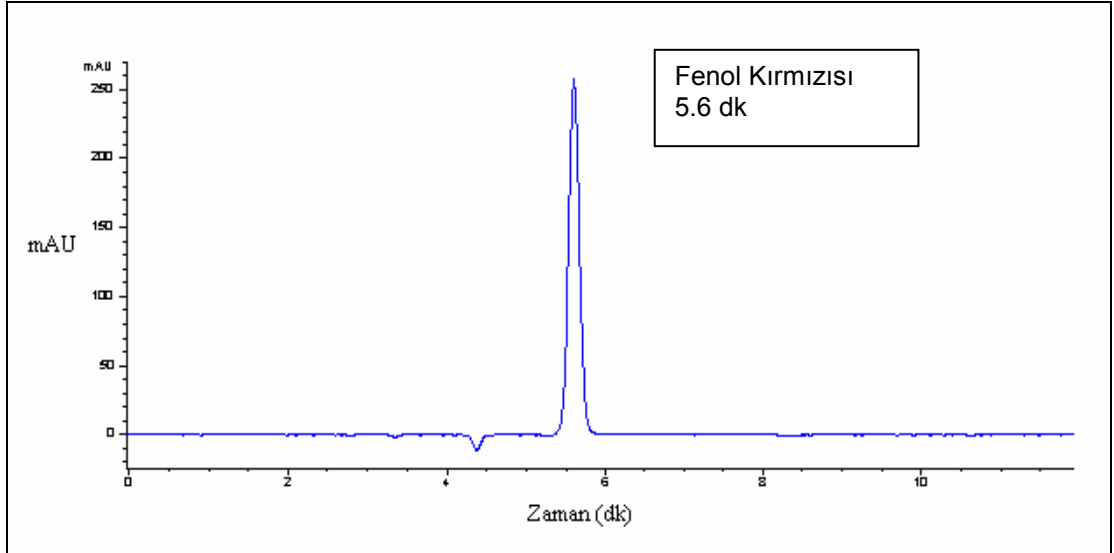
Bölüm 3.2.3.2.2’de verilen HPLC yöntemiyle tayini yapılan metoprolol tartarata ait kalibrasyon doğrusu ve denklemi Şekil 4.3’de verilmiştir.



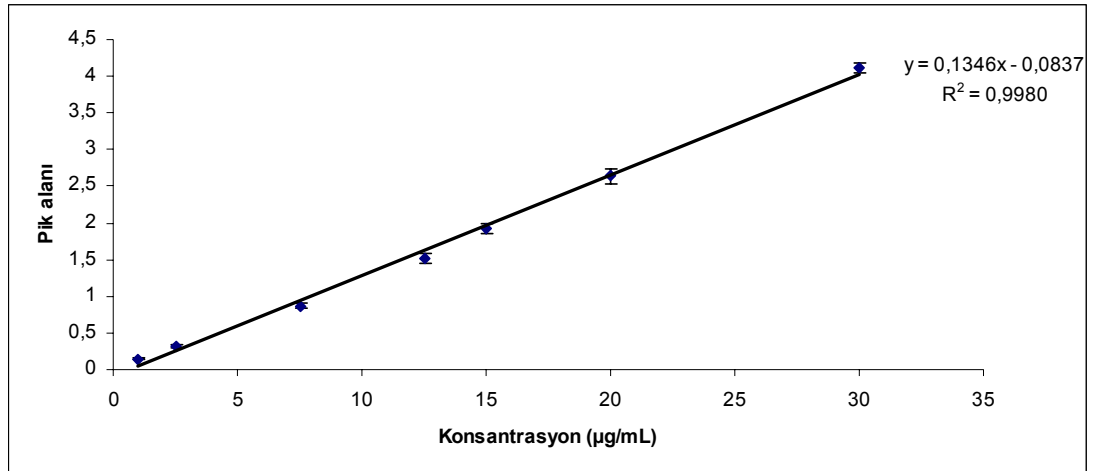
Şekil 4.3. Mobil fazla uygun seyreltmeler yapılarak hazırlanan metoprolol tartarat çözeltilerine ait kalibrasyon doğrusu ve denklemi (Ortalama \pm SH; n=6).

Fenol kırmızısının farklı barsak segmentlerininin Golytely çözeltisiyle perfüzyonundan elde edilen perfüzat karışımına eklenmesiyle elde edilen çözeltinin HPLC kolonuna enjeksiyonuyla 420 nm dalga boyunda pik verdiği gözlenmiştir. Fenol kırmızısı için alıkonma zamanı 5.6 dakika olarak tayin edilmiştir (Şekil 4.4).

Bölüm 3.2.3.2.3’de verilen HPLC yöntemiyle tayini yapılan fenol kırmızısına ait kalibrasyon doğrusu ve denklemi Şekil 4.5’de verilmiştir.



Şekil 4.4. Fenol kırmızısı içeren Golytely çözeltisinin 420 nm dalga boyunda elde edilen HPLC kromatogramı.

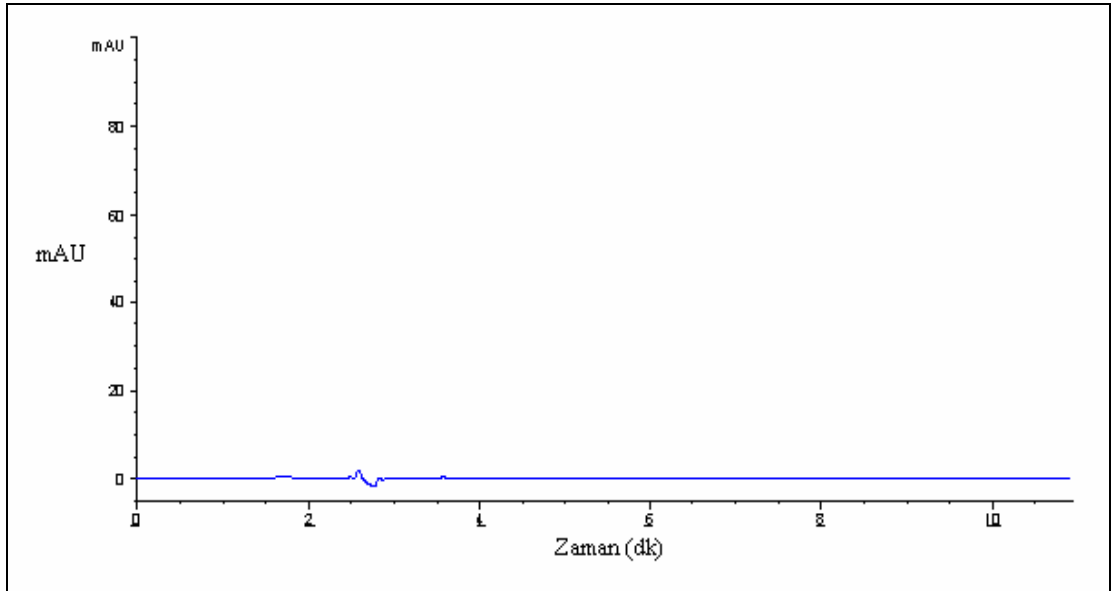


Şekil 4.5. Mobil fazla uygun seyreltmeler yapılarak hazırlanan fenol kırmızısı çözeltilerine ait kalibrasyon doğrusu ve denklemi (Ortalama \pm SH; n=6).

4.2. Miktar Tayini Yönteminin Validasyonu

4.2.1.Özgüllük

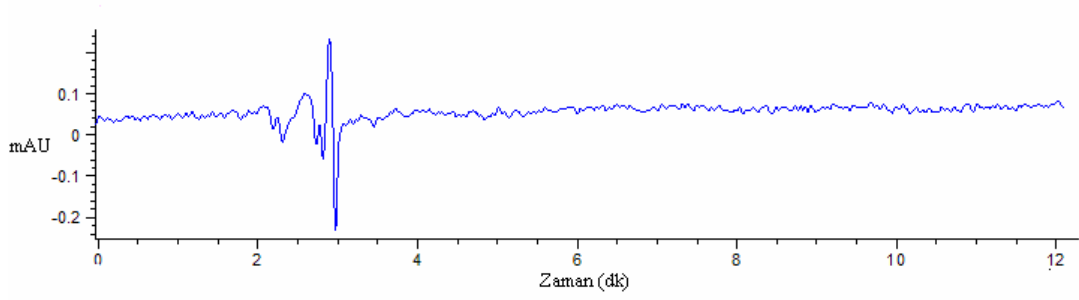
Üç farklı barsak segmentinin (jejunum, ileum, kolon) Golytely çözeltisiyle perfüzyonundan toplanan perfüzetler birleştirilerek 227 nm'de HPLC'de kromatogramı alınmıştır (Şekil 4.6). Asiklovir (2.8 dk), furosemid (4.4 dk) ve metoprolol tartaratın (8.6 dk) alıkonma zamanlarında pik vererek girişim yapmadıkları gözlenmiştir.



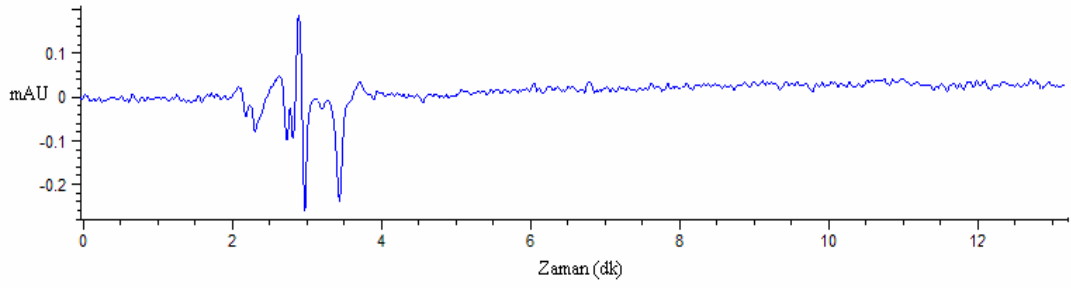
Şekil 4.6. Jejunum, ileum ve kolonun Golytely çözeltisiyle perfüzyonundan elde edilen perfüzet karışımının 227 nm'deki HPLC kromatogramı.

Çalışmada kullanılan permeasyon artırıcı ajanların etkin ve referans maddelerle girişim yapıp yapmadıklarını incelemek amacıyla jejunum, ileum ve kolonun Golytely çözeltisiyle perfüzyonundan toplanan perfüzetler birleştirilmiştir. Dört farklı permeasyon artırıcı ajan (sodyum kaprat, sodyum lauril sülfat, dimetil β -siklodekstrin, suda çözünen kitosan) ayrı ayrı perfüzet karışımı içerisine eklenerek 254 nm'de HPLC'de kromatogramları çekilmiştir (Şekil 4.7) Permeasyon artırıcı ajanların çalışmada kullanılan diğer maddelerle (asiklovir, metoprolol tartarat, fenol kırmızısı, furosemid) girişim yapmadıkları gözlenmiştir.

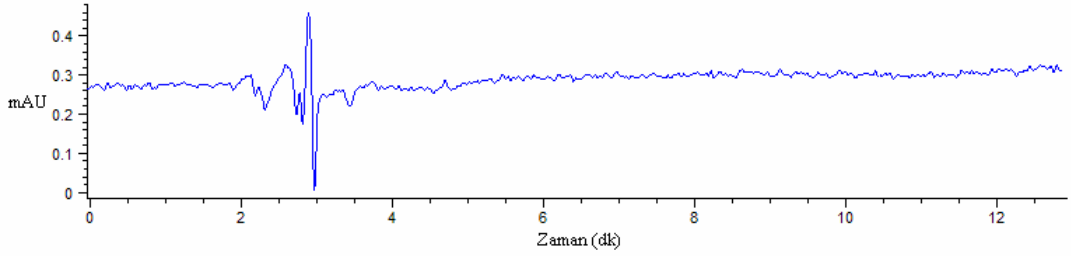
(A)



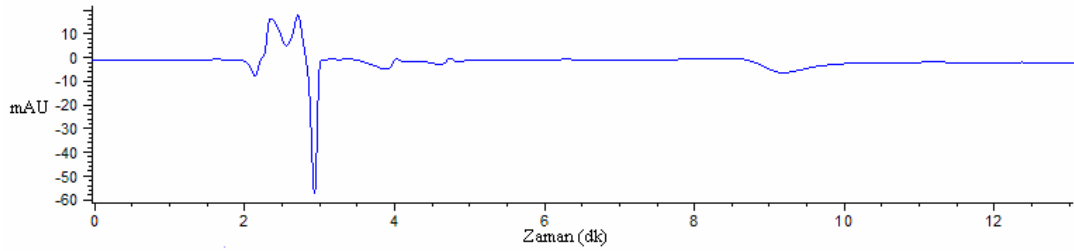
(B)



(C)



(D)



Şekil 4.7. Permeasyon artırıcı ajanları [Sodyum kaprat (A); Dimetil β -siklodekstrin (B); Sodyum lauril sülfat (C); Suda çözünen kitosan (D)] içeren Golytely çözeltisinin 254 nm dalga boyunda elde edilen HPLC kromatogramları

4.2.2. Doğrusallık

Bölüm 3.2.3.3.2’de belirtildiği şekilde gerçekleştirilen doğrusallık çalışmalarında konsantrasyonlar ve bu konsantrasyonlara karşılık gelen pik alanları en küçük kareler yöntemine göre değerlendirilerek standart doğru denklemleri ve korelasyon katsayıları hesaplanmıştır. Korelasyon katsayısının 1’e yakın olmasına göre değerlendirilmiştir. Asiklovir, metoprolol tartarat ve fenol kırmızına ait doğrusallık bulguları Tablo 4.1 – 4.3’ de, verilmiştir.

Tablo 4.1. Asiklovire ait doğrusallık bulguları.

Doğru Denklemi	$y = 0.0667x + 0.0089$
Kesişimin Standart Hatası	0.011
Eğimin Standart Hatası	0.002
Determinasyon Katsayısı (r^2)	0.9996
Doğrusallık Aralığı ($\mu\text{g/mL}$)	1 - 64
Nokta Sayısı	7
LOD ($\mu\text{g/mL}$)	0.25
LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	1.00

Tablo 4.2. Metoprolol tartarata ait doğrusallık bulguları.

Doğru Denklemi	$y = 0.0749x - 0.0266$
Kesişimin Standart Hatası	0.013
Eğimin Standart Hatası	0.002
Determinasyon Katsayısı (r^2)	0.9997
Doğrusallık Aralığı ($\mu\text{g/mL}$)	2 - 100
Nokta Sayısı	7
LOD ($\mu\text{g/mL}$)	1.00
LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	2.00

Tablo 4.3. Fenol kırmızısına ait doğrusallık bulguları.

Doğru Denklemi	$y = 0.1346x - 0.0837$
Kesişimin Standart Hatası	0.039
Eğimin Standart Hatası	0.005
Determinasyon Katsayısı (r^2)	0.9980
Doğrusallık Aralığı ($\mu\text{g/mL}$)	4 - 100
Nokta Sayısı	7
LOD ($\mu\text{g/mL}$)	1.00
LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	4.00

Asiklovir, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısı için elde edilen kalibrasyon doğrularının korelasyon katsayıları 1'e yakın bulunmuştur. Bu sonuçlar her madde için çalışılan konsantrasyon aralığında (asiklovir: 1-60 µg/mL; metoprolol tartarat: 1-60 µg/mL, fenol kırmızısı: 1-30 µg/mL) pik alanları ile konsantrasyonlar arasındaki ilişkinin doğrusal olduğunu göstermektedir.

4.2.3. Kesinlik

Çalışmada kullanılan maddelerin miktar tayini için geliştirilen analitik yöntemin kesinliğini göstermek amacıyla yapılan gün içi ve günler arası kesinlik çalışmalarında asiklovir için elde edilen bulgular Tablo 4.4'de, metoprolol tartarat için elde edilen bulgular Tablo 4.5'de, ve fenol kırmızısı için elde edilen bulgular Tablo 4.6'da verilmiştir. Çalışılan her üç konsantrasyona ait varyasyon katsayısı değerleri asiklovir için %8'den, metoprolol tartarat için %7'den ve fenol kırmızısı için %14'ten daha küçük bulunmuştur.

Tablo 4.4. Asiklovirin miktar tayininde kullanılan yönteme ait gün içi ve günler arası kesinlik bulguları.

Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Gün İçi ($\mu\text{g/mL}$)	Günler Arası ($\mu\text{g/mL}$)
5	4.91	5.34
	4.68	5.00
	5.08	4.99
	5.00	5.16
	5.32	5.01
	5.24	4.94
	Ortalama	5.04
SS	0.23	0.15
% VK	4.56	2.96
20	18.91	19.44
	19.61	19.82
	18.80	20.01
	21.16	19.42
	20.86	20.19
	22.38	20.40
	Ortalama	20.29
SS	1.41	0.40
% VK	6.97	2.00
40	36.28	38.78
	38.61	39.75
	37.63	40.57
	43.22	40.41
	40.72	40.23
	43.83	40.63
	Ortalama	40.05
SS	3.06	0.70
% VK	7.65	1.75

Tablo 4.5. Metoprolol tartaratin miktar tayininde kullanılan yöntemle ait gün içi ve günler arası kesinlik bulguları.

Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Gün İçi ($\mu\text{g/mL}$)	Günler Arası ($\mu\text{g/mL}$)
5	4.90	5.07
	5.02	4.96
	4.85	5.03
	5.46	4.98
	5.40	5.05
	5.52	4.98
Ortalama	5.19	5.01
SS	0.30	0.05
% VK	5.80	0.93
20	18.74	19.54
	18.98	20.40
	18.68	20.26
	21.00	19.59
	21.08	19.61
	20.50	20.38
Ortalama	19.83	19.97
SS	1.15	0.42
% VK	5.79	2.13
40	36.31	39.84
	38.37	39.61
	37.65	41.34
	41.67	40.02
	42.98	39.06
	40.77	40.05
Ortalama	39.62	39.99
SS	2.58	0.76
% VK	6.51	1.89

Tablo 4.6. Fenol kırmızısının miktar tayininde kullanılan yöntemle ait gün içi ve günler arası kesinlik bulguları.

Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Gün İçi ($\mu\text{g/mL}$)	Günler Arası ($\mu\text{g/mL}$)
2.5	2.65	3.45
	3.26	2.87
	2.88	2.68
	2.69	2.47
	2.52	3.27
	3.44	2.51
	Ortalama	2.91
SS	0.37	0.40
% VK	12.68	13.88
12.5	10.41	11.12
	12.72	11.24
	13.02	11.19
	11.23	13.01
	10.98	11.01
	13.02	12.71
	Ortalama	11.90
SS	1.16	0.90
% VK	9.71	7.69
20	19.75	22.31
	20.38	21.66
	21.64	21.33
	21.05	20.34
	17.00	19.79
	21.35	21.05
	Ortalama	20.19
SS	1.71	0.91
% VK	8.46	4.32

- **Cihaz Kesinliği**

Asiklovir, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısının tayininde kullanılan cihazın kesinliğini göstermek amacıyla yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular Tablo 4.7’de verilmiştir. Çalışılan tüm konsantrasyonlar için tayin edilen varyasyon katsayısı değerleri %8’den küçük bulunmuştur

Tablo 4.7. Asiklovir, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısı için cihaz kesinliği bulguları.

Konsantrasyon	Asiklovir ($\mu\text{g/mL}$)
20 $\mu\text{g/mL}$	21.78
	21.92
	22.00
	20.86
	20.92
	21.16
Ortalama	21.44
SS	0.52
%VK	2.42
Konsantrasyon	Metoprolol tartarat ($\mu\text{g/mL}$)
20 $\mu\text{g/mL}$	19.87
	19.07
	21.26
	20.00
	19.10
	19.31
Ortalama	19.76
SS	0.83
%VK	4.20
Konsantrasyon	Fenol kırmızısı ($\mu\text{g/mL}$)
12.5 $\mu\text{g/mL}$	11.19
	12.72
	11.12
	13.02
	11.23
	13.01
Ortalama	12.05
SS	0.96
%VK	7.94

- **Yöntem Kesinliği**

Asiklovir, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısının tayininde kullanılan analitik yöntemin kesinliği Bölüm 3.2.3.3.3’de belirtildiği şekilde yapılarak elde edilen bulgular Tablo 4.8’de verilmiştir. Çalışılan tüm konsantrasyonlar için tayin edilen varyasyon katsayısı değerleri %10’dan küçük bulunmuştur

Tablo 4.8. Asiklovir, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısı için yöntem kesinliği bulguları.

Konsantrasyon	Asiklovir (µg/mL)
20 µg/mL	18.91
	19.61
	18.80
	21.16
	20.86
	22.38
Ortalama	20.29
SS	1.41
%VK	6.97
Konsantrasyon	Metoprolol tartarat (µg/mL)
20 µg/mL	18.74
	18.98
	18.68
	21.00
	21.08
	20.50
Ortalama	19.83
SS	1.15
%VK	5.79
Konsantrasyon	Fenol kırmızısı (µg/mL)
12.5 µg/mL	10.41
	12.72
	13.02
	11.23
	10.98
	13.02
Ortalama	11.90
SS	1.16
%VK	9.71

Asiklovir, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısının tayininde kullanılan analitik yöntemin gün içi, günler arası kesinlik çalışmaları ile cihaz ve yöntem kesinliği çalışmalarından elde edilen bulgular incelendiğinde çalışılan tüm konsantrasyonlarda varyasyon katsayısı değerlerinin %15'ten küçük olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar kullanılan analitik yöntemin kesinliğini kanıtlamaktadır.

4.2.4. Doğruluk

Asiklovir'in tayininde kullanılan analitik yönteminin doğruluğunun gösterilmesi amacıyla yapılan çalışmalara ait bulgular Tablo 4.9'da verilmiştir. Her bir konsantrasyon için hesaplanan varyasyon katsayısı değerleri %8'den küçük bulunmuştur.

Tablo 4.9. Asiklovire ait doğruluk çalışması bulguları (Ortalama \pm SS; n=6).

Gerçek konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Ölçülen konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	% Varyasyon Katsayısı
5	5.04 \pm 0.23	4.54
20	20.29 \pm 1.41	6.97
40	40.05 \pm 3.06	7.65

Metoprolol tartarat'ın tayininde kullanılan analitik yönteminin doğruluğunun gösterilmesi amacıyla yapılan çalışmalara ait bulgular Tablo 4.10'da verilmiştir. Her bir konsantrasyon için hesaplanan varyasyon katsayısı değerleri %7'den küçük bulunmuştur.

