

195754

**PROPRANOLOL
BELLEKLİ MİKROKÜRELERİN
HAZIRLANMASI ve İN VİTRO
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Ecz. Şakir Berker Sevin
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**PROPRANOLOL BELLEKLİ MİKROKÜRELERİN
HAZIRLANMASI ve İN VİTRO
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ecz. Şakir Berker Sevin

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği uyarınca
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'nda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Müzeyyen DEMİREL

Eylül-2004

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

**Şakir Berker SEVİN'nin PROPRANOLOL BELLEKLİ
MİKROKÜRELERİN HAZIRLANMASI ve İN VİTRO
DEĞERLENDİRİLMESİ** başlıklı Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalındaki,
Yüksek Lisans tezi 02.09.2004 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu
Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili
maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Adı-Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı): Yrd. Doç. Dr. Müzeyyen DEMİREL

Üye : Prof. Dr. E. Yasemin YAZAN

Üye : Prof. Dr. A. Yekta ÖZER

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
16.08.2004 tarih ve ...23/2..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

ÖZET

Çalışmanın amacı, oldukça kısa eliminasyon yarı ömre sahip, beta-adrenoseptör antagonisti bir etkin madde olan propranolol HCl'ün (PHCl) kullanım sıklığını azaltmaya yönelik olarak kontrollü salımını gerçekleştirmektir. Bu amaçla, taşıyıcı sistem olarak, yüksek derecede seçici, oldukça kararlı, pratik hazırlanış ve ucuz maliyetleri nedeniyle moleküler baskılı polimer (MIP) sistemi seçilmiştir. Bu sistemin seçilmesinin bir başka nedeni ise, etkin maddenin konsantrasyonunun terapötik seviyeye ulaşması için geçen sürenin, bilinen polimerik mikrokürelere oranla kısaltılabilir olmasıdır.

MIP'ler ile hedef moleküle spesifiklik, yüksek derecede seçicilik, salıma duyarlılık ve hedefleme konularında başarı elde edilmektedir. Bu çalışmada, PHCl bellekli metakriloamidohistidin-Co (MAH-Co/PHCl) mikroküreleri, dispersiyon polimerizasyonu yöntemi ile hazırlanmıştır. pH, derişim ve zaman değişimi, bellekli mikrokürelere adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesinde çok önemlidir. Adsorpsiyon çalışmalarında, öncelikle % 40'lık metanollü potasyum hidroksit çözeltisi ile bellekli mikrokürelere PHCl desorbe edilmiştir. Bellekli mikrokürelere PHCl'ün adsorpsiyonu için uygun pH ve derişim değerleri belirlendikten sonra, adsorpsiyon dengesine ulaşma süresi ve maksimum adsorpsiyon değeri hesaplanmıştır. Ayrıca, PHCl bellekli mikrokürelere ile PHCl'le türdeş olan sotalol HCl'ün birlikte bulundukları ortamda, yapılan adsorpsiyon çalışması ile hazırlanan mikrokürelere PHCl'e yüksek seçicilik gösterdiği belirlenmiştir.

Bellekli mikrokürelere *in vitro* çözünmesi, saf etkin madde ve piyasa tableti ile karşılaştırılmış ve kinetik olarak değerlendirilmiştir. *In vitro* çözünme deneylerinde, USP XXIV' de tanımlanan sürekli akış yöntemi ile birlikte UV-spektrofotometrik miktar tayini yöntemi kullanılmıştır. Yapılan çözünme karşılaştırmalarında, piyasa tabletine oranla PHCl bellekli mikrokürelere salımının çok daha kontrollü olduğu görülmüştür.

ABSTRACT

The aim of this study was to achieve the controlled release of PHCl, the beta-adrenoceptor antagonist, with rather short elimination half life, to reduce the frequency of dosing. For this purpose, molecularly imprinted polymers (MIP) were chosen for their high selectivity, high stability, practical preparation and low production costs as a delivery system.

Specificity to target molecule, high selectivity, sensitivity to release and targeting were achieved using molecularly imprinted polymers. In this study, propranolol imprinted metacrilooamydohistidin-Co/PHCl (MAH-Co/PHCl) microspheres were prepared by dispersion polymerization. Differences in pH, concentration and time are very important in determining the adsorption capacity of the imprinted microspheres. In the adsorption studies, PHCl was desorbed first from imprinted microspheres using 40% methanolic potassium hydroxide solution. Following the determination of appropriate pH and concentration values for adsorption of PHCl to imprinted microspheres, time to reach adsorption equilibrium and maximum adsorption value were calculated. At a medium where propranolol imprinted microspheres and sotalol HCl with similar properties were put together, microspheres were determined to show high selectivity for PHCl.

In vitro dissolution from imprinted microspheres was compared to pure drug and its commercial tablet and evaluated kinetically. In the *in vitro* dissolution studies, flow-through-cell method was used with UV spectrophotometric quantification method, defined in USP XXIV. Comparing the dissolution test results, it was found that PHCl imprinted microspheres released the active agent in a controlled pattern.

TEŞEKKÜR

Tüm çalışmam boyunca bilgi, yardım ve desteğini esirgemeyen, sonsuz anlayış ve iyi niyet gösteren, danışman Hocam Yrd. Doç. Dr. Müzeyyen DEMİREL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca her türlü olanağı sağlayan ve desteğini esirgemeyen Bölüm Başkanım Prof. Dr. Yasemin YAZAN'a teşekkür ederim.

Molekül baskılı polimer sisteminin sentezinde ve analizlerinde bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen Doç. Dr. Rıdvan SAY'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında yakın ilgilerini ve yardımlarını gördüğüm bölüm arkadaşlarım, Araş. Gör. Uzm. Ecz. Gülay BÜYÜKKÖROĞLU'na, Araş. Gör. Uzm. Ecz. Bahar Selen KALAVA'ya, Araş. Gör. Uzm. Ecz. Ebru CENGİZ'e Araş. Gör. Ecz. Evrim AKYIL'a, Araş. Gör. Ecz. Murat S. BERKMAN'a ve Kimyager Sefa AVCIER'e çok teşekkür ederim.

Beni her zaman destekleyen, yüreklendiren ve bana maddi manevi her türlü desteği sağlayan fedakar aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ş. Berker SEVİN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	3
2.1. MOLEKÜLER BASKILI POLİMERLER	3
2.1.1. Tarihçesi	5
2.1.2. Uygulama Alanları	5
2.1.2.1. Ayırma	6
2.1.2.2. Kimyasal, Farmasötik ve Biyoteknolojik Endüstriler	7
2.1.3. Moleküler Baskılı Polimerlerin Özellikleri	8
2.1.4. Moleküler Baskılı Polimer Hazırlamada Kullanılan Maddeler	9
2.1.5. Hazırlama Yöntemleri	11
2.1.5.1. Kovalan Baskılama	12
2.1.5.2. Non-Kovalan Baskılama	12
2.1.5.3. Yarı-Kovalan Baskılama	15
2.1.6. Moleküler Baskılı Polimerler ile Yapılmış Farmasötik Çalışmalar	16
2.2. PROPRANOLOL HİDROKLORÜR	17
2.2.1. Tarihçesi	17
2.2.2. Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri	17
2.2.3. Analiz Yöntemleri	17
2.2.4. Farmakolojik Özellikleri	19
2.2.4.1. Kalp-Damar Sistemi Etkileri	20
2.2.4.2. Metabolik Etkileri	21

2.2.4.3.	Santral Sinir Sistemi Etkileri	21
2.2.5.	Farmakokinetik Özellikleri	22
2.2.6.	Yan Etkileri ve Toksisitesi	23
2.2.7.	Günlük Kullanımı ve Dozu	24
2.2.8.	Diğer Etkin Maddelerle Olan Etkileşimleri	24
2.2.9.	Ticari Şekilleri	25
3.	GEREÇ ve YÖNTEMLER	26
3.1.	GEREÇLER	26
3.1.1.	Kullanılan Cihazlar	26
3.1.2.	Kullanılan Maddeler	26
3.2.	YÖNTEMLER	27
3.2.1.	Propranolol ile Yapılan Çalışmalar	27
3.2.1.1.	Spektrofotometrik ve Kromatografik Çalışmalar	27
3.2.1.1.1.	UV-Spektrumu	27
3.2.1.1.2.	IR-Spektrumu	27
3.2.1.1.3.	İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)	27
3.2.1.2.	Erime Derecesi Tayini	27
3.2.1.3.	Termal Analiz	28
3.2.1.4.	X-Işını Kırınım Analizi	28
3.2.1.5.	Elementel Analiz	28
3.2.1.6.	Propranolol Miktar Tayini	28
3.2.1.6.1.	UV-Spektrofotometri için Validasyon Çalışmaları	28
3.2.1.6.1.1.	Doğrusallık	28
3.2.1.6.1.1.1.	Distile Su Ortamındaki Doğrusallık	28
3.2.1.6.1.1.2.	Desorpsiyon Ortamındaki Doğrusallık	29
3.2.1.6.1.1.3.	pH 3-8 Ortamlarındaki Doğrusallık	29
3.2.1.6.1.1.4.	Türev Spektroskopisi Çalışmaları için Doğrusallık	29
3.2.1.6.1.2.	Keskinlik	30
3.2.1.6.1.3.	Doğruluk	30
3.2.1.6.1.4.	Seçicilik	31
3.2.1.6.1.5.	Duyarlılık	31
3.2.1.6.1.6.	Kararlılık	31

3.2.1.6.1.6.1.	Baskılama Koşullarındaki Kararlılık	31
3.2.1.6.1.6.2.	Desorpsiyon Ortamındaki Kararlılık	32
3.2.1.6.1.6.3.	Adsorbsiyon Ortamındaki Kararlılık	32
3.2.1.6.1.6.4.	Çözünme Ortamındaki Kararlılık	32
3.2.1.6.2.	Çalışma Ortamlarındaki Çözünürlük Tayinleri	32
3.2.1.6.3.	Propranolol Piyasa Tabletinde Miktar Tayini	33
3.2.2.	Propranolol Bellekli Mikroküre ile Yapılan Çalışmalar	33
3.2.2.1.	Propranolol Bellekli Mikrokürenin Hazırlanması	33
3.2.2.1.1.	2-Metakriloamidohistidin Monomerinin Sentezlenmesi	33
3.2.2.1.2.	2-Metakriloamidohistidin Kobalt (II) Kompleksinin Sentezlenmesi	34
3.2.2.1.3.	Propranolol Bellekli Mikrokürenin Hazırlanması	34
3.2.2.2.	Desorpsiyon ve Adsorpsiyon Çalışmaları	35
3.2.2.2.1.	Mikroküreden Propranolol'ün Desorpsiyon Çalışması	35
3.2.2.2.2.	Bellekli Mikroküreye Propranolol'ün Adsorpsiyon Çalışması	36
3.2.2.2.2.1.	Ortam pH'sının Adsorpsiyona Etkisinin İncelenmesi	36
3.2.2.2.2.2.	Adsorpsiyon Denge Zamanının Belirlenmesi	36
3.2.2.2.2.3.	Propranolol Konsantrasyonunun Adsorpsiyona Etkisinin İncelenmesi	37
3.2.2.2.2.4.	Türdeş Madde Varlığının Adsorbsiyona Etkisinin İncelenmesi	37
3.2.2.3.	Karakterizasyon Çalışmaları	37
3.2.2.3.1.	Yüzey Morfolojisi	37
3.2.2.3.2.	Ortalama Partikül Boyut ve Dağılım Analizi	38
3.2.2.3.3.	Elementel Analiz	38
3.2.2.3.4.	IR Analizi	38
3.2.2.3.5.	X-Işını Kırınım Analizi	38
3.2.2.3.6.	Termal Analiz	38
3.2.2.4.	Mikrokürede Propranolol Miktar Tayini	38
3.2.2.5.	İn Vitro Çözünme Çalışmaları	39
3.2.2.6.	Kinetik Değerlendirme Çalışması	39

4.	SONUÇ ve TARTIŞMA	40
4.1.	SONUÇLAR	40
4.1.1.	Propranolol ile Yapılan Çalışmalara ait Sonuçlar	40
4.1.1.1.	Spektrofotometrik ve Kromatografik Çalışmalar	40
4.1.1.1.1.	UV-Spektrumu	40
4.1.1.1.2.	IR-Spektrumu	40
4.1.1.1.3.	İTK	40
4.1.1.2.	Erime Derecesi Tayini	40
4.1.1.3.	Termal Analiz	41
4.1.1.4.	X-Işını Kırınım Analizi	41
4.1.1.5.	Elementel Analiz	42
4.1.1.6.	Propranolol Miktar Tayini	42
4.1.1.6.1.	UV-Spektrofotometri için Validasyon Çalışmaları	42
4.1.1.6.1.1.	Doğrusallık	42
4.1.1.6.1.1.1.	UV-Spektrofotometrik Çalışmalar için Doğrusallık	42
4.1.1.6.1.1.2.	Türev Spektroskopisi Çalışmaları için Doğrusallık	43
4.1.1.6.1.2.	Kesinlik	43
4.1.1.6.1.3.	Doğruluk	44
4.1.1.6.1.4.	Seçicilik	44
4.1.1.6.1.5.	Duyarlılık	44
4.1.1.6.1.6.	Kararlılık	44
4.1.1.6.1.6.1.	Baskılama Koşullarındaki Kararlılık	44
4.1.1.6.1.6.2.	Desorpsiyon Ortamındaki Kararlılık	45
4.1.1.6.1.6.3.	Adsorbsiyon Ortamındaki Kararlılık	45
4.1.1.6.1.6.4.	Çözünme Ortamındaki Kararlılık	45
4.1.1.6.2.	Çalışma Ortamlarındaki Çözünürlük Tayinleri	46
4.1.1.6.3.	Propranolol Piyasa Tabletinde Miktar Tayini	46
4.1.2.	Propranolol Bellekli Mikroküre ile Yapılan Çalışmalara ait Sonuçlar	46
4.1.2.1.	Desorpsiyon ve Adsorpsiyon Çalışmaları	46
4.1.2.1.1.	Mikroküreden Propranolol'ün Desorpsiyon Çalışması	46

4.1.2.1.2.	Bellekli Mikroküreye Propranolol'ün Adsorpsiyon Çalışması	46
4.1.2.1.2.1.	Ortam pH'sının Adsorpsiyona Etkisinin İncelenmesi	46
4.1.2.1.2.2.	Adsorpsiyon Denge Zamanının Belirlenmesi	47
4.1.2.1.2.3.	Propranolol Konsantrasyonunun Adsorpsiyona Etkisinin İncelenmesi	49
4.1.2.1.2.4.	Türdeş Madde Varlığının Adsorbsiyona Etkisinin İncelenmesi	50
4.1.2.2.	Karakterizasyon Çalışmalarına ait Sonuçlar	51
4.1.2.2.1.	Yüzey Morfolojisi	51
4.1.2.2.2.	Ortalama Partikül Boyut ve Dağılım Analizi	52
4.1.2.2.3.	Elementel Analiz	52
4.1.2.2.4.	IR Analizleri	54
4.1.2.2.5.	X-Işını Kırınım Analizleri	55
4.1.2.2.6.	Termal Analizleri	55
4.1.2.3.	Mikrokürede Propranolol Miktar Tayini	56
4.1.2.4.	İn Vitro Çözünme Çalışmalarına ait Sonuçlar	57
4.1.2.5.	Kinetik Değerlendirme Çalışmalarına ait Sonuçlar	58
4.2.	TARTIŞMA	62
4.2.1.	Çalışılan Maddelere ait Değerlendirmeler	62
4.2.1.1.	Propranolol HCl	62
4.2.2.	Propranolol Bellekli Mikroküreye ait Değerlendirmeler	66
4.2.2.1.	Propranolol Bellekli Mikrokürenin Karakterizasyonuna ait Değerlendirmeler	70
5.	KAYNAKLAR	74
	ÖZGEÇMİŞ	82

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
2.1. Baskılama Yönteminin Ana Hatları ile Basitleştirilmiş Açıklaması	4
2.2. PHCl'ün Kimyasal Yapısı	17
2.3. Propranolol Metabolitleri	23
3.1. Propranolol Bellekli Mikrokürelerin Hazırlanmasında Kullanılan Polimerizasyon Sistemi	35
4.1. Propranolol'ün UV-Spektrumları	41
A: Propranolol'ün Distile Su Ortamındaki UV-Spektrumu	
B: Propranolol'ün pH 6 Ortamındaki UV- Spektrumu	
C: Propranolol'ün %40'lık Metanollü Potasyum Hidroksit Ortamındaki UV-Spektrumu	
4.2. Propranolol'ün İTK Kromatogramı	40
4.3. Propranolol'ün Çalışma Ortamlarındaki Kararlılığına ait İnce Tabaka Kromatogramı	45
4.4. Propranolol'ün Bellekli Mikroküreye Adsorpsiyonuna Ortam pH'sının Etkisini Gösteren Profil	47
4.5. Propranolol'ün Adsorpsiyon Dengesine Ulaşma Zamanını Gösteren Profil	48
4.6. Propranolol'ün Distile Su Ortamında Farklı Konsantrasyonlarda Bellekli Mikroküreye Adsorpsiyonunu Gösteren Profil	49
4.7. Propranolol HCl ve Sotalol HCl Adsorpsiyonunu Gösteren Profil	50
4.8. Mikroküre Şekillerinin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüleri	51
A: Propranolol Bellekli Mikrokürenin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü	
B: Desorpsiyon Sonrası Şeklin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü	
C: Adsorpsiyon Sonrası Şeklin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü	
4.9. Propranolol ve Mikrokürelerinin Ortalama Partikül Boyut ve Dağılım Profilleri	53
A: Propranolol'ün Ortalama Partikül Boyut ve Dağılım Profili	
B: Propranolol Bellekli Mikrokürenin Ortalama Partikül Boyut ve Dağılım Profili	
C: Desorpsiyon Sonrası Şeklin Ortalama Partikül Boyut ve Dağılım Profili	
D: Adsorpsiyon Sonrası Şeklin Ortalama Partikül Boyut ve Dağılım Profili	

4.10.	Propranolol ve Propranolol Bellekli Mikrokürelerin IR-Spektrumları	54
	A: Propranolol'ün IR Spektrumu	
	B: Propranolol Bellekli Mikrokürenin IR Spektrumu	
	C: Desorpsiyon Sonrası Şeklin IR Spektrumu	
	D: Adsorpsiyon Sonrası Şeklin IR Spektrumu	
4.11.	Propranolol ve Mikrokürelerinin X-Işını Kırınım Profilleri	55
	A: Propranolol'ün X-Işını Kırınım Profili	
	B: Propranolol Bellekli Mikrokürenin X-Işını Kırınım Profili	
	C: Desorpsiyon Sonrası Mikrokürenin X-Işını Kırınım Profili	
	D: Adsorpsiyon Sonrası Mikrokürenin X-Işını Kırınım Profili	
4.12.	Propranolol ve Mikrokürelerinin DSC Termogramları	56
	A: Propranolol'ün DSC Termogramı	
	B: Propranolol Bellekli Mikrokürenin DSC Termogramı	
	C: Desorpsiyon Sonrası Şeklin DSC Termogramı	
	D: Adsorpsiyon Sonrası Şeklin DSC Termogramı	
4.13.	Toz Propranolol, Ticari Preparatı ve Adsorpsiyon Sonrası Mikrokürenin Distile Su Ortamındaki Çözünme Profilleri	58
4.14.	Distile Su Ortamındaki Modifiye Hixson-Crowell Kinetiğine ait Eğri	61
4.15.	Distile Su Ortamındaki RRSBW Kinetiğine ait Eğri	61

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
4.1. Propranolol'ün Farklı Ortamlardaki Standart Eğri Denklemlerine ait Değerler	42
4.2. Distile Su Ortamındaki Türev Spektroskopisi Çalışmalarının Standart Eğri Denklemlerine ait Değerler	43
4.3. UV Spektrofotometrik Yönteme ait Kesinlik Sonuçları	43
4.4. UV Spektrofotometrik Yönteme ait Doğruluk Sonuçları	44
4.5. Propranolol'ün Farklı Ortamlardaki Çözünürlük Değerleri ve Standart Hataları	46
4.6. Propranolol'ün Farklı pH'lardaki Adsorpsiyon Değerleri	47
4.7. Propranolol'ün Adsorpsiyon Dengesine Ulaşma Zamanı ve Değerleri	48
4.8. Propranolol'ün Farklı Konsantrasyonlardaki Adsorpsiyon Değerleri	49
4.9. Propranolol HCl ve Sotalol HCl Adsorpsiyon Değerleri	50
4.10. Propranolol ve Propranolol Bellekli Mikroküre Şekillerinin Ortalama Partikül Boyut Dağılım Bulguları	52
4.11. Propranolol Mikrokürelerinin DSC Termogramlarına ait Bulgular	56
4.12. Toz Propranolol, Ticari Preparatı ve Adsorpsiyon Sonrası Mikrokürenin Distile Su Ortamında Yığılmalı Çözünme Yüzdeleri ve Standart Hataları	57
4.13. Çözünme Hızı Kinetiklerinin Matematiksel Modellere Uyum Çalışmalarının Bulguları	59
4.14. Modifiye Hixson-Crowell Kinetiğine ait Değerler	60
4.15. RRSBW Kinetiğine ait Değerler	60

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AAS	: Atomik absorpsiyon spektrofotometresi
AIBN	: Azobisisobütironitril
DSC	: Diferansiyel taramalı kalorimetri
EGDMA	: Etilen glikol dimetakrilat
FTIR	: Fourier dönüşümlü infrared spektrofotometresi
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
IBMK	: İzobutil metil keton
IR	: İnfrared
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
MAA	: Metakrilik asit
MAH	: Metakriloamidohistidin
MEP	: Metakriloksi etilfosfat
MIP	: Moleküler baskılanmış polimer
NIP	: Baskılanmamış polimer
PGE₂	: Prostaglandin E ₂
PVA	: Polivinil alkol
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
TFMAA	: Triflorometil akrilik asit
TRIM	: Trimetil propan trimetil metakrilat
UV	: Ultra Viyole
4-VP	: 4-Vinilpiridin

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Uzun yıllar, farmasötik alandaki çalışmaların başlıca amacı, çeşitli hastalıkları tedavi edici yeni bir molekül geliştirmek olmuştur. Ancak, bu araştırmaların uzun zaman alması, ekonomik yükü ve her zaman beklenen sonucu vermemesi alternatif arayışları başlatmıştır. Bu arayışlardaki amaç, hastanın tedavisinin yanısıra yaşam kalitesini arttırmaktır. Etkin madde dozunu azaltma, dozlama aralığını uzatma, yan ve zararlı etkilerden arındırma ve ilacı hedef bölgeye gönderme çalışmaları bu amaca yöneliktir. Konvansiyonel dozaj şekillerinde etkin maddenin plazma düzeyini etkili dozda tutabilmek için ilacın sık sık alınması gerekmektedir. Oysa, kontrollü salımda belirli bir doz alındıktan sonra etkin madde plazma düzeyi uzun süre sabit kalır; dolayısıyla dozlama aralığı uzatılmış olur (1).

Bu çalışmada, polimere baskılama için düşünülen etkin madde; hipertansiyonun uzun süreli tedavisinde, angina pectoris, kardiak aritmi ve çeşitli kardiovasküler düzensizliklerin tedavisinde terapötik değeri olan beta-adrenoseptör antagonisti olan propranolol HCl'dür (PHCI) (2-6). Propranolol gibi beta-blokörler oral olarak alındıklarında, mide-barsak kanalından emilimleri tam veya tama yakın derecede olur; ancak, sistemin biyoyararlanımı %10-75 arasındadır (7). Bunun başlıca nedeni, bu etkin maddelerin karaciğerden geçişleri sırasında ilk-geçiş-eliminasyonuna önemli derecede uğramalarıdır (7-9). Bu nedenle, propranolol'ün belirli bir dozu farklı hastalara oral yoldan verildiğinde, elde edilen kan konsantrasyonlarının birbirinden farklı ve en yüksek değeri ile en düşük değer arasında 20 kata yakın fark bulunmaktadır (2). Genel olarak, oral yararlanımı %30 kadardır (10).

Moleküler baskılama, küçük moleküllere karşı yüksek seçiciliğe sahip sentetik polimerlerin oluşturulmasında kullanılan güçlü bir tekniktir (11, 12). MIP'lerin 3 temel özelliği dikkat çekmektedir. Bunlar: 1) yüksek derecede seçicilik ve afinitesi ki doğal reseptörlere benzetilmektedir, 2) doğal biyomoleküller tarafından kanıtlanmış üstün kararlılıkları, 3) hazırlanmalarındaki pratiklik ve farklı uygulamalara gösterdikleri kolay adaptasyondur (13). MIP'lerin tanıma özelliklerinin yanısıra, fiziksel ve kimyasal özellikleri de önemlidir. Bu maddeler, çeşitli olumsuz dış faktörlere karşı yüksek fiziksel ve kimyasal direnç

gösterirler. Bu yüzden, MIP'ler mekanik baskıya, yükseltilmiş sıcaklıklara ve yüksek basınca karşı oldukça karardır; asit, baz ve metal iyonları ile karşılaştınca direnç gösterirler ve çözeltilerin büyük çoğunluğunda kararlı kalırlar. Ayrıca, polimerlerin saklama dayanıklılığı da oldukça yüksektir. Bu polimerler, tanıma özellikleri bozulmadan yıllar boyu, 100 defadan daha fazla tekrarlanarak kullanılabilirler. Doğal biyolojik tanıma bölgeleri (proteinler) ile karşılaştırıldığında, MIP'ler özellikleri ile üstünlük gösterir (12).

Moleküler baskılama teknolojisi, ilaç dozaj şekilleri için de büyük bir potansiyele sahiptir. Etkin madde taşıyıcı sistemlerinde, ilaçların güvenilirliğini ve yararlarını maksimum duruma getirmek için, salım hızının düzenlenmesi (geciktirilmiş veya uzatılmış salım sistemleri ile) ve istenilen spesifik bölgeye etkin maddenin hedeflendirilmesi istenir. Moleküler baskılama teknolojisinde, adsorpsiyon kapasitesi ortamdaki *template* (hedef molekül) konsantrasyonuna bağlı olmakla birlikte, spesifik biyoaktif molekülleri tanıma yeteneği ile verimli polimer sistemleri sağlanabilmektedir. Moleküler baskılama teknolojinin farmasötik alandaki uygulamaları yeni bir aşama olmasına karşın, örnekleri mevcuttur; ancak henüz klinik uygulamalara sahip değildir (14).

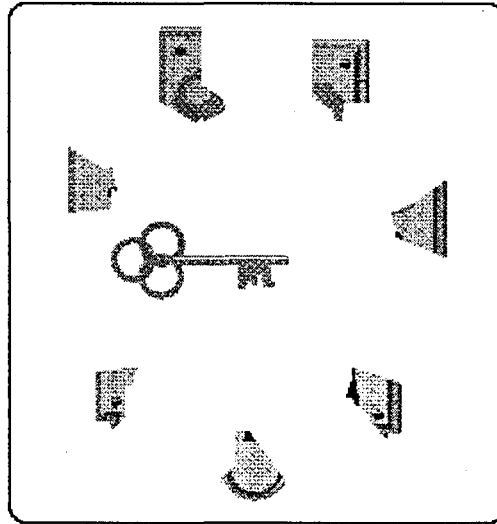
Çalışmamızda, öncelikle, etkin madde olarak seçilen PHCl'ün spesifikasyonlara uygunlukları tespit edilecek, *in vitro* miktar tayini için seçilen yöntemin validasyonu gerçekleştirilecektir. Hazırlanacak olan PHCl bellekli mikroküreler üzerinde karakterizasyon ve adsorpsiyon çalışmaları gerçekleştirildikten sonra, yapılacak *in vitro* çalışmalarla PHCl'ün çözünme hızı saptanacak, sonuçlar etkin madde ve piyasa tableti ile karşılaştırılacaktır. Çalışmamızın ana amacı ise, PHCl ile spesifik olarak etkileşebilecek seçici yuvalara sahip yüksek dayanıklılığı olan mikroküreler sentezlenerek, PHCl'ün kontrollü salımının sağlanmasıdır.

2. KAYNAK BİLGİSİ

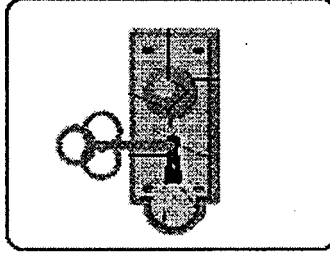
2.1. MOLEKÜLER BASKILI POLİMERLER

Yapay olarak yaratılmış reseptör yapıları maddelerin yeni bir sınıfı olarak gösterilen moleküler baskılı polimerler (MIP), 1972'deki keşiflerinden itibaren, kromatografik adsorbanların, membranların, sensörlerin, enzim ve reseptör taklitçilerinin gelişimi ile ilgilenen mühendis ve bilim adamlarının önemli ölçüde ilgisini çekmektedir (13). MIP araştırmalarının başlıca amacı, spesifik adsorbanların tasarımı ve doğal spesifikliğin anlaşılabilmesidir (13).

