

**MELOKSİKAM' IN SUDA ÇÖZÜNEN
DİBLOK, TRİBLOK KOPOLİMER MİSELLERİ ve
ÇAPRAZ BAĞLI MİSELLERDEN
SALIMININ İNCELENMESİ**

F.Hazal Gör l

Yüksek Lisans Tezi

**MELOKSİKAM' IN SUDA ÇÖZÜNEN
DİBLOK, TRİBLOK KOPOLİMER
MİSELLERİ ve ÇAPRAZ BAĞLI
MİSELLERDEN SALIMININ İNCELENMESİ**

F.Hazal Göral

Yüksek Lisans Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
Eskişehir, Eylül 2007

Tez Danışmanı: Yard. Doç. Dr. Lütfi GENÇ

ÖNSÖZ

Bu çalışmada meloksikam' ın diblok, triblok kopolimer misellerinden ilaç salımı yanı sıra bu misellerin çapraz bağlanması sonucu ilaç salımındaki değişimlerin araştırılması planlanmıştır. Ancak deneylerin uzaması nedeniyle bu çalışma daha sonraya bırakılmıştır.

İn vitro ilaç salım deneyleri için kullanılan Franz difüzyon hücrelerinde yapay membranlar kullanılabilmiş fakat membranlardan geçiş söz konusu olmamıştır. Membran olarak kullanılması planlanan insan derisi temin edilerek uygun şartlarda saklanmış sadece tek bir deney yapılabilmektedir. Çapraz bağlı misellerin salımına difüzyon metodu ile birlikte Franz difüzyon hücreleri kullanılarak ileri bir tarihte bakılacaktır.

Çalışmam boyunca bana her türlü olanağı sağlayan, bilgi, deneyim, yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Yard. Doç. Dr. Lütfi GENÇ' e,

Polimerlerin sentezlenmesi ve meloksikam yüklemesinde beni yönlendiren, polimer laboratuvarında çalışmaya izin veren ve bilgisini esirgemeyen Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Vural BÜTÜN' e,

Her türlü bilimsel desteği sağlayan Eczacılık Teknolojisi Bölümü Başkanı, hocam Prof. Dr. Yasemin YAZAN' a,

Eczacılık Teknolojisi Bölümü' ndeki hocalarıma,

Yardımlarını benden esirgemeyen, bilgi ve destekleriyle her zaman yanımda olan Araş. Gör. Erol ŞENER' e, Araş. Gör. Arın Gül DAL' a ve Araş. Gör. Duygu YENİCELİ' ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans dönemi boyunca okula rahatça gidip gelebilmem için her türlü desteği sağlayan, manevi desteklerini esirgemeyen Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Eczanesi' ndeki tüm çalışma arkadaşlarıma,

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi' nde Polimer Laboratuvarı' nda yaptığım çalışmalarda beni yalnız bırakmayan, yardımını ve desteğini esirgemeyen arkadaşım R. Bengü KARABACAK' a ve Fulya TAKTAK' a,

Beni her zaman destekleyen, yüreklendiren, pes ettiğim zamanlarda güç veren nişanlım Uz. İnş. Müh. Onur KAPLAN' a ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

F.Hazal GÖRAL

**MELOKSİKAMIN' IN SUDA ÇÖZÜNEN
DİBLOK, TRİBLOK KOPOLİMER MİSELLERİ
ve ÇAPRAZ BAĞLI MİSELLERDEN
SALIMININ İNCELENMESİ**

ÖZET

Polimerik ilaç taşıyıcı sistemler günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu taşıyıcılardan biri olmaya aday diblok ve triblok kopolimerlerin miselleri, çapraz bağlı miseller üzerinde çalışmalar sürdürülmektedir. Polimerik miseller ilaç salınımindaki kullanımlarından dolayı önemli bir çalışma konusudur.

Miseller genel olarak hidrofobik bir çekirdek ve hidrofilik bir dış çeperden oluşur. Bu yapı hidrofob özellikteki ilaç etkin maddeleri için büyük avantaj sağlamaktadır.

Bu çalışmada hidrofob özellikte non-steroidal antienflamatuar bir ilaç olan meloksikam kullanılmıştır. Polimerik taşıyıcı sistem olarak Poli{2-(dimetilamino)etil metakrilat}- Poli{(2-(diethylamino)etil metakrilat)} (DMA-DEA) diblok kopolimer %0.5 misel çözeltisi ve Poli{2-(dimetilamino)etil metakrilat}- Poli{2-(diizopropilamino)etil metakrilat}- Poli{2-(N-morfolino)etil metakrilat} (DMA-DPA-MEMA) kullanılmıştır. Polimer çözeltisine asit ilavesi ile pH=2 'nin altına düşürülüp polimerin çözünmesi sağlanmıştır. Ortam KOH ile bazikleştirilerek ve ortamın sıcaklığına bağlı olarak pH=8-9 arasında misel oluşumu gözlenmiştir. Misel çapına dinamik ışın saçılımı (DLS) ve zeta sizer kullanılarak bakılmıştır. Meloksikam metanolde çözülmüş ve misel çözeltisine yüklenmiştir. Ancak metanol misel yapısını bozduğundan yükleme dimetilsülfoksit ile yapılmıştır. İlaç yükledikten sonra diblok kopolimer misel çapında artış olduğu gözlenmiştir. Bu da meloksikamın misel tarafından hapsedildiğini göstermektedir.

Meloksikam' ın miselden *in vitro/ ex-vivo* salım çalışmaları diyaliz tüpü ve Franz difüzyon hücresi' nde membran olarak bayan karın bölgesinden alınan deri kullanılarak kullanılarak yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: diblok, triblok kopolimer miselleri, meloksikam, topikal ilaç sistemleri, diyaliz tüpü, difüzyon

THE INVESTIGATION of RELEASE MELOXICAM FROM WATER SOLUBLE DIBLOCK-TRIBLOCK COPOLYMER MICELLES and CROSS-LINKED SHELL MICELLES

ABSTRACT

Nowadays, polymeric drug delivery systems are used extensively. Studies on the diblock and triblock copolymer micelles and shell cross-linked which are a candidate of this group carrier are being continued. Polymeric micelles are important because of their use for drug release.

Micelles are usually composed of a hydrophobic core and hydrophilic corona. This structure is an advantage for hydrophobic drugs, active ingredients.

At this study, meloxicam, a hydrophobic non-steroidal anti-inflammatory drug, was used. 0.5% solution of Poly{2-(dimethylamino)methyl methacrylate}-Poly {2-(diethylamino)ethyl methacrylate} (DMA-DEA) diblock copolymer and Poly{2-(diethylamino)methyl methacrylate}-Poly{2-(diisopropylamino)ethyl methacrylate}-Poly{2-(N-morpholino) ethyl methacrylate} (DMA-DPA-MEMA) were used as a polymeric drug carrier system. The polymer was dissolved at pH below 2 by adding acid solution. Forming micelles were occurred when this solution was getting basic by adding KOH at pH 8-9 and depending on temperature of the medium. Radius of micelles was determined by using dynamic light scattering (DLS) and zeta sizer. Meloxicam was dissolved in methanol and loaded micelles solution. But methanol damaged to micelles structure so dimethylsulfoxide (DMSO) was used for loading process. Diameter of diblock copolymer's micelles were increased after loading meloxicam on micelles. This situation shows that meloxicam was locked in micelles.

In vivo and *ex vivo* drug release studies of meloxicam have been done by using Franz diffusion cell and dialysis tubing and the skin from the abdomen of female patient.

Key Words: diblock-triblock copolymer micelles, , meloxicam, topical drug delivery systems, dialysis tubing, diffusion.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZGEÇMİŞ	i
ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
GİRİŞ ve AMAÇ	1
KAYNAK BİLGİSİ	2
Polimerler ve Polimerik İlaç Taşıyıcı Sistemler	2
<i>Polimerler</i>	2
<i>Polimerlerin sınıflandırılması</i>	2
<i>Suda çözünür polimerler</i>	2
<i>Non-iyonik suda çözünür polimerler</i>	2
<i>Anyonik suda çözünür polimerler</i>	3
<i>Katyonik suda çözünür polimerler</i>	3
<i>Suda çözünmeyen polimerler</i>	3
<i>Polimerlerin özellikleri</i>	4
<i>Molekül ağırlığı ve polidispersite</i>	4
<i>Çözünürlük</i>	4
<i>Camsı geçiş sıcaklığı</i>	4
<i>Biyolojik özellikleri</i>	5
<i>Polimer sentezi</i>	5
<i>Living polimerizasyon sistemleri</i>	5
<i>Grup transfer polimerizasyonu (GTP)</i>	6
<i>Blok Kopolimerler</i>	6
<i>Blok polimer sentezi</i>	6
<i>DMA-DEA diblok kopolimeri</i>	6
<i>Polimerlerin Karakterizasyonu</i>	7
Çapraz Bağlı Miseller	7
Polimerik İlaç Taşıyıcı Sistemler	7

Blok Kopolimerler ile Yapılan Çalışmalar	8
Non-SteroidaI Antienflamatuvar İlaçlar	9
<i>Meloksikam</i>	10
<i>Farmakokinetik</i>	11
<i>Endikasyonları</i>	11
<i>Meloksikam'ın yan etkileri</i>	12
<i>Meloksikam içeren ticari preparatlar</i>	12
Topikal İlaç Sistemleri	13
Derinin Yapısı	13
Deriden İlaç Absorbsiyonu	14
<i>Franz difüzyon hücresi</i>	15
Perkütan Emilimi Etkileyen Faktörler	16
GEREÇLER	17
Kullanılan Maddeler	17
Kullanılan Cihazlar	17
YÖNTEMLER	18
Polimer Sentezi	18
Polimer Çözeltisinin Hazırlanması	18
<i>Diblok polimer çözeltisinin hazırlanması</i>	18
<i>Triblok polimer çözeltisinin hazırlanması</i>	18
Misellerin Oluşturulması	18
Misellerin Karakterizasyonu	18
Misel Çözeltisine İlaç Yüklenmesi	19
Misellerin Liyofilizasyonu	20
Termal Analiz Çalışmaları	20
<i>Meloksikam'ın İnfrared analizi</i>	20
<i>Potasyum dihidrojen fosfat tamponunun hazırlanışı</i>	20
Validasyon Çalışmaları	21
<i>Meloksikam'ın UV spektrofotometresi ile miktar tayini</i>	21
<i>Doğrusallık</i>	21
<i>Doğruluk</i>	21
<i>Kesinlik</i>	21
<i>Seçicilik</i>	21

<i>Duyarlılık</i>	21
<i>İn-vitro ve Ex-vivo İlaç Salım Çalışmaları</i>	21
<i>Kullanılan donör ve reseptör fazlar</i>	22
<i>Kullanılan membranlar</i>	22
<i>Membranların hazırlanması</i>	22
<i>Deri membranın hazırlanması</i>	22
<i>Epidermal membranın hazırlanması</i>	23
<i>Franz difüzyon hücresi ile yapılan çalışmalar</i>	23
<i>Diyaliz methodu ile yapılan çalışmalar</i>	23
<i>Diyaliz tüpünün hazırlanması</i>	23
<i>Deneyin yapılışı</i>	23
BULGULAR ve TARTIŞMA	25
Misellerin Karakterizasyonu	25
Misel Çözeltisine İlaç Yüklenmesi	25
Termal Analiz Çalışmaları	28
<i>Meloksikam'ın İnfrared analizi</i>	29
Validasyon Çalışmaları	31
<i>Meloksikam'ın UV spektrofotometresi ile tayini</i>	31
<i>Doğrusallık</i>	31
<i>Doğruluk</i>	31
<i>Kesinlik</i>	31
<i>Seçicilik</i>	32
<i>Duyarlılık</i>	33
<i>İn-vitro İlaç Salım Çalışmaları</i>	34
<i>Franz difüzyon hücresi ile yapılan çalışmalar</i>	34
<i>Diyaliz methodu ile yapılan çalışmalar</i>	34
<i>Meloksikam'ın diyaliz hücresinden salımı</i>	33
<i>Diblok kopolimer misellerden meloksikam'ın salımı</i>	34
<i>Triblok kopolimer misellerden meloksikam'ın salımı</i>	35
SONUÇ ve ÖNERİLER	36
KAYNAKLAR	37

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE NO ve ADI	<u>SAYFA</u>
Çizelge 1 ISO 10993 ve FDA 1995 Tüzüğüne Göre Test Materyalinde Yapılması Gerekli Testler	5
Çizelge 2. Misel Çözeltilerine Eklenen Meloksikam Miktarları ile Misel Çap ve PDI Değerindeki Değişimler	28
Çizelge 3 Doğruluk Çalışması Verileri	31
Çizelge 4 Gün içi Tekrarlanabilirlik Sonuçları	32
Çizelge 5 Günler Arası Tekrarlanabilirlik Sonuçları	32

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI	SAYFA
Şekil 1 Polimer Yapılar	2
Şekil 2 DEA, DMA, MEMA ve DPA blok Kopolimerlerinin Moleküler Yapısı	3
Şekil 3 DMA-DEA Diblok Kopolimerlerinin pH' ya Bağlı Miselleşmesi	7
Şekil 4 COX-2 Enzimi	9
Şekil 5 Meloksikam'ın Kimyasal Yapısı	11
Şekil 6 İnsan Derisinin Kesiti	14
Şekil 7 Franz Difüzyon Hücresi	16
Şekil 8 Ceketli Franz Difüzyon Hücresi	16
Şekil 9 Etkin Maddenin Misesle Hapsedilmesi	19
Şekil 10 Diyaliz Methodu	24
Şekil 11 VB 370 Boş Polimerik Misellerinin Parçacık Büyükülüğü Dağılımı	25
Şekil 12 Meloksikam /MeOH Çözeltisi Eklenmiş VB 370 Polimerik Misellerinin Parçacık Büyükülüğü Dağılımı	26
Şekil 13 VB 394 Boş Triblok Kopolimer Misellerinin Parçacık Büyükülüğü Dağılımı	26
Şekil 14 Meloksikam / DMSO Çözeltisi Eklenmiş VB 394 Triblok Kopolimer Misellerinin Parçacık Büyükülüğü Dağılımı	27
Şekil 15 VB 370 Polimerik Misel Çözeltisine 7.5 mg Meloksikam/ 0.3 mL DMSO Eklendiğinde Misellerin Parçacık Büyükülüğü Dağılımı	27
Şekil 16 Meloksikam' a ait Termogram	28
Şekil 17 Boş Misellere ait Termogram	29
Şekil 18 Meloksikam Yüklü Misellere ait Termogram	29
Şekil 19 Kullanılan Meloksikam' a Ait IR Sonuçları	30
Şekil 20 Meloksikam' a Ait Referans IR Spektrumu	30
Şekil 21 Meloksikam' ın Kalibrasyon Eğrisi	31
Şekil 22 Meloksikam' ın UV Spektrumu	32

Şekil 23 VB 370 Polimerik Misel Çözeltilisinin UV Spektrumu	33
Şekil 24 Misel-meloksikam Kompleksinin UV Spektrumu	33
Şekil 25 Meloksikam' ın Zamana Göre Salım Profili	34
Şekil 26 Meloksikam' ın Zamana Göre Diblok Kopolimer Misellerden Salım Profili	35

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

AS	: Ankilozan spondilit
ATRP	: Atom transfer radikal polimerizasyonu
BSH	: Bağlı standart hata
COX-1	: Siklooksijenaz 1 enzimi
COX-2	: Siklooksijenaz 2 enzimi
DEA	: 2-(dimetilamino)etil metakrilat
DMA	: 2-(dietilamino)etil metakrilat
DLS	: Dinamik ışın saçılımı
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DPA	: Poli{2-(diizopropilamino)etil metakrilat}
DSC	: Diferansiyel taramalı kalorimetri
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GPC	: Jel geçirgenliği kromatografisi
GTP	: Grup transfer polimerizasyonu
HCl	: Hidroklorik asit
HCA	: İnsan kolorektal adenom (Human colorectal adenoma)
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
IC	: İnhibisyon konsantrasyonu
ISO	: Uluslar arası Standartlar Teşkilatı
KH₂PO₄	: Potasyum dihidrojen fosfat
KOH	: Potasyum hidroksit
MeOH	: Metanol
MEMA	: Poli{2-(N-morfolino)etil metakrilat}
mPEG	: Metoksi poli(etilen glikol)
M_w	: Polimerin ortalama ağırlığı
M_n	: Polimerin sayısal ortalama molekül ağırlığı
MTS	: 1-metoksi-1-trimetilsiloksi-2 metil-1-propan
Mlx	: Meloksikam
Mtx	: Methotreksat
NaOH	: Sodyum hidroksit
NMR	: Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
NSAİİ	: Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar

OA	: Osteoartrit
RA	: Romatoit artrit
PAGE	: Poli(alil glisidil eter)
PDI	: Polidispersite indeksi
PEG	: Poli(etilen glikol)
PEO	: Poli(etilen oksit)
PGA	: Poli(glikolik asit)
PGG₂	: Prostaglandin G ₂
PGH₂	: Prostaglandin GH ₂
PLA	: Poli(laktik asit)
PLGG	: Poli{(laktik asit)-ko-[(glikolik asit)-alt-(l-glutamik asit)]}(PLGG)
P₂O₅	: Difosfor penta oksit
SCK	: Çapraz bağlı misel (Shell cross-linked)
SH	: Standart hata
TBABB	: Tetra-n-bütül amonyum bibenzoat
T_g	: Camsı geçiş sıcaklığı
THF	: Tetrahidrofuran
VB 370	: DEA- DMA diblok kopolimeri
VB 394	: DMA-DPA-MEMA triblok kopolimeri

GİRİŞ ve AMAÇ

Polimerik ilaç taşıyıcı sistemler, ilaç stabilitesini uzatmak, ilacın çözünürlüğünü arttırmak ve farmasötik moleküllerin taşınma özelliklerini geliştirmek açısından önemli bir yere sahiptir (Agrawal ve ark., 2006). Miseller genel olarak hidrofobik bir çekirdek ve hidrofilik bir dış çeperden oluşur. Bu çekirdek-çeper yapısı suda çözünmeyen yapıların çözünmesi için büyük önem taşımaktadır (Tang ve ark., 2003). Polimerik miseller çapraz bağlanarak hapsediği hidrofobik ilaçların salımlarını çapraz bağlama derecelerine göre uzatabilmektedirler. Ayrıca zincir uzunlukları ve oranları dolayısıyla molekül ağırlıkları değiştirilerek ilaç tutma kapasiteleri değiştirilebilmektedir. Zincir uzunlukları ve zincirler arası bağlar polimerlerin çözünürlüğüne etki eder. Eğer polimer biyolojik ortamla temas ettiğinde; şişmiyor, çözünmüyor veya erezyona uğramıyor ise ilaç salımı da mümkün olmayacak demektir. Polimerlerin biyoyumlu olmaları istenir. Bu nedenle, gerek piyasada mevcut polimerlerin seçiminde gerekse yeni polimer sentezinde yukarıda saydığımız özelliklere uygun hareket edilmesi gerekmektedir. Bu özelliklerin yanı sıra çalışma sıcaklığı da önemlidir. Çünkü polimerin sert bir yapıdan yumuşak hale geçtiği sıcaklıkta (camsı geçiş sıcaklığı) viskozite artar ve polimer ana zincirindeki C-C bağları etrafında serbestçe dönebilen polimer zincirleri hareketlidir. Dolayısıyla etkin madde difüzyonu kolay olur.