Tablo 4.10. Metoprolol tartarata ait doğruluk çalışması bulguları (Ortalama \pm SS; n=6).

Gerçek konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Ölçülen konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	% Varyasyon Katsayısı
5	5.19 \pm 0.30	5.80
20	19.83 \pm 1.15	5.79
40	39.63 \pm 2.58	6.51

Fenol kırmızısı'nın tayininde kullanılan analitik yönteminin doğruluğunun gösterilmesi amacıyla yapılan çalışmalara ait bulgular Tablo 4.11'de verilmiştir. Her bir konsantrasyon için hesaplanan varyasyon katsayısı değerleri %13'ten küçük bulunmuştur.

Tablo 4.11. Fenol kırmızısına ait doğruluk çalışması bulguları (Ortalama \pm SS; n=6).

Gerçek konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Ölçülen konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	% Varyasyon Katsayısı
2.5	2.91 \pm 0.37	12.68
12.5	11.90 \pm 1.16	9.71
20	20.20 \pm 1.71	8.46

4.2.5. Duyarlılık

Asiklovir, metoprolol tartarat ve fenol kırmızısının tayininde kullanılan analitik yöntemin duyarlılığı Bölüm 3.2.3.3.5'de belirtildiği gibi yapılmıştır. Tayin

edilen LOD ve LOQ değerleri asiklovir için Tablo 4.1’de, metoprolol tartarat için Tablo 4.2’de, fenol kırmızı için Tablo 4.3’de verilmiştir.

4.2.6. Stabilite

Deneyden hemen sonra ve -20°C ’de dondurma-çözme işlemi uygulanarak 24 saat sonra tayin edilen konsantrasyonlar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 4.12). Bu nedenle perfüzyon deneylerinden toplanan numuneler analiz edilinceye kadar -20°C ’de saklanmıştır.

Tablo 4.12. Çalışmada kullanılan maddelere ait stabilite çalışması bulguları (Ortalama \pm SS; n=6)

Madde	Gerçek konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Deneyden hemen sonra ölçülen konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	Dondurma-özme işleminde 24 sa sonra ölçülen konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	p Değeri
Asiklovir	20	19.95 ± 0.35	20.19 ± 1.35	0.646
Metoprolol Tartarat	20	19.86 ± 1.11	19.97 ± 0.42	0.859
Fenol Kırmızısı	12.5	11.98 ± 1.09	12.23 ± 1.42	0.203

4.3. Perfüzyon Deneyleri

Tüm perfüzyon çalışmalarında kullanılan sıçanlara ait bilgiler kontrol grubu için Tablo 4.13.'te ve deney grupları için Tablo 4.14'te verilmiştir.

Tablo 4.13. Kontrol grubunda kullanılan sıçanlara ait bilgiler (Ortalama \pm SS).

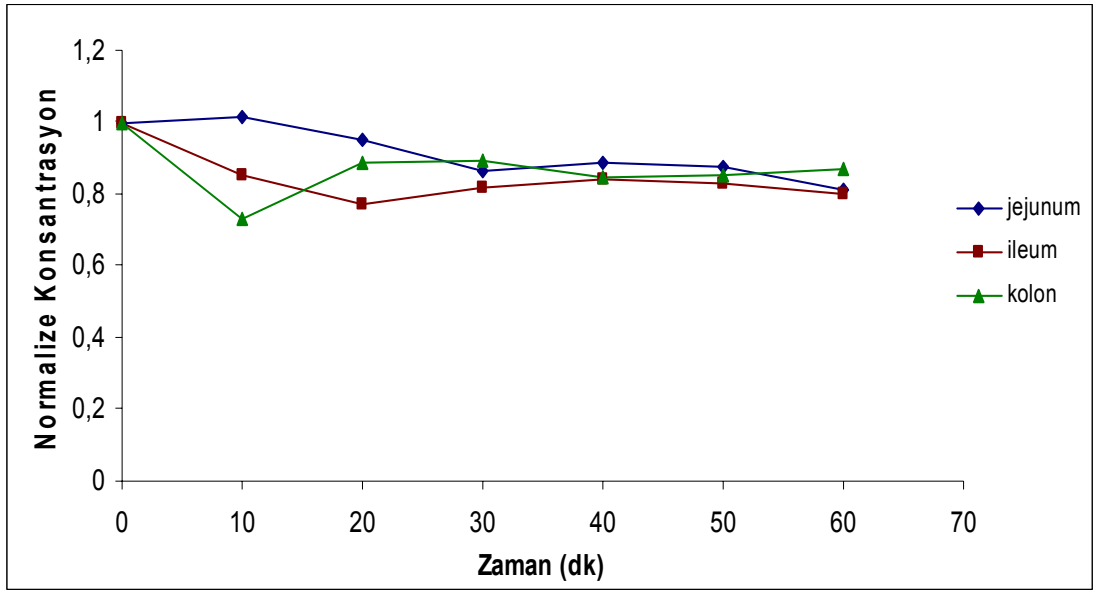
Grup 1 (Kontrol Grubu) (n = 6)	
• Sıçan Ağırlığı (g)	223.5 \pm 12.86
• Akış Hızı (Q; mL/dk)	0.2
• Perfüze Edilen Segment Uzunlukları (cm)	
Jejunum	9.04 \pm 2.32
İleum	3.25 \pm 0.63
Kolon	1.88 \pm 0.38

Tablo 4.14. Deney gruplarında kullanılan sıçanlara ait bilgiler (Ortalama \pm SS).

Grup 2 (Asiklovir + Sodyum Lauril Sülfat) (n = 6)	
• Sıçan Ağırlığı (g)	204.33 \pm 16.29
• Akış Hızı (Q; mL/dak)	0.2
• Perfüze Edilen Segment Uzunlukları (cm)	
Jejunum	8.42 \pm 1.65
İleum	3.93 \pm 1.29
Kolon	2.15 \pm 0.48
Grup 3 (Asiklovir + Sodyum Kaprat) (n = 6)	
• Sıçan Ağırlığı (g)	235 \pm 22.91
• Akış Hızı (Q; mL/dak)	0.2
• Perfüze Edilen Segment Uzunlukları (cm)	
Jejunum	9.10 \pm 2.50
İleum	4.10 \pm 1.34
Kolon	2.47 \pm 0.71
Grup 4 (Asiklovir + Dimetil β-Siklodekstin) (n = 6)	
• Sıçan Ağırlığı (g)	214.66 \pm 6.18
• Akış Hızı (Q; mL/dak)	0.2
• Perfüze Edilen Segment Uzunlukları (cm)	
Jejunum	9.00 \pm 1.78
İleum	4.33 \pm 2.02
Kolon	2.53 \pm 0.69
Grup 5 (Asiklovir + Suda çözünen kitosan) (n = 6)	
• Sıçan Ağırlığı (g)	254.66 \pm 19.37
• Akış Hızı (Q; mL/dak)	0.2
• Perfüze Edilen Segment Uzunlukları (cm)	
Jejunum	8.82 \pm 2.78
İleum	5.97 \pm 1.81
Kolon	2.82 \pm 1.02

4.3.1. Kontrol Grubuna Ait Bulgular

Herhangi bir permeabilite artırıcı ajanın kullanılmadan gerçekleştirilen perfüzyon deneylerinde asiklovirin jejunum, ileum ve kolon lümeninden zamanının fonksiyonu olarak absorpsiyonunu gösteren konsantrasyon-zaman profilleri Şekil 4.8’ de gösterilmiştir.

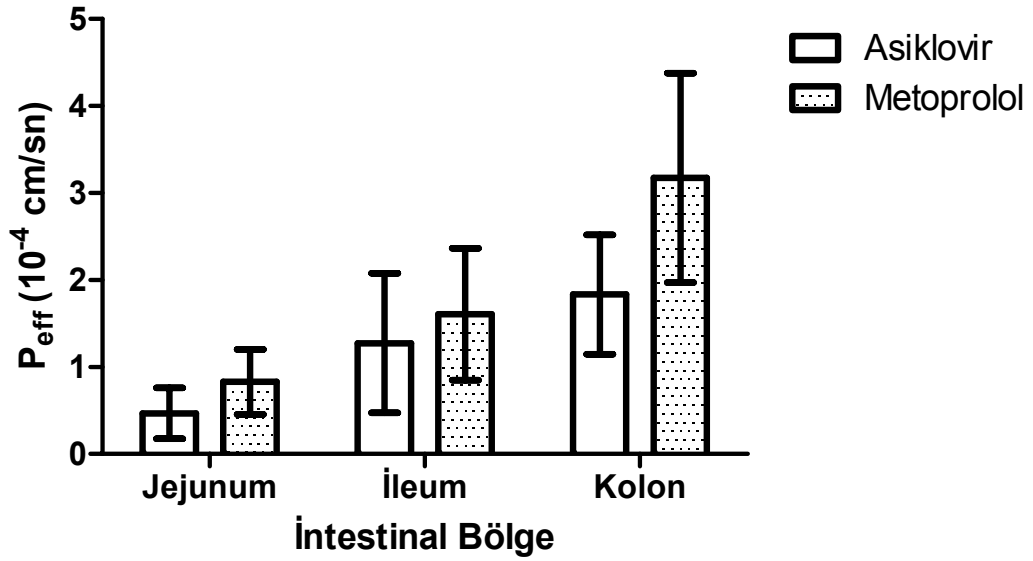


Şekil 4.8. Kontrol grubunda jejunum, ileum ve kolonun asiklovir ile perfüzyonu sonucu elde edilen konsantrasyon-zaman profilleri.

Kontrol grubunda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen permeabilite (P_{eff}) değerleri Tablo 4.15’de verilmiştir. P_{eff} değerlerindeki değişimler ise Şekil 4.9’da gösterilmiştir.

Tablo 4.15. Kontrol grubunda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n=6).

Barsak Segmenti	P_{eff} (10^{-4} cm/sn)	
	Asiklovir	Metoprolol Tartarat
Jejunum	0.46 ± 0.29	0.83 ± 0.37
İleum	1.27 ± 0.80	1.61 ± 0.76
Kolon	1.83 ± 0.68	3.17 ± 1.20



Şekil 4.9. Kontrol grubunda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n=6).

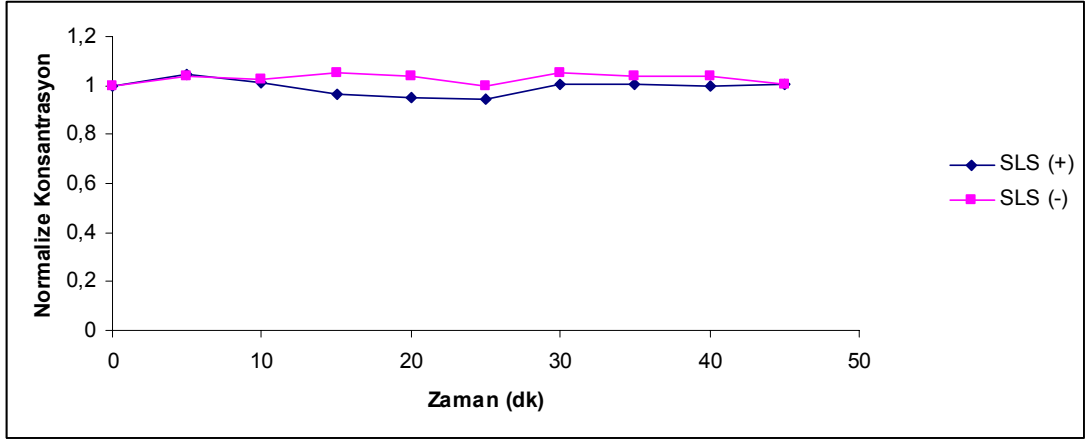
4.3.2. Deneş Gruplarına Ait Bulgular

Asiklovirin farklı barsak segmentlerinden (jejunum, ileum ve kolon) absorpsiyonu ve permeabilitesi üzerine sodyum lauril sülfat, sodyum kaprat, dimetil β -siklodekstrin ve suda çözünen kitosan etkisi incelenmiş ve her bir permeabilite artırıcı ajan için elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

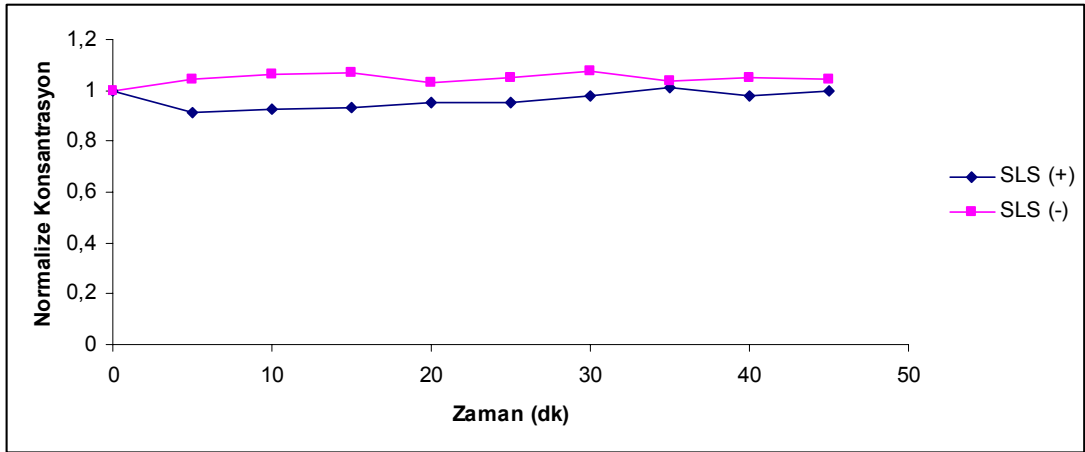
4.3.2.1. Sodyum Lauril Sülfat Grubuna Ait Bulgular

Sodyum lauril sülfatın permeasyon artırıcı ajan olarak kullanıldığı perfüzyon deneylerinde asiklovirin jejunum, ileum ve kolon lümeninden zamanın fonksiyonu olarak absorpsiyonunu gösteren konsantrasyon-zaman profilleri Şekil 4.10'da verilmiştir. Asiklovir ve metoprolol tartarat için hesaplanan permeabilite değerleri Tablo 4.16'da özetlenmiş ve P_{eff} değerlerindeki değişmeler ise Şekil 4.11'de gösterilmiştir. Sodyum lauril sülfat kullanılarak gerçekleştirilen perfüzyon çalışmalarında asiklovir ve metoprolol tartaratın jejunum ve kolondan absorpsiyonu önemli derecede artmazken, ileumdan asiklovir absorpsiyonu önemli derecede ($p=0.043$) artmıştır.

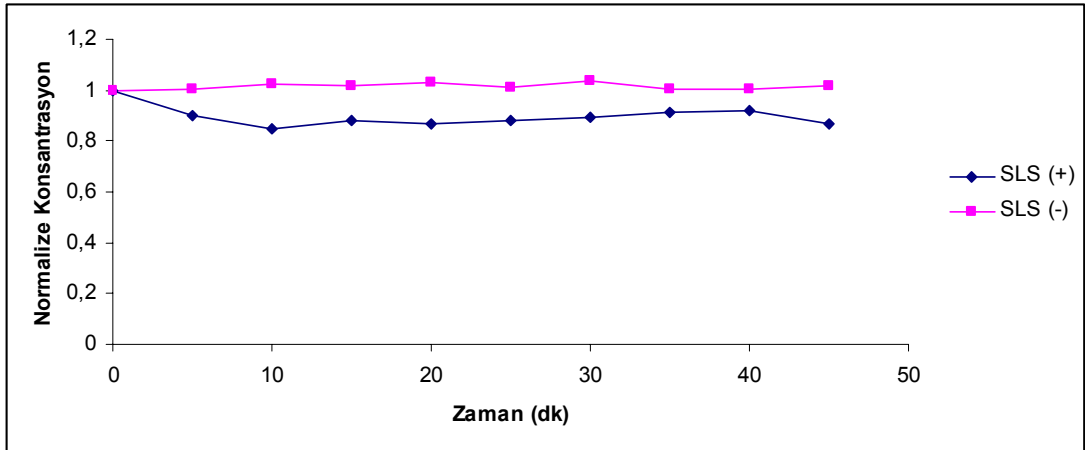
(A)



(B)



(C)

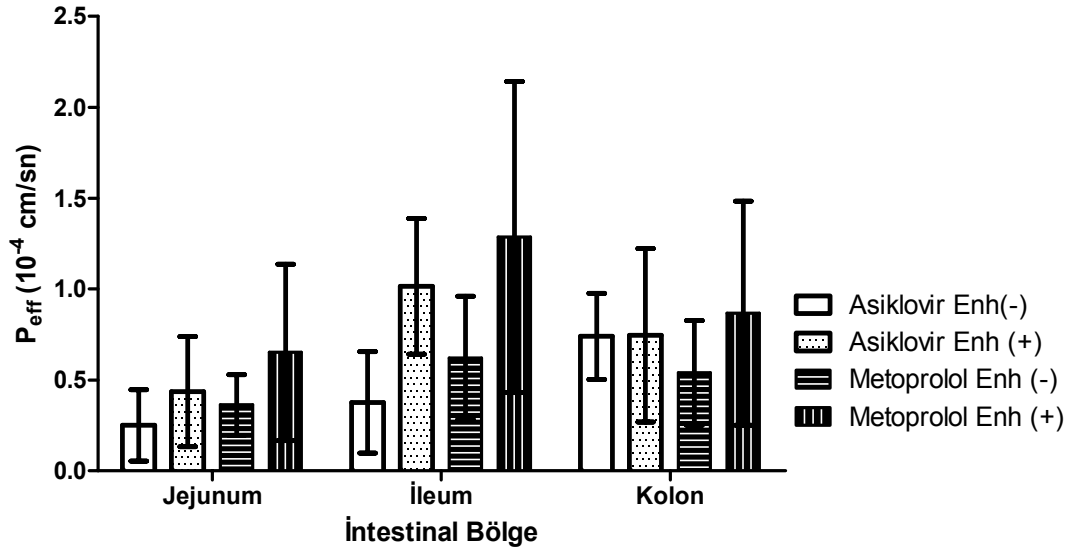


Şekil 4.10. Permeasyon artırıcı ajan olarak sodyum lauril sülfat (SLS) kullanılan çalışmalarda jejunum (A), ileum (B) ve kolonun (C) asiklovir ile perfüzyonu sonucu elde edilen konsantrasyon-zaman profilleri (-): SLS yok; (+):SLS var.

Tablo 4.16. Permeasyon artırıcı ajan olarak sodyum lauril sülfat kullanılan çalışmalarda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n= 6).

Barsak Segmenti	Asiklovir			Metoprolol Tartarat		
	P_{eff} (10^{-4} cm/sn)			P_{eff} (10^{-4} cm/sn)		
	*Enhancer (-)	*Enhancer (+)	Permeasyon Artış oranı**	*Enhancer (-)	*Enhancer (+)	Permeasyon Artış oranı**
Jejunum	0.25 \pm 0.20	0.44 \pm 0.30	1.76	0.36 \pm 0.17	0.65 \pm 0.49	1.81
İleum	0.38 \pm 0.28	1.02 \pm 0.37	2.68	0.62 \pm 0.34	1.29 \pm 0.85	2.08
Kolon	0.74 \pm 0.24	0.75 \pm 0.48	1.01	0.54 \pm 0.29	0.87 \pm 0.62	1.61

*Enhancer: Permeasyon artırıcı ajan; (-): yok; (+) var; ** P_{eff} -enhancer (+) / P_{eff} -enhancer (-)

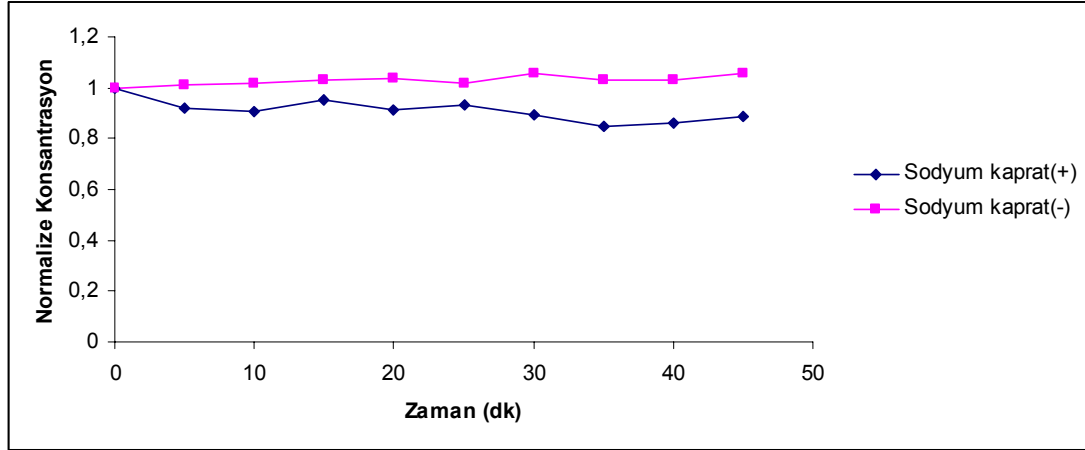


Şekil 4.11. Permeasyon artırıcı ajan olarak sodyum lauril sülfatın kullanıldığı çalışmalarda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n= 6). Enh(-): permeasyon artırıcı ajan yok; Enh(+):Permeasyon artırıcı ajan var.