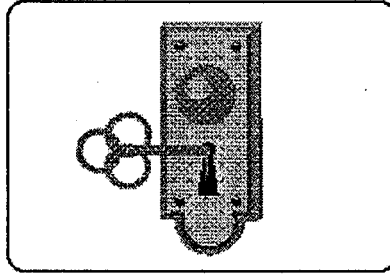
Moleküler baskılama, küçük moleküllere karşı yüksek seçiciliğe sahip sentetik polimerlerin oluşturulmasında kullanılan güçlü bir tekniktir ve bu nedenle kendi kendine montaj yapabilen moleküler tanıma örnek gösterilmektedir (11, 12). Moleküler tanıma ise, kimyasal bir maddenin, kapalı yapısına benzer olan bir reseptöre yüksek seçicilikle bağlanması olarak ifade edilmektedir (15). Aşağıdaki basitleştirilmiş çizim ve açıklamalarda, baskılama yönteminin özel ana hatlarına dikkat çekilmiştir (Şekil 2.1.) (12).



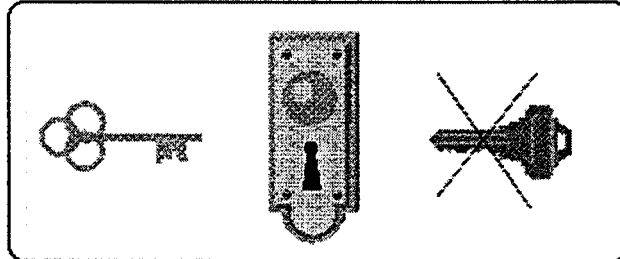
İlk aşamada, seçilmiş anahtar molekül, kilit oluşturuca birçok madde ile karıştırılır.



Kilit oluřturucu maddeler ve anahtar saęlam veya gevşek olarak birbirlerine kenetlenir.



Kilit oluşturucu maddeler ve anahtar arasında oluşturulan bu yapı, anahtarın kilit oluşturucu maddelere tam olarak uyması için sonradan sıkı bir şekilde yapıştırılır.



Anahtar molekül çıkarılarak, sadece ilk anahtara duyarlı olan ve başka hiçbir anahtarı tanımayan bir yapı elde edilir.

şekil 2.1. Baskılama Yönteminin Ana Hatları ile Basitleştirilmiş Açıklaması

2.1.1. Tarihçesi

Moleküler baskılama maddelerinin hazırlanmasına ait ilk yaklaşımlar 1930'lara dayanmaktadır (16). Poljakow, benzen, toluen ve ksilen ortamında silikajelden suyu geri çıkarmış ve benzende kurutulmuş silikajelin adsorbe etme gücünün, toluen ve ksilenden daha hızlı olduğunu izlemiştir. Poljakow, yaptığı bu çalışma ile, por yapısının, gaz ortamındaki moleküllerin biçim ve büyüklüklerinden etkilendiğini tespit etmiştir (16).

Moleküler baskılamanın polimer matriks içindeki özel tanıma bölgeleri ile etkili bir yöntem olduğu, ilk olarak, yarım yüzyıl önce Dickey tarafından belirtilmiştir (17). Dickey, 1949'da, metil oranj içinde asitlendirilmiş Silika çözeltisinden baskılanmış jeller hazırlamış, ekstraksiyondan sonra elde edilen jel, metil oranjı boş jelden daha iyi adsorbe etmiştir (16).

"Seçilmiş madde (*template*) olarak kullanılan hedef bir molekülün, kendi tanıma bölgesine montajlanması" ifadesi ise, 1940 yılında Pauling tarafından bir immün sistem çalışmasında açıklanmıştır (15). Moleküler baskılama terimi, böylece Pauling'in *in vitro* olarak ürettiği antikorlarda, Dickey'in spesifik adsorbanlarında ve ayrıca Fischer'in anahtar-kilit kavramlarında yer almıştır. Tüm bunlarla beraber, modern moleküler baskılama, Wulff ve Mosbach tarafından tespit edilmiş olup, bu araştırmacıların önemli çalışmaları, moleküler baskılamanın gelişen bir akım haline gelmesine yol açmıştır (18). Çalışmamızda da yararlanmış olduğumuz metal komplekslerin şiral ligandının *template* olarak kullanılması ise ilk olarak Locatelli tarafından 1998 yılında gösterilmiştir (16).

2.1.2. Uygulama Alanları

Benzer moleküllerin bir arada bulunduğu karışımdan hedef molekülü tanıyabilen, hassas makromoleküler kimyasal mimarinin tasarımı, çok sayıda potansiyel uygulamaya sahiptir. Polimerlerin tanıma mekanizmalarının açıklanmasıyla uygulama alanları daha da artmıştır. Bu alandaki araştırmaların ana merkezi, ayırma yöntemlerini (kromatografi, kapiler elektroforez, katı-faz ekstraksiyonu, membran ayırmaları), immünoanalizleri ve antikor taklitçileri, biyosensör tanıma elementlerini, kataliz ve yapay enzimleri içermektedir (19). Ayrıca, baskılanmış polimerlerdeki gelişme ile beraber kontrollü salım gibi alanlara da ilgi artmıştır. MIP'lerin dayanıklılığı ve sürekliliği, bu alanlarda MIP

teknolojisini çekici hale getirmiştir. Ancak, MIP'lerin katı ve çözünmeyen doğaları, özelliklerini olumsuz yönde etkileyebilir. Süspansiyon polimerizasyonu tekniği ile bu problemlerin üstesinden gelinebilir (20). Bununla birlikte, baskılama teknolojisinin şimdiye kadar ticarileşmiş hiçbir uygulaması yoktur (13, 19).

Son yıllarda, kendilerine bağlanan yapıları ezberleyen baskılanmış-akıllı jeller hazırlanmıştır (19). Modifiye şişme davranışları da olan bu jeller, dış uyarıcılar ile açılabilen ve kapanabilmektedir. Bu da, MIP'lerin, hedeflendirilmiş ilaç dağıtım uygulamalarında, elementleri tanıyan akıllı ilaç dağıtım aletleri ve mikroakışkan araçlardaki analite hassas mikrovalfler ve mikroölçerler gibi yeni uygulamaları içeren alanlara doğru yavaş yavaş gelişeceğini düşündürmektedir (19). MIP'lerin başlıca uygulama alanları, ayırma, kimyasal, farmasötik ve biyoteknolojik endüstriler, çevre, askeri ve uzay, sensörler, kataliz, özel fonksiyonlu maddelerdir (13). Tüm bu uygulamalar ile, son on yıl içinde, moleküler baskılamanın pratik bir yöntem olduğu kanıtlanmış ve tekniğin uygulanabilirliği çok sayıda çalışmaya önderlik etmiştir (17). MIP'lerin hem analizlerde, hem de endüstriyel üretimde kullanımları, kararlılıkları ve düşük maliyetleri büyük avantaj sağlamaktadır (21).

2.1.2.1. Ayırma

MIP'lerin oldukça geniş olarak kullanıldığı alan, yapısal olarak benzer bileşenlerin ayrılmasıdır (11). Teknik, çok sayıda rasemik karışımların şiral ve kromatografik ayrımlarında sabit faz olarak kullanılmıştır (17). MIP'lerin en sık uygulandığı alan, rasemik karışımların şiral ayrışması olmakla birlikte, bu teknoloji ayrıca psödoimmüno denemeler, heterojenik katalizler ve analitik zenginleştirmelerde de kullanılmaktadır (22). Brüggemann ve arkadaşları (23), β -laktam antibiyotiklerinin su ve organik fazlardan kromatografik olarak ayrılmasında, β -laktam antibiyotik baskılanmış polimerleri sabit faz olarak kullanmışlardır. Bu çalışmada, çapraz bağlayıcı-fonksiyonel monomer-*template* oranı 12:4:1 olarak belirlenmiştir. Fonksiyonel monomer olarak 4-vinilpiridin kullanılmıştır. Çapraz bağlayıcı olarak trimetilpropan trimetarikat (TRIM) seçilmiştir. MIP uygulandığında, 3 antibiyotik karışımından oksasilin piki, penisilin G ve penisilin V'nin piklerinden ayrılmıştır (23).

2.1.2.2. Kimyasal, Farmasötik ve Biyoteknolojik Endüstriler

MIP sistemleri ile kimyasal bileşimler başarıyla baskılanmıştır. Bu bileşimler arasında, aminoasitler ve türevleri, anilin ve türevleri, fenol ve türevleri, etkin maddeler, gazlar, herbisitler, heterosiklikler, metal iyonları, mikroorganizmalar, nükleik asitler ve türevleri, polinükleer aromatik hidrokarbonlar, proteinler, steroidler, şeker ve türevleri, alkaloidler, toksinler ve narkotikler bulunmaktadır (13). Bunların genel uygulamaları ise ayırım, bağlanma ve sensör çalışmalarıdır (13).

MIP'ler enzim ve biyosensör gibi davranmada büyük başarı göstermektedir (11). İmmün testler içinde kullanım alanı bulmakta, örnek olarak, reseptör çalışmalarında sentetik enzim veya biyosensör gibi kullanılmaktadırlar (17).

Farmasötik olarak, etkin maddenin diastereoizomerlerinin transdermal kontrollü salımı için kullanılmışlardır (17). Etkin madde salımı konusunda, bu polimerlerle salıma duyarlılık, adhezyon ve hedefleme konularında başarı elde edilmiştir. Bu başarı, hücre ve doku yüzeylerinde, bileşenlere spesifiklik oluşturulmasıyla gerçekleşmiştir (11).

Birçok farmasötik şirket MIP'leri etkin madde ayırımı ve arındırması için kullanmaktadır (13). Yüzeysel baskılama, yüzey modeline ve özelliğine göre yapıldığında hücre ayırmada da kullanılabilir. MIP kullanımında bir diğer nokta, fazla veya toksik bileşenlerin kan veya vücut sıvılarından atılabilmesidir (11).

Allender ve arkadaşları (24), histamin ve efedrin baskılanmış polimerleri, potansiyel birer biyolojik reseptör taklitçileri gibi kullanırken, propranolol baskılanmış MIP'in transdermal kontrollü salım yönteminde hız azaltıcı seçici yardımcı olarak kullanımını araştırmışlardır. Hem efedrin hem de histaminin kromatografik verilerinde, MIP kolonları baskılanmamış polimer (NIP) kolonlarına göre, *template* moleküllere önemli derecede yüksek bağlama göstermişlerdir. Buna ek olarak, propranolol HCL'de de spesifik bağlanma meydana gelmiştir. Benzer bir başka çalışmada, teofilinin MIP' e bağlanma oranı da NIP' e göre çok daha yüksektir. Tüm bu çalışmalarda, etkin maddenin salım profillerini uzatabildikleri veya kontrollü salım sağlayabildikleri gözlenmiştir.

2.1.3. Moleküler Baskılı Polimerlerin Özellikleri

MIP'lerin genel olarak 3 temel özelliği dikkat çekmektedir. Bunlar: 1) Yüksek derecede seçicilik ve afinitesi ki doğal reseptörlere benzetilmektedir, 2) Doğal biyomoleküller tarafından kanıtlanmış üstün kararlılıkları, 3) Hazırlanmalarındaki pratiklik ve farklı uygulamalara gösterdikleri kolay adaptasyondur (13, 25).

Biyomateryal alanındaki yeni gelişmeler, polimerlerin moleküler tasarımını, yüzey ve hacim özelliklerini geliştirmiştir. Yüzey modifikasyonuna yeni tekniklerin eklenmesi, bağlanmış olan zincir maddelerinin biyolojik ve farmasötik bileşimleri tanıma yeteneğini ortaya çıkarmıştır. Moleküler baskılama ile ilgili olan bu yöntemler, sistemlerin tanıma kapasitelerini yükseltmiştir. Ayrıca, zincirlerdeki bu bağlanma, salım yönteminin mukoadheziv davranışını ve etkin maddenin spesifik bölgede, hedef üzerindeki etkinliğini ve lokalizasyonunu geliştirmiştir (11).

Seçicilik konusuna örnek bir çalışmada, rasemik 1,1'-bi-2-naftol (BINOL)'ün Pt-(R)-BINOL'e şekillendirilmiş boşluğa bağlanmasıyla, seçicilik oranı % 95'e çıkmıştır (26). Bu çalışmada, polimer sentezinden sonra çapraz bağlanamayan ligandların çıkarılmasıyla şiral boşluklar ortaya çıkmıştır. Bu aşamadan sonraki temel sorun, üretilen boşluklara metal *template*'lerin bağlanmasıdır. Bu sorun ise seçici boşlukların birleştirilmesiyle çözümlenmiştir (26).

Moleküler baskılama tekniği ile çeşitli *template* moleküller kullanılarak yapay enzimler sentezlenmiştir. Sentezlenen bu maddeler, doğal enzimlerin kullanılmadığı ortamlarda farklı katalitik reaksiyonlara karşı % 100 seçicilikle moleküler tanıma sağlamıştır (16).

Metakrilik asit-etilenglikol dimetakrilatın ko-polimer olarak kullanıldığı teofilin baskılanmış sistemin termal ve kimyasal kararlılığı araştırılmıştır (27). Çeşitli kimyasal ortamlarda ve yükseltilmiş ısıya maruz bırakılarak, teofilin tanıma özelliğinde meydana getirilen değişimlerin çalışılması, baskılanmamış polimer referans alınarak yapılmıştır. Polimerler 24 saat 150°C'ye kadar olan sıcaklıklara, *template*'e karşı afinitesini kaybetmeksizin dayanma göstermiştir. 150°C'nin üstündeki sıcaklıklar ise, bağlama kapasitesinde ve kütle kaybında hızlı

bir düşüğe neden olmuştur. Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometresi (FTIR), bu durumun polimerin dekarboksilasyonundan meydana geldiğini göstermiştir. Polimerler, aşırı pH, organik baz ve otoklav işlemine karşı dikkate değer bir direnç sergilemiştir. Bu çalışma pratik uygulamalarda önemi olan polimer kararlılığının sınırlarını göstermektedir (27).

2.1.4. Moleküler Baskılı Polimer Hazırlamada Kullanılan Maddeler

Moleküler baskılama sistemindeki her bileşen, bütünün bir parçasıdır ve sistemin performansında çok önemli rol oynar. Bu bileşenler temel olarak, monomerler, çapraz bağlama ajanları ve çözücülerdir. Tüm bileşenler, baskılama yönteminin seçiciliğini ve MIP'lerin kapasitesini etkiler. Bu etkilerden birincisi, *template*, fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı ajan arasındaki birbirini tamamlayan etkileşimlerin, reseptör bölgede moleküler organizasyonu meydana getirmesidir. Bu etkileşimler hidrojen bağları, elektrostatik güçler ve Van Der Waals güçleridir (28). İkinci etki, sitokiyometri ile *template* ve monomerlerin konsantrasyonunun, hem polimer morfolojisini hem de MIP'lerin seçiciliğini etkilemesidir. Üçüncü etki ise, polimerizasyon işleminde kullanılan '*porogen*' olarak da bilinen çözücünün, polimerizasyon esnasındaki faz ayrımının zamanını tespit etmesidir ki bu durum polimer morfolojisinde, porozitede ve bağlanma bölgesine ulaşılabilirlikte önemli bir belirleyicidir. Ayrıca, sıcaklık da, polimerizasyonda faz ayrımının zamanını ve fonksiyonel monomerle *template* arasındaki dengenin güvenilirliğini, MIP'in seçicilik ve kapasitesini etkiler (28).

Fonksiyonel monomerler olarak adlandırılan monomerler, polimerik sistemle istenilen *template*'in etkileşimlerinden sorumludur. Polimerizasyon esnasındaki etkileşimler, sistemin *template*'e olan seçiciliğini ve afinitesini sağlamada yararlı olmalıdır. Çapraz bağlama ajanı ve oranı, polimerik sistemin sertliğinden ve *template*'in bağlanacağı spesifik boşlukların sağlamlığından sorumludur. Çözücü diğer bileşenlerin çözünmesinde ve *template* ile fonksiyonel monomer arasındaki etkileşime yardımcı olan bileşendir. Ayrıca, polimerizasyon esnasındaki poroziteyi ve yapının difüzyonel özelliğini belirler (11).

MIP üretiminde odaklanılan nokta, MIP'lerin iyonik, metal koordinasyon, hidrofilik ve hidrofobik etkileşimler sağlayabilecek farklı fonksiyonel monomerlerle üretilmesidir. MIP sistemlerinin performansını önceden

söyleyebilmek ve tanıma işlemlerinin, *template* ve çözücü üzerindeki seçiciliğini anlayabilmek için, farklı tip etkileşimlerin etkilerini gözlemlemek gereklidir (11).

Moleküler baskılamada, metakrilik asit (MAA) ve 2-(triflorometil) akrilik asit (TFMAA) mükemmel birer fonksiyonel monomerdır (29). Çünkü, hidrojen bağ yetenekleri hidrojen verici kadar güçlüdür. Yapılan bir çalışmada, 2-(metakriloksi) etilfosfat (MEP)'la ve TFMAA ile hazırlanmış iki farklı polimerin bağlama yeteneği karşılaştırılmıştır (29). MEP'le hazırlanan polimerdeki kolesterole karşı seçiciliğin TFMAA ile hazırlanana göre daha iyi olduğu belirlenmiştir (29).

Benzer bir çalışmada, Lanza ve Sellergren (28), farklı fonksiyonel monomerler kullanarak altı baskılanmış polimer formülasyonu hazırlamışlardır. Bunlardan TFMAA fonksiyonel monomeri ile hazırlanan MIP, en yüksek *template* kapasitesini gösterirken, MAA fonksiyonel monomeri ile hazırlanan MIP en yüksek seçiciliği göstermiştir (28).

Metakrilik monomerler, farklı etkileşimleri sağlamada çok yönlü oldukları için sıkça kullanılmaktadırlar. Buna örnek olarak, polietilenglikol (PEG) içeren multifonksiyonel metakrilatlar verilebilir. PEG, MIP sistemlerine, sadece fonksiyonel monomer olarak katılmamaktadır. Aynı zamanda düşük immünojenite sağlayan bileşendir. Bu model sistemlerde, glikoz ve teofilin *template* molekül olarak kullanılır. Glikoz içeren bu polimerik sistemler, diabet tedavisine yardımcı olarak kullanılabilir (11).

Kovalan ve non-kovalan yöntemle baskılanmış polimer hazırlanmasında en çok tercih edilen çapraz bağlayıcılardan birisi etilen glikol dimetakrilat (EGDMA)'dır. Wulff ve arkadaşları (15), monosakkaritlerin kovalan yolla baskılanmasında, değişen monomer tipi ve konsantrasyonlarında bir dizi çapraz bağlayıcıyı karşılaştırmışlardır. Karşılaştırma testlerinde, EGDMA baskılanmış polimerin yüksek basınçlı sıvı kromatografisine (YBSK) uygulanmasıyla en iyi ayırma sonuçları elde edilmiştir. Son bildirilerde ise, non-kovalan yöntemle baskılanmış polimer hazırlanmasında trimetil propan trimetakrilat (TRIM)'ın daha iyi olabileceği belirtilmektedir (15).

Spivak ve Shea (30), 9-etil adenin'in baskılanmasında çapraz bağlayıcının % mol etkisini araştırmışlardır. Fonksiyonel monomer olarak MAA kullanılmış ve

mol değişiminin etkisi izlenmiştir. Fonksiyonel monomerdeki % mol artışı ile, bağlamada (kapasite faktörü) artış gözlenmiştir. Yine, 9-etil adenin baskılanan bu çalışmada, çözücünün sisteme olan etkisi de araştırılmıştır. Çözücü olarak kloroform ve asetonitril kullanılmış, kloroformla hazırlanan polimerdeki bağlama afinitesinin, asetonitrille hazırlanan polimerinkinden daha yüksek olduğu YBSK ile gösterilmiştir. Çözücü seçimi, maddelerin hem porozitesini hem de şişme özelliklerini etkilemiştir. Çalışmaya göre, asetonitrille hazırlanan polimer makroporozite özellik gösterirken, kloroformla hazırlanan polimer hemen hemen gözeneksiz matriks özelliği göstermiştir. Ancak, kloroformla hazırlanmış polimerin *template*'e karşı yüksek bağlama afinitesinin bulunmasıyla, porozitenin moleküler baskılama için zorunlu olmadığı da anlaşılmıştır.

Baskılama yönteminde çok önemli bir basamak, *template*'le çözücü ve *template*'le fonksiyonel monomer arasındaki etkileşim gücünün optimizasyonudur (11). *Template*, çözücüyle uyumlu olmalıdır. Bununla beraber, *template* çözücünden daha çok monomerle etkileşmeyi tercih etmelidir. Aksi takdirde, çözücü istenilen spesifik etkileşimlerin oluşumunu engeller. Yüksek seçicilik, polimerizasyonda *template*'le monomer arasındaki etkileşimin kararlılığıyla orantılıdır. MIP'in sulu ortamlarda hazırlanması ve kullanılması, suyun sistemi engellemesi nedeniyle sınırlıdır. Bu zorluğun üstesinden gelmek için düşünülen bir yaklaşım organik çözücülerin kullanılmasıdır. Ancak, organik çözücülerde de toksisite ve geçimsizlik sorunu ortaya çıkabilir. *Template*'le fonksiyonel monomer arasındaki etkileşimi arttırmak için kullanılan bir yaklaşım da, sudaki hidrofobik ve metal koordinasyon etkileşimlerini arttırmaktır (11).

Polimerizasyon çözücüsünün, polimer morfolojisi ve spesifik olarak yüzey alana olan etkisi Whitcombe (15) tarafından araştırılmıştır. Bunun için, kolesterol baskılanmış polimer test edilmiş, spesifisite ve spesifik alan arasında ters orantılı bir ilişki bulunmuştur.

2.1.5. Hazırlama Yöntemleri

Hazırlama koşullarının ve hazırlamada kullanılan önemli bileşen tiplerinin değiştirilmesiyle, MIP'ler belli bir amaca göre çok yönlü olarak yapılabilir veya değiştirilebilir. Örnek olarak, etkin madde salımında ve spesifik bölgeye hedeflemede çok yönlü işlevler kazandırılabilir (11).

Bugüne kadar, baskılama yöntemleri 3 kategoriye bölünmüş durumdadır. Bunlar, kovalan, non-kovalan, yarı-kovalan yöntemleridir (15,31,32). Bu yöntemlerin hepsinin amacı, *template*-monomer kompleksi arasında, gevşek yoğunlaşma ile aynı bağların yeniden düzenlenmesiyle tam uyum sağlamaktır (15).

2.1.5.1. Kovalan Baskılama

Kovalan baskılamaya Wulff ve arkadaşları (15) öncülük etmiştir. *Template*'in polimerden çıkarılabilmesi için hafif hidroliz (sulu metanol gibi) gerekmektedir. Ancak, bu yöntem, fonksiyonel gruplarla sınırlıdır. Fonksiyonel gruplar, bağları kolaylıkla tersinir hale getirebilir. Kovalan bağlı *template*-monomer için alternatif bir hazırlama yöntemi de daha fazla ayrılma gerektiren karboksilik ester kullanımıdır. Bu madde ile ise, orijinal *template*-monomer kompleksi, yeniden bağlanmayı kendiliğinden düzenleyememektedir. Ester hidrolizi, ayrılma için bir molekül su eklenmesini gerektirir. Bu yöntemle oluşturulan etkileşimlerin tam ayrılma noktasında, sterik ve elektrostatik geri tepki yüksektir (15).

2.1.5.2. Non-Kovalan Baskılama

Non-kovalan baskılama yöntemi, Mosbach ve arkadaşları (15) tarafından 1970'lerde tanıtılmış ve bugüne kadar kullanılmış olan en popüler yöntemdir. Non-kovalan etkileşmelerde, ilk *template*-monomer kompleksi oluşturmak için MAA, metakrilamid, vinilpiridin, hidroksietil metakrilat ve diğer ticari monomerler yardımıyla, hidrojen bağlar, dipolar bağlar, iyon eşleştirme ve hidrofobik etkileşmeler sağlanabilir. Organik senteze gereksinim olmaması, bu yöntemi pratik açıdan cazip hale getirmiştir. Non-kovalan baskılamanın en önemli sakıncası, tanıma bölgesindeki heterojenite ve önemli ölçüde spesifik olmayan bağlanmadır. Fazla fonksiyonel monomerlerin olduğu durumlarda, dengenin yönünü *template*-monomer kompleksine doğru değiştirebilirler. Fonksiyonel monomerlerin ikinci jenerasyon tasarım ve üretimiyle bu sorunun üstesinden gelinmiştir ve bu fonksiyonel monomerler *template*'in fonksiyonel gruplarıyla daha güçlü etkileşmelere girebilmiştir (15). *Template*'in fonksiyonel gruplarıyla ilgili olarak, monomerlerin eşit molar miktarlarının kullanılmasıyla, önemli derecede tanıma özelliğine sahip polimerler oluşturulabilir (15).

Non-kovalan yöntemle baskılamanın üstünlüğü, tam uyum ile *template*'le spesifik olarak ve yüksek afinite ile etkileşebilen sentetik ve/veya ticari açıdan ucuz monomer kullanılabilmesidir. Ayrıca, non-kovalan bağlı MIP'in hazırlanması, kovalan bağlı MIP hazırlanmasına göre daha kolaydır (33). Sakıncaları, genellikle, polimerizasyon esnasında suyla olan geçimsizliktir. Polimer boyunca kompleksleşmemiş monomerler rastgele yayılırlar. Bağlama bölgesi heterojendir.

Kovalan bağlı baskılanmış polimer ile non-kovalan bağlı baskılanmış polimer arasında, zıt sensör cevabı gözlenmiştir (18). Kovalan bağlı sistemde, hedef bileşiğin arttırılmasıyla geçirgenlik azalırken, non-kovalan bağlı sistemler tam tersi davranış göstermiştir. Bu durumun, her iki sistem arasında, bağlama bölgesinde, elde edilebilir spesifik bağlama sayısındaki farklılıklardan dolayı olduğu açıklanmıştır. Kovalan sistemlerde, bağlama bölgesinde elde edilebilir spesifik bağlama, non-kovalan sistemlerden fazladır ve bağlama bölgesi daha homojendir. Hedef molekül polimere bağlandığı zaman, kovalan bağlı polimer sisteminde, polimerin mikroporlarının azalmasıyla polimer daralır, kısalır. Bu durum iyon transferine bağlı olan elektrogeçirgenlikte bir azalmaya neden olabilir (18).

Her iki yöntemin karşılaştırıldığı çalışmada, kovalan ve non-kovalan yöntemlerle kolesterol taşıyan baskılanmış polimerler hazırlanmıştır (34). Kovalan yöntemle baskılama, *template* monomer içermektedir. Buna karşın, non-kovalan yöntemle baskılamada, *template* ile fonksiyonel monomer kompleksi, MAA ve 4-vinilpiridin polimerizasyonu ile hazırlanmıştır. Kolonlara doldurulan MIP'lerin hepsi, kolesterolü diğer steroidlerden ayırma yeteneğine sahiptir. Kolesterol ve β -östradiol'ün toplam 1 g L⁻¹'lik konsantrasyondaki farklı kombinasyonlarının pik alıkonma zamanları her ikisi için de birbirine yakındır. Kolesterolün MIP'e adsorpsiyon kapasitesi, kullanılan fonksiyonel monomer tipine önemli derecede bağlıdır. Seçicilik faktörlerinin birbirinden farklılığı çok azdır. Ayırım, kolesterolün baskılanmış polimerdeki tanıma bölgesine spesifik bağlanmasına dayanmaktadır. Kolesterol için tespit edilen kapasite faktörleri, kovalan yöntemle baskılamada 3.5, 4-vinilpiridine dayalı non-kovalan yöntemle baskılanmış polimerde ise 4'dür ve MAA'ya bağlıdır. Bunlarla birlikte, kovalan

yöntemle baskılanmış polimerin, non-kovalan yöntemle baskılanmış polimere göre, kolesterol için adsorpsiyon kapasitesi daha yüksek bulunmuş ve kolesterol ayırımında yaklaşık 5 kat kromatografik verim elde edilmiştir. Kovalan yöntemle baskılanmanın kullanılmasıyla pik genişliği önemli derecede azaltılmıştır. Bu üstünlüklerle beraber, kovalan yöntemle baskılanmış polimerler, kantitatif analizde önemli bir potansiyele sahip bulunmuştur (34).