Model ilaç olarak seçilen meloksikam, non-steroidal antiinflamatuar ilaçların enolik grubunun üyesidir (Smith ve Baird, 2003). Romatoid artrit, osteoartrit ve diğer eklem hastalıklarının tedavisinde oldukça etkilidir (Yuan ve ark., 2006). NSAİİ' ların oral alımından sonra gözlenen en iyi bilinen yan etkileri , sistemik yan etki olmaksızın inflamasyon bölgesinde lokal absorpsiyon sağlayan topikal kremler, jel ve köpük formülasyonları gibi alternatif farmasötik formların geliştirilmesini hızlandırmıştır (Djordjevic ve ark., 2003). Meloksikam' ın piyasada bilinen bir topikal formu yoktur. Düşük moleküler ağırlığı, lipitte çözünebilirliği ve doku tolerabilitesinin oldukça iyi olması meloksikam' ı transdermal ilaç sistemleri için avantajlı hale getirmektedir. Bir çalışmada meloksikam' ın sodyum tuzu model ilaç olarak seçilmiş ve jeli oluşturulmuştur. Oluşturulan meloksikam sodyum jelinin biyoyararlanımı in vivo çalışma sonucu % 50.1 olarak bulunmuştur (Chang ve ark., 2007). Bu nedenlerden dolayı meloksikam model ilaç olarak seçilmiştir.

Meloksikam' ın piyasada tablet ve supozituar formları mevcuttur. Bilinen mevcut topikal uygulanan bir formu yoktur. Özellikle eklem romatizmalarında kullanılan topikal farmasötik formlar NSAİİ' ların alımından sonra görülen gastrointestinal yan etkileri ortadan kaldırdığı için daha avantajlı duruma geçmişlerdir. Hidrofobik yapıda olması farmasötik formülasyon dizaynını zorlaştırmaktadır (Chang ve ark., 2007). Bu sebeple hidrofobik ve hidrofilik kısımlardan oluşan diblok ve triblok kopolimerler miselleri meloksikam için uygun birer polimerik taşıyıcı adaydır. Yapılan bu çalışmada diblok ve triblok kopolimerlerinin pH etkisi ile miselleri hazırlanmıştır. Sentezlenen diblok- triblok polimerlerin zincir uzunlukları ve bağ yapıları değiştirilerek (çapraz bağlı) özellikle vücut sıcaklığında yüksek viskoziteli miseller hazırlanarak, tatbik edilen bölgede meloksikam' ın uzun süre kalması sağlanarak biyoyararlanımın da artacağı düşünülmektedir. Misellere meloksikam yüklenmiş ve misellerden salımı incelenmiştir.

KAYNAK BİLGİSİ

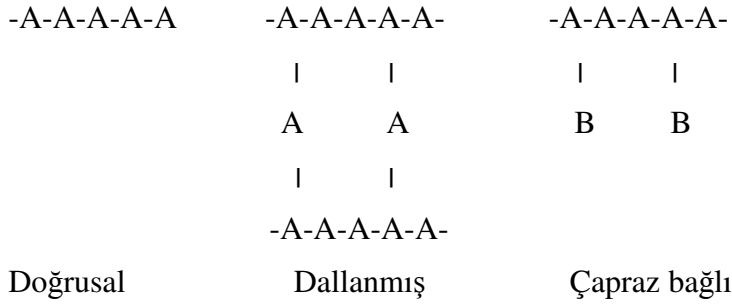
Polimerler ve Polimerik İlaç Taşıyıcı Sistemler

Polimerler

Polimerler , en basit tanımı ile çok sayıda aynı veya farklı atomların kimyasal bağlarla, az veya çok düzenli bir biçimde bağlanarak oluşturduğu uzun zincirli, başka bir ifade ile yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerdir.

Polimerler genellikle çok sayıda tekrarlanan “mer” veya “monomer” denilen basit birimlerden oluşur. Polimerler tek bir monomer biriminin tekrarlanmasıyla oluşuyorsa “homopolimer”, iki monomerin karışımından oluşuyorsa “kopolimer” olarak nitelendirilir (Peppas ve Peppas, 2002) .

Homo ve kopolimerler, doğrusal, dallanmış veya çapraz bağlı olabilir (**Şekil 1**).



Şekil 1. Polimer Yapılar (Peppas ve Peppas, 2002)

Polimerlerin sınıflandırılması

Polimerler ısıya karşı gösterdikleri davranışa göre iki grup altında incelenirler (Peppas ve Peppas, 2002):

- Termoplastikler; ısı ve basınç altında yumuşatılarak şekillendirilirler, doğrusal veya dallanmış yapıdadırlar.
- Termosetler; çapraz bağlı polimerlerdir ve bir kere şekillendirildikten sonra tekrar çözerek veya eriterek şekillendirilemezler.

Polimerler sudaki çözünürlüklerine göre iki gruba ayrılırlar (Esenoğlu, E., 2004):

Suda çözünür polimerler

Suda çözünür polimerler hidrofilik gruplarının özelliklerine göre dört gruba ayrılabilir:

Non-iyonik suda çözünür polimerler

- Poli(vinil alkol)
- Poli(etilen oksit)

Anyonik suda çözünür polimerler

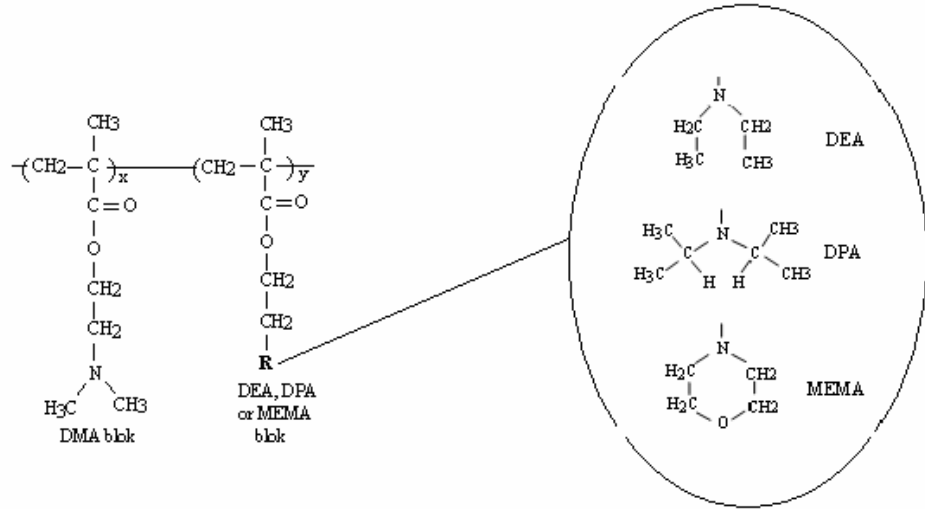
- Poli(akrilik asit)
- Poli(metakrilik asit)

Katyonik suda çözünen polimerler

➤ Poli{2-(dimetilamino)etil metakrilat}(DMA) :

DMA ve poli{2-(N-morfolino)etil metakrilat} (MEMA)' ın her ikisi de oda sıcaklığında hem nötral hem de asidik pH'da suda çözünebilir zayıf polibazlardır. DMA ve MEMA homopolimerlerinin ikisi de sıcaklıkla ters çözünlük gösterirler. İki polimerin bulanıklaşma noktası (çökelmenin olduğu sıcaklık) molekül ağırlıklarına bağlı olarak %1 lik sudaki çözeltileri için 32 ile 53°C arasındadır. Nötral ve bazik çözeltilerinde 32-53°C lere çökme görülür. Çözelti soğutulduğunda polimer yeniden çözümlü hale gelir. DMA- MEMA blok kopolimerlerinin benzer davranışlar göstermesi beklenir. Bununla beraber iki bloğun bulanıklaşma noktaları arasında nispeten küçük farklılıklar vardır. Ayrıca MEMA homopolimerinin oda sıcaklığında yüksek pH'daki çözünlüğü, 20°C'de DMA homopolimerinden daha fazladır. MEMA, sudaki çözeltisine elektrolit (sodyum sülfat, potasyum karbonat gibi) eklenmesiyle kolayca çökebilmektedir (Bütün ve ark., 2001; Bütün, 2003).

Poli{2-(diethylamino) etil metakrilat} (DEA) ve poli{2-(diizopropilamino) etil metakrilat}(DPA) DMA'nın tam tersi olarak nötral ve bazik pH'da sulu ortamlarda çözünmeyen homopolimerlerdir. Bu durum tersiyer amin grubunda azota bağlı olan alkil substitüentlerinin hidrofobikliğinin artması ile ilgilidir. Bu homopolimerler tersiyer amin grubunun protonlanmasına bağlı olarak asidik (pH=3-4) ortamlarda çözünmektedir (Bütün ve ark., 2001) (Şekil 2).



Şekil 2. DEA, DMA, MEMA ve DPA Blok Kopolimerlerinin Moleküler Yapısı

Suda çözünmeyen polimerler

Hidrofob polimerler suda çözünmez ve şişmezler (Peppas ve Peppas, 2002).

Polimerlerin özellikleri

Molekül ağırlığı ve polidispersite

Bir polimer örneğinin molekül ağırlığı için, farklı büyüklükte birçok molekülden oluştuğundan, ortalama bir değerden bahsedilir. Polimerin molekül ağırlığı, ortalama ağırlık (M_w) veya sayısal ağırlık (M_n) olarak ifade edilir (Peppas ve Peppas, 2002).

Polimerin sayısal molekül ağırlığı, polimerin toplam ağırlığının polimer moleküllerinin sayısına bölümüdür. Donma noktası düşmesi, kaynama noktası yükselmesi, osmotik basınç gibi kolligatif özelliklerin ölçümleri molekül sayısına dayanır ve bundan dolayı moleküler ağırlığın sayısal ortalamasına bağlıdır (http-1). Kolligatif özelliklerin ölçülmesine dayanan yöntemlerle elde edilir (http-2).

Ortalama ağırlık ise ışık saçılması, ultrasentrifüj, sedimentasyon gibi dağılımda büyük moleküllerin taşıdığı ağırlığı yansıtan yöntemlerle elde edilen molekül ağırlığıdır (http-2).

M_n değeri hiçbir zaman M_w değerinden büyük değildir. Ortalama ağırlığın, sayısal ortalama molekül ağırlığına oranı polimer karışımının polidispersitesidir. Bu oran polimer bütünü içindeki polimer moleküllerinin ağırlıklarının dağılımı gösteren bir indekstir (http-1).

$$PD = M_w / M_n \quad (\text{Eşitlik 1})$$

Burada PD; polidispersite indeksi, M_w ; ortalama ağırlık, M_n ; sayısal ortalama molekül ağırlığı' dır.

M_w/M_n 1' e eşit veya 1' den büyüktür. $M_w=M_n$ olduğu zaman bu polimerin monodispers olduğunu göstermektedir. İndeks büyüdükçe heterojenlik artmaktadır (Sheu, W., 2001).

Çözünürlük

Polimerin çözünmesi veya ilacın polimer matrikste çözünürlüğünü belirtmek için çözünürlük ifadesi kullanılır. Kontrollü salım sistemlerini hazırlarken önemle üzerinde durulması gereken husus, kullanılacak polimerlerin toksik olmayan çözücülerde çözünebilmesidir (Peppas ve Peppas, 2002).

Bir polimerin çözünürlüğünü şu durumlarda değişmektedir:

- Zincir uzunluğu arttıkça polimer çözünürlüğü azalır.
- Zincir bağları gevşek polimerlerde çözünme kolaydır.
- Zincirler arası çapraz bağlar ve kovalan bağlar olduğu durumda polimerler hiçbir çözücüde çözünmez.
- Kristal bölgeleri fazla olan polimerlerde çözünme yoktur (Peppas ve Peppas, 2002).

Camsı geçiş sıcaklığı

Sert ve camsı polimerin, yumuşak ve kauçuğumsu durumdaki haliyle dengede olduğu sıcaklığa "camsı geçiş sıcaklığı (T_g)" denilir, polimerin esnekliğini gösteren bir değerdir. Kauçuğumsu halde vizkozite artar ve polimer ana zincirindeki C-C bağları etrafında serbestçe dönebilen polimer zincirleri

hareketlidir, dolayısıyla etkin maddenin difüzyonu kolay olur. İlaçların difüzyonu polimerin yapısına ve Tg'sine bağlı olarak değişir. Polimerlerin Tg değerleri Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) ve Diferansiyel Termal Analiz (DTA) yöntemleri ile ölçülür (Peppas ve Peppas, 2002).

Biyolojik özellikleri

Genel olarak aranan biyolojik özellikler, polimerin biyolojik çevreyle iyi uyuşması, dokuyla temas ettiğinde iltahaba yol açmaması, kanserojen veya teratojen etki göstermemesi ve toksik olmamasıdır. Aşağıdaki tabloda kullanılan polimer materyalde veya ekstraktında, FDA/ ISO tüzüğüne göre biyolojik uyum ve güvenilirlik için uygulanan test türleri ve uygulama yöntemi kısaca belirtilmiştir (Peppas ve Peppas, 2002) (**Çizelge 1**).

Çizelge 1. ISO 10993 ve FDA 1995 Tüzüğüne Göre Test Materyalinde Yapılması Gerekli Testler (Peppas ve Peppas, 2002)

Test Cinsi	Yöntem
Hücreye toksik etki	Fare fibroblast hücre kültürü
Alerjik cevap	İntradermal enjeksiyon, yama uygulamak
İntrakutan iritasyon	Test hayvanlarına intrakutan enjeksiyon
Sistemik toksisite	Sıçanlara İ.V enjeksiyon
Pirojenite	Tavşanlarda ateş yükselmesi
Genetik toksisite	<i>Salmonella typhimurium</i> ve <i>Esscherichia coli</i> suşları, kromozom değişimi
Dokuya implantasyon	Makroskopik ve mikroskopik doku cevabı
Gözde iritasyon	Tavşan gözüne uygulama

Polimer sentezi

Living polimerizasyon sistemleri

Living polimerizasyon, sonlanma reaksiyonu olmayan bir polimerizasyon tipidir. Polimerleşme, monomerin tamamı tükeninceye kadar hatta ekstra monomer ilavesiyle devam eder. Teknik, farklı monomerlerin sıralı katılımı ile blok kopolimer sentezine olanak vermektedir. Bu yöntemle, tahmin edilebilir molekül ağırlıklı ve dar molekül ağırlık dağılımlı polimerler elde edilir. Düşük polidispersite living polimerizasyonun karakteristik bir özelliğidir. Çünkü monomer miktarı kontrol altındadır, zincir uzunluğu spesifik bir uygulamada kullanılmak üzere değiştirilebilir. %100 bir verim sağlanabilir. Living polimerizasyon katyonik, anyonik, grup transfer polimerizasyonu (GTP) ve atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP) olarak farklı sınıflara ayrılabilir (Esenoğlu, 2004; Krupers ve Möller, 1997; http-3.).

Grup transfer polimerizasyonu

GTP akrilik monomerlerin sentezinde kullanılan 20 yıldan uzun zaman önce DuPont' da keşfedilmiş yeni bir metoddur. Akrilat ve metakrilatların kontrollü polimerizasyonuna olanak vermektedir (Webster, 2000; Krupers ve Möller, 1997).

GTP son zamanlarda endüstride de kullanım alanı bulan kontrollü bir polimerizasyon yöntemidir. Bu yöntem polimerizasyonun daha hızlı olması, yakın moleküler ağırlık dağılımı gibi daha iyi polimer özellikleri sağlamaktadır. Bununla birlikte, GTP' nin protik safsızlıklara duyarlıdır ve kullanılan başlatıcının fiyatı oldukça yüksektir (Göbelt, 2005; Webster, 2000).

Blok Kopolimerler

Blok kopolimerler, çeşitli monomerlerin iki veya daha fazla sayıda bloktan oluşturduğu dairesel ya da doğrusal yapı, yüksek molekül ağırlığına sahip, makromoleküllerdir. En basitinden, AB diblok kopolimeri uç uca bağlanmış iki farklı homopolimerden meydana gelir. Bu kompleks genişletildiğinde ABA ve BAB ve $(AB)_n$ doğrusal multiblokları elde edilirken üçüncü bir kompozisyonu içeren polimer dizisi ABC kopolimeri bulunmuştur. Son yıllarda Armes, Billingham ve ark. tersiyer amin metakrilik sıraları içeren blok kopolimerler geliştirmişler, miselleşme çalışmaları için onları çekici hale getiren pH, sıcaklık ve elektrolit konsantrasyonuna bağlı çözünürlük özelliklerine sahip polimerlerin ilginç kombinasyonlarını sunmuşlardır (Hurter ve Hatton, 1992; Riess, 2003).

Blok Polimer Sentezi

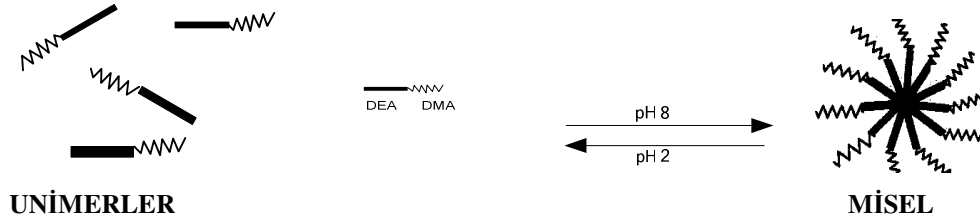
DMA-DEA, DMA-MEMA ve DMA-DPA diblok kopolimerleri GTP kullanılarak yüksek verimle sentezlenirler. Polimerizasyona ilk olarak DMA katılır, bunu ikinci monomer DEA, DPA veya MEMA izler. Bütün reaksiyonlar neme duyarlı oldukları için kuru azot altında gerçekleştirilir. Cam malzemeler ve transfer iğneleri bir gece önceden 140°C sıcaklıkta fırında bekletilir. Yüzeyde kalan nemi elimine etmek için fırından alınır alınmaz yüksek basınç altına bağlanır ve oda sıcaklığında soğutulur. Bazik alumina ve difosfor pentaoksit (P_2O_5) kurutucu kolonlarından geçirilir. Tüm monomerler hidrokinon metil eter inhibitörünü uzaklaştırmak için bazik aluminadan geçirilir (Bütün ve ark., 2001).

Çözücü olarak tetrahidrofur (THF), katalizör olarak tetra-n-bütil amonyum bibenzoat (TBABB) ve başlatıcı olarak 1-metoksi-1-trimetilsiloksi-2 metil-1-propan (MTS) kullanılmaktadır. Sırasıyla katalizör, THF ve MTS balona alınır. Çözelti karıştırılarak başlatıcının aktifleşmesi sağlanır. Polimerizasyona ilk olarak DMA katılır, bunu ikinci monomer DEA izler. İkinci polimer katılmadan ilk polimerin katılımıyla yükselen ortam sıcaklığının oda sıcaklığına gelmesi beklenir. Ortama metil alkol eklenerek polimerleşme sonlandırılır ve rotary evaporatör bağlanır. Elde edilen polimer vakum altında 50-60°C' de iki gün kurutulur (Bütün ve ark., 2001; Esenoğlu, E., 2004).