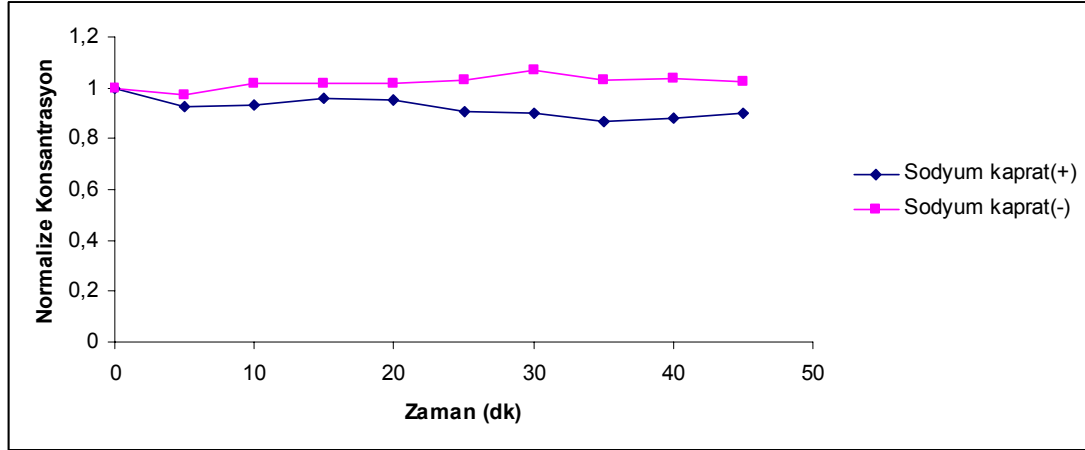
4.3.2.2. Sodyum Kaprat Grubuna Ait Bulgular

Permeasyon artırıcı ajan olarak sodyum kapratın kullanıldığı perfüzyon deneylerinde asiklovirin jejunum, ileum ve kolon lümeninden zamanın fonksiyonu olarak absorpsiyonunu gösteren konsantrasyon-zaman profilleri Şekil 4.12’de verilmiştir. Asiklovir ve metoprolol tartarat için hesaplanan permeabilite değerleri Tablo 4.17’de özetlenmiş ve P_{eff} değerlerindeki değişimler ise Şekil 4.13’te gösterilmiştir. Sodyum kaprat kullanılarak gerçekleştirilen perfüzyon çalışmalarında asiklovirin tüm segmentlerden absorpsiyonundaki artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Metoprolol tartaratın absorpsiyonu ise jejunum ve ileumda anlamlı derecede artarken (Jejunum $p=0.028$, İleum $p=0.043$) kolondaki artış istatistiksel olarak önemli olmamıştır (Kolon $p=0.068$).

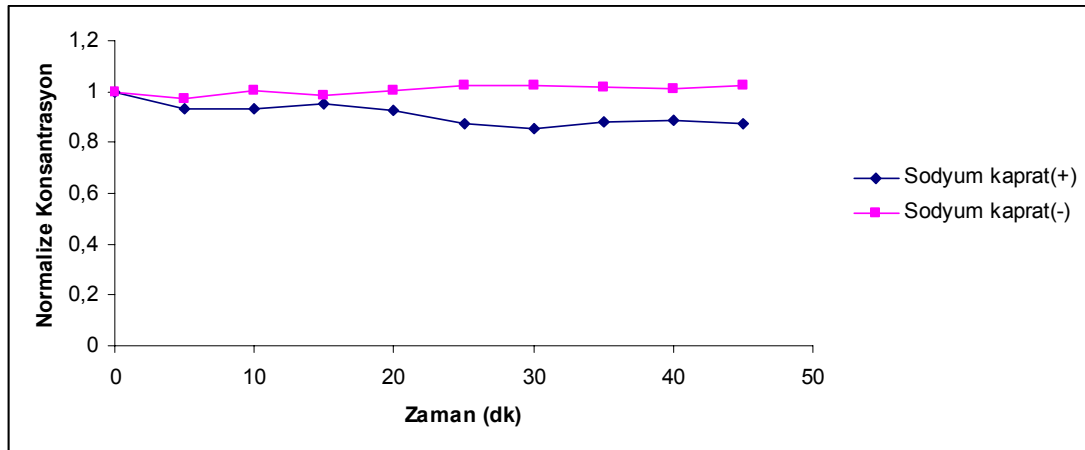
(A)



(B)



(C)

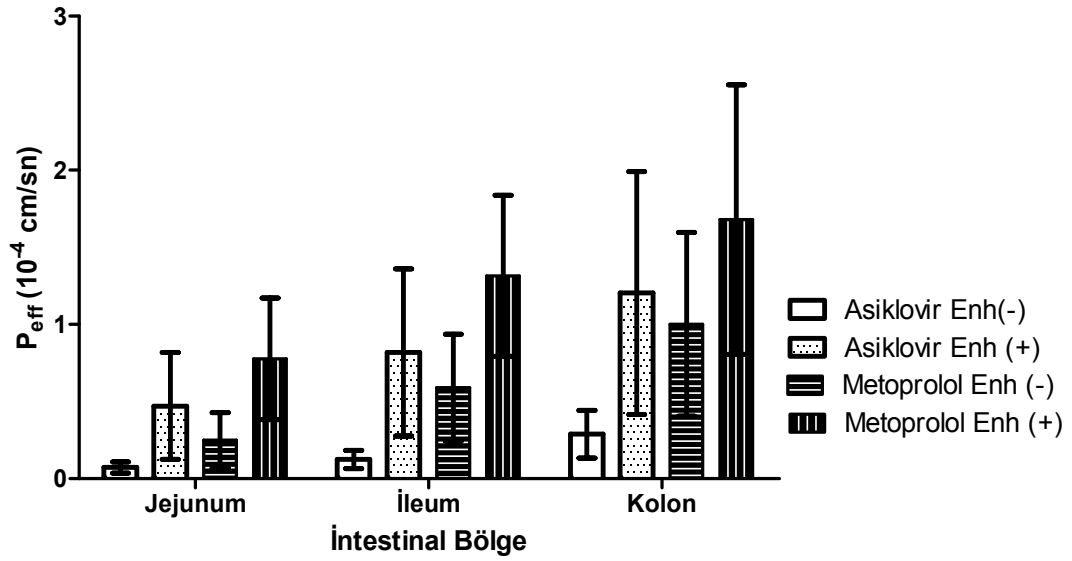


Şekil 4.12. Permeasyon artırıcı ajan olarak sodyum kaprat kullanılan çalışmalarda jejunum (A), ileum (B) ve kolonun (C) asiklovir ile perfüzyonu sonucu elde edilen konsantrasyon-zaman profilleri (-): Sodyum kaprat yok; (+):Sodyum kaprat var.

Tablo 4.17. Permeasyon artırıcı ajan olarak sodyum kaprat kullanılan çalışmalarda asiklovir ve metoprolol tartarot için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n=6).

Barsak Segmenti	Asiklovir			Metoprolol Tartarot		
	P_{eff} (10^{-4} cm/sn)			P_{eff} (10^{-4} cm/sn)		
	*Enhancer (-)	*Enhancer (+)	Permeasyon Artış oranı**	*Enhancer (-)	*Enhancer (+)	Permeasyon Artış oranı**
Jejunum	0.07 \pm 0.04	0.47 \pm 0.35	6.71	0.25 \pm 0.18	0.78 \pm 0.39	3.12
İleum	0.12 \pm 0.06	0.82 \pm 0.54	6.83	0.59 \pm 0.35	1.31 \pm 0.52	2.22
Kolon	0.29 \pm 0.16	1.20 \pm 0.79	4.14	1.00 \pm 0.60	1.68 \pm 0.87	1.68

*Enhancer: Permeasyon artırıcı ajan; (-): yok; (+) var; ** P_{eff} -enhancer (+) / P_{eff} -enhancer (-)

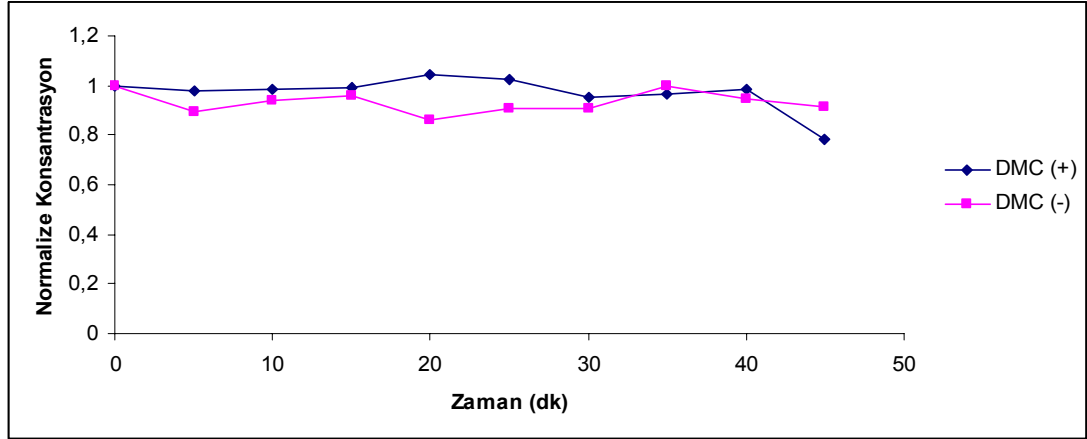


Şekil 4.13. Permeasyon artırıcı ajan olarak sodyum kapratın kullanıldığı çalışmalarda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n= 6) Enh(-): permeasyon artırıcı ajan yok; Enh(+):Permeasyon artırıcı ajan var.

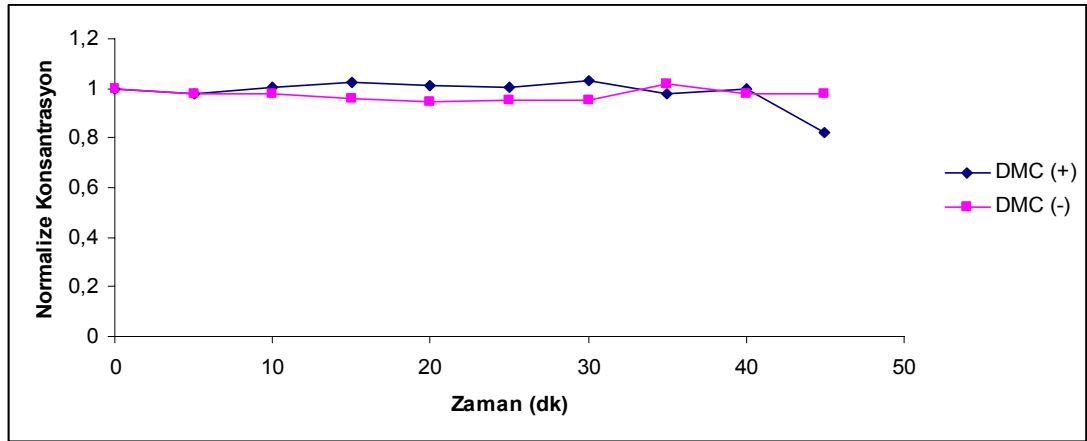
4.3.2.3. Dimetil β -Siklodekstrin Grubuna Ait Bulgular

Dimetil β -siklodekstrinin permeasyon artırıcı ajan olarak kullanıldığı perfüzyon deneylerinde asiklovirin jejunum, ileum ve kolon lümeninden zamanın fonksiyonu olarak absorpsiyonunu gösteren konsantrasyon-zaman profilleri Şekil 4.14'te verilmiştir. Asiklovir ve metoprolol tartarat için hesaplanan permeabilite değerleri Tablo 4.18'de özetlenmiş ve P_{eff} değerlerindeki değişimler ise Şekil 4.15'te gösterilmiştir. Dimetil β -siklodekstrin kullanılarak gerçekleştirilen perfüzyon çalışmalarında asiklovir ve metoprolol tartaratın jejunum, ileum ve kolondan absorpsiyonunda önemli derecede bir artma bulunmamıştır ($p>0.05$).

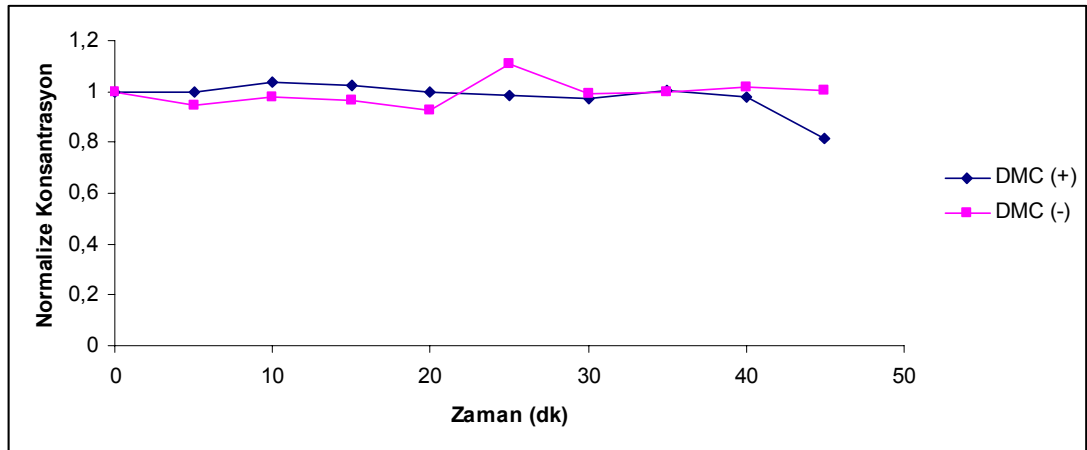
(A)



(B)



(C)

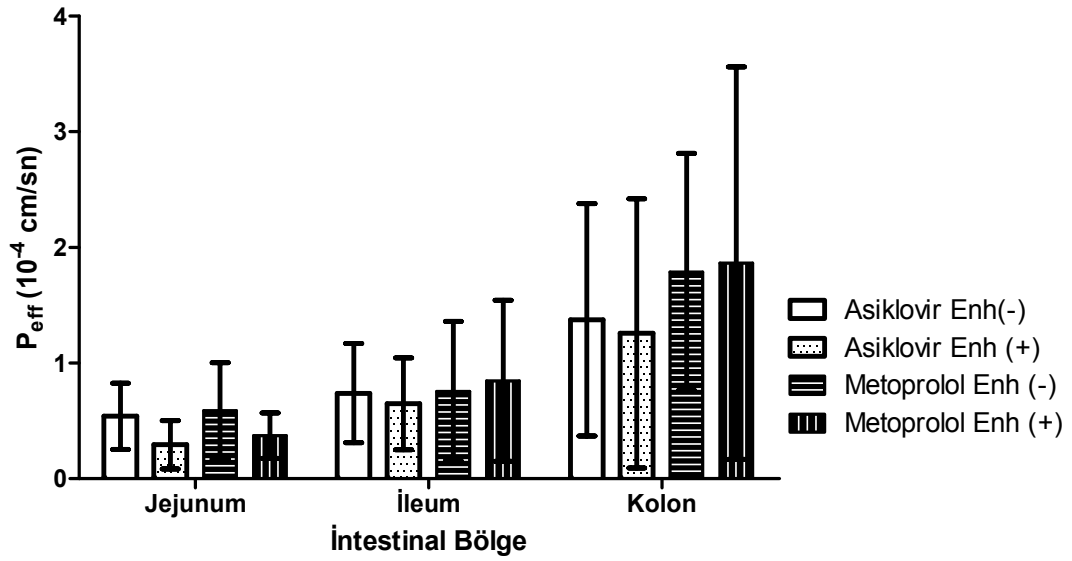


Şekil 4.14. Permeasyon artırıcı olarak dimetil β -siklodekstrin (DMC) kullanılan çalışmalarda jejunum (A), ileum (B) ve kolonun (C) asiklovir ile perfüzyonu sonucu elde edilen konsantrasyon-zaman profilleri (-): DMC yok; (+):DMC var.

Tablo 4.18. Permeasyon artırıcı ajan olarak dimetil β -siklodekstrin kullanılan çalışmalarda asiklovir ve metoprolol tartarata için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n=6).

Barsak Segmenti	Asiklovir			Metoprolol Tartarat		
	P_{eff} (10^{-4} cm/sn)			P_{eff} (10^{-4} cm/sn)		
	*Enhancer (-)	*Enhancer (+)	Permeasyon Artış oranı**	*Enhancer (-)	*Enhancer (+)	Permeasyon Artış oranı**
Jejunum	0.54 \pm 0.29	0.29 \pm 0.21	0.54	0.59 \pm 0.42	0.37 \pm 0.20	0.63
İleum	0.74 \pm 0.43	0.65 \pm 0.40	0.88	0.76 \pm 0.60	0.85 \pm 0.70	1.12
Kolon	1.37 \pm 1.00	1.26 \pm 1.16	0.92	1.79 \pm 1.02	1.86 \pm 1.70	1.04

*Enhancer: Permeasyon artırıcı ajan; (-): yok; (+) var; ** P_{eff} -enhancer (+) / P_{eff} -enhancer (-)

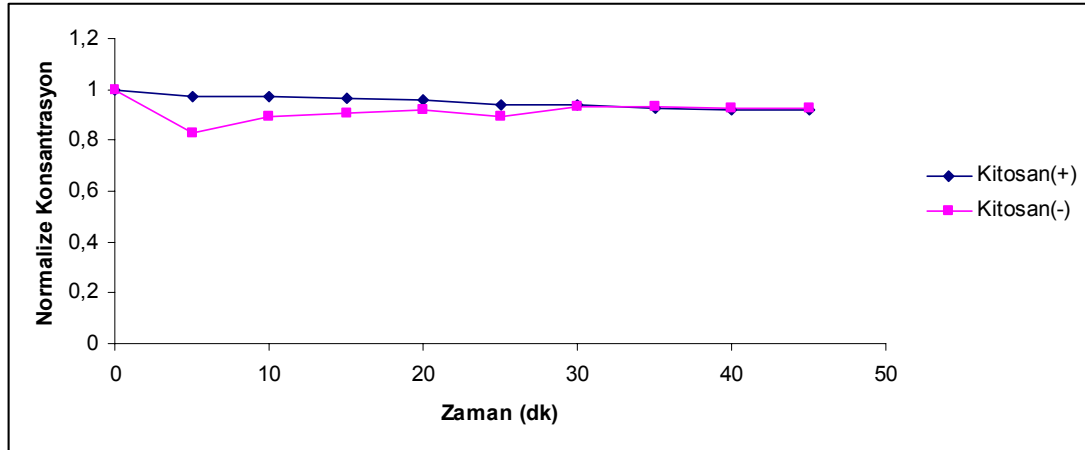


Şekil 4.15. Permeasyon artırıcı ajan olarak dimetil β -siklodekstrin kullanılan çalışmalarda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n= 6) Enh(-): Permeasyon artırıcı ajan yok; Enh(+):Permeasyon artırıcı ajan var.

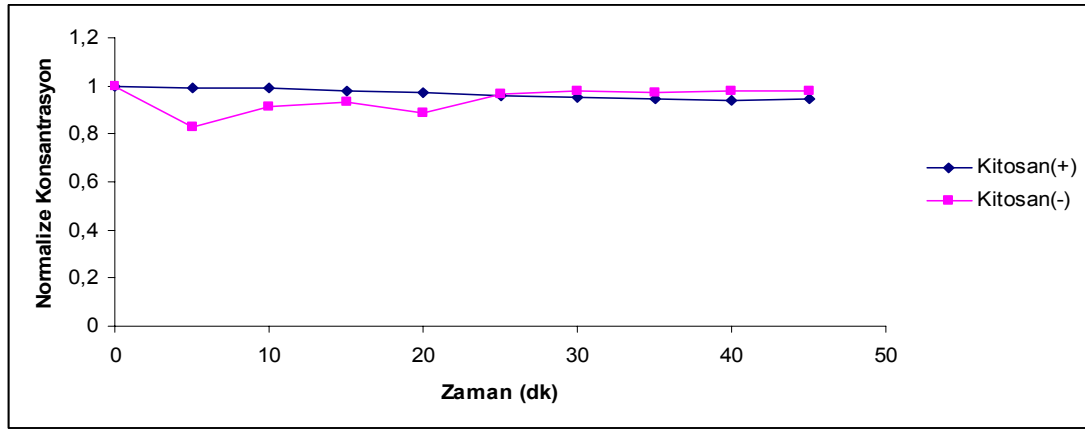
4.3.2.4. Suda Çözünen Kitosan Grubuna Ait Bulgular

Suda çözünen kitosanın permeasyon artırıcı ajan olarak kullanıldığı perfüzyon deneylerinde asiklovirin jejunum, ileum ve kolon lümeninden zamanın fonksiyonu olarak absorpsiyonunu gösteren konsantrasyon-zaman profilleri Şekil 4.16'da verilmiştir. Asiklovir ve metoprolol tartarat için hesaplanan permeabilite değerleri Tablo 4.19'da özetlenmiş ve P_{eff} değerlerindeki değişimler ise Şekil 4.17'de gösterilmiştir. Suda çözünen kitosan kullanılarak gerçekleştirilen perfüzyon çalışmalarında metoprolol tartaratın jejunum, ileum ve kolondan absorpsiyonundaki artış önemli değildir ($p>0.05$). Asiklovirin absorpsiyonu ise sadece ileumda önemli derecede artmıştır ($p=0.043$).

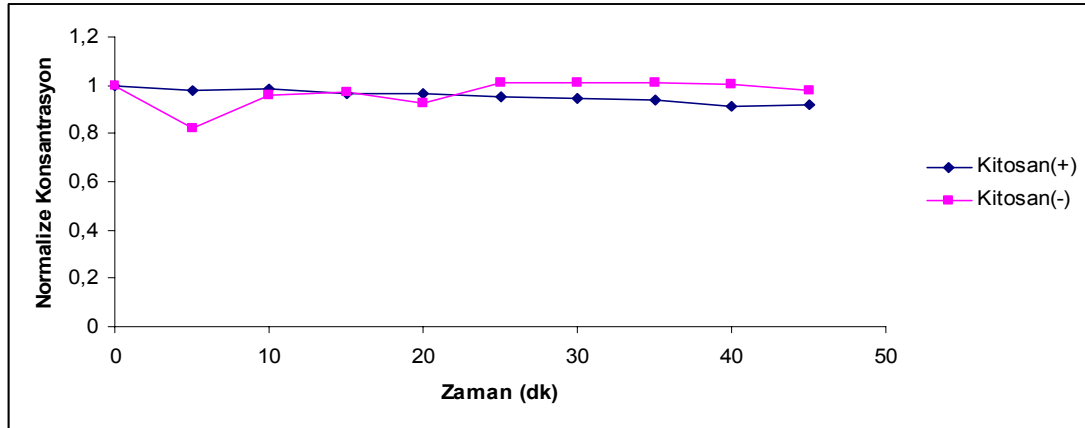
(A)



(B)



(C)

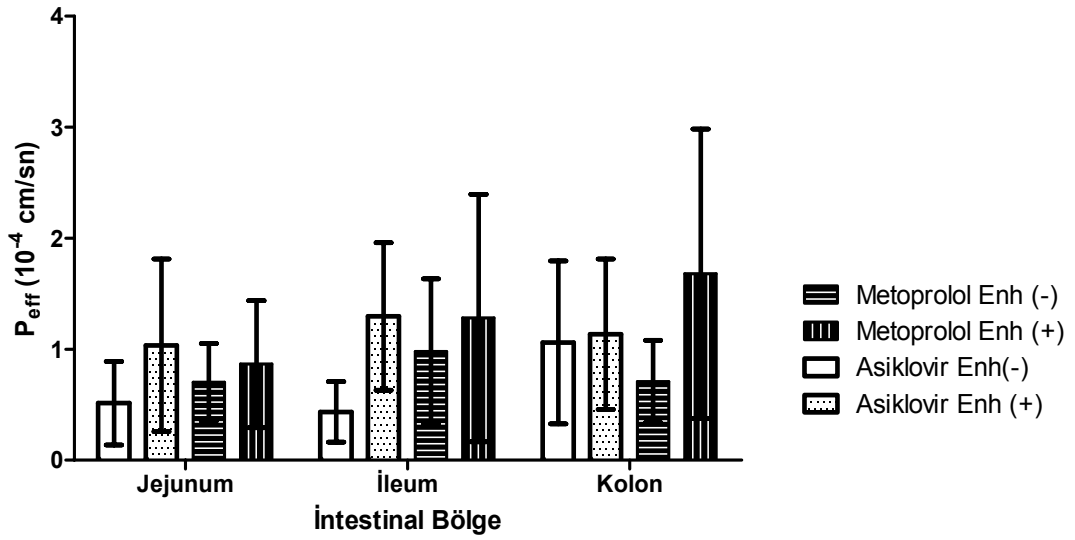


Şekil 4.16. Permeasyon artırıcı olarak suda çözünen kitosan kullanılan çalışmalarda jejunum (A), ileum (B) ve kolonun (C) asiklovir ile perfüzyonu sonucu elde edilen konsantrasyon-zaman profilleri (-): Kitosan yok; (+): Kitosan var.