Bir başka çalışmada, kastasteron *template* molekül olarak kullanılmış ve moleküler baskılama ile kastasteron'a seçici polimer sentezlenmiştir (33). Kastasteron baskılanmış polimerler hem kovalan yöntemle hem de non-kovalan yöntemle hazırlanmıştır. Kovalan bağa dayalı moleküler baskılamada, fonksiyonel monomer olarak p-vinilbenzenboronik asit kullanılmıştır. Non-kovalan bağa dayalı moleküler baskılamada ise, fonksiyonel monomer olarak MAA kullanılmıştır. MAA'nın karboksil grubu ile *template* molekülün karboksil ve amino grupları, hidrojen bağı ve elektrostatik etkileşimlerle etkileşime girmiştir. Hem kovalan bağ hem de non-kovalan bağla hazırlanan, kastasteron baskılanmış polimerler, kastasteron'a seçici bağlama göstermiştir. Kovalan bağlı sistemle baskılanmış polimerler kastasteron'a yüksek afinite göstermesine rağmen, MIP'in hazırlanması için esterifikasyon ve temizleme zorunluluğu doğmuştur. Non-kovalan bağa dayalı MIP'ler de kastasteron'a karşı seçici bağlama göstermiştir, ancak kovalan bağlı MIP'lere göre bağlanma daha azdır. Kovalan veya non-kovalan yöntemden hangisinin daha iyi olduğu genel olarak söylenemez. İstenilen *template* molekülün seçicilik ve afinitesine göre baskılama sistemi yöntemi seçilmelidir (33).

Literatürlerde ayrıca dönüşümlü ve dönüşümsüz kovalan yöntemlerden söz edilmektedir (15). Dönüşümlü kovalan yöntemiyle baskılama yönteminin üstünlüğü, tam uyum ile tüm fonksiyonel grupların *template* bölgesiyle ilişkili olmalarıdır. Sakıncaları, sadece spesifik fonksiyonel gruplara uygulanabilirliği, bağ yapma ve kırmadaki yavaşlığı ve suyla olan geçimsizliğidir. Dönüşümsüz kovalan yöntemiyle baskılanmanın üstünlükleri, polimerizasyon yöntemi olarak kullanılan emülsiyon ve süspansiyon yöntemleriyle ve suyla uyumlu olmasıdır. Sakıncaları ise, sentez ve *template* hazırlamayı gerektirmesi ve yeniden yüklemdeki sterilitate problemleridir (15).

Son zamanlarda, non-kovalan baskılama yaklaşımı ile uyumlu olan süspansiyon polimerizasyonu gelişme içindedir (35). Süspansiyon polimerizasyonu yöntemi, diğer yöntemlere göre daha basit ve daha az zaman alıcıdır (36). Hacim polimerizasyonunda, katı makroporlu yapıları istenen partikül boyutuna getirebilmek için ezmek, öğütmek ve elemek gerekmektedir. Bunun aksi durumda, düzensiz partiküller, akışta ve tekraredilebilirlikte ideal olmayabilir. Ancak, süspansiyon polimerizasyonu ile uygun mikroküreler elde edilebilir (37). Süspansiyon polimerizasyonu ile elde edilen mikrokürelerin, karıştırma hızına bağlı olarak, çapları 5 ve 50 µm arasında değişebilir (38).

Yüzeysel baskılamada, makropor destekli baskı oyukları sadece yüzeyde sentezlendiği için hacim polimerizasyonundan doğan içe geçebilme problemlerinin üstesinden gelinebilir (39). Ayrıca, yüzeysel baskılanmış polimerlerin düzenli biçim ve büyüklükte olması, daha yüksek akış hızında daha düşük geri basınca yol açmakta, böylece polimer içine yüksek yerleşme mümkün olmaktadır. Yüzeysel baskılamayı kullanmanın diğer bir avantajı da hidrofilik veya hidrofobik gibi özelliklerinin kolaylıkla modifiye edilebilmesidir (39).

2.1.5.3. Yarı-Kovalan Baskılama

Yarı-kovalan yöntemi, ilk olarak Whitcombe (15) tarafından tanıtılmıştır. Whitcombe, *template* olarak kolesterol'ün 4-vinilfenil karbonat esterini kullanmıştır. Karbonat esteri, monomere kovalan olarak bağlanmıştır. Ancak, bu bağlanma sırasında CO₂ kaybetmesi, hidrolitik olarak bölünme ile, tanıma bölgesine non-kovalan bağla fenolik tortu şeklinde bağlanmaya da neden olmuştur. Bu yöntemin üstün yönü, oldukça zayıf olan hidrojen bağlarını kullanarak, sıradan monomerlerle kendiliğinden şekil oluşturabilme yeteneği ve bu yetenekle aromatik elektronlarla etkileşimlere girilebilmesidir.

Yarı kovalan yöntemle baskılamanın üstünlükleri, suyla geçimli ve tüm fonksiyonel monomerlerin *template* ile ilişkili olmasıdır. Bağlama bölgesi homojendir ve yüksek bağlama elde edilebilir. Sakıncaları ise, sentez ve *template* hazırlanmasını gerektirmesidir. Kimyasal tedavide ise, *template*'in bölünmesi ihtiyacı vardır (15).

2.1.6. Moleküler Baskılı Polimerler ile Yapılmış Farmasötik Çalışmalar

Allender ve arkadaşları (22), kontrollü transdermal etkin madde salımında, biyolojik bir reseptör gibi davranan propranolol baskılanmış polimer üretmişlerdir. Propranolol, polimer içinde 100, 300 ve 500 mg'lık konsantrasyonlarda seçici olarak tutunmuş, tüm konsantrasyonların salım profillerinde, MIP, NIP'e göre daha düşük salım hızı göstermiştir. MIP ve NIP arasındaki salım farkı, etkin madde konsantrasyonunun arttırılmasıyla azalmıştır. Bu sonuçlara göre, MIP sistemi yöntemiyle spesifik bağlanmanın meydana geldiği ve bunun da kontrollü salım yeteneğine neden olduğu bulunmuştur. Bu durum salım profillerini uzatmak açısından anlamlıdır (22).

Aynı etkin madde ile yapılan benzer bir çalışmada, MIP'lerin, PHCl'ün transdermal salım hızını azaltıcı etkisi araştırılmıştır (24). Bu çalışmada, PHCl'ün, MIP'te NIP'ten farklı geçirgenliğe sahip olması, spesifik bağlanmanın meydana geldiğini göstermiştir. Böylece, MIP, tutunma yöntemi ile kontrollü ve uzatılmış salım sağlanabilmiştir (24).

MIP'lerin uygulamaları ile ilgili yapılan bir çalışmada, zayıf çapraz bağla baskılanmış hidrojel, baskılanmamış olana göre daha fazla timolol adsorbe etmiştir (40). Baskılama tekniği, timolole uygun, daha fazla sayıda adsorpsiyon bölgesinin oluşmasına izin vermektedir. Bu durum, terapötik olarak kullanılabilir aşamaya ulaşma konusunda, yumuşak kontakt lenslerin etkin madde depolama yeteneklerini (özellikle minimum konsantrasyonda çapraz bağlayıcı kullanarak) önemli ölçüde geliştirmiştir. Hidrojellerin zayıflığına rağmen, oldukça uzun zaman timolol'ün uzatılmış salımı sağlanabilir. Bu nedenle, molekül baskılama tekniğinin oftalmik etkin madde salım sistemlerinde, kullanıldıktan sonra atılabilen yumuşak kontakt lens üretiminde kullanılabilir bir yöntem haline gelmesi beklenmektedir (40).

2.2. PROPRANOLOL HİDROKLORÜR (PHCl)

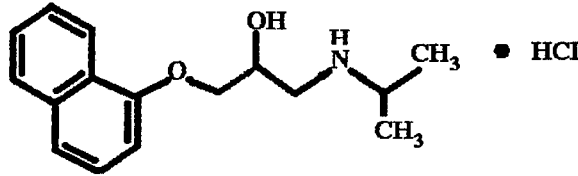
Propranolol hidroklorür, hipertansiyonun uzun süreli tedavisinde, angina pectoris, kardiyak aritmi ve çeşitli kardiyovasküler düzensizliklerin tedavisinde terapötik değeri olan beta-adrenoseptör antagonisti bir etkin maddedir (2-6, 41, 42).

2.2.1. Tarihçesi

Propranolol'ün ilk bulunuşu 1768 yılındadır (43). Klinik uygulamaya Sir James Black tarafından, 1960'ların ortasında ilk olarak angina pectoris tedavisi için dahil edilmiştir (43). Beta-blokör ilaçlardan tedaviye ilk giren Pronetalol'a yapıca benzemektedir ve bu etkin maddenin karsinojenik etki potansiyelinin saptanması üzerine uygulamadan çekilmesinden sonra onun yerini almıştır. Günümüzde ise, halen değerini koruyan ve en fazla kullanılan beta-blokör etkin maddelerden birisidir (7).

2.2.2. Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri

Açık formülü, ($\pm$)-izopropilamino-3-(1-naftiloksi)-2-propranol hidroklorür'dür ve kimyasal yapısı Şekil 2.2.'de gösterilmiştir. Kapalı formülü $C_{16}H_{21}NO_2 \cdot HCl$, molekül ağırlığı 295.8'dir. Erime derecesi $163^{\circ}C - 165^{\circ}C$ 'dir (4, 41, 44). Beyaz renkte tozdur. Soğuk suda ve alkolde çok rahat çözünür (4, 41, 44-47), kloroformda biraz çözünür, eterde ise çözünmez (41, 48).



Şekil 2.2. PHCl'ün Kimyasal Yapısı

2.2.3. Analiz Yöntemleri

Farmasötik preparatlardaki PHCl'ün birçok yöntemle analizi yapılabilmektedir. Örnek olarak, kolorimetrik, spektrofotometrik, spektroflorometrik, potansiyometrik, florometrik, kondüktometrik titrasyon, ince

tabaka kromatografisi, elektro-kimyasal yöntem gibi yöntemler geliştirilmiştir (42, 49, 50).

PHCl'ün spektrofotometrik analizi direkt olarak yapılabilirdiği gibi, kompleks oluşumu ile de yapılabilir (50). Elektron alıcılar ve elektron vericiler arasındaki etkileşmeler, yük transferiyle oluşan komplekslerin renk şiddetleriyle ilişkilidir. Bu etkileşmelere dayanan fotometrik yöntemlerin uygulanışı, komplekslerin hızlı oluşumu nedeniyle basittir. PHCl gibi beta-adrenerjik blokörler iyi birer elektron vericidirler ve sigma veya pi alıcılarla yük transferiyle oluşan kompleksleri meydana getirirler (50). Böylece, Iyotun 1,2-Dikloroetan içindeki çözeltisi ile PHCl arasında yük transferiyle oluşan kompleksin, 365 nm'de absorbansının ölçülmesiyle analizi yapılabilir. Pi alıcı kloranilin etanoldeki çözeltisiyle PHCl arasında yük transferiyle oluşan kompleksin, 440 nm'de absorbansının ölçülmesiyle analizi yapılabilir (50). Bir başka analizde, pi alıcı bromanilin etanoldeki çözeltisiyle PHCl arasında yük transferiyle oluşan kompleksin, 450 nm'de absorbansının ölçülmesi gerçekleştirilmiştir (50).

Fosforesans spektroskopisi yöntemi de PHCl'ün farmasötik preparatlardaki tespitinde, basit, seçici ve hızlı bir yöntemdir. Bu yöntemde, iki araç vardır: potasyum iyodür ağır atom tuzu olarak ve sodyum sülfat oksijen toplayıcı olarak propranolol çözeltisinde fosforesans işareti elde etmek için kullanılır. PHCl'ün fosforesans şiddeti, luminesans spektrofotometre ile 294 ve 492 nm'de ölçülmüştür (51).

Ayrıca, PHCl'ün sülfürik asit içinde platin elektroduyla voltametrik olarak da tespiti yapılabilir ve voltametrik yöntem, hassas ve hızlı olduğu için YBSK'ya da bir alternatiftir (49).

PHCl nitrik asit ile tepkimeye girerek nitropropranolol'ü verir ve daha sonra Britton-Robinson çözeltisinde (0.04 M, pH 2-12) diferansiyel-puls polarografisi ile ölçülebilir (49). İyi çözünmüş olan nitropropranolol, diferansiyel-puls polarografisinde pH 2'de pik vermektedir. Diferansiyel-puls polarografisinde kullanılan çözelti süzülüp, deiyonize su ile gerekli seyreltmeler yapıldıktan sonra spektrofotometrede 375 nm'de ölçülebilir. Sentezlenen ve izolasyonu yapılan

nitropropranolol, % 1 oranında, potasyum bromür pelletleri yardımıyla IR spektrofotometrede analiz edilebilir (49).

PHCl'le karbon disülfürün reaksiyona sokulmasıyla oluşturulan kompleksin izo-butil metil keton (IBMK) ile ekstre edilmesinin ardından, bakır (Cu II) iyonlarıyla pH 7.5'te şelat oluşturmastan sonra, atomik absorpsiyon spektrofotometresi (AAS) ile 435.4 nm'de absorbanısı ölçülebilmektedir (3).

PHCl'ün analizinde akış enjeksiyon kemilüminesans yöntemi de kullanılmıştır (52). Bu yöntemde, PHCl, asit vasatta potasyum permanganat ile reaksiyona sokularak kemilüminesans sinyalinin şiddeti ölçülmektedir. Townshend ve arkadaşları (52), 3 değişik asit vasatın PHCl'ün kemilüminesans sinyali üzerine etkilerini araştırmışlar, fosforik asitle yapılan çalışmada kemilüminesans sinyalinin çok düşük çıktığını tespit etmişlerdir. Polifosforik asitte sinyal yüksek hassasiyette çıkmış, ancak 24 saatlik zaman içinde kemilüminesans sinyali % 40'lara varan düşüş göstermiştir. Sülfürik asitle elde edilen kemilüminesans sinyali ise, en yüksek hassasiyeti göstermiş ve zamanla değişmemiştir.

2.2.4. Farmakolojik Özellikleri

PHCl'ün genel olarak rasemik şekli kullanılır. Etkin olan levo izomeridir; dekstro şeklinin beta-reseptörleri bloke etme gücü, çeşitli organlara göre değişmekle birlikte, levo şeklinin 1/10-1/100'ü kadardır (7, 42). PHCl, kalpteki beta-reseptörleri bloke ederek kalp atım hızını yavaşlatmakta, kasılma gücünü ve kalp verimini düşürmektedir. Refleks sempatik etkinlik ve vasküler beta-reseptörlerin blokajı nedeniyle propranolol uygulandığında periferik dirençte artış görülmektedir (10). PHCl'ün antihipertansif etkisi, böbreklerden renin salımını baskılamasına olduğu kadar, kalp verimini azaltmasına da bağlanabilir. PHCl, β_1 -reseptörlere karşı seçici aktivite göstermemekte; aynı zamanda solunum yollarında bulunan β_2 -reseptörleri de bloke etmektedir. Propranolol ve diğer beta-antagonistlerin migren ağrılarında profilaktik amaçla kullanımı, bileşiklerin vazokonstriksiyonuna neden olarak kimyasal mediyatörlerin oluşturduğu vazodilatasyonu inhibe etmelerine bağlanabilir. PHCl'ün membran stabilize edici özelliğinin ortaya çıkabilmesi için, terapötik dozunun çok üstünde kullanılması gerekmektedir. PHCl'ün her iki enansiyomeri de membran stabilize edici aktivite

göstermesine karşın, sadece (-) izomeri güçlü beta-reseptör antagonistik etkinlik göstermektedir (10). PHCl'ün biyolojik yarı ömrü ise yaklaşık 4 saattir (9, 42).

PHCl'ün tedavi dozlarının oluşturduğu etkilerin büyük bir bölümü, kalp ve diğer organların beta-adrenerjik reseptörlerini bloke etmesine bağlıdır. Bu etkiler şunlardır (7):

- a. Kalp-damar sistemi etkileri
- b. Metabolik etkileri
- c. Santral sinir sistemi etkileri

2.2.4.1. Kalp-Damar Sistemi Etkileri

PHCl, miyokard ve kalbin diğer yapıları üzerindeki sempatoadrenal tonusu azaltarak veya ortadan kaldırarak kalbin çeşitli fonksiyonel parametreleri üzerinde önemli etkiler yapar (7). Bu etkilerin derecesi ve belirginliği ilaç verilmeden önce kalp üzerinde varolan sempatoadrenal tonusun derecesi ile doğru orantılıdır. İstirahat halinde tonus zayıf olduğu için, PHCl'ün etkileri fazla belirgin olmaz; sempatik denervasyon yapılmış kalpte de aynı durum söz konusudur. Fiziksel egzersiz, hipoksi, tirotoksikoz, heyecan ve benzeri stres hallerinde sempatoadrenal tonus artmış olduğu için PHCl'ün kardiyak etkileri belirgin olur. Bu nedenle iskemik kalp hastalarında, kalbi, sayılan etkenlerin aşırı stimülasyonundan korur (7).

Propranolol HCl'ün plazma seviyesi veya dozuyla terapötik etki arasında ilişki yoktur ve hassas doz aralığı klinik uygulamalar sonucu gözlemlenmiştir. Şu ana kadar sempatik tonusu tahmin veya toplam beta-blokaja ulaşmak için gerekli uygun dozu saptamaya yönelik güvenilir bir test bulunamamıştır (9).

PHCl, bazı damar yataklarında bulunan ve damarları genişletmeye çalışan β_2 -reseptörleri bloke ettiği için, sempatoadrenal sistemin α -adrenerjik reseptörler aracılığı ile oluşturduğu vazokonstriktör tonusu güçlendirir. Böylece, akut verilisinde total periferik damar rezistansını artırır. Buna rağmen, kalp debisini düşürmesi nedeniyle kan basıncını arttıramaz, aksine hafif düşürür (7).

PHCl'ün antihipertansif etki mekanizması tam olarak saptanamamıştır. Antihipertansif etkiye katkıda bulunan faktörlerden bazıları, kardiyak verim azalması, böbreklerde renin salgısının inhibisyonu ve beyindeki vazomotor merkezden çıkan sempatik sinir tonusunda azalma gösterilebilir (9).

Beta-reseptör blokajı, patolojik veya fonksiyonel değişmelerde sempatik aktivitenin hastaya zararlı olduğu durumlarda uygulanabilir. Ancak, bazen sempatik uyarının hayati önem taşıdığı durumlar vardır. Örneğin, büyük ölçüde kalp rahatsızlığı olan hastalarda, yeterli ventriküler işlevi devam ettirmek için sempatik uyarının korunmasında fayda vardır (9).

PHCl'ün antitrombotik etkinliği vardır; ağızdan alındığında 160 mg gün⁻¹ dozunda hafif ve 640 mg gün⁻¹ dozunda belirgin olmak üzere trombositlerin agregasyon ve adezyon yeteneğini azaltır. D propranolol de aynı derecede etkilidir (7).

2.2.4.2. Metabolik Etkileri

Propranolol'ün karbonhidrat metabolizması ve insülin salgılanması üzerindeki etkileri, ilgili hücrelerde, esas olarak, β_2 -reseptörlerinin blokajına bağlıdır (7). Yağ dokusunda sempatoadrenal tonusa bağlı olarak meydana gelen lipolizi, lipositlerin membranındaki β_1 ve β_2 reseptörlerini bloke etmek suretiyle inhibe eder. Sempatoadrenal hiperaktivite veya dışardan sempatomimetik ilaç verilmesi sonucu plazmada oluşan serbest yağ asitleri artışı düşürür. Aynı etkenlerin karaciğerde glikojenolizi arttırmak suretiyle meydana getirdikleri hiperglisemiye azaltır. Pankreasın sempatik sinirlerinin stimülasyonuna bağlı olarak gelişen insülin salgısındaki artışı inhibe eder (7).

2.2.4.3. Santral Sinir Sistemi Etkileri

Propranolol, lipofilik bir beta blokör ilaç olduğu için, santral sinir sistemine kolayca girebilir ve emosyonel stres, adrenalin ve diğer beta-mimetik ilaçların verilmesi sonucu oluşan tremorları önleyebilir (7).

Tam bir antagonisttir; intrinsik sempatomimetik etkinlik göstermez. Propranolol'ün β -reseptörlerle ilişkisi olmayan özelliği lokal anesteziye etki göstermesidir. Bu etkisi yönünden en az prokain ve lidokain kadar güçlüdür, ancak lokal anestezi yapmak için kullanılmaz. Lokal anesteziye ilaçlar gibi hücrelerin membranlarında sodyum kanallarını bloke ederek membranın depolarizasyona karşı stabilize eder. Ancak, klinikte kullanılan dozlarla vücut sıvılarında oluşan konsantrasyonlarında, hücre membranı üzerindeki bu etkisi oluşmaz veya önemsiz derecede oluşur. Propranolol'ün dekstro ve levo şekilleri arasında lokal anesteziye etkinlik derecesi yönünden bir fark yoktur.

Propranolol'ün bu etkisi kinidin'de bulunduğu için "kinidin-benzeri etki" diye de nitelendirilir.

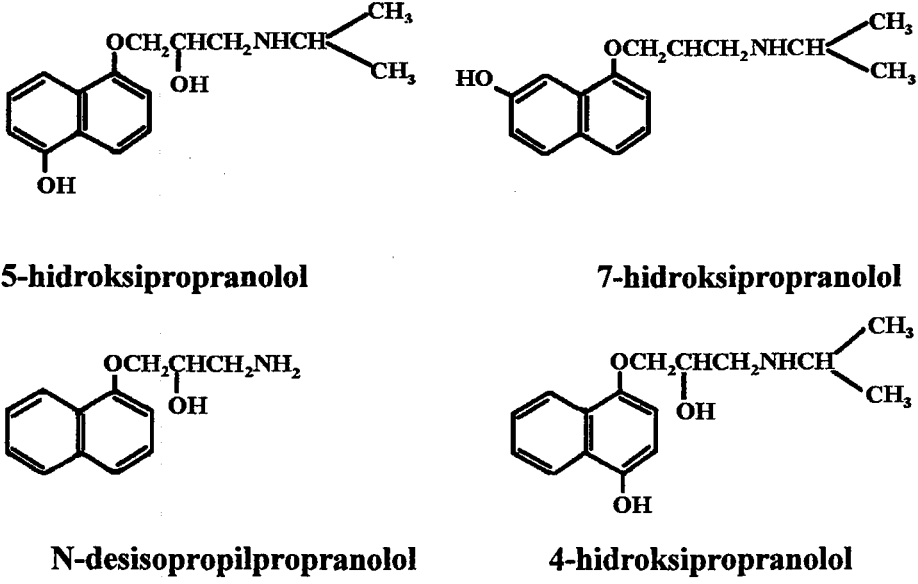
Propranolol, renin salgılanmasını inhibe edebilmesine rağmen, kalp debisini düşürüp böbrek kan akımını azalttığı için su ve sodyum tutulmasına neden olabilir (42). Ancak bu etkisi, β -blokörlerin dışındaki sempatotik ilaçların çoğuna oranla daha zayıftır (7, 42).

2.2.5. Farmakokinetik Özellikleri

Propranolol gibi beta-blokörler oral olarak alındıklarında, mide-barsak kanalından emilimleri tam veya tama yakın derecede olur; ancak sistemin biyoyararlanımı %10-75 arasındadır (7). Bunun başlıca nedeni, bu etkin maddelerin karaciğerden geçişleri sırasında "ilk-geçiş-eliminasyonuna" önemli derecede uğramalarıdır (7, 8, 9, 42). Bu nedenle, propranolol'ün belirli bir dozu bir grup hastaya oral yoldan verildiğinde elde edilen kan konsantrasyonlarının birbirinden farklı ve en yüksek değeri ile en düşük değer arasında 20 kata yakın fark bulunduğu saptanmıştır (2). Oral yararlanımı %30 kadardır (10). Propranolol, ayrıca plazma proteinlerine (albumin ve α_1 asidik glikoprotein) %93 oranında bağlanmaktadır (7).

Propranolol, büyük ölçüde metabolize edilmek suretiyle, esas olarak da karaciğerde inaktive edilir (7, 53). Propranolol'ün çeşitli metabolitleri tanımlanmıştır (Şekil 2.3.) (54). Propranolol'ün metabolitlerinden birisi olan 4-hidroksiproporanolol ana bileşik gibi beta blokör özellik göstermektedir. 4-hidroksiproporanolol intrinsik sempatomimetik aktivitesi de olan güçlü bir beta-antagonisttir. 4-hidroksiproporanolol, propranololün intravenöz yolla verilmesini takiben de plazmada bulunmuştur. Bileşiğin uzun süreli oral veya düşük tek doz uygulamalarının ardından, propranololün etkisine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Ayrıca, uzun süreli tedavide propranololün metabolitlerinden olan propranolol glükoronidinin depo görevi yaptığı, çeşitli dokularda dekonjugasyona uğrayarak propranololün yavaş salıverilmesini sağladığı ileri sürülmektedir (10).

Propranolol, birçok etkin maddenin hepatik klerensini azaltmaktadır. Bu durum iki mekanizma ile olur: 1) hepatik kan akımını %25'e kadar çıkabilen bir oranda azaltarak, 2) hepatositlerde mikrozomal enzimleri kısmen inhibe ederek.



Şekil 2.3. Propranolol Metabolitleri

2.2.6. Yan Etkileri ve Toksisitesi

Propranolol ve yüksek kan konsantrasyonuna sahip diğer bazı β -blokörler “membran-kararlı” etkiye sahiptirler. Bu etki terapötik dozda belli olmayabilir fakat doz aşımında oldukça önemlidir.

Propranolol ve onun gibi santral sinir sistemine kolayca girebilen lipofilik beta-blokör etkin maddelerin letarjiye, başdönmesine, mental depresyona, belleğin bozulmasına, halüsinasyonlara ve uyku bozukluğu gibi bozukluklara neden olabileceği belirtilmiş ancak tam olarak kanıtlanamamıştır (7).

Propranolol’ün yetişkin Tip 1 diabet hastalarında hipoglisemiye neden olduğu en son 1960’da belirtilmiştir (48). 49 hipoglisemi vakasında bu durum yeniden incelendiğinde, bunun non-selektif beta-blokörlerle ilişkili olduğu bulunmuştur (48).

Lipit metabolizmasının kontrolünün adrenerjik sistemde yer alması nedeniyle, beta-blokörler plazma-lipit konsantrasyonuna bazı etkiler yapabilir (7). Bu etkiler düşük yoğunluktaki lipoprotein ve trigliseritlerin plazma konsantrasyonlarında yükselme veya yüksek yoğunluktaki lipoprotein plazma konsantrasyonlarında düşme şeklinde ortaya çıkabilir.

Propranolol ve diğer beta-blokörlerle uzun süre ve düzenli şekilde tedavi gören hastalarda ilacın birden kesilmesi, bazı durumlarda birkaç gün süren “kesilme sendromuna” neden olur. Bu durumun belirtileri, hipertansiyonlu hastalarda kan basıncı yükselmesi, taşikardi, genel bir kırıklık, terleme ve baş ağrısıdır. Angina pectorisli hastalarda ise, bu belirtilerin yanında, angina nöbetlerinin sıklaşması, tehlikeli ventriküler aritmiler, miyokard enfarktüsü ve hatta ani ölüm olabilir (7).

Propranolol zehirlenmesi tedavisinde kullanılabilecek en iyi antidotun izoprenalin olduğu kanıtlanmıştır (55). Bradikardiyi %76 oranında ve hipotansiyonu ise tamamen antagoneze etmektedir. Ayrıca, izoprenalin, propranolol ile zehirlenmiş sıçanlara infüzyon halinde uygulandığında kardiyak fonksiyonu yeniden canlandırmış ve propranololün letal dozunu 77 mg kg^{-1} ’dan 165 mg kg^{-1} ’a çıkarmıştır (55). İzoprenalinin propranolol’e karşı olan güçlü antagonist etkisi, domuzlarda yapılan çalışmalarda kardiyovasküler depresyonu azaltması ile doğrulanmıştır (55). İnsanda propranolol’ün LD_{50} ve LC_{50} dozu hakkında bir bilgi yoktur (47).

2.2.7. Günlük Kullanımı ve Dozu

Angina pectoris’te günde 120-240 mg 3-4 dozda ve hipertansiyonda 120-640 mg 2-3 dozda alınır (7). Kardiyak aritminin uzun süreli tedavisinde, 30-160 mg gün^{-1} dozajında uygulanır. Acil bir kardiyak aritmi durumunda intravenöz olarak 1 mg’lık doz uygulanabilir (56). Gerekli durumlarda, maksimum 10 mg dozda, her 2 dakikada bir tekrarlanabilir. Miyokardial enfarktüste, 5-21 gün boyunca 40 mg’lık dozlarda günde 4 kez uygulanabilir. Migren profilaksisinde, 40 mg’lık doz günde 2 veya 3 kez verilebilir. Çocuklarda, hipertansiyon tedavisinde günlük kilogram başına 1 mg’lık doz uygulanabilir (7, 48, 57).