DMA-DEA diblok kopolimeri(VB 370)

DMA-DEA blok kopolimeri GTP yöntemi kullanılarak sentezlenmiştir (Esenoğlu, E., 2004). DMA-DEA dibloku, her iki kopolimer asidik ortamda hidrofilik-hidrofilik, bazik ortamda hidrofilik-hidrofobik gibi davrandığından pH'ya bağlı miselleşme gösterir. Tüm DMA-DEA blok kopolimerlerinin miselleşmesi

kopolimerlerin bileşimine ve sıcaklığa bağlı olarak pH=7-9 arasında gerçekleşir. Hidrofilik DMA bloğu miselin kabuğunu, hidrofobik DEA ise miselin çekirdeğini oluşturur (Bütün ve ark., 2001) (Şekil 3).



Şekil 3. DMA-DEA Diblok Kopolimerlerinin pH'ya Bağlı Miselleşmesi

DMA içeriği ağırlıkça %50' den fazla ise DMA-DEA dibloku nispeten nötral pH' da direkt suda disperse olup bloğun bileşimine göre 10-60 nm arasında misel oluştururlar. DEA bakımından zengin blok kopolimerler (>%55-60) bu şartlarda suda çözünmezler (Bütün ve ark., 2001).

Tersiyer amin metakrilat diblok kopolimerleri moleküler olarak nötral ve asidik ortamlarda çözünür ve çözeltinin pH'sı kopolimerin kritik miselleşme noktasının üzerine çıktığında misel formu bozulur (Bütün ve ark., 2001) .

Polimerlerin Karakterizasyonu

Polimerlerin karakterizasyonu için, jel geçirgenliği kromatografisi (GPC), nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (NMR), türbidimetri, hidrojen iyon titrasyonu, dinamik ışın saçılımı (DLS) ve yüzey gerilimi ölçme yöntemleri kullanılır (Bütün ve ark., 2001).

Çapraz Bağlı Miseller (SCK)

SCK, aktif maddelerin (ilaçlar, pestisitler, kokular) salımını sağlayan nano boyutta potansiyel taşıyıcılardır. İlk örneği Wooley ve ark. tarafından sentezlenmiştir (Weaver ve ark., 2004). Çapraz bağlı nanopartiküller stabil, kovalent bağlı polimerik misel orjinli yapılardır. SCK' ların hedeflendirilmiş ilaç salımı, metabolitlerin izolasyonu, çevresel safsızlıkların hapsedilmesi ve benzer enkapsülasyon/salım yetenekleri tespit edilmiştir (Becker ve ark., 2001; Liu ve ark. 2002).

Yapılan bir çalışmada poli(etilen glikol) (PEG) baz alınarak miseller oluşturulmuş ve misellerin çekirdeği çapraz bağlanmıştır. Çapraz bağlı misellere ilaç yüklendiğinde çapraz bağlı misellere ilaç yükleme kapasitesinin çapraz bağlı olmayanlara göre çok daha fazla (yaklaşık % 80) olduğu görülmüştür. Çapraz bağlı miseller değişik sıcaklıklarda farklı çözücülere konularak test edilmiş, çapraz bağlı olmayan misellerle karşılaştırıldığında termodinamik stabilitelerini yüksek sıcaklıkta korudukları görülmüştür (Tian ve ark., 2004).

Polimerik İlaç Taşıyıcı Sistemler

Polimerik ilaç taşıyıcı sistemler, ilaç stabilitesini uzatmak, ilacın çözünürlüğünü arttırmak ve farmasötik moleküllerin taşınma özelliklerini geliştirmek açısından önemli bir yere sahiptir. Mikroküreler, nanopartiküller, çözeltide disperse olmuş polimerik miseller veya polimer-ilaç bileşimleri gibi ilaç taşıyıcı sistemler,

hidrofobik ilaçlar ve diğer uzun süre kontrollü salınan bioaktif molekülleri enkapsüle etmek için kullanılırlar. Bu ilaç taşıyıcı sistemler için önemli bir gereklilik biyolojik olarak uyumlu olmalarıdır (Agrawal ve ark., 2006).

Polimerik miseller ilaç salınımındaki kullanımlarından dolayı önemli bir çalışma konusudur. Miseller genel olarak hidrofobik bir çekirdek ve hidrofilik bir dış çeperden oluşur. Bu çekirdek-çeper yapısı suda çözünmeyen yapıların çözünmesi için büyük önem taşımaktadır. Hidrofobik çekirdek aktif bileşen için uygun bir mikroortam sağlarken hidrofilik çeper de sulu ortamda hidrofobik kısım için bir sterik stabilizatör gibi davranmaktadır (Tang ve ark., 2003).

Polimerik misellerin ilaç taşıyıcı sistem olarak birçok avantajı vardır (Yokoyama, 2005):

- Çok küçük çapa sahip olmaları:

Bu neden ile retiküloendotelial sisteme takılmaz ve böbrek atılımından korunarak uzun süre kan dolaşımında kalabilirler. Ayrıca farmasötik ürünün sterilizasyonu için küçük çap büyük avantaj sağlamaktadır. Polimerik miseller kolayca 0.45 µm veya 0.2 µm por çaplı filtreler ile sterilize edilebilir.

- Yüksek yapısal stabiliteleri,
- Suda çözünürlüğü arttırması,
- Düşük toksisite,
- Farklı fonksiyonlara sahip iki fazdan oluşmaları:

Polimerik miseller içte çekirdek ve dışta çeper olarak üzere iki fazdan oluşurlar. Her faz ilaç salımında farklı bir role sahiptir. Çeper miselin biyolojik yapılarla temasını sağlar. İç çepere ilaç yüküdür ve salımdan sorumludur.

Blok Kopolimerler ile Yapılan Çalışmalar

Poli(laktik asit)- poli(etilen oksit)- poli(glikolik asit) (PLA-PEO-PGA) triblok kopolimerlerinin %5' lik misel çözeltisi kullanılarak sulundak ve tetrakainin 4-6 saat olan salım süreleri 10-20 güne çıkarılmıştır (Agrawal ve ark., 2006) .

Diğer bir çalışmada ABC triblok kopolimeri kullanılmıştır. Hidrofobik bir ilaç olan diprimadol misellere yüklenmiştir. MPEG-DMA-DEA miselleri bir ilaç taşıyıcı sistem gibi davranarak günlerce yavaş salım yapmışlardır (Tang ve ark., 2003) .

Doksorubisin ile yapılan çalışmada , etkin madde salımı için pH'ya duyarlı PEO, poli(alil glisidil eter) (PEO-PAGE) diblok polimerik misel sistemi kullanılmıştır. Misellerin ilaç salımı pH 5 ve pH 7 tampon çözeltileri kullanılarak araştırılmıştır. pH 5' deki ilaç salımının pH 7' ye göre çok daha hızlı olduğu tespit edilmiştir (Hruby ve ark., 2005) .

Amfifilik triblok kopolimer poli{(laktik asit)-ko-[(glikolik asit)-alt-(l-glutamik asit)]}(PLGG), PEG, PLGG ile suda çözünürlüğü çok az olan antineoplastik ajan paklitakselin bileşiği hazırlanmıştır. Sonuçlar kompleksten paklitakselin sitotoksik etkisinde kayıp olmaksızın salındığını göstermiştir (Xie ve ark., 2007) .

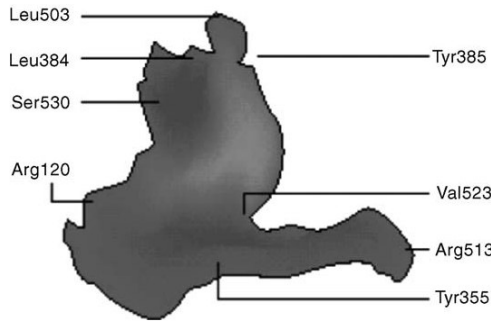
Paklitaksel ile yapılan bir başka çalışmada PLA-PEG-PLA (ABA) ve PEG-PLA-PEG (BAB) triblok kopolimerleri kullanılmıştır. Her iki polimerden paklitaksel salımına bakılmış, paklitaksel' in difüzyon kontrollü salımının ABA' dan daha az olduğu görülmüştür. Bununla beraber her iki polimerden ilaç salımı günlerce sürmektedir (He ve ark., 2006) .

Zhang ve arkadaşları, amfifilik diblok kopolimer metoksi poli(etilen glikol) (mPEG) ve PLA'nın polimerik miselleri suda çözünürlüğü az olan metotreksatı (Mtx) taşımak için dizayn edilmiştir. Sonuç olarak Mtx'in %50'den az miktarı 5 gün içinde salınmıştır (Zhang ve ark., 2005) .

Non-Steroidall Antienflamatuvar İlaçlar

Narkotik analjezikler dışında kalan analjeziklere bu grup ilaçların farmakolojik etki profiline uygun düşen bir adla "non-steroidal antienflamatuvar ilaçlar (NSAİİ)" ya da kısaca "non-steroidal analjezikler" denir. Bu ilaç grubu bağımlılık yapmadıklarından ve uyuşukluk, bilinç kaybı oluşturmadıklarından ağırlı hastalıkların çoğunda tercih edilirler. Özellikle artrit, osteoartrit ve benzer romatizmal hastalıklar gibi inflamasyona bağılı uzun süre tedavi gerektiren durumlarda yararlıdırlar (Melli ve Kayaalp, 2005). Osteoartrit ve romatoid atritin farmakoterapisinde NSAİİ'lar ile ağrının dindirilmesi, inflamasyonun baskılanması ve hareketliliğin devamı amaçlanmaktadır (Emery ve ark., 2002). Buna karşın bu ilaçların büyük çoğunluğu grup etkisi olarak gastrointestinal sistemde basit bir dispepsiden ölümlle sonuçlanabilen mide perforasyonuna kadar değişik boyutlarda yan etkiler oluşturabilmektedir (Melli ve Kayaalp, 2005) . NSAİİ' ların oral alımından sonra gözlenen en iyi bilinen yan etkileri , sistemik yan etki olmaksızın inflamasyon bölgesinde lokal absorpsiyon sağlayan topikal kremler, jel ve köpük formülasyonları gibi alternatif farmasötik formların geliştirilmesini hızlandırmıştır (Djordjevic ve ark., 2003).

Bilinen NSAİİ (genellikle Siklooksijenaz-2 (COX-2) ve Siklooksijenaz-1 (COX-1) inhibitörleri) prostaglandinlerin (PG) ürünlerini inhibe ederek çalışırlar. PG' ler inflamasyona neden olan ve immün cevapların sonuçları olarak bilinen vücutta yaygın olarak bulunan yağ asitleridir (http-4). NSAİİ' ların en belirgin özelliği COX-2'nin hidrofilik kısmında yer alan arginin (Agr-513) ile reaksiyona giren sülfon (-SO₂) ya da sülfonamid kısmının bulunmasıdır (Rao ve ark., 2005) (Şekil 4) .



Şekil 4. Cox-2 Enzimi (Rao ve ark., 2005)

COX arasıdonik asidin iki oksijen molekülünün katılımı ile prostaglandin endoperoksitleri olan prostaglandin G₂ (PGG₂) ve prostalandin H₂ (PGH₂)' ye dönüşümünü katalizler. COX iki forma sahiptir; COX-1 ve COX-2. Bu iki form farklı fizyolojik ve patolojik işlevlere sahiptir. COX-1, doku ve hücrelerde sürekli bulunan yapısal bir enzimdir, hücrenin fizyolojisinin düzgün çalışmasını sürdürmesinde, doku homeostazının sağlanmasında önemli rol oynar. COX-1 mide mukozasında, böbrekte, santral sinir sisteminde, damar endotelinde, trombositlerde bulunur. COX-2 ise inflamasyon prosesini oluşturan prostaglandin ürününü katalizleyen indüklenebilir bir enzimdir. Tümör promotörleri, sitokinler (tümör nekroz faktörü α ,interlökin-1), büyüme hormonları ve hipoksi tarafından indüklenebilir. İndüklenme doku hasarı veya inflamasyon esnasında meydana gelebilir. Son zamanlarda, COX-2'nin tümör oluşumunun ve büyümesinin ilerlemesine etkisi olduğu görülmüştür. Klinik ve klinik öncesi çalışmaların her ikisinde selektif COX-2 inhibitörlerinin kolorektal kanserin önlenmesinde ve tedavisinde yararlı olduğunu göstermektedir (Rowland ve ark., 2007; Chapple ve ark., 2000; Chuang ve ark., 2007; Steinmeyer, 2000).

COX inhibitörleri iki izoform üzerindeki etki güçleri (İC₅₀ değerlerinin oranı)¹ göz önüne alınarak dört gruba ayrılmıştır :

1. COX-1' e selektif: Kardiyovasküler profilakside kullanılan düşük doz aspirin dışında, klinikte kullanılan COX-1 e özgül inhibitörler bulunmamaktadır (Melli ve Kayaalp, 2005, Frölich, 1997) .
2. COX' lara selektif olmayan: Selektif olmayan COX inhibitörleri ise iki izoform arasında belirgin bir seçicilik göstermeyen inhibitörlerdir ve bugün tedavide kullanılan NSAIDs'ların çoğu bu özelliği göstermektedir (Melli ve Kayaalp, 2005; Rehman ve Sack, 1999; Frölich, 1997).
3. COX-2' ya selektif olan inhibitörler: Yüksek dozlarda COX-1 inhibisyonu görülebilir (Kayaalp, 2005; Rehman ve Sack, 1999; Frölich, 1997). Bu grupta meloksikam, etodolak ve nimesulid bulunur (Melli ve Kayaalp, 2005).
4. COX-2 'ye yüksek selektivite gösteren inhibitörler: Klinikte kullanıldıkları maksimum dozlarda bile COX-1' i inhibe etmediği kabul edilen inhibitörlerdir.

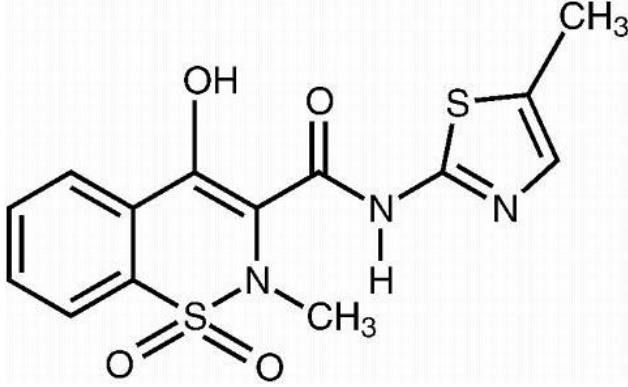
COX-2' ye özgül ilaçlar; selekoksib, valdeokoksib ve etorikoksib'dir (Melli ve Kayaalp, 2005).

Meloksikam

Meloksikam soluk sarı renkli bir tozudur. Pratikte suda çözünmez. Asetonda az, %96'lık etanolde ve metanolde çok az çözünürken dimetil formamid de çözünür. Metanoldeki %0.0015 a/h çözeltisi 240 nm'den 450 nm'ye kadar olan aralıkta ışık absorblar. 354 nm'deki absorbanı yaklaşık olarak 0.8'dir (BP, 2005) .

Kimyasal yapısı 4-hidroksi-2-metil N-(5-metil-2-tiyazol)2H-1,2-benzotiazin-3-karboksamid şeklindedir (Rao ve ark., 2005) (**Şekil 5**) .

⁽¹⁾ COX-1 ve COX-2 enzimlerinin %50'sini inhibe eden ilaç konsantrasyonudur (Fenner, 1997)



Şekil 5. Meloksikam'ın Kimyasal Yapısı

Farmasötik dozaj formlarında meloksikamın tayini için %35' i spektrofotometrik ve %45' i likit kromatografisi olmak üzere 30 civarında metod tanımlanmıştır (Rao ve ark., 2005) .

Spektrofotometrik, florimetrik, elektrokimyasal metodlar ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) meloksikam için tanımlanan tayin yöntemleridir (Taha ve ark., 2006). UV spektrofotometresinin meloksikamın tayini için uygun olduğu yapılan validasyon çalışması ile kanıtlanmıştır. Fakat meloksikam' ın plazmada tayini için genelde kullanılan yöntem HPLC' dir (Nemutlu ve Kır, 2004) .

Farmakokinetik

Oral alındığında yavaş absorbe edilir fakat yaklaşık olarak 5-6 saat içinde kandaki maksimum seviyesine ulaşır ve eliminasyon yarı ömrü 20 saattir. Plazma proteinlerine yüksek oranda (%99'dan daha fazla) bağlanır. Genelde oksidasyon yoluyla metabolize olur, yaklaşık aynı miktarlarda idrar ve dışkı ile atılır. %3' den az bir miktarı ise değişmeden vücuttan atılmaktadır (Rao ve ark., 2005, Boulton-Jones ve ark. 1997; Melli ve Kayaalp, 2005; Martindale, 1999).

Endikasyonları

Meloksikam 1977 yılında yeni tip NSAİİ olarak geliştirilmiş ve seçici COX-2 inhibitörü olarak katagorilendirilmiştir. Aynı konsantrasyondaki meloksikam COX-2 ' yi %80 inhibe ederken (IC₈₀), COX-1 üzerinde %25 (IC₂₅) inhibisyona neden olmaktadır (Naruse ve ark., 2007).

Meloksikam, romatoid artrit, osteoartrit ve diğer eklem hastalıklarının tedavisinde oldukça etkilidir(Yuan ve ark., 2006 ; Taha ve ark. , 2006). Osteoartrit için önerilen günlük doz günde bir defa 7.5 mg'dır. Bu doz maksimum doz olan 15 mg'a çıkarılabilir (Smith ve Baird, 2003) . Romatoid artrit tedavisinde günlük doz tek seferde oral alınan 15 mg' dır. Ankilozan spondilit tedavisinde doz günde 15 mg' dır (Martindale, 1999) .

Romatoid artrit (RA), başta el ve ayak eklemleri olmak üzere birçok eklemi simetrik olarak etkileyen, eklemlerde ileri derecede şekil bozukluğuna ve hareket kısıtlanmasına yol açan kronik inflamatuvar bir hastalıktır (http-5).

Osteoartrit (OA), halk arasında bilinen ismiyle kireçlenme, eklemlerde kıkırdak dokunun yapısında bozulma, kıkırdakta incelme, aşınma ve tahribatın ortaya çıktığı en sık görülen eklem hastalığıdır. Hastalığın ilerlemesi ile birlikte eklemlerde yük taşınmasını sağlayan kıkırdağın tamamen ortadan kalktığı ve kemik yüzeylerin birbiri ile temas etmeye başladığı görülür. İlerleyen kıkırdak harabiyeti ile birlikte eklemde ağrı ortaya çıkar (http-6).

Ankilozan spondilit (AS), öncelikle omurgayı tutan, ağrılı, şekil bozukluğu ve aktivite kısıtlanması ile sakatlığa neden olan iltihaplı romatizmal bir hastalıktır. Yunanca “*spondylos*” omurga demektir. Spondilit, omurgayı etkileyen iltihaplanma anlamına gelir. Eklem ve yumusak dokuların her ikisinde birden görülür. Ankiloz ise iltihaplanma sonucu eklem ve çevresindeki yumusak dokuların sertleşip ileri evrede kemiklesmesi demektir. AS, asıl olarak omurgayı etkilemesine rağmen, kalça eklemi daha sıklıkla olmak üzere, diz, el, ayak ve omuz eklemlerini tutabilir. Eklem çevresindeki yumuşak dokuları da etkiler, bu durum eklem hareketlerinin daha fazla kısıtlanmasına neden olur. AS, göz, kalp gibi bazı organları da tutabilir (http-7).