Tablo 4.19. Permeasyon artırıcı ajan olarak suda çözünen kitosan kullanılan çalışmalarda asiklovir ve metoprolol tartarot için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n=6).

	Asiklovir			Metoprolol Tartarot		
	P_{eff} (10^{-4} cm/sn)			P_{eff} (10^{-4} cm/sn)		
ttSegmen ti	*Enhancer (-)	*Enhancer (+)	Permeasyon Artış oranı**	*Enhancer (-)	*Enhancer (+)	Permeasyon Artış oranı**
Jejunum	0.51 \pm 0.38	1.03 \pm 0.78	2.02	0.70 \pm 0.35	0.86 \pm 0.57	1.23
İleum	0.43 \pm 0.27	1.29 \pm 0.67	3.00	0.98 \pm 0.66	1.28 \pm 1.11	1.31
Kolon	1.06 \pm 0.74	1.13 \pm 0.68	1.07	0.71 \pm 0.37	1.68 \pm 1.30	2.37

*Enhancer: Permeasyon artırıcı ajan; (-): yok; (+) var; ** P_{eff} -enhancer (+) / P_{eff} -enhancer (-)

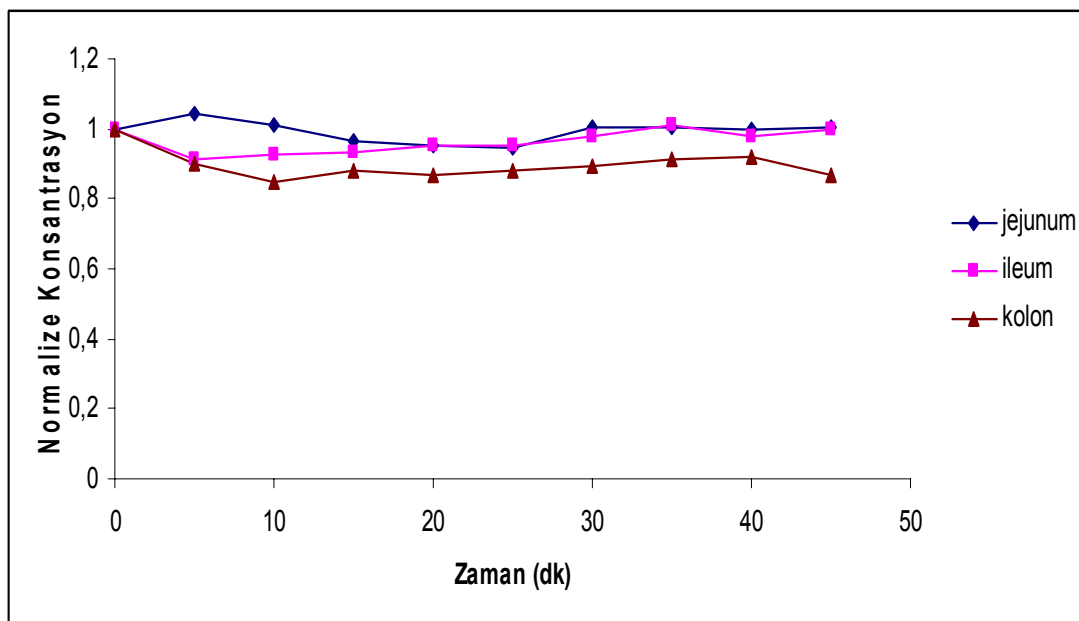


Şekil 4.17. Permeasyon artırıcı ajan olarak suda çözünen kitosan kullanılan çalışmalarda asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS; n= 6) Enh(-): Permeasyon artırıcı ajan yok; Enh(+): Permeasyon artırıcı ajan var.

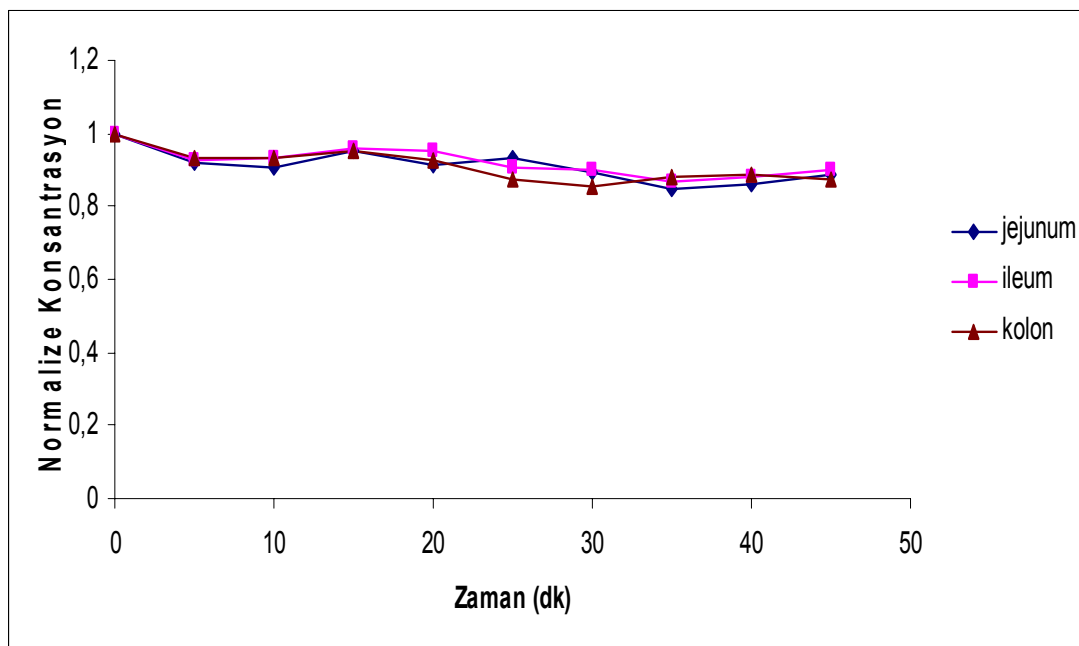
4.3.3. Asiklovirin Absorpsiyon ve Permeabilitesinin Barsak Segmentlerine Göre Kıyaslanması

Asiklovirin farklı barsak segmentlerinden (jejunum, ileum ve kolon) absorpsiyonu üzerine perfüzyon çalışmalarında kullanılan permeabilite artırıcı ajanların etkisini gösteren konsantrasyon-zaman profilleri Şekil 4.18'de gösterilmiştir.

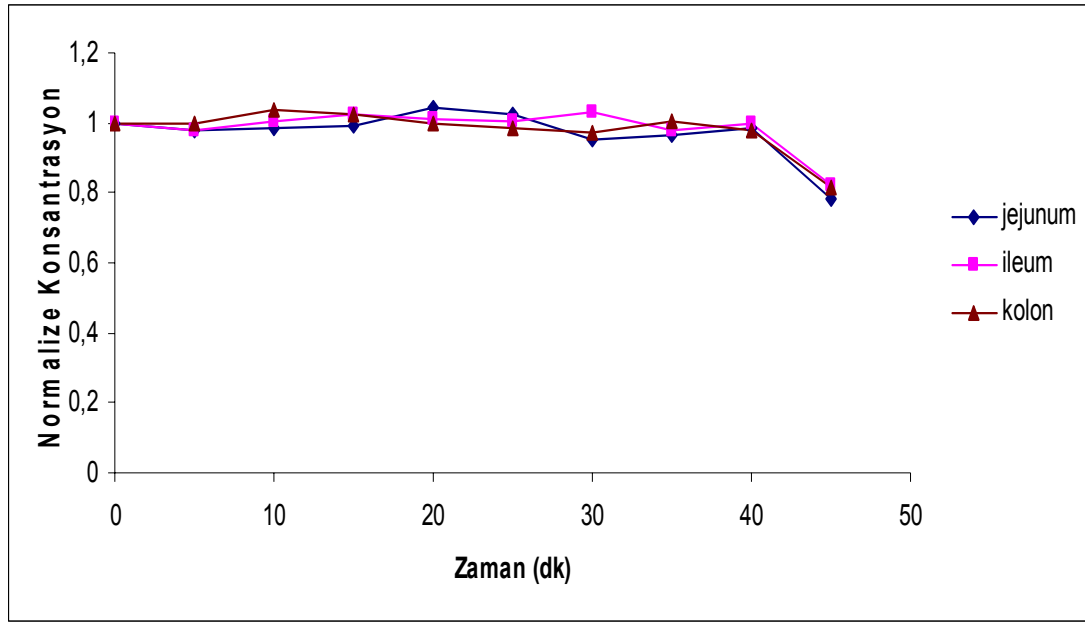
(A)



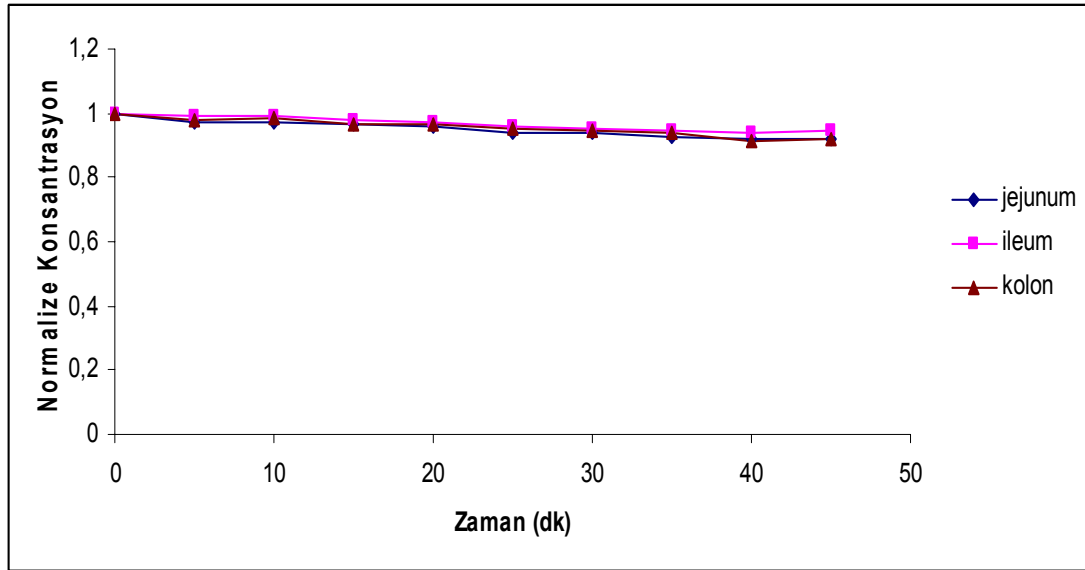
(B)



(C)



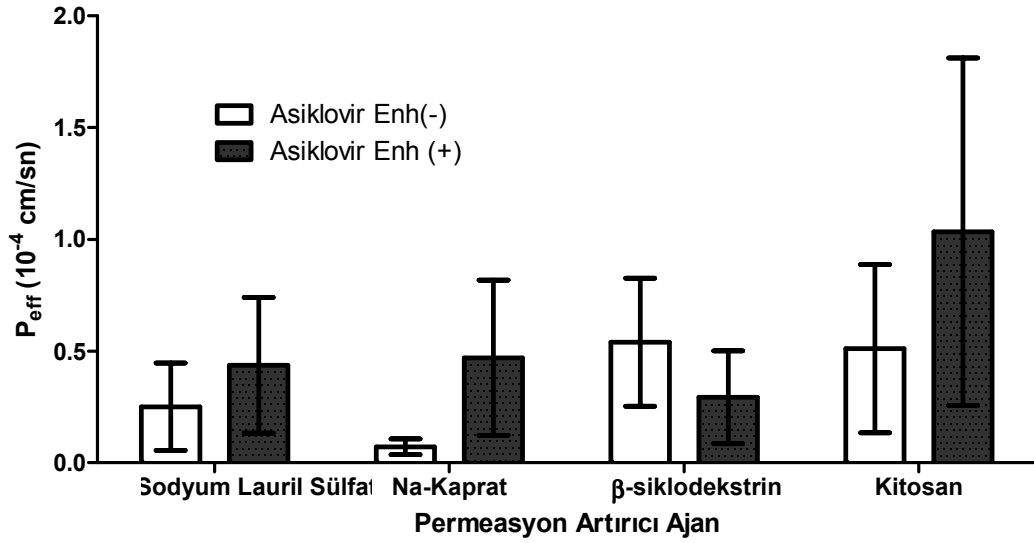
(D)



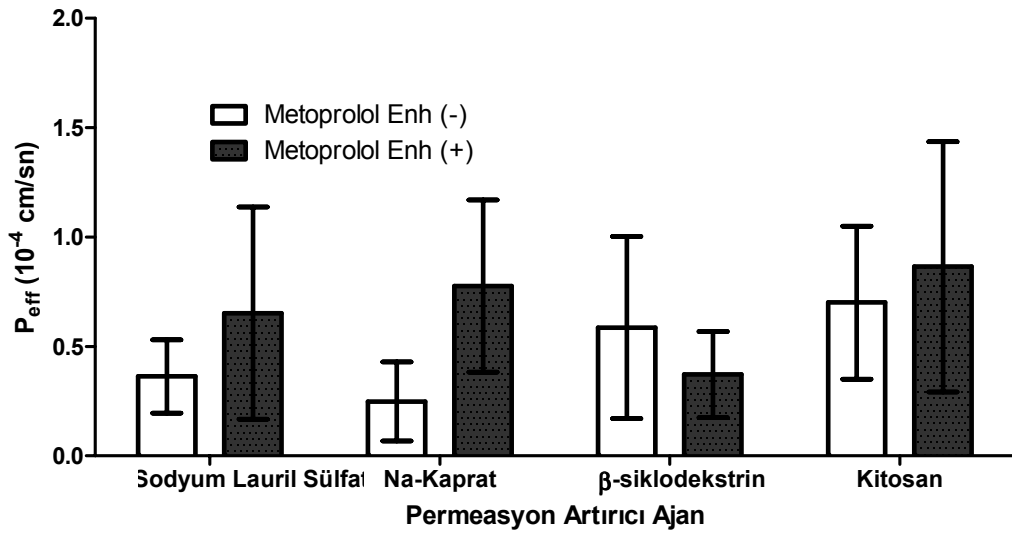
Şekil 4.18. Çalışmada kullanılan permeabilite artırıcı ajanların asiklovirin farklı barsak segmentlerinden absorpsiyonu üzerine etkisini gösteren konsantrasyon-zaman profilleri (A) Grup 2 (%0.015 Sodyum lauril sülfat); (B) Grup 3 (%2 Sodyum kaprat); (C) Grup 4 (%1 Dimetil β -siklodekstrin); (D) Grup 5 (%0.1 Suda çözünen kitosan).

Farklı permeabilite artırıcı ajanların (sodyum lauril sülfat, sodyum kaprat, β -siklodekstrin, suda çözünen kitosan) asiklovir ve metoprolol tartaratin farklı barsak segmentlerinden (jejunum, ileum ve kolon) permeabilitesi üzerine etkisi Şekil 4.19.-4.21’de gösterilmiştir.

(A)

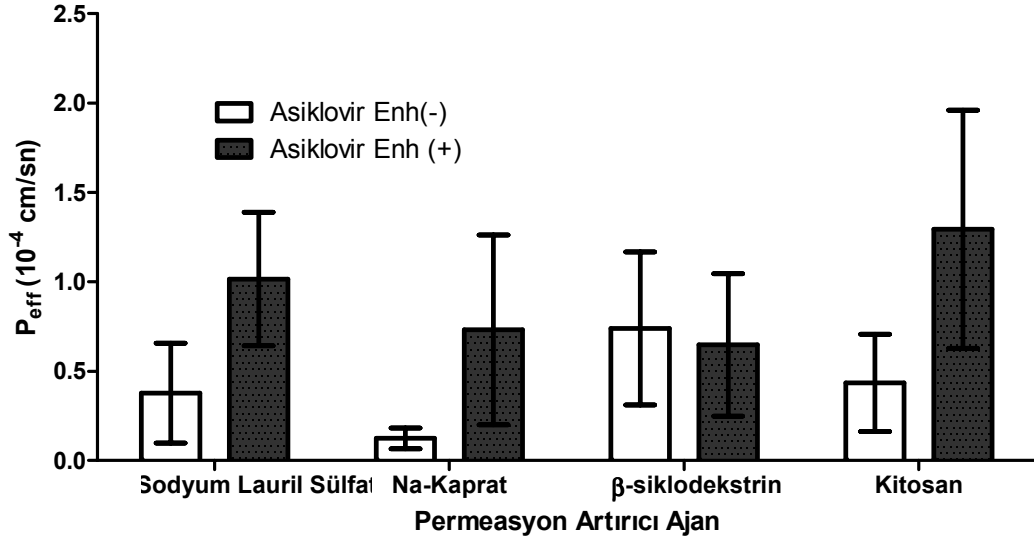


(B)

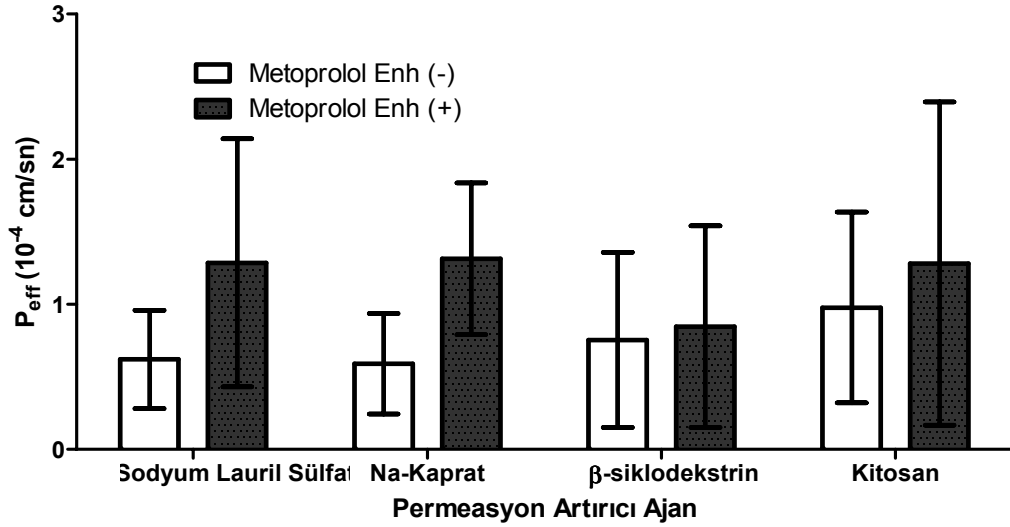


Şekil 4.19. Permeasyon artırıcı ajan içermeyen [Enh(-)] ve içeren [Enh(+)] ortamlarda asiklovir (A) ve metoprolol tartarat (B) için jejunumdan tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS, n= 6).

(A)

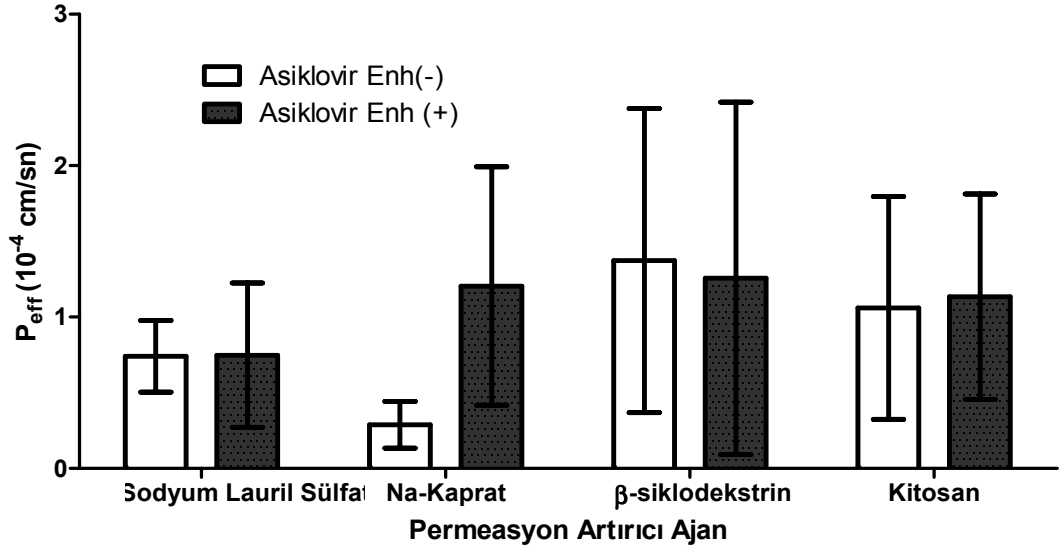


(B)

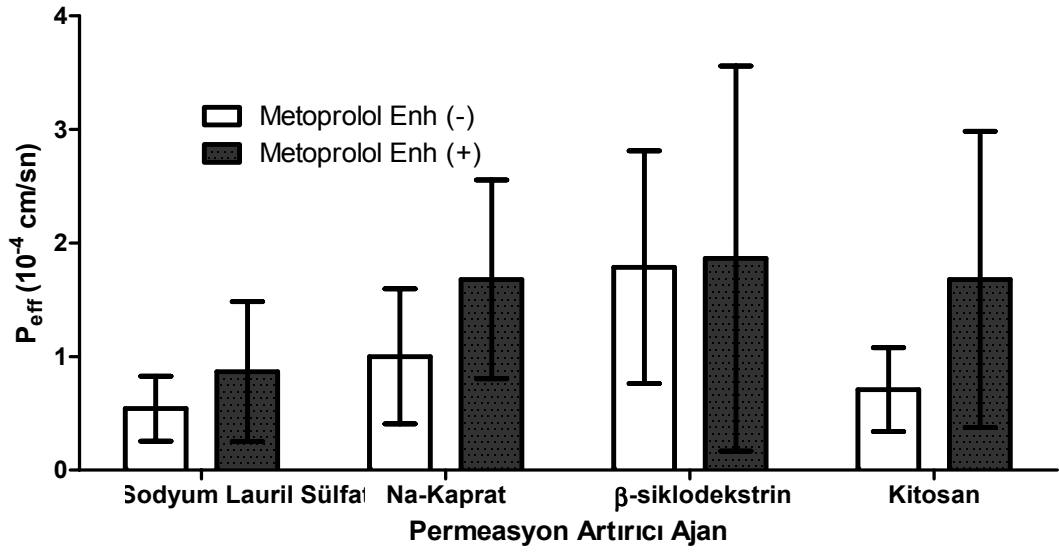


Şekil 4.20. Permeasyon artırıcı ajan içermeyen [Enh(-)] ve içeren [Enh(+)] ortamlarda asiklovir (A) ve metoprolol tartarat (B) için ileumdan tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS, n= 6).