2.2.8. Diğer Etkin Maddelerle Olan Etkileşmeleri

Prostaglandin sentez inhibitörü bir ilaç olan indometasin, propranolol’ün antihipertansif etkinliğini azaltır (7). Fenilefrin, fenilpropanolamin ve diğer bazı semptomimetik ilaçlar göz veya burun damlası şeklinde veya ağızdan antigripal müstahzarlar içinde alınırlarsa, propranolol tedavisi altındaki hastada belirgin kan basıncı yükselmesi yapabilirler (7). Propranolol tedavisi gören bir hastaya verapamil gibi bir kalsiyum kanal blokörü verilirse ciddi aritmiler görülebilir.

Fluoksetin ile antidepresan tedavi gören hastalar, propranolol alırlarsa bradikardi ve kalp şoku meydana gelebilir. Propranolol, rifampisin gibi bir antibakteriyelle beraber alındığında plazma konsantrasyonunda düşme ortaya çıkabilir. Propranolol, flekainid gibi bir antiaritmikle beraber alındığında, kalp üzerindeki inotropik etkiye negatif katkı nedeniyle her iki etkin maddenin de serum konsantrasyonlarında artma gözlemlenebilir. Simetidin gibi H_2 -reseptör antagonistleri, propranolol ve benzeri lipofilik ilaçların karaciğerden ilk geçişteki metabolizmalarını inhibe ederek onların sistemik biyoyararlanımlarını artırır. Ergot türevleri ise propranolol'ün etkisini artırır. (7, 48).

2.2.9. Ticari Şekilleri

Propranolol'ün USP 24'de tablet, enjeksiyon ve uzun etkili kapsül şekilleri kayıtlıdır (5). Türkiye'de ise sadece 40 mg dozda tablet şekli bulunmaktadır (57).

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. GEREÇLER

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Diferansiyel Taramalı Kalorimetri	Shimadzu-DSC 60	Japonya
Elementel Analiz Cihazı	Elemental Analyzer EA 1108	İtalya
Erime Derecesi Tayin Cihazı	Electrothermal IA 9100	ABD
Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometresi (FTIR)	Perkin Elmer	İngiltere
Hassas Terazı	Libror Shimadzu	Japonya
Mekanik Karıştırıcı	Heidolph RZR 2051	Almanya
Partikül Boyut Dağılım Cihazı	Malvern Mastersizer Hydro 2000-S	İngiltere
pH Metre	Profi-Lab WTW 597	Almanya
Sürekli Akış Hücresi Çözünme Cihazı	Sotax-CE70	İsviçre
Taramalı Elektron Mikroskobu	CamScan S4	İngiltere
Ultrasonik Banyo	Elma Transsonic 470/H	Almanya
Ultraturaks	Janke&Kunkel İKA LaborTechnik	Almanya
UV Spektrofotometre	Shimadzu-160 A	Japonya
UV Lamba	Camag Universal UV-Lampe	İsviçre
X-Işını Kırınım Cihazı	Rikagu	Japonya

3.1.2. Kullanılan Maddeler

Anisaldehyt	E. Merck	Almanya
Asetonitril	E. Merck	Almanya
Azobisizobütironitril	Aldrich	ABD
Dideral® Tablet	Sanofi Doğu İlaç A.Ş.	Türkiye
Histidin	Sigma	ABD
Kobalt (II) Klorür	E. Merck	Almanya
Metakroilklorür	Sigma	ABD
Propranolol HCl	Amphar b.v.	Hollanda
Whatman 5B ve GF/D		İngiltere

Diğer kimyasallar analitik saflıkta kullanılmıştır.

3.2. YÖNTEMLER

Bu bölümde, kullanılan etkin maddenin fizikokimyasal özelliklerinin incelenmesi, kullanılan miktar tayini yönteminin validasyon çalışmaları, propranolol bellekli mikrokürenin hazırlanışı ve ilaç taşıyıcı sistem üzerinde yapılan çalışmalar anlatılacaktır.

3.2.1. Propranolol ile Yapılan Çalışmalar

Propranolol özelliklerinin ve standartlara uygunluğunun incelenmesi, analitik saflığının saptanması ve baskılama sonrası oluşabilecek değişimleri izleyebilmek için aşağıdaki çalışmalar yapılmıştır.

3.2.1.1. Spektrofotometrik ve Kromatografik Çalışmalar

3.2.1.1.1. UV-Spektrumu

Propranolol'ün UV-spektrofotometre ile çalışıldığı ortamlar olan distile su, pH 3-8 ve % 40'lık metanollü potasyum hidroksit çözeltisi içinde uygun konsantrasyondaki çözeltilerinin UV-spektrumu, 400-200 nm dalga boylarında alınmış ve λ_{maks} değerleri belirlenmiştir.

3.2.1.1.2. IR-Spektrumu

Propranolol'ün IR-spektrumu, FTIR spektrofotometresinde, 4000-200 cm^{-1} aralığında, potasyum bromür ile hazırlanan disk kullanılarak alınmıştır.

3.2.1.1.3. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

Propranolol'ün tanınması ve çalışma ortamlarındaki kararlılığının izlenmesi amacıyla İTK çalışması yapılmıştır. Çalışmada, propranolol'ün metanol içersindeki 10 mg.mL^{-1} konsantrasyondaki çözeltisinden 10 μL örnek, Silikajel 60 G kaplı plağa uygulanmış ve plak, metanol-derişik amonyak çözeltisi (99:1) karışımından oluşan hareketli faz ile 2 saat doyurulmuş olan tanka yerleştirilmiştir. Hareketli faz, uygulama noktasından itibaren 11 cm yürütülmüş, plak 105°C'lik etüvde kurutulduktan sonra, plağa anisaldehit çözeltisi püskürtülerek lekeler renklendirilmiştir (45). Elde edilen eflatun renkli leke yardımıyla R_f değeri hesaplanmıştır.

3.2.1.2. Erime Derecesi Tayini

Propranolol'ün erime derecesi, erime derecesi tayin cihazında, kılcal tüp içerisine 1-2 mm yüksekliğinde toz propranolol yerleştirilerek saptanmıştır. İşlem üç kez tekrarlanmıştır.

3.2.1.3. Termal Analiz

Propranolol'ün termal analizinde, diferansiyel taramalı kalorimetre kullanılmıştır. 4.7 mg propranolol, alüminyum örnek kabında hassas olarak tartılmış, kapak basınç yardımıyla kapatılıp, sıkıştırılmıştır. Termal analiz işlemi, alüminyum referans kullanılarak, örneğe, $10^{\circ}\text{C.dak}^{-1}$ sıcaklık artışı, 50 mL.dak^{-1} azot gazı akış hızında, $40-180^{\circ}\text{C}$ sıcaklıklar arasında ısıtma basamağı uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.4. X-Işını Kırınım Analizi

Propranolol'ün X-ışını kırınım analizi, $5-40^{\circ}\text{C}$ aralığında, 40 kV voltaj ve 30 mA akım şiddeti ve $2^{\circ}\text{C.dak}^{-1}$ ilerleme hızında jeneratör yardımıyla yapılmıştır.

3.2.1.5. Elementel Analiz

Propranolol'ün elementel analizi, 1020°C ' de ve 1-2 mg örnek kullanılarak elementel analiz cihazıyla yapılmıştır.

3.2.1.6. Propranolol Miktar Tayini

Hazırlanan propranolol bellekli mikroküre üzerinde yapılan çalışmalarda, etkin madde miktar tayininde ve *in vitro* çözünme hızı testlerinde, UV spektrofotometrik yöntem kullanıldığından, yöntemin güvenilirliğinin saptanması için validasyon çalışmaları yapılmıştır. Çalışmada, genel olarak, distile su ile pH 6 ortamı kullanıldığı için ve etkin maddenin bu iki ortamdaki UV spektrumu çok benzer ve çalışılan dalga boyu aynı olduğundan, validasyon çalışmaları sadece distile su ortamında yürütülmüştür. Bu nedenle, pH 6 ve % 40'luk metanollü potasyum hidroksit çözeltisi ortamlarında doğrusallık ve kararlılık çalışması, pH 3,4,5,7 ve 8 ortamlarında ise sadece doğrusallık çalışması yapılmıştır.

3.2.1.6.1. UV-Spektrofotometri için Validasyon Çalışmaları

3.2.1.6.1.1. Doğrusallık

3.2.1.6.1.1.1. Distile Su Ortamındaki Doğrusallık

Propranolol'ün distile su ortamındaki doğrusallığının belirlenmesi için, $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyondaki stok çözeltisinin seyreltilmesi ile 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 ve $45 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin absorbanları, propranolol'ün distile su ortamında daha önceden belirlenmiş olan maksimum dalga boyu olan 289 nm'de ölçülmüştür.

Konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerlerinden, doğrusal regresyon programı yardımıyla, doğru denklemi ve korelasyon katsayısı hesaplanmıştır. Her konsantrasyon değeri için deney üç kez tekrarlanmıştır.

3.2.1.6.1.1.2. Desorpsiyon Ortamındaki Doğrusallık

Baskılı polimerdeki propranolol, %40'lık metanollü potasyum hidroksit çözeltisi ile desorbe edilebildiğinden, çalışma ortamı olarak bu çözelti kullanılmıştır. Propranolol'ün %40'lık metanollü potasyum hidroksit çözeltisindeki doğrusallığının belirlenmesi için, $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyondaki stok çözeltisinin seyreltilmesi ile 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ve $9 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin absorbansları, propranolol'ün % 40'lık metanollü potasyum hidroksit ortamında daha önceden belirlenmiş olan maksimum dalga boyu olan 235 nm'de ölçülmüştür. Konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerlerinden, doğrusal regresyon programı yardımıyla, doğru denklemi ve korelasyon katsayısı hesaplanmıştır. Her konsantrasyon değeri için deney üç kez tekrarlanmıştır.

3.2.1.6.1.1.3. pH 3-8 Ortamlarındaki Doğrusallık

Adsorbsiyon çalışmalarına yönelik olarak, ortam pH'sının adsorbsiyona etkisinin incelenmesi çalışmalarında, ortam olarak denenen pH 3-6 ortamlarındaki doğrusallığının belirlenmesi için, $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyondaki stok çözeltilerin seyreltilmesi ile 15, 20, 25, 30, 35, ve $40 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. Çözeltilerin pH'larının ayarlanması için 0.1 N HCl ve 0.1 N NaOH tamponları kullanılmıştır. Bu çözeltilerin absorbansları, çalışılan pH ortamında daha önceden belirlenmiş olan maksimum dalga boyunda ölçülmüştür. Konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerlerinden, doğrusal regresyon programı yardımıyla, doğru denklemleri ve korelasyon katsayıları hesaplanmıştır. Her konsantrasyon değeri için deneyler üçer kez tekrarlanmıştır.

pH 7 ve 8 ortamlarında incelenen spektrumlar ile distile su ortamındaki spektrum arasında fark gözlenmediğinden, bu ortamlarda yapılan çalışmalarda distile suya ait doğru denklemi kullanılmıştır.

3.2.1.6.1.1.4. Türev Spektroskopisi Çalışmaları için Doğrusallık

Propranolol ve sotalol HCl'ün birlikte bulundukları ortamdaki miktar tayinlerinde, türev spektroskopisi ile çalışıldığı için, çalışma ortamı olan distile

sudaki uygun konsantrasyonların 1. derece türev spektrumu, 400-200 nm aralığında UV spektrofotometresi kullanılarak alınmış, çalışılacak dalga boyları belirlenmiştir.

Seçilen 1. dalga boyunda (227.8 nm) sadece propranolol'ün absorbans vermesi nedeniyle, 2, 4, 6, 8 ve 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyonlarındaki çözeltilere karşılık gelen absorbans değerleri, 1. derece türev spektrumu yardımıyla ölçülmüş; doğrusal regresyon programıyla doğru denklemi ve korelasyon katsayısı hesaplanmıştır. Her konsantrasyon değeri için deney üç kez tekrarlanmıştır. Seçilen 2. dalga boyunda (237 nm) hem propranolol hem de sotalol HCl absorbans verdiğinden, bu dalga boyunda her iki madde için farklı doğru denklemleri oluşturulmuştur. Bu dalga boyunda propranolol'ün doğrusallığı için çalışılan konsantrasyonlar 5, 7.5, 10, 12.5, 15 ve 17.5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, sotalol HCl'ün doğrusallığı için çalışılan konsantrasyonlar ise 5, 10, 15, 20 ve 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ 'dir. Çözeltilere karşılık gelen absorbans değerleri 1. derece türev spektrumu yardımıyla ölçülmüş, doğrusal regresyon programıyla doğru denklemi ve korelasyon katsayıları hesaplanmıştır. Her konsantrasyon değeri için deney üç kez tekrarlanmıştır.

3.2.1.6.1.2. Kesinlik

Distile su ortamında propranolol'ün üç farklı konsantrasyonda (10, 25 ve 45 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) çözeltileri hazırlanmıştır. Çözeltilerin absorbansları, UV spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Her konsantrasyon değeri için deney altı kez tekrarlanmış, 1. gün için yapılan tüm çalışmalar 2. ve 3. günlerde de tekrarlanmıştır (k=3). Üç gün boyunca elde edilen sonuçlardan gerekli formüller yardımıyla miktar tayini yönteminin kesinlik değerleri hesaplanmıştır.

3.2.1.6.1.3. Doğruluk

Distile su ile, iki farklı konsantrasyonda (1 mg.100 mL⁻¹, 1.5 mg.100 mL⁻¹) propranolol içeren çözeltiler hazırlanmış ve daha sonra, UV spektrofotometrede absorbansları okunmuştur. Elde edilen sonuçlardan, doğru denklemi yardımıyla, çözeltilerdeki propranolol miktarı bulunmuş ve bulunan miktarlar çözeltilere eklenen propranolol miktarları ile karşılaştırılarak, yöntemin doğruluğu yüzde olarak hesaplanmıştır. Her bir konsantrasyon için deney üç kez tekrarlanmıştır.

3.2.1.6.1.4. Seçicilik

Yöntemin seçiciliğini araştırmak amacı ile, çalışmada kullanılan fonksiyonel monomer ve çapraz bağlayıcı temel alınarak, NIP hazırlanmıştır. Formülasyonun hazırlanışı sırasında uygulanan tüm parametreler MIP'e uygulananlar ile aynıdır; farklı olarak NIP'e sadece etkin madde eklenmemiştir. NIP'ten, MIP'le yapılan etkin madde miktar tayini çalışmasında kullanılan miktar kadar örnek tartılıp, 25 mL pH 6 içinde 8000 rpm'de 15 dakika ultraturraks ile karıştırılmıştır. Karışım daha sonra süzgeç kağıdından süzülerek, çözeltinin absorbansı UV spektrofotometrede okunmuştur. Deney üç kez tekrar edilmiştir. Ayrıca, *in vitro* çözünme çalışmalarında kullanılan miktarda NIP ile, distile su ortamında üç çözünme çalışması yapılmıştır. Çalışma sırasında, propanolol bellekli mikroküre için belirlenmiş olan *in vitro* çözünme koşulları kullanılmıştır. Böylece yöntemin seçiciliği hem oda sıcaklığında yürütülen etkin madde miktar tayini çalışması, hem de *in vitro* çözünme hızı çalışması koşullarında araştırılmıştır.

3.2.1.6.1.5. Duyarlılık

Kullanılan analitik yöntemin, derişimdeki küçük değışimleri kaydetme kapasitesini ve düşük konsantrasyonları saptayabilme yeteneğini belirlemek için, saptama sınırı (limit of detection-LOD) ve tayin sınırı değeri (limit of quantitation-LOQ) hesaplanmıştır. Hesaplama, propanolol'ün distile su ortamında kalibrasyon denklemindeki serilerin kesme değeri (intercept) standart sapmasının formülde yerine konulması ile yapılmıştır.

3.2.1.6.1.6. Kararlılık

Propanolol'ün çalışma ortamlarındaki fiziksel ve kimyasal kararlılığı farklı yöntemlerle araştırılmıştır.

3.2.1.6.1.6.1. Baskılama Koşullarındaki Kararlılık

Baskılama koşullarındaki propanolol kararlılığını kromatografik yöntemle izleyebilmek için, 50 mg formülasyon 5 mL metanol içersinde ultrasonik banyoda 15 dakika karıştırıldıktan sonra, 0.2 µm'lik filtreden süzülerek Bölüm 3.2.1.1.3.'de anlatılmış olan İTK sistemine uygulanmıştır. Aynı çalışma NIP üzerinde de yapılarak sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Ayrıca, hazırlanan mikrokürelerin özelliklerini incelemek için yapılan infrared, termal ve x-ışını kırınımı analizlerinden elde edilen termogram, spektrum ve analiz değerleri, saf etkin madde ve baskılanmamış polimere ait sonuçlar ile karşılaştırılarak propranolol'ün kararlılığı izlenmiştir.

3.2.1.6.1.6.2. Desorpsiyon Ortamındaki Kararlılık

Propranolol'ün, baskılandığı polimerden desorpsiyonu için kullanılan %40'lık metanollü potasyum hidroksit çözeltisi ortamındaki kararlılığını belirlemek için, Bölüm 3.2.1.1.3.'de anlatılan yöntemden yararlanılmıştır. 1 g propranolol, desorpsiyon çalışmasında uygulanan koşullara tabi tutulmuş, karışım süzildükten sonra süzgeç kağıdı üzerinde kalan propranolol 60°C'lik vakumlu etüvde kurutulmuş, 10 mg madde 1 mL metanolde çözündürülerek 10 µL örnek kromatografi plağına uygulanmıştır. Çalışma ortamından gelebilecek lekelerin izlenmesi amacıyla, aynı çalışma % 40'lık metanollü potasyum hidroksit çözeltisi ile yapılmış, ancak çözelti uygulama noktasında plağın kaplama maddesine zarar verdiğinden sonuç alınamamıştır.

3.2.1.6.1.6.3. Adsorbsiyon Ortamındaki Kararlılık

Propranolol'ün, bellekli mikroküreye adsorbsiyonu için seçilerek kullanılan pH 6 ortamındaki kararlılığını belirlemek için Bölüm 3.2.1.1.3.'de anlatılan yöntemden yararlanılmıştır. Propranolol'ün pH 6 içindeki 10 mg.mL⁻¹ konsantrasyondaki çözeltisi, adsorbsiyon çalışmasında uygulanan koşullara tabi tutulmuş, 10 µL örnek kromatografi plağına uygulanmıştır. Çalışma ortamından gelebilecek lekelerin izlenmesi amacıyla, aynı çalışma pH 6 çözeltisi ile de yapılmıştır.

3.2.1.6.1.6.4. Çözünme Ortamındaki Kararlılık

Propranolol'ün distile su içersinde 10 mg.mL⁻¹ konsantrasyondaki çözeltisi, çözünme çalışmasının koşulları gözönüne alınarak, 37°C'de 4 saat süreyle bekletilmiş ve bu sürenin sonunda 10 µL örnek, Bölüm 3.2.1.1.3.'de anlatılan sisteme uygulanmıştır.

3.2.1.6.2. Çalışma Ortamlarındaki Çözünürlük Tayinleri

Propranolol'ün, distile su, desorpsiyon ve adsorbsiyon ortamlarındaki çözünürlük oranlarının tayini için, oda sıcaklığında ultrasonik banyoda 15 dakika çalkalanarak her üç ortam içinde aşırı doymuş çözeltileri hazırlanmıştır. Çözeltiler

süzgeç kağıdından süzülerek çözünmeyen kısımlar ayrılmış ve süzüntüler gerekli oranda seyreltilerek UV spektrofotometre ile, distile su ve adsorbsiyon ortamı için 289 nm’de, desorpsiyon ortamı için 235 nm’de absorbansları ölçülmüştür. Çözünebilen propranolol miktarı, her ortam için kendi kalibrasyon denklemleri yardımıyla hesaplanmıştır. Bu deneyler, her ortam için üç kez tekrarlanarak ortalamaları alınmış ve standart hataları hesaplanmıştır.

3.2.1.6.3. Propranolol Piyasa Tabletinde Miktar Tayini

Hazırlanan formülasyonun *in vitro* çözünme profilini piyasa preparatı ile karşılaştırmak amacıyla, Türkiye’de propranolol içeren tek ticari tablet olan Dideral® kullanılmış ve içerdiği etkin madde miktarı saptanmıştır. Bu amaçla, 10 adet tablet hassas terazide tek tek tartılmış ve ortalama tablet ağırlığı hesaplanmıştır. Tüm tabletler havanda toz haline getirilmiş, bu kütleden bir tablet ağırlığı kadar toz örneği tartılmış, balon jojede distile su ile 100 mL’ye tamamlanmış ve ultrasonik banyoda 15 dakika çalkalanmıştır. Karışım süzgeç kağıdından süzülerek ayrılmış ve süzüntü çözünme ortamı ile seyreltilerek UV spektrofotometresiyle 289 nm’de absorbansı ölçülmüştür. Her bir tabletteki propranolol miktarı kalibrasyon denklemi yardımıyla hesaplanmıştır. Deney üç kez tekrarlanarak ortalaması bulunmuştur.

3.2.2. Propranolol Bellekli Mikroküre ile Yapılan Çalışmalar

3.2.2.1. Propranolol Bellekli Mikrokürenin Hazırlanması

3.2.2.1.1. 2-Metakriloamidohistidin Monomerinin Sentezlenmesi

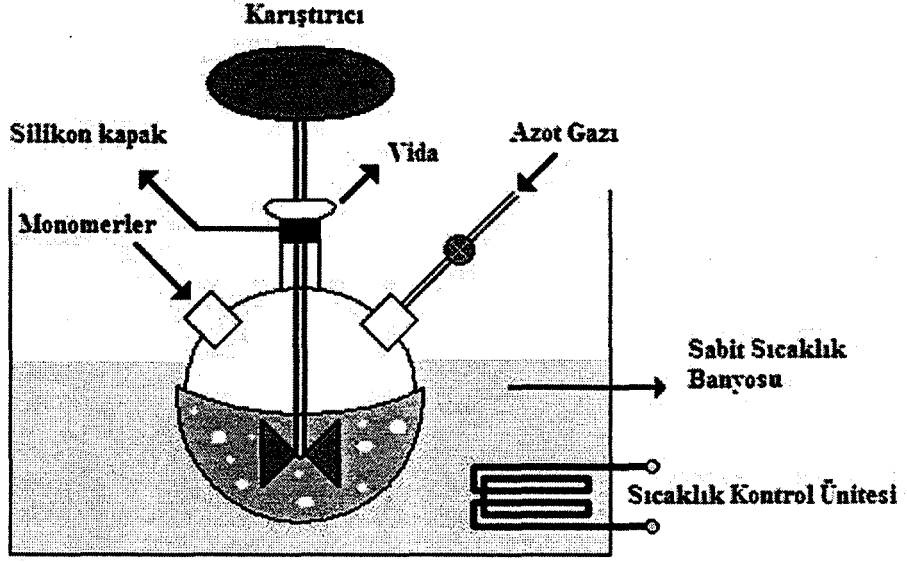
2-metakriloamidohistidin monomerinin sentezi için uygulanan yöntemde, 5.0 g histidin ve 0.2 g NaNO₂, 30 mL K₂CO₃ (% 5) çözeltisi içerisinde çözündürüldükten sonra, çözelti 0°C’a soğutulmuştur. Bu çözeltiye 4.0 mL metakroilklorür yavaşça eklenerek, azot gazı altında manyetik karıştırıcı ile oda sıcaklığında iki saat karıştırılmıştır. Kimyasal reaksiyonun tamamlanmasından sonra, çözeltinin pH’sı 7’ye ayarlanmış ve etil asetat ile ekstre edilmiştir. Daha sonra ortamdaki sulu faz döner buharlaştırıcı kullanılarak uzaklaştırılmış, kalan kısım 2-metakriloamidohistidin (MAH) etanol ve etil asetat ile kristallendirilerek saflaştırılmıştır.

3.2.2.1.2. 2-Metakriloamidohistidin Kobalt (II) Kompleksinin Sentezlenmesi

2-metakriloamidohistidin kobalt (II) (MAH-Co(II)) kompleksini sentezlemek için uygulanan yöntemde, 2-metakriloamidohistidin monomeri (1.0 mmol) 15 mL etanolde çözülmüştür. Üzerine 1.0 mmol kobalt (II) klorür sürekli karıştırılarak yavaşça eklenmiştir. Karışım 3 saat karıştırılarak, bu sürenin sonunda berrak mavi renk olan karışımın çözücüsü döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırılmış, sonuç ürün etanol/asetonitril karışımında kristallendirilmiştir. Böylece bozunma sıcaklığı 350°C üzerinde olan eflatun kristaller elde edilmiştir.

3.2.2.1.3. Propranolol Bellekli Mikrokürenin Hazırlanması

Propranolol bellekli mikroküreler, süspansiyon polimerizasyonu tekniği ile hazırlanmıştır. Fonksiyonel polimer olarak, MAH-Co(II) ve *template* olarak da propranolol kullanılarak, MAH-Co(II)-propranolol ligand değişim monomerinin ön hazırlığı yapılmıştır. MAH-Co(II) (1.0 mmol) ve propranolol (1.0 mmol), 3 mL etanol içeren ufak bir şişede çözülmüş ve 20 dakika karıştırılmıştır. 0.2 g polivinilalkol (PVA) 60 mL distile suda çözündürülerek dispersiyon ortamı hazırlanmıştır. Ön hazırlığı yapılmış olan MAH-Co(II)-propranolol monomer kompleks (1 mmol) çözeltisi, 8 mL etilenglikoldimetakrilat (EGDMA) ve 12 mL tolueasetonitril karışımına eklenmiş ve 0.09 g azobisisobütironitril (AIBN) monomer karışımında çözündürülmüştür. Bu çözelti, dispersiyon ortamına eklendikten sonra, süspansiyonu sağlamak için termostatik su banyolu, manyetik karıştırıcılı (600 rpm sabit karıştırma hızı) polimerizasyon reaktöründe tutulmuş; reaktör azot gazından geçirilip kapatılmıştır. Reaktör sıcaklığı 6 saat süreyle 75°C'ye ayarlandıktan sonra, polimerizasyon işlemi 3 saat süreyle 90°C sıcaklıkta tamamlanmıştır. Arta kalan kaplanmamış monomer, başlatıcı ve çözücü yıkama işlemiyle ortamdan uzaklaştırılmış; son olarak mikroküreler, su-etanol karışımıyla yıkanarak 48 saat vakum altında 70°C'de kurutulmuştur. NIP mikroküreleri de aynı yöntemle MAH-Co(II) ve EGDMA kullanılarak hazırlanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Propranolol Bellekli Mikrokürelerin Hazırlanmasında Kullanılan Polimerizasyon Sistemi

3.2.2.2. Desorpsiyon ve Adsorpsiyon Çalışmaları

Fonksiyonel polimer ile hazırlanan mikroküre üzerinde propranolol'e seçici yuvaların varlığını tespit için, öncelikle yuvalardan propranolol'ün uzaklaştırılması (desorpsiyon) ve daha sonra bu yuvalara propranolol'ün yeniden bağlanması (adsorpsiyon) çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.2.1. Mikroküreden Propranolol'ün Desorpsiyon Çalışması

Propranolol'ün desorpsiyonu için, baskılanmış polimer, 200 mL %40'lık metanollü potasyum hidroksit çözeltisinde, manyetik karıştırıcı ile 60°C ve 750 rpm'de 4 gün boyunca karıştırılmıştır. Karışım süzildükten sonra daha önce tespit edilen 235 nm dalga boyunda UV spektrofotometrede absorbansı ölçülerek desorbe edilen propranolol miktarı hesaplanmıştır. Süzüntü alındıktan sonra geriye kalan polimer, bidistile su ile dört yıkama ve 60°C'lik vakumlu etüvde kurutmanın ardından analizler için saklanmıştır. Desorpsiyon oranı aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Desorpsiyon (\%)} = \frac{\text{Desorpsiyon Ortamına Salınan Propranolol}}{\text{Adsorplanan Propranolol}} \times 100$$

3.2.2.2.2. Bellekli Mikroküreye Propranolol'ün Adsorpsiyon Çalışması

Baskılı mikroküreden propranolol'ün desorbe edilmesiyle elde edilen bellekli mikroküreye, propranolol'ün adsorbsiyonu (mg etkin madde.g polimer⁻¹) için bir seri çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda, adsorbsiyon kapasitesine, ortam pH'sının ve propranolol konsantrasyonunun etkisi, adsorbsiyon dengesine ulaşma zamanı ile türdeş madde varlığının adsorbsiyon seçiciliğine etkileri araştırılmıştır.