Yapılan bir çalışmada meloksikam’ın iki tür kolon kanser hücresi olan COX-2 pozitif kolorektal kanser hücreleri; HCA-7 ve Moser-S ve negatif kolorektal kanser hücresi; HCT-116 üzerine etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak HCA-7 ve Moser-S kolon büyüklüklerinde meloksikam tedavisi süresince dikkat çekici bir azalma görülmüştür (Goldman ve ark. , 1998).

MG-63 osteokarsinom hücrelerine kullanılan sitotoksik ilaçlar ve meloksikamın sinerjik etkisi araştırılmıştır. Çalışmada osteokarsinom hücresi MG-63 için kullanılan sisplatin, doksurubisin ve 4-hidroperoksi ifosfamid ile meloksikam arasındaki sinerjik etki araştırılmıştır. Sonuçlar meloksikam kombinasyonunun hastalarda klinik olarak uygulanabileceğini göstermiştir (Naruse ve ark. , 2007).

Meloksikam’ın yan etkileri

Meloksikam diğer NSAİİ’lar ile karşılaştırıldığında daha iyi gastrointestinal tolerans göstermektedir (Yuan ve ark., 2006,34). Yapılan bir çalışmada meloksikam ve piroksikamın gastrik mukozaya olan etkileri direkt olarak özofago-gastro-duodenoskopi ile çalışılmıştır. İki körlü, plasebo kontrollü bu çalışmada meloksikam’ın 7.5 ve 15 mg’lık dozları plasebo ve 20 mg piroksikam ile günlük olarak uygulanmıştır. 4 haftalık süre sonunda piroksikam alan hastaların endoskopik skorunun meloksikam 7.5 mg ve plasebo alanlara göre oldukça yüksek olduğu görülmüştür. 15 mg alan 13 hasta içinde ise sadece bir hastada gastrik ülserle rastlanmıştır. Başka bir çalışmada ise meloksikam 100 mg diklofenak ile karşılaştırılmış, diklofenak’ın meloksikam’a göre çok daha fazla karın ağrısı, bulantı, kusma ve diyareye neden olduğu tespit edilmiştir (Furst, 1997).

Meloksikam içeren ticari preparatlar

Exen tablet 7.5 mg, Exen Fort tablet 15 mg (Sanovel), Nobel İlaç tarafından üretilen Melox 7.5 mg ve Melox Fort 15 mg tablet, Bilim İlaç firmasının ürettiği Zeloxim 7.5 mg ve Zeloxim Fort 15 mg tablet, Mobic 7.5 mg tablet ve Mobic Fort

15 mg tablet (Boehringer Ingelheim), Biofarma' nın ürettiği Loxicam 7.5 ve 15 mg tablet piyasada bulunan meloksikam içeren ticari preparatlardır (http-8).

Topikal İlaç Sistemleri

Topikal uygulama alternatif bir ilaç uygulama yoludur. Topikal ürünler derinin bir veya birden fazla katmanında lokalize etki sağlamak amacıyla tasarlanmıştır (Örneğin; güneşten koruyucular, lokal anesteziler, keratolitik ajanlar, antiseptik ve antienflamatuar ajanlar) (http-9). Topikal uygulama ya dermatolojik veya lokal durumların tedavisinde ilaçların deriye geçmesi (dermal yol) ya da sistemik durumların ve hastalıkların tedavisi için derinin içinden geçerek kan akımına karışması (transdermal yol) ile etki gösterir (http-10). Transdermal ilaç sistemleri için birincil hedef organ deri değildir (http-9). Oral alımla görülen gastrointestinal irritasyon, ilk geçiş etkisi ve metabolik bozunmanın önlenmesi bu sistemlerin popüleritesini arttırmıştır (Kikwai ve ark., 2005). Topikal uygulanan ilaçlar derinin fizyolojik durumuna göre dağılırken klinisyenler hastalıklı alanda ilacı tutabilmek için minimal absorpsiyon istemektedirler (Huang ve ark., 2005). Topikal ilaç uygulamasının birkaç avantajı (http-10):

- İlacın karaciğerde uğradığı ilk geçiş etkisi ve gastrointestinal sistemde uğradığı etkilerden korunması,
- Sistemik dolaşıma geçmeden uygun konsantrasyonda tedavi bölgesinde kalarak lokal salımı sağlaması,
- Oral dozaj formlarını yutmakta zorluk çeken veya injeksiyonun komforunu bozduğu hastalarda ilaç alımını kolaylaştırması olarak sayılabilir.

Derinin yapısı

Deri vücudu dış etkenlerden koruma, homeostazı sürdürme fonksiyonları olan vücudun en geniş organıdır. Derinin toplam yüzeyi yaklaşık 1.8-2 m² ve ağırlığı 9 kg' dır. Seçici bir penetrasyon bariyeridir. Kimyasallara, mikroplara, alerjenlere, mantar ve radyasyona karşı bariyer görevi görür. Deri üç bölümden oluşur; epidermis, dermis ve hipodermis. Derinin en üst katmanı olan epidermis, sürekli yenilenen, katmanlı, keratinleşen, tırnak, ter bezleri, kıl folikülleri ve yağ bezleri gibi eklentilerin oluşmasına sebep olan skuamöz epitel bir yapıdır. Epidermis iki tip hücre üretir; birinci tip hücreler desmozomların bir arada tuttuğu ve keratin yapımından sorumlu keratinositlerdir (%90). İkinci tip hücreler ise dendrit hücreleri, melanositler, Langerhans hücreleri ve Merkel hücreleridir. Morfolojik görüntü ve hücre fonksiyonlarına göre 5 ayrı tabaka içerir (Değim, T., 2007; Huang ve ark., 2005; Venter ve ark., 2001; http-11; http-18) (**Şekil 6**):

-*Stratum bazale*

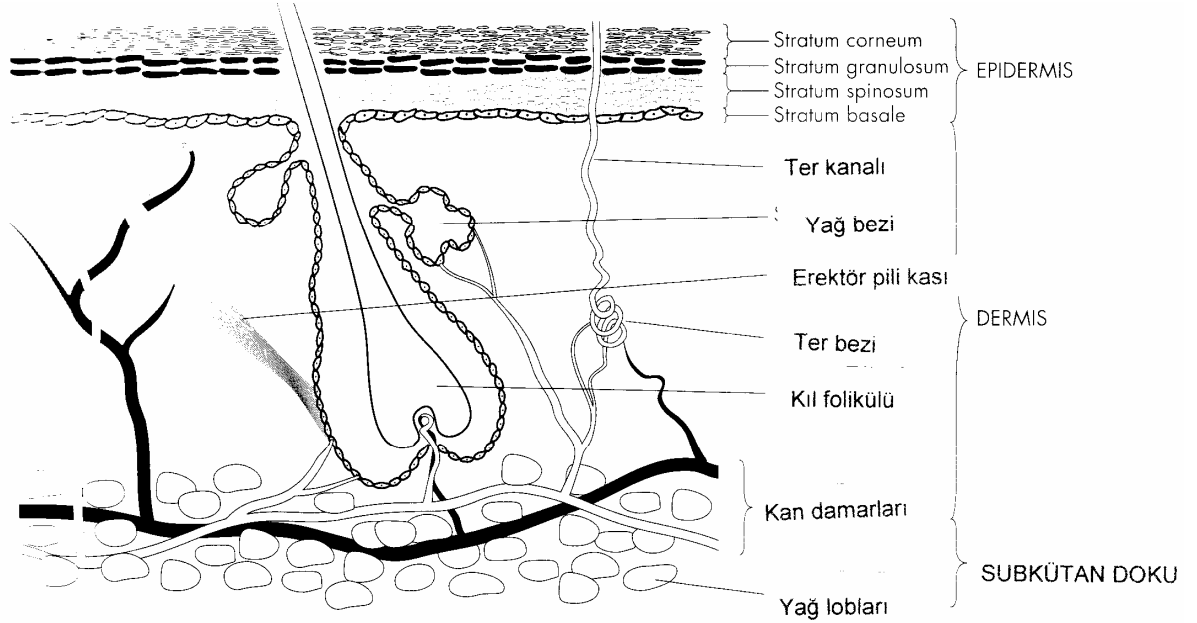
-*Stratum spinosum*

-*Stratum granulosum*

-*Stratum lucidum*

-*Stratum corneum*

Epidermis, kalınlığı 10-12 µm arasında değişen (Huang ve ark., 2005;http-9), birçok bileşiğin vücuda geçişinde çok önemli rol oynayan en dış tabakayı, *stratum corneum*' u oluşturur.



Şekil 6. İnsan Derisinin Kesiti (Williams, 2003)

Stratum corneum 15-20 kat, ölü, çekirdeksiz, dökülme özelliği olan tamamen keratenize epitelyum korneositlerinden meydana gelir. Bu tabaka % 40 lipit, %40 protein ve %20 sudan oluşur. Proteinin %80' i fibröz (lifsî) protein olan keratindir. *Stratum corneum* ilaçların geçirgenliği ve penetrasyonu için ana bariyeri oluşturmaktadır (Değim, T., 2007; Huang ve ark., 2005; Afouna ve ark., 2003; Barry, 2001; http-9).

Deriden İlaç Absorbsiyonu

Hidrofilik veya yüklü moleküllerin deriden geçişi *stratum corneum*'un yağ açısından zengin doğası ve düşük su içeriği nedeniyle zor olarak nitelenebilir. Lipofilik ilaç moleküllerinin geçişi bu moleküllerin *stratum corneum*' un hücrelerinin çevresini saran intraselüler lipitler içindeki çözünürlüklerinden dolayı kolaylaşır. Hidrofilik moleküllerin deriden absorpsiyonu porlardan veya kıl foliküllerinin, yağ ve ter bezlerinin açıklıklarından gerçekleşebilmektedir. Fakat bu açıklıkların tüm deri yüzeyine oranı yaklaşık olarak %1'dir (Huang ve ark., 2005; Liu ve ark., 2005; Benson, 2005; http-9; http-11; http-18).

Difüze olan molekülün *stratum corneum* ile temas ettikten sonra alt dokulara geçebilmesi için iki yol vardır; transappendageal (porlardan ve boşluklardan) yol ve transepidermal yol. Transappendageal yol *stratum corneum*' dan penetrasyonun atlatılarak kıl foliküllerinden, ter bezlerinden ve yağ bezlerinden olmasından dolayı "yan yol (shunt)" olarak da bilinir. Bu yol iyonlar ve büyük polar moleküller için önemli bir geçiş yolu olabilir. İkinci bir yol transepidermal yol iki alt bölüme ayrılır; intersellüler ve transsellüler yol. Polar ve hidrofilik bileşikler transsellüler yolla geçerken, lipofilik maddeler intersellüler yolla geçer (Huang ve ark.,2005; Afouna ve ark., 2003; Barry, 2001; Benson, 2005; http-11; http-12).

Deriden ilaç absorpsiyonu pasif difüzyonla gerçekleşir (Huang ve ark., 2005; http-6; Minghetti ve ark.,2007; Değim, T, 2007). *Stratum corneum*' dan ilacın geçiş hızı Fick' in difüzyon yasası ile açıklanabilir.

$$\frac{dM}{dt} = \frac{D \cdot \Delta C \cdot K}{h} \quad (\text{Eşitlik2})$$

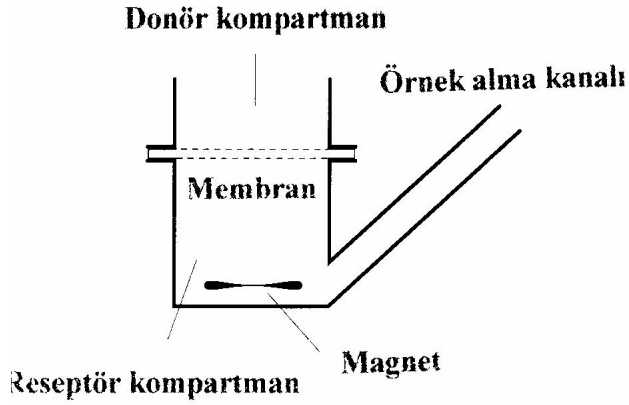
Burada, dM/dT ; *stratum corneum*' dan maddenin salım hızı, D ; difüzyon katsayısı, ΔC ; *stratum corneum*' dan geçen ilacın konsantrasyonu, K ; membran ve formülasyon ortamı arasındaki partiyon katsayısı ve h ; *Stratum corneum*' un kalınlığıdır (http-9).

Bir bileşiğin insanlardaki perkütan absorpsiyonunu tespit etmenin ideal yolu insanlar üzerinde gerçek çalışmalar yapmaktır. Fakat birçok bileşiğin toksik etkisi fazla olduğundan insanlar üzerinde *in vivo* test yapmak için uygun değildir. Bunun yanında, bu sistemlerin *in vivo* olarak insanlarda denemesi maddi yönden, zaman yönünden ve etnik kısıtlamalardan dolayı oldukça zordur. Onun için çalışmalar kesip alınan deri (insan kadavrasından, hayvanlardan) ile *in vitro* olarak yürütülmektedir. Hayvan derileri kalınlıklarındaki, *stratum corneum*' un yapısındaki farklılıklarından dolayı insan derisinden oldukça farklıdır. Bu nedenle *in vitro* çalışmalar genellikle statik veya sürekli akış hücresi şeklindeki difüzyon hücre sistemleri kullanılarak yürütülür. *İn vitro* geçirgenlik çalışması için en çok kullanılan statik dizayn Franz difüzyon hücresidir (Ansari ve ark., 2006; Bosman ve ark., 1998).

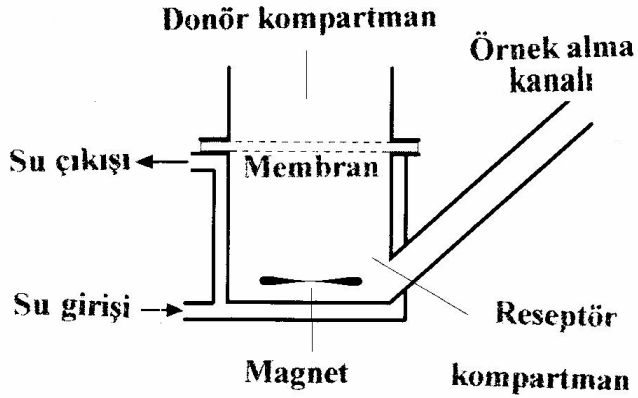
Franz difüzyon hücresi

Dikey difüzyon hücresi ilk olarak Dr. Thomas Franz tarafından topikal ve transdermal ilaç formülasyonlarını içeren formülasyonların (oftalmikler, kozmetikler, deri koruyucu preparatlar ve pestisitler) deri geçirgenliği çalışmasında kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Dikey difüzyon hücre sistemi topikal preparatların kalite kontrolleri için ideal bir araçtır (http-13) (Şekil 7 ve 8).

Franz difüzyon hücresi donör faz ile rezervuar çözeltinin arasına membran tutturulan iki kompartman içerir (Kierstan ve ark., 2001; Morales ve ark., 2004). Hücre şeffaf camdan yapılmıştır ve hücrenin donör kısmı reseptör kısmına bir kısıkaç ile tutturulur (http-14 ve http-15). Membranı yerinde tutmak için 'O' halkası kullanılır. Geçirgenlik deneylerinde sıcaklık kontrolü önemli bir faktördür. Birçok difüzyon hücresinde sıcaklığı kontrol etmek amacıyla su ceketleri kullanılır (http-16).



Şekil 7. Franz Difüzyon Hücresi (Williams, 2003)



Şekil 8. Ceketli Franz Difüzyon Hücresi (Williams, 2003)

Perkütan Emilimi Etkileyen Faktörler

Perkütan absorpsiyonu ve topikal uygulamadan sonra topikal biyoyararlanımı etkileyen faktörler (http-18):

- Bileşiğin fizikokimyasal özellikleri
- Taşıyıcı sistemin fizikokimyasal özellikleri
- Uygulama şartları
- Derinin durumu' dur.

GEREÇLER

Kullanılan Maddeler

Meloksikam	: Pharmaloam B.V, Amsterdam(Seri No:AH-5-21846)
DMSO	: Merck, Almanya
HCl(%37.5)	: Reidel-de Haen, Almanya
KOH(%85)	: Reidel-de Haen, Almanya
NaOH	: Reidel-de Haen, Almanya
Metanol	: Merck, Almanya
KH ₂ PO ₄	: Merck , Almanya
DEA-DMA diblok kopolimeri(VB 370) ve DMA-DPA-MEMA triblok kopolimeri (VB 394) ⁽²⁾	

Kullanılan Cihazlar

UV spektrofotometre	: UV-160A, Shimadzu, Japonya
pH metre	: WTW Series-İnolab-pH72, Almanya
DSC	: DSC-60, Shimadzu, Japonya
DLS	: ALV/CGS-3 (Malvern) Ganiometre Sistemi, İngiltere
Dijital terazi	: Ohaus, İsviçre
Diyaliz tüpü	: Sigma D-0405 (12.000 Dalton Cut off, Lot-91H0713), Almanya
IR spektrumu	: PerkinElmer FT-R Spectrum 2000, Amerika
Manyetik karıştırıcı	: Heildolph MR 3001 K, Almanya
Ultrasonik banyo	: Sonorex, Almanya

⁽²⁾Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Vural BÜTÜN' den temin edilmiştir.

YÖNTEMLER

Polimer Sentezi

DMA-DEA (% oranları: 42:58) diblok kopolimeri ve DPA-DMA-MEMA (% oranları: 27:41:32) triblok kopolimeri kaynak bilgisinde (Sayfa 6) da bahsedildiği şekilde GTP ile sentezlenmiştir.

Polimer Çözeltilsinin Hazırlanması

Diblok polimer çözeltisinin hazırlanması

20°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda polimerler çökme gösterebilmektedirler. Bu nedenle çözeltiyi hazırlamakta kullanılan distile su buzdolabında soğutulmuştur. Polimer çözeltisi %1'lik çözeltiden seyreltilerek %0.5- 0.3- 0.05 olmak üzere 4 farklı konsantrasyonda hazırlanmıştır. Çözünmenin tam olabilmesi için üzerine 2 M hidroklorik asit (HCl) çözeltisinden polimer çözeltisinin pH'sı yaklaşık 2 olacak şekilde birkaç damla damlatılmıştır.

Triblok polimer çözeltisinin hazırlanması

VB 394 triblok kopolimerinin %1 konsantrasyonundaki çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlama esnasında sıcaklığın oda sıcaklığının üzerine çıkmamasına dikkat edilmiş çözelti aralıkları buzdolabında soğutulmuştur. Diblok kopolimer çözeltisinde olduğu gibi pH değerinin yaklaşık 2 olup polimerin tam çözünmesi için 2 M HCL çözeltisinden birkaç damla eklenmiştir.

Misellerin Oluşturulması

DMA-DEA blok kopolimerlerinin miselleşmesi kopolimerlerin bileşimine ve sıcaklığa bağlı olarak pH=7-9 arasında gerçekleşir (Bütün ve ark., 2001). Ortam sıcaklığı arttıkça daha düşük pH'da, sıcaklık düştüğünde ise yüksek pH(8-9)' da miseller oluşturulmuştur.

