

Y. Jap

FABAD
JOURNAL of
PHARMACEUTICAL
SCIENCES

ISSN 1300-4182
www.fabad.org.tr

An Official Journal of The Society of Pharmaceutical Sciences of Ankara (FABAD)



FABAD Farmasötik Bilimler Dergisi
Farmasötik Bilimler Ankara Derneği (FABAD) Yayın Organı

Cilt: 27 Sayı: 2 Haziran 2002

Sahibi ve Yazı İşleri Müdürü
Filiz ÖNER (Hacettepe Üniversitesi)

Editör
Sema ÇALIŞ (Hacettepe Üniversitesi)

Editör Yardımcıları
Selma SARAÇ (Hacettepe Üniversitesi)
İ. Tayfun UZBAY (Gülhane Askeri Tıp Akademisi)

Yayın Kurulu

Nevin ÇELEBİ	(Gazi Üniversitesi)
Tülay ÇOBAN	(Ankara Üniversitesi)
Bilge GÖNÜL	(Gazi Üniversitesi)
Michael GROVES	(Illinois Üniversitesi, ABD)
Menemşe K. GÜMÜŞDERELİOĞLU	(Hacettepe Üniversitesi)
Jonathan HADGRAFT	(Greenwich Üniversitesi, İngiltere)
Robert C. HIDER	(Londra King's College Üniversitesi, İngiltere)
Jean-Michel KAUFFMANN	(Libre Üniversitesi, Belçika)
Ian KELLAWAY	(Londra Üniversitesi, İngiltere)
Gülgün KILCIGİL	(Ankara Üniversitesi)
Mamed MUSTAFAEV	(TÜBİTAK, Gebze)
Filiz ÖNER	(Hacettepe Üniversitesi)
Nuran ÖZALTIN	(Hacettepe Üniversitesi)
Nurten ÖZDEMİR	(Ankara Üniversitesi)
Sibel A. ÖZKAN	(Ankara Üniversitesi)
Can PEKİNER	(Hacettepe Üniversitesi)
Gilles PONCHEL	(Güney Paris Üniversitesi, Fransa)
Tom SAM	(Akzo-Organon İlaç, Hollanda)
İclal SARAÇOĞLU	(Hacettepe Üniversitesi)
Sevgi ŞAR	(Ankara Üniversitesi)
Murat ŞUMNU	(Hacettepe Üniversitesi)
Gülberk UÇAR	(Hacettepe Üniversitesi)
Nurşen ÜNLÜ	(Hacettepe Üniversitesi)
Erdem YEŞİLADA	(Gazi Üniversitesi)
Sulhiye YILDIZ	(Ankara Üniversitesi)
Selma YÖRÜKAN (Yabancı Dil Editörü)	(Hacettepe Üniversitesi)

Yayın koşulları: Bu dergide yayınlanacak yazılarda arka kapak içinde belirtilen hususlara uygunluk ve bilimsel danışmanlar tarafından yayınlanabilir nitelikte bulunma özelliği aranır. Yayımlanan yazıların sorumluluğu yazarlarına aittir. Bu dergi FABAD üyelerine dağıtılır. Üye olmayanlar bağış karşılığı sağlayabilirler.

Bu dergi Chemical Abstracts, Analytical Abstracts, International Pharmaceutical Abstracts, Excerpta Medica (EMBASE) ve Türk Med'de indekslenmektedir.

Banka Hesap No: Türkiye İş Bankası, Gazi Mahallesi Şubesi, Farmasötik Bilimler Ankara Derneği Hesap No: 4286 304400 201434
Posta Çeki Hesap No: 100 70 34

Derneğin Yazışma Adresi: Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Teknolojisi Bölümü, Sıhhiye-06100
Ankara. Tel: (312) 305 23 42, (312) 310 15 24 Fax: (312) 305 23 42 e-posta: lfoner@tr.net

Makaleler: Editör, Sema Çalış, Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Teknolojisi Bölümü, Sıhhiye-06100
Ankara adresine yollanmalıdır. Tel: (312) 305 12 41, (312) 310 15 24 Fax: (312) 311 47 77, (312) 305 23 42 e-posta: socalis@tr.net

Dizgi, Baskı, Cilt : ŞAFAK Matbaacılık Bas. Yay. San. Tic. Ltd. Şti., Tel: (312) 229 57 84



The Society of Pharmaceutical Sciences of Ankara (FABAD)
FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences

Volume: 27 Issue: 2 June 2002

Publisher

Filiz ÖNER (University of Hacettepe, Turkey)

Editor-in-Chief

Sema ÇALIŞ (University of Hacettepe, Turkey)

Associate Editors

Selma SARAÇ (University of Hacettepe, Turkey)

İ. Tayfun UZBAY (Gülhane Military Medical Academy, Turkey)

Editorial Board

Nevin ÇELEBİ	(Gazi University, Ankara, Turkey)
Tülay ÇOBAN	(Ankara University, Ankara, Turkey)
Bilge GÖNÜL	(Gazi University, Ankara, Turkey)
Michael GROVES	(University of Illinois at Chicago, USA)
Menemşe K. GÜMÜŞDERELİOĞLU	(Hacettepe University, Ankara, Turkey)
Jonathan HADGRAFT	(University of Greenwich, London, UK)
Robert C. HIDER	(University of London King's College, London, UK)
Jean-Michel KAUFFMANN	(Libre University of Brussels, Belgium)
Ian KELLAWAY	(University of London, London, UK)
Gülgün KILCIGİL	(Ankara University, Ankara, Turkey)
Mamed MUSTAFAEV	(TÜBİTAK, Marmara Research Center, Turkey)
Filiz ÖNER	(Hacettepe University, Ankara, Turkey)
Nuran ÖZALTIN	(Hacettepe University, Ankara, Turkey)
Nurten ÖZDEMİR	(Ankara University, Ankara, Turkey)
Sibel A. ÖZKAN	(Ankara University, Ankara, Turkey)
Can PEKİNER	(Hacettepe University, Ankara, Turkey)
Gilles PONCHEL	(University of Paris-Sud, France)
Tom SAM	(Akzo-Organon, Netherlands)
İclal SARAÇOĞLU	(Hacettepe University, Ankara, Turkey)
Sevgi ŞAR	(Ankara University, Ankara, Turkey)
Murat ŞUMNU	(Hacettepe University, Ankara, Turkey)
Gülberk UÇAR	(Hacettepe University, Ankara, Turkey)
Nurşen ÜNLÜ	(Hacettepe University, Ankara, Turkey)
Erdem YEŞİLADA	(Gazi University, Ankara, Turkey)
Sulhiye YILDIZ	(Ankara University, Ankara, Turkey)
Selma YÖRÜKAN (Language Editor)	(Hacettepe University, Ankara, Turkey)

The FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences is published quarterly by the
Society of Pharmaceutical Sciences of Ankara (FABAD)

All expressions of opinion and statements of supposed facts appearing in articles and/or advertisements carried in this journal are published on the responsibility of the author and/or advertiser, and are not to be regarded those of the Society of Pharmaceutical Sciences of Ankara. The manuscript submitted to the Journal has the requirement of not being published previously and has not been submitted elsewhere. Manuscripts should be prepared in accordance with the requirements specified as in the back cover. The submission of the manuscript to the Journal is not a condition for acceptance; articles are accepted or rejected on merit alone. The Journal is distributed to the members only.

Non-members can obtain the journal by a donation to FABAD.

The FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences is indexed in Chemical Abstracts,
Analytical Abstracts, International Pharmaceutical Abstracts, Excerpta Medica (EMBASE) and Turk Med.

All manuscripts and editorial correspondence should be send to Sema Çalış, Editor, FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences, Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Sıhhiye-06100 Ankara, Turkey. Tel: +90 (312) 305 12 41, +90 (312) 310 15 24 Fax: +90 (312) 311 47 77, +90 (312) 305 23 42 e-mail: s.calis@tr.net

The payment of donation has to be sent to the Bank Account Number given below:
Türkiye İş Bankası, Gazi Mahallesi Şubesi, Ankara, Account number: 4286 304400 201434

İÇİNDEKİLER/CONTENTS

Bilimsel Araştırmalar / Research Articles

- 65 Studies on New 2-Thioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines and Their Condensed Derivatives
Yeni 2-Tiyokso-1,2,3,4-tetrahidropirimidinler ve Kondanse Türevleri Üzerinde Çalışmalar
Mine YARIM, Birsen TOZKOPARAN, Selma SARAÇ, Mevlüt ERTAN,
Berrin ÖZÇELİK, Ufuk ABBASOĞLU
- 77 Comparison of the Protective Effects of Lansoprazole and Omeprazole Against Acetyl Salicylic Acid-Induced Gastric Damage in Rats
Sıçanlarda Asetil Salisilik Asit (ASA) ile Oluşturulan Gastrik Hasara Karşı Lansoprazol ve Omeprazolün Koruyucu Etkilerinin Karşılaştırılması
Göksel ŞENER, Kübra PASKALOĞLU, Gülli ESER, F. Gül AYANOĞLU-DÜLGER
- 85 Evaluation of Antimicrobial Activities of Some Dioxolane Derivatives
Bazı Dioksolan Türevlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Değerlendirilmesi
Ahu GÜNEY, Fügen ÖZKANLI, Ünsal ÇALIŞ, Meral ÖZALP

Bilimsel Taramalar / Scientific Reviews

- 89 *Beyin Tümörlerinin Tedavisinde İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Uygulanması*
Application of the Drug Delivery Systems for the Treatment of the Brain Tumors
Sibel BOZDAĞ, İmran VURAL, Yılmaz ÇAPAN, Turgay DALKARA
- 105 *Vücuttaki İlaç Dağılımı ve Eliminasyonu Üzerine Eritrositlerin Etkisi*
Effect of Erythrocytes on Drug Distribution and Elimination within the Body
Selma ŞAHİN, Emel Öykü ÇETİN
- 117 *Kolona Özgü İlaç Taşıyıcı Sistemler*
Colon-Specific Delivery Systems
Fatmanur TUĞCU-DEMİRÖZ, Füsun ACARTÜRK
- 135 Announcements / Duyurular

Studies on New 2-Thioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines and Their Condensed Derivatives

Mine YARIM*, Birsen TOZKOPARAN*, Selma SARAÇ*, Mevlüt ERTAN*^o,
Berrin ÖZÇELİK**, Ufuk ABBASOĞLU**

Studies on New 2-Thioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines and Their Condensed Derivatives

Summary : In this study, the synthesis of some new 2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines and their condensed derivatives thiazolo[3,2-a]pyrimidines has been reported. The structures of the compounds were characterized by spectroscopic methods. The racemic compounds were resolved into their enantiomers analytically by HPLC on cellulose tris-(3,5-dimethylphenylcarbamate) (OD) chiral stationary phase. Antimicrobial activities of the compounds against some bacteria and yeast-like fungi were investigated using the microdilution method. The antibacterial activity of the compounds was better than their antifungal activity. Compound 10b was found to be more effective against *E.coli* compared with the other derivatives (MIC: 31.25 µg/ml).

Key Words: 1,2,3,4-Tetrahydropyrimidine-2-thiones; thiazolo[3,2-a]pyrimidines; synthesis; enantioseparation; antimicrobial activity

Received : 14.12.2001

Revised : 18.2.2002

Accepted : 23.5.2002

Yeni 2-Tiyokso-1,2,3,4-tetrahidropirimidinler ve Kondanse Türevleri Üzerinde Çalışmalar

Özet : Bu çalışmada, bazı yeni 2-tiyokso-1,2,3,4-tetrahidropirimidinler ile bunların kondanse türevleri olan tiyazolo[3,2-a]pirimidinlerin sentezi yapılarak, spektroskopik yöntemlerle yapıları aydınlatılmıştır. Rasemat halindeki bileşikler selüloz tris(3,5-dimetilfenilkarbamat) (OD) kiral stasyonier faz kullanılarak HPLC ile analitik olarak enansiyomerlerine ayrılmıştır. Bileşiklerin bazı bakteri ve maya benzeri funguslara karşı antimikrobiyal aktiviteleri mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak incelenmiş ve bazı bileşiklerin antibakteriyel aktivitelerinin antifungal aktivitelerine göre daha iyi olduğu görülmüştür. Bileşik 10b *E. coli*'ye karşı diğer bileşiklerden daha etkili bulunmuştur (MİK: 31.25 µg/ml).

Anahtar kelimeler : 1,2,3,4-Tetrahidropirimidin-2-tiyonlar; tiyazolo[3,2-a]pirimidinler; sentez; enansiyomer ayırımı; antimikrobiyal aktivite

1. INTRODUCTION

1,2,3,4-Tetrahydropyrimidine-2-thione derivatives known as Biginelli compounds are convenient starting materials for the synthesis of condensed pyrimidines¹. It has been reported that condensed pyrimidines possess a variety of biological activities such as calcium antagonist²⁻¹², antiinflammatory¹³⁻¹⁷, analgesic¹⁸, antitumor^{19,20}, antidepressant²¹, and antimicrobial activities²²⁻²⁴. Salama and co-workers^{25,26} prepared 5-aryl-2-benzylidene-7-styryl-2,3-dihydro-(5H)-thiazolo[3,2-a]pyrimidine-3-one (I) and 2-benzylidene-5,7-diaryl-2,3-dihydro-(5H)-thiazolo[3,2-

a]pyrimidine-3-one (II) derivatives and tested them for bactericidal and antifungal activities. In view of these facts and as a continuation of previous efforts carried out in our laboratory²⁷, new thiazolo[3,2-a]pyrimidine derivatives (1a-6b) have been synthesized starting from 1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-2-thiones (1-6) obtained according to the Biginelli reaction²⁸. All compounds were screened for their antibacterial and antifungal activities.

Furthermore, we extended our studies to the antimicrobial activity of 1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-2-thiones and their condensed derivatives, and twelve

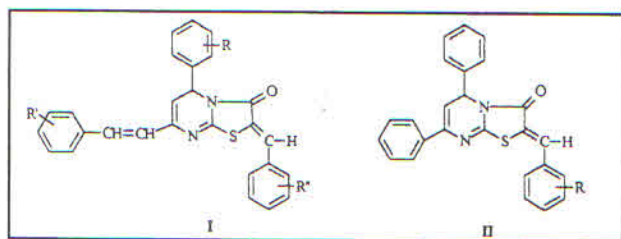
* Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, 06100, Ankara TURKEY.

** Gazi University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Microbiology, Ankara TURKEY.

^o Correspondence

additional compounds with similar structure (7-10, 7a-10b), reported previously²⁷, were also investigated for their antibacterial and antifungal activities.

Since compounds 1-6 and 1a-6b were obtained as racemates, we also examined the analytical HPLC resolution of enantiomers on phenylcarbamate derivative of cellulose using organic eluents.



2. MATERIALS and METHODS

2.1. Chemistry

Melting points were estimated with a Thomas Hoover capillary melting point apparatus and are reported uncorrected. IR spectra (KBr) were measured on a Perkin Elmer FT-IR spectrometer 1720X. ¹H-NMR spectra were obtained on a Bruker 200 MHz FT NMR instrument using CDCl₃/DMSO-d₆ and tetramethylsilane as internal standard. All chemical shift values were recorded as δ (ppm). Mass spectra were taken with on a VG analytical 70-250S mass spectrometer with electron ionisation (EI). The purity of the compounds was checked by thin layer chromatography (Merck, silica gel, HF₂₅₄₋₃₆₁, Type 60, 0.25 mm). The elementary analyses of the compounds were performed on a Leco CHNS 932 analyzer at the Scientific and Technical Research Council of Turkey, Instrumental Analysis Laboratory (Ankara).

Synthesis of methyl 6-ethyl-4-(substituted phenyl)-2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylates (1-6)

A mixture of 0.0375 mol methyl 3-oxopentanoate, 0.025 mol thiourea, 0.025 mol substituted benzaldehyde and 20 ml of absol. ethanol, containing eight drops of concentrated HCl as catalyst was re-

fluxed for an appropriate period. After completion of the reaction (TLC), the reaction mixture was stored at 4°C overnight. The precipitate was filtered and recrystallized from ethanol to give compounds 1-6.

Synthesis of methyl 2-benzylidene-7-ethyl-3-oxo-5-phenyl-2,3-dihydro-5H-thiazolo-[3,2-a]pyrimidine-6-carboxylates (1a-6b)

A mixture of 1.5 mmol of 1-6, 1.5 mmol of chloroacetic acid, 1.5 mmol of benzaldehyde or 4-chloro benzaldehyde, 1.5 mmol of anhydrous sodium acetate, 3 ml of acetic anhydride and 2.5 ml of acetic acid was refluxed for 3 hrs. The mixture was poured into ice-water. The precipitate was separated and dissolved in dichloromethane. The organic layer was washed using 6 % NaHCO₃ and brine, then evaporated under reduced pressure. The crude product was recrystallized from ethanol.

Melting points, yields and formula of the compounds synthesized are shown in Table 1.

2.2. HPLC experiments

The HPLC analysis was performed at room temperature with a Spectra SYSTEM P1500 Pump, a Rheodyne injector with a 20 µl loop, a Spectra SYSTEM UV1000 variable wavelength UV detector set at 320 nm, a Hewlett Packard HP 670C integrator and IBM PC computer using PC 1000 system software. The chiral stationary phases used for the direct analysis was OD [cellulose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate)] coated on silica gel (25x0.46 cm ID). This column material was synthesized and packed in our laboratory as described previously²⁹. The separation was achieved with n-hexane:ethanol (85:15 v/v) as the mobile phase. The flow rate was set at 0.5 ml/min. Toluene was used as a non-retained compound to estimate the dead time (t₀) of the chiral column.

Chromatographic characteristics

The separation factor (α), which represents a measure of relative peak separation is expressed as follows:

$\alpha = k_2/k_1$ where k_1 and k_2 are capacity factors for the first and second eluting enantiomers, respectively.

The stereochemical resolution factor (R_s) of the first and second eluting enantiomer peaks is calculated by the ratio of the distance between the retention times (t_1 and t_2) and arithmetic mean of two peak widths [$R_s = 2(t_2 - t_1) / (w_1 + w_2)$]. The number of theoretical plates (N) was calculated as $N = 16 (t_R/w)^2$.

2.3. Microbiology

The microdilution method was employed for antibacterial and antifungal activity tests^{30,31}. The compounds were tested against one gram-positive (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) and one gram-negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 35218) and four yeast-like fungi (*Candida albicans* ATCC 10231, *Candida tropicalis* ATCC 13803, *Candida krusei* ATCC 14243, *Candida glabrata* ATCC 66032). The microorganisms used in this study were obtained from Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Clinical Microbiology. The cultures were obtained in Mueller Hinton Broth for all the bacteria after 18-24 h incubation at 37°C.

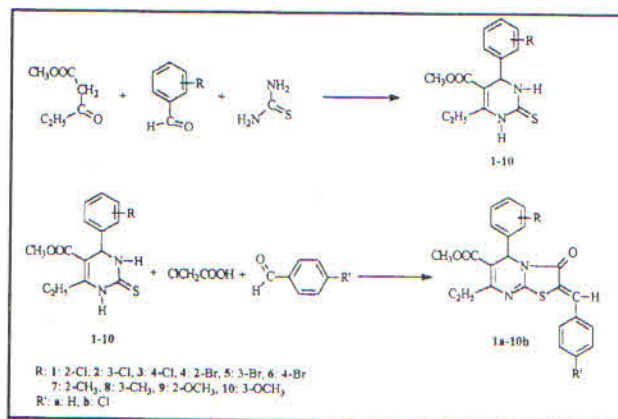
Mueller Hinton Broth (Oxoid) liquid nutrient medium and Sabouraud liquid medium (Oxoid) were used for dilution of microorganism suspensions and two-fold dilution of the compounds, for antibacterial and antifungal activity tests, respectively. Falcon^R 96-well microplates were used for the microdilution method. A Brinkmann transferpette^R was used for two-fold dilution of the compounds in the wells.

100 μ l of Sabouraud liquid medium or Mueller Hinton medium was placed into each well of microplates. 100 μ l of compound solution in DMSO (Merck) at 1000 μ g/ml concentration was added into the first rows of microplates. Ampicillin trihydrate and fluconazole were used as references under the same conditions. Double dilutions of the compounds and standards (500, 250, ... 3.9 μ g/ml) were made by dispensing the solutions to the remaining wells. 100 μ l of microorganism suspensions, at 10^6 cfu/ml (colony forming unit/ml) concentration, were inoculated into

all the wells. The sealed microplates were incubated at 36°C for 24 and 36 hours in the humid chamber. The lowest concentration of the compound that completely inhibits macroscopic growth was controlled and reported as minimum inhibitory concentration (MIC). DMSO-microorganism mixtures, microorganisms suspension and pure mediums were used as control wells. There was no inhibitory activity in the wells containing DMSO.

3. RESULTS and DISCUSSION

The synthetic route to the 2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines (1-6) and their condensed derivatives, thiazolo[3,2-a]pyrimidines (1a-6b) is described in Scheme 1. Compounds 1-6, as the starting materials, were prepared by refluxing thiourea with methyl 3-oxopentanoate and substituted benzaldehydes in ethanol according to the Biginelli reaction²⁸. The reaction of corresponding Biginelli compounds 1-6 with chloroacetic acid and aromatic aldehydes in the presence of sodium acetate, acetic acid and acetic anhydride in one step afforded 2-benzylidene-7-ethyl-3-oxo-5-(substituted phenyl)-2,3-dihydro-5H-thiazolo[3,2-a]pyrimidine-6-carboxylic acid methyl esters (1a-6b).



Scheme 1. Synthesis of the compounds 1-10 and 1a-10b.

All the compounds were purified by recrystallization and their structures were confirmed by IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, mass spectroscopy and elementary analysis (Tables 1-3). In the IR spectra, compounds 1-6

showed strong absorption bands at 3320-3166 cm^{-1} (N-H), 1701-1662 cm^{-1} (C=O) and 1199-1182 cm^{-1} (C=S), respectively. The $^1\text{H-NMR}$ spectra of these compounds exhibited a doublet at about 5.13-5.60 ppm assigned to the H-4 proton of the tetra-

hydropyrimidine ring. The signals of the other protons appeared at the expected chemical shifts and integral values. The $^{13}\text{C-NMR}$ spectra of compound 2 showed characteristic signals at 51.09 (C4), 165.02 (C=O) and 174.74 ppm (C=S).

Table 1. Empirical formula, yield (%), melting point and elementary analysis of the compounds.

Compound No.	R	R'	Empirical formula	Yield %	M.p. (C°)	Elementary Analysis	
						Calc.(%)	Found (%)
1	2-Cl	-	$\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}$	19.82	198-9	C: 54.10 H: 4.86 N: 9.01	C: 53.90 H: 4.95 N: 8.71
2	3-Cl	-	$\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}$	35.52	183-4	C: 54.10 H: 4.86 N: 9.01	C: 53.88 H: 4.50 N: 8.66
3	4-Cl	-	$\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}$	27.78	166-7	C: 54.10 H: 4.86 N: 9.01	C: 53.95 H: 4.55 N: 8.97
4	2-Br	-	$\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{BrN}_2\text{O}_2\text{S}$	35.59	201-2	C: 47.33 H: 4.26 N: 7.89	C: 47.25 H: 3.88 N: 7.67
5	3-Br	-	$\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{BrN}_2\text{O}_2\text{S}$	22.07	195-6	C: 47.33 H: 4.26 N: 7.89	C: 47.14 H: 3.92 N: 7.65
6	4-Br	-	$\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{BrN}_2\text{O}_2\text{S}$	32.65	174-5	C: 47.33 H: 4.26 N: 7.89	C: 47.05 H: 3.80 N: 7.72
1a	2-Cl	H	$\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$	52.43	198-9	C: 62.94 H: 4.36 N: 6.38	C: 62.63 H: 4.11 N: 5.87
1b	2-Cl	4-Cl	$\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$	43.66	205-6	C: 58.36 H: 3.83 N: 5.92	C: 58.15 H: 3.97 N: 5.76
2a	3-Cl	H	$\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$	39.51	164-5	C: 62.94 H: 4.36 N: 6.38	C: 62.54 H: 4.06 N: 6.40

2b	3-Cl	4-Cl	$C_{23}H_{18}Cl_2N_2O_3S$	47.89	160-1	C: 58.36 H: 3.83 N: 5.92	C: 58.07 H: 3.48 N: 5.84
3a	4-Cl	H	$C_{23}H_{19}ClN_2O_3S$	27.11	165-6	C: 62.94 H: 4.36 N: 6.38	C: 63.09 H: 4.64 N: 6.23
3b	4-Cl	4-Cl	$C_{23}H_{18}Cl_2N_2O_3S$	22.82	151-2	C: 58.36 H: 3.83 N: 5.92	C: 58.16 H: 3.70 N: 5.92
4a	2-Br	H	$C_{23}H_{19}BrN_2O_3S$	44.11	170-1	C: 57.15 H: 3.96 N: 5.80	C: 56.81 H: 4.24 N: 5.69
4b	2-Br	4-Cl	$C_{23}H_{18}BrClN_2O_3S$	45.06	202-3	C: 53.35 H: 3.50 N: 5.41	C: 53.51 H: 3.73 N: 5.60
5a	3-Br	H	$C_{23}H_{19}BrN_2O_3S$	39.45	172-3	C: 57.15 H: 3.96 N: 5.80	C: 56.75 H: 3.47 N: 5.71
5b	3-Br	4-Cl	$C_{23}H_{18}BrClN_2O_3S$	50.19	174-5	C: 53.35 H: 3.50 N: 5.41	C: 52.91 H: 3.21 N: 5.38
6a	4-Br	H	$C_{23}H_{19}BrN_2O_3S$	33.10	166-7	C: 57.15 H: 3.96 N: 5.80	C: 56.98 H: 4.14 N: 5.70
6b	4-Br	4-Cl	$C_{23}H_{18}BrClN_2O_3S$	42.49	163-4	C: 53.35 H: 3.50 N: 5.41	C: 53.15 H: 3.34 N: 5.63

Table 2: IR and 1H -NMR spectral data of the compounds.

Compound No.	IR (KBr) ν (cm^{-1})	1H -NMR δ ppm
1	3166 (N-H) 1698 (C=O) 1182 (C=S)	(DMSO- d_6) 1.10 (3H, t, CH_3 -), 2.80 (2H, q, $-CH_2-$) 3.45 (3H, s, CH_3O -), 5.60 (1H, d, J: 3.11 Hz, H-4), 7.20-7.45 (m, 4H, arom. H), 9.50 (1H, s, N_3 -H), 10.35 (1H, s, N_1 -H)
2	3313 (N-H) 1663 (C=O) 1199 (C=S)	(DMSO- d_6) 1.10 (3H, t, CH_3 -), 2.70 (2H, q, $-CH_2-$) 3.50 (3H, s, CH_3O -), 5.15 (1H, d, J: 3.71 Hz, H-4), 7.10-7.45 (m, 4H, arom. H), 9.70 (1H, s, N_3 -H), 10.40 (1H, s, N_1 -H)
3	3320 (N-H) 1699 (C=O) 1183 (C=S)	(DMSO- d_6) 1.22 (3H, t, CH_3 -), 2.77 (2H, q, $-CH_2-$), 3.64 (3H, s, CH_3O -), 5.35 (1H, d, J: 3.20 Hz, H-4), 7.20-7.32 (m, 4H, arom. H), 9.60 (1H, s, N_3 -H), 10.50 (1H, s, N_1 -H)
4	3166 (N-H) 1701 (C=O) 1183 (C=S)	(DMSO- d_6) 1.15 (3H, t, CH_3 -), 2.70 (2H, q, $-CH_2-$), 3.45 (3H, s, CH_3O -), 5.60 (1H, d, J: 3.28 Hz, H-4), 7.20-7.65 (m, 4H, arom. H), 9.50 (1H, s, N_3 -H), 10.40 (1H, s, N_1 -H)

5	3320 (N-H) 1662 (C=O) 1197 (C=S)	(DMSO-d ₆) 1.10 (3H, t, CH ₃ -), 2.70 (2H, q, -CH ₂ -), 3.55 (3H, s, CH ₃ O-), 5.15 (1H, d, J: 3.66 Hz, H-4), 7.10-7.50 (m, 4H, arom. H), 9.70 (1H, s, N ₃ -H), 10.42 (1H, s, N ₁ -H)
6	3182 (N-H) 1688 (C=O) 1182 (C=S)	(DMSO-d ₆) 1.09 (3H, t, CH ₃ -), 2.70 (2H, q, -CH ₂ -), 3.55 (3H, s, CH ₃ O-), 5.13 (1H, d, J: 3.66 Hz, H-4), 7.12-7.57 (m, 4H, arom. H), 9.66 (1H, s, N ₃ -H), 10.40 (1H, s, N ₁ -H)
1a	1713 (C=O) 1603 (C=N)	(CDCl ₃) 1.25 (3H, t, CH ₃ -), 2.75-2.85 (1H, m, -CH ₂ -), 2.90-3.00 (1H, m, -CH ₂ -), 3.70 (3H, s, CH ₃ O-), 6.55 (1H, s, H-5), 7.20-7.50 (m, 9H, arom. H), 7.65 (1H, s, =C-H)
1b	1713 (C=O) 1603 (C=N)	(CDCl ₃) 1.25 (3H, t, CH ₃ -), 2.70-2.85 (1H, m, -CH ₂ -), 2.90-3.00 (1H, m, -CH ₂ -), 3.70 (3H, s, CH ₃ O-), 6.55 (1H, s, H-5), 7.20-7.50 (m, 8H, arom. H), 7.65 (1H, s, =C-H)
2a	1715 (C=O) 1615 (C=N)	(CDCl ₃) 1.28 (3H, t, CH ₃ -), 2.90 (2H, q, -CH ₂ -), 3.70 (3H, s, CH ₃ O-), 6.20 (1H, s, H-5), 7.20-7.50 (m, 9H, arom. H), 7.78 (1H, s, =C-H)
2b	1715 (C=O) 1622 (C=N)	(CDCl ₃) 1.28 (3H, t, CH ₃ -), 2.90 (2H, q, -CH ₂ -), 3.70 (3H, s, CH ₃ O-), 6.20 (1H, s, H-5), 7.20-7.50 (m, 8H, arom. H), 7.70 (1H, s, =C-H)
3a	1713 (C=O) 1615 (C=N)	(CDCl ₃) 1.16 (3H, t, CH ₃ -), 2.83 (2H, q, -CH ₂ -), 3.61 (3H, s, CH ₃ O-), 6.12 (1H, s, H-5), 7.21-7.44 (m, 9H, arom. H), 7.69 (1H, s, =C-H)
3b	1715 (C=O) 1622 (C=N)	(CDCl ₃) 1.23 (3H, t, CH ₃ -), 2.87 (2H, q, -CH ₂ -), 3.65 (3H, s, CH ₃ O-), 6.15 (1H, s, H-5), 7.17-7.46 (m, 8H, arom. H), 7.67 (1H, s, =C-H)
4a	1706 (C=O) 1603 (C=N)	(CDCl ₃) 1.25 (3H, t, CH ₃ -), 2.75-2.85 (1H, m, -CH ₂ -), 2.85-3.00 (1H, m, -CH ₂ -), 3.70 (3H, s, CH ₃ O-), 6.55 (1H, s, H-5), 7.10-7.55 (m, 9H, arom. H), 7.75 (1H, s, =C-H)
4b	1713 (C=O) 1604 (C=N)	(CDCl ₃) 1.25 (3H, t, CH ₃ -), 2.75-2.85 (1H, m, -CH ₂ -), 2.85-3.00 (1H, m, -CH ₂ -), 3.70 (3H, s, CH ₃ O-), 6.55 (1H, s, H-5), 7.10-7.60 (m, 8H, arom. H), 7.70 (1H, s, =C-H)
5a	1715 (C=O) 1615 (C=N)	(CDCl ₃) 1.25 (3H, t, CH ₃ -), 2.90 (2H, q, -CH ₂ -), 3.70 (3H, s, CH ₃ O-), 6.15 (1H, s, H-5), 7.15-7.55 (m, 9H, arom. H), 7.70 (1H, s, =C-H)
5b	1715 (C=O) 1609 (C=N)	(CDCl ₃) 1.25 (3H, t, CH ₃ -), 2.90 (2H, q, -CH ₂ -), 3.70 (3H, s, CH ₃ O-), 6.15 (1H, s, H-5), 7.20-7.60 (m, 8H, arom. H), 7.70 (1H, s, =C-H)
6a	1713 (C=O) 1622 (C=N)	(CDCl ₃) 1.21 (3H, t, CH ₃ -), 2.86 (2H, q, -CH ₂ -), 3.71 (3H, s, CH ₃ O-), 6.16 (1H, s, H-5), 7.26-7.49 (m, 9H, arom. H), 7.75 (1H, s, =C-H)
6b	1715 (C=O) 1605 (C=N)	(CDCl ₃) 1.25 (3H, t, CH ₃ -), 2.87 (2H, q, -CH ₂ -), 3.71 (3H, s, CH ₃ O-), 6.15 (1H, s, H-5), 7.25-7.47 (m, 8H, arom. H), 7.68 (1H, s, =C-H)

Table 3. Mass spectral data of some of the compounds.

Compound No.	Mass (m/z)
2	310 [M ⁺], 295 [M ⁺ -CH ₃], 279 [M ⁺ -OCH ₃], 275 [M ⁺ -Cl], 251 [M ⁺ -CO ₂ CH ₃], 199 (100) [M ⁺ -ClC ₆ H ₄]
5	354 [M ⁺], 341 [M ⁺ -CH ₃], 325 [M ⁺ -OCH ₃], 297 [M ⁺ -CO ₂ CH ₃], 275 [M ⁺ -Br], 199 (100) [M ⁺ -BrC ₆ H ₄]
6	354 [M ⁺], 341 [M ⁺ -CH ₃], 325 [M ⁺ -OCH ₃], 297 [M ⁺ -CO ₂ CH ₃], 275 [M ⁺ -Br], 199 (100) [M ⁺ -BrC ₆ H ₄]
2a	438 [M ⁺], 379 [M ⁺ -CO ₂ CH ₃], 327 (100) [M ⁺ -ClC ₆ H ₄], 333 [M ⁺ -ClC ₇ H ₄ O], 168 [M ⁺ -C ₆ H ₅ CH=C=S ⁺]
2b	472 [M ⁺], 413 [M ⁺ -CO ₂ CH ₃], 361 (100) [M ⁺ -ClC ₆ H ₄], 333 [M ⁺ -ClC ₇ H ₄ O], 168 [M ⁺ -C ₆ H ₅ CH=C=S ⁺]
5a	482 [M ⁺], 423 [M ⁺ -CO ₂ CH ₃], 327 (100) [M ⁺ -BrC ₆ H ₄], 299 [M ⁺ -BrC ₇ H ₄ O], 134 [M ⁺ -C ₆ H ₅ CH=C=S ⁺]
5b	516 [M ⁺], 457 [M ⁺ -CO ₂ CH ₃], 361 (100) [M ⁺ -BrC ₆ H ₄], 333 [M ⁺ -BrC ₇ H ₄ O], 168 [M ⁺ -C ₆ H ₅ CH=C=S ⁺]
6a	482 [M ⁺], 423 [M ⁺ -CO ₂ CH ₃], 327 (100) [M ⁺ -BrC ₆ H ₄], 299 [M ⁺ -BrC ₇ H ₄ O], 134 [M ⁺ -C ₆ H ₅ CH=C=S ⁺]
6b	516 [M ⁺], 457 [M ⁺ -CO ₂ CH ₃], 361 (100) [M ⁺ -BrC ₆ H ₄], 333 [M ⁺ -BrC ₇ H ₄ O], 168 [M ⁺ -C ₆ H ₅ CH=C=S ⁺]

As reported previously^{16,17}, the cyclization pathway for the synthesis of condensed pyrimidines starting from 1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-2-thiones may have resulted in formation of the 5H or 7H isomers. The comparison of ¹H-NMR spectral data of compounds 1-6 with 1a-6b revealed the formation of the 5H isomer. In the ¹H-NMR spectra of compounds 1a-6b, a downfield singlet at δ 6.15-6.55 ppm assigned to the C-5 proton of thiazolo[3,2-a]pyrimidine structure is evidence for the 5H isomer. In our previous study¹⁶, the cyclization products with similar structure were confirmed as 5H-thiazolo[3,2-a]pyrimidines by X-ray crystallographic analysis.

Further confirmation of the compounds was obtained by mass spectral analysis. EI-MS spectra of compounds 2, 5, 6, 2a, 2b, 5a, 5b, 6a and 6b showed molecular ion peaks as expected. The base peak resulted from elimination of C₆H₄R[•] radical from the molecular ion peak (Table 3). The elementary analysis results of the compounds also supported the postulated structure.

Biginelli type tetrahydropyrimidines (1-10) and their condensed derivatives (1a-10b) are asymmetric molecules and biological activity of these compounds is dependent on the absolute configuration at the stereogenic center at C-4 and C-5, respectively. Individual enantiomers of these compounds can exhibit different, and in some cases opposite pharmacological activity^{32,33}. Therefore, it is necessary to synthesize enantiomerically pure compounds for the pharmacological activity tests.

Enantioselective high-performance liquid chromatographic (HPLC) resolution of racemates using chiral stationary phases (CSPs) is an alternative synthetic method³⁴. In this study, an analytical HPLC method using derivatized cellulose CSPs, such as cellulose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) (OD) was developed for the separation of enantiomers of compounds 1-6 and 1a-6b. Table 4 summarizes the chromatographic results of the separation of compounds 1-6 and 1a-6b on the OD column.

Table 4. Separation characteristics of compounds 1-6 and 1a-6b on cellulose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) chiral stationary phase*.

Compound	R/R'	k_1	k_2	α	R_s	N_1	N_2
1	2-Cl	0.64	0.68	1.07	0.25	1444	1521
2	3-Cl	0.48	0.56	1.18	0.57	3697	1264
3	4-Cl	0.49	0.60	1.23	1.00	3136	3600
4	2-Br	0.56	0.62	0.90	- ^a	-	-
5	3-Br	0.57	0.69	1.21	0.80	1568	1831
6	4-Br	0.54	0.66	1.21	1.33	3287	3927
1a	2-Cl/H	- ^b	-	-	-	-	-
1b	2-Cl/4-Cl	- ^b	-	-	-	-	-
2a	3-Cl/H	- ^b	-	-	-	-	-
2b	3-Cl/4-Cl	0.82	1.20	1.46	1.46	3761	2433
3a	4-Cl/H	0.43	0.57	1.32	1.14	1681	3600
3b	4-Cl/4-Cl	0.59	0.74	1.26	1.43	2025	4444
4a	2-Br/H	- ^b	-	-	-	-	-
4b	2-Br/4-Cl	1.65	2.04	1.24	2.00	3969	3318
5a	3-Br/H	- ^b	-	-	-	-	-
5b	3-Br/4-Cl	0.84	1.23	1.47	2.92	3287	3600
6a	4-Br/H	0.46	0.57	1.25	1.20	2304	2787
6b	4-Br/4-Cl	0.57	0.76	1.34	1.67	2844	3600

*Eluent: Hexane: ethanol (85:15, v/v); flow rate: 0.5 ml/min; UV detection: 320 nm

^aThe enantiomers were partially resolved but not sufficiently permit a precise determination of R_s .

^bNo separation.

It has been observed that chiral recognition of OD column depended on the position of substituents on C-4 phenyl ring of the compounds 1-6. Compounds 3 and 6 carrying 4-Cl and 4-Br substituents on the C-4 phenyl ring were partially separated with a resolution factor 1.00 and 1.33, respectively (Fig. 1a). Compounds 2 and 5 were also partially separated, but the resolution factors were low when compared with that of 4-substituted derivatives, compounds 3 and 6.

Among the condensed derivatives 1a-6b, compounds 2b and 5b having 4-Cl substituents on the benzylidene structure, and 3-Cl or 3-Br substituent on C-5 phenyl ring were baseline separated into their enantiomers using 15% ethanol in hexane as the mobile phase (Fig. 1b). The observed small peaks may belong to the enantiomeric pairs of the geometric isomer due to the double bond in the benzylidene structure. From the results obtained under these conditions, it seems that preparative enantioseparation for compounds 2b and 5b could be achieved on the OD chiral stationary phase. While compounds 3a, 3b, 6a, 6b were almost baseline separated, compounds 1a, 1b, 2a, 4a and 5a were not resolved on OD column. Partial resolutions were achieved on OD column for other compounds.

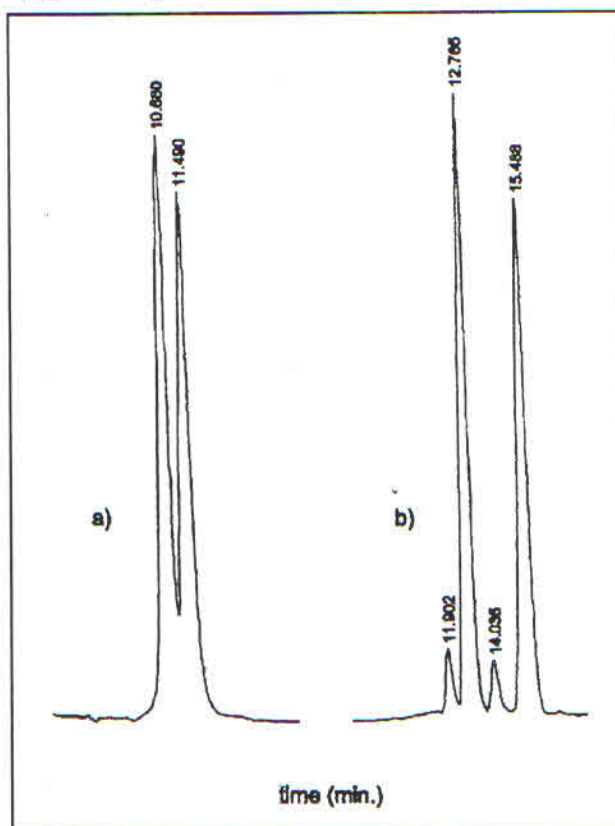


Fig. 1. Chromatograms of the separation of compounds 6 (a) and 5b (b) on the cellulose tris(3,5-dimethylphenylcarbamate) (OD) column using hexane: ethanol (85:15, v/v) as the mobile phase. Flow rate: 0.5 ml/min; UV detection: 320 nm.

All compounds (1-10 and 1a-10b) were tested for their *in vitro* antimicrobial activity using the micro-dilution method. Ampicillin trihydrate and fluconazole were used as reference compounds for antibacterial and antifungal activities, respectively. Minimum inhibitory concentration (MIC) values of the compounds are listed in Table 5. The antibacterial activity results of some compounds were found better

than that of their antifungal activity results (4a and 10b). It has been observed that all compounds were ineffective against *S. aureus* (MIC: 125 µg/ml). Compound 10b was more effective against *E. coli* (MIC: 31.25 µg/ml) compared with the other derivatives. All the tested compounds showed less activity (higher MIC values) than fluconazole (MIC: 15.63 µg/ml) against *Candida* species.

Table 5. Antibacterial and antifungal activity results of compounds 1-10 and 1a-10b*.

Compound	A	B	C	D	E	F
1	125	125	125	125	125	125
2	125	125	125	125	125	125
3	125	125	125	125	125	125
4	125	125	125	125	125	125
5	125	125	125	125	125	125
6	125	125	125	125	125	125
7	125	125	125	125	125	125
8	125	125	125	125	125	125
9	125	125	125	125	125	125
10	125	125	125	125	125	125
1a	125	125	>250	250	250	250
1b	125	125	>250	250	250	250
2a	125	>250	>250	250	250	250
2b	125	>250	>250	250	250	250
3a	125	125	125	125	125	125
3b	125	125	125	125	125	125
4a	125	62.5	>250	250	250	250
4b	125	125	>250	250	250	250
5a	125	>250	>250	250	250	250
5b	125	>250	>250	250	250	250
6a	125	125	125	125	125	125
6b	125	125	125	125	125	125
7a	125	125	125	250	250	250
7b	125	125	125	125	125	125
8a	125	>250	>250	250	250	250
8b	125	>250	>250	250	250	250
9a	125	125	125	125	125	125
9b	125	125	125	125	125	125
10a	125	>250	>250	250	250	250
10b	125	31.25	>250	250	250	250
Ampicillin trihydrate	15.63	62.5	-	-	-	-
Fluconazole	-	-	15.63	15.63	15.63	15.63

* MIC in µg/ml.

A: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

C: *Candida albicans* ATCC 10231

E: *Candida krusei* ATCC 14243

B: *Escherichia coli* ATCC 35218

D: *Candida tropicalis* ATCC 13803

F: *Candida glabrata* ATCC 66032

Acknowledgements

Spectral analyses of this study were supported by the Scientific and Technical Research Council of Turkey (TÜBİTAK) (Project No: 198S082; SBAG-AYD-217).

References

1. Kappe CO, Roschger P. Synthesis and reactions of "Biginelli compounds" . Part I., *J. Hetero. Chem.*, 26, 55-64, 1989.
2. Mishina T, Tsuda N, Inui A, Miura Y. Preparation of 5H-thiazolo- or -1,3,4-thiadiazolo [3,2-a]pyrimidine-6-carboxylates as cardiovascular agents, *Jpn. Kokai Tokyo Koho JP 62,169,793 [87,169,793] (Cl. C07D513/04) (1987); CA 108, 56120e (1988).*
3. Atwal KS. Preparation of 3-oxo-1,2,4-triazolo[4,3-a]pyrimidine-6-carboxylate esters as vasodilators, *Ger. Offen. DE 3, 839, 711 (1989); CA 112, 55902g (1990).*
4. Atwal KS. PCT Int. Appl. WO 89 06,535 (Cl. A61K31/505 (1989); CA 112, 77212j (1990).
5. Atwal KS, Moreland S. Dihydropyrimidine calcium channel blockers 5: Bicyclic dihydropyrimidines as potent mimics of dihydropyrimidines, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1 (6), 291-294, 1991.
6. Rovnyak GC, Kimball SD. Preparation of 4,7-dihydrofuro[3,4-d]pyrimidine-5(1H)-one derivatives, *Brit. UK Pat. Appl. GB 2,247,236 (Cl. C07D491/048) (1992); CA 117, 7953f (1992).*
7. Alajarin R, Vaquero JJ, Alvarez-Builla J, Fau de Casajuana M, Sunkel C, Priego JG, Gomez-Sal P, Torres R. Imidazo[1,5-a]pyrimidine and benzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyrimidine derivatives as calcium antagonists, *Bioorg. Med. Chem.*, 2, 323-329, 1994.
8. Saraç S, Yarım M, Ertan M, Erol K, Aktan Y. 4-Aryl-5-oxo-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroquinazoline-2-thione derivatives: Synthesis, enantiomeric separations and in vitro screening as calcium antagonists, *Boll. Chim. Farmaceutico*, 136, 657-664, 1997.
9. Saraç S, Yarım M, Ertan M, Boydağ S, Erol K. Synthesis, chemical and pharmacological properties of some 4-aryl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroquinazoline-2,5-diones, *Pharmazie*, 53, 91-94, 1998.
10. Kappe CO. Biologically active dihydropyrimidones of the Biginelli-type- A literature survey, *Eur. J. Med. Chem.*, 35, 1043-1052, 2000.
11. Saraç S, Yarım M, Ertan M, Kılıç FS, Erol K. 4-Aryl-6,6-dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroquinazoline-2,5-diones: Synthesis, chromatographic resolution and pharmacological activity, *Pharmazie*, 56, 298-302, 2001.
12. Yarım M, Saraç S, Kılıç FS, Erol K. Synthesis and in vitro calcium antagonist activity of 4-aryl-7,7-dimethyl/1,7,7-trimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroquinazoline - 2,5-dione derivatives, *Il Farmaco (in press)*, 2002.
13. Doria G, Passarotti C, Giuliana A, Buttinoni A. Substituted thiazolo[3,2-a]pyrimidines, *Belg. BE 893, 835 (1983); CA 99, 70749u (1983).*
14. Doria G, Passarotti C, Sala R, Magrini R, Sberze P, Tibolla M, Ceserani R, Arcari G, Castello R, Toti D. 7-Trans-(2-pyridylethenyl)-5H-thiazolo[3,2-a]pyrimidine-5-ones: Synthesis and pharmacological activity, *Il Farmaco-Ed. Sc.*, 40, 885-894, 1985.
15. Jeanneau-Nicolle E, Benoit-Guyod M, Namil A, Leclerc G. New thiazolo[3,2-a]pyrimidine derivatives, synthesis and structure activity relationships, *Eur. J. Med. Chem.*, 27, 115-120, 1992.
16. Tozkoparan B, Ertan M, Krebs B, Läge M, Kelicen P, Demirdamar R. Condensed heterocyclic compounds: Synthesis and antiinflammatory activity of novel thiazolo[3,2-a]pyrimidines, *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, 331, 201-206, 1998.
17. Tozkoparan B, Ertan M, Kelicen P, Demirdamar R. Synthesis and anti-inflammatory activities of some thiazolo[3,2-a]pyrimidine derivatives, *Il Farmaco*, 54, 588-593, 1999.
18. Baetz J. Analgesics 2,3-dihydrothiazolo[3,2-a]pyrimidine-5-ones, *Brit. 1,334,628 (1973); CA 80, 48028u (1974).*
19. Dash B, Patra M, Mohapatra PK. Thiazolopyrimidine derivatives, *J. Inst. Chem.*, 52, 92-96, 1980; CA 93, 239353z (1980).
20. Teijin Ltd., 6-Alkylthiazolopyrimidines, *Jpn. Kokai Tokyo Koho JP 58 24, 590 [83 24, 590] (1983); CA 98, 215611j (1983).*
21. Bigg D. Thiazole derivatives and their therapeutic use, *Fr. Demande FR 2,479,831 (1981); CA 96, 162725z (1982).*
22. Mohan J, Chadha VK, Chaudhary HS, Sharma BD, Pujari HK. Heterocyclic systems containing bridgehead nitrogen atom: Part XIII. Antifungal and antibacterial activities of thiazole and thiazolidinone derivatives, *Indian J. Exp. Biol.*, 10, 37-40, 1972.
23. Dehuri SN, Nayak A. Studies on thiazolidinones. Part XII. Synthesis and antimicrobial activities of thiazolidinones and their derivatives from cyclic thioureas, *J. Ind. Chem. Soc.*, 60, 970-974, 1983.
24. Champaneri HR, Modi SR, Naik HB. Studies on pyrimidines. Part II. Synthesis and antibacterial activity of 7-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-2-acetyl-5-phenyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydrothiazolo[3,2-a]pyrimidines, *Asian J. Chem.*, 6, 737-738, 1994; CA 121, 300842y (1994).
25. Salama MA, Mousa HH, Al-Shaikh M. Synthesis and reactions of 2,3-dihydro(5H)-5-aryl-7-styrylthiazolo[3,2-a]pyrimidine-3-one derivatives of potential antibacterial activities, *Orient. J. Chem.*, 7(4), 185-190, 1991; CA 116, 151713z (1992).
26. Salama MM, Mousa HHA, Al-Essa SA. Synthesis and reactions of 2,3-dihydro(5H)-5-7-diarylthiazolo[3,2-a]pyrimidine-3-one derivatives of expected biological activity, *Orient. J. Chem.*, 7(3), 128-134, 1991; CA 116, 41405t (1992).
27. Tozkoparan B, Yarım M, Saraç S, Ertan M, Kelicen P,

- Altınok G, Demirdamar R. Studies on synthesis, chromatographic resolution and antiinflammatory activities of some 2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines and their condensed derivatives, *Arch. Pharm. Pharm. and Med. Chem.*, 333, 415-420, 2000.
28. Biginelli P. Ueber Aldehyduramide des Acetessigäthers, *Chem. Ber.*, 24, 1317-1319, 1891.
29. Saraç S, Tozkoparan B, Ertan M. Separation of enantiomers of some condensed dihydropyrimidine derivatives by HPLC using chiral stationary phases, *FABAD J. Pharm. Sci.*, 25, 145-151, 2000.
30. Thornsberry C, Anhalt J, Barry AL, Cotton JL, Gerlach EH, Jones RN, Moellering RC, Norton RA. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests of bacteria that grow aerobically, *NCCLS*, 5 (22), 583, 1985.
31. Sahm DF, Washington JA. Antibacterial susceptibility tests, dilution methods, Balowes A, Hausler WJ, Hermann KL, Shadomy HD (Eds), *Manual of clinical microbiology, Am. Soc. Microbiol.*, 5.Ed., 1105, 1991.
32. Drayer DE. Pharmacodynamic and pharmacokinetic differences between drug enantiomers in humans: An overview, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 40, 125-133, 1986.
33. Rovnyak GC, Kimball SD, Beyer B, Cucinotta G, DiMarco JD, Gougoutas J, Hedberg A, Malley M, McCarthy JP, Zhang R, Moreland S. Calcium entry blockers and activators: Conformational and structural determinants of dihydropyrimidine calcium channel modulators, *J. Med. Chem.*, 38, 119-129, 1995.
34. Blaschke G. Chromatographic resolution of racemates, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 19, 13-24, 1980.

Comparison of the Protective Effects of Lansoprazole and Omeprazole Against Acetyl Salicylic Acid-Induced Gastric Damage in Rats

Göksel ŞENER*, Kübra PASKALOĞLU*, Gülli ESER*, F. Gül AYANOĞLU-DÜLGER*

Comparison of the Protective Effects of Lansoprazole and Omeprazole Against Acetyl Salicylic Acid-Induced Gastric Damage in Rats

Summary : Omeprazole and lansoprazole have been reported to be protective against acetylsalicylic acid (ASA) induced gastric mucosal injury due to their proton pump (K⁺/H⁺-ATPase) inhibitor properties. The aim of this study was to investigate the antisecretory, and the antioxidant effects of increasing doses of lansoprazole and also compare them with those of omeprazole against ASA-induced gastric damage in rats. Gastric lesions were induced by administration of ASA (200 mg/kg) to fasted rats. Studies were performed on five groups of animals; control, starvation, ASA, Omeprazole (20, 40, 80 (mol/kg) + ASA and Lansoprazole (1, 5, 10 mg/kg) + ASA groups. Mucosal damage, gastric acidity, as well as lipid peroxidation (LPO), glutathione (GSH) levels and myeloperoxidase (MPO) activity were determined. Both drugs significantly prevented the gastric ulcerogenesis induced by ASA, decreased the ulcer index, and the gastric acidity dose dependently. LPO, and MPO activities, which were increased by ASA, were decreased, and the GSH levels, which were decreased, were increased significantly. According to these findings, as well as the increased acidity, active oxygen species and LPO also play an important role in the pathogenesis of ASA-induced gastric damage. The drugs studied may be protective against this damage due to their antioxidant properties, and also by inhibition of acid secretion.

Key Words: Acetylsalicylic acid, gastric mucosal injury, omeprazole, lansoprazole, lipid peroxidation.

Received : 21.1.2002

Revised : 20.5.2002

Accepted : 27.6.2002

INTRODUCTION

Nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) are known to cause gastrointestinal damage and ulceration, and there is good evidence that acetylsalicylic acid (ASA) exerts direct topical damage¹. More re-

Şıçanlarda Asetil Salisilik Asit (ASA) ile Oluşturulan Gastrik Hasara Karşı Lansoprazol ve Omeprazolün Koruyucu Etkilerinin Karşılaştırılması

Özet : Omeprazolün antisekretuar ve antioksidan özellikleriyle, asetilsalisilik asit (ASA) ile oluşturulan gastrik gastrik mukozal hasara karşı koruyucu etkileri olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmanın amacı lansoprazolün artan dozlarının antisekretuar ve antioksidan etkilerini incelemek ve bu etkileri omeprazol ile karşılaştırmaktır. Gastrik lezyonlar aç bırakılan hayvanlarda ASA (200 mg/kg) uygulaması ile oluşturuldu. Çalışma 5 grupta yapıldı; Kontrol, Açlık, ASA, Omeprazol (20, 40, 80 (mol/kg) + ASA, ve Lansoprazol (1, 5, 10 mg/kg) + ASA. Mukozal hasar, gastrik asit, lipid peroksidasyonu (LPO), glutatyon (GSH) ve myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi tayinleri yapıldı. Her iki ilaç da ASA ile oluşturulan gastrik ülseri önemli ölçüde önledi. ASA'ın neden olduğu gastrik asit, LPO ve MPO artışlarını azalttı, ve azalan GSH düzeylerini yükseltti. Bu sonuçlara göre artan asidite kadar reaktif oksijen türevleri ve lipid peroksidasyonu ASA ile oluşturulan gastrik hasarın patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. İncelenen bu ilaçların gastrik hasara karşı koruyucu etkilerinin onların antioksidan özellikleri ve asit sekresyonunu inhibe edici özellikleri ile ilgili olabileceği görülmektedir.

Anahtar kelimeler : Asetilsalisilik asit, gastrik mukozal hasar, omeprazol, lansoprazol ve lipid peroksidasyonu.

cently, direct involvement of oxygen-derived free radicals has been implicated in the mechanism of gastrointestinal ulceration²⁻⁵. Lipid peroxidation mediated by oxygen free radicals is believed to be an important cause of destruction and damage to cell membranes, and attention has been focused on the role of

* Marmara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology, Haydarpaşa, 81010, Istanbul, TURKEY.

° Correspondence

reactive oxygen species in mediating the microvascular disturbances that precede the gastric mucosal damage induced by various chemicals, stress, and ischemia-reperfusion, and in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by indomethacin and other NSAIDs¹⁻⁶.

In our previous study we demonstrated that the antiulcer drugs, omeprazole and famotidine are protective against ASA induced gastric ulceration due to their antioxidant property as well as their anti-secretory effects⁷.

Lansoprazole is a relatively new proton pump (K^+/H^+ -ATPase) inhibitor (PPI), and the reports about its antisecretory and antiulcer properties in comparison to omeprazole are controversial⁸⁻¹¹. Thus, in this study we investigated the protective effect of increasing doses of lansoprazole against ASA-induced damage in comparison with increasing doses of omeprazole.

2. Materials and Methods

Chemicals:

Omeprazole and lansoprazole were donated by İlsan-İltaş Drug Manufacturer and Acetylsalicylic acid by Atabay Drug Manufacturer. All other chemicals were analytical reagent grade.

Animal treatment

Albino rats of both sexes (150-200 g) were fed a standard diet and water ad libitum. Gastric lesions were induced by administration of ASA to rats, which were fasted for 48hr before the experiments. Studies were performed on five groups of animals: 1 and 2- Control group (C) and Starvation group (S) which were deprived of food for 3 h and 48 h before death, respectively. 3-Acetylsalicylic acid (ASA) group [200mg/kg ASA, orally, suspended in 1% methylcellulose in water], 4- Omeprazole (O) group (20 μ mol/kg, 40 μ mol/kg or 80 μ mol/kg orally, 1h before ASA], 5- Lansoprazole (L) group (1mg/kg, 5mg/kg or 10mg/kg orally 1h before ASA]. Drugs

were dissolved in distilled water and were administered by gavage through an intragastric tube.

Macroscopic analysis:

Two hours after ASA or vehicle (for the control group) administration the animals were killed by decapitation, stomachs were dissected out, cut along the greater curvature, and the mucosae were rinsed with cold normal saline to remove blood contaminant, if any, and the freshly excised stomachs were examined macroscopically for hemorrhagic lesions in the glandular mucosa; The length of each lesion was measured, summed per stomach and used as lesion index².

Examination of gastric acidity:

The pylorus of anesthetized rats was ligated 1 hr after ASA administration. Two hours after pyloric ligation, rats were killed by cervical dislocation and the esophagi were clamped. Samples of gastric juice were collected, centrifuged at 2500g for 10 min, and total acidity was assessed by titration against 0.01N NaOH to pH 7.0 and expressed as microequivalents per 100g body weight per hour¹².

Tissue myeloperoxidase activity determination:

Tissue associated MPO activity was determined in 0.2 to 0.5 g samples. Tissue samples were homogenized in 10 vol of ice-cold potassium buffer (20mM K_2HPO_4 , pH 7.4), and then centrifuged at 12,000 rpm for 10 min at 4°C. The pellet was then rehomogenized with an equivalent volume of 50mM K_2HPO_4 containing 0.5% (w/v) hexadecyltrimethylammonium bromide. Myeloperoxidase activity was assessed by measuring the H_2O_2 -dependent oxidation of o-dianizidine 2 HCl. One unit of enzyme activity was defined as the amount of MPO present that caused a change in absorbance of 1.0/ min at 460 nm and 37°C¹³.

Determination of glutathione and lipid peroxide levels:

Tissue samples were homogenized in 10 volumes of ice-cold 10% trichloroacetic acid (TCA) and cen-

trifuged at 3000 rpm for 15 min at 4°C. The supernatant was removed and recentrifuged at 15,000 rpm for 8 min. Glutathione measurements were performed using a modification of the Ellman procedure¹⁴. Lipid peroxidation was quantified by measuring the formation of thiobarbituric acid reactive substances as described previously¹⁵. Lipid peroxide levels were expressed in terms of malondialdehyde (MDA) equivalents.

Statistical analysis:

Statistical analysis was carried out using GraphPad Prism 3.0 (GraphPad Software, San Diego; CA; USA). All data were expressed as means (SEM. Groups of data were compared with an analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison tests. Values of $p < 0.05$ were regarded as significant.

Results

Gastric lesions:

Administration of 200mg/kg ASA suspension intragastrically caused hemorrhagic lesions in the mucosa of the glandular stomach, indicating true ulcer formation. The ulcer index was calculated to be 21.0 ± 1.3 mm. Pretreatment of the rats with increasing doses of omeprazole, or lansoprazole prevented gastric ulcerogenesis significantly and decreased the ulcer index dose dependently (Figure 1a).

Gastric acidity:

In the ASA group, gastric acidity was significantly higher (30 ± 1.95 $\mu\text{Eq}/100$ g body weight/hr) than that of the control group (17.4 ± 0.94 $\mu\text{Eq}/100$ g body weight/hr), and the starvation group (19.9 ± 1.7 $\mu\text{Eq}/100$ g body weight/hr). Omeprazole or lansoprazole administration caused a significant and dose dependent decrease in this parameter (Figure 1b).

The relationship between change in acidity and decrease in the ulcer index values was evaluated for ASA and the increasing doses of PPIs, and a positive correlation was observed ($r=0.822$, $p < 0.0001$), im-

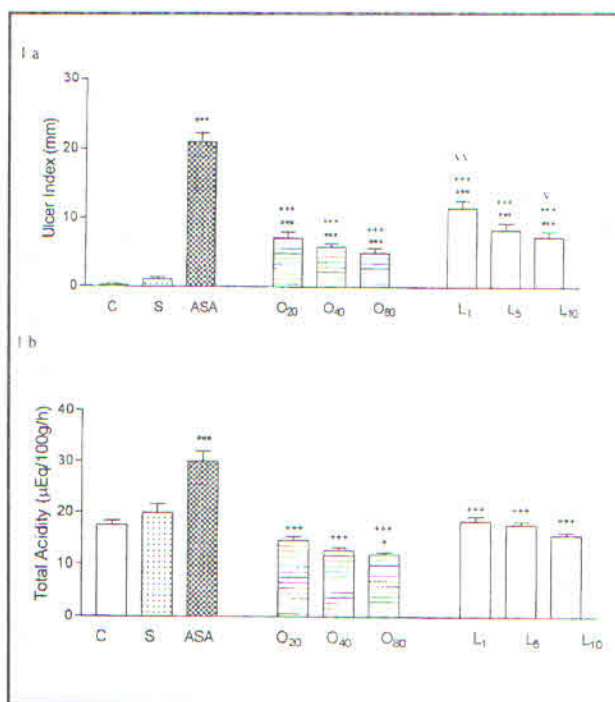


Figure 1: Effect of ASA, and increasing doses of the anti-ulcer drugs on a) Ulcer index, b) Total acidity. (For each group $n=12$.) C: Control, S: Starvation, O₂₀, O₄₀, O₈₀: Omeprazole (20 $\mu\text{mol}/\text{g}$, 40 (mol/g, 80 $\mu\text{mol}/\text{g}$), L₁, L₅, L₁₀: Lansoprazole (1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg). ***: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$ (in comparison to C group). +++: $p < 0.001$, +: $p < 0.05$ (in comparison to ASA group). vv: $p < 0.01$ O₂₀ vs L₁, -: $p < 0.05$ O₈₀ vs L₁₀.

plating the importance of inhibition of acid secretion in the protection against ASA induced damage (Figure 2).

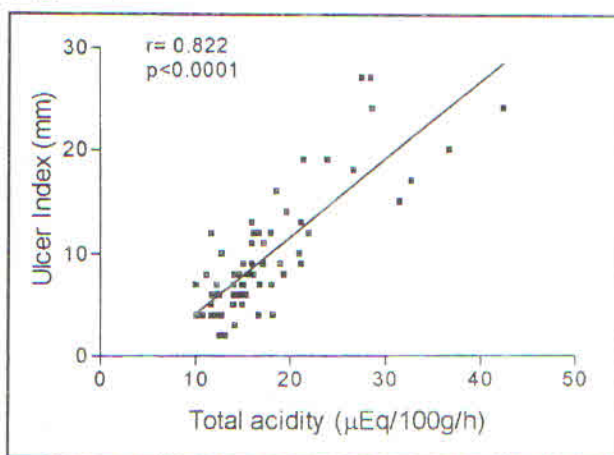


Figure 2: The significant correlation between the ulcer index and total acidity. (The control and starvation data were omitted from the overall data, since these did not have any effect on gastric acidity). The damage caused by ASA increases as the acidity increases, and it is evident that the anti-ulcer drugs prevent this damage, at least partly, by suppressing the acid secretion.

Gastric myeloperoxidase (MPO) activity:

Tissue associated MPO activity which is accepted to be an index of neutrophil infiltration was significantly high in the ASA group (63.9 ± 2.0 units/g). Following treatment with omeprazole, or lansoprazole, MPO levels decreased significantly, indicating protection against tissue damage. PPIs seemed to inhibit neutrophil infiltration almost completely at all dose levels, since neither of the MPO activities of these groups were significantly different from the control group (Figure 3a).

The significant correlation ($r=0.722$, $p<0.0001$, Figure 4a) between the decrease in MPO activities and the UI, and also between the decrease in acidity and the decrease in MPO activity ($r=0.751$, $p<0.0001$, Figure 4b), (evaluated by using the values for ASA and PPIs) demonstrate that the neutrophil infiltration decreases in parallel to the decrease in the acidity, most probably due to the prevention of the mucosal damage.

Gastric lipid peroxide (LPO) levels:

Gastric LPO was found to be 21.1 ± 0.69 nmol MDA/g in the control group and 15.9 ± 0.55 nmol MDA/g following 48 hours starvation. ASA administration increased gastric LPO up to 35.9 ± 1.23 nmol MDA/g, whereas omeprazole or lansoprazole pretreatments decreased it significantly (Figure 3b).

The significant correlation ($r=0.762$, $p<0.0001$, Figure 5a) between lipid peroxidation and the ulcer index indicate that gastric damage increases with the increase in LPO, and the significant correlation between MPO and LPO values ($r=0.821$, $p<0.0001$, Figure 5b) demonstrate that the source of free radicals that cause LPO are mainly the neutrophils.

Gastric glutathione (GSH) levels:

Forty-eight hour starvation did not cause any significant change in gastric GSH levels when compared to the control group. In the ASA treated group, gastric GSH was found to be significantly decreased. Omeprazole and lansoprazole pretreatments sig-

nificantly prevented the decrease in GSH levels (Figure 3c).

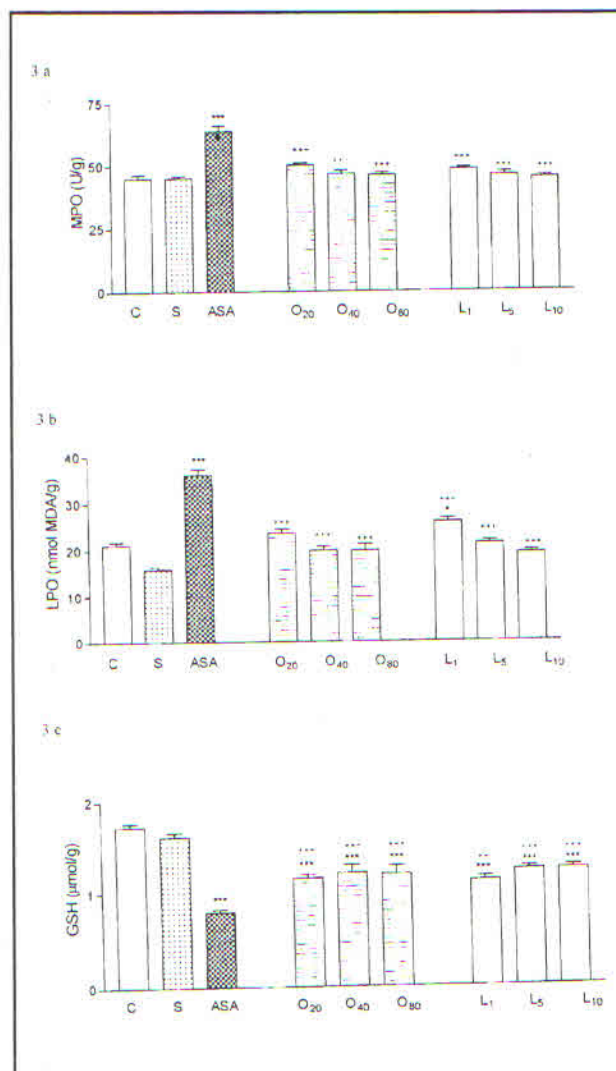


Figure 3. Effect of ASA, and also increasing doses of the antiulcer drugs on a) Myeloperoxidase activity (MPO), b) Lipid peroxidation (LPO), c) Glutathione (GSH). For each group n=12 animals. C Control, S Starvation, O₂₀, O₄₀, O₈₀ Omeprazole (20 µmol/g, 40 µmol/g, 80 µmol/g), L₁, L₅, L₁₀ Lansoprazole (1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg). ***p<0.001, *p<0.05 (in comparison to C group). +++p<0.001, ++p<0.01, (in comparison to ASA group).

Discussion

Omeprazole and famotidine have been demonstrated to be protective against gastric injury induced by various agents and stress conditions, and they can cause marked amelioration of gastric damage caused by

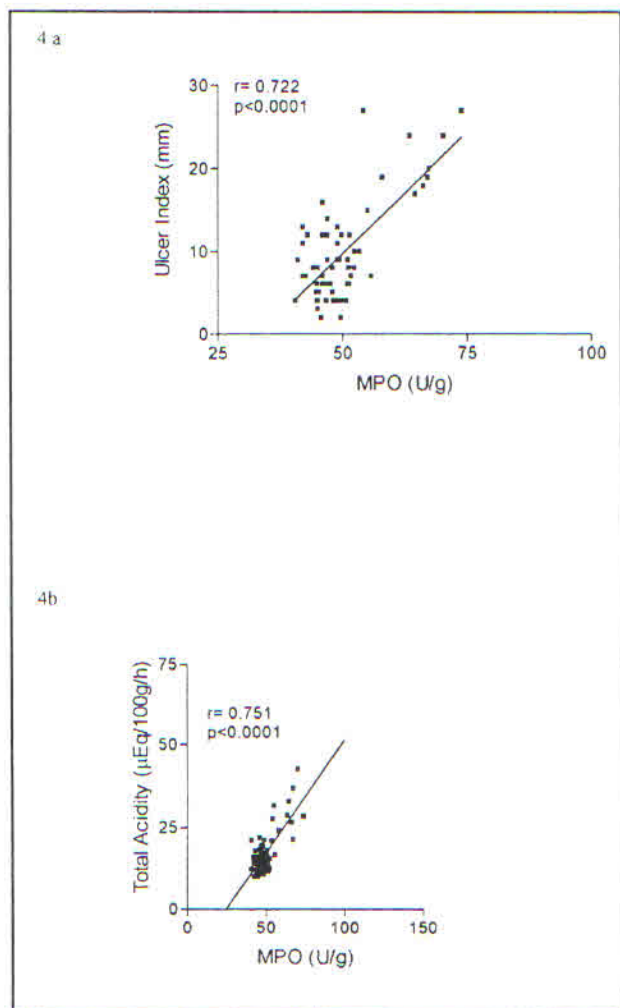


Figure 4. The correlation between increases in a) ulcer index and myeloperoxidase (MPO) activity and b) total acidity and MPO activity. These correlations demonstrate that increase in acidity also increases MPO activity (neutrophil infiltration) which also contributes to gastric damage caused by ASA. The antiulcer drugs may also prevent the damage by preventing neutrophil infiltration as well as by suppressing the acidity, and, that the neutrophil infiltration decreases in parallel to the decrease in the acidity, most probably due to the prevention of the mucosal damage.

ASA and other NSAIDs in man and animals^{1, 16-19}. The findings of our previous study⁷ implicated active oxygen species and lipid peroxidation in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by ASA, and suggested that famotidine and omeprazole are protective against salicylate-induced gastric damage through their antioxidant property, as well as their antisecretory effect. Lansoprazole was also dem-

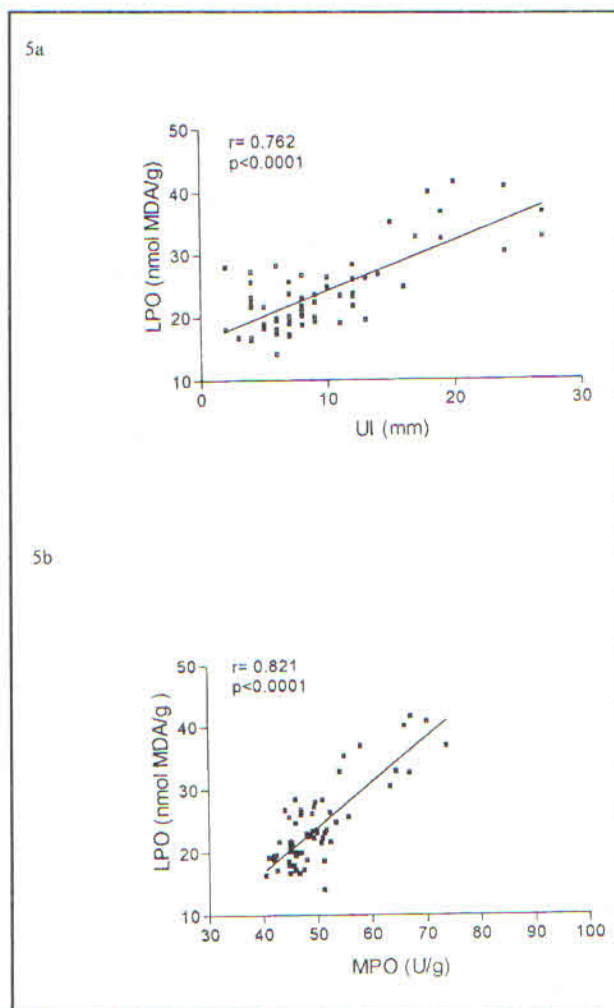


Figure 5: The significant correlation between a) lipid peroxidation (LPO) and ulcer index and b) LPO and myeloperoxidase (MPO) activity. This figure indicates that the gastric damage induced by ASA is an oxidative damage and that it increases with the increase in MPO activity. The antiulcer drugs prevent this oxidative damage in parallel with the increase in dosage.

onstrated to cause a dose-proportional decrease in acid secretion and ASA-induced mucosal damage in healthy volunteers⁹, and to prevent water immersion stress or aspirin induced gastric lesions in rats¹⁰. Thus, in the present study, we aimed to compare the antiulcer properties of omeprazole and lansoprazole and to investigate whether there was any correlation between the antioxidant and the antisecretory effects of these drugs and the dose.

It is well known that salicylates may damage the gas-

gastrointestinal mucosa, causing lesions ranging from trivial petechiae and superficial erosions to significant and potentially serious deep peptic ulcers¹. Macroscopic observations of the present study are in agreement with this. In parallel with ulcer formation, the significant increase in lipid peroxidation indicates that lipid peroxidation plays an important part in the pathogenesis of gastric mucosal damage induced by ASA, as reported previously⁷.

Pretreatment of the animals with increasing doses of the PPIs decreased ASA-induced gastric damage and inhibited lipid peroxidation significantly, and dose dependently. These observations are in parallel with those of Satoh et al¹⁰ who have reported that lansoprazole, and omeprazole inhibit the ASA-induced gastric lesions in rats dose dependently. The prominent curative and prophylactic effects of the antiulcer drugs on gastric and duodenal ulcers in that study were attributed mainly to the suppression of acid secretion and partly to the protection of the gastrointestinal mucosa against various ulcerative stimuli, although they did not give any further explanation as to the protective mechanisms.

The significant correlation between the degree of inhibition of lipid peroxidation and the decrease in ulcer index indicates that the damage induced by ASA was reduced in parallel with the inhibition of lipid peroxidation. Previous studies, reporting the powerful antioxidant properties of proton pump inhibitors, support our observations^{17,20}.

Since the source of oxygen radicals in gastric mucosal injury induced by indomethacin or ASA in rats seems to be the neutrophils, we assessed the role of neutrophils by determining tissue associated MPO activity^{1,3}. Myeloperoxidase activity was observed to be significantly high following administration of ASA, and correlation between the MPO activity and LPO levels is another indication that the source of reactive oxygen species is mainly the activated neutrophils. The PPIs inhibited the increase in MPO activity significantly and dose dependently, demonstrating the suppression of neutrophil infiltration by these drugs. Lansoprazole, and omeprazole were

demonstrated to have an inhibitory effect on neutrophil function and they were reported to attenuate endothelial cell adhesive interaction of neutrophils induced by extracts of *Helicobacter pylori*^{21,22}. Wandall has also reported that omeprazole may inhibit the neutrophil function under in vitro conditions²³.

The significant correlation between the inhibition of MPO activity and the decrease in ulcer index suggests that prevention of neutrophil infiltration by the antiulcer drugs help reduce the ASA-induced damage. We also observed a significant correlation between the inhibition of acid secretion and MPO activity, indicating that increased acidity may be increasing the mucosal damage, thus facilitating neutrophil infiltration, and contributing to the damage induced by ASA. This observation is supported by the report that ASA and other NSAIDs cause more severe injury in the presence of high levels of intraluminal acid, as will be discussed later¹⁸.

Recently much attention has been focused on neutrophil-derived factors in mediating the gastrointestinal ulceration and inflammation related to the use of NSAIDs²⁴, since damage to vascular endothelium was reported to be similar to what had been observed in models of ischemia-reperfusion injury, where neutrophils have been reported to play a critical role as mediators of endothelial damage²⁵. In studies where the pathogenesis of experimental NSAID gastropathy was investigated, it was observed that administration of NSAIDs to rats resulted in an increase in the number of neutrophils adhering to vascular endothelium in the gastric and mesenteric microcirculation and that the endothelial damage was completely prevented by prior depletion of circulating neutrophils¹.

Glutathione is an important constituent of intracellular protective mechanisms against various noxious stimuli, including oxidative stress^{24,26}. In this study decrease in GSH following administration of ASA was accompanied by an increase in lipid peroxides. Omeprazole and lansoprazole inhibited GSH depletion in proportion with their efficacy as antioxidants. Thus, it may be proposed that the antiulcer

drugs may be preserving the tissue GSH levels by preventing lipid peroxidation.

The ability of ASA to cause epithelial damage may be related in part to its accumulation in these cells because of the phenomenon of ion trapping^{1,17}. The consequent topical toxicity of salicylates is well recognized and results in impaired barrier function, reduced mucus and bicarbonate secretion and capillary injury. Thus, some have claimed that ASA or some other NSAIDs cause more severe injury in the presence of high levels of intraluminal acid¹⁸. On the other hand, at the level of intragastric pH achieved with the proton pump inhibitors ASA ionization is virtually complete, and in this form passive absorption of ASA into the gastric mucosa does not occur and mucosal damage is significantly reduced²⁷. Thus, the ulcer healing properties of proton pump inhibitors were claimed to be due mainly to the inhibition of gastric acid secretion¹⁰. Since it has been stated that gastric acidity is crucial in the genesis of aspirin related gastroduodenal injury, increasing doses of lansoprazole, and omeprazole may improve gastric tolerance to and affording protection against ASA induced ulcerogenesis most probably by their anti-secretory effect in addition to their antioxidant properties.

In the present study, the strong and significant correlation between the inhibition of acidity by increasing doses of the PPIs and the decrease in ulcer index is in support of this view. It may also be suggested that in the present study omeprazole afforded better protection against ASA-induced damage than lansoprazole, because it was more efficient than lansoprazole in inhibiting the acid secretion. However, the difference between the two drugs was not significant at different dose levels.

In conclusion, findings of the present study indicate that the antiulcer drugs omeprazole and lansoprazole possess a protective effect against acute gastric mucosal injury induced by ASA, and that this protection is dose-dependent. They may afford protection by their direct antioxidant properties, prevent neutrophil induced oxidative damage and also inhibition

of acid secretion, since results of the present study implicate the increased acidity as one of the main sources of damage caused by ASA.

REFERENCES

- 1- Wallace JL. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and gastroenteropathy: The second hundred years, *Gastroenterology*, 112, 1000-16, 1997.
- 2- Alican I, Toker F, Arbak S, Yeğen BÇ, Yalçın AS, Oktay Ş. Gastric lipid peroxidation, glutathione and calcium channel blockers in the stress-induced ulcer model in rats, *Pharmacol. Res.*, 30,123-135,1994.
- 3- Alican İ, Coşkun T, Çorak A, Yeğen BÇ, Oktay Ş, Kurtel H. Role of neutrophils in indomethacin-induced gastric mucosal lesions in rats, *Inflamm. Res.*, 44, 164-168, 1995.
- 4- Yoshikawa T, Minamiyama Y, Ichikawa H, Takahashi S, Naito Y, Kondo M. Role of lipid peroxidation and antioxidants in gastric mucosal injury induced by the hypoxanthine-xanthine oxidase system in rats, *Free Radic. Biol. Med.*, 23, 243-250, 1997.
- 5- Das D, Bandyopadhyay D, Bhattacharjee M, Banarjee RK. Hydroxyl radical is the major causative factor in stress-induced gastric ulceration, *Free Rad. Biol. Med.*, 23, 8-18, 1997.
- 6- Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Pajdo R, Bielanski W, Brzozowska I, Stachura J, Hahn EG. The role of melatonin and L-tryptophan in prevention of acute gastric lesions induced by stress, ethanol, ischemia, and aspirin, *J. Pineal Res.*, 23,7 9-89, 1997.
- 7- Şener-Muratoglu G, Paskaloğlu K, Arbak S, Hürdağ C, Ayanoglu- Dülger G: Protective effect of famotidine, omeprazole, and melatonin against acetylsalicylic acid-induced gastric damage in rats, *Dig. Dis. Sci.*, 46, 318-30, 2001.
- 8- Janczewska I, Sagar M, Sjostedt S, Hammarlund B, Iwarzon M, Seensalu R. Comparison of the effect of lansoprazole and omeprazole on intragastric acidity and gastroesophageal reflux in patients with gastroesophageal reflux disease, *Scand. J. Gastroenterol.*, 33, 1239-43,1998.
- 9- Spencer CM, Faulds D. Lansoprazole. A reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and its therapeutic efficacy in acid-related disorders, *Drugs*, 48, 404-430, 1994.
- 10- Satoh H, Inatomi N, Nagaya H, Inada I, Nohara A, Nakamura N, Maki Y. Antisecretory and antiulcer activities of a novel proton pump inhibitor AG-1749 in dogs and rats, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 248, 806-815, 1989.
- 11- Langtry HD, Wilde MI: Lansoprazole. An update of its pharmacological properties and clinical efficacy in the management of acid-related disorders. *Drugs*, 54, 473-500, 1997.
- 12- Shay H, Sun DCY, Gruenstein RA. Quantitative method for measuring spontaneous gastric secretion in the rat,

- Gastroenterology*, 26, 906-913, 1954.
- 13- Bradley PP, Priebat DA, Christenser RD, Rothstein G. Measurement of cutaneous inflammation : Estimation of neutrophil content with an enzyme marker, *J. Invest. Dermatol.*, 78, 206-209, 1982.
 - 14- Aykaç G, Uysal M, Yalçın AS, Koçak-Toker N, Sivas A, Öz H, The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats, *Toxicology*, 36, 71-76, 1985.
 - 15- Casini A, Ferrali M, Pompella AS, Maellaro E, Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene intoxicated I-mice, *Am. J. Pathol.*, 123, 520-31, 1986.
 - 16- Canavagh RL, Buyniski JP, Schwartz SE. Prevention of aspirin-induced gastric mucosal injury by histamine H₂-receptor antagonists: A crossover endoscopic and intragastric pH study in the dog, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 243, 1179-1184, 1987.
 - 17- Daneshmend TK, Stein AG, Bhaskar NK, Hawkey CJ. Abolition by omeprazole of aspirin induced gastric mucosal injury in man, *Gut*; 31, 514-517, 1990.
 - 18- Elliot SL, Ferris RJ, Giraud AS, Cook GA, Skeljo MV, Yeomans ND. Indomethacin damage to rat gastric mucosa is markedly dependent on luminal pH, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 23, 432-432, 1996.
 - 19- Hernandez-Munoz R, Montiel-Ruiz F. Reversion by histamine H₂-receptor antagonists of plasma membrane alterations in ethanol-induced gastritis, *Dig. Dis. Sci.*, 41, 2156-2165, 1996.
 - 20- Lapenna D, Gioia S, Ciofani G, Festi D, Cucurullo F. Antioxidant properties of omeprazole, *FEBS Lett.*, 382, 189-192, 1996.
 - 21- Suzuki M, Nakamura M, Mori M, Miura S, Tsuchiya M, Ishii H. Lansoprazole inhibits oxygen-derived free radical production from neutrophils activated by *Helicobacter pylori*, *J. Clin. Gastroenterol.*, 20 (Suppl 2), S93-96, 1995.
 - 22- Suzuki M, Mori M, Fukumura D, Suzuki H, Miura S, Ishii H. Omeprazole attenuates neutrophil-endothelial cell adhesive interaction induced by extracts of *Helicobacter pylori*, *J. Gastroenterol. Hepatol.* 141, 27-31, 1999.
 - 23- Wandall JH. Effects of omeprazole on neutrophil chemotaxis, superoxide production, degranulation, and translocation of cytochrome b-245, *Gut*, 33, 617-621, 1992.
 - 24- Yoshikawa T, Naito Y, Kishi A, Tomii T, Kaneko T, Iinuma S, Ichikawa H, Yasuda M, Takahashi S, Kondo M. Role of active oxygen, lipid peroxidation, and antioxidants in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by indomethacin in rats, *Gut*, 34, 732-737, 1993.
 - 25- Tanaka J, Yuda Y. Role of lipid peroxidation in gastric mucosal lesions induced by ischemia-reperfusion in the pylorus-ligated rat, *Biol. Pharm. Bull.*, 16, 29-32, 1993.
 - 26- Hoppenkamps R, Thies E, Younes M, Siegers CP. Glutathione and GSH-dependent enzymes in the human gastric mucosa, *Klin. Wochenschr.*, 62, 183-186, 1984.
 - 27- Palacios B, Montero MJ, Sevilla MA, San Roman L. JB-9322, a new selective histamine H₂-receptor antagonists with potent gastric mucosal protective properties, *Br. J. Pharmacol.* 115, 57-66, 1995.

Evaluation of Antimicrobial Activities of Some Dioxolane Derivatives

Ahu GÜNEY*, Fügen ÖZKANLI^o, Ünsal ÇALIŞ*, Meral ÖZALP**

Evaluation of Antimicrobial Activities of Some Dioxolane Derivatives

Summary : In this study antibacterial and antifungal activities of the synthesized ten dioxolane derivatives which contain azole and condensed azole ring in their structure were determined against 4 bacteria, 2 of them are Gram-positive (Staphylococcus aureus ATCC 25923, Enterococcus faecalis ATCC 29212) and 2 of them are Gram-negative (Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853) and 3 yeast-like fungi (Candida albicans ATCC 90028, Candida krusei ATCC 6258 and Candida parapsilosis ATCC 22019). The activities of the compounds were determined by the broth microdilution method and Cefazidime and Fluconazole were used as standards. Compound 9 and 10 showed activity (4 µg/ml) against S. aureus, compound 1 and 4 showed activity (32 µg/ml) against C. krusei, compound 1 (8 µg/ml) and compound 6 (4 µg/ml) showed activity against C. albicans.

Key Words: Dioxolane, antibacterial activity, antifungal activity, antimicrobial activity

Received : 15.4.2002

Revised : 10.6.2002

Accepted : 14.6.2002

Bazı Dioksolan Türevlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

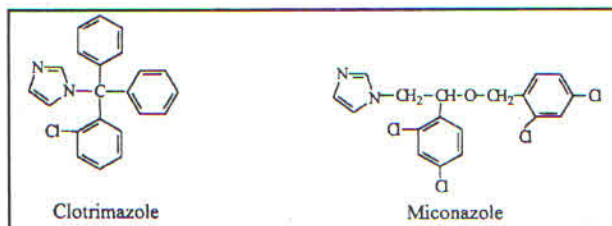
Özet : Bu çalışmada sentezleri daha önceden yapılan, azol ve kondanse azol halkaları içeren dioksolan türevi on tane bileşiğin ikisi Gram-positif (Staphylococcus aureus ATCC 25923, Enterococcus faecalis ATCC 29212) ve ikisi Gram-negatif (Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853) olmak üzere toplam 4 bakteri ve 3 maya benzeri fungusu (Candida albicans ATCC 90028, Candida krusei ATCC 6258 ve Candida parapsilosis ATCC 22019) karşı antibakteriyel ve antifungal etkileri incelenmiştir. Bileşiklerin aktiviteleri mikrodilüsyon yöntemiyle tayin edilmiş ve Cefazidime ve Fluconazole standart olarak kullanılmıştır. Bileşik 9 ve 10, S. aureus'a karşı (4 µg/ml) etkili bulunurken bileşik 1 ve 4, C. krusei'ye karşı (32 µg/ml), bileşik 1 (8 µg/ml) ve bileşik 6 (4 µg/ml) ise C. albicans'a karşı aktif bulunmuştur.

Anahtar kelimeler : Dioksolan, antibakteriyel aktivite, antifungal aktivite, antimikrobiyal aktivite.

INTRODUCTION

Antifungals (antimycotics) are substances used for the treatment of fungal infections. Initial major progress in the therapy of mycoses was made in the 1960's with the introduction of the polyene antimycotics Flucytosine and Griseofulvin of major importance, and later with the development of antifungals of the azole type. These substances as wide spectrum antifungals, are effective in a variety of fungal infections of a wide range and have therefore replaced many older substances.¹⁻⁴

1-Substitue-1H-azoles represent a relatively new class of versatile antifungal agents with an apparently unique mechanism of action. The properties of early members of the class, such as Clotrimazole and Miconazole, were reported independently in 1969⁵.



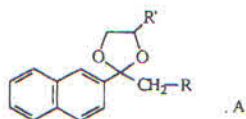
* Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, 06100, Ankara TURKEY.

** Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Microbiology, 06100, Ankara TURKEY.

^o Correspondence

In general, 1-substitue-1H-azoles are effective against most fungi that cause superficial infections of the skin and mucous membranes, including the dermatophytes, such as *Trichophyton*, *Epi-dermophyton*, *Microsporum* and yeasts such as *Candida albicans*.⁴⁻⁸

The primary structural requirement for members of this class is a weakly basic imidazole (or azole) ring bonded by nitrogen-carbon linkage to the remainder of the molecule.^{5,9} On the other hand it was reported that some dioxolane derivatives had remarkable antimicrobial activity.¹⁰ Regarding this fact, these azole containing antimicrobial drugs have prompted us to study some arylalkylazoles having dioxolane group as the alkylene bridge between aryl group and azole ring.



R: Imidazole, pyrazole, 1,2,4-triazole, benzimidazole, benzotriazole

R': -H, -CH₃

A: HCl (Compound 1-4,6-9)

EXPERIMENTAL PART

Minimal inhibitory concentrations (MICs) were determined by broth microdilution following the procedures recommended by the National Committee for Clinical Laboratory Standards^{11,12}. Two Gram-positive (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) and two Gram-negative (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) bacteria were used as quality control strains. For testing antifungal activities of the compounds, these reference strains were tested: *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258 and *Candida parapsilosis* ATCC 22019.

Mueller-Hinton broth (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) was used when testing bacterial strains. For *Candida* species, RPMI-1640 medium with L-glutamine, buffered with MOPS (ICN, FLOW; Aurora, OH, USA) was used. The inoculum densities

were 5×10^5 cfu/ml and $0.5-2.5 \times 10^3$ cfu/ml for bacteria and yeasts, respectively. The test compounds were dissolved in 100 % dimethylsulfoxide (it was not observed that DMSO had no inhibitor effect on the microorganisms studied) and the final two-fold concentrations were prepared from 512 μ g/ml to 0.5 μ g/ml. Ceftazidime and fluconazole (from the respective manufacturers) were used as reference antibiotics for bacteria and yeasts, respectively. The doubling concentrations used for both were 64 μ g/ml to 0.0625 μ g/ml.

For bacteria, MICs were determined after incubation for 24 h at 35 °C and for fungi 48 h at 35 °C. Minimal inhibitory concentrations were defined as the lowest concentrations of the antimicrobial agents that inhibited visible growth of the microorganisms.

RESULTS AND DISCUSSION

The synthesis and structural elucidation of the compounds were published in our previous study¹³. All the compounds were tested for in vitro antimicrobial activity by the microdilution method. The MIC values of the compounds against some pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) and yeasts like fungi (*Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258 and *Candida parapsilosis* ATCC 22019) are presented in Tables 1 and 2.

The antibacterial activity results of the compounds against Gram-positive and Gram-negative bacteria are shown in Table 1. According to the values, Compound 9 and 10 were the most active compounds (4 μ g/ml) against *S. aureus*. It was observed that Compound 9 was the most active against *E. faecalis*.

The results of screening for antifungal activity of compounds are reported in Table 2. Examination of the data in the table revealed that compounds 1 and 4 were found as effective as fluconazole against *C. krusei* (32 μ g/ml). On the other hand Compound 6 was also found to be the most active compound against *C. albicans* (4 μ g/ml). Compounds 1, 5, 8 were more ef-

fective against *C. albicans*. It was observed that compounds 6, 9 and 10 were more effective than the other compounds against *C. parapsilosis*. In view of antimicrobial activity results, we assume that compounds 1,5,6,9 and 10 are the most significant compounds in the series.

Finally, this study suggests that antifungal activities of dioxolane derivatives are more effective than their antibacterial activities.

Acknowledgements

This work was supported by Hacettepe University Research Fund (Project number 98.01.301.003)

Table 1: Antibacterial activity results of the tested compounds (MIC µg/ml)

Compounds	S.aureus (ATCC 25923)	E.faecalis (ATCC 29212)	E.coli (ATCC 25922)	P.aeruginosa (ATCC 27853)
1	64	128	128	256
2	128	128	128	128
3	256	128	256	128
4	256	512	256	512
5	256	128	256	512
6	32	128	256	512
7	256	128	256	512
8	128	128	256	256
9	4	16	256	256
10	4	128	256	256
Ceftazidime	16	-*	0.5	4

* : No activity was observed against *E. faecalis*.

Table 2: Antifungal activity results of the tested compounds (MIC µg/ml)

Compounds	C.albicans (ATCC 90028)	C.krusei (ATCC 6258)	C.parapsilosis (ATCC 22019)
1	8	32	64
2	128	128	128
3	128	128	64
4	128	32	64
5	16	64	64
6	4	64	32
7	128	128	64
8	32	128	64
9	128	64	32
10	128	128	32
Fluconazole	1	32	8

REFERENCES

- Zirngibl L. Fifteen Years of Structural Modifications in the Field of Antifungal Monocyclic-1-substituted -1H-azoles, *Prog. Drug Res.*, 27, 253-383, 1983.
- Godefroi EF, Geenen JJH. 2-Phenetylimidazole Derivatives, Synthesis and Antimycotic Properties, *J. Med. Chem.*, 18, 530-533, 1975.
- Godefroi EF, Heeres J, Cutsem JV, Janssen PAJ. The Preparation and Antimycotic Properties of Derivatives of 1-Phenetylimidazole, *J. Med. Chem.*, 12, 784-791, 1969.
- Heeres J, Von der Bosche H. Antifungal Agents, *Ann.Rep.Med.Chem.*, 15, 139-148, 1980.
- D'Arcy PF, Scott EM. Antifungal Agents, *Prog. Drug Res.*, 22, 93-147, 1978.
- Richardson K, Marriott MS. Antifungal Agents, *Ann. Rep. Med. Chem.*, 22, 159-167, 1987.
- Woolley OW. Some Biological Effects Produced by Benzimidazole and their Reversal by Purines, *J. Biolog. Chem.*, 152, 225-228, 1944.
- Herrling S, Sous H, Kruppe W, Osterloh G, Muckter H. Experimentelle Untersuchungen über eine Neue Gegen Pilze Wirksame Verbindung, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 9, 489-494, 1959.
- Çalış Ü, Özkanlı F, Dalkara S, Yuluğ N. Bazı 2-Asetonafton ve p-Kloroasetofenon Türevleri Üzerinde Yapılan Antibakteriyel ve Antifungal Etki Çalışmaları, *FABAD J. Pharm. Sci.*, 16, 17-22, 1991.
- Walker KAM, Wallach MB, Hirschfeld DR. 1-(Naphthylalkyl)-1H-imidazole Derivatives, A New Class of Anticonvulsant Agents, *J. Med. Chem.*, 24, 67-74, 1981.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. *Approved Standard. M7-A4*, Villanova, PA, 1997.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: *Approved Standard. M27-A*, Villanova, PA, 1997.
- Güney A, Özkanlı F, Çalış Ü, Uzday T. Synthesis and Anticonvulsant Activity of Some New Dioxolane Derivatives, *Arzneim. Forsch./ Drug Res.* (in press).

Beyin Tümörlerinin Tedavisinde İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Uygulanması

Sibel BOZDAĞ*, İmran VURAL*, Yılmaz ÇAPAN^o, Turgay DALKARA**

Beyin Tümörlerinin Tedavisinde İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Uygulanması

Özet : Son yıllarda beyin kanseri görülme sıklığı dramatik bir şekilde artmaktadır. Nörolojik ölümlerde, ölüm nedenleri arasında 2. sırada yer alan beyin tümörü, kanser sonucu meydana gelen ölümlerin % 2' sini oluşturmaktadır. Beyin tümörü taşıyan hastalarda cerrahi ve radyasyon terapisi uygulaması sonrasında ortalama yaşam süresi sekiz-dokuz aydır. Bu nedenle, araştırmalar söz konusu hastaların tedavisi için yeni metodların bulunması doğrultusunda genişletilmektedir.

Bu derlemede, immünoterapi, gen terapisi, fototerapi, kemoterapi, radyasyon tedavisindeki son gelişmeler ve beyin tümörlerine ilaç taşımını sağlayan implantlardan bahsedilmekte ve beyin tümörlerinin tedavisine yönelik olarak yayınlanmış literatür örnekleri verilmektedir.

Anahtar kelimeler : Beyin tümörü, kemoterapi, polimerik ilaç taşıyıcı sistemler.

Received : 13.12.2001

Revised : 27.5.2002

Accepted : 27.6.2002

Application of the Drug Delivery Systems for the Treatment of the Brain Tumors

Summary : The incidence of brain tumors increased dramatically in recent years. Brain tumor is the second major cause of neurologic deaths and causes 2 percent of all cancer deaths. The overall median survival time after treatment of brain tumors with surgery and radiation therapy is eight to nine months. Therefore, research efforts are expanding to find new methods for the treatment of these patients.

In this review, recent developments in immunotherapy, gene therapy, phototherapy, chemotherapy, radiotherapy and implants for drug delivery to brain tumors are discussed, and recent literature on the treatment of brain tumors is presented.

Key Words: Brain tumor, chemotherapy, polymeric drug delivery systems.

GİRİŞ

Beyin tümörleri, kanser sonucu meydana gelen ölümlerin yaklaşık % 2' sini oluşturmaktadır. Popülasyonda beyin tümörlerinin bir yıl içindeki insidensi 8-10/100 000' dir. 1966 yılında A.B.D. Sağlık Bakanlığı tarafından yapılan çalışmada yıllık insidensin 2 yaşındaki çocuklarda 21/100 000, 13-19 yaşındaki gençlerde 1/100 000 olduğu ve 40' lı yaşlardan itibaren artarak 70' li yaşlarda 16/100 000' e ulaştığı bildirilmiştir¹. SEER (National Cancer Institute Surveillance, Epidemiology End Results) programından elde edilen verilere göre yaşlılarda daha

belirgin olmakla birlikte 1973-1985 yılları arasında beyin tümörü insidensinin arttığı bildirilmektedir². Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Daire Başkanlığı'nca yapılan bir çalışmada 1993 yılında Türkiye'de beyin tümörü insidensinin 1.15/100 000 olduğu bildirilmiştir³.

Primer ya da metastatik⁴ olabilen "malign" beyin tümörlerinin son derece öldürücü olması^{5,6} ve tedavide klasik cerrahi ve radyoterapi yöntemleri ile yeterli sonuçlar alınamaması, yeni tedavi şekillerinin araştırılmasına ivme kazandırmıştır. Farmasötik açıdan, bir çok maddeye karşı geçirgen olmayan Kan-Beyin

* Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 06100 Sıhhiye, ANKARA.

** Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, 06100 Sıhhiye, ANKARA.

^o Yazışma Adresi

Engeli (KBE)'nin aşılması için çeşitli stratejilerin araştırılması ve ciddi yan etkilere sahip olan kemoterapötik maddelerin sistemik toksisitelerinin en aza indirilmesi için polimerik ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi büyük önem taşımakta ve tedavi etkinliğinin artırılması yönünde ümit vermektedir.

I. Beyin Tümörlerinin Sınıflandırılması

Literatürde beyin tümörlerinin sınıflandırılmasında çeşitli yaklaşımlar bulunmakla birlikte tümörün kaynaklandığı hücre grubu açısından yapılan genel bir sınıflandırma Tablo 1' de görülmektedir¹. Gliomlar, glial hücreler, astrositler ve oligodendrositlerden kaynaklanan tümörlerdir. Medullablastom, çocukların orta hat serebellar tümörüdür, spinal sıvı akımı ile yayılma gösterebilir. Meninkslerden kaynaklanan meningiom, beyine baskı yapan, fokal nöbetler şeklinde semptomlar gösteren ve yavaş büyüyen bir tümördür. Kraniofaringiom, embriyonik kraniofaringial kanalın kalıntılarından gelişen tümör benzeri anomalidir. Metastatik tümörler en sık görülen, tümör sayısının çoğunlukla birden fazla olduğu beyin tümörleridir. Bu tümörlerde primer tümörün yeri sıklık sırasına göre akciğerler, meme, deri, gastrointestinal sistem ve böbreklerdir⁴.

Malign beyin tümörleri son derece öldürücüdür^{5,6}. 1×10^6 hücre içerebilen ve yaklaşık 10 g ağırlığında olan bu tümörler, klinik olarak semptomatik hale gelmeden önce lokalizasyon ve derecelerine bağlı olarak ödem ile birlikte görülebilir. Malign gliomlar tüm beyin tümörlerinin % 13-22 ' sini meydana getirmektedir⁷. Bazı gliomlar 1×10^{11} adet ya da daha fazla hücre içerip 100 g ağırlığında olabilir, hatta bazıları semptomatik hale gelmeden önce daha da büyüyebilir².

Intrakraniyel basınç artışı, baş ağrısı, bulantı ve kusma (nadiren nabız hızında düşme), oryantasyon bozukluğu, epilepsi, letarji, apati, papilödem gibi semptomlar gösteren⁴ beyin tümörlerinin teşhisinde çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Geleneksel teşhis yöntemleri, serebrospinal sıvıdan alınan sitolojik örnekler ya da parafin yerleştirilmiş kesitler üzerinde konvansiyonel teknikler ile histolojik tabloların oluşturulmasına dayanmaktadır. Bununla birlikte mo-

noklonal ve poliklonal antikörlerin kullanıldığı immünohistokimya, tümör biyokimyası, hücre kültürü, karyotipleme ve onkogen analizindeki son gelişmeler biyopsi dokusu ve serebrospinal örneklere uygulanan teşhis tekniklerinin spektrumunu genişletmiştir⁸.

Tablo 1. Beyin tümörlerinin genel sınıflandırılması¹.

Nöroepitelyal tümörler
Gliomlar
Astrositom (glioblastomları içerir)
Oligodendrositom
Ependimom
Koroid pleksus tümörü
Pineal tümörler
Nöronal tümörler
Gangliogliom
Gangliositom
Nöroblastom
Medullablastom
Sinir kılıfı tümörü - akustik nöroma
Meningial tümörler
Meningiom
Hipofiz tümörleri
Germ hücreleri tümörleri
Germinom
Teratom
Lenfomalar
Tümör benzeri anomaliler
Kraniofaringiom
Epidermoid tümör
Dermoid tümör
Kolloid kist
Metastatik tümörler
Bölgesel tümörlerin lokal uzanımları

II. Tümör Hücre Kinetiği

Hoshino ve arkadaşları⁹⁻¹¹ tarafından yapılan çalışmalarda malign beyin tümörlerinin hücre kinetiği parametreleri incelenerek örneğin glioblastomların % 30-40 oranında çoğalma fraksiyonuna sahip olduğu, hücre siklus sürelerinin yaklaşık 2-3 gün, S (replikasyon) döneminde kalma sürelerinin 4.4-10.5 saat arasında olduğu bildirilmiştir.

Deney hayvanlarında yapılan kinetik incelemeler antineoplastik ilaçların belirli dozlarda yinelenerek verilmelerinden sonra canlı malign hücre sayısında görülen azalmanın kısıtlı olduğunu yani ilaca bir kez maruz kalmakla hücrelerin hepsinin ölmediğini göstermiştir. Bazı antineoplastik ilaçların (döneme özgü olmayan) verilmesinden sonra malign hücre sayısında gözlenen azalma 1. derece kinetiğine uyaktadır. Başka bir deyişle her bir doz hücre sayısında belirli miktarda değil belirli bir oranda azalma yapar. Döneme - özgü antineoplastik ilaçların uygulanmasından sonra ise canlı malign hücre sayısında plato tipi azalma olur, bu tip ilaçlar uygulandıkları zaman sadece belirli bir dönemde (örneğin S döneminde) olan veya ilacın vücutta bulunduğu sırada o döneme giren belirli sayıdaki hücreleri öldürürler, diğer dönemdeki hücreleri etkilemezler¹².

III. Tedavi Yaklaşımları

III.1. Cerrahi İşlem

Beyin tümörlerinde uygulanan cerrahi işlemlerde amaç: a) teşhisi kesinleştirmek, b) artan intrakraniyel basıncın semptomlarını hafifletmek amacıyla tümörü küçültmek, c) yardımcı (adjuvan) tedaviler için ön işlem olarak tümör kütlelerini azaltmak, olarak sıralanabilir.

İşlemin tipi büyük ölçüde tümörün konumu ve hastanın klinik durumu tarafından tayin edilir. Genellikle tümör nörolojik bir hasar bırakmayacak şekilde mümkün olduğunca tamamen kesilip çıkarılır. Tümöre en iyi ulaşılabilecek pozisyonda kraniotomi yapılır. Makroskopik tümör çıkarılmasına alternatif olarak stereotaksik yöntemlerin kullanılması ile en doğru bir biçimde yapılabilen biyopsi, tümör; a) küçük ve derin yerleşimde ise, b) dağılmış ise (makroskopik tümör çıkarılmasının uygun olmaması), c) beyinde yüksek derecede konuşma alanlarını etkileyen tipte ise (a ve b grubunda, intrakraniyel basıncın artması tümörün önemli bir özelliği değilse), uygulanır¹.

Genellikle tüm primer malign tümörlerde uygulanan cerrahi işlem tümör kütlelerinin % 99'unun etkin bir bi-

çimde uzaklaştırılması ile sonuçlanır. Bunun sonucunda intrakraniyel basınç düşer, çoğalan, hareketsiz ve ölü tümör hücrelerinin uzaklaştırılmasıyla semptomlar hafifler. Ancak, çoğu beyin tümörünün infiltratif doğasına ve malign dokudan normal dokuya dönüşümün zor olmasına bağlı olarak geride 1×10^8 - 1×10^9 tümör hücresi kalabilmektedir. Sonuç olarak, sadece cerrahi girişim çok başarılı sonuçlar vermez ve hastaların ortalama hayatta kalış süresi (OHKS)'ni yaklaşık 17 hafta kadar artırabilir⁵.

III.2. Radyasyon Terapisi

Cerrahi işlem sonrası uygulanan radyasyon terapisi genellikle yüksek dereceli gliomların tedavisinde etkin bir yardımcıdır ve gliomlu hastalarda OHKS'ni yaklaşık 37.5 hafta artırır¹³.

Radyasyon terapisi, seçilen tümör hacmine ulaşan radyasyon dozunun homojenitesinin optimizasyonu ve normal beyin bölgelerinde dozun minimuma indirilmesi yönünde planlanır. Günlük alınan radyasyon miktarı komplikasyonların sıklığı ile ilişkili olup maksimum doz 1.8-2.0 Gy/gün'dür. Uygulanan toplam radyasyon dozu tümörün tipine, lokalizasyonuna ve alanın büyüklüğüne bağlı olmakla birlikte gliomlar için genellikle 45-60 Gy'dir. Daha yüksek dozlar beyin nekrozu riskini artırır¹.