3.2.2.2.2.1. Ortam pH'sının Adsorpsiyona Etkisinin İncelenmesi

Propranolol'ün bellekli mikroküreye en fazla adsorbe olduğu pH'yı tespit etmek için 6 farklı pH ortamında (pH 3-8), adsorbsiyon çalışmaları yapılmıştır. Tüm çalışmalarda propranolol konsantrasyonu sabit tutulmuştur.

Propranolol'ün distile su içerisinde 100 ppm konsantrasyonda çözeltisi hazırlanmış, bu çözeltiden 25 mL alınarak 50 mg bellekli mikroküre ile karıştırılmıştır. Karışımın pH'sı istenilen değere getirildikten sonra, karışım manyetik karıştırıcı ile 750 rpm'de, oda sıcaklığında 4.5 saat karıştırılmıştır. Bu sürenin sonunda karışım süzgeç kağıdından süzülerek gerekli seyreltmeler yapılmış çözeltideki propranolol konsantrasyonu UV spektrofotometri yöntemiyle hesaplanmıştır. Böylece, çalışılan pH'da adsorbe edilen propranolol miktarı belirlenmiştir. Aynı çalışma, belirlenen tüm pH'lar için üçer kez tekrarlanmıştır.

3.2.2.2.2.2. Adsorpsiyon Denge Zamanının Belirlenmesi

Adsorbsiyon denge zamanının belirlenmesi çalışmalarında, önceden belirlenmiş olan maksimum adsorbsiyonun gerçekleştiği pH 6 ortamı kullanılmıştır. Çalışmada 25 mL 100 ppm propranolol'ün distile sudaki çözeltisi üzerine 50 mg bellekli mikroküre eklendikten sonra, ortamın pH'sı 6'ya ayarlanmıştır. Karışım, manyetik karıştırıcıda, 750 rpm'de, oda sıcaklığında karıştırılmaya devam edilirken, 1., 3., 6., 10., 15., 25., 30., 40., 50. ve 60. dak'larda 0.2 µm por çapına sahip filtre takılı enjektör yardımıyla alınan örneklerin absorbansı UV spektrofotometrede ölçülmüştür. Çalışma ortamının hacminin değişmemesi açısından, ölçümü yapılan örnekler enjektör yardımıyla tekrar ortama eklenmiştir. Deney üç kez tekrarlanmıştır.

3.2.2.2.3. Propranolol Konsantrasyonunun Adsorpsiyona Etkisinin İncelenmesi

Adsorbsiyonun en fazla gerçekleştiği pH belirlendikten sonra, propranolol konsantrasyonunun adsorbsiyon üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu araştırma, 25, 50, 100, 200, 500, 1000, 1500, 2000 ve 3000 ppm olmak üzere 9 farklı konsantrasyonda gerçekleştirilmiştir. Konsantrasyonların hazırlanması aşamasında, propranolol'ün çözünme ortamı distile sudur. 25 mL çalışılan konsantrasyondaki ortama 50 mg bellekli mikroküre eklenerek karışımın pH'sı, en yüksek adsorbsiyonun gerçekleştiği noktaya (pH 6) ayarlanmıştır. Karışım, manyetik karıştırıcı ile, 750 rpm'de, oda sıcaklığında, 4.5 saat karıştırıldıktan sonra, süzgeç kağıdından süzölmüştür. Süzöntü üzerinde gerekli seyreltmeler yapılarak UV spektrofotometri yöntemiyle çalışılan konsantrasyonda adsorbe edilebilen propranolol miktarı hesaplanmıştır. Aynı çalışma, belirlenen tüm konsantrasyonlar için üçer kez tekrarlanmıştır.

3.2.2.2.4. Türdeş Madde Varlığının Adsorbsiyona Etkisinin İncelenmesi

Türdeş madde varlığının adsorbsiyona etkisinin ve hazırlanan sistemin seçiciliğinin araştırılması amacıyla, PHCl'ün yanısıra PHCl'e yapıcı benzeyen madde varlığında adsorpsiyon çalışması yapılmıştır. Bu amaçla, sotalol HCl etkin maddesi kullanılmıştır. 25 mL distile su içerisinde, 11 mg PHCl ve 11 mg sotalol HCl çözündürüldükten sonra, ortama 50 mg bellekli mikroküre eklenmiştir. Karışım, manyetik karıştırıcıda, 750 rpm'de, oda sıcaklığında, adsorbsiyon dengesine ulaşma zamanı olan 0.5 saat süresince karıştırılmıştır. Karışım süzgeç kağıdından süzöldükten sonra, türev spektrofotometrisi yöntemiyle süzöntüdeki PHCl ve sotalol HCl miktarları belirlenmiştir. Deney üç kez tekrarlanmıştır.

3.2.2.3. Karakterizasyon Çalışmaları

3.2.2.3.1. Yüzey Morfolojisi

Hazırlanan propranolol bellekli mikroküre ile desorpsiyon ve adsorbsiyon sonrası mikroküreleri karbon bantı üzerine yayılıp, altın ile kaplandıktan sonra yüzey özellikleri ve şekilleri taramalı elektron mikroskopunda (SEM) saptanmıştır.

3.2.2.3.2. Ortalama Partikül Boyut ve Dağılım Analizi

Hazırlanan propranolol bellekli mikroküre ile desorpsiyon ve adsorpsiyon sonrası mikrokürelerin ortalama partikül boyut ve dağılımları, ışık saçınımı ile, distile su ortamında, toz propranololün ise eter ortamında saptanmıştır.

3.2.2.3.3. Elementel Analiz

Hazırlanan propranolol bellekli mikroküre ile desorpsiyon ve adsorbsiyon sonrası mikrokürelerin elementel analizleri, 1020°C'de ve 1-2 mg örneklerle yapılmıştır.

3.2.2.3.4. IR Analizi

Hazırlanan propranolol bellekli mikroküre ile desorpsiyon ve adsorbsiyon sonrası mikrokürelerin IR-spektrumları, 4000-200 cm^{-1} aralığında, potasyum bromür ile hazırlanan diskleri basılarak incelenmiştir.

3.2.2.3.5. X-Işını Kırınım Analizi

Hazırlanan propranolol bellekli mikroküre ile desorpsiyon ve adsorbsiyon sonrası mikrokürelerin X-ışını kırınım analizleri, 5-40°C aralığında, 40 kV voltaj ve 30 mA akım şiddeti ve 2°C.dak⁻¹ ilerleme hızında yapılmıştır.

3.2.2.3.6. Termal Analiz

Hazırlanan propranolol bellekli mikroküre ile desorpsiyon ve adsorbsiyon sonrası mikrokürelerin termal analizinde, diferansiyel taramalı kalorimetre kullanılmıştır. 7.9 mg baskılı polimer, 8.8 mg desorpsiyon sonrası ve 8.8 mg adsorbsiyon sonrası polimer, alüminyum örnek kabında hassas olarak tartılmış, kapaklar basınç yardımıyla kapatılıp, sıkıştırılmıştır. Termal analiz işlemi, alüminyum referans kullanılarak, örneğe, 10°C.dak⁻¹ sıcaklık artışı ve 50 mL.dak⁻¹ azot gazı akış hızında, 40-400°C sıcaklıklar arasında ısıtma basamağı uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.4. Mikrokürede Propranolol Miktar Tayini

Adsorpsiyon sonrası mikroküredeki propranolol miktarını tayin etmek amacıyla, 10 mg mikroküre hassas olarak tartılıp, üzerine 25 mL distile su konularak, ultratüraks ile 8000 rpm'de 15 dakika karıştırılmıştır. Karışım, daha sonra, süzgeç kağıdından süzülerek absorbansı okunmuştur. Deney üç kez tekrarlanmıştır.

3.2.2.5. İn Vitro Çözünme Çalışmaları

Bu çalışma, mikrokürenin distile su ortamında *in vitro* davranışı hakkında fikir edinebilmek için yapılmıştır. *İn vitro* koşullarda mikroküreden propranolol salımını değerlendirme çalışmalarında, USP XXIV’de tanımlanan sürekli akış hücresi yöntemi kullanılmıştır (5).

Bölüm 3.2.2.1.’de anlatılan şekilde hazırlandıktan sonra desorpsiyon ve adsorpsiyon çalışmalarına tabi tutulmuş mikrokürenin çözünme çalışması, distile su ortamında, 8 mL.dak⁻¹ akış hızında, 37°C’ de, toz hücreleri kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada, örneklerin süzülmesi amacıyla hücelere filtreler konularak 5., 10., 15., 30., 45., 60., 90., 120., 150., 180. ve 210. dakikalarda cihazın otomatik olarak topladığı örneklerin absorbansları UV spektrofotometrede ölçülmüştür. Çalışma altı hücrede gerçekleştirilmiştir.

Mikrokürenin *in vitro* çözünme sonuçlarını etkin madde ve piyasa tableti ile karşılaştırmak için, aynı çalışmalar toz propranolol ve propranolol’ün ticari preparatı (Dideral®) üzerinde tekrarlanmıştır. Toz propranolol için toz hücreler, tablet için 12 mm’lik tablet hücreleri kullanılmış ve toz propranolol ile yapılan *in vitro* çözünme çalışmasında, 10 dakika süresince her dakikada, tablette ise 5., 10., 15. ve 30. dakikalarda örnekler alınmıştır. Her iki çalışmada 7 hücrede gerçekleştirilmiş olup, diğer çalışma koşulları mikroküre çalışmasının aynısıdır.

3.2.2.6. Kinetik Değerlendirme Çalışması

İn vitro çözünme çalışmalarından elde edilen sonuçlardan, bu amaç için yazılmış bir bilgisayar programı kullanılarak, yüzde yığılmalı çözünen madde profillerinin Modifiye Hixson-Crowell, birinci derece, sıfır derece, Hixson-Crowell (sink), RRSBW, Zamanın Kare Kökü, Hopfenberg küresel, Hopfenberg silindir, Hopfenberg slab kinetik modellerine uyumu incelenmiştir.

4. SONUÇ ve TARTIŞMA

4.1. SONUÇLAR

Bu bölümde, propranolol'ün fizikokimyasal özellikleri, kullanılan analitik yöntemlere ait validasyon sonuçları ile propranolol bellekli mikroküre üzerinde yapılan *in vitro* çalışmaların sonuçları verilecektir.

4.1.1. Propranolol ile Yapılan Çalışmalara ait Sonuçlar

4.1.1.1. Spektrofotometrik ve Kromatografik Çalışmalar

4.1.1.1.1. UV-Spektrumu

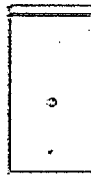
Propranolol'ün distile su, pH 6 ve %40'lık metanollü potasyum hidroksit çözeltisindeki spektrumları, UV spektrofotometresi ile Bölüm 3.2.1.1.1.'de açıklandığı şekilde alınmıştır. Maksimum absorbanlarına ait dalga boyları (λ_{maks}), distile su ve pH 6 için 289 nm, %40'lık metanollü potasyum hidroksit çözeltisi için 235 nm olarak bulunmuş ve saptanan UV spektrumları sırasıyla Şekil 4.1.'de verilmiştir. Distile su için farmakope ve kitaplarda da bu değer 289.0 nm'dir (5, 59).

4.1.1.1.2. IR-Spektrumu

Yapılan literatür araştırmasında, hiçbir makale ve farmakopede, propranolol HCl'ün IR-spektrum ve piklerine rastlanamamış; bu nedenle, Würzburg Üniversitesi ilaç verilerinde bulunan propranolol HCl IR spektrumu ve pikleriyle karşılaştırma yapılabilmektedir (60). Propranolol'ün potasyum bromür diski ile elde edilen IR spektrumu Şekil 4.9.'da gösterilmiştir.

4.1.1.1.3. İTK

Bölüm 3.2.1.1.3.' de anlatılan şekil ve yöntemle çalışılarak elde edilen kromatogram Şekil 4.2.' de verilmiştir. R_f değeri 0.26 olarak bulunmuştur.



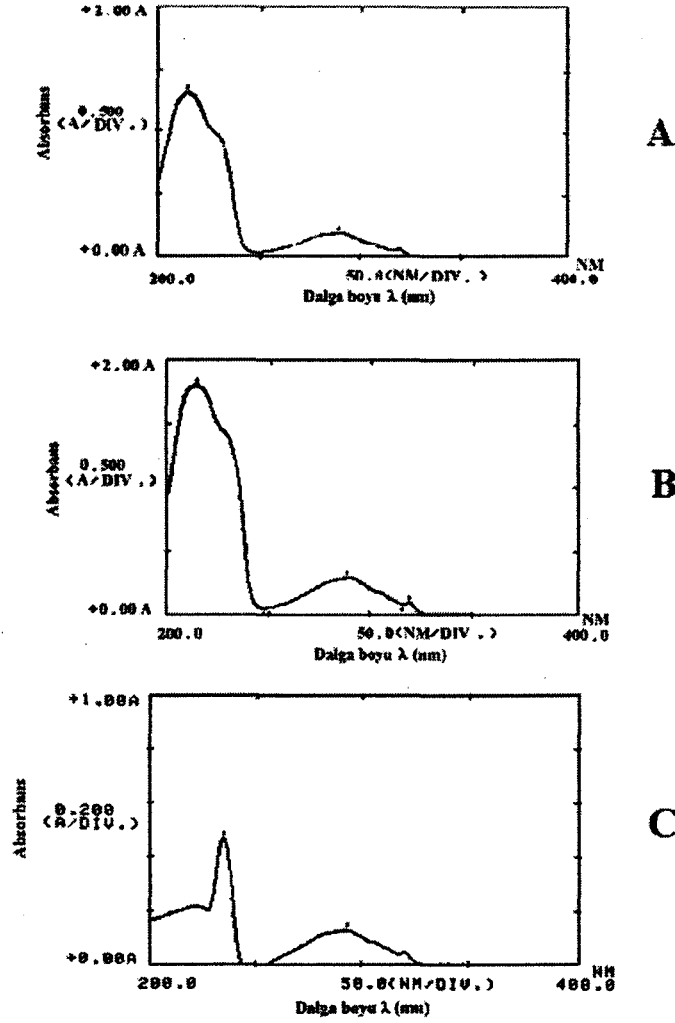
Şekil 4.2. Propranolol'ün İTK Kromatogramı

4.1.1.2. Erime Derecesi Tayini

Erime derecesi tayin cihazında yapılan analiz sonucunda propranolol HCl'ün erime derecesi 164.3 ± 0.33 °C olarak bulunmuştur (n=3). Bu bulgu literatür ile de uyumludur (4, 5, 44, 45, 61).

4.1.1.3. Termal Analiz

Propranolol'ün termal analizi Bölüm 3.2.1.3.'de açıklandığı şekilde yapılmış ve faz geçiş sıcaklığı 160.68 °C olarak bulunmuştur. Termogramı Şekil 4.11.'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Propranolol'ün UV-Spektrumları

A: Propranolol'ün Distile Su Ortamındaki UV Spektrumu

B: Propranolol'ün pH 6 Ortamındaki UV Spektrumu

C: Propranolol'ün %40'luk Metanollü Potasyum Hidroksit Ortamındaki UV Spektrumu

4.1.1.4. X-Işını Kırınım Analizi

Propranolol'ün X-ışını kırınım analizi Bölüm 3.2.1.4.'de açıklandığı şekilde yapılmış 12.560, 12.880, 16.780, 17.180, 19.320, 22.080 ve 25.120 derecelerde maddeye ait karakteristik kristalin pikler gözlenmiştir. Profili Şekil 4.10.'da verilmiştir.

4.1.1.5. Elementel Analiz

Bölüm 3.2.1.5.'de açıklandığı şekilde yapılan propranolol'ün elementel analiz sonuçları % 5.2 N ; % 66.6 C ; % 5.1 H olarak belirlenmiştir.

4.1.1.6. Propranolol Miktar Tayini

4.1.1.6.1. UV Spektrofotometri için Validasyon Çalışmaları

4.1.1.6.1.1. Doğrusallık

4.1.1.6.1.1.1. UV Spektrofotometrik Çalışmalar için Doğrusallık

Bölüm 3.2.1.6.1.1.'de açıklandığı şekilde farklı ortamlarda ve farklı konsantrasyonlardaki propranolol çözeltilerinin konsantrasyona karşı absorbans değerleri ölçülmüş ve bu veriler yardımıyla eğri denklemleri hesaplanmıştır. Elde edilen eğri denklemlerinin eğim, kesişim noktası, korelasyon katsayıları ve çalışılan dalga boyları **Tablo 4.1.**'de verilmiştir.

pH 7 ve 8 ortamlarında incelenen spektrumlar ile distile su ortamındaki spektrum arasında fark gözlenmediğinden bu ortamlarda yapılan çalışmalarda distile suya ait doğru denklemi kullanılmıştır.

Tablo 4.1. Propranolol'ün Farklı Ortamlardaki Standart Eğri Denklemlerine ait Değerler

Ortam	Çalışılan Dalga Boyu (nm)	Eğim	Kesişim Noktası	Korelasyon Katsayısı (r)*	Determinasyon Katsayısı (r ²)
Distile Su, pH 7 ve 8	289	0.0178	0.0247	0.9992	0.9984
% 40'lık Metanollü KOH	235	0.0867	0.0315	0.9992	0.9984
pH 3	289	0.0184	0.0071	0.9999	0.9998
pH 4	289	0.0191	0.0061	0.9998	0.9996
pH 5	288	0.0189	0.0149	0.9998	0.9996
pH 6	289	0.0186	0.0160	0.9996	0.9992

* n ≥ 3

4.1.1.6.1.1.2. Türev Spektroskopisi Çalışmaları için Doğrusallık

Bölüm 3.2.1.6.1.1.4.'de açıklandığı şekilde distile su ortamında, farklı dalga boylarında ve farklı konsantrasyonlardaki propranolol HCl ve sotalol HCl çözeltilerinin konsantrasyona karşı absorpsiyon değerleri, 1. derece türev spektrumu yardımıyla ölçülmüş ve bu veriler yardımıyla elde edilen eğri denklemlerinin eğim, kesişim noktası, korelasyon katsayıları ve çalışılan dalga boyları Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Distile Su Ortamındaki Türev Spektroskopisi Çalışmalarının Standart Eğri Denklemlerine ait Değerler

Etkin Madde	Çalışılan Dalga Boyu (nm)	Eğim	Kesişim Noktası	Korelasyon Katsayısı (r)*	Determinasyon Katsayısı (r ²)
Propranolol HCl	227.8	0.001	0.000	0.994	0.988
Propranolol HCl	237	0.009	0.011	0.996	0.992
Sotalol HCl	237	0.002	0.000	0.994	0.988

* n ≥ 3

4.1.1.6.1.2. Kesinlik

Bölüm 3.2.1.5.1.2.'de anlatıldığı şekilde üç farklı konsantrasyon ile çalışılarak, üç gün boyunca (k=3) tüm çözeltilerin absorpsiyonları UV spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Bu veriler ve literatürlerdeki formüller (58) yardımıyla kesinlik değerleri hesaplanmıştır. Bulunan değerler Tablo 4.3.'de gösterilmiştir.

$$\text{Tekrarlanabilirlik} = \frac{S_r}{\bar{m}} \times 100 \quad \text{Tekraredilebilirlik} = \frac{S_R}{\bar{m}} \times 100$$

Tablo 4.3. UV Spektrofotometrik Yönteme ait Kesinlik Sonuçları

Konsantrasyon (µg.mL ⁻¹)	RSD (rölatif standart sapma)*	
	Tekrarlanabilirlik	Tekraredilebilirlik
10	1.79	1.93
25	0.59	1.85
45	0.57	1.90

* k=3, n=6

4.1.1.6.1.3. Doğruluk

Bölüm 3.2.1.6.1.3.'de anlatıldığı şekilde iki farklı miktarda propranolol ile çalışarak distile su ortamında çözeltiler hazırlanmış, absorbansları UV spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Standart eğri denklemi ile bulunan miktarlar, gerçek miktarlar ile karşılaştırılarak yöntemin doğruluk değerleri yüzde olarak hesaplanmıştır. Bulunan değerler **Tablo 4.4.**'de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. UV Spektrofotometrik Yönteme ait Doğruluk Sonuçları

Konsantrasyon (mg.100mL ⁻¹)	Doğruluk (%) [*]
1	101.63±2.44
1.5	100.86±2.06

^{*} n=3

4.1.1.6.1.4. Seçicilik

Bölüm 3.2.1.6.1.4.'de açıklanan çalışmalar yapıldığında hazırlanan baskılanmamış polimerin (plasebo formülasyon) pH 6 ortamında verdiği absorbanslara karşılık gelen konsantrasyonlar 2.70±0.18 µg.mL⁻¹'dir. Ancak, baskılanmamış polimerle yapılan çözünme çalışmalarında dikkate değer bir absorbans gözlenmemiştir (n=3).

4.1.1.6.1.5. Duyarlılık

Kullanılan analitik yöntemin saptama ve tayin sınırları formüller yardımıyla hesaplanmış, LOD 2.74 µg.mL⁻¹, LOQ ise 8.31 µg.mL⁻¹ olarak bulunmuştur. LOD ve LOQ için formüller aşağıda gösterilmiştir.

$$\text{LOD} = \frac{3.3 \times \text{SD}}{S} \quad \text{LOQ} = \frac{10 \times \text{SD}}{S}$$

4.1.1.6.1.6. Kararlılık

4.1.1.6.1.6.1. Baskılama Koşullarındaki Kararlılık

Bölüm 3.2.1.6.1.6.1.'de adı geçen analizler yapılmış, analiz sonuçları ise bellekli mikrokürelerin "karakterizasyon çalışmaları" başlığı altında 4.2.2.1.'de sıra ile verilmiştir. Ayrıca, Bölüm 3.2.1.1.3.'de anlatılan İTK sistemine uygulanan bellekli polimerdeki etkin maddeye ait R_f değeri 0.26 olarak tespit edilmiş, baskılanmamış polimerde ise hiçbir leke görülmemiştir.

4.1.1.6.1.6.2. Desorpsiyon Ortamındaki Kararlılık

Bölüm 3.2.1.6.1.6.2.'de anlatıldığı şekilde, propranolol'ün desorpsiyon ortamındaki kararlılığı İTK yöntemi ile araştırılmış ve R_f değeri 0.23 olarak tespit edilmiştir.

4.1.1.6.1.6.3. Adsorbsiyon Ortamındaki Kararlılık

Bölüm 3.2.1.6.1.6.3.'de anlatıldığı şekilde, propranolol'ün adsorpsiyon ortamındaki kararlılığı, İTK yöntemi ile araştırılmış ve R_f değeri 0.29 olarak tespit edilmiştir. Çalışma ortamından gelebilecek lekelerin izlenmesi amacıyla uygulanan pH 6 çözeltisinden herhangi bir leke gelmemiştir.

4.1.1.6.1.6.4. Çözünme Ortamındaki Kararlılık

Bölüm 3.2.1.6.1.6.4.'de anlatıldığı şekilde, propranolol'ün çözünme ortamındaki kararlılığı araştırılmış ve R_f değeri 0.22 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, Bölüm 3.2.1.1.3.'de anlatılan sistemde çalışılarak elde edilen ve propranolol'ün yukarıda bahsedilen ortamlardaki kararlılığına ait kromatogram Şekil 4.3.'de verilmiştir.



Şekil 4.3. Propranolol'ün Çalışma Ortamlarındaki Kararlılığına ait İnce Tabaka Kromatogramı

1. Propranolol'ün Metanol İçindeki Referans Çözeltisi
2. Bellekli Polimerdeki Propranolol'ün Metanol İçindeki Çözeltisi
3. Baskılanmamış Polimerin Metanoldeki Süzüntüsü
4. Propranolol'ün Desorpsiyon Ortamı Olan % 40'lık Metanollü Potasyum Hidroksit Çözeltisi İçindeki Çözeltisi
5. Desorpsiyon Ortamından Gelen Propranolol'ün Metanoldeki Çözeltisi
6. % 40'lık Metanollü Potasyum Hidroksit Çözeltisi
7. Propranolol'ün Adsorpsiyon Ortamı Olan pH 6 Ortamı İçindeki Çözeltisi
8. pH 6 Çözeltisi
9. Propranolol'ün Çözünme Ortamında 4 saat Bekletilmiş Çözeltisi
10. Propranolol'ün Metanol İçindeki Referans Çözeltisi

4.1.1.6.2. Çalışma Ortamlarındaki Çözünürlük Tayinleri

Bölüm 3.2.1.6.2.'de açıklandığı şekilde çalışılarak, propranolol'ün distile su, desorpsiyon ve adsorpsiyon ortamlarında elde edilen çözünürlük oranları ortalaması ve standart hataları **Tablo 4.5'**de gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Propranolol'ün Farklı Ortamlardaki Çözünürlük Değerleri ve Standart Hataları

Ortam	Çözünürlük (g.mL ⁻¹) ± Standart Hata
Adsorpsiyon Ortamı	0.22±1.44*
Distile su	0.14±2.33*
Desorpsiyon Ortamı	3.07x10 ⁻⁶ ±0.04**

* n=3 ** n=6

4.1.1.6.3. Propranolol Piyasa Tabletinde Miktar Tayini

Bölüm 3.2.1.6.3.'de açıklandığı şekilde, propranolol'ün piyasa tableti olan Dideral® tablette miktar tayini yapılmıştır. Tabletlerdeki ortalama propranolol miktarının ve standart hatasının 33.84±0.40 mg olduğu bulunmuştur (n=3).

4.1.2. Propranolol Bellekli Mikroküre ile Yapılan Çalışmalara ait Sonuçlar

4.1.2.1. Desorpsiyon ve Adsorpsiyon Çalışmaları

4.1.2.1.1. Mikroküreden Propranolol'ün Desorpsiyon Çalışması

Bölüm 3.2.2.2.1.'de anlatıldığı şekilde çalışılarak, bellekli mikroküreden desorbe edilebilen propranolol miktarı %76.5 olarak bulunmuştur (n=3).

4.1.2.1.2. Bellekli Mikroküreye Propranolol'ün Adsorpsiyon Çalışması

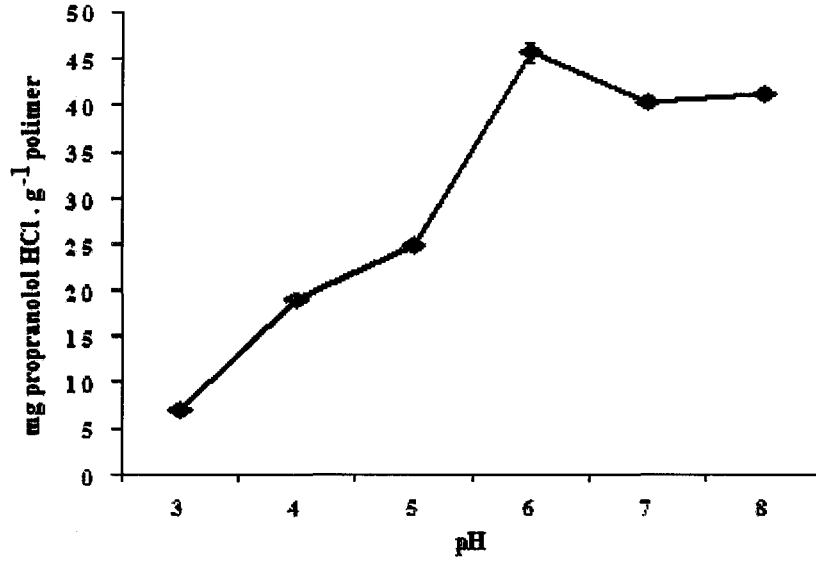
4.1.2.1.2.1. Ortam pH'sının Adsorpsiyona Etkisinin İncelenmesi

Bölüm 3.2.2.2.2.1.'de anlatıldığı şekilde yapılan adsorpsiyon çalışmaları için uygun pH'nın seçilmesine ait çalışmalar sonucunda, adsorpsiyonun 45.84±0.35 mg.g⁻¹ değeriyle en fazla pH 6 ortamında gerçekleştiği bulunmuştur (n=3). Çalışmanın sonuçları **Tablo 4.6.**'da ve profili **Şekil 4.4.**'de gösterilmiştir.