(A)



(B)



Şekil 4.21. Permeasyon artırıcı ajan içermeyen [Enh(-)] ve içeren [Enh(+)] ortamlarda asiklovir (A) ve metoprolol tartarat (B) için kolondan tayin edilen P_{eff} değerleri (Ortalama \pm SS, n= 6).

4.3.4. Net Su Akışı Değerlerine Ait Bulgular

Kontrol ve deney gruplarında yapılan perfüzyon çalışmalarında intestinal segmente giren ve çıkan perfüzyon çözeltisi içerisindeki fenol kırmızısı konsantrasyonları belirlenerek net su akışı [net water flux (NWF)] değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen değerler Tablo 4.20’de özetlenmiştir.

Tablo 4.20. Kontrol ve deney gruplarında hesaplanan NWF değerleri ($\mu\text{L}/\text{dk}/\text{cm}$).

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Jejunum	-1.83±1.30	2.71±1.42	2.99±1.13	2.05±1.91	-1.93±1.24
İleum	-1.22±0.78	6.51±2.97	5.48±3.10	3.88±1.86	-3.99±1.96
Kolon	2.50±0.54	9.38±5.36	9.47±3.37	3.65±2.33	3.17±1.46

Grup 1: Kontrol grubu, Grup 2: Sodyum lauril sülfat grubu, Grup 3: Sodyum kaprat grubu, Grup 4: Dimetil β -siklodekstrin grubu, Grup 5: Suda çözünen kitosan grubu.

Net su akışı değerinin negatif çıkması mukozal bölgeden (lümen) serozal bölgeye (kan) sıvı kaybı olduğunu ifade etmektedir. Bu değer pozitif çıkması ise mukozal bölgeye sıvı girişi olduğunu ifade etmektedir. Buna göre kontrol grubu ve suda çözünen kitosan grubunda lümeden kana sıvı geçişi olduğu görülmektedir. Permeasyon artırıcı ajan olarak sodyum lauril sülfat, sodyum kaprat ve dimetil β -siklodekstrinin kullanıldığı gruplarda ise NWF değerleri pozitif bulunmuştur. Bu durum lümeneye sıvı girişi olduğunu göstermektedir.

5. TARTIŞMA

5.1. Analitik Yöntem ve Validasyonu

Analizi yapılacak olan bir maddenin biyolojik bir matris (kan, serum, idrar gibi) veya sentetik bir çözücü içinde bulunmasına bağlı olarak kullanılan analiz yöntemi; biyoanalitik ya da analitik yöntem olarak sınıflandırılır ve validasyon çalışmalarından elde edilen bulgular bu sınıflandırmaya göre değerlendirilir (138). Asiklovirin barsaklardan absorpsiyonunu incelemek amacıyla yapılan çalışmalarda kullanılan model (asiklovir) ve referans (metoprolol tartarat) maddelerin perfüzyon örneklerinden eş zamanlı olarak tayini HPLC yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca barsak segmentlerinde su dengesine ulaşma zamanını tayin etmek amacıyla kullanılan fenol kırmızısının miktar tayini de HPLC yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Özgüllük, kesinlik (gün içi ve günler arası kesinlik, cihaz ve yöntem kesinliği), doğrusallık, doğruluk ve duyarlılık (LOD ve LOQ) gibi validasyon çalışmalarından elde edilen bulgular HPLC yönteminin güvenle kullanılabilceğini göstermiştir.

5.2. Üçlü Barsak Perfüzyon Tekniği

Bir ilacın dahil olduğu permeabilite sınıfının tayin edilmesi amacıyla kütle-denge çalışmaları, mutlak biyoyararlanım çalışmaları veya intestinal perfüzyon çalışmaları kullanılmaktadır. İntestinal permeabilitenin tayini için barsak perfüzyonu, dokulardan permeasyon ve tek tabakalı epitel hücre kültüründe permeasyon çalışmalarının yapılması önerilmektedir (139).

Barsaklardan absorpsiyon ve permeabiliteyi incelemek amacıyla perfüzyon çözeltilisinin tek geçişli (single pass) (140, 141) veya sirkülasyonlu (recirculation) (142) olarak gerçekleştirildiği yöntemler mevcuttur. Bölümümüzde bu konuda yapılan ilk çalışmalarda trimetoprim/sülfometoksazol (143), furosemid ve naproksen sodyumun barsaklardan permeabilitelerini tayin etmek amacıyla lümeden kayıp esasına dayanan ve sadece jejunumun perfüze edildiği ve perfüzyon çözeltilisinin sirküle edildiği yöntem kullanılmıştır. Ancak bu yöntemin en büyük dezavantajı, zamanın fonksiyonu olarak perfüzyon çözeltilisinden eksilen kısım ölçüldüğü için,

absorpsiyonu düşük olan maddelerle çalışıldığında hatalı sonuçlara yol açabilmesidir(144).

Bu çalışmada model ilaç olarak seçilen asiklovirin barsaklardan absorpsiyonu üzerine permeasyon artırıcı ajanlar (sodyum lauril sülfat, sodyum kaprat, dimetil β -siklodekstrin, suda çözünen kitosan)'ın etkisini incelemek amacıyla lümen kayıp esasına dayanan ve üç farklı barsak segmenti (jejunum, ileum, kolon)'nin simultane olarak sirküle edilmeden perfüze edildiği *in situ single pass* perfüzyon tekniği kullanılmıştır (136). Bölümümüzde daha önce başarıyla uygulanan (132, 133) bu yöntemin seçilme nedenleri; cerrahi yöntemin kolay olması, farklı barsak segmentlerinin eş zamanlı olarak perfüzyonunun gerçekleştirilebilmesi ve *in vivo* koşullara yakın bir teknik olmasıdır. Yöntemin dezavantajları ise; perfüzyon çözeltisi sirküle edilmediği için daha fazla miktarlarda çözeltiye ihtiyaç duyulması, cerrahi işlem esnasında barsakların iyi temizlenememesi ve perfüze edilen segmentlerden kan sızıntısının olmasına bağlı olarak numunelerin lümen içeriği ile kontamine olmasıdır.

Perfüzyon deneylerinde deney hayvanı olarak dişi sıçanlar kullanılmıştır. Perfüzyon çözeltisi olarak nötr pH değerine sahip, izoozmotik bir çözelti olan Golytely çözeltisi kullanılmıştır (145). Kontrol grubunda ve ilk üç deney grubunda (sodyum lauril sülfat, sodyum kaprat, dimetil β -siklodekstrin) Golytely çözeltisinin pH değeri 7.4'e ayarlanmıştır. Ancak permeabilite artırıcı ajan olarak suda çözünen kitosan kullanıldığı çalışmalarda kitosanın suda çözünürlüğünün düşük olması ve pH'sı 7.4'e ayarlanmış perfüzyon çözeltisinde çökmesi nedeniyle literatür bilgilerinin ışığında Golytely çözeltisinin pH değerinin 6.2'ye ayarlanması gerekmiştir. Bu sayede suda çözünen kitosanın perfüzyon deneyleri süresince çözülmüş halde kalması sağlanmıştır (146, 147). Ayrıca perfüzyon çözeltisinde yer alan sodyum sülfat suda çözünen kitosanı çöktürdüğü için Golytely çözeltisinin ozmotik dengesi değişmeyecek şekilde içeriği değiştirilmiştir.

Perfüzyon çözeltisine ilave edilecek madde miktarları literatür verileri kullanılarak belirlenmiştir. Bu çalışmada model ilaç olarak kullanılan asiklovirin konsantrasyonu 45 $\mu\text{g/mL}$ olarak seçilmiştir. Asiklovirin barsaklardan absorpsiyonu ve permeabilitesinin değerlendirilmesinde referans madde olarak kullanılan metoprololün konsantrasyonu 20 $\mu\text{g/mL}$ olarak seçilmiştir (148). Perfüzyon

deneylerinde kullanılan permeasyon artırıcı ajanlardan sodyum lauril sülfat (%0.015), dimetil β -siklodekstrin (%1) ve suda çözünen kitosan (%0.1)'in konsantrasyonları Caco-2 ve MDCK hücre hatları kullanılarak yapılan hücre kültürü çalışmalarından faydalanılarak belirlenmiştir (93). Çalışmada kullanılan sodyum kaprat konsantrasyonu (%2) ise sodyum kapratın paraselüler yoldan ilaç absorpsiyonu üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmadan alınmıştır (74).

5.3. Asiklovirin Barsaklardan Paraselüler Absorpsiyonu ve Permeabilitesini İncelemek Amacıyla Yapılan Çalışmalar

Sistemik etki göstermesi beklenen ve oral yolla verilen bir ilacın gastrointestinal kanaldan absorpsiyonu transselüler (hücre içinden) veya paraselüler (hücreler arasından) yollardan çeşitli mekanizmalarla gerçekleşmektedir (pasif difüzyon, aktif transport, kolaylaştırılmış difüzyon gibi). Bu çalışmada model ilaç olarak seçilen asiklovir paraselüler yoldan pasif difüzyonla absorplanmaktadır (93). Paraselüler yolla absorplanan ilaçların gastrointestinal kanaldan absorpsiyonu enterositlerin apikal yüzeyinde bulunan sıkı kavşaklar tarafından kısıtlanmaktadır. Ancak bu sıkı kavşak bağlantılarının yapısal düzenlenmesiyle ilaçların intestinal permeabilitelerinin arttığı farklı çalışmalarla gösterilmiştir. İlaç formülasyonlarına eklenen birçok yardımcı madde bu sıkı kavşak bağlantılarında yapısal değişikliklere yol açmaktadır. Permeasyon artırıcılar olarak da bilinen bu maddeler formülasyona eklenerek paraselüler yolla absorplanan ilaçların absorpsiyon ve biyoyararlanımı artırılabilir. Bu çalışmada asiklovirin barsaklardan paraselüler absorpsiyonu ve permeabilitesi üzerine farklı permeasyon artırıcı ajanların (sodyum lauril sülfat, sodyum kaprat, dimetil β -siklodekstrin, suda çözünen kitosan) etkisi incelenmiştir. Asiklovirin permeabilitesini karşılaştırmak amacıyla BCS sınıf I'de yer alan metoprolol tartarat kullanılmıştır.

In vivo biyoyararlanım/biyoeşdeğerlik çalışmalarından vazgeçmede BCS kriterleri esas alınmaktadır. Bu sisteme göre ilaçlar çözünürlük ve permeabilite özelliklerine göre 4 sınıfa ayrılmaktadır (Sınıf I-Sınıf IV) . BCS'ye göre oral yolla verilen bir ilacın biyoeşdeğerlik çalışmalarından vazgeçmek için etkin maddenin yüksek çözünürlük ve yüksek permeabiliteye, ilaç ürünün ise yüksek çözünme hızına

sahip olması gerekmektedir. Bir etkin maddenin çözünürlüğünün yüksek olması demek en yüksek terapötik dozunun, 37°C de pH 1-8 (veya pH 1-7.5) aralığındaki üç tamponun (tercihen pH 1.0, 4.6, 6.8) herbirinin 250 ml'sinde çözünmesi demektir. Bir ilacın dahil olduğu permeabilite sınıfı, kütle-denge çalışmaları, mutlak biyoyararlanım çalışmaları veya intestinal perfüzyon çalışmaları yapılarak tayin edilebilir. İntestinal permeabilitenin tayini için barsak perfüzyonu (insan veya hayvanlarda), dokulardan permeasyon ve tek tabakalı epitel hücre kültüründe permeasyon çalışmalarının yapılması önerilmektedir. İntravenöz referans doza oranla absorpsiyon derecesinin %90'dan fazla olması durumunda etkin maddenin permeabilitesinin yüksek olduğu kabul edilir. Eğer ilaç ürünü belirtilen ortamlarda ilk 30 dk içerisinde %85'den fazla çözünüyor ise, hızlı çözünüyor olarak tanımlanmaktadır. Ancak çözünme hızı profillerinin benzerlik testi (f2) ile karşılaştırılması gerekmektedir. İlacın etiketinde bildirilen miktarın en az %85'inin 15 dakika içerisinde çözünmesi durumunda herhangi bir test yapılmadan çözünme hızı profilleri benzer kabul edilir. FDA sadece Sınıf I (yüksek çözünürlük ve yüksek permeabilite)'de yer alan ilaçlar için BCS'ye göre biyomuafiyeti kabul etmektedir. EMA ise hem Sınıf I hemde Sınıf III (yüksek çözünürlük ve düşük permeabilite)'de yer alan ilaçlar için biyomuafiyete izin vermektedir (149).

Gastrointestinal kanal fizyolojisi için oldukça önemli olan intestinal su akışı (intestinal water flux) ilaçların absorpsiyonunu etkileyen faktörler arasında yer almaktadır. Yapılan çalışmalarda paraselüler transportu incelemek amacıyla kullanılan küçük moleküllü referans maddelerin barsaklardan absorpsiyonlarının net su absorpsiyonuyla doğru orantılı bir şekilde arttığı ve bu referans maddelerin absorpsiyon derecesinin paraselüler yolla absorbe edilen suyun akışına bağlı olduğu gösterilmiştir (150). Perfüzyon sırasında su absorpsiyonu ve sekresyonu olması etkin maddenin permeabilitesinin hatalı olarak tayin edilmesine neden olabilmektedir. Bu nedenle barsak duvarından su akışını düzeltmek amacıyla barsaklardan absorplanmayan bir referans madde kullanılması gerekmektedir (148). Bu amaçla fenol kırmızısı yaygın olarak kullanılmakla birlikte literatürde hemoglobin (151) ve radyoaktif işaretli polietilen glikol'ün (152) kullanıldığı çalışmalar da mevcuttur. Fenol kırmızısı kullanılarak yapılan çalışmalarda, bu maddenin çıkış ve giriş konsantrasyonlarının oranının 1'e eşit olması barsak segmentlerinde su dengesine

ulaşma göstergesi olarak alınmıştır. Bu konuyla ilgili literatürdeki mevcut çalışmalar incelendiğinde su dengesine ulaşma süresi ile ilgili farklı bilgiler mevcuttur. Dahan ve Amidon farklı barsak segmentlerinde (proksimal jejunum, orta ince barsak ve distal ileum) su dengesine ulaşmak için 1 saat sürenin yeterli olduğunu belirtmiştir (153). Wagner ve diğerleri ise jejunum, ileum ve kolonda 30 dk içerisinde su dengesine ulaşıldığını varsayarak deneylerini gerçekleştirmişlerdir (136). Zakeri-Milani ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada ise fenol kırmızısının jejunumdaki çıkış ve giriş konsantrasyonlarının oranının yaklaşık 40 dk sonra 1'e eşit olduğu belirtilmiştir (137). Bölümümüzde daha önce gerçekleştirilen çalışmalarda her bir barsak segmentinde fenol kırmızısının kararlı duruma ulaşması zamanın fonksiyonu olarak incelenmiş ve bu süre jejunumda 20 dk, ileumda 15 dk, kolonda ise 30 dk olarak bulunmuştur (132, 133). Bizim çalışmamızda fenol kırmızısı asiklovir ve metoprolol tartarat ile birlikte perfüzyon çözeltisine eklenmiş ve perfüzyon deneyleri sonrası her bir barsak segmenti için fenol kırmızısı konsantrasyon oranları hesaplanmıştır. Bu oran Bölüm 3.2.4'te belirtildiği şekilde hem asiklovirin permeabilite değerinin hesaplanmasında kullanılan konsantrasyon oranını hem de net su akış değerlerini hesaplamak amacıyla kullanılmıştır. Bu çalışmada tayin edilen net su akışı değerleri kontrol ve suda çözünen kitosan gruplarında lümeden kana doğru sıvı geçişi olduğunu, sodyum lauril sülfat, sodyum kaprat ve dimetil β -siklodekstrin kullanılan gruplarda ise lümen sıvı girişi olduğunu göstermektedir. Bu konuyla ilgili literatür çalışmaları (137, 148) incelendiğinde hem negatif (lümeden kana sıvı geçişi; ör metoprolol için $-8 \mu\text{L}/\text{sa}/\text{cm}$) hem de pozitif (kandan lümen sıvı geçişi; ör propranolol için $28 \mu\text{L}/\text{sa}/\text{cm}$) NWF değerleri mevcuttur. Stabil su akışının olması intestinal bariyer fonksiyonunun korunmuş olduğunu göstergesi olarak da alınmıştır (143).

5.3.1. Kontrol Grubuna Ait Bulgular

Bu grup kapsamında gerçekleştirilen perfüzyon deneylerinde herhangi bir permeabilite artırıcı ajan kullanılmamıştır, ancak perfüzyon ortamına referans madde olarak fenol kırmızısı ve metoprolol tartarat eklenmiştir.

Asiklovir için farklı barsak segmentlerinden tayin edilen permeabilite değerleri (jejunum: $0.46 \pm 0.29 \times 10^{-4}$ cm/sn; ileum: $1.27 \pm 0.80 \times 10^{-4}$ cm/sn; kolon: $1.83 \pm 0.68 \times 10^{-4}$ cm/sn) asiklovirin barsaklardan absorpsiyonunun en yüksek olduğu segmentin kolon ve en düşük olduğu segmentin ise jejunum olduğunu göstermiştir (Bkz. Tablo 4.15). Her bir segment için tayin edilen permeabilite değerleri karşılaştırıldığında jejunum- ileum ($p=0.0169$) ve jejunum-kolon ($p=0.0037$) arasındaki farkın anlamlı olduğu, ileum-kolon arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur ($p=0.259$).

Asiklovir BCS'ye göre (119, 145) ve 400 mg'a kadar olan dozlarda (110) Sınıf III'de (yüksek çözünürlük, düşük permeabilite) yer almakla birlikte daha yüksek dozlarda (800 mg) Sınıf IV'de (düşük çözünürlük, düşük permeabilite) yer almaktadır (110). Literatürde asiklovirin permeabilitesinin farklı yöntemler (PAMPA, hücre kültürü, barsak perfüzyonu) kullanılarak incelendiği çalışmalar mevcuttur. PAMPA (parallel artificial membrane permeability assay) ile yapılan çalışmalarda asiklovirin permeabilitesi oldukça düşük bulunmuştur (0.0841×10^{-6} cm/sn; (155)). Asiklovirin Caco-2 hücre hattı kullanılarak tayin edilen permeabilite değerleri ise 1.19×10^{-5} cm/sn (11) ile $0.12 - 2.0 \times 10^{-6}$ cm/sn (156, 157) arasında değişmektedir. MDCK hücreleri kullanılarak tayin edilen permeabilite değeri (0.533×10^{-6} cm/sn; 93) Caco-2 hücreleri kullanılarak tayin edilen permeabilite değerine oldukça benzerdir. Barsak perfüzyonu çalışmalarında ise asiklovirin permeabilitesi ileumda $0.07 \pm 0.02 \times 10^{-4}$ cm/sn (158), duodenumda $2.49 \pm 0.44 \times 10^{-5}$ cm/sn ve jejunumda $0.64 \pm 0.03 \times 10^{-5}$ cm/sn olarak bulunmuştur (159). Bizim çalışmamızda tayin edilen asiklovir permeabilite değerleri literatürdeki mevcut permeabilite değerlerine göre daha yüksek bulunmuştur. Aradaki bu farkın kullanılan yöntem, perfüzyon ortamının farklı olmasına, deney hayvanlarının cinsiyetine ve genetik/fizyolojik bir takım farklılıklara bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Metoprolol tartaratin permeabilitesi jejunumdan ($0.83 \pm 0.37 \times 10^{-4}$ cm/s) kolona ($3.17 \pm 1.20 \times 10^{-4}$ cm/sn) doğru artış göstermiştir (Bkz Tablo 4.15). Her bir segment için tayin edilen permeabilite değerleri karşılaştırıldığında tüm segmentler (jejunum-ileum, jejunum-kolon ve ileum-kolon) arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$).

Bölümümüzde iki farklı perfüzyon ortamı (HBSS: Hank's dengeli tuz çözeltisi: ve Golytely) kullanılarak gerçekleştirilen barsak perfüzyonu çalışmalarında metoprolol tartarat referans madde olarak kullanılmıştır. Perfüzyon ortamı olarak HBSS kullanıldığında metoprolol tartaratın permeabilite değerleri segmentler arasında farklılık gösterirken (jejunum, ileum, kolon için sırasıyla $1.37, 4.83, 3.27 \times 10^{-5}$ cm/sn), Golytely çözeltisi kullanıldığında tüm segmentler için hemen hemen aynı permeabilite değerleri (jejunum, ileum, kolon için sırasıyla $2.90, 2.71, 2.91 \times 10^{-5}$ cm/sn) bulunmuştur (133). Literatürde metoprolol tartarat için verilen permeabilite değerleri incelendiğinde, PAMPA'dan tayin edilen permeabilite değerinin ($1.53 \pm 0.05 \times 10^{-6}$ cm/sn) oldukça düşük olduğu gözlenmiştir (155). Caco-2 (4.0×10^{-5} cm/sn; (155) ve barsak perfüzyonu çalışmalarından tayin edilen permeabilite değerleri ($2.0 \times 10^{-5} - 3.3 \times 10^{-5}$ cm/sn (135, 137, 148) benzer bulunmuştur. Bizim çalışmamızda tayin edilen permeabilite değerleri literatürde verilen değerlerden daha yüksek olmakla birlikte bölümümüzde daha önce yapılmış olan perfüzyon çalışmalarından elde edilen sonuçlarla uyum içerisindedir.