Polimer çözüldükten sonra 2M potasyum hidroksit (KOH) ile çözelti bazikleştirilmiştir. Asit ve baz ekleme işlemleri manyetik karıştırıcıda, 700 ve 1200 rpm hızlarında yapılmıştır. Hız 1200 rpm'e baz çözeltisi eklenirken, çökme meydana gelmemesi için çıkartılmıştır. Polimerin misel verdiği pH değerine yaklaşıncaya seyreltik KOH damlatılmıştır. Çalışma boyunca sıcaklık artışını önlemek amacıyla çözelti aralıklı olarak buzdolabında soğutulmuştur. Miselin oluştuğunu gösteren hafif mavimsi renk gözlenince çözeltiye KOH ilavesine son verilmiştir.

DPA-DMA-MEMA triblok kopolimer misellerinin hazırlanırken yukarıda bahsedilen diblok kopolimer misellerini hazırlama yöntemi izlenmiştir. VB 394 polimerik miselleri yaklaşık 27°C'de pH=7.9' da oluşturulmuştur.

Misellerin Karakterizasyonu

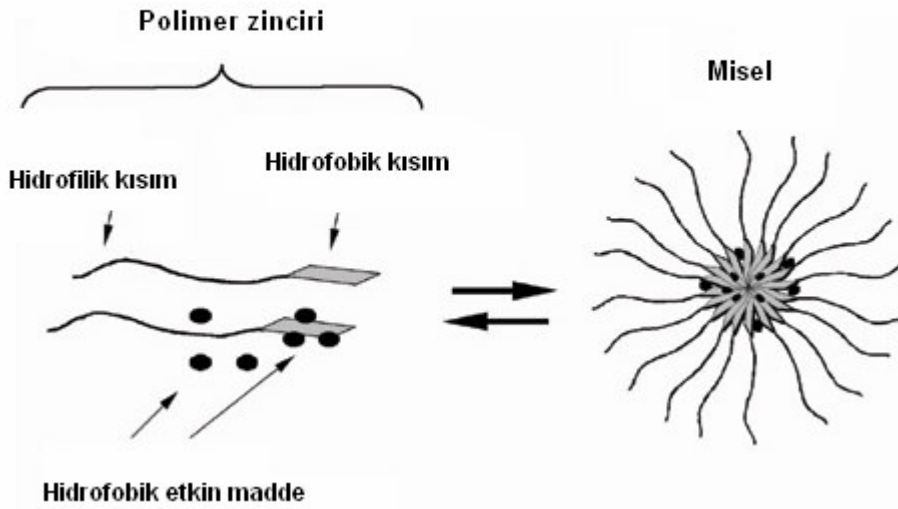
Dinamik Işın Saçılımı (DLS) cihazında veya zetasizer ile ölçümü yapılarak misel oluşumu doğrulanmış, misellerin polidispersitesi ve çapı belirlenmiştir. Ölçümler alınmadan önce misel çözeltisi 0.45 µm çaplı filtre ile filtrelenmiş ve DLS' de ölçüm alınacağı zaman çözelti içerisindeki hava kabarcıklarını uzaklaştırmak için filtrat ultrasonik banyoda 15 saniye kadar bekletilmiştir.

Misel Çözeltisine İlaç Yüklenmesi

Misel çözeltisine ilaç yükleme işlemi için iki ayrı yükleme metodu kullanılabilir:

- Polimer çözeltisine asit ilave edilmeden asitte çözünebilir etkin madde ilave edilerek ikisi beraber çözündürülüp baz ilavesi ile maddeyi misel oluşumunun içine hapsedmek (**Şekil 9**),
- Polimerik misel çözeltisini oluşturduktan sonra etkin maddeyi çözelti halinde misel çözeltisi içerisine ilave etmek

Bu yöntemlerden ilki meloksikam asit ortamda çözünmediği için tercih edilmemiştir. Meloksikamın metanol ve dimetilsülfoksit (DMSO) içerisindeki çözeltisi kullanılmıştır.



Şekil 9. Etkin Maddenin Misele Hapsedilmesi (http-19)

İlaç yüklemek için %0.5 konsantrasyonundaki misel çözeltisi kullanılmıştır. Meloksikam'ın metanol içinde çözeltisi hazırlanmıştır. Çözeltinin absorbans değerlerine UV spektrofotometresi kullanılarak bakılmıştır. Çözeltinin absorbans değeri ikinin üzerinde olduğu yani çözelti çok derişik olduğu için seyreltmeler yapılarak en uygun konsantrasyon elde edilmiştir.

İlk formülasyonda 1 mg meloksikam 5 mL metanol içerisinde çözülmüştür. Bu çözeltiden 0.43 mL alınarak metanol ile 10 mL' ye tamamlanmak sureti ile elde edilen yeni çözelti yükleme için kullanılmıştır. 3 mL misel çözeltisine her defasında 100 µL ilaç çözeltisi ilave edilerek 365 nm' de UV spektrofotometresinde absorbans değışimi gözlenmiştir. 4700 µL ilaç çözeltisi ilavesinden sonra olan eklemelerde absorbans değerinin sabit kaldığı tespit edilmiştir.

İkinci formülasyonda 15 mg meloksikam 10 mL metanol de çözündürülmüş, içerisine tam çözünmeyi sağlamak için 0.5 mL 0.1 M sodyum hidroksit (NaOH) eklenmiştir. Çözeltiden 1 mL alınarak 20 ml ye tamamlanmıştır. 1:20 seyrelmiş

çözeltiden 1:3 oranında bir seyreltme daha yapılarak bu çözelti misel çözeltisine yükleme yapmak için kullanılmıştır. 3 mL misel çözeltisine absorban sabit kalıncaya kadar her seferinde 100'er µL ilaç çözeltisi eklenerek UV de 365 nm dalga boyunda ölçümleri yapılmıştır. Absorbansın 12 mL ilaç çözeltisinden sonra sabitlendiği tespit edilmiştir.

Üçüncü bir formülasyon iyi bir çözücü olan DMSO ile hazırlanmıştır. 50 mg meloksikam üzerine mikropipet ile 100' er µL' lik hacimler halinde DMSO eklenmiş ve 700 µL DMSO'nun tüm meloksikamı çözdüğü görülmüştür. Bu sonuçtan hareketle 15 mg meloksikam 300 µL DMSO' da çözülüp 3 mL VB 370 %0,5 misel çözeltisine ve VB 394 %1 misel çözeltisine eklenmiştir. VB 394 misel çözeltisinde çökme görülmüştür. Bunun üzerine aynı misel çözeltisi üzerine 15 mg meloksikam 600 µL DMSO içerisinde çözülerek eklenmiş ve çökme gözlenmemiştir. Her iki formülasyonun DLS ölçümleri alınmıştır.

Polidispersite indisi (PD)'nde yükselme gözlenen VB 370 misel çözeltisine 7.5 mg meloksikam 300 µL DMSO' da çözülerek eklenmiş ve DLS' de ölçümü yapılmıştır.

Misellerin Liyofilizasyonu

Elde edilen boş ve ilaç yüklü misel çözeltileri stabilitelerini sağlamak ve çözünme hızı çalışmasında kullanılabilmesi için liyofilize toz haline getirilmiştir. Çözeltiler liyofilizatöre konulmadan önce içerisinde azot gazı geçirilmiştir. Azot gazı ile donmayı engelleyen metanol uzaklaştırılmıştır. Çözeltiler buzlukta bekletilerek dondurulmuş ve liyofilizatöre konulmuştur.

Termal Analiz Çalışmaları

DSC ile meloksikam, DMA-DEA diblok kopolimer misellerinin ve meloksikam yüklü misellerin erime dereceleri tespit edilmiştir. Termogramlar yardımı ile maddelerin birbiri ile etkileşip etkileşmediği, formülasyonda bozunma olup olmadığı anlaşılabilir.

Analiz için alüminyum tartım kaplarına meloksikam, liyofilize edilmiş misel ve yine liyofilize haldeki meloksikam-misel kompleksinden sırası ile 2.4 mg, 2.6 mg ve 2 mg tartılmıştır. Sıcaklık 30°C'den başlatılarak 350°C' ye kadar çıkarılmıştır. Daha sonra ise soğutma işleminde sıcaklık 50°C' ye kadar düşürülmüştür. Standart olarak alüminyum disk kullanılmıştır. Ortamdan geçen azot miktarının 50 mL/ dk olmasına dikkat edilmiştir.

Meloksikam' ın İnfrared analizi

Analiz için meloksikam potasyum bromid içinde disperse edilmiş ve IR spektrumu alınmıştır. Örneğin IR spektrumu, çalışılan standart meloksikam referansı ile veya meloksikam' ın referans spektrumu ile aynı olmalıdır (BP, 2005).

Potasyum dihidrojen fosfat tamponunun hazırlanışı

BP 2005' de meloksikam için belirtilen tampon çözelti (pH=7.5 KH₂PO₄) için 13.61 g KH₂PO₄ 800 mL distile suda çözülüp 0.5 M 100 mL NaOH ilavesi ile pH=7.5'a ayarlanmıştır. Son olarak çözelti distile su ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır.

Validasyon Çalışmaları

Meloksikam'ın UV spektrofotometresi ile miktar tayini

Validasyon, spesifik bir test için kullanılan analitik yöntemin kullanım amacına uygun olup olmadığını saptamak için izlenen işlemlerdir (http-17).

Validasyon çalışması için BP 2005' de belirtilen oranlardan yola çıkarak 10 mg meloksikam 1.6 mL metanole eklenmiş ve üzerine 8 damla 0.1 M NaOH damlatılmıştır. pH=7.5 potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) tampon çözeltisi ile hacmi 50 mL 'ye tamamlanmıştır.

Doğrusallık

Doğrusallık çalışması için meloksikam stok çözeltisinden sırasıyla; 2, 6, 10, 14, 18 µg.mL⁻¹ konsantrasyonlarında çözeltiler hazırlandı. Herbir çözeltinin her seferinde 8 tekrar (n=8) olmak üzere absorbanlarına 350-360-365 nm dalga boylarında UV'de bakılarak değerler kaydedilmiştir.

Doğruluk

Doğruluk çalışması için düşük-orta ve yüksek değerler ile çalışılmıştır. Düşük değer olarak 2 µg. mL⁻¹, orta değer 10 µg. mL⁻¹ ve yüksek değer olarak 18 µg. mL⁻¹ alınmıştır. Her deney 8 defa tekrarlanmıştır.

Kesinlik

Gün içi tekrarlanabilirlik ve tekrar elde edilebilirlik, günler arası tekrarlanabilirlik olarak ölçülmüştür. 2-10-18µg. mL⁻¹ konsantrasyonları ile çalışılmıştır. Gün içi tekrarlanabilirlik için her ölçüm 6 kere tekrar edilmiştir. Günler arası tekrarlanabilirlik için ölçümler birer gün ara ile alınmış, her seferinde taze çözelti hazırlanmış ve her deney 6 defa tekrarlanmıştır.

Seçicilik

Analitik yöntemin sadece amaçlanan bileşeni veya bileşenleri tayin edebilme yeteneği olan bu parametre için boş miselin, meloksikamın ve misel-meloksikam kompleksinin absorpsiyon verdiği λ_{maks} değerlerine bakılmıştır.

Duyarlılık

Duyarlılık yöntemin düşük konsantrasyonları saptayabilme yeteneğidir. Saptama sınırı (LOD) ve miktar tayini sınırı (LOQ) ile belirlenmiştir.

$$LOD=3.3\sigma/ s$$

$$LOQ=10\sigma/ s$$

formülleri ile belirlenir (**Eşitlik 3**)

Burada, σ ; cevabın standart sapması, s; kalibrasyon eğrisinin eğimidir.

İn-vitro İlaç Salım Çalışmaları

Oluşan polimerik misellerin ilaç salım özelliklerini belirlemek amacıyla Franz cell difüzyon hücreleri ve diyaliz yöntemi (dialysis tubing) kullanılmıştır. Yapılan çalışmada su ceketi içeren ve ceket içermeyen olmak üzere iki tip difüzyon hücresi kullanılmıştır. Kullanılan hücrelerin difüzyon alanları 1.53 cm², rezervuar

hacmi 8.5 ve 6 mL' dir. Difüzyon yöntemi için Sigma D-0405 diyaliz tüpü ile çalışılmıştır.

Kullanılan donör ve reseptör fazlar

Salım çalışması için reseptör faz olarak KH_2PO_4 pH=7.5 tampon çözeltisi kullanılmıştır. Meloksikamın membranlardan geçişinin tespitinde donör faz olarak 30 mg meloksikam 30 mL metanolde çözülmüş çözünmenin tam olması için üzerine 16 damla 0.5 M NaOH çözeltisi eklenmiştir. Kullanılan diğer donör fazlar meloksikam yüklü diblok ve triblok misel çözeltileridir.

Kullanılan membranlar

Yapay membranlar ve deri ile çalışılmıştır. Membran olarak 12.000 dalton molekül ağırlığına kadar olan moleküllerin geçmesine elverişli Sigma D-0405 kullanılmıştır. Yapay membran olarak ayrıca CoTran 9702, CoTran 9715, CoTran 9716, CoTran 9720; Celgard 2400, Celgard 3400; Scotchpack 9732 ile Scotchpack 9735 denenmiştir. Fakat olumlu sonuç alınamamıştır.

Membranların hazırlanması

Membranların deneyden en az 24 saat önce donör fazda bekletilerek doymaları sağlanmıştır. Yapılan *ex-vivo* çalışmada kullanılan deri estetik ameliyat için cerrahi operasyon geçiren bayan hastaların abdominal bölgelerinden temin edilmiştir.

Deri membranın hazırlanması

Yaygın olarak kullanılan membran *stratum corneum* ve *epidermis*' i içeren epidermal dokudur (full-thickness skin) (Williams, 2003). Kullanılacak olan insan derisi kullanımdan önce %0.9' luk serum fizyolojik çözeltisine daldırılarak kan ve diğer kontaminasyona neden olabilecek materyallerden temizlenmiştir (Lee ve ark., 1997). Derinin altındaki yağ tabakası bistüri yardımıyla kabaca sıyrılmıştır. Temizleme işleminden sonra parçalara kesilerek alüminyum folyoya sarılıp, polietilen poşet içinde kullanılıncaya kadar -20°C sıcaklıktaki derin dondurucuya koyulmuştur.

Epidermal membranın hazırlanması

Epidermal membran hazırlamanın basit bir tekniği Kligman ve Christopher tarafından bulunan sıcak ayırma tekniğidir. Aşırı yağı ve bağlantılı dokuları temizlenmiş deri örneği 45 sn boyunca 60°C sıcaklıktaki suya daldırılır (pratikte yapılan çalışmada sürenin 45-60 sn olmasının daha etkili olduğu görülmüştür). Deri sabitlendikten sonra dermal kısmı aşağıda kalır ve epidermal kısım altta kalan dermisten soyularak alınabilir. Soyma işlemi bir çift keskin olmayan pens veya eldiven giyerek parmaklar ile yapılabilir (Williams, 2003).

Membranın hazırlanmasında sıcak ayırma kullanılmıştır. Dondurucudan çıkarılan derinin oda sıcaklığında çözünmesi beklenmiştir. Çözülen deri 60°C ' de %0.9 izotonik çözeltide 60 sn bekletilmiştir ve dikkatli bir şekilde pens yardımıyla altta kalan dokudan ayrılmıştır. Daha sonra filtre kağıdının üzerine alınarak bir süre daha izotonik çözelti içerisinde bırakılmıştır. İzotonik çözeltiden alınıp bir miktar kuruduktan sonra 20 dakika kadar doymuş donör çözeltisinde bekletilerek membranın doymuş hale gelmesi sağlanmıştır.

Franz difüzyon hücresi ile yapılan çalışmalar

Polimerik misellerden meloksikam salımına bakılmadan önce meloksikam' ın membranlardan geçişi araştırılmıştır. Franz difüzyon hücresinin alt kompartmanına magnet koyulduktan sonra iki kompartmanın arasına hücrenin difüzyon alanı büyüklüğünde kesilmiş doymuş insan derisi ve yapay membranlar pens yardımıyla yerleştirilmiştir. Diğer kompartman üzerine yerleştirilerek birleşim yeri Parafilm® ile kaplanmıştır. Reseptör faz alt kompartmana numune alma kolundan difüzyon çözeltisi ters çevrilerek enjektör yardımıyla doldurulmuştur. Doldurulan çözeltinin hacmi sink koşulların sağlanması açısından önemlidir. Doldurma esnasında reseptör fazda hava kabarcığı olmamasına dikkat edilmiştir. Çünkü hava kabarcıkları, difüzyon alanını azaltmaktadır. Reseptör faz sıcaklığının 37 °C' de kalmasına dikkat edilmiştir. Sıcaklık numune alma kolundan daldırılan bir termometre ile belirli aralıklarla ölçülmüştür. Numuneler belirli zaman aralıkları ile 0.3 mL' lik hacimlerde alınmış, eksilen reseptör faz hacmi tamamlanmıştır. Alınan numuneler 3 mL' ye seyreltilmiş (1:10) ve UV spektrofotometresinde 365-360-355 nm dalga boylarında reseptör faza karşı okutulmuştur.

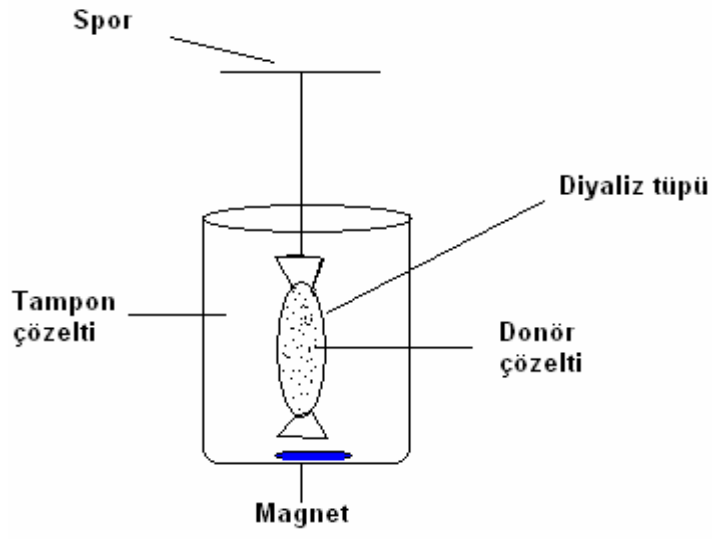
Diyaliz methodu ile yapılan çalışmalar

Diyaliz tüpünün hazırlanması

Diyaliz yöntemi için yaklaşık 3 cm boyunda difüzyon membranları kesilerek 24 saat oda sıcaklığında reseptör çözeltide doyurulmuştur. Yapışık durumda, iki ucu açık, çift katlı olan difüzyon membranı kullanılmadan önce katları açılarak alt tarafından büzülerek misina ile bağlanmıştır. Üst taraftan donör faz doldurulduktan sonra açık ucu da aynı şekilde bağlanarak diyaliz tüpü oluşturulmuştur. Oluşturulan tüp spor yardımı ile asılarak tampon çözeltiye daldırılmıştır (**Şekil 10**).