Tablo 4.6. Propranolol'ün Farklı pH'lardaki Adsorpsiyon Değerleri

pH	mg propranolol HCl . g ⁻¹ polimer
3	7.08
4	19.11
5	25.12
6	45.84±0.34*
7	40.50
8	41.38

* n=3



Şekil 4.4. Propranolol'ün Bellekli Mikroküreye Adsorpsiyonuna Ortam pH'sının Etkisini Gösteren Profil

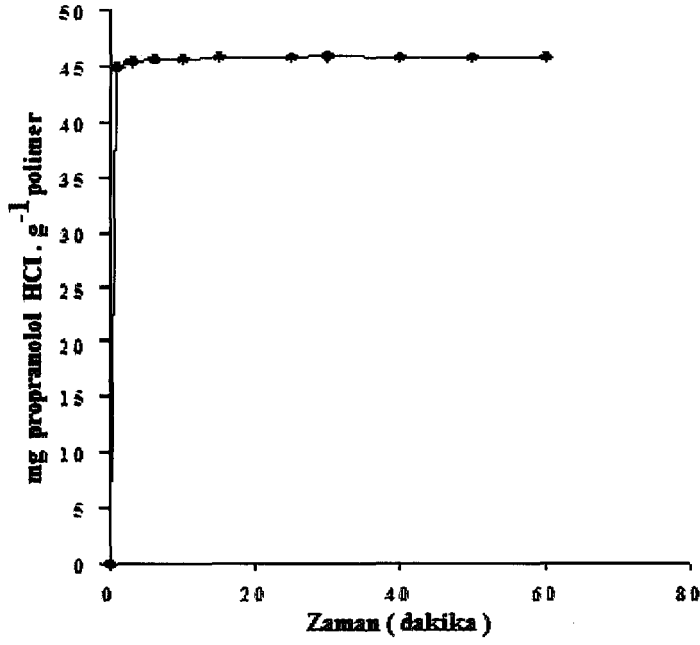
4.1.2.1.2.2. Adsorpsiyon Denge Zamanının Belirlenmesi

Bölüm 3.2.2.2.2.2.'de anlatıldığı şekilde yapılan propranolol'ün adsorpsiyon denge zamanının belirlenmesi çalışmalarında, en fazla adsorpsiyonun gerçekleştiği zaman 30. dak.'da $46.01 \pm 1.20 \text{ mg.g}^{-1}$ olarak bulunmuştur (n=3). Sonuçlar **Tablo 4.7.**'de ve profili **Şekil 4.5.**'de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Propranolol'ün Adsorpsiyon Dengesine Ulaşma Zamanı ve Değerleri

Zaman (Dakika)	mg propranolol HCl . g ⁻¹ polimer ± Standart Hata *
1	45.03±1.15
3	45.48±1.00
6	45.70±0.93
10	45.70±0.88
15	45.92±0.81
25	45.91±0.62
30	46.01±0.60
40	45.95±0.59
50	45.98±0.64
60	45.92±0.58

* n=3



Şekil 4.5. Propranolol'ün Adsorpsiyon Dengesine Ulaşma Zamanını Gösteren Profil

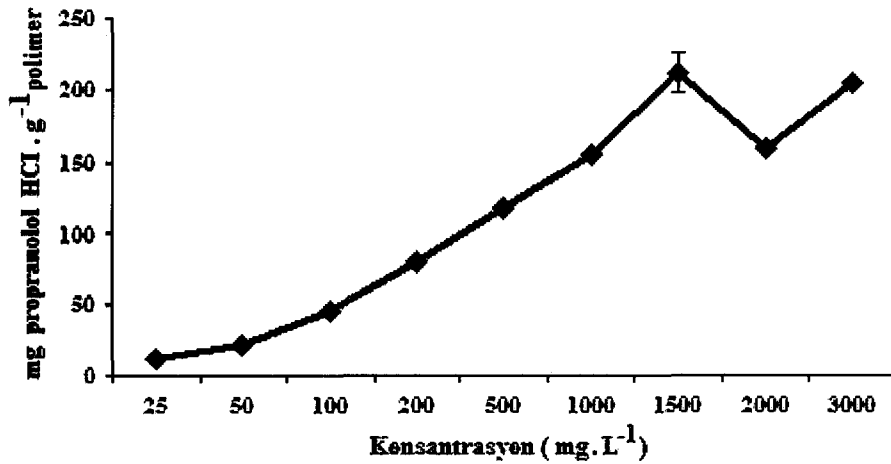
4.1.2.1.2.3. Propranolol Konsantrasyonunun Adsorpsiyona Etkisinin İncelenmesi

Bölüm 3.2.2.2.2.3.'de anlatıldığı şekilde yapılan adsorpsiyon için uygun konsantrasyonun seçilmesine ait çalışmalarda, en fazla adsorpsiyonun 1500 ppm'de $213.00 \pm 7.34 \text{ mg.g}^{-1}$ olarak bulunmuştur ($n=3$). Sonuçlar **Tablo 4.8.**'de ve profili **Şekil 4.6.**'da gösterilmiştir.

Tablo 4.8. Propranolol'ün Farklı Konsantrasyonlardaki Adsorpsiyon Değerleri

Konsantrasyon (mg.L^{-1})	mg propranolol HCl . g^{-1} polimer
25	11.13
50	22.93
100	45.84
200	79.79
500	119.90
1000	156.50
1500	$213.00 \pm 7.34^*$
2000	161.25
3000	204.50

* $n=3$



Şekil 4.6. Propranolol'ün Distile Su Ortamında Farklı Konsantrasyonlarda Bellekli Mikroküreye Adsorpsiyonunu Gösteren Profil

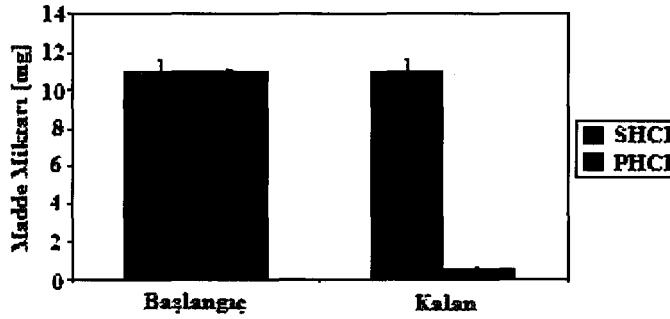
4.1.2.1.2.4. Türdeş Madde Varlığının Adsorbsiyona Etkisinin İncelenmesi

Bölüm 3.2.2.2.2.4.' de anlatıldığı şekilde türdeş madde varlığının adsorbsiyona etkisinin incelenmesi çalışmasında, ortamda kalan propranolol miktarı 11 mg'dan 0.53 ± 0.09 mg'a inerken, sotalol HCl miktarı değişmeden kalmıştır (n=3). Sonuçlar **Tablo 4.9.**'da ve profili **Şekil 4.7.**'de gösterilmiştir.

Tablo 4.9. Propranolol HCl ve Sotalol HCl Adsorpsiyon Değerleri

	Ortama Konulan Madde Miktarı (mg)	Ortamda Kalan Madde Miktarı (mg) $\pm$ Standart Hata
Propranolol HCl	11	$0.53 \pm 0.09^*$
Sotalol HCl	11	11

* n=3

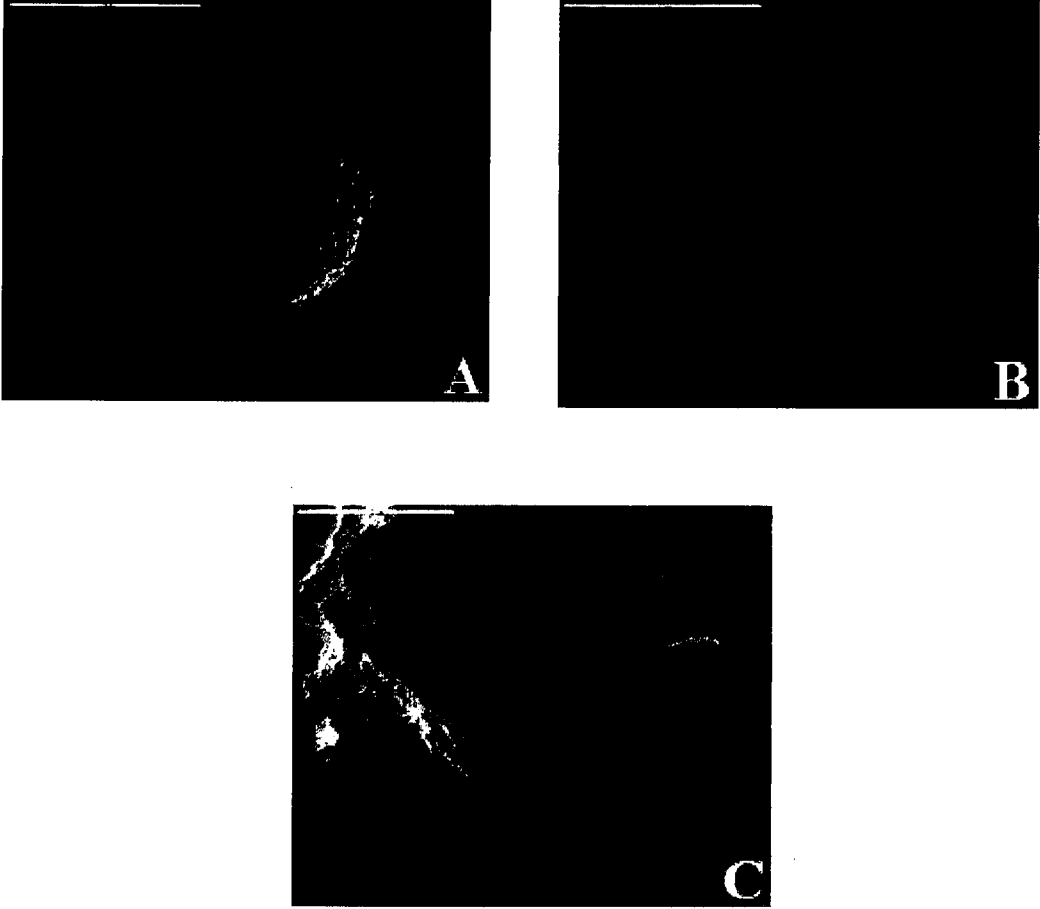


Şekil 4.7. Propranolol HCl ve Sotalol HCl Adsorpsiyonunu Gösteren Profil

4.1.2.2. Karakterizasyon Çalışmalarına ait Sonuçlar

4.1.2.2.1. Yüzey Morfolojisi

Hazırlanan propranolol bellekli mikroküre ile desorpsiyon ve adsorpsiyon sonrası şekiller Bölüm 3.2.2.3.1.'de açıklandığı üzere incelenmiş ve saptanabilen görüntüler Şekil 4.8.'de verilmiştir.



Şekil 4.8. Mikrokürelerinin Şekillerinin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüleri

A: Propranolol Bellekli Mikrokürenin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

B: Desorpsiyon Sonrası Şeklin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

C: Adsorpsiyon Sonrası Şeklin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

4.1.2.2.2. Ortalama Partikül Boyut ve Dağılım Analizi

Bölüm 3.2.2.3.2.'de açıklandığı gibi lazer cihazı ile analizler yapılmış ve boyut ve dağılım bulguları Tablo 4.10.'da, dağılım profilleri Şekil 4.9.'da gösterilmiştir.

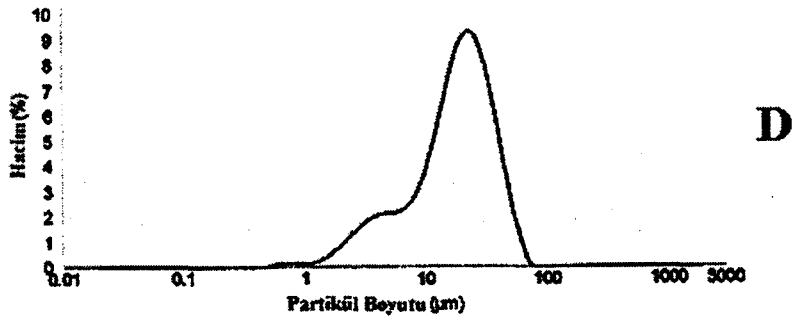
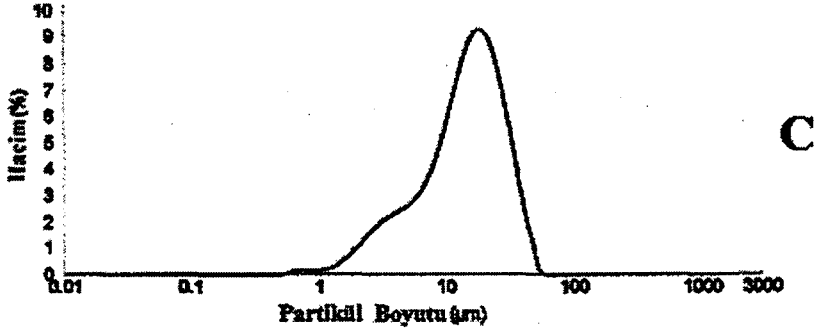
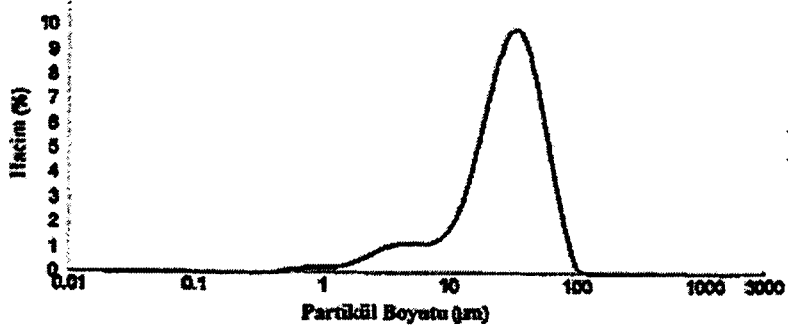
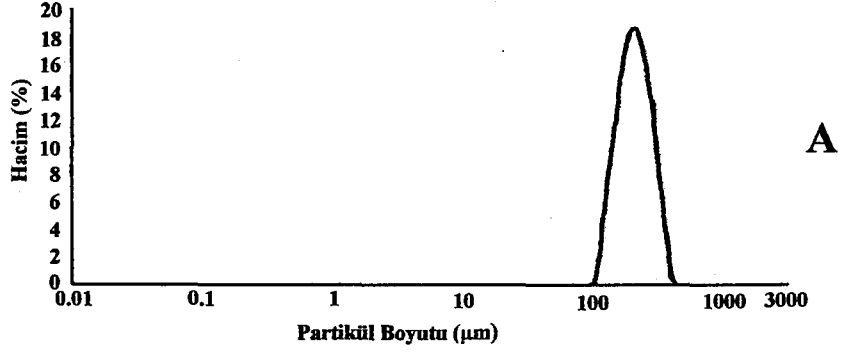
Tablo 4.10. Propranolol ve Propranolol Bellekli Mikroküre Şekillerinin Ortalama Partikül Boyut Dağılım Bulguları ve Standart Hataları

	Ortalama Partikül Boyutu (μm) [*]			Spesifik Yüzey Alan ($\text{m}^2.\text{g}^{-1}$)
	d (0.1)	d (0.5)	d (0.9)	
Propranolol	134.295±10.781	223.808±6.173	329.748±9.063	0.0293
Propranolol Bellekli Mikroküre	6.977±0.182	29.003±0.495	58.279±1.039	0.4536
Desorpsiyon Sonrası Mikroküre	3.947±0.081	15.219±0.311	31.572±0.571	0.6978
Adsorpsiyon Sonrası Mikroküre	4.336±0.000	18.947±0.000	39.383±0.031	0.5921

* n = 3

4.1.2.2.3. Elementel Analiz

Bölüm 3.2.2.3.3.'de açıklandığı şekilde yapılan elementel analiz çalışmalarında, propranolol bellekli mikroküre için % 0.5 N ; % 63.9 C ; % 18.6 H, desorpsiyon sonrası şekli için % 0.5 N ; % 53.9 C ; % 6.9 H, ve adsorbsiyon sonrası şekli için % 0.5 N ; % 58.9 C ; % 6.4 H olarak belirlenmiştir.

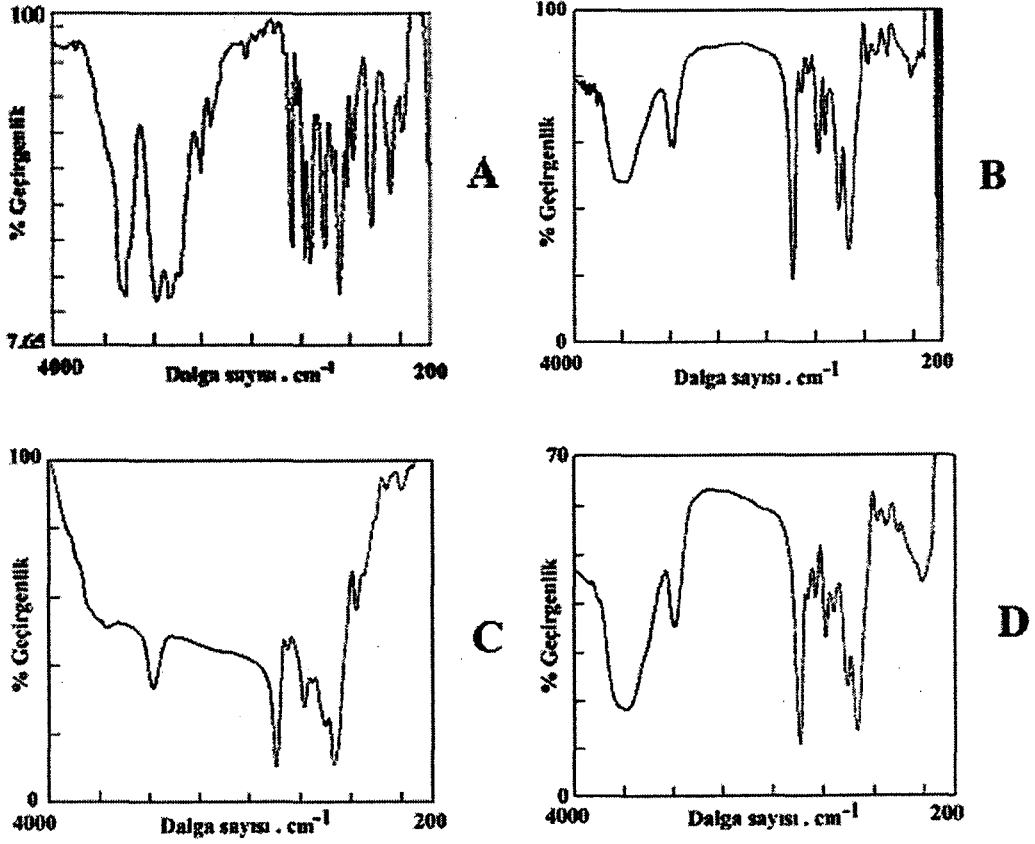


Şekil 4.9. Propranolol ve Mikrokürelerinin Ortalama Partikül Boyut ve Dağılım Profilleri

- A: Propranolol'ün Ortalama Partikül Boyutu Dağılım Profili
- B: Propranolol Bellekli Mikrokürenin Ortalama Partikül Boyutu Dağılım Profili
- C: Desorpsiyon Sonrası Şeklin Ortalama Partikül Boyutu Dağılım Profili
- D: Adsorpsiyon Sonrası Şeklin Ortalama Partikül Boyutu Dağılım Profili

4.1.2.2.4. IR Analizleri

Hazırlanan propranolol bellekli mikroküre ile desorpsiyon ve adsorpsiyon sonrası şekillerinin IR spektrumları Bölüm 3.2.2.3.4.'de anlatıldığı şekilde çekilmiş ve spektrumlar Şekil 4.10.'da gösterilmiştir.

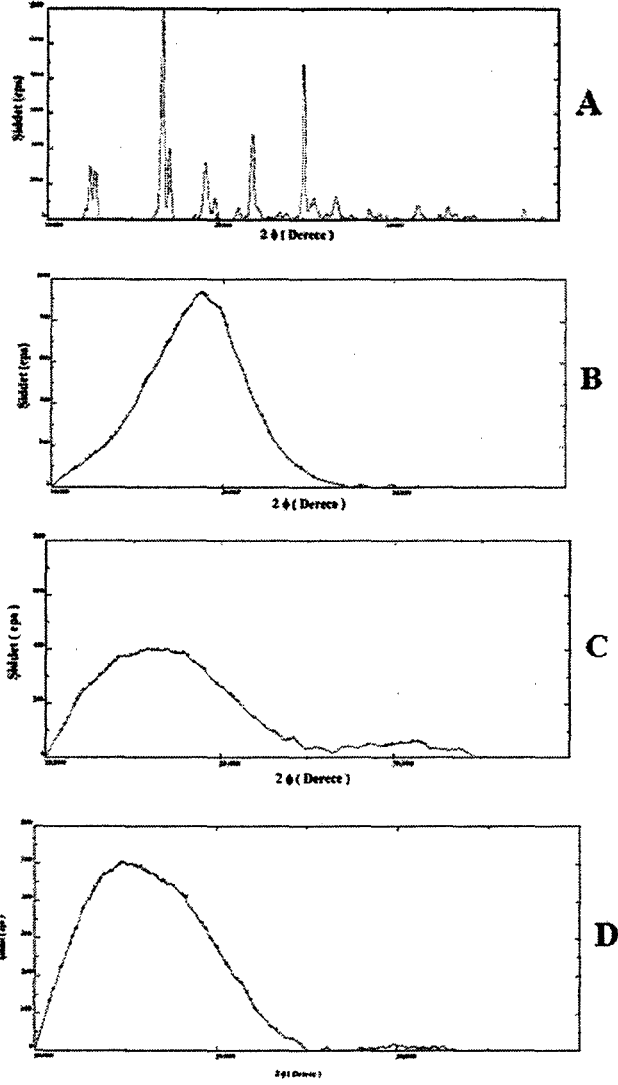


Şekil 4.10. Propranolol ve Propranolol Bellekli Mikrokürelerin IR-Spektrumları

- A: Propranolol'ün IR Spektrumu
- B: Propranolol Bellekli Mikrokürenin IR Spektrumu
- C: Desorpsiyon Sonrası Şeklin IR Spektrumu
- D: Adsorpsiyon Sonrası Şeklin IR Spektrumu

4.1.2.2.5. X-Işını Kırınım Analizleri

Hazırlanan propranolol bellekli mikroküre ile desorpsiyon ve adsorbsiyon sonrası şekillerin X-ışını kırınım analizleri Bölüm 3.2.2.3.5.' de açıklandığı şekilde yapılmış ve profilleri Şekil 4.11.'de verilmiştir.



Şekil 4.11. Propranolol ve Mikrokürelerinin X-Işını Kırınım Profilleri

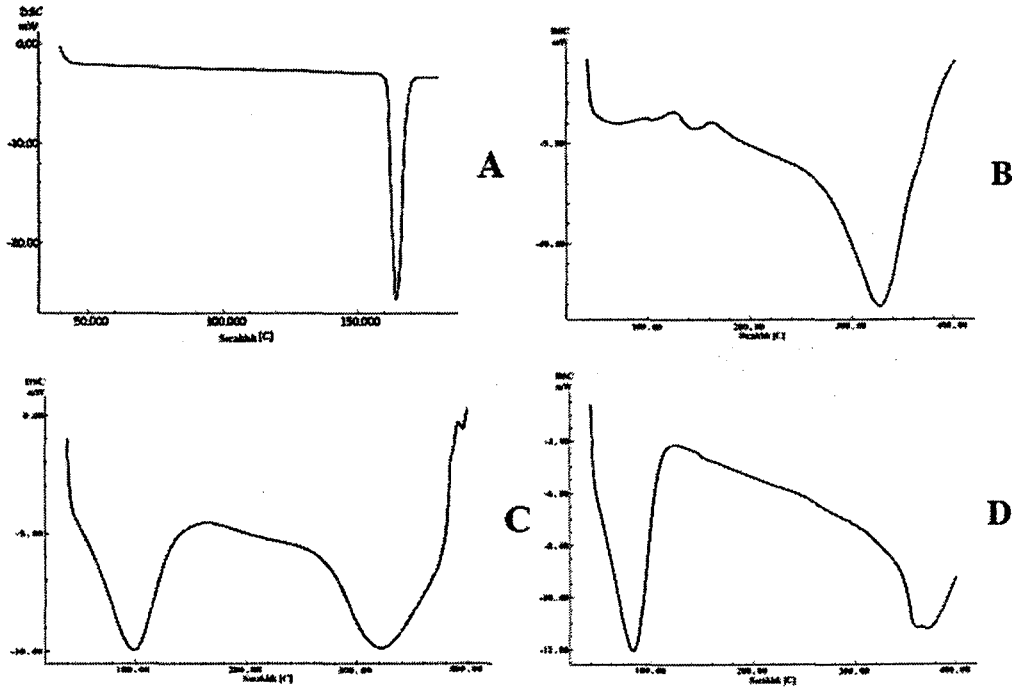
- A: Propranolol'ün X-Işını Kırınım Profili
- B: Propranolol Bellekli Mikrokürenin X-Işını Kırınım Profili
- C: Desorpsiyon Sonrası Mikrokürenin X-Işını Kırınım Profili
- D: Adsorpsiyon Sonrası Mikrokürenin X-Işını Kırınım Profili

4.1.2.2.6. Termal Analizleri

Hazırlanan propranolol bellekli mikroküre ile desorpsiyon ve adsorbsiyon sonrası şekillerin termal analizleri Bölüm 3.2.2.3.6.'da açıklandığı şekilde yapılmış, termogramlara ait bulgular Tablo 4.11'de ve profilleri Şekil 4.12.'de verilmiştir.

Tablo 4.11. Propranolol Mikrokürelerinin DSC Termogramlarına ait Bulgular

	1. Pik			2. Pik		
	Faz Geçiş Sıcaklığı (°C)	Erime Noktası (°C)	Enerji (Joule.g ⁻¹)	Faz Geçiş Sıcaklığı (°C)	Erime Noktası (°C)	Enerji (Joule.g ⁻¹)
Propranolol Bellekli Mikroküre	40.16	70.29	66.27	254.83	326.36	813.32
Desorpsiyon Sonrası Mikroküre	44.26	99.25	213.51	276.52	321.45	345.35
Adsorpsiyon Sonrası Mikroküre	41.19	82.10	227.09	348.05	370.89	57.16



Şekil 4.12. Propranolol ve Mikrokürelerinin DSC Termogramları

- A: Propranolol'ün DSC Termogramı
 B: Propranolol Bellekli Mikrokürenin DSC Termogramı
 C: Desorpsiyon Sonrası Şeklin DSC Termogramı
 D: Adsorpsiyon Sonrası Şeklin DSC Termogramı

4.1.2.3. Mikrokürede Propranolol Miktar Tayini

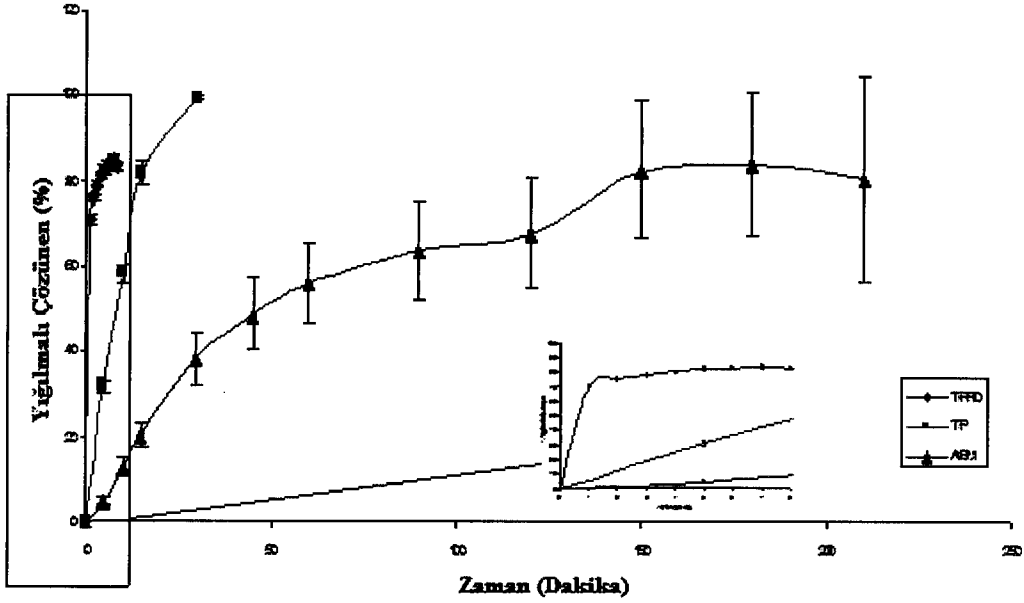
Bölüm 3.2.2.4.' de açıklandığı şekilde yapılan miktar tayininde, 10 mg adsorpsiyon sonrası mikrokürenin 0.18 ± 0.01 mg propranolol HCl içerdiği saptanmıştır (n=3).

4.1.2.4. İn Vitro Çözünme Çalışmalarına ait Sonuçlar

Hazırlanan mikrokürenin adsorpsiyon sonrası şekli ile, toz propranolol'de ve propranolol'ün ticari preparatında (Dideral®), Bölüm 3.2.2.5.'de açıklanan yöntem ile çözünme deneyleri yapılmıştır. Çözünme çalışmalarının sonucunda elde edilen toz propranolol'ün, piyasa tabletinin ve adsorpsiyon sonrası şekillerinin yığılmalı yüzde çözünen miktarları Tablo 4.12.'de, çözünme profilleri ise Şekil 4.13.'de verilmiştir.