Metoprolol tartarat bir ilacın permeabilite sınıfını tayin etmek amacıyla referans madde olarak kullanılmaktadır ve permeabilitesi metoprolol tartarattan daha düşük olan ilaçların düşük permeabiliteye sahip olduğu kabul edilmektedir (135). Ayrıca logP değeri metoprololün logP değerinden (1.72) daha yüksek olan maddelerin permeabilitesinin yüksek olduğu kabul edilmektedir (111). Bu çalışmada asiklovir ve metoprolol tartarat için tayin edilen bu permeabilite değerleri, her bir segment için ayrı ayrı değerlendirildiğinde asiklovirin permeabilitesinin her üç segmentte de (jejunum, ileum, kolon) metoprolol tartarattan daha düşük olduğu bulunmuştur. İlave olarak asiklovirin logP değeri (25°C'de -1.8) metoprololün logP değerinden daha düşüktür. Tüm bu veriler asiklovirin düşük permeabiliteye sahip olduğunu göstermektedir.

5.3.2. Deney Gruplarına Ait Bulgular

Asiklovirin farklı barsak segmentlerinden (jejunum, ileum ve kolon) parselüler absorpsiyonu ve permeabilitesi üzerine permeasyon artırıcı ajanların

etkisini incelemek amacıyla yapılan çalışmalar dört grup altında (sodyum lauril sülfat, sodyum kaprat, dimetil β -siklodekstrin, suda çözünen kitosan) incelenmiştir.

Jejunum: Sodyum lauril sülfat (SLS)'in permeabilite artırıcı ajan olarak kullanıldığı perfüzyon çalışmaları sonucunda asiklovire ait P_{eff} değerlerinde 1.76 katlık bir artış (SLS bulunmayan ortamda $P_{eff} : 0.25 \pm 0.20 \times 10^{-4}$ cm/sn, SLS bulunan ortamda $P_{eff} : 0.44 \pm 0.30 \times 10^{-4}$ cm/sn) gözlenmiştir. Ancak P_{eff} değerleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.144$). Sodyum kaprat kullanılan perfüzyon çalışmalarında ise asiklovirin P_{eff} değerlerinde 6.71 katlık bir artış olmakla birlikte (sodyum kaprat bulunmayan ortamda $P_{eff} : 0.07 \pm 0.04 \times 10^{-4}$ cm/sn, sodyum kaprat bulunan ortamda $P_{eff} : 0.47 \pm 0.35 \times 10^{-4}$ cm/sn) P_{eff} değerleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.109$). Suda çözünen kitosanın permeabilite artırıcı ajan olarak kullanıldığı çalışmalarda da asiklovire ait P_{eff} değerleri yaklaşık 2 kat artmakla birlikte (kitosan bulunmayan ortamda $P_{eff} : 0.51 \pm 0.38 \times 10^{-4}$ cm/sn, kitosan bulunan ortamda $P_{eff} : 1.03 \pm 0.78 \times 10^{-4}$ cm/sn) aradaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p=0.080$). Diğer permeabilite artırıcı ajanlardan farklı olarak dimetil β -siklodekstrin (DMC)'in kullanıldığı çalışmalarda asiklovirin permeabilite değerlerinde bir azalma gözlenmiş (DMC bulunmayan ortamda $P_{eff} : 0.54 \pm 0.29 \times 10^{-4}$ cm/sn, DMC bulunan ortamda $P_{eff} : 0.29 \pm 0.21 \times 10^{-4}$ cm/sn) ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.273$). Deney gruplarında permeasyon artırıcı ajanlar varlığında hesaplanan P_{eff} değerleri karşılaştırıldığında, asiklovirin permeabilitesini en fazla artıran ajan sodyum kaprat iken, en az artış sağlayan ajan sodyum lauril sülfat olarak belirlenmiştir. DMC ise asiklovirde herhangi bir permeabilite artışına yol açmamıştır.

Farklı permeabilite artırıcı ajanlar kullanılarak yapılan çalışmalarda metoprolol tartarat için jejunumdan elde edilen permeabilite değerleri incelendiğinde, metoprolol tartaratın permeabilite değerleri SLS, (SLS bulunmayan ortamda $P_{eff} : 0.36 \pm 0.17 \times 10^{-4}$ cm/sn, SLS bulunan ortamda $P_{eff} : 0.65 \pm 0.49 \times 10^{-4}$ cm/sn), sodyum kaprat (sodyum kaprat bulunmayan ortamda $P_{eff} : 0.25 \pm 0.18 \times 10^{-4}$ cm/sn, sodyum kaprat bulunan ortamda $P_{eff} : 0.78 \pm 0.39 \times 10^{-4}$ cm/sn) ve suda çözünen kitosan (kitosan bulunmayan ortamda $P_{eff} : 0.70 \pm 0.35 \times 10^{-4}$ cm/sn, kitosan bulunan ortamda $P_{eff} : 0.86 \pm 0.57 \times 10^{-4}$ cm/sn) varlığında sırasıyla 1.81, 3.12 ve 1.23 katlık

artışlar göstermiş ancak permeabilite değerlerindeki bu artışlar SLS ve kitosan için istatistiksel olarak anlamsız iken ($p>0.05$) sodyum kaprat için bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.028$). DMC kullanılarak gerçekleştirilen perfüzyon çalışmalarında ise metoprolol tartarataın permeabilite değeri azalmakla birlikte (DMC bulunmayan ortamda $P_{eff} : 0.59 \pm 0.42 \times 10^{-4}$ cm/sn, DMC bulunan ortamda $P_{eff} : 0.37 \pm 0.20 \times 10^{-4}$ cm/sn) P_{eff} değerleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.500$). Permeasyon artırıcı ajanlar varlığında yapılan perfüzyon deneylerinden elde edilen metoprolol tartarata ait P_{eff} değerleri kıyaslandığında, P_{eff} değerlerinde en fazla artış sodyum kaprat varlığında gözlenirken, en az artış suda çözünen kitosan varlığında gözlenmiştir. DMC varlığında ise herhangi bir artış gözlenmemiştir.

İleum: Sodyum lauril sülfat (SLS) kullanılarak yapılan perfüzyon deneylerinde asiklovirin ileumdan permeabilitesinde 2.68 katlık bir artış (SLS bulunmayan ortamda $P_{eff} : 0.38 \pm 0.28 \times 10^{-4}$ cm/sn, SLS bulunan ortamda $P_{eff} : 1.02 \pm 0.37 \times 10^{-4}$ cm/sn) gözlenmiş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.043$). Sodyum kapratın permeabilite artırıcı ajan olarak kullanıldığı çalışmalarda asiklovirin ileumdan permeabilitesinde 6.83 katlık bir artış (sodyum kaprat bulunmayan ortamda $P_{eff} : 0.12 \pm 0.06 \times 10^{-4}$ cm/sn, sodyum kaprat bulunan ortamda $P_{eff} : 0.82 \pm 0.54 \times 10^{-4}$ cm/sn) olmakla birlikte P_{eff} değerleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.068$). Suda çözünen kitosan kullanılarak yapılan çalışmalarda ise asiklovirin ileumdan permeabilitesinde (kitosan bulunmayan ortamda $P_{eff} : 0.43 \pm 0.27 \times 10^{-4}$ cm/sn, kitosan bulunan ortamda $P_{eff} : 1.29 \pm 0.67 \times 10^{-4}$ cm/sn) anlamlı derecede bir artma gözlenmiştir ($p=0.043$). Diğer taraftan dimetil β -siklodekstrin (DMC) perfüzyon ortamına eklendiğinde asiklovirin permeabilitesinde (DMC bulunmayan ortamda $P_{eff} : 0.74 \pm 0.43 \times 10^{-4}$ cm/sn, DMC bulunan ortamda $P_{eff} : 0.65 \pm 0.40 \times 10^{-4}$ cm/sn) azda olsa bir azalma gözlenmiş ancak P_{eff} değerleri arasındaki bu fark önemli bulunmamıştır ($p=0.465$). Permeasyon artırıcı ajanlar varlığında hesaplanan P_{eff} değerleri karşılaştırıldığında, asiklovirin permeabilitesini en fazla artıran ajan sodyum kaprat iken, en az artış sağlayan ajan SLS olarak belirlenmiştir. DMC ise asiklovirde herhangi bir permeabilite artışına yol açmamıştır.

Farklı permeabilite artırıcı ajanlar kullanılarak yapılan çalışmalarda metoprolol tartarat için ileumdan elde edilen permeabilite değerleri incelendiğinde, metoprolol tartaratın permeabilite değerleri SLS (SLS bulunmayan ortamda $P_{\text{eff}} : 0.62 \pm 0.34 \times 10^{-4}$ cm/sn, SLS bulunan ortamda $P_{\text{eff}} : 1.29 \pm 0.85 \times 10^{-4}$ cm/sn) ve suda çözünen kitosan (kitosan bulunmayan ortamda $P_{\text{eff}} : 0.98 \pm 0.66 \times 10^{-4}$ cm/sn, kitosan bulunan ortamda $P_{\text{eff}} : 1.28 \pm 1.11 \times 10^{-4}$ cm/sn) varlığında sırasıyla 2.08 ve 1.31 kat artmış ancak P_{eff} değerleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$). Sodyum kapratın perfüzyon ortamına eklenmesiyle metoprolol tartaratın ileumdan permeabilitesinde (sodyum kaprat bulunmayan ortamda ($P_{\text{eff}} : 0.59 \pm 0.35 \times 10^{-4}$ cm/sn, sodyum kaprat bulunan ortamda $P_{\text{eff}} : 1.31 \pm 0.52 \times 10^{-4}$ cm/sn) önemli oranda bir artma gözlenmiştir ($p = 0.043$). DMC kullanılarak gerçekleştirilen perfüzyon çalışmalarında ise metoprolol tartaratın permeabilite değeri artmasına rağmen (DMC bulunmayan ortamda $P_{\text{eff}} : 0.76 \pm 0.60 \times 10^{-4}$ cm/sn, DMC bulunan ortamda $P_{\text{eff}} : 0.85 \pm 0.70 \times 10^{-4}$ cm/sn) P_{eff} değerleri arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p = 0.686$). Metoprolol tartaratın permeasyon artırıcı ajanlar varlığında hesaplanan P_{eff} değerlerindeki artış oranı sodyum kaprat > SLS > suda çözünen kitosan > DMC şeklinde sıralanmaktadır.

Kolon: Sodyum lauril sülfat (SLS)'in perfüzyon ortamına eklendiği çalışmalarda asiklovirin kolondan permeabilitesinde (SLS bulunmayan ortamda $P_{\text{eff}} : 0.74 \pm 0.24 \times 10^{-4}$ cm/sn, SLS bulunan ortamda $P_{\text{eff}} : 0.75 \pm 0.48 \times 10^{-4}$ cm/sn) herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir ($p = 0.285$). Perfüzyon ortamına suda çözünen kitosan ilave edildiğinde de asiklovirin kolondan permeabilitesinde (kitosan bulunmayan ortamda $P_{\text{eff}} : 1.06 \pm 0.74 \times 10^{-4}$ cm/sn, kitosan bulunan ortamda $P_{\text{eff}} : 1.13 \pm 0.68 \times 10^{-4}$ cm/sn) önemli oranda bir artma bulunmamıştır ($p = 0.893$). Perfüzyon ortamına sodyum kaprat ilave edildiğinde asiklovirin permeabilitesi (sodyum kaprat bulunmayan ortamda $P_{\text{eff}} : 0.29 \pm 0.16 \times 10^{-4}$ cm/sn, sodyum kaprat bulunan ortamda $P_{\text{eff}} : 1.20 \pm 0.79 \times 10^{-4}$ cm/sn; 4.14 katlık artış) 4.14 katlık bir artış göstermiştir ($p = 0.080$). Diğer taraftan dimetil β -siklodekstrin (DMC) ilavesiyle asiklovirin permeabilitesi azda olsa azalmış (DMC bulunmayan ortamda $P_{\text{eff}} : 1.37 \pm 1.00 \times 10^{-4}$ cm/sn, DMC bulunan ortamda $P_{\text{eff}} : 1.26 \pm 1.16 \times 10^{-4}$ cm/sn) ancak bu azalma istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p = 0.715$). Permeasyon artırıcı

ajanlar varlığında hesaplanan P_{eff} değerleri karşılaştırıldığında, asiklovirin permeabilitesini en fazla artıran ajan sodyum kaprat iken, en az artış sağlayan ajan SLS olarak belirlenmiştir. DMC ise asiklovirde herhangi bir permeabilite artışına yol açmamıştır.

Metoprolol tartaratin kolondan permeabilitesi üzerine farklı permeabilite ajanlarının etkilerinin incelendiği çalışmalarda, sodyum lauril sülfat (SLS bulunmayan ortamda P_{eff} : $0.54 \pm 0.29 \times 10^{-4}$ cm/sn, SLS bulunan ortamda P_{eff} : $0.87 \pm 0.62 \times 10^{-4}$ cm/sn) ve suda çözünen kitosan (kitosan bulunmayan ortamda P_{eff} : $0.71 \pm 0.37 \times 10^{-4}$ cm/sn, kitosan bulunan ortamda $(1.68 \pm 1.30 \times 10^{-4}$ cm/sn) permeabilitede sırasıyla 1.61 ve 2.37 katlık artışa neden olmuş ancak bu artışlar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$). Perfüzyon ortamına sodyum kaprat ilave edildiğinde metoprolol tartaratin kolondan permeabilitesi (sodyum kaprat bulunmayan ortamda P_{eff} : $1.00 \pm 0.60 \times 10^{-4}$ cm/sn, sodyum kaprat bulunan ortamda P_{eff} : $1.68 \pm 0.87 \times 10^{-4}$ cm/sn) 1.68 kat artmıştır ($p = 0.068$). Diğer taraftan dimetil β -siklodekstrin (DMC) ilave edildiğinde metoprolol tartaratin kolondan permeabilite değerleri (DMC bulunmayan ortamda P_{eff} : $1.79 \pm 1.02 \times 10^{-4}$ cm/sn, DMC bulunan ortamda P_{eff} : $1.86 \pm 1.70 \times 10^{-4}$ cm/sn) arasında istatistiksel açıdan fark bulunmamıştır ($p = 1.00$). Metoprolol tartaratin permeasyon artırıcı ajanlar varlığında hesaplanan P_{eff} değerlerindeki artış oranı suda çözünen kitosan > sodyum kaprat > SLS > DMC şeklinde sıralanmaktadır.

Deney gruplarında yapılan çalışmalardan elde edilen permeabilite değerleri incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bulunan dört sonuç elde edilmiştir. Fark bulunan sonuçlardan ikisi sodyum kaprat grubu, biri sodyum lauril sülfat ve bir diğeri de suda çözünen kitosan grubuna aittir. Sodyum kaprat metoprolol tartaratin jejunum ve ileumdan absorpsiyonunu önemli derecede artırmıştır. Perfüzyon çözeltisine sodyum lauril sülfat ya da suda çözünen kitosan ilave edildiğinde ise asiklovirin sadece ileumdan absorpsiyonunda önemli oranda bir artma gözlenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde bazı gruplarda permeasyon artırıcı ajanlar varlığında P_{eff} değerleri artmakla birlikte bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bunun nedeninin kullanılan denek sayısının ($n=6$) yetersiz olması ve/veya *in vivo* çalışmalarda sık rastlanan denekler arası değişkenliğin fazla olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ayrıca çalışmada kullanılan bazı permeasyon

artırıcı ajanların konsantrasyonlarının (SLS: %0.015 ve suda çözünen kitosan: %0.1) düşük olmasına da bağlanabilir. Bu permeabilite artırıcı ajanların konsantrasyonları hücre kültürü çalışmaları esas alınarak seçilmiştir. Ayrıca suda çözünen kitosanın çözünürlüğünün düşük olması (146) ve SLS'nin yüksek konsantrasyonlarda epitel hücrelere hasar vermesi de (160) göz önünde bulundurulmuştur. Ancak seçilen bu konsantrasyonlar hücre hatlarında önemli oranda permeabilite artışına neden olurken bizim çalışmamızda önemli derecede artışlar gözlenmemiştir. Bu bulgular seçilen SLS ve suda çözünen kitosan konsantrasyonlarının barsak perfüzyonu çalışmaları için yeterli olmayabileceğini işaret etmektedir.

Literatürde suda çözünen kitosan, sodyum lauril sülfat, sodyum kaprat, dimetil β -siklodekstrinin asiklovirin permeabilitesi üzerine etkisinin araştırıldığı bir perfüzyon çalışması bulunmamaktadır. Ancak bu maddelerin (veya türevlerinin) kullanıldığı çeşitli in vitro çalışmalar mevcuttur. Asiklovirin Caco-2 hücrelerinden permeabilitesi üzerine kitosan glutamatın (%1) etkisinin incelendiği bir çalışmada permeabilite değeri 4.1 kat artmıştır (161). Tiyol grupları ile konjuge edilmiş farklı kitosan polimerleri Caco-2 hücre hattında asiklovirin permeabilite değerini ($9.09 \pm 1.21 \times 10^{-6}$ cm/sn) molekül büyüklüklerine göre 1.6-2.8 kat artırmıştır (162). Pentoksifilin biyoyararlanımında gözlenen artış kitosanın oral biyoyararlanımı artırmak amacıyla kullanılabileceğini göstermiştir (163).

Asiklovirin piyasa tabletleri ile SLS içeren mukoadhezif tabletlerin *everted sac* tekniği ile kıyaslandığı bir çalışmada asiklovirin permeabilite değeri piyasa tableti için 0.78×10^{-9} cm/sn bulunurken, %4 SLS içeren mukoadhezif tablette 5.23×10^{-9} cm/sn bulunmuştur (89). Ayrıca, asiklovirin Caco-2 hücrelerinden permeabilitesi SLS varlığında 1.27 kat artmıştır (91).

Bu çalışmadan elde edilen bulgular dimetil β -siklodekstrinin asiklovirin permeabilitesi üzerine permeabilite artırıcı etkisinin bulunmadığını göstermektedir. Perfüzyon ortamına dimetil β -siklodekstrin ilave edildiğinde permeabilite değerlerinde gözlenen azalmanın dimetil β -siklodekstrin ile asiklovir arasında moleküler kompleks oluşturmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Zheng ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada β -siklodekstrin ve suda çözünen türevlerinin propranololün sıçan intestinal epitelinden permeabilitesi üzerine etkisi *Ussing chamber* yöntemi kullanılarak incelenmiştir. β -siklodekstrin (%1) ve hidrokispropil-

β -siklodekstrin (%1) uygulandığında propranololün P_{app} değerlerinde herhangi bir etki gözlenmezken, %1.48 sülfobütületer- β -siklodekstrin uygulandığında propranololün P_{app} değerlerinde azalma olduğu ve bu azalmanın sülfobütületer- β -siklodekstrin ile propranolol arasındaki moleküler kompleksden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (164). Bu sonuçlar bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz bulguları destekler niteliktedir.

Çalışmamızdan elde edilen veriler istatistiksel açıdan önemli bulunmamakla birlikte sodyum kapratın paraselüler yoldan absoplanan asiklovir üzerine permeabilite artırıcı etkisinin diğer permeasyon artırıcı ajanlara (SLS, dimetil β -siklodekstrin, suda çözünen kitosan) göre daha yüksek olduğunu göstermektedir. İnsülinin sıçan barsaklarından absorpsiyonunu artırmak için farklı permeasyon artırıcıların kullanıldığı bir çalışmada sodyum kapratın intestinal hasara yol açmadan permeabiliteyi artırdığı ve kolon membranında jejunal membrana oranla daha etkili olduğu bulunmuştur (165). Ancak sodyum kapratın asiklovirin permeabilitesi üzerine etkisininin gösterildiği in vivo ve in vitro başka bir çalışma bulunmamaktadır.