Deneyin yapılışı

Donör faz içeren tüpler 1000 mL hacminde 37°C' deki reseptör faz içerisine tamamı çözelti içerisinde kalacak şekilde batırılmıştır. Karıştırma hızı 500 rpm olarak ayarlanmıştır. Belli zaman aralıkları ile 1' er mL' lik numuneler alınmış ve her numuneden sonra alınan hacim kadar reseptör faz geri eklenmiştir. Numuneler 1:10 seyreltilerek UV' de reseptör faza karşı 365-360-355 nm' de okutulmuştur. Numune alma aralıkları meloksikam için 15, 30, 60, 90, 120, 180 ve 240' ıncı dakika iken bu süre misel çözeltisine yüklenmiş meloksikam için 6 güne kadar uzatılmıştır. Her deney üç defa tekrarlanmıştır.



Şekil 10. Diyaliz Methodu

BULGULAR ve TARTIŞMA

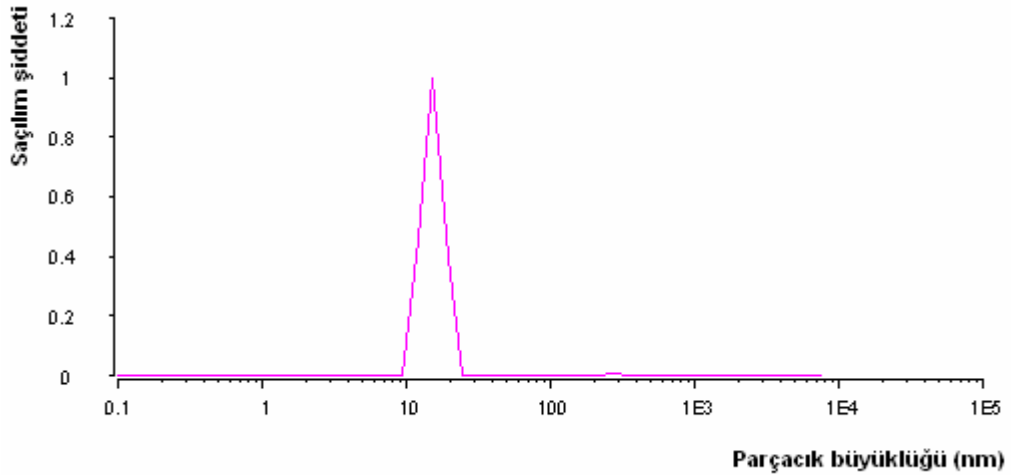
Çalışmanın amaçları doğrultusunda DMA-DEA diblok kopolimer %0.5 konsantrasyonundaki misel çözeltisine ve DMA-DPA-MEMA triblok kopolimerinin %1' lik misel çözeltisine meloksikam çözeltisi eklendiğinde miselin hidrofobik kısmı meloksikamı hapsedmiştir. Oluşan yapıların boyutları nm derecesindedir.

Misellerin Karakterizasyonu

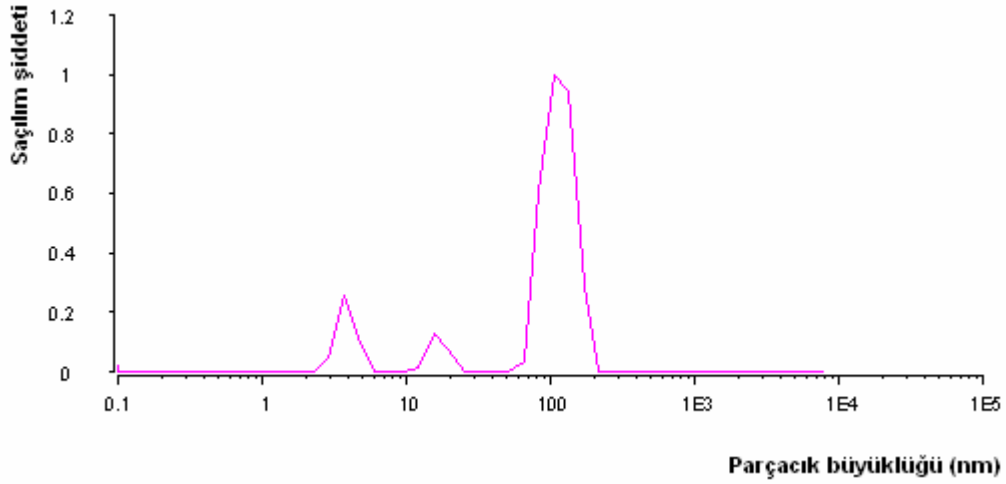
Boş diblok polimer misellerinin polidispersitesi 0.03-0.09 arasında değişmektedir, çapları ise yaklaşık olarak 40 nm boyutlarındadır. Boş triblok misellerinin polidispersitesi ortalama 0.129 iken misel çapları ortalama 31 nm olarak ölçülmüştür.

Misel Çözeltisine İlaç Yüklenmesi

Metanol ile hazırlanan her iki formülasyonun DLS' de ölçümü yapıldığında miselin polidispersite indeksinin (PDI) 0.1 değerinin üzerine çıktığı, piklerde bozunma olduğu tespit edilmiştir (Şekil 11 ve 12). Bu durum DSC analizi ile doğrulanmıştır Formülasyonun bozunmasına neden olan etkenin metanol olduğu misel çözeltisine eklenen metanol miktarındaki artışa paralel olarak PDI' nin artması ile tespit edilmiştir. 1 mL misel çözeltisine iki katı kadar metanol ilave edildiğinde polidispersite indeksi 0.4' lere çıkmıştır. Polidispersite ile birlikte misel çapındaki artış ilacın misele yüklendiğini düşündürse de agregat oluşumu söz konusu olabilir. Pikin sol tarafında beliren küçük piklerin unimer olması olasıdır. Misel yapısı, 2 mL misel çözeltisine düşük miktar (5-25 damla) metanol eklendiğinde metanolü tolere edebilmektedir. Fakat bu miktar terapötik etki sağlayacak dozda meloksikamın misele yüklenebilmesi için yeterli değildir.

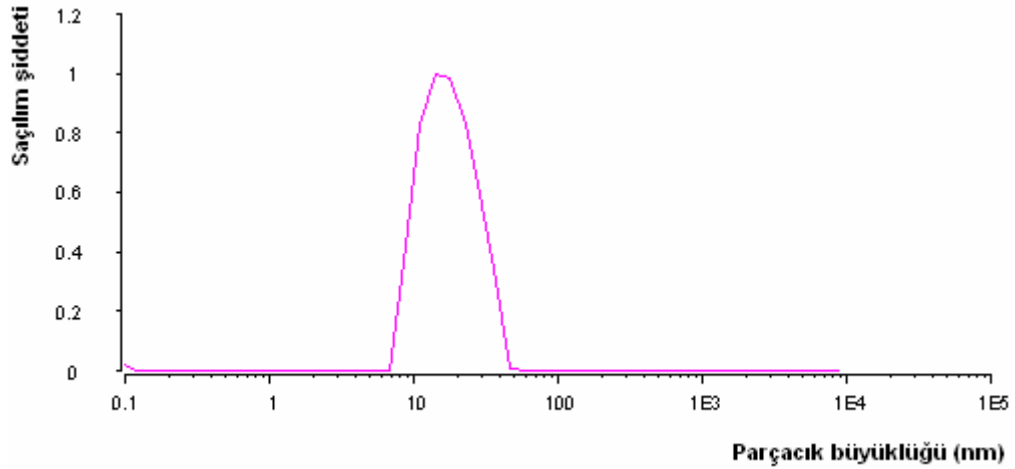


Şekil 11. VB 370 Boş Polimerik Misellerinin Parçacık Büyüklüğü Dağılımı

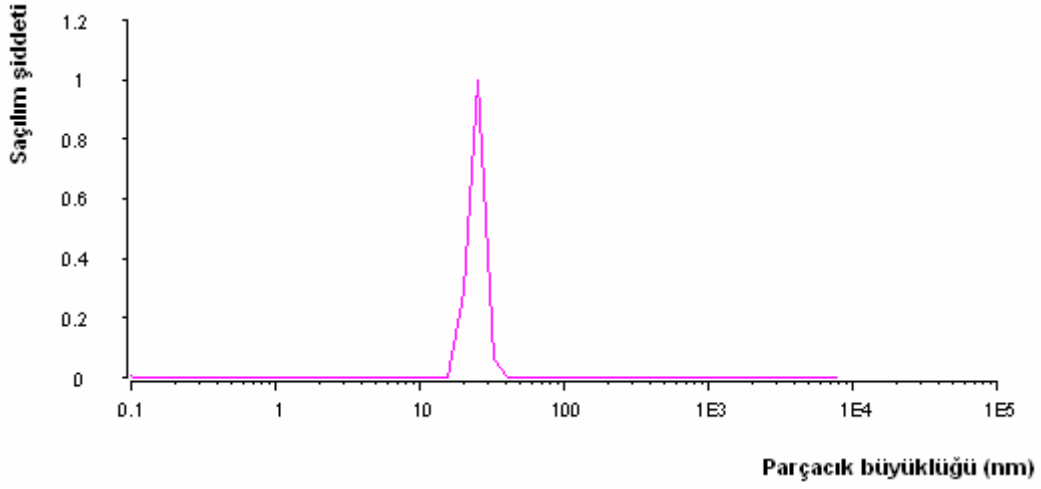


Şekil 12. Meloksikam /MeOH Çözeltisi Eklenmiş VB 370 Polimerik Misellerinin Parçacık Büyüklüğü Dağılımı

15 mg meloksikam/ 0.3 mL DMSO' nun VB370 misel çözeltisine eklenmesi ile yapılan formülasyonun PDI değerinde artış görülürken (ortalama 0.21, misel çapı yaklaşık 80 nm), VB394 polimerik misellerinin PDI değeri ortalama 0.15' den 0.02'lere kadar düşmüştür (Şekil 13 ve 14). Buradan misellerin ilaç çözeltisi ilavesi ile daha kararlı bir yapıya dönüştüğü anlaşılmaktadır. Ancak misel çapında gözle görünür bir artış olmamıştır.

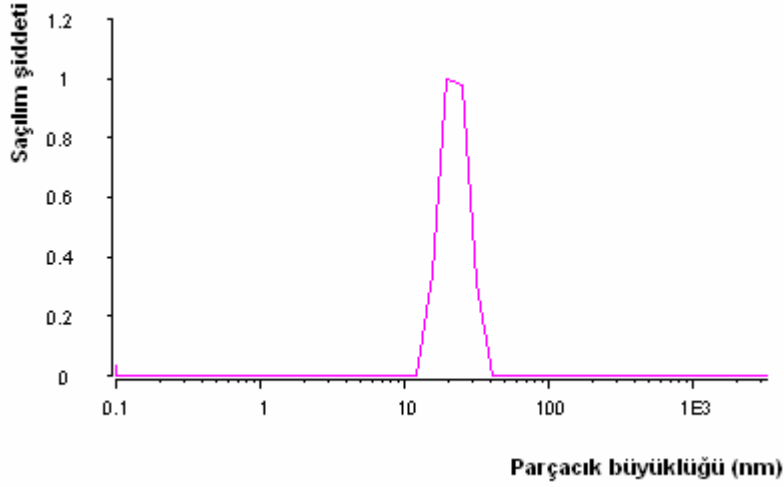


Şekil 13. VB 394 Boş Triblok Kopolimer Misellerinin Parçacık Büyüklüğü Dağılımı



Şekil 14. Meloksikam / DMSO Çözeltisi Eklenmiş VB 394 Triblok Kopolimer Misellerinin Parçacık Büyüklüğü Dağılımı

7.5 mg meloksikam eklenen VB370 polimerik misellerinin PDI değeri 15 mg eklenen formülasyona göre daha düşük bulunmuştur. PDI ortalama 0.12, misel çapı ise ortalama 60 nm ' dir (Şekil 15).



Şekil 15. VB 370 Polimerik Misel Çözeltisine 7.5 mg Meloksikam/ 0.3 mL DMSO Eklendiğinde Misellerin Partikül Boyu Dağılımı

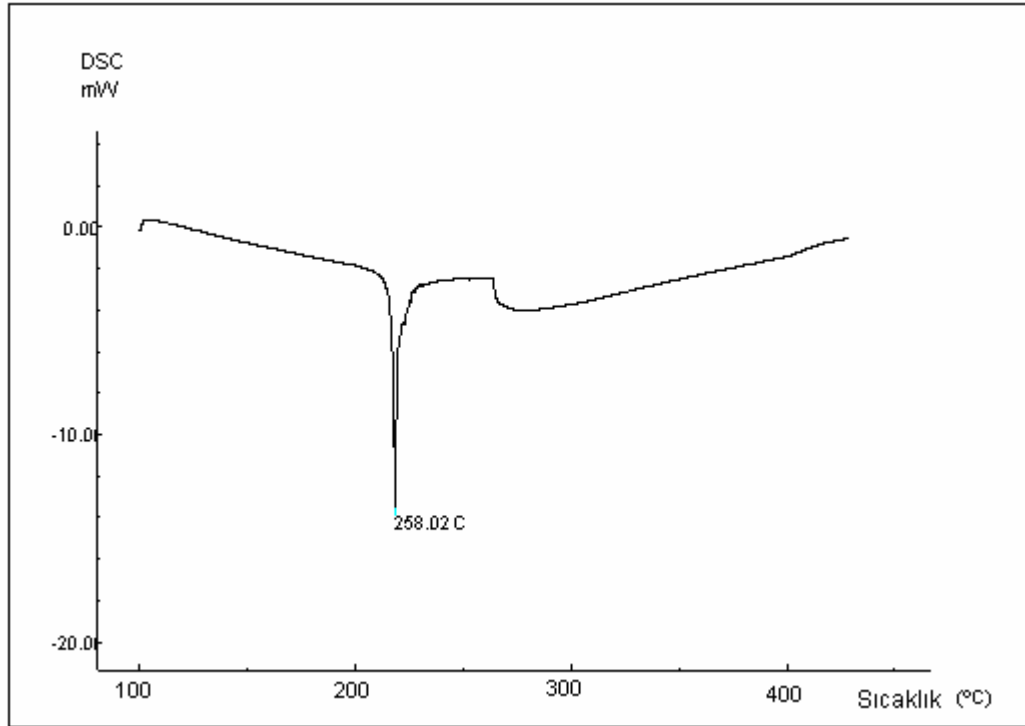
DMSO içinde çözülmüş meloksikam' ın misel çözeltilerine yüklenmesi ile elde edilen DLS sonuçları Çizelge 2' de verilmiştir.

Çizelge 2. Misel Çözeltilerine Eklenen Meloksikam Miktarları ile Misel Çap ve PDI Değerindeki Değişimler

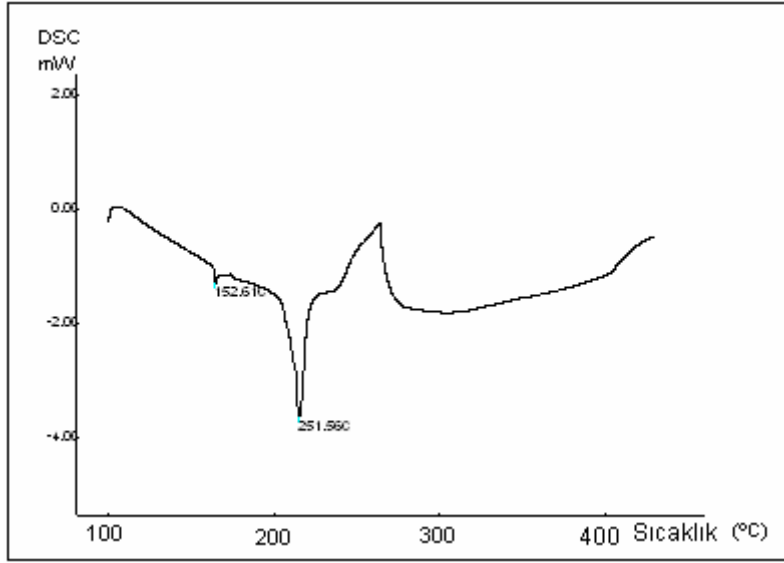
Polimerik Misel	Misel Miktarı	Yüklenen Meloksikam Miktarı	Boş Miselin PDI Değeri ve Çapı (nm)	İlaç Yüklü Miselin PDI Değeri Ve Çapı (nm)
VB 370 %0.5	3 mL	7.5 mg mlx/ 0.3 mL DMSO	0.3-40	0.12-60
	3 mL	15 mg mlx/ 0.3 mL DMSO		0.21-80
VB 394 %1	3 mL	15 mg mlx/ 0.6 mL DMSO	0.129-56	0.02-60

Termal Analiz Çalışmaları

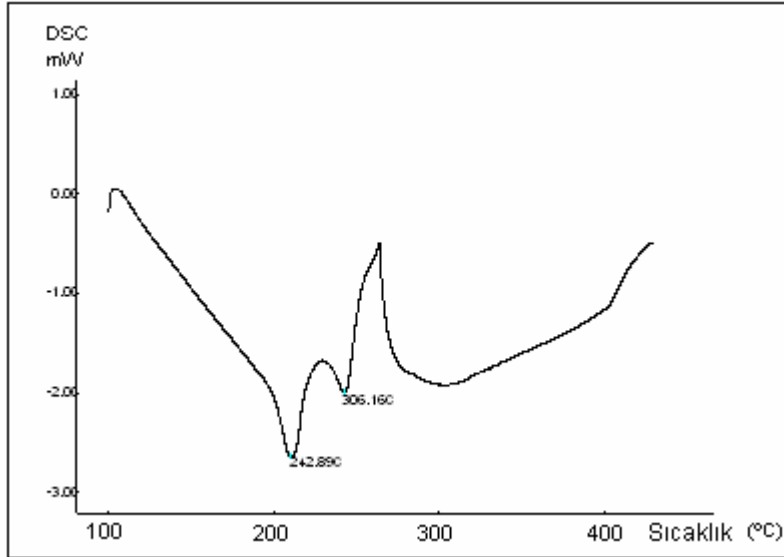
DSC ile elde edilen termogramlar **Şekil 16-17-18'** de görülmektedir.



Şekil 16. Meloksikam' a ait Termogram



Şekil 17. Boş Misellere ait Termogram

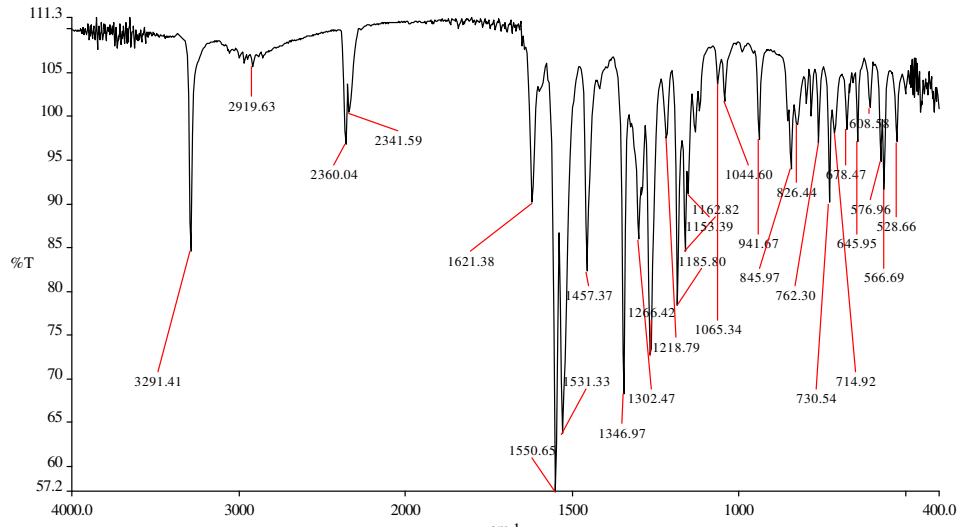


Şekil 18. Meloksikam Yüklü Misellere ait Termogram

Meloksikam'ın erime derecesi 254°C'dir (http-20). Bu değer meloksikam'a ait termogramdaki değer ile çok yakındır. Elde edilen termogramlarda meloksikam-misel kompleksine ait termogramdaki erime dereceleri meloksikam ve misele ait termogramdakiler ile örtüşmemektedir. Bu farklılığın nedeni metanolün misel yapısını bozmasından kaynaklanmaktadır.