Tablo 4.12. Toz Propranolol, Ticari Preparatı ve Adsorpsiyon Sonrası Mikrokürenin Distile Su Ortamında Yığılmalı Çözünme Yüzdeleri ve Standart Hataları

Süre (Dakika)	Yığılmalı Çözünen Madde Miktarı (%)		
	Toz Propranolol	Piyasa Tableti	Adsorpsiyon Sonrası Mikroküre
1	70.98±1.00	-	-
2	76.33±0.57	-	-
3	79.38±0.60	-	-
4	81.30±0.83	-	-
5	82.60±1.29	31.77±1.68	4.88±0.76
6	83.82±1.35	-	-
7	84.88±1.52	-	-
8	83.64±0.99	-	-
10	-	58.80±2.06	12.98±1.87
15	-	82.15±3.14	20.42±3.1
30	-	99.57±0.42	38.32±6.26
45	-	-	49.24±8.23
60	-	-	56.28±9.75
90	-	-	64.00±11.76
120	-	-	68.14±13.05
150	-	-	83.33±16.2
180	-	-	84.55±16.7
210	-	-	81.02±23.7



Şekil 4.13. Toz Propranolol, Ticari Preparatı ve Adsorpsiyon Sonrası Mikrokürenin Distile Su Ortamındaki Çözünme Profilleri

TPPO: Toz Propranolol HCl

TP: Ticari Preparatı

ASM: Adsorpsiyon Sonrası Mikroküre

4.1.2.5. Kinetik Değerlendirme Çalışmalarına ait Sonuçlar

Bölüm 3.2.2.6.'da anlatıldığı şekilde yapılan incelemede, çözünme verilerinin Modifiye Hixson-Crowell, birinci derece, sıfır derece, Hixson-Crowell (sink), RRSBW, Zamanın Kare Kökü, Hopfenberg küresel, Hopfenberg silindir, Hopfenberg slab kinetik modellerine uygulanması ile elde edilen Akaike değerleri, belirtme katsayıları ve sapma kareleri toplamalarına göre, ticari preparata Modifiye Hixson-Crowell'in, etkin madde ve adsorpsiyon sonrası mikroküreye ise RRSBW'nin uygun kinetik modeller olacağına karar verilmiş ve bu kinetiklere ait değerler Tablo 4.13., Tablo 4.14., ve Tablo 4.15.'de ve eğriler Şekil 4.14. ve Şekil 4.15.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.13. Çözünme Hızı Kinetiklerinin Matematiksel Modellere Uyum Çalışmalarının Bulguları

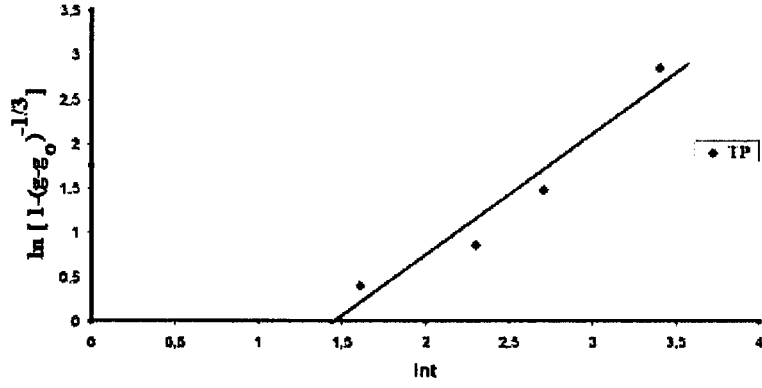
EŞİTLİK/KOD		TPRO	TP	ASM
Hixson-Crowell (Modifiye)	WSSD	0.226	0.896	0.223
	AIC	-59.285	-23.533	-31.769
	r^2	0.973	0.996	0.957
Birinci Derece	WSSD	0.414	0.182	0.464
	AIC	7.876	-4.193	-22.674
	r^2	0.865	0.977	0.928
Sıfır Derece	WSSD	0.420	0.163	0.208
	AIC	10.467	-3.430	-7.177
	r^2	0.822	0.856	0.841
Hixson-Crowell (Sink)	WSSD	0.583	0.240	0.134
	AIC	-3.956	-20.402	-21.317
	r^2	0.853	0.997	0.912
RRSBW	WSSD	0.125	0.116	0.703
	AIC	-60.474	-20.434	-36.525
	r^2	0.974	0.993	0.969
Zamanın Kare Kökü	WSSD	0.557	0.156	0.172
	AIC	-8.548	-13.574	-32.716
	r^2	0.912	0.931	0.949
Hopfenberg Küresel	WSSD	0.457	0.554	0.791
	AIC	10.565	-18.667	-14.263
	r^2	0.853	0.997	0.912
Hopfenberg Silindir	WSSD	0.472	0.534	0.980
	AIC	11.571	-13.021	-10.997
	r^2	0.845	0.979	0.898
Hopfenberg Slab	WSSD	0.457	0.172	0.161
	AIC	13.505	-1.625	-3.414
	r^2	0.822	0.856	0.841

Tablo 4.14. Modifiye Hixson-Crowell Kinetiğine ait Değerler

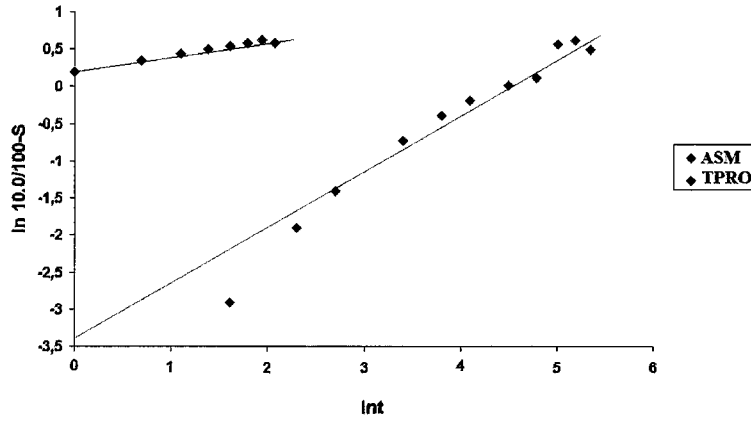
ln t	ln [1-(g/g _o) ^{1/3}]
	TP
1.609	0.409
2.302	0.875
2.708	1.494
3.401	2.863

Tablo 4.15. RRSBW Kinetiğine ait Değerler

ln t	ln [10.0/100-S]	
	ASM	TPRO
0	-	0.210
0.693	-	0.360
1.098	-	0.450
1.386	-	0.510
1.609	-2.900	0.550
1.791	-	0.590
1.945	-	0.630
2.079	-	0.590
2.302	-1.900	-
2.708	-1.400	-
3.401	-0.720	-
3.806	-0.380	-
4.094	-0.180	-
4.499	0.021	-
4.787	0.130	-
5.010	0.570	-
5.192	0.620	-
5.347	0.500	-



Şekil 4.14. Distile Su Ortamındaki Modifiye Hixson-Crowell Kinetiğine ait Eğri
TP: Ticari Preparat



Şekil 4.15. Distile Su Ortamındaki RRSBW Kinetiğine ait Eğri
ASM: Adsorpsiyon Sonrası Mikroküre
TPRO: Toz Propranolol

4.2. TARTIŞMA

Bu bölümde, formülasyonda kullanılan etkin maddenin fizikokimyasal özelliklerine ait bulgular ile molekül baskılanmış polimerler üzerinde gerçekleştirilen çalışmalara ait bulgular tartışılacaktır.

4.2.1. Çalışılan Maddelere ait Değerlendirmeler

4.2.1.1. Propranolol HCL

Propranolol HCl'ün miktar tayininde kullanılan UV spektrofotometrik yöntem için yapılan validasyon çalışmalarında, analitik validasyon parametrelerinden **doğrusallık, kesinlik, doğruluk, seçicilik, duyarlılık ve kararlılık** incelenmiştir. Deneylerin farklı alet, farklı analist ve farklı laboratuvar gerektirmesi nedeniyle tutarlılık parametresi incelenememiştir (58). Çalışmada genel olarak distile su ile pH 6 ortamı kullanıldığından ve etkin maddenin bu iki ortamdaki UV spektrumu çok benzer ve çalışılan dalga boyu aynı olduğundan, validasyon çalışmaları sadece distile su ortamında yürütülmüştür. Bu nedenle, pH 6 ve % 40'lık metanollü potasyum hidroksit çözeltisi ortamları için sadece doğrusallık ve kararlılık çalışması yapılmıştır. pH 3, 4, 5, 7 ve 8 ortamları içinse sadece doğrusallık çalışması yapılmıştır.

Türev spektroskopisi, farklı madde karışımı içeren çözeltilerde maddelerin miktar tayinleri için geliştirilen spektrofotometrik yöntemlerden biridir. Yapılan bir çalışmada, kafein içeren karışımlar içerisindeki etkin maddelerin miktar tayinleri için türev spektroskopisi kullanılmıştır (62). Çizdirilen 1. türev spektrumlarında analitik sinyaller okunarak miktar tayinlerinin yapılabileceği gösterilmiştir (62). Propranolol HCl ve sotalol HCl varlığında miktar tayini yapabilmek için türev spektroskopisi çalışmaları için doğrusallık çalışmaları yapılmıştır.

Bir analiz yönteminin doğrusallığı, belli bir aralık içerisinde örnekte incelenen maddenin derişimi (miktarı) ile doğrudan orantılı sonuçların elde edilebilme kapasitesidir. Doğrusallıktan sapma, yöntemin o konsantrasyondaki örnekler için iyi sonuç vermediğini gösterir. Yapılan deneylerde, yöntemin doğrusallığının $10-45 \mu\text{g.mL}^{-1}$ konsantrasyon aralığında yüksek olduğu, 0.999 değerindeki korelasyon katsayısı ile tespit edilmiştir.

Kesinlik, yeterli sayıda çalışılan örneğin test sonuçlarının aralarındaki uygunluğun ölçüsüdür. Analitik yöntemin kesinliği, rölatif standart sapma-RSD-

Varyasyon katsayısı (CV) ile tanımlanır. Ayrıca, kesinlik, normal işlem koşulları altında analitik yöntemin tekrarlanabilirlik ve tekraredilebilirlik sonuçlarını alabilme ölçüsüdür. Kullandığımız UV-spektrofotometrik yöntemin kesinliği, tekrarlanabilirlik ve tekraredilebilirliğe ait % 2'den küçük RSD değerleri ile literatürlere uygun bulunmuştur. Çünkü literatürlerdeki değerler tekrarlanabilirlik için $RSD < \% 2$, maksimum $< \% 3$, tekraredilebilirlik için $RSD < \% 5$ 'dir (58).

Test sonuçlarının gerçek değere yakınlığı olan doğruluk, genelde bilinen miktarda analiz edilen maddenin geri kazanılan yüzdesi olarak ifade edilir. Yüzde olarak bulunan değer, literatürlere göre tüm konsantrasyonlar için % 98-102 arasında olmalıdır (58). Çalışılan iki konsantrasyon için bulunan değerler % 101.63 ve % 100.86'dır ve literatür ile uyumludur.

Seçicilik, analitik yöntemin yalnızca amaçlanan bileşen veya bileşenleri tayin edebilme yeteneğidir ve sayısal bir değeri yoktur (58). Kullandığımız yöntemin seçiciliğini araştırmak için, aynı hazırlama yöntemi ile hazırlanan baskılanmamış mikroküreler ile önce etkin madde miktar tayini deneylerine yönelik olarak oda sıcaklığında ve daha sonra çözünme deneylerine yönelik olarak 37°C sıcaklıkta çalışmalar yapılmış; böylece, taşıyıcının kullanılan ortam ve dalga boyundaki girişimi incelenmiştir. Yapılan bu çalışmalar sonucunda, etkin madde miktar tayini deneylerinde 8000 rpm'de 15 dak karıştırılmadan ve bu sırada ortam sıcaklığının yükselmesinden kaynaklanan düşük bir girişim saptanmıştır. Tespit edilen bu düşük girişim etkin madde olarak yorumlandığında $2.70 \mu\text{g.mL}^{-1}$ 'lik konsantrasyon değeri ile yöntemimizin saptama sınırından (LOD, $2.74 \mu\text{g.mL}^{-1}$) daha küçüktür. Elde edilen bu düşük absorbans değerleri etkin maddeli çalışmalardaki değerlerden çıkartılarak, bu girişim elimine edilmiştir. Çözünme ortamındaki çalışmaların tümünde ise, hiçbir girişim saptanmadığından yöntemin bu testlere yönelik olarak seçici olduğu belirlenmiştir.

Analitik yöntemin düşük konsantrasyonları saptayabilme yeteneğini (duyarlılık) gösteren saptama ve tayin sınırları sırasıyla 2.74 ve $8.31 \mu\text{g.mL}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Yapılan literatür araştırmalarında sadece tayin sınırı için bir sınıra rastlanmıştır. Elde edilen konsantrasyon, etkin maddenin rölatif değerinin % 0.1'den daha düşük olması nedeniyle bu literatür ile uyumludur (58). Analitik validasyonda kararlılığın test edilmesi, taşıyıcının ve çalışma koşullarının analite

etkisinin uygun yöntemlerle test edilmesini kapsar. Bu testlere yönelik olarak İTK yönteminden yararlanılmıştır. İTK çalışmalarında, propranolol HCl tanınması ve çalışma koşul ve ortamlarında kararlılığının da izlenebilmesi için, farmakopede verilen plak kaplama maddesi, çözücü sistemi ve uygulama hacmi denenmiştir (45). Bu sistemde, Silikajel 60 G kaplama maddesi ve 1:99 oranında derişik amonyak-metanol karışımı hareketli faz olarak kullanılmaktadır. Yapılan İTK çalışmalarında, çalışma ortam ve koşullarına maruz bırakılan propranolol HCl örnekleri, referansla aynı plağa uygulanmıştır. Sağlıklı karşılaştırma yapılabilmesi için, tüm örneklerde, referans çözeltideki konsantrasyon ve hacim kullanılarak, oluşacak lekelerin çap ve renk şiddetlerinin benzer olması sağlanmıştır. Ayrıca, plağın hem sağ hem de sol başına referans çözelti uygulanarak hareketli fazın plaktaki eşit ilerlemeyişinden kaynaklanabilecek hatalar giderilmiştir (Şekil 4.3., 1. ve 10. leke).

Referans çözeltisinde kullanılmış olan metanol yardımıyla, baskılanmış mikrokürelerden çıkarılmış propranolol HCl plağa uygulanmış, R_f değeri 0.22 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.3., 2. leke). Oluşan lekenin, referans çözeltisinden elde edilen leke ile benzer renk ve büyüklükte olması ve R_f değerlerinin birbirine çok yakın olması, propranolol HCl'ün formülasyondan sonra kararlılığını koruduğunu göstermiştir. Bu çalışmada oluşan lekeye, taşıyıcıdan [baskılanmamış mikroküre (MAH-Co)] bir girişim olup olmadığını öğrenmek için, baskısız mikroküre de metanolle aynı koşullarda muamele edilip plağa uygulanmıştır (Şekil 4.3., 3. leke). Propranolol HCl'ün R_f değerine sahip herhangi bir lekenin oluşmaması girişim olmadığının kanıtıdır.

Desorpsiyon aşamasında propranolol HCl'ün kararlılığının araştırılması amacıyla, propranolol HCl % 40'lık metanollü potasyum hidroksit çözeltisi ile 60°C'de 750 rpm'de 4 gün manyetik karıştırıcı ile karıştırılıp süzölmüştür. Süzöntü uygulandıktan sonra plağa zarar vermiştir (Şekil 4.3., 4. leke). Süzgeç kağıdı üzerinde kalan propranolol HCl metanolde çözöndüröldükten sonra plağa uygulanmış ve lekenin R_f değeri 0.23 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.3., 5. leke). Böylece desorpsiyon aşamasındaki propranolol HCl'ün ağır koşullara rağmen kararlılığını koruyabildiği saptanmıştır. Desorpsiyon aşamasında kullanılan % 40'lık metanollü potasyum hidroksit çözeltisinin girişim yapıp yapmadığını

öğrenmek için yapılan uygulamada da, örnek plağa zarar vermiştir (Şekil 4.3., 6. leke).

Maksimum adsorpsiyon kapasitesini sağlayan pH 6 ortamındaki benzer çalışmanın sonucunda, propranolol HCl'e ait R_f değeri 0.29 olarak bulunmuştur (Şekil 4.3., 7. leke). pH 6 ortamının, lekeye girişim yapıp yapmadığını öğrenmek amacıyla plasebo olarak plağa uygulama yapılmış, leke görülmemiştir (Şekil 4.3., 8. leke). Son olarak çözünme ortamı olan distile su ortamında ve koşullarında propranolol HCl kararlılığı araştırılmış, R_f değeri 0.22 olarak bulunmuştur (Şekil 4.3., 9. leke).

Şekil 4.3.'deki 4. ve 5. lekelerdeki kuyruklanmaların, örneklerin çözünme ortamında bulunan sudan kaynaklandığı düşünülmüştür. Ayrıca, bu örneklerin yakınındaki referansa ait lekede de (Şekil 4.3., 10. leke) benzer kuyruklanma mevcut olduğundan kararsızlıkla ilişkili bir durumun mevcut olmadığı saptanmıştır.

Propranolol HCl'ün kararlılığı ile ilgili olarak yapılmış bir çalışmada, propranolol HCl tabletlerden elde edilen 1 mg.mL^{-1} konsantrasyondaki süspansiyonlar 4 ay boyunca 25°C 'lik odada ve 2°C 'lik soğutucuda saklanmıştır (63). Bu çalışmada, örneklerdeki propranolol HCl konsantrasyonu YBSK ile 0., 30., 60., 90. ve 120. günlerde ölçülmüştür. Bu zamanlarda, ayrıca, örneklerin pH, mikrobiyal artış ve yeniden süspande olabilme özellikleri kontrol edilmiştir. Propranolol HCl konsantrasyonunun çalışma başındaki konsantrasyonun % 90'ı içinde kaldığı belirlenmiştir. Mikrobiyal artışta ve pH'da önemli bir değişme olmamıştır (63). Çalışmamızda hazırlanan propranolol bellekli mikroküreler katı partiküler şekilde olduğundan ve literatürde de sulu süspansiyon şeklindeki propranolol'ün kararlılığı belirlenmiş olduğundan, saklama koşullarına yönelik kararlılık çalışmaları yapılmamıştır.

Propranolol HCl'ün çalışma ortamlarındaki çözünürlük oranlarının saptanması için gerçekleştirilen çalışmalarda, adsorpsiyon ortamında (pH 6) ve distile suda çok kolay çözündüğü saptanmıştır (0.22 g.mL^{-1} ve 0.14 g.mL^{-1}) ve bu çözünürlük oranları literatür bilgileri ile uyumludur (4, 44, 45, 48). Ancak, desorpsiyon ortamında pratik olarak çözünmez olduğu belirlenmiştir ($3.07 \times 10^{-6} \text{ g.mL}^{-1}$) (64).

Propranolol HCl'ün piyasa tabletinde yapılan miktar tayini sonucunda, bir tabletteki ortalama propranolol HCl miktarının 33.84 ± 0.40 mg olduğu bulunmuştur (n=3). Bulunan değer, teorik miktar (40 mg) ile karşılaştırıldığında yüzde olarak literatürdeki sapma sınırları dışındadır (4, 5). Test edilen tabletler piyasadan hazır olarak satın alındığından ve bulunan değer sadece çözünme çalışmalarında % yığılmalı salınan miktarın hesaplanmasında kullanılacağından, konuyla ilgili başka araştırma yapılmamıştır.

4.2.2. Propranolol Bellekli Mikroküreye ait Değerlendirmeler

Propranolol HCl bellekli polimer, süspansiyon polimerizasyonu sonucu üretilmiştir. Süspansiyon polimerizasyonunda monomer stabilizör içeren bir dağıtma ortamında (genellikle tamponlanmış sulu faz) sıvı küreleri halinde dağıtılır. Polimerizasyon başlatıcısı monomer fazda çözünmüştür. Dağıtma mekanik karıştırma ile sağlanır. Uygun sıcaklık ve karıştırma programlarının uygulanmasıyla, sıvı monomer kürelerin herbiri kendi başına (bağımsız olarak) polimerleşir. Elde edilen ürün, küresel polimerik partiküllerdir. Bu polimerik kürelerin boyutu, başta karıştırma hızı olmak üzere polimerizasyon koşullarına bağlıdır. Süspansiyon polimerizasyonu ile, genellikle, $50 \mu\text{m}$ 'den daha büyük boyda, belli bir boy dağılımında polimerik mikroküreler üretilir. Bahsedilen yöntemle taze hazırlanan mikroküreler $28.334 \mu\text{m}$ 'lik (d. 0.5) boyut ve homojen dağılımlarıyla literatürle uyumludur (65). Desorpsiyon sonrası etkin maddenin uzaklaştırılması ve desorpsiyon ortamındaki sert koşullardan dolayı partikül boyutu küçülmüş ($14.795 \mu\text{m}$, d. 0.5), adsorpsiyon sonrası boyut maddenin yuvalarına bağlanması nedeniyle yeniden artmıştır ($18.941 \mu\text{m}$, d. 0.5) (Tablo 4.6.).

Yapılan bir çalışmada farklı yöntemlerle hazırlanmış propranolol HCl baskılı mikrokürelerin organik ve sulu solüsyonlardan yeniden bağlama (adsorpsiyon) kapasiteleri karşılaştırılmıştır (38). Organik çözeltilerde (toluen + % 0.5'lik asetik asit) yeniden bağlama yüzdeleri, çökeltme polimerizasyonunda % 50, süspansiyon polimerizasyonunda % 40, hacim polimerizasyonunda % 35, emülsiyon polimerizasyonunda % 15 ve iki basamaklı şişme polimerizasyonunda % 10 olarak bulunmuştur. Sulu çözeltilerde (25 mM sodyum sitrat + % 0.5'lik asetik asit + % 2'lik etanol, pH 4.6) yeniden bağlama yüzdeleri, iki basamaklı şişme

polimerizasyonunda (% 20), süspansiyon polimerizasyonunda (% 19), hacim polimerizasyonunda (% 19), emülsiyon polimerizasyonunda (% 15) ve çöktürme polimerizasyonunda çok daha küçüktür (38). Bu karşılaştırmadan da anlaşıldığı üzere süspansiyon polimerizasyonunda yeniden bağlama kapasitesi diğer yöntemlere göre oldukça yüksektir. Çalışmamızda, literatür bilgilerinde adsorpsiyon kapasitesi yüksek olarak vurgulanan süspansiyon polimerizasyonu yöntemi kullanılarak literatürü destekler sonuçlar bulunmuştur. İlk baskılama işlemlerinde, mikrokürelere yüklenebilen propranolol HCl miktarı % 76.5'ten yüksektir.

Benzer bir çalışmada, propranolol HCl baskılı polimerler, metakrilik asit monomer ve etilen glikol dimetakrilat çapraz bağlayıcı kullanılarak, toluen içerisinde 60°C'de 18 saatte hazırlanmıştır. Polimerizasyonun ardından, katı polimerler havan yardımıyla öğütülmüş ve 50 µm boyuta getirilmişlerdir. Partiküller daha sonra, metanol-asetik asit (3:1) karışımında üç kez yıkanmış ve son olarakta metanolde üç kez çöktürülmüşlerdir. YBSK'dan elde edilen sonuçlara göre, $\cong$ % 90 propranolol HCl desorbe edilmiştir (66). Bu çalışmada elde edilen % 76.5 değerinin analitik yöntem olarak YBSK gibi, UV spektrofotometriden çok daha hassas bir yöntem kullanıldığında artacağı açıktır.

Desorpsiyon sonrası mikroküre üzerinde yapılan adsorpsiyon çalışmalarında, ortam pH'sının, konsantrasyonun ve zamanın adsorpsiyon kapasitesine olan etkileri araştırılmıştır. Propranolol HCl'ün adsorpsiyon deneylerinde ortamın pH'sı 3-8 aralığında değiştirilmiş ve pH 6'da maksimum adsorpsiyon kapasitesine ulaşılmıştır. Bu pH değerinde adsorbe edilen propranolol HCl miktarı $45.84 \pm 0.35 \text{ mg.g}^{-1}$ olarak bulunmuştur. pH'nın adsorbsiyona etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, pH 6'nın üstünde baskılanmış polimer ile baskılanmamış referans polimer arasındaki en yüksek bağlama farklılığı gözlenmiştir (67). Bu bilgiler bulgumuzun literatürle uyumlu olduğunu göstermektedir.

Konsantrasyonun adsorbsiyon kapasitesine olan etkisinin araştırılması çalışmalarında, maksimum adsorpsiyonu sağlayan konsantrasyon 1500 mg.mL^{-1} 'de $213 \pm 7.34 \text{ mg.g}^{-1}$ propranolol HCl / polimer olarak bulunmuştur.

Adsorpsiyon denge süresinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada, Cu(II) baskılı mikroküreler hazırlanmış ve adsorpsiyon denge süresine 60 dakika içinde ulaşılmıştır (68). Bu çalışmada bulunan süre 30 dakikadır ve literatürle oldukça uyumludur. Adsorpsiyon denge zamanını gösteren profil incelendiğinde, daha ilk dakikalarda maksimum adsorpsiyonun gerçekleştiği 30 dak'ya çok yakın değerler gözlenmektedir (Şekil 4.5.). Bu profil dengeye çok hızlı ulaşıldığını göstermektedir.

Farmasötik amaçlar dışında, hazırladığımız sistemin ayırma ve analitik amaçlara hizmet vermesi için mikroküre üzerinde oluşturulan yuvaların propranolol'e seçici olup olmadığı araştırılmıştır. Bu anlamda seçiciliği incelemek için, propranolol HCl'e yapıcı benzer yapıda sotalol HCl ve propranolol HCl'ü birlikte içeren bir çözelti desorpsiyon sonrası mikroküre şekli ile muamele edilmiştir. Bu çalışmada, propranolol HCl'ün tamamına yakını adsorbe edilirken, sotalol HCl'ün adsorbe edilen miktarı çok düşük seviyede kalmıştır. Bu durum, hazırlanan sistemin propranolol bellekli olduğunu kanıtlamaktadır. Bilindiği üzere, kimyasalların saflaştırılması çok zahmetli ve pahalı işlemler içermektedir. Propranolol HCl firmadan rasemik halde gönderilmiş olmakla birlikte, propranolol'ün L şeklinin etkili olduğu düşünüldüğünde, büyük oranda bu şekli içerdiği söylenebilir. Sistemin yukarda bahsedilen türdeş madde varlığındaki seçiciliği, propranolol'ün hem D hem L formunun birlikte bulunduğu ortamda herhangi birine seçici olduğu tespit edildiğinde ise, kullanım alanı daha da genişleyebilecektir. Tüm bu nedenlerle, bundan sonraki çalışmalarda propranolol'ün D ve L formlarıyla çalışarak, sistemin bu açıdan değerlendirilmesi planlanmıştır.

Yapılan bir çalışmada, (S)-propranolol taşıyan MIP, kabarma ve termal polimerizasyon yöntemleri ile MAA fonksiyonel monomeri ve etilen glikol dimetakrilat çapraz bağlayıcısı kullanılarak hazırlanmıştır (54). (S)-propranolol'le baskılanmış MAA-EDMA maddesi, YBSK metodu kullanılarak değerlendirilmiş ve hazırlanan sistemin (S)-propranolol'e karşı özel tanımaya ve bazı β -adrenerjik antagonistlerle yapısal olarak ilişkili maddelere (özellikle pindolol ve alprenolol gibi) karşı orta derecede tanımaya sahip olduğu bulunmuştur. Ancak, diğer temel, nötral ve asidik bileşimleri tanımamaktadır (54).

Yapılan *in vitro* çalışmalarda, toz propranolol HCl, propranolol HCl piyasa tableti ve propranolol HCl bellekli mikrokürelerin salımları karşılaştırılmıştır. Propranolol HCl'ün çözünürlük tayinleri çalışmalarında en fazla çözündüğü ortam pH 6 olarak tespit edilmiş olup, *in vitro* çözünme çalışmaları distile suda gerçekleştirilmiştir. Bunun nedeni, maddenin her iki ortamdaki çözünürlük değerlerinin çok yakın ve UV spektrofotometrik davranışlarının benzer olmasıdır. Ayrıca, distile su, birçok literatür ve farmakopede biyolojik pH'ya benzerliği ile çözünme çalışmalarında çözünme ortamı olarak kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada, propranolol HCl'ün R ve S enantiomerleri farklı monomerlerle (metakrilik asit, N-akriloilalanin) ayrı ayrı baskılanmış ve çözünme çalışmaları pH 7.4 içinde 37°C'de USP 24'de tanımlı Apparatus II (palet) yöntemiyle gerçekleştirilmiştir (5). MAA monomeri kullanılarak hazırlanan baskılı polimerlerden propranolol HCl'ün % 80'i ilk 1 saat içinde, % 100'ü 4 saat içinde salınmıştır. N-akriloilalanin monomeri kullanılarak hazırlanan baskılı polimerlerden propranolol HCl'ün tamamı 3 saat içinde salınmıştır (17). Bu çalışmada da, propranolol HCl bellekli mikrokürelerden distile su ortamında, 37°C'de, USP 24'de tanımlı Apparatus IV (sürekli akış hücresi) yöntemiyle 3.5 saatte % 83 salınmıştır.