Shah ve diğerlerinin yaptığı çalışmada asiklovirin Caco-2 ve MDCK hücrelerinden permeabilitesi üzerine kitosan (%0.1, 0.3, 0.5), sodyum lauril sülfat (%0.009, 0.012, 0.015) ve dimetil β -siklodekstrinin (%1, 3, 5) etkisi incelenmiştir (93). Tüm gruplarda asiklovirin Caco-2 hücrelerindeki permeabilitesinin MDCK hücrelerine göre daha düşük olduğu, ve permeasyon artırıcı ajanlar kullanıldığında asiklovirin permeabilitesinin kontrol grubuna göre önemli oranda arttığı bulunmuştur. Permeasyon artırıcı ajanların kombine halde kullanılmasıyla (ör. kitosan+ SLS; dimetil β -siklodekstrinin +SLS; dimetil β -siklodekstrinin + kitosan) sinerjistik etkiye bağlı olarak permeabilitede daha yüksek oranda artış gözlenmiştir. Bu permeasyon artırıcıların oral formülasyonlarda asiklovirle birlikte verilmesiyle absorpsiyon ve biyoyararlanımın iyileştirilebileceği belirtilmiştir. Literatürde asiklovirin kitosan, sodyum lauril sülfat, sodyum kaprat ve dimetil β -siklodekstrin varlığında absorpsiyonunun değerlendirildiği intestinal perfüzyon çalışması bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda bu permeasyon artırıcıların asiklovir permeabilitesi üzerine etkisi intestinal perfüzyon çalışması ile incelenmiş ancak hücre hatlarında gözlenen artış elde edilememiştir. Bu farkın kullanılan deneysel yöntemle bağlı olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar sodyum kapratın permeasyon artırıcı etkisinin suda çözünen kitosan, sodyum lauril sülfata göre daha yüksek olduğunu göstermektedir. Dimetil β -siklodekstrinin permabilite üzerine bir etkisi gözlenmemiştir. Paraselüler yoldan absorplanan ve oral biyoyararlanımı düşük olan ilaçların absorpsiyon ve biyoyararlanımları uygun konsantrasyonda uygun bir permeasyon artırıcı ajan(lar) kullanılarak artırılabilir.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda sıralanmıştır:

1. Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BSS) ne göre Sınıf I'de yer alan metoprolol tartarat referans olarak kullanıldığında seçilen model ilacın (asiklovir) permeabilitesinin düşük olduğu tayin edilmiştir.
2. Model ilaç (asiklovir) ve referans ilaç (metoprolol tartarat) permeabilitesinin barsak segmentlerindeki absorpsiyonlarının jejunum, ileum ve kolon sırasına göre arttığı belirlenmiştir.
3. Asiklovirin barsaklardan absorpsiyonu ve permeabilitesini incelemek amacıyla farklı permeasyon artırıcılar perfüzyon çözeltisine eklenerek etkileri değerlendirilmiştir. Sodyum lauril sülfat kullanılan çalışmalarda permeabilite değerlerinde jejunum (1.76 kat), ileum (2.68 kat) ve kolonda (1.01 kat) artış gözlenmiştir. İleumda tayin edilen P_{eff} değeri artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.
4. Sodyum kaprat kullanılan çalışmalarda permeabilite değerlerinde jejunum (6.71 kat), ileum (6.83 kat) ve kolonda (4.14 kat) artış gözlenmiştir. Ancak P_{eff} değerlerindeki bu artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.
5. Dimetil β -siklodekstrin kullanılan çalışmalarda permeabilite değerlerinde jejunum, ileum ve kolonda azalma gözlenmiştir. Ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.
6. Suda çözünen kitosan kullanılan çalışmalarda permeabilite değerlerinde jejunum (2.02 kat), ileum (3 kat) ve kolonda (1.07 kat) artış gözlenmiştir. İleumda tayin edilen P_{eff} değeri artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Bu çalışmadan elde edilen bulgular paraselüler yolla absorplanan ilaçların absorpsiyon ve biyoyararlanımlarını artırmada permeasyon artırıcı ajanların (kitosan, sodyum kaprat ve sodyum lauril sülfatın) etkili olabileceğini kanıtlar niteliktedir. Permeasyon artırıcı ajanların etkinliğini incelemek amacıyla ileride yapılacak çalışmalarda en uygun konsantrasyonu tayin etmek amacıyla bu maddelerin farklı konsantrasyonları kullanılabilir. Ayrıca bu permeasyon artırıcı ajanların kombine halde kullanılmasıyla (ör. sodyum kaprat ve kitosan) etkinin sinerjistik olarak artıp artmadığı da incelenebilir. Böylece paraselüler yoldan absorplanan ve oral

biyoyararlanımı düşük olan ilaçların absorpsiyon ve biyoyararlanımları uygun konsantrasyonda uygun bir permeasyon artırıcı ajan (lar) veya kombinasyonlarını kullanarak artırmak mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Kayaalp, S.O. (1987). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, (s. 34-36). Ankara: Toraman ve Ulucan Matbaası.
2. Martinez, M.N., Amidon, G.L. (2002). A Mechanistic Approach to Understanding the Factors Affecting Drug Absorption: A Review of Fundamentals. *Journal of Clinical Pharmacology*, 42, 620-643.
3. Shargel, L., Yu, A.B.C. (1993). *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*, (s. 111-118). London: Prentice-Hall International Editions.
4. Bajaj, H., Bisht, S., Yadav, M., Singh, V. (2011). Bioavailability Enhancement: A Review. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2, 202-216.
5. Widmaier, E.P., Raff, H., Strang, K.T. (2003). *Vander et al's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function*. The McGraw-Hill Companies.
6. Gastrointestinal kanal ve pH değerleri. Erişim: 15 Ağustos 2013, http://www.nature.com/nrgastro/journal/v9/n10/fig_tab/nrgastro.2012.161_F1.html
7. Washington, N., Washington, C., Wilson, C.G. (2001). *Physiological Pharmaceutics: Barrier to Drug Absorption*. (2. bs.). New York: Taylor and Francis, Cornwall.
8. Selen, A. (1991). Factors Influencing Bioavailability and Bioequivalence, Bioequivalence and Therapeutic Bioequivalence. J. Swarbrick. (Ed.). *Pharmaceutical Bioequivalence* (s. 117-148). New York: Marcel Dekker.
9. Dipiro, J.T. (2003). *Encyclopedia of Clinical Pharmacy*, (s. 82-102). New York: Marcel Dekker Inc.
10. Venkatesvarlu, V. (2008). *Biopharmaceutics and Pharmacokinetics* (s. 6). Hyderabad: Global Media.
11. Petri N. (2005). *Involvement of Membrane Transport Proteins in Intestinal Absorption and Hepatic Disposition of Drugs Using Fexofenadine as a Model Drug*. Doktora Tezi, Uppsala Üniversitesi, Uppsala.
12. Hunter, J., Hirst, B.H. (1997). Intestinal Secretion of Drugs. The Role of P-glycoprotein and Related Drug Efflux Systems in Limiting Oral Drug Absorption. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 25, 129-157.

13. Lobenberg, R., Amidon, G.L. (2000). Modern Bioavailability, Bioequivalence and Biopharmaceutics Classification System. New Scientific Approaches to International Regulatory Standards. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, 3-12.
14. Hillgren, K.M., Kato, A., Borchardt, R.T. (1995). In Vitro Systems for Studying Intestinal Drug Absorption. *Medicinal Research Reviews*, 15, 83-109.
15. Kararli, T.T. (1989). Gastrointestinal Absorption of Drugs. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 6, 39-86.
16. Abdou, H.M. (1989). *Dissolution, Bioavailability and Bioequivalence*. Pennsylvania: Mack Publishing Company.
17. Rowland, M., Tozer, T.N. (2011). *Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
18. Salama, N.N., Eddington, N.D., Fasano, A. (2006). Tight Junction Modulation and Its Relationship to Drug Delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58, 15-28.
19. Anderson, J.M., Itallie, C.M.V. (1995). Tight Junctions and the Molecular Basis for Regulation of Paracellular Permeability. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 269, 467-475.
20. Artursson, P., Palm, K., Luthman, K. (2001). Caco-2 Monolayers in Experimental and Theoretical Predictions of Drug Transport. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46, 27-43.
21. Furuse, M. (2009). Molecular Basis of the Core Structure of Tight Junctions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 12, 1-14.
22. Anderson, J.M., Itallie, C.M.V. (2009). Physiology and Function of the Tight Junction. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 1, 1-16.
23. Anderson, J.M. (2001). Molecular Structure of Tight Junctions and Their Role in Epithelial Transport. *News in Physiological Science*, 16, 126-130.
24. Tsukita, S., Furuse, M. (2000). The Structure and Function of Claudins, Cell Adhesion Molecules at Tight Junctions. *Annals New York Academy of Sciences*, 915, 129-135.

25. Krause, G., Winkler, L., Mueller, S.L., Haseloff, R.F., Piontek, J., Blasig I.E. (2008). Structure and function of claudins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1778, 631–645.
26. Hartsock, A., Nelson, W. J. (2008). Adherens and Tight Junctions: Structure, Function and Connections to the Actin Cytoskeleton. *Biochimica et Biophysica Acta.*, 1778, 660–669.
27. Du, D., Xu, F., Yu, L., Zhang, C., Lu, X., Yuan, H. ve diğeri. (2010). The Tight Junction Protein, Occludin, Regulates the Directional Migration of Epithelial Cells. *Developmental Cell*, 18, 52-63.
28. Bauer, H., Zweimueller-Mayer, J., Steinbacher, P., Lametschwandtner, A., Bauer, H.C. (2010). The Dual Role of Zonula Occludens (ZO) Proteins. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, 1-11.
29. Capaldo, C.T., Koch, S., Kwon, M., Laur, O., Parkos, C.A., Nusrat, A. (2011). Tight junction zonula occludens-3 regulates cyclin D1-dependent cell proliferation. *Molecular Biology of the Cell*, 22, 1677-1685.
30. Georgiadis, A., Tschernutter, M., Bainbridge, J.W.B., Balaggan, K.S., Mowat F., West, E.L. ve diğeri. (2010). The Tight Junction Associated Signalling Proteins ZO-1 and ZONAB Regulate Retinal Pigment Epithelium Homeostasis in Mice. *Plos One*, 5, 1-10.
31. Ulluwishewa, D., Anderson, R.C., McNabb, W.C., Moughan, P.J., Wells, J.M., Roy, N.C. (2011). Regulation of Tight Junction Permeability by Intestinal Bacteria and Dietary Components. *The Journal of Nutrition*, 23, 769-776.
32. Cox, D.S., Raje, S., Gao, H., Salama, N.N., Eddington, N.D. (2002). Enhanced Permeability of Molecular Weight Markers and Poorly Bioavailable Compounds Across Caco-2 Cell Monolayers Using the Absorption Enhancer, Zonula Occludens Toxin. *Pharmaceutical Research*, 19, 1680-1688.
33. Sawada, N., Murata, M., Kikuchi, K., Osanai, M., Tobioka, H., Kojima, T., Chiba, H. (2003). Tight junctions and human diseases. *Medical Electron Microscopy*, 36, 147–156.
34. Gasbarrini, G., Montalto, M. (1999). Structure and function of tight junctions. Role in intestinal barrier. *Italian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 31, 481-488.

35. Ward, P.D., Tipin, T.K., Thakker, D.R. (2000). Enhancing paracellular permeability by modulating epithelial tight junctions. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 3, 346-358.
36. Galley, H.F., Webster, N.R. (2004). Physiology of the Endothelium, *British Journal of Anaesthesia*, 93,105-113.
37. Sıkı kavşaklar. Erişim: 04 Mayıs 2011, http://www.nature.com/nrm/journal/v2/n4/box/nrm0401_285a_BX1.html
38. Spitz, J., Hecht, G., Taveras, M., Aoys, E., Alverdy, J. (1994). The Effect of Dexamethasone Administration on Rat Intestinal Permeability: The Role of Bacterial Adherence, *Gastroenterology*, 106, 35-41.
39. Krugliak, P., Hollander, D., Schlaepfer, C.C., Nguyen, H., Ma, T.Y. (1994). Mechanisms and Sites of Mannitol Permeability of Small and Large Intestine in the Rat, *Digestive Diseases and Sciences*, 39, 796-801.
40. Collett, A., Walker, D., Sims, E., He, Y.L., Speers, P., Ayrton, J. ve diğerleri. (1997). Influence of Morphometric Factors on Quantitation of Paracellular Permeability of Intestinal Epithelia In Vitro, *Pharmaceutical Research*, 14, 767-773.
41. Norris, D.A., Puri, N., Sinko, P.J. (1998). The effect of physical barriers and properties on the oral absorption of particulates. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 34, 135-154.
42. Aungst, B.J. (2000). Intestinal Permeation Enhancers, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 89, 429-442.
43. Palomo, A.M., Erli, D. (1975). Structure of Tight Junctions in Epithelia With Different Permeability. *Current Issue*, 72, 4487-4491.
44. Sonaje, K., Chuang, E.Y., Lin, K.J., Yen, T.C., Su, F.Y., Tseng, M.T., Sung, H.W. (2012). Opening of Epithelial Tight Junctions and Enhancement of Paracellular Permeation by Chitosan: Microscopic, Ultrastructural, and Computed-Tomographic Observations, *Molecular Pharmaceutics*, 9, 1271-1279.
45. Motlekar, N.A., Srivenugopal, K.S., Wachtel, M.S., Youan, B.B.C. (2006). Evaluation of the Oral Bioavailability of Low Molecular Weight Heparin

- Formulated With Glycyrrhetic Acid as Permeation Enhancer, *Drug Development Research*, 67, 166–174.
46. Motlekar, N.A., Srivenugopal, K.S., Wachtel, M.S., Youan, B.B.C. (2012). Oral Delivery Of Low-Molecular-Weight Heparin Using Sodium Caprate As Absorption Enhancer Reaches Therapeutic Levels, *Journal of Drug Targeting*, 16, 573-583.
 47. Shepherd, R., Reader, S., Falshaw, A. (1997). Chitosan Functional Properties, *Glycoconjugate Journal*, 14, 535-542.
 48. Junginger, H.E., Verhoef, J.C. (1998). Macromolecules as Safe Penetration Enhancers for Hydrophilic Drugs - a fiction? *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 1, 370-376.
 49. Colo, G.D., Zambito, Y., Zaino, C. (2008). Polymeric Enhancers of Mucosal Epithelia Permeability: Synthesis, Transepithelial Penetration-Enhancing Properties, Mechanism of Action, Safety Issues. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97, 1652-1680.
 50. Williams, A.C., Barry, B.W. (2004). Penetration Enhancers, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56, 603– 618.
 51. Rinaudo, M. (2006). Chitin and Chitosan: Properties and Applications, *Progress in Polymer Science*, 31, 603–632.
 52. Cebrian, M.J.C., Zornoza, T., Granero, L., Polache, A. (2005). Intestinal Absorption Enhancement Via the Paracellular Route by Fatty Acids, Chitosans and Others: a Target for Drug Delivery, *Current Drug Delivery*, 2, 9-22.
 53. Thanou, M., Verhoef, J.C., Junginger, H.E. (2001). Oral Drug Absorption Enhancement by Chitosan and Its Derivatives, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 52, 117-126.
 54. Sogias, I.A., Khutoryanskiy, V.V., Williams, A.C. (2010). Exploring the Factors Affecting the Solubility of Chitosan In Water, *Macromolecular Chemistry and Physics*, 211, 426-433.
 55. Dutta, P.K., Dutta, J., Tripathi, V.S. (2004). Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications, *Journal of Scientific&Industrial Research*, 63, 20-31.

56. Kaş, H.S. (1997). Chitosan: properties, preparations and application to microparticulate systems, *Journal of Microencapsulation*, 14, 689-711.
57. Borchard, G., Luessen, H.L., deBoer, A.G., Verhoef, J.C., Lehr, C.M., Junginger, H.E. (1996). The Potential of Mucoadhesive Polymers in Enhancing Intestinal Peptide Drug Absorption 3. Effects of Chitosan-Glutamate and Carbomer on Epithelial Tight Junctions *In Vitro*, *Journal of Controlled Release*, 39, 131-138.
58. Schipper, N.G.M., Varum, K.M., Artursson, P. (1996). Chitosans as Absorption Enhancers For Poorly Absorbable Drugs 1. Influence of Molecular Weight and Degree of Acetylation on Drug Transport Across Human Intestinal Epithelial (Caco-2) Cells, *Pharmaceutical Research*, 13, 1686-1692.
59. Kotze, A.F., Thanou, M.M., Lueben, H.L., deBoer, A.G., Verhoef, J.C., Junginger, H.E. (1999). Enhancement of Paracellular Drug Transport with Highly Quaternized N-Trimethyl Chitosan Chloride in Neutral Environments: *In Vitro* Evaluation in Intestinal Epithelial Cells (Caco-2), *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 88, 253-257.
60. Artursson, P., Linmark, T., Davis, S.S., Illum, L. (1994). Effect of Chitosan on the Permeability of Monolayers of Intestinal Epithelial-Cells (Caco-2), *Pharmaceutical Research*, 11, 1358-1361.
61. Schipper, N.G.M., Olsson, S., Hoogstraate, J.A., deBoer, A.G., Varum, K.M., Artursson, P. (1997). Chitosans as Absorption Enhancers For Poorly Absorbable Drugs 2. Mechanism of Absorption Enhancement, *Pharmaceutical Research*, 14, 923-929.
62. Bernkop-Schnurch, A., Guggi, D., Pinter, Y. (2004). Thiolated Chitosans: Development and *In Vitro* Evaluation of a Mucoadhesive, Permeation Enhancing Oral Drug Delivery System, *Journal of Controlled Release*, 94, 177-186.
63. Sandri, G., Bonferoni, M.C., Rossi, S., Ferrari, F., Gibin, S., Zambito, Y. ve diğerleri. (2007). Nanoparticles Based on N-trimethylchitosan: Evaluation of Absorption Properties Using *In Vitro* (Caco-2 Cells) and *Ex Vivo* (Excised Rat Jejunum) Models, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 65, 68-77.

64. Jonker. C., Hamman, H.J., Kotze, A.F. (2002). Intestinal paracellular permeation enhancement with quaternised chitosan: in situ and in vitro evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, 238, 205-213.
65. Guo, J., Ping, Q., Jiang, G., Dong, J., Qi, S., Feng, L. ve diğerleri. (2004). Transport of Leuprolide Across Rat Intestine, Rabbit Intestine and Caco-2 Cell Monolayer. *International Journal of Pharmaceutics*, 278, 415-422.
66. Kowapradit, J., Opanasopit, P., Ngawhirunpat, T., Apirakaramwong, A., Rojanarata, T., Ruktanonchai, U., Sajomsang, W. (2010). *In Vitro* Permeability Enhancement in Intestinal Epithelial Cells (Caco-2) Monolayer of Water Soluble Quaternary Ammonium Chitosan Derivatives. *AAPS PharmSciTech.*, 11, 497-508.
67. Bach, A.C., Babayan, V.K. (1982). Medium-Chain Triglycerides - an Update. *American Journal of Clinical Nutrition*, 36, 950-962.
68. Lindmark, T., Nikkila, T., Artursson, P. (1995). Mechanisms of Absorption Enhancement by Medium Chain Fatty Acids in Intestinal Epithelial Caco-2 Cell Monolayers. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 275, 958-964.
69. Sodyum kaprat. Erişim: 17 Haziran 2011, <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/c4151>
70. Ohta, N.Y., Corredig, M. (2007). Characterization of α -Lactoglobulin A Gelation in the Presence of Sodium Caprate by Ultrasound Spectroscopy and Electron Microscopy. *Biomacromolecules*, 8, 2542-2548.
71. Sakai, M., Imai, T., Ohtake, H., Azuma, H., Otagiri, M. (1997). Effects of Absorption Enhancers on the Transport of Model Compounds in Caco-2 Cell Monolayers: Assessment by Confocal Laser Scanning Microscopy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 86, 779-785.
72. Lo, Y.L., Huang, J.D. (2000). Effect of Sodium Deoxycholate and sodium Caprate on the Transport of Epirubicin in Human Intestinal Epithelial Caco-2 Cell Layers and Everted Gut Sacs of Rats. *Biochemical Pharmacology*, 59, 665-672.
73. Chao, A.C., Nguyen, J.V., Broughall, M., Griffin, A., Fix, J.A., Daddona, P.E. (1999). *In Vitro* and *In Vivo* Evaluation of Effects of Sodium Caprate on

- Enteral Peptide Absorption and on Mucosal Morphology. *International Journal of Pharmaceutics*, 191, 15-24.
74. Anderberg, E.K., Lindmark, T., Artursson, P. (1993). Sodium Caprate Elicits Dilatations in Human Intestinal Tight Junctions and Enhances Drug Absorption by the Paracellular Route. *Pharmaceutical Research*, 10, 857-864.
 75. Tomita, M., Sawada, T., Ogawa, T., Ouchi, H., Hayashi, M., Awazu, S. (1992). Differences in the Enhancing Effects of Sodium Caprate on Colonic and Jejunal Drug Absorption. *Pharmaceutical Research*, 9, 648-653.
 76. Tomita, M., Hayashi, M., Awazu, S. (1996). Absorption-Enhancing mechanism of EDTA, Caprate, and Decanoylcarnitine in Caco-2 Cells. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85, 608-611.
 77. Dos Santos, I., Fawaz, F., Lagueny, A.M., Bonini, F. (2003). Improvement of Norfloxacin Oral Bioavailability by EDTA and Sodium Caprate. *International Journal of Pharmaceutics*, 260, 1-4.
 78. Sakai, M., Imai, T., Ohtake, H., Otagiri, M. (1998). Cytotoxicity of Absorption Enhancers in Caco-2 Cell Monolayers. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 50, 1101-1108.
 79. Watson, C.J., Rowland, M., Warhurst, G. (2001). Functional modeling of tight junctions in intestinal cell monolayers using polyethylene glycol oligomers. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 281, 388-397.
 80. Maher, S., Leonard, T.W., Jacobsen, J., Brayden, D.J. (2009). Safety and Efficacy of Sodium Caprate in Promoting Oral Drug Absorption: From *In Vitro* to the Clinic. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61, 1427-1449.
 81. Anderberg, E.K., Nystrom, C., Artursson, P. (1992). Epithelial Transport of Drugs in Cell Culture. VII: Effects of Pharmaceutical Surfactant Excipients and Bile Acids on Transepithelial Permeability in Monolayers of Human Intestinal Epithelial (Caco-2) Cells. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81, 879-887.
 82. Sharma, P., Varma, M.V.S., Chawla, H.P.S., Panchagnula, R. (2005). Relationship Between Lipophilicity of BCS Class III and IV Drugs and the Functional Activity of Peroral Absorption Enhancers. *II Farmaco*, 60, 870-873.
 83. Sasaki, K., Yonebayashi, S., Yoshida, M., Shimizu, K., Aotsuka, T., Takayama, K. (2003). Improvement in the Bioavailability of Poorly Absorbed Glycyrrhizin

Via Various Non-Vascular Administration Routes in Rats. *International Journal of Pharmaceutics*, 265, 95-102.