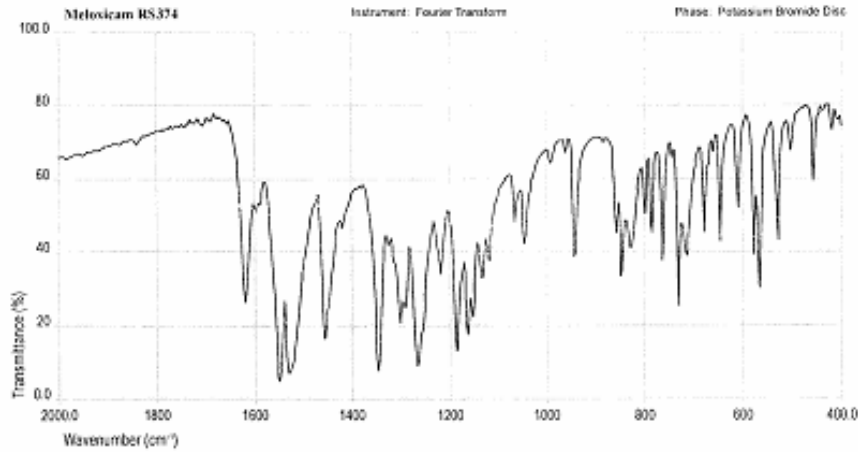
Meloksikam'ın İnfrared analizi

Meloksikam'ın elde edilen IR spektrumu **Şekil 19** 'da görülmektedir



Şekil 19. Kullanılan Meloksikam' a Ait IR Sonuçları

Meloksikam' a ait referans IR spektrumu ise **Şekil 20'** de sunulmuştur (BP, 2005).



Şekil 20. Meloksikam' a Ait Referans IR Spektrumu

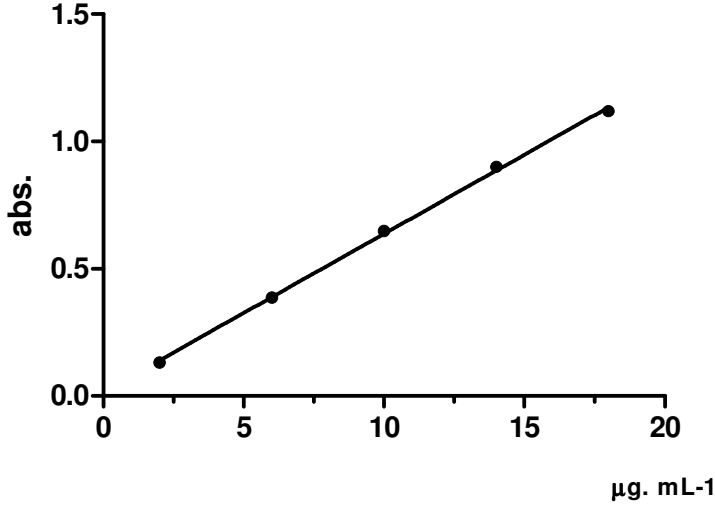
Saf meloksikam' ın IR spektrumu 1620 cm^{-1} ' de C=O gerilme titreşimleri, 3292 cm^{-1} ' de amin (-NH) veya hidroksil(-OH) grupları ve $846\text{-}567\text{ cm}^{-1}$ arasında görülen -CH aromatik halka eğilme titreşimleri ve heteroaromatikler gibi bazı göze çarpan bantlar, $1346\text{-}1163\text{ cm}^{-1}$ arası S=O gerilme titreşimleri gibi karakteristik pikler göstermektedir(http-21). Çalışmada kullanılan meloksikam' ın IR spektrumunda ise bu karakteristik pikler; $1621,38\text{ cm}^{-1}$ ' de C=O gerilme titreşimleri, $3291,41\text{ cm}^{-1}$ ' de (-NH) veya (-OH) grupları, $845,97\text{ cm}^{-1}$ ' den $566,69\text{ cm}^{-1}$ ' ye olan bölgede -CH aromatik halka eğilme titreşimleri ve heteroaromatikler gibi bazı göze çarpan bantlar, $1346\text{-}1163\text{ cm}^{-1}$ arası S=O gerilme titreşimleri görülmüştür. Ayrıca elde edilen meloksikam' a ait IR spektrumu BP, 2005' de belirtilen referans spektrum ile de örtüşmektedir.

Validasyon Çalışmaları

Meloksikam'ın UV spektrofotometresi ile tayini

Doğrusallık

Belirtilen derişimler ve bunlara karşılık gelen absorbands değerleri grafiğe geçirilmiştir (Şekil 21).



Şekil 21. Meloksikamın Kalibrasyon Eğrisi

Elde edilen doğru denklemi;

$$y = 0.0622x + 0,015, r = 0.9994, (n=8)$$

şeklindedir. Elde edilen bu yüksek korelasyon katsayısı UV spektrofotometrik yöntemi kullanılarak meloksikamın miktar tayininin yapılabileceğini göstermiştir.

Doğruluk

Çizelge 3' de doğruluk çalışması verileri görülmektedir.

Çizelge 3. Doğruluk Çalışması Verileri

Meloksikam Konsantrasyonu	Bulunan Meloksikam Konsantrasyonu	SS	% Geri kazanım	% BSS
2 µg. mL ⁻¹	1,76	0.020	88,22	1,038
10 µg. mL ⁻¹	10,48	0,022	104,8	0,220
18 µg. mL ⁻¹	17,84	0,08	99,14	0.446

SH:Standart Hata BSH: Bağlı Standart Hata

Kesinlik

Sonuçlar Çizelge 4, Çizelge 5' de verilmiştir.

Çizelge 4. Gün içi Tekrarlanabilirlik Sonuçları

Meloksikam Konsantrasyonu	Gün İçi Ortalama Absorbans	SS	% BSS
2 µg. mL ⁻¹	0,128	0,002	0,1
10 µg. mL ⁻¹	0,633	0,0005	0,005
18 µg. mL ⁻¹	1,094	0,014	0,077

SH:Standart Hata BSH: Bağıl Standart Hata

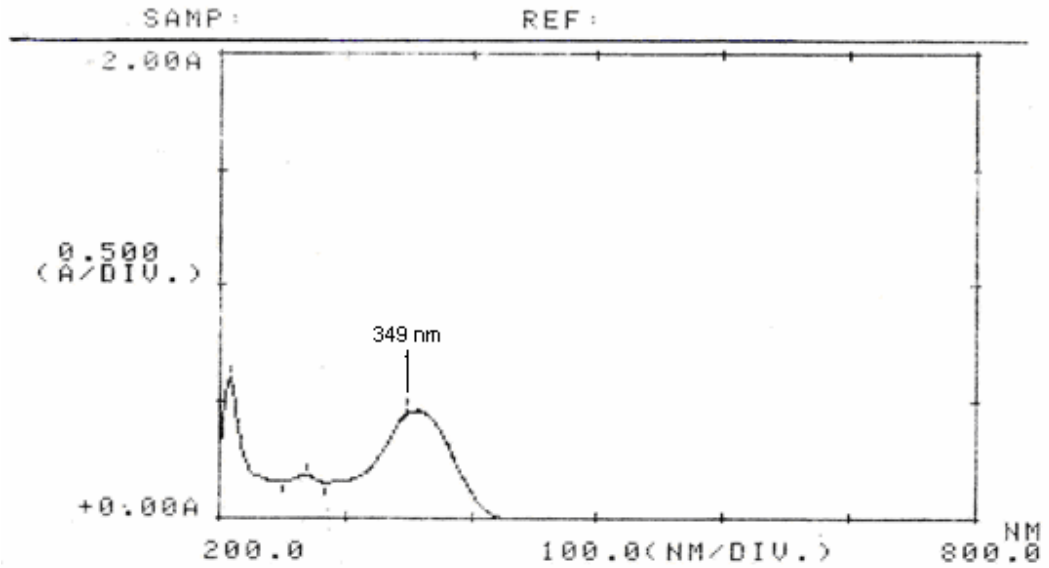
Çizelge 5. Günler Arası Tekrarlanabilirlik Sonuçları

Meloksikam Konsantrasyonu	Günler Arası Ortalama Absorbans	SS	% BSS
2 µg. mL ⁻¹	0,129	0,0016	0,08
10 µg. mL ⁻¹	0,642	0,0042	0,042
18 µg. mL ⁻¹	1,130	0,011	0,061

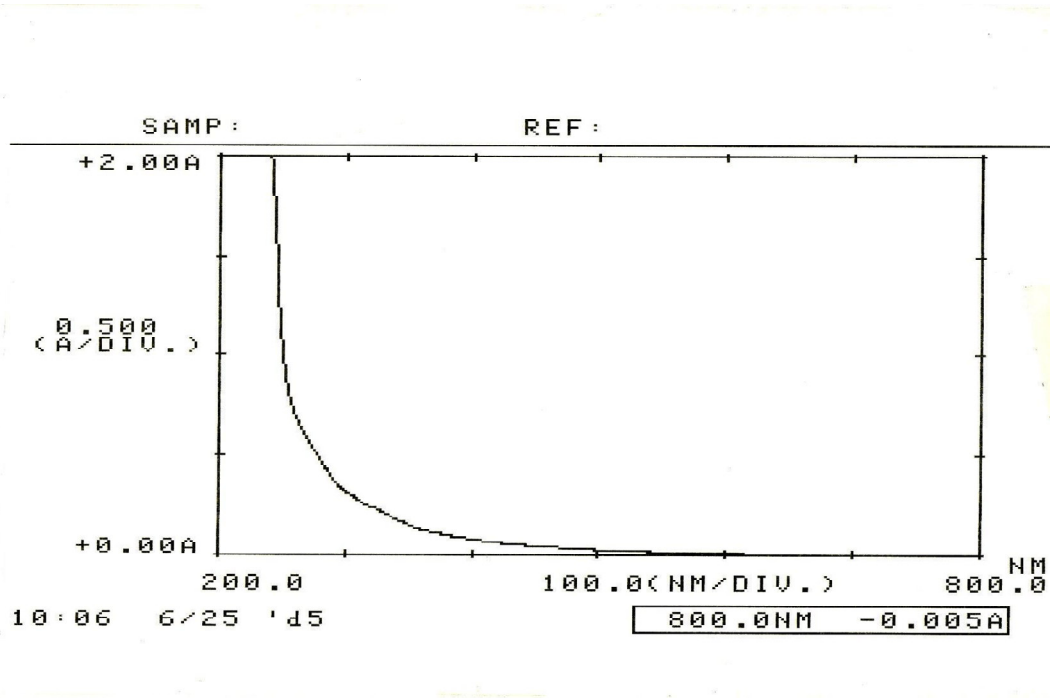
SH:Standart Hata BSH: Bağıl Standart Hata

Seçicilik

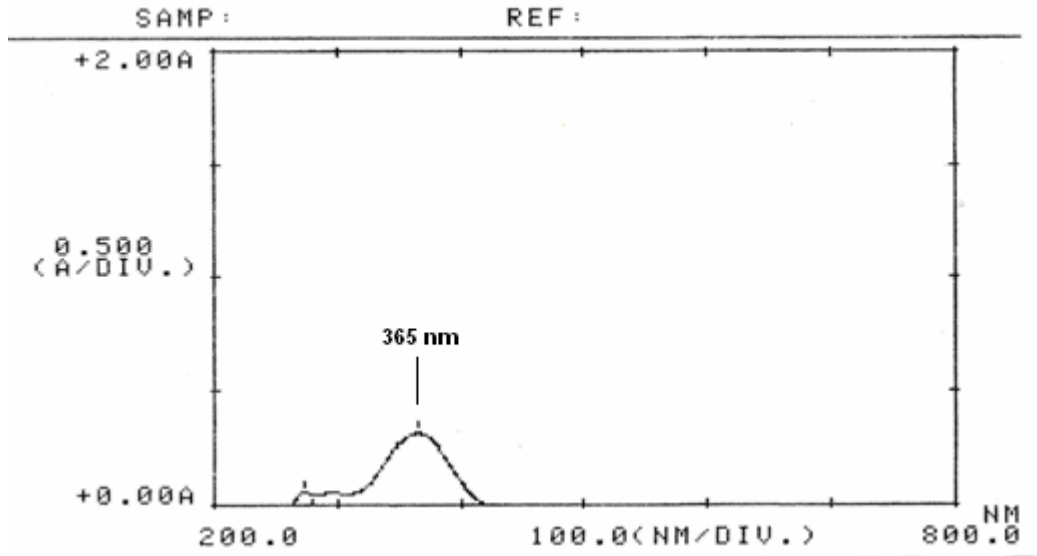
Validasyon çalışması sonucunda çalışılan dalga boyunun seçici bir dalga boyu olduğu görülmektedir. Meloksikam' ın maksimum absorpsiyonu 349 nm (**Şekil 22**) , misel çözeltisinin 223 nm' de (**Şekil 23**) ve misel-meloksikam kompleksinin 365 nm' de (**Şekil 24**) yaptığı görülmüştür.



Şekil 22. Meloksikam' ın UV Spektrumu



Şekil 23. VB 370 Polimerik Misel Çözeltilisinin UV Spektrumu



Şekil 24. Misel-meloksikam Kompleksinin UV Spektrumu

Duyarlılık

Doğrunun standart sapma değeri 0.00088, doğrunun eğimi 0.0622' dir. Bu değerler doğrultusunda LOQ değeri 0.14 olarak bulunmuştur. Bu değer seçilen en düşük konsantrasyonun altındadır. Yöntem meloksikam için duyarlıdır.

***In-vitro* İlaç Salım Çalışmaları**

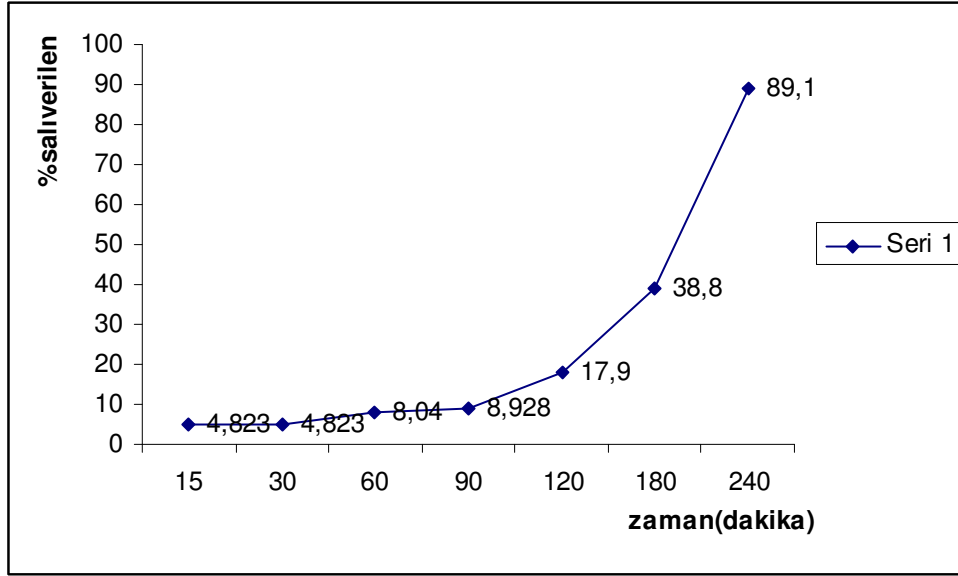
Franz difüzyon hücresi ile yapılan çalışmalar

Kullanılan yapay membranlar denenmiş fakat donör çözeltilerden reseptör çözeltiye etkin madde geçişi olmamıştır. İnsan derisi ile yapılan *ex vivo* çalışma da ise bir deneme yapılabilmektedir. Hücrede kabarcık oluşması nedeni ile deney sonlandırılmıştır.

Diyaliz methodu ile yapılan çalışmalar

Meloksikam'ın diyaliz hücresinden salımı

Salım çalışması için meloksikam'ın metanol içerisindeki çözeltisi kullanılmıştır. 1 mg.mL⁻¹ konsantrasyonundaki çözeltiden 1 mL alınarak difüzyon hücresine mikropipet yardımıyla doldurulmuştur. Numuneler 15, 30, 60, 90, 120, 180 ve 240. dakikalarda alınmıştır. Bulunan değerler grafiğe geçirilmiştir (**Şekil 25**).

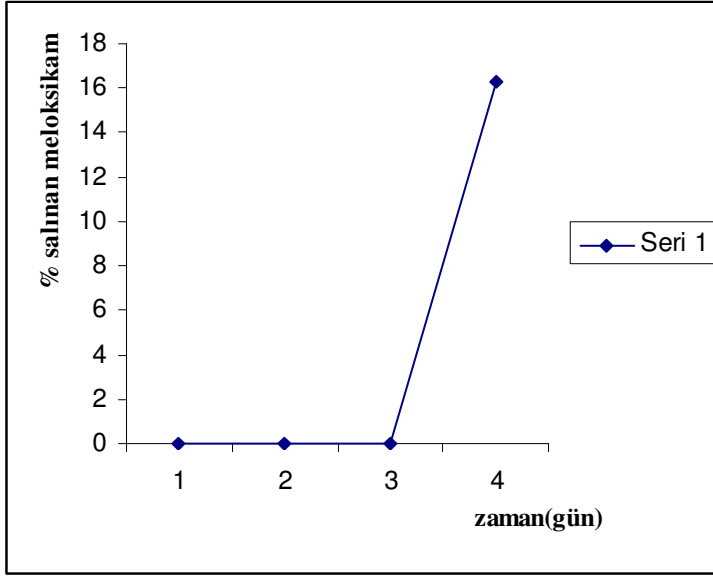


Şekil 25. Meloksikam'ın Zamana Göre Salım Profili

4 saatlik süre sonunda salınan meloksikam'ın % 89'unun salındığı tespit edilmiştir (n=3).

Diblok kopolimer misellerden meloksikam'ın salımı

Burada doldurulan çözelti hacmi 1 mL'dir. Numune alımı 15, 30, 60, 90, 120, 180 ve 240. dakikalarda yapılmış, daha sonra 24 saat ara ile numune alınmıştır. Numune alımı 4. güne kadar devam etmiştir. Meloksikam'a ait pik 4. gün gözlemlenmiştir. Miselden salınan meloksikam miktarı 1.22 mg yani yüklenen miktarın %16.28'i olarak hesaplanmıştır (**Şekil 26**).