Elde edilen çözünme deney sonuçları bu amaç için yazılmış bir bilgisayar programı ile bilinen kinetik modellere uygulanmıştır (69). Akaike değerleri, belirtme katsayıları ve sapma kareleri toplamalarına göre yapılan kinetik incelemede, toz etkin madde ile mikrokürenin salım kinetikleri benzer olmakla birlikte, toz etkin maddedeki hızlı salım, mikrokürede ortadan kalkmıştır. Kontrollü salım sistemlerinde her ne kadar hedeflenen kinetik model 0. derece kinetik olsa da, bu kinetiğe uyum gösteren sistemleri hazırlamanın her zaman kolay olmadığı literatürlerde sıkça belirtilmektedir. Kontrollü salımın amaçlandığı bu tip ön çalışmalarda, etkin maddenin 3 saatte % 40 ile 65 arası, 6 saatte ise % 55 ile 80 arası salımı kabul edilmektedir (70). Bu çalışmada hazırlanan mikroküreler bu anlamda ele alındığında amacından uzaktır. Hazırlanan propranolol bellekli mikroküre ile kontrollü salım sistemine fazla yaklaşamamasının nedeni ilk zamanlarda gözlenen yavaş salımdır. Bir başka ifadeyle, son literatürlerdeki salım sonuçlarına göre kısa sürede gözlenen yüksek salım "burst effect" (patlama etkisi)

tanımı ile açıklanan durumun gerçekleşmemesidir (71). Organizmada, hızlı başlangıç etkisini sağlayabileceği düşünülerek yararlı görülen bu patlama etkisi, etkin maddenin kendisine seçici olan yuvadan yavaş salınması nedeniyle oluşmamıştır. Bu olumsuzluğa yönelik olarak, baskılanmış mikroküre üzerinde desorpsiyon ve adsorpsiyon işlemlerinin birden fazla tekrarlandığında daha iyi sonuçlar elde edilebileceği düşünülebilir.

Hazırladığımız mikroküreler hidrofobik karakterli olduğundan, hidrofilik taşıyıcılara göre sulu dissolüsyon ortamında oldukça karardır. Bu sonuç, farklı çalışmalarda da öne sürülmüştür (72). Bu nedenle, çözünme çalışmaları sonunda, kullanılan polimerin özelliğinden dolayı, mikrokürelerin ilk görünüşleri bozulmamış, değişmeden kalmıştır. Bu durum, etkin maddenin difüzyon mekanizması ile salındığını belirtmektedir. Literatürde de benzer sonuçlar verilmektedir (73).

Farmasötik değere sahip etkin maddelerin kontrollü salım sistemlerinin hazırlanmasında, çoğunlukla mikrosünger, mikropartikül ve nanopartikül gibi partiküler sistemler ile lipozom ve emülsiyon gibi veziküler sistemlerden birisi düşünülür (1). Son yıllarda, çalışmalarda yoğunluk kazanmış olan MIP sistemleri de, sudaki çözünürlüğü yüksek, molekül ağırlığı düşük etkin maddelerin kontrollü salımına yönelik olarak gelecek vaat eden taşıyıcı sistemler olmuştur. Mikrokürelerden çözünen % yığılmalı propranolol HCl miktarının % 84.5'te kalmasının çeşitli nedenleri düşünülmüştür. Bunlardan birincisi, sürekli akış hücresiyle çalışma koşullarındaki 8 mL.dak⁻¹'lık akış hızının maddenin tamamının desorpsiyonu için yeterli bir hız olmadığı, diğeri ise kullanılan analitik yöntemin yüksek tayin sınırıdır (54).

4.2.2.1. Propranolol Bellekli Mikrokürenin Karakterizasyonuna ait Değerlendirmeler

Baskılanmış polimerlerde, karakterizasyon değerlendirmeleri 3 aşamada tartışılabilir: 1) kimyasal karakterizasyon, 2) morfolojik karakterizasyon, 3) moleküler tanıma davranışlarının karakterizasyonu.

Baskılanmış polimerlerin çözünmeyen sert doğaları nedeniyle, çözelti durumlarıyla karakterizasyonlarını değerlendirmek zordur. Baskılı polimerlerin

katı örneklerinin, çeşitli yöntem ve analizlerle karakterizasyonlarının değerlendirilmesi daha elverişlidir.

Kimyasal karakterizasyon değerlendirmelerinde, elementel ve FTIR analizi kullanılabilir. Elementel analizin prensibi, örneklerdeki karbon, hidrojen, azot ve klor atomlarının yüzdelерinin ölçülmesine dayanmaktadır (74). Bu çalışmada yapılan elementel analiz çalışmalarında, desorpsiyon sonrası şeklin analizinde baskılı mikroküreye oranla ölçülen atom yüzdelерinde düşme; adsorpsiyon sonrası şeklin analizinde de, desorpsiyon şekline oranla artış gözlenmiştir. Bu sonuçlardan anlaşıldığı üzere, desorpsiyon çalışmalarında propranolol başarıyla yuvalardan sökülmüş ve adsorpsiyon çalışmalarında da tekrar geri yüklenmiştir.

Baskılı polimerlerin morfojik yapılarının incelenebilmesi için uygun analitik yöntemler mevcuttur. Örnek olarak, ışık mikroskobu ile polimerik mikrokürelerin yapısal bütünlüğü tespit edilebilirken, taramalı elektron mikroskobu ile makroporlar görüntülenebilir (74). Çalışmamızda baskılı polimerin morfolojisini incelemek için taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır. Görüntülerden anlaşıldığı üzere, desorpsiyon sonrası şekilde boş propranolol yuvaları ile, adsorpsiyon sonrası şekilde yüzeysel baskılama gözlenmektedir.

Propranolol HCl'ün erime derecelерindeki düşüşe göre 3 farklı kristal şekli mevcuttur. Modifikasyon II ticari olan üründür. Modifikasyon I ve III, Şekil II' nin farklı koşullarda eritilmesiyle elde edilir. Modifikasyon II oda sıcaklığında kararlı olan şekildir. Şekil II eridikten sonra Şekil I'e doğru dönüşüm eğilimi göstermektedir. Ancak, dönüşüm sıcaklığıyla erime sıcaklığı çok yakın olduğu için, DSC ve FTIR analizlerinde bunu takip etmek zordur (75). Şekil I ve II karışımında % 10'dan daha az Şekil I varlığında, dönüşüm sıcaklıkları birbirine çok yakın olduğu için Şekil I'i tespit etmek zordur, sadece erime sıcaklıklарında dikkate değer bir farklılık vardır (76).

Propranolol'ün metastabil kristal şekillerinin varlığının farmasötik anlamdaki önemi ve polimorfizmin etkin maddenin terapötik etkisi üzerindeki önemi belirtilmiştir (76). Bir başka çalışmada, R,S propranolol HCl'ün I ve II modifikasyonlarının fizikokimyasal özellikleri ve kristallenme koşulları

araştırılmıştır (76). IR spektroskopisi, X-ışını kırınım analizi, termal analiz, çözünürlük ve çözünme çalışmaları bu iki şeklin teşhis ve karakterizasyonu için kullanılabilir. Şekil I ve II'nin kararlılıkları 1 yıl boyunca oda sıcaklığında ve farklı sıcaklıklarda takip edilmiştir. Çalışmaların gösterdiği Şekil I'in, Şekil II'ye göre termodinamik olarak daha az kararlı ve daha çok çözünür olduğudur. Kristal yapı, tablet porozite ve dansitesini, dezentegrasyonun mekanizmasını, agregasyonu ve katı dozaj şekillerin plastik ve elastik özelliklerini etkileyebilir. Şekil I veya Şekil II'nin alkali bir yüzeyde eritilip oda sıcaklığına soğutulup tekrar 110°C'ye ısıtılmasıyla Şekil III elde edilir (76). Propranolol HCl'ün I ve II şekillerinin kararlılıkları öğütme koşullarına göre önemli derecede değişir. Her iki şekil de havanda 5 dakikaya kadar ve bilyalı değirmende 90 dakikaya kadar değişmeden kalır. Ancak, havanda şiddetli öğütmeyle 15 dakikada değişir ve amorfizasyonda artış olur (76).

Aslında, her 2 şekil de (Şekil I-II) fiziksel olarak kararlıdır ve oda sıcaklığında en az bir yıl kararlı olarak kalabilirler. Öğütmeyle, cm²'ye 10 ton basınçla ve 24 saat 140°C sıcaklıkta kristal şekillerinde değişme olmaz. Birbiri aralarındaki dönüşüm sadece erimeyle gerçekleşir (76).

Hem polimerin yüzeyine, hem de polimerin iç hacmine bağlanma yapılabilmektedir. Bununla beraber, polimerin yüzeyine olan bağlanmada başlıca taşıyıcının bioadhezyonuna, polimerin içine olan bağlanmada ise taşıyıcının hacim özelliklerine etkiye olmuştur. Fonksiyonel monomerler ve *template* molekülü arasındaki etkileşimler, non-kovalan veya kovalan bağlarla oluşturulmaktadır. Polimerizasyonun ardından, *template* molekülü ve fazla monomerin, sistemden ekstre edilmesi, kalan polimer-*template* molekülünün işlevi için tamamlayıcı bir işlemdir (11).

Sonuç olarak, bu çalışmada, propranolol bellekli mikroküreler, MAH-Co(II) fonksiyonel polimer ve EGDMA çapraz bağlayıcı olarak kullanılarak, dispersiyon polimerizasyonu yöntemi ile hazırlanmıştır. Hazırlanan mikrokürelerden propranolol'ün desorpsiyonu, % 40'lık metanollü potasyum hidroksit çözeltisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bellekli mikrokürelere propranolol'ün adsorpsiyonu için uygun pH ve derişim değerleri belirlendikten sonra, adsorpsiyon dengesine ulaşma süresi 30 dak

ve maksimum adsorpsiyon değeri 213 mg.g^{-1} hesaplanmıştır. Propranolol bellekli mikroküreler ile propranolol'le türdeş olan sotalol HCL'ün birlikte bulundukları ortamda yapılan adsorpsiyon çalışması sonucu, hazırlanan mikrokürelerin propranolol için seçici olduğu bulunmuştur. Ayrıca, MIP mikroküreleriyle elde edilen *in vitro* çözünme profili ile uzun süreli etki elde edilebileceği ve buna paralel olarak sık ilaç kullanımının ortadan kalkabileceği yönünde ümit verici sonuca ulaşılmıştır.

5. KAYNAKLAR

1. GÜRSOY, A.Z.(Editör), Kontrollü Salım Sistemleri, GÜRSOY, A.Z., *Kontrollü Salım Sistemlerinin Tıp Alanındaki Uygulamalarının Alışılmış İlaç Şekillerine Üstünlükleri*, 3-4, Elma Bilgisayar Basım ve Ambalaj. San. Tic. Ltd. Şti., İstanbul, (2002).
2. NAMDEO, A., JAIN, N.K., *Liquid Crystalline Pharmacogel Based Enhanced Transdermal Delivery of Propranolol Hydrochloride*, J. Contr. Release, **82**, 223-236, (2002).
3. EL-RIES, M.A., ABOU, ATTIA F.M., IBRAHİM, S.A., *AAS and Spectrophotometric Determination of Propranolol HCl and Metoprolol Tartrate*, J. Pharm. Biomed. Anal., **24**, 179-187, (2000).
4. British Pharmacopoeia 1, The Stationery Office, England, 5-11, (1998).
5. U.S. Pharmacopeia National Formulary, USP XXIV / NF XIX, p. 1428-1434, Mack Printing Company, Easton, USA, (2000).
6. PAALZOW, L.K., SJÄLANDER-BRYNNE, L., *Pharmacodynamic Aspects of Drug Administration. Tolerance Development*, Adv. Drug Del. Rev., **33**, 235-240, (1998).
7. KAYAALP, S.O., Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 1. Cilt, *Beta-Adrenerjik Reseptör Blokörleri*, 545-562, 9. Baskı, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara, (2000).
8. ZHAO, K., SINGH, J., *In Vitro Percutaneous Absorption Enhancement of Propranolol Hydrochloride Through Porcine Epidermis by Terpenes/Ethanol*, J. Contr. Release, **62**, 359-366, (1999).
9. Inderide, Propranolol Hydrochloride, Wyeth-Ayerst Company, Insert Pharma
http://www.wyeth-information.net/products/wpp_products/full_pharma_az.asp
10. Eds. AKGÜN, H., BALKAN, A., BİLGİN, A.A., ÇALIŞ, Ü., BALKARA, S., ERDOĞAN, H., EROL, D.D., ERTAN, M., ÖZKANLI, F., PALASKA, E., SARAÇ, S., ŞAFAK, C., *Farmasötik Kimya*, Cilt 1, A., BALKAN, *Adrenerjik Bloke Edici İlaçlar*, 464-481, Irmak Matbaası, Ankara, (2000).

11. BURES, P., HUANG, Y., ORAL, E., PEPPAS, N.A., *Surface Modifications and Molecular Imprinting of Polymers in Medical and Pharmaceutical Applications*, J. Contr. Release, **72**, 25-33, (2001).
12. Society for Molecular Imprinting-Molecular Imprinting Technology
<http://www.smi.tu-berlin.de/story/MIT.htm>
13. PILETSKY, S.A., ALCOCK, S., TURNER, A.P.F., *Molecular Imprinting: at The Edge of The Third Millennium*, Tren. Biotech., **19**(1), 9-12, (2001).
14. ALVAREZ-LORENZO, C., CONCHEIRO, A., *Molecularly Imprinted Polymers for Drug Delivery*, J. Chromatogr. B, **804**(1), 231-245, (2004).
15. WHITCOMBE, M.J., VULFSON, E.N., *Imprinted Polymers*, Adv. Mater., **13**(7), 467-478, (2001).
16. TADA, M., IWASAWA, Y., *Design of Molecular-Imprinting Metal-Complex Catalysts*, J. Molec. Catal. A: Chemical, **199**(1-2), 115-137, (2003).
17. SUEDEE, R., SRICHANA, T., MARTIN, G.P., *Evaluation of Matrices Containing Molecularly Imprinted Polymers in The Enantioselective-Controlled Delivery of β -Blockers*, J. Contr. Release, **66**, 135-147, (2000).
18. TAKEUCHI, T., HAGINAKA, J., *Seperation and Sensing based on Molecular Recognition Using Molecularly Imprinted Polymers*, J. Chromatogr., **728**, 1-20, (1999).
19. BYRNE, M.E., PARK, K., PEPPAS, N.A., *Molecular Imprinting within Hydrogels*, Adv. Drug Delivery, **54**, 149-161, (2002).
20. FAIRHURST, R., E., CHASSAING, C., VENN, R., F., MAYES, A., G., *A Direct Comparison of The Performance of Ground, Beaded and Silica-Grafted MIPs in HPLC and Turbulent Flow Chromatography Applications*, Biosensors and Bioelectronics, (Baskıda), (2004).
21. MOSBACH, K., HAUPT, K., *Some New Developments and Challenges in Noncovalent Molecular Imprinting Technology*, J. Molec. Recog., **11**, 62-68, (1998).
22. LLOYD, A.W., HUNTER, A.C., *Monitor: Progress and Profiles*, Pharmaceutical Science & Technology Today, **3**(6), 210-215, (2000).

23. BRÜGGEMANN, O., HAUPT, K., YE, L., YILMAZ, E., KLAUS, M., *New Configurations and Applications of Molecularly Imprinted Polymers*, J. Chromotogr., **889**, 15-24, (2000).
24. ALLENDER, C.J., RICHARDSON, C., WOODHOUSE, B., HEARD, C.M., BRAIN, K.R., *Pharmaceutical Applications for Molecularly Imprinted Polymers*, Int. J. Pharm., **195**, 39-43, (2000).
25. LAI, J., P., LU, X., Y., LU, C., Y., JU, H., F., HE, X., W., *Preparation and Evaluation of Molecularly Imprinted Polymeric Microspheres by Aqueous Suspension Polymerization for Use as a High-Performance Liquid Chromatography Stationary Phase*, Analy. Chimica Acta, **442**(1), 105-111, (2001).
26. *Molecular Imprinting*
<http://www.chem.unc.edu/faculty/gagnemr/mrggroup/molecular.html>
27. SVENSON, J., NICHOLLS, I.A., *On the Thermal and Chemical Stability of Molecularly Imprinted Polymers*, Analy. Chimica Acta, **435**(1), 19-24, (2001).
28. BATRA, D., SHEA, K.J., *Combinatorial Methods in Molecular Imprinting*, Curr. Opin. Chem., **7**(3), 434-442, (2003).
29. KUGIMIYA, A., KUWADA, Y., TAKEUCHI, T., *Preparation of Sterol-Imprinted Polymers with the use of 2-(Methacryloyloxy)ethyl Phosphate*, J. Chromatogr. A, **938**(1-2), 131-135, (2001).
30. SPIVAK, D.A., SHEA, K.J., *Investigation into the Scope and Limitations of Molecular Imprinting with DNA Molecules*, Analy. Chimica Acta, **435**(1), 65-74, (2001).
31. MERKOCI, A., ALEGRET, S., *New Materials for Electrochemical Sensing IV. Molecular Imprinted Polymers*, Tren. Analy. Che., **21**(11), 717-725, (2002).
32. YE, L., CORMACK, P.A.G., MOSBACH, K., *Molecular Imprinting on Microgel Spheres*, Analy. Chimica. Acta, **435**, 187-196, (2001).
33. KUGIMIYA, A., MATSUI, J., ABE, H., ABURATANI, M., TAKEUCHI, T., *Synthesis of Castasterone Selective Polymers Prepared by Molecular Imprinting*, Analy. Chimica Acta, **365**(1-3), 75-79, (1998).

34. HWANG, C.C., LEE, W.C., *Chromatographic Characteristics of Cholesterol-Imprinted Polymers Prepared by Covalent and Non-Covalent Imprinting Methods*, J. Chromatogr. A, **962**(1-2), 69-78, (2002).
35. ANDERSSON, L.I., *Molecular Imprinting for Drug Bioanalysis A Review on the Application of Imprinted Polymers to Solid-Phase Extraction and Binding Assay*, J. Chromatogr. B: Biomedical Sciences and Applications, **739**(1), 163-173, (2000).
36. ZHANG, L., CHENG, G., FU, C., *Synthesis and Characteristics of Tyrosine Imprinted Beads Via Suspension Polymerization*, Reac. Func. Poly., **56**(3), 167-173, (2003).
37. STRIKOVSKY, A., HRADIL, J., WULFF, G., *Catalytically Active, Molecularly Imprinted Polymers in Bead Form*, Reac. Func. Poly., **54**(1-3), 49-61, (2003).
38. PÉREZ-MORAL, N., MAYES, A.G., *Comparative Study of Imprinted Polymer Particles Prepared by Different Polymerisation Methods*, Analy. Chimica Acta, **504**(1), 15-21, (2004).
39. JOSHI, V., P., KULKARNI, M., G., MASHELKAR, R., A., *Enhancing Adsorptive Separations by Molecularly Imprinted Polymers: Role of Imprinting Techniques and System Parameters*, Chem. Eng. Sci., **55**(9), 1509-1522, (2000).
40. HIRATANI, H., ALVAREZ-LORENZO, C., *Timolol Uptake and Release by Imprinted Soft Contact Lenses Made of N,N-diethylacrylamide and Methacrylic Acid*, J. Contr. Release, **83**(2), 223-230, (2002).
41. The Merck Index, Eleventh Edition, Merc & CO. Inc., New Jersey, 7852, (1989).
42. KIŞLAL, Ö., ÇELEBİ, N., *Propranolol*, Farmasötik Bilimler Dergisi (FABAD), **19**(3), 129-137, (1994).
43. SIR BLACK, J., *The Role of the Basic Sciences in the History of Cardiovascular Pharmacology*, The Texas Heart Institute, **30**:3, (2003).
44. www.sigma-aldrich.com
45. European Pharmacopoeia, 4 th Edition, 1825-1826, Council of Europe Strasbourg, Fransa, 1825-1826, (2002).

46. PARIOT, N., EDWARDS-LÉVY, F., ANDRY, M., C., LÉVY, M., C., *Cross-linked β -Cyclodextrin Microcapsules. II. Retarding Effect On Drug Release Through Semi-Permeable Membranes*, Int. J. Pharm., **232**, 175-181, (2002).
47. Propranolol Hydrochloride
<http://www.merckbiosciences.co.uk/product/537075>
48. Martindale, The Extra Pharmacopoeia, 32 th Edition, p. 828-831, 937, London Royal Pharmaceutical Society, England, (1999).
49. EL-REIS, M.A., ABOU-SEKKINA, M.M., WASSEL, A.A., *Polarographic Determination of Propranolol in Pharmaceutical Formulation*, J. Pharm. Biomed. Anal., **30**, 837-842, (2002).
50. SALEM, H., *Spectrophotometric Determination of β -Adrenergic Blocking Agents in Pharmaceutical Formulations*, J. Pharm. Biomed. Anal., **29**, 527-538, (2002).
51. CAÑABATE DIAZ, B., CRUCES BLANCO, C., SEGURA CARRETORE, A., FERNÁNDEZ GUTIÉRREZ, A., *Simple Determination of Propranolol in Pharmaceutical Preparations by Heavy Atom Induced Room Temperature Phosphorescence*, J. Pharm. Biomed. Anal., **30**, 987-992, (2002).
52. TOWNSHEND, A., MURILLO PULGARIN, J.A., ALAÑÓN PARDO, M.T., *Flow Injection-Chemiluminescence Determination of Propranolol in Pharmaceutical Preparations*, Analy. Chimica. Acta, **488(1)**, 81-88, (2003).
53. WÓJCICKI, J., STERNA, R., SULZYC-BIELICKA, V., GAWRONSKA-SZKLARZ, B., DROZDZIK, M., MUSIAL, H., D., *Effects of Hypolipemic Therapy on the Pharmacokinetics of Propranolol*, Curr. Thera. Res., **60(1)**, 20-30, (1999).
54. HAGINAKA, J., SAKAI, Y., *Uniform-Sized Molecularly Imprinted Polymer Material for (S)-Propranolol*, J. Pharm. Biomed. Anal., **22**, 899-907, (2000).

55. STRUBELT, O., *Evaluation of Antidotes Against the Acute Cardiovascular Toxicity of Propranolol*, Institut für Toxikologie, Medizinische Hochschule Lübeck, D-2400, Lübeck, F.R.G., **31(3-4)**, 261-270, (1984).
56. BÖKESÖY, T., A., ÇAKICI, İ., MELLİ, M., Farmakoloji Ders Kitabı, PURALI, N., *Antiarritmik İlaçlar*, 426-436, Gazi Kitabevi Tic. Ltd. Şti., Ankara (2000).
57. Dideral® Tablet, Propranolol, Rx Media Pharma, Prof. Dr. Levent Üstünel, (2002), www.rxmediapharma.com
58. ÖNER, L., ŞUMNU, M., HINCAL, A.A. (Eds.), Biyoyararlanım ve Biyoeşdeğerlik Genel İlkeler, A. YEŞİLADA, "Biyoyararlanım ve Biyoeşdeğerlik Çalışmalarında Kullanılan Analitik Yöntemler ve Bu Yöntemlerin Validasyonu", 171-183, Şafak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, (1995).
59. HOMBREIRO-PEREZ, M., SIEPMANN, J., ZINUTTI, C., LAMPRECHT, A., UBRICH, N., HOFFMAN, M., BODMEIER, R., MAINCENT, P., *Non-Degradable Microparticles Containing a Hydrophilic and/or a Lipophilic Drug : Preparation, Characterization and Drug Release Modeling*, J. Contr. Release, **88**, 413-428, (2003).
60. Propranolol HCl
<http://www.pharmazie.uni-wuerzburg.de/AKBaumann/arzneistoffanalytik/drugdata/Propranolol-HCl.html>
61. The International Pharmacopoeia 3 th Edition, Volume 2, World Health Organization, Geneva, Presses Centrales, Switzerland, 240-241, (1981).
62. YURTSEVER, F., *Kafein İçeren Karışımlarda Bileşenlerin Spektrofotometrik Yöntemlerle Miktar Tayinleri ve Bu Yöntemlerin Farmasötik Preparatlara Uygulanması*, Doktora Tezi, 30-31, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (1997).
63. HENRY, D.W., REPTA, A.J., SMITH F.M., WHITE, S.J., *Stability of Propranolol Hydrochloride Suspension Compounded from Tablets*, Am. J. Hosp.Pharm., **43(6)**, 1492-1495, (1986).

64. ERGENÇ, N., GÜRSOY, A., ATEŞ, Ö., İlaçların Tanınması ve Kantitatif Tayini, İstanbul Üniv. Yayınları No. 3185, Eczacılık Fak. No. 38, 12, Oğul Matbaacılık, İstanbul, (1984).
65. BİRLİK, E., *Eser Miktarındaki Metallerin Moleküler Baskılı Polimerler Kullanılarak Deriştirilmesi ve Alev Atomik Absorpsiyonu Spektroskopisi ile Analizi*, Doktora Tezi, Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, (2003).
66. MARTIN, P., WILSON, I.D., JONES, G.R., *Optimisation of Procedures for The Extraction of Structural Analogues of Propranolol with Molecular Imprinted Polymers for Sample Preparation*, J. Chromatogr., **889**, 143-147, (2000).
67. CHEN, W.Y., CHEN, C.S., LIN, F.Y., *Molecular Recognition in Imprinted Polymers: Thermodynamic Investigation of Analyte Binding Using Microcalorimetry*, J. Chromatogr. A, **923(1-2)**, 1-6, (2001).
68. SAY, R., BİRLİK, E., ERSÖZ, A., YILMAZ, F., GEDİKBAY, T., DENİZLİ, A., *Preconcentration of Copper on Ion-Selective Imprinted Polymer Microbeads*, Anal. Chimica Acta, **480(2)**, 251-258, (2003).
69. AĞABEYOĞLU, İ., *Sürekli Etki Çözünme Kinetiğine Yeni Bir Denklem ve Kinetik Hesapları için Bir Bilgisayar Programı*, Tebliğ, Ulusal Eczacılık Kongresi, İstanbul, Ekim, (1981).
70. ŞENEL, S., ÇAPAN, Y., DALKARA, T., İNANÇ, N., HINCAL, A., A., *Formulation, Bioavailability and Pharmacokinetics of Sustained-Release Potassium Chloride Tablets*, Pharm. Res., **8(10)**, 1313-1317, (1991).
71. PRIETO, M., J., B., FATTAL, E., GULIK, A., BEDIEV, J., C., ROQUES, B., P., COUVREUR, P., *Characterization and Morphological Analysis of a Cholecystokinin Derivative Peptide-Loaded Poly (Lactide-Co. Glycolide) Microspheres Prepared by a Water-in-Oil-in-Water Emulsion Solvent Evaporation Method*, J. Controlled Rel., **43**, 81-87, (1997).
72. OCAK, Ö., H., *Bleomisinin Manyetik Albumin Mikroküreleri ile Hedeflendirilmesi*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (1992).

73. BARTHÉLÉNY, P., FARAH, N., LAFORET, J., P., *A New Wax Matrix Excipient for Sustained Release Formulations in Tablet as Capsules*, Gattefossé, 2-9, (1995).
74. CORMACK, P., A., G., ELORZA, A., Z., *Molecularly Imprinted Polymers: Synthesis and Characterisation*, J. Chromatogr. B, **804(1)**, 173-182, (2004).
75. BARTOLOMEI, M., BERTOCCHI, P., RAMUSINO, M.C., SIGNORETTI, E.C., *Thermal Studies on the Polymorphic Modifications of (R,S) Propranolol Hydrochloride*, Thermo. Acta, **321(1-2)**, 43-52, (1998).
76. BARTOLOMEI, M., BERTOCCHI, P., RAMUSINO, M.C., SANTUCCI, N., VALVO, L., *Physico-Chemical Characterisation of The Modifications I and II of (R,S) Propranolol Hydrochloride : Solubility and Dissolution Studies*, J. Pharm. Biomed. Anal., **21**, 299-309, (1999).