84. Raoof, A.A., Ramtoola, Z., McKenna, B., Yu, R.Z., Hardee, G., Geary, R.S. (2002). Effect of Sodium Caprate on the Intestinal Absorption of Two Modified Antisense Oligonucleotides in Pigs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17, 131-138.
85. Lv, X.Y., Li, J., Zhang, M., Wang, C.M., Fan, Z., Wang, C.Y., Chen, L. (2010). Enhancement of Sodium Caprate on Intestine Absorption and Antidiabetic Action of Berberine. *AAPS PharmSciTech*, 11, 372-382.
86. Pabla, D., Akhlaghi, F., Zia, H. (2010). Intestinal permeability enhancement of levothyroxine sodium by straight chain fatty acids studied in MDCK epithelial cell line. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 40, 466-472.
87. Sodyum lauril sülfat. Erişim: 23 Haziran 2011, <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/l4390>
88. Tupker, R.A., Willis, C., Berardesca, C.H., Lee, M., Fartasch, M., Agner, T., Serup, J. (1997). Guidelines on Sodium Lauryl Sulphate (SLS) Exposure Tests. *Contact Dermatitis*, 37, 53-69.
89. Dias, R., Sakhare, S., Mali, K. (2010). In-vitro Absorption Studies of Mucoadhesive Tablets of Acyclovir. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 44, 183-188.
90. Xia, W.J., Onyuksel, H. (2000). Mechanistic Studies on Surfactant-Induced Membrane Permeability Enhancement. *Pharmaceutical Research*, 17, 612-618.
91. Rege, B.D., Yu, L.X., Hussain, A.S., Polli, J.E. (2001). Effect of Common Excipients on Caco-2 Transport Of Low-Permeability Drugs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90, 1776-1786.
92. Boulenc, X., Breul, T., Gautier, J.C., Saudemon, P., Joyeux, H., Roques, C. ve diğerleri. (1995). Sodium lauryl sulphate increases tiludronate paracellular transport using human intestinal Caco-2 monolayers. *International Journal of Pharmaceutics*, 123, 71-83.
93. Shah, P., Jogani, V., Mishra, P., Mishra, A.K., Bagchi, T., Misra, A. (2008). In Vitro Assessment of Acyclovir Permeation Across Cell Monolayers in the

- Presence of Absorption Enhancers. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 34, 279-288.
94. Siklodekstinler. Erişim: 03 Şubat 2012, <http://en.wikipedia.org/wiki/Cyclodextrin>
 95. Loftsson, T., Brewster, M.E. (1996). Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins 1. Drug Solubilization and Stabilization *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85, 1017-1025.
 96. Stella, V.J., Rajewski, R.A. (1997). Cyclodextrins: Their Future in Drug Formulation and Delivery. *Pharmaceutical Research*, 14, 556-567.
 97. Rajewski, R.A., Stella, V.J. (1996). Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins 2. In Vivo Drug Delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85, 1142-1169.
 98. Shaker, D.S., Ghanem, A.H., Li, S.K., Warner, K.S., Hashem, F.M., Higuchi, W.I. (2003). Mechanistic Studies of The Effect of Hydroxypropyl-Beta-Cyclodextrin on In Vitro Transdermal Permeation of Corticosterone Through Hairless Mouse Skin. *International Journal of Pharmaceutics*, 253, 1-11.
 99. Marttin, E., Verhoef, J.C., Cullander, C., Romeijn, S.G., Nagelkerke, J.F., Merkus, F.W.H.M. (1997). Confocal Laser Scanning Microscopic Visualization of the Transport of Dextrans After Nasal Administration to Rats: Effects of Absorption Enhancers. *Pharmaceutical Research*, 14, 631-637.
 100. Hovgaard, L. (1995). Drug-Delivery Studies in Caco-2 Monolayers 4. Absorption Enhancer Effects of Cyclodextrins. *Pharmaceutical Reserarch*, 12, 1328-1332.
 101. Asiklovir. Erişim: 7 Mart 2011, <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/fluka /phr1254>
 102. Law, S.L., Hung, H.Y. (1998). Properties of acyclovir-containing liposomes for potential ocular delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 161, 253–259.
 103. Bahrami, G., Mirzaeei, S., Kaini, A. (2005). Determination of Acyclovir in Human Serum by High-Performance Liquid Chromatography Using Liquid–Liquid Extraction and Its Application in Pharmacokinetic Studies. *Journal of Chromatography*, 816, 327–331.

104. Shao, Z., Park, G.B., Krishnamoorthy, R., Mitra, A.K. (1994). The Physicochemical Properties, Plasma Enzymatic Hydrolysis, and Nasal Absorption of Acyclovir and Its 2'-Ester Prodrugs. *Pharmaceutical Research*, 11, 237-242.
105. Dey, S., Mazumder, B., Patel, J.R. (2009). Enhanced Percutaneous Permeability of Acyclovir by DMSO from Topical Gel Formulation. *International Journal of Pharmaceutical Science and Drug Research*, 1, 13-18.
106. Chiou, W.L., Jeong, H.Y., Chung, S.M., Wu, T.C. (2000). Evaluation of Using Dog as an Animal Model to Study the Fraction of Oral Dose Absorbed of 43 Drugs in Humans. *Pharmaceutical Research*, 17, 135-140.
107. Balon, K., Riebesehl, B.U., Müller B.W. (1999). Drug Liposome Partitioning as a Tool for the Prediction of Human Passive Intestinal Absorption. *Pharmaceutical Research*, 16, 882-888.
108. Fernandez, M., Sepulveda, J., Aranguiz, T., Plessing C.V. (2003). Technique Validation by Liquid Chromatography for the Determination of Acyclovir in Plasma. *Journal of Chromatography*, 791, 357-363.
109. Zeng, L., Nath, C.E., Shaw, P.J., Earl, J.W., McLachlan, A.J. (2008). HPLC-Fluorescence Assay for Acyclovir in Children. *Biomedical Chromatography*, 22, 879-887.
110. Arnal, J., Gonzalez-Alvarez, I., Bermejo, M., Amidon, G.L., Junginger, H.E., Kopp, S. ve diğerleri. (2008). Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Aciclovir. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97, 5061-5073.
111. Kasım, N.A., Whitehouse, M., Ramachandran, C., Bermejo, M., Lennernas, H., Hussain, A.S. ve diğerleri. (2004). Molecular properties of who essential drugs and provisional biopharmaceutical classification, *Molecular Pharmaceutics*, 1, 85-96.
112. Emami, J., Bazargan, N., Ajami, A. (2009). HPLC Determination of Acyclovir in Human Serum and Its Application in Bioavailability Studies. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 4, 47-54.

113. Lycke, J., Malmstrom, C., Stahle, L. (2003). Acyclovir Levels in Serum and Cerebrospinal Fluid after Oral Administration of Valacyclovir. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47, 2438–2441.
114. Sharma, M., Nautiyal, P., Jain, S., Jain, D. (2010). Simple and Rapid RP-HPLC Method for Simultaneous Determination of Acyclovir and Zidovudine In Human Plasma. *Journal of AOAC International*, 93, 1462-1467.
115. Stulzer, H.K., Tagliari, M.P., Murakami, F.S., Silva, M.A., Laranjeira, M.C. (2008). Development and Validation of An RP-HPLC Method to Quantitate Acyclovir in Cross-Linked Chitosan Microspheres Produced by Spray Drying. *Journal of Chromatographic Science*, 46, 496-500.
116. Paraskevas, D.T., Constantinos, K.Z. (2008). Extraction of Acyclovir from Pharmaceutical Creams for HPLC Assay. Optimization and Validation of Pretreatment Protocols. *Central European Journal of Chemistry*, 6, 140–144.
117. Darwish, I.A., Khedr, A.S., Askal, H.F., Mahmoud, R.M. (2005). Use Of Oxidation Reactions for the Spectrophotometric Determination of Acyclovir and Amantadine Hydrochloride in Their Dosage Forms. *Analytical Chemistry: Indian Journal*, 1, 1-9.
118. O'Brien, J.J., Richards, C., Deborah, M. (1989). Acyclovir: An Updated Review of its Antiviral Activity, Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Efficacy. *Drugs*, 37, 233-309.
119. Bangaru, R.A., Bansal, Y.K., Rao, A.R.M., Gandhi T.P. (2000). Rapid, Simple and Sensitive High-Performance Liquid Chromatographic Method for Detection and Determination of Acyclovir in Human Plasma and Its Use in Bioavailability Studies. *Journal of Chromatography*, 739, 231–237.
120. Mascher, H., Kikuta, C., Metz, R., Vergin, H. (1992). New, High-Sensitivity High-Performance Liquid Chromatographic Method for the Determination of Acyclovir in Human Plasma, Using Fluorometric Detection. *Journal of Chromatography*, 583, 122-127.
121. Snoeck, R. (2000). Antiviral Therapy of Herpes Simplex. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 16, 157–159.

122. Boulieu, R., Gallant, C., Silberstein, N. (1997). Determination of Acyclovir in Human Plasma by High-performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography*, 693, 233–236.
123. Jeffries, D.J. (1985). Clinical Use of Acyclovir. *British Medical Journal*, 290, 177-178.
124. Ommaty, R. (2009). *Vademecum Modern İlaç Rehberi+ATC Index*, (32. bs.). Ankara: Matsa Basımevi.
125. Üstünes, L. (2012). *Rx Media Pharma İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı*.
126. Wu, C.Y., Benet, L.Z. (2005). Predicting Drug Disposition via Application of BCS: Transport/Absorption/Elimination Interplay and Development of a Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System. *Pharmaceutical Research*, 22, 11-23.
127. Kataoka, M., Masaoka, Y., Sakuma, S., Yamashita, S. (2006). Effect of Food Intake on the Oral Absorption of Poorly Water-Soluble Drugs: In Vitro Assessment of Drug Dissolution and Permeation Assay System. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 95, 2051-2061.
128. Wilson, C.G., Washington, N., Hardy, J.G., Bond, S.W. (1987). The influence of food on the absorption of acyclovir: a pharmacokinetic and scintigraphic assessment. *International Journal of Pharmaceutics*, 38, 221-225.
129. Gunness, P., Aleksa, K., Koren, G. (2011). Acyclovir is a substrate for the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2): implications for renal tubular transport and acyclovir-induced nephrotoxicity. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 89, 675-680.
130. Amidon, G.L., Lennernas, H., Shah, V.P., Crison, J.R. (1995). A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical Research*, 12, 413-420.
131. Susantakumar, P., Gaur, A., Sharma, P. (2011). In Vitro/In Vivo Correlation for Acyclovir Immediate-Release Tablet Formulations Based on Computational Simulation Program. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 3, 682-695.

132. Şener, E., (2010). Barsaklardan İlaç Absorpsiyonu Üzerine Kapsaisin Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
133. Güder, F., (2011). Kurkuminin Barsaklardan İlaç Absorpsiyonu Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
134. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. (1994). ICH Harmonised Tripartite Guideline: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. Erişim: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf
135. Kim, J.S., Mitchell, S., Kijek, P., Tsume, Y., Hilfinger, J., Amidon, G.L. (2006). The Suitability of an in Situ Perfusion Model for Permeability Determinations: Utility for BCS Class I Biowaiver Requests. *Molecular Pharmacology*, 3, 686-694.
136. Wagner, D., Spahn-Langguth, H., Hanafy, A., Koggel, A., Langguth, P. (2001). Intestinal Drug Efflux: Formulation and Food Effects. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 50, 13-31.
137. Zakeri-Milani, P., Valizadeha, H., Tajerzadeh, H., Azarmi, Y., Islambolchilar, Z., Barzegar, S., Barzegar-Jalali, M. (2007). Predicting Human Intestinal Permeability using Single-pass Intestinal Perfusion in rat. *Journal of Pharmacy&Pharmaceutical Sciences*, 10, 368-379.
138. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. (2001). Guidance for Industry, Bioanalytical Methods Validation. Erişim: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070107.pdf>.
139. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. (2000). Guidance for Industry Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. Erişim: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070246.pdf>.

140. Berggren, S., Hoogstraate, J., Fagerholm, U., Lennernas, H. (2004). Characterization of Jejunal Absorption and Apical Efflux of Ropivacaine, Lidocaine and Bupivacaine in the Rat Using In Situ and In Vitro Absorption Models. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 21, 553-560.
141. Lindahl, A., Frid, S., Ungell, A.L., Lennern, H. (2000). No Evidence for the Involvement of the Multidrug Resistance-Associated Protein and/or the Monocarboxylic Acid Transporter in the Intestinal Transport of Fluvastatin in Rats. *AAPS PharmSci*, 2, 62-68.
142. Grassi, M., Cadelli, G. (2001). Theoretical Considerations on the In Vivo Intestinal Permeability Determination by Means of the Single Pass and Recirculating Techniques. *International Journal of Pharmaceutics*, 229, 95-105.
143. Sayar, E., (2005). Jenerik Bir Trimetoprim ve Sülfametoksazol Tablet Üzerinde BSS ve Biyoeşdeğerlik Araştırmaları. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
144. Barr, W.H. (1991). The Role of Intestinal Metabolism on Bioavailability. *Pharm. Bioequivalence*, 149-168,
145. Edgecombe, S.C., Stretch, G.L., Hayball, P.J. (2000). Oleuropein, an Antioxidant Polyphenol From Olive Oil, is Poorly Absorbed From Isolated Perfused Rat Intestine, *Journal of Nutrition*, 130, 2996-3002.
146. Kotze, A.F., Lueßen, H.L, de Leeuw, B.J., de Boer , A.G., Verhoef , J.C., Junginger, H.E. (1998). Comparison of the effect of different chitosan salts and *N*-trimethylchitosan chloride on the permeability of intestinal epithelial cells (Caco-2). *Journal of Controlled Release*, 51, 35-46.
147. Kotze, A.F., Lueßen, H.L, de Boer , A.G., Verhoef , J.C., Junginger, H.E. (1998). Chitosan for Enhanced Intestinal Permeability: Prospects for Derivatives Soluble In Neutral and Basic Environments. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7, 145–151.
148. Zakeri-Milani, P., Valizadeha, H., Azarmi, Y., Barzegar-Jalali, M., Tajerzadeh, H. (2006). Simultaneous Determination of Metoprolol, Propranolol and Phenol Red in Samples From Rat In Situ Intestinal Perfusion Studies, *Daru*, 14, 102-108.

149. European Medicines Agency. (2010). Guideline on The Investigation of Bioequivalence. Erişim: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf
150. Lane, M.E., Levis, K.A., Corrigan, O.I. (2006) Effect of intestinal fluid flux on ibuprofen absorption in the rat intestine. *International Journal of Pharmaceutics*, 309, 60-66.
151. Curran, P.F., Solomon, A.K. (1957). Ion and Water Fluxes in the Ileum of Rats. *The Journal of General Physiology*, 41, 143-168.
152. Issa, C., Gupta, P., Bansal, A.K. (2003). Implications of density correction in gravimetric method for water flux determination using rat single-pass intestinal perfusion technique: a technical note. *AAPS PharmSciTech*, 4, art.16.
153. Dahan, A., Amidon, G.L. (2009). Segmental Dependent Transport of Low Permeability Compounds along the Small Intestine Due to P-Glycoprotein: The Role of Efflux Transport in the Oral Absorption of BCS Class III Drugs, *Molecular Pharmaceutics*, 6, 19-28.
154. World Health Organization. (2006). WHO Technical Report Series, Proposal to waive in vivo bioequivalence requirements for WHO Model List of Essential Medicines immediate-release, solid oral dosage forms, No: 937.
155. Teksin, Z.S., Seo, P.R., Polli, J.E. (2010). Comparison of Drug Permeabilities and BCS Classification: Three Lipid-Component PAMPA System Method versus Caco-2 Monolayers. *AAPS Journal*, 12, 238-241.
156. Bergstrom, C.A.S., Strafford, M., Lazorova, L., Avdeef, A., Luthman, K., Artursson, P. (2003). Absorption Classification of Oral Drugs Based on Molecular Surface Properties, *Journal of Medicinal Chemistry*, 46, 558-570.
157. Yee, S., (1997). In vitro Permeability Across Caco-2 cells (Colonic) Can Predict In Vivo (Small Intestinal) Absorption in Man-Fact or Myth. *Pharmaceutical Research*, 14, 763-766.
158. Salphati, L., Childers, K., Pan, L., Tsutsui, K., Takahashi, L. (2001). Evaluation of a single-pass intestinal-perfusion method in rat for the prediction of absorption in man. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53, 1007-1013.

159. Park, G.B., Shao, Z., Mitra, A.K. (1992). Acyclovir Permeation Enhancement Across Intestinal and Nasal Mucosae by Bile Salt-Acylcarnitine Mixed Micelles, *Pharmaceutical Research*, 9, 1262-1267.
160. Neppelberg, E., Costea, D.E., Vintermyr, O.K., Johannessen, A.C. (2007). Dual effects of sodium lauryl sulphate on human oral epithelial structure. *Experimental Dermatology*, 16, 574-579.
161. Merzlikine, A., Rotter, C., Rago, B., Poe, J., Christoffersen, C., Thomas, V.H. ve diğeri. (2009). Effect of chitosan glutamate, carbomer 974P, and EDTA on the in vitro Caco-2 permeability and oral pharmacokinetic profile of acyclovir in rats. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 35, 1082-1091.
162. Palmberger, T.F., Hombach, J., Bernkop-Schnurch, A. (2008). Thiolated chitosan: Development and in vitro evaluation of an oral delivery system for acyclovir. *International Journal of Pharmaceutics*, 348, 54-60.
163. Teksin, Z.S., Ağabeyoğlu, İ., Yamaç, K. (2009). Bioavailability of Pentoxifylline-Chitosan Oral Matrix Tablet in Healthy Subjects. *Journal of Bioequivalence & Bioavailability*, 1, 115-120.
164. Zheng, Y., Zuo, Z., Chow, A.H.L. (2006). Lack of effect of β -cyclodextrin and its water-soluble derivatives on in vitro drug transport across rat intestinal epithelium. *International Journal of Pharmaceutics*, 309, 123-128.
165. Uchiyama, T., Sugiyama, T., Quan, Y.S., Kotani, A., Okada, N., Fujita, T. Ve diğeri. (1999). Enhanced Permeability of Insulin across the Rat Intestinal Membrane by Various Absorption Enhancers: Their Intestinal Mucosal Toxicity and Absorption-enhancing Mechanism of n-Lauryl-b-D-maltopyranoside. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 51, 1241-1250.

ÖZGEÇMİŞ

03 Ocak 1988 tarihinde Malatya’da doğdum. İlkokulu Sümer İlköğretim Okulu’nda, ortaokul ve liseyi Özel Turgut Özal Koleji’nde bitirdim. 2004 yılında İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi’ni kazanarak lisans eğitimime başladım. 2008 yılında mezun olarak 2009 yılında Selçuk Ezca Deposu Malatya Şubesi’nde 1 yıl süreyle mesul müdürlük yaptım. 2010 yılında Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Yüksek Lisans Programı’na başladım. Ekim 2010 tarihinden itibaren İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji AbD Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.

EKLER

EK I. Barsak Perfüzyon Çalışmaları İçin

Etik Kurul İzni

EK II. Yayınlar

**EK I. Barsak Perfüzyon Çalışmaları İçin
Etik Kurul İzni**

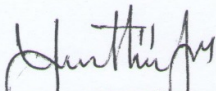
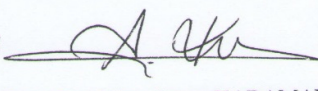
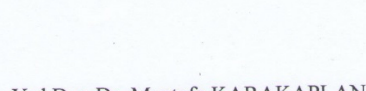
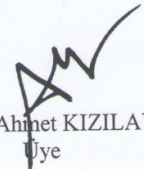
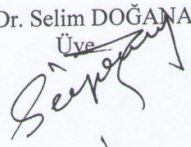
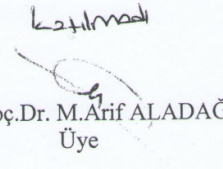

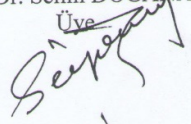


İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 03-03-2011
 Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya
 Araştırma Protokol no.su : 2011/A-24
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Türü : Rat
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Soyü : Sprague Dawley
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 60 adet
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 250-450 g

“Barsaklardan Paraselüler İlaç Absorpsiyonu Üzerine Permeabilite Artırıcı Ajanların Etkisinin Araştırılması” isimli çalışmanın Proje Yürütücüsü Prof.Dr.Selma ŞAHİN, Canlı Hayvan Kısmının Yürütücüsü Yrd.Doç.Dr. Mustafa Sinan KAYNAK olmak üzere 2011/A-24 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Denei Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

 Prof.Dr. Yusuf TÜRKÖZ Başkan	 Doç.Dr. Abdurrahman KARAMAN Başkan Yard.	 Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Raportör
 Prof.Dr. Ahmet KIZILAY Üye	 Prof.Dr. Selim DOĞANAY Üye	 Yrd.Doç.Dr. M. Arif ALADAĞ Üye
 Vet. Hek. M. Zafar BOZDAĞ Üye	 Salih AVCI Sivil Üye Katılmadı	

EK II. Yayınlar

7/26/13

Gmail - Makalenizin Kabulü



selma sahin <sahein.selma@gmail.com>

Makalenizin Kabulü

messages

"Eczacılık Fakültesi Dergisi" <eczder@hacettepe.edu.tr>

Fri, Aug 17, 2012 at 3:37 PM

To: sahin.selma@gmail.com

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
ECZACILIK FAKÜLTESİ
DERGİSİ

Sayı: 2013-

Konu : Makaleniz ile ilgili

17.08.2012

Sayın Prof. Dr. Selma Şahin

Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi'nde yayınlanmak üzere göndermiş olduğunuz

**İNTESTİNAL ABSORPSİYONU ARTIRMAK AMACIYLA KULLANILAN
PERMEASYON ARTIRICI AJANLAR'** isimli derleme makaleniz kabul edilmiştir.

Makaleniz dergimizin 2013 yılı sayısında basılacaktır.

İlginiz için teşekkür ederiz.

Saygılarımla,

Prof. Dr. Sacide Altınöz
Hacettepe Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi Dergisi Editörü
www.eczfakder.hacettepe.edu.tr

İNTESTİNAL ABSORPSİYONU ARTIRMAK AMACIYLA KULLANILAN PERMEASYON ARTIRICI AJANLAR

Müge Geneş^{1,2}, Mustafa Sinan Kaynak², Selma Şahin^{1,*}

Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı¹

İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı²

ÖZET

Sistemik etki elde etmek amacıyla ilaçlar farklı yollarla uygulanmaktadır. Bunlar arasında en yaygın olarak kullanılan uygulama yolu oral yoldur. Oral yolla verilen bir ilaç etki edeceği bölgeye ulaşana kadar birkaç biyolojik membrandan geçmek zorundadır. Bu membranlardan en önemlisi barsak epitelidir. Barsak epitelinden absorpsiyon başlıca iki mekanizmaya göre gerçekleşmektedir. Bunlar epitel hücre membranlarından absorpsiyon (transselüler yol) ve epitel hücreler arasındaki sıkı kavşaklar (tight junction)'dan absorpsiyondur. Moleküllerin hücreler arasındaki sıkı kavşaklardan geçmesi paraselüler (interselüler) transport olarak adlandırılmaktadır. Paraselüler permeabilitenin düzenlenerek ilaç absorpsiyonunu artırmak için en etkili yol sıkı kavşakların yapısal olarak düzenlenmesidir. Polimer ve sürfaktan özellikteki bazı maddelerin membranlardan paraselüler yolla geçen ilaçların absorpsiyonunu çeşitli mekanizmalarla artırdığı belirtilmiştir. Bu maddeler permeasyon artırıcılar olarak da bilinmektedir. Bu derlemede, permeasyon artırıcıların fizikokimyasal özellikleri ve intestinal absorpsiyonu artırma mekanizmalarından bahsedilecektir. Ayrıca permeasyon artırıcılara çeşitli örnekler verilecek, ve bu maddelerle yapılmış çalışmalar değerlendirilecektir.

Anahtar Kelimeler: Permeasyon artırıcılar, Paraselüler absorpsiyon, Permeabilite