Şekil 26. Meloksikam' ın Zamana Göre Diblok Kopolimer Misellerden Salım Profili

Triblok kopolimer misellerden meloksikam' ın salımı

Diyaliz hücreğine 0,5 mL etkin madde yüklü triblok kopolimer misel çözeltisi koyulmuştur. Fakat tampon çözeltide doyurulmuş olan membran ile formülasyon temas ettiğinde çözeltide bulanıklaşma ve çökme oluşmuştur. Membran boşaltılıp tampon çözeltiye daldırılıp temizlenmiştir. Çökme olmaması için hücreye DMSO' dan bir miktar koyulup çeperler yıkanmıştır. Donör faz hücreye doldurulduğunda çökme görülmemiştir. Sızıntı olmadığı tespit edilen hücre tampon çözeltiye daldırıldığında yeniden çökme olduğu gözlemlenmiştir. Validasyon çalışması sırasında DMSO ile hazırlanan derişik meloksikam çözeltisine tampon çözeltisi eklendiğinde çökme olduğu tespit edilmiştir. Burada da aynı durum söz konusu olmuştur. Buradan triblok kopolimer misellerinin etkin madde çözeltisini hapsetmediği anlaşılabilmektedir. Bu düşünce etkin madde çözeltisi eklenmiş polimerik miselin çapının artmaması ile desteklenebilir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan çalışmada DMA-DEA diblok kopolimerinden elde edilen misellere hidrofobik yapıdaki etken maddelerin yüklenebildiği görülmüştür. Diblok kopolimer miselinin ilacı salması oldukça uzun süreceği yapılan salım çalışmaları ile ön görülmüştür. Bu polimerin zincir boyunun kısaltılması ile ya da etken maddeyi tutan hidrofobik kısmın yani DEA' nın zincirdeki oranının azaltılması ile ilaç salımının daha kısa sürede gerçekleşmesi mümkün olabilir. Fakat bu durumda da etkin madde hapsedme oranının azalması gibi bir durum oluşabilir.

DMA-DPA-MEMA triblok miseline etkin madde yüklenememiştir. Yüklemenin başarısız sonuçlanması yükleme yönteminin doğru seçilememesinin veya kullanılan etkin maddenin uygun olmayışı ile bağlantılı olabilir. Bu durumda misel oluşumu aşamasında formülasyona eklenebilecek bir etkin madde ile çalışılırsa olumlu sonuçlar alınabilir. Bununla beraber meloksikam' ı hapsedecek kısım olan DPA' nın miktarının artırılması ile etkin maddenin hapsi mümkün olabilir.

Polimerik misellerden ex vivo ilaç salımı ve çapraz bağlama sonrası salımda oluşabilecek değişimlerin izlenmesi bir sonraki aşamada yapılması düşünülen çalışmalardır.

NSAİİ' ların oral alımından sonra gözlenen en iyi bilinen yan etkileri , sistemik yan etki olmaksızın inflamasyon bölgesinde lokal absorpsiyon sağlayan topikal kremler, jel ve köpük formülasyonları gibi alternatif farmasötik formların geliştirilmesini hızlandırmıştır (Djordjevic ve ark., 2003). Yapılan çalışma ile kullanılan diblok kopolimer misellerinin düşük dozda etkili olabilen, hidrofobik yapıli meloksikam için topikal yeni bir ilaç taşıyıcı sistem olabileceği düşünülebilir.

KAYNAKLAR

Afouna, M.I., Fincher, T.K., Khan, M.A., Reddy, I.K., Percutaneous permeation of enantiomers and racemates of chiral drugs and prediction of their flux ratios using thermal data: a pharmaceutical perspective, *Chirality*, 15, 456-465 (2003).

Agrawal, S.K., Sanabria-Delong, N., Coburn, J.M., Tew, G.N., Bhatia, S.R. Novel drug release profiles from micellar solutions of PLA-PEO-PLA triblock copolymers, *J. Control. Release*, 112, 64-71 (2006).

Ansari, M., Kazemipour, M., Aklamli, M., The study of drug permeation through natural membranes, *Int. J. Pharm.*, 327, 6-11 (2006).

Barry, B.W., Novel mechanisms and devices to enable succesful transdermal drug delivery, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 14, 101-114 (2001).

Becker, M. L. , Remsen, E. E. , Wooley, K. L. Diblock copolymers, micelles, and shell-crosslinked nanoparticles containing poly(4-fluorostyrene): tools for detailed analyses of nanostructured materials, *J. Polym. Sci.* 39, 4152- 4166 (2001) .

Benson, H.A.E., Transdermal drug delivery: penetration enhancement techniques, *Curr. Drug Delivery*, 2, 23-33 (2005).

Bosman, I.J., Avegaart, S.R., Lawant, A.L., Ensing, K., de Zeeuw, R.A., evaluation of a novel diffusion cell for in vitro transdermal permeation: effects of injection height, volume and temperature, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 17, 493-499 (1998).

Boulton-Jones, J. M., . Geddes, C. G., Heinzl, G., Turck, D., Nehmiz, G., Bevis, P. J. R. Meloxicam pharmacokinetics in renal impairment, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 43, 35-40 (1997).

British Pharmacopea, Volume:2, Stationery Office, London, 1273,2626 (2005)

Bütün, V. , Armes, S.P. , Billingham, N.C. Synthesis and aqueus solution properties of near-monodisperse tertiary amine methacrylate homopolymers and diblock copolymers, *Polymer*, 42, 5993-6008 (2001).

Bütün, V., Selective betainization of 2-(dimethylamino) ethyl methacrylate residues in tertiary amine methacrylate diblock copolymers and their aqueous solution properties, *Polymer*, 44, 7321-7334 (2003).

Chang, J., Huang, Y., Hou, S., Wang, R., Wu, P., Tsai, Y., Formulation optimization of meloxicam sodium gel using response surface methodology, *Int. J. Pharm.*, 338, 48-54 (2007).

Chapple, K.S., Cartwright, E.J., Hawcroft, G., Tisbury, A., Bonifer, C., Scott, N., Windsor, A.C.J., Guillou, P.J., Markham, A.F., Coletta, P.L., Hull, M.A. Localization of cyclooxygenase-2 in human sporadic colorectal adenomas, *Am. J. Pathol.*, 156(2), 545-553(2000).

Chuang, Y. , Chuang, W., Huang, S., Huang, C. Cyclooxygenase-2 inhibitor ameliorates ureteric damage in rats with obstructed uropathy, *Eur. J. Pharmacol*, 1-12, (2007).

Değim, T., Deriden emilim ve deriye uygulanan yarı katı preparatlar, In: *Modern Farmasötik Teknoloji*, Acartürk F., Ağabeyoğlu, İ., Çelebi, N., Değim, T., Değim, Z., Doğanay, T., Takka, S., Tırnaksız, F., Fersa Matbaacılık, Ankara, 337-338, 343-345 (2007).

Djordjevic, J., Michniak, B., Uhrich, K.E., Amphiplic star- like macromolecules as novel carriers for topical delivery of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, *AAPS PharmSci.*, 5(4), 1-11 (2003).

Emery, P., MD, Kong, X.S. , PhD, Ehrich, E.W. , MD, Watson, D.J. , PhD, Towheed, T.E., MD, Dose-effect relationships of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a literature review, *Clin. Ther.* , 24(8), 1125-1291 (2002)

Esenoğlu, E. Yeni Tip Suda Çözünebilen Yüzey Aktif Diblok Kopolimerlerin Sentezi, Türevlerinin Eldesi ve Bu Polimerlerin Çözücü Etkilerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye, (2004).

Fenner, H., Differentiating among nonsteroidal antiinflammatory drugs by pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles, *Semin Arthritis Rheum* 26, 28-33 (1997).

Frölich, J.C. A classification of NSAIDs according to the relative inhibition of cyclooxygenase isoenzymes, TIPS, 18, 30-34 (1997).

Furst, D.E., Meloxicam: selective COX-2 inhibition in clinical practice, Semin Arthritis Rheum, 6, 21-27 (1997).

Goldman, A. P. , Williams, C. S. , Sheng, H. , Lamps, L. W. , Williams, V. P. , Pairet, M. , Morrow, J. D. , DuBois, R. N. ,Meloxicam inhibits the growth of colorectal cancer cells, Carcinogenesis, 19(12), 2195- 2199 (1998).

Göbelt, B., Molecular weight distribution in living polymerization, Prog.Org. Coat., 55, 1889-193 (2005).

He, G., Lwin, M. , Jie, P. ,Venkatraman, S. ABA and BAB type triblock copolymers of PEG and PLA: A comparative study of drug release properties and “stealth” particle characteristics, Int. J. Pharm, 1-29 (2006) .

Hruby, M., Končák, C. , Ulbrich, K. Polymeric micellar pH-sensitive drug delivery system for doxorubicin, J. Control. Release, 103, 137-148 (2005).

http-1 Molecular Weight Analysis of Polymers
<http://web.missouri.edu/~kattik/katti/Molecular%20Weight%20Determination.pdf>
(16.12.2007)

http-2 Polimerde Moleküler Ağırlıklar
http://w3.balikesir.edu.tr/~taner/dersler/polimer_kimyasi/molekuler_agirliklar.htm
(16.12.2007)

http-3 Polymer Synthesis
<http://plc.cwru.edu/tutorial/enhanced/files/polymers/synth/synth.htm> (16.12.2007)

http-4 What is COX-2 (COX-2)? <http://www.glucosamine-arthritis.org/arthritis/COX-2.html>, (23.03.2007)

http-5 Romatoid Artritli Hastalarda Tanı Ve Tedavi Yönünden Genetik,
http://papyrus.ankara.edu.tr/arastirma/2004/a2004_5/proje.pdf (20.12.2007)

http-6 Osteoertrit nedir?,
http://www.mc.metu.edu.tr/pdf/ODTU_SRM_brosur_osteoartrit.pdf (20.12.2007)

http-7 Ankilozan spondilitli hastalar, <http://www.saglik-info.com/pdf/13-Ankilozan.pdf> (20.12.2007)

http-8 <http://www.turkmedikal.net/vademecum/Melox.php>, (19.09.2007)

http-9 Skin function and biopharmaceutic considerations <http://www.inetce.com/articles/pdf/221-146-04-054-H01.pdf> (12.12.2007)

http-10 Macrochem: research & technology-SEPA® <http://www.macrochem.com/site/content/research/sepa.asp> (01.12.2007)

http-11 Biopharmaceutical aspects of ..

<http://igitur-archive.library.uu.nl/dissertations/2005-0315-013017/c2.pdf>
(02.12.2007)

http-12 [scf-online.com/issue_37/](http://www.scf-online.com/issue_37/) Rolf Daniels: Strategies for skin...
http://www.scf-online.com/english/37_e/skinpenetration37_e.htm (06.12.2007)

http-13 Fiber optics dissolution systems <http://www.hansonresearch.com/vert-diffusion-cell.htm> (14.10.2007)

http-14 Chapter 5 A novel diffusion cell for in vitro transdermal..<http://dissertations.ub.rug.nl/FILES/faculties/science/1996/i.j.bosman/c5.pdf> (16.10.2007)

http-15 Reliability And Reproducibility Of Vertical Diffusion Cells For Determining Release Rates From Semisolid Dosage Forms

<http://www.springerlink.com/content/clvkm6378196j6mh/fulltext.html>
(23.11.2007)

http-16 Chapter 6 Evaluation of a novel diffusion cell for in vitro <http://dissertations.ub.rug.nl/FILES/faculties/science/1996/i.j.bosman/c6.pdf>
(16.10.2007)

http-17 http://www.labcompliance.com/methods/meth_val.htm, (13.10.2007)

http-18 Topical bioavailability of glucocorticosteroids http://www.spitalpharmazie-basel.ch/lehre/pdf/Diss_Pellanda.pdf (13.12.2007)

http-19 <http://www.drugdeliverytech.com/cufmjpg001979.jpg> (18.12.2007)

http-20 DrugBank: Meloxicam
<http://redpoll.pharmacy.ualberta.ca/drugbank/cgi-bin/getCard.cgi?CARD=APRD00529.txt> (18.10.2007)

http-21 Adsorption of Meloxicam on Porous Calcium Silicate
<http://www.aapspharmscitech.org/view.asp?art=pt060476> (30.12.2007)

Huang, X., Tanojo, H., Lenn, J., Deng, H., Krochmal, L., A novel foam vehicle for delivery of topical corticosteroids, *J. Am. Acad. Dermatol.*, 53, 26-38 (2005).

Hurter, P. N. , Hatton, T.A. Solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons by poly(ethylene oxide-propylene oxide) block copolymer micelles: effects of polymer structure, *Langmuir*, 8, 1291- 1299 (1992) .

Kierstan, K.T.E., Beezer, A.E., Mitchell, J.C., Hadgraft, J., Raghavan, S.L., Davis, A.F., UV-spectrophotometry study of membrane transport processes with a novel diffusion cell, *Int. J. Pharm.*, 229, 87-94 (2001).

Kikwai, L., Babu, J., Prado, R., Kolot, A., Armstrong, C.A., Ansel, J.C., Singh, M., In Vitro and In Vivo Evaluation of Topical Formulations of Spantide II, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 6(4), 565-571 (2005).

Krupers, M.J., Möller, M. Synthesis and characterization of semifluorinated polymers via group transfer polymerization, *J. Fluorine Chem.*, 82, 119-124 (1997).

Liu, S., Weaver, J. V. M. , Save, M. , Armes, S. P. , Synthesis of pH-responsive shell cross-linked micelles and their use as nanoreactors for preparation of gold nanoparticles, *Langmuir*, 18, 8350- 8357 (2002) .

Liu, H., Li, S., Wang, Y., Yao, H., Zhang, Y., Effect of vehicles and enhancers on the topical delivery of cyclosporin A, *Int. J. Pharm.*, 311, 182-186 (2005).

Martindale 32th Edition, Kathleen Parfitt, Pharmaceutical Pres, London, 52, 1999

Melli, M., Kayaalp, S.O., Non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar, In: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Kayaalp, S.O. (Ed), Hacettepe-Taş Kitapçılık, Ankara, 837, 858-859 (2005).

Minghetti, P., Cıurzo, F., Casiraghi, A., Montanari, L., Fini, A., Ex vivo study of transdermal permeation of four diclofenac slts from different vehicles, *J. Pharm. Sci.*, 4(96), 814-823 (2007).

Morales, M.E., Lara, V.G., Calpena, A.C., Domènech, J., Ruiz, M.A., Comperative study of morphine diffusion from sustanied release poymeric suspensions, *J. Control. Release*, 95, 75-81 (2004).

Naruse, T., Nishida, Y., Ishiguro, N., Synergistic effects of meloxicam and conventional cytotoxic drugs in human MG-63 osteocarcinoma cells, *Biomed Pharmacother.*, 61, 338-346 (2007).

Nemutlu, E., Kir, S. Validated determination of meloxicam in tablets by using UV spectrophotometry, *J. Fac. Pharm.*, 1(24), 13-24 (2004).

Peppas, L.B., Peppas, N., Kontrollü salım sistemlerinde kullanılan polimerler, In: *Kontrollü Salım Sistemleri*, Gürsoy, Z.A. (Ed), Elma Bilg. Basım ve Ambalaj San.Tic.Ltd.Şti., İstanbul, 21-26 (2002).

Rao, R.N., Meena, S., Rao, A.R., An overview of the recent developments in analytical methodologies for determination of COX-2 inhibitors in bulk drugs, *Pharm. Biomed. Anal.*, 39, 349-363 (2005).

Rehman, Q., MD, Sack, K.E., MD. When to try COX-2-specific inhibitors safer than standard NSAIDs in some situations, *Postgraduate Medicine*, 106(4), 95-106 (1999).

Riess, G. Micellization of block copolymers, *Prog. Polym. Sci*, 28, 1107–1170 (2003) .

Rowland, S.E., Clark, P., Gordon, R., Mullen, A.K., Guay, J., Dufresne, L., Brideau, C., Cote, B., Ducharme, C., Audoly, Y., Mancini, J., Daigen Xu, L., Pharmacological characterization of a selective COX-2 inhibitor MF-tricyclic, [3-(3,4-difluorophenyl)-4-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-2-(5H)-furanone], in multiple preclinical species, *Eur. J. Pharmacol*, 560, 216-224 (2007) .

Sheu, W., Molecular weight averages and polydispersity of polymers, *J.Chem. Ed*, 78 (4), 554 (2001).

Smith, H. S. , Baird, W. Meloxicam and selective COX-2 inhibitors in the management of pain in the palliative care population, *Am J Hosp Palliat Care*, 4 (20), 297-306 (2003) .

Steinmeyer, J. Pharmacological basis for the therapy of pain and inflammation with nonsteroidal anti-inflammatory drugs, *Arthritis Res.*, 2, 379-385 (2000) .

Taha, E.A. , Salama, N.N. , Fattah L. Spectrofluorimetric and spectrophotometric stability-indicating methods for determination of some oxicams using 7-chloro-4-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazole (NBD-Cl), *Chem. Pharm. Bull.*, 54(5) , 653-655 (2006) .

Tang, Y., Liu, S.Y., Armes, S.P., Billingham, N.C. Solubilization and controlled release of a hydrophobic drug using novel micelle-forming ABC triblock copolymers, *Biomacromolecules*, 6(4), 1636-1645 (2003) .

Tian, L. , Yam, L. , Wang, J. , Tat, H. , Uhrich, K. E. , Core crosslinkable polymeric micelles from PEG–lipid amphiphiles as drug carriers, *J. Mater. Chem.*, 14, 2317- 2324 (2004) .

Weaver, J.V.M., Tang, Y., Liu, S., Iddon, P.D., Grigg, R., Billingham, N.C., Armes, S.P., Hunter, R., Rannard, S.P., Preparation of shell cross-linked micelles by polyelectrolyte complexation, *Chem. Int. Ed.*, 43, 1389-1392 (2004).

Webster, O. W. The discovery and commercialization of group transfer polymerization, *J. Polym. Sci.* 38, 2855-2860 (2000).

Williams, A.C., Structure and function of human skin, In: *Transdermal and Topical Drug Delivery*, Williams, A.C. (Ed), Pharmaceutical Press, London, 3 (2003).

Williams, A.C., Experimental design, In: *Transdermal and Topical Drug Delivery*, Williams, A.C. (Ed), Pharmaceutical Press, London, 61,63 (2003).

Venter, J.P., Müller, D.G., Plessis, J., Goosen, C., A comparative study of an in situ adapted diffusion cell and in vitro Franz diffusion cell method for transdermal absorption of doxylamine, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 13, 169-177 (2001).

Yokoyama, M., Polymeric micelles for the targeting of hydrophobic drugs, In: Polymeric Drug Delivery Systems, Kwon, G.S. (Ed), Taylor&Francis Group, Boca Raton, 535-538 (2005).

Yuan, Y. , Li, S. , Mo, F. , Zhong, D. Investigation of microemulsion system for transdermal delivery of meloxicam, *Int. J. Pharm.* , 321, 117-123 (2006) .

Xie, Z. , Guan, H., Chen, X. , Lu, c. , Chen, L. , Hu, X. , Shi, Q. , Jing, X. A novel polymer-paclitaxel conjugate based on amphiphilic triblock copolymer, *J. Control. Release*, 117, 210-216 (2007) .

Zhang, Y. , Jin, T. ,Zhuo. , Z. Methotrexate-loaded biodegradable polymeric micelles: Preparation, physicochemical properties and in vitro drug release, *Colloids Surf. B*, 44, 104-109 (2005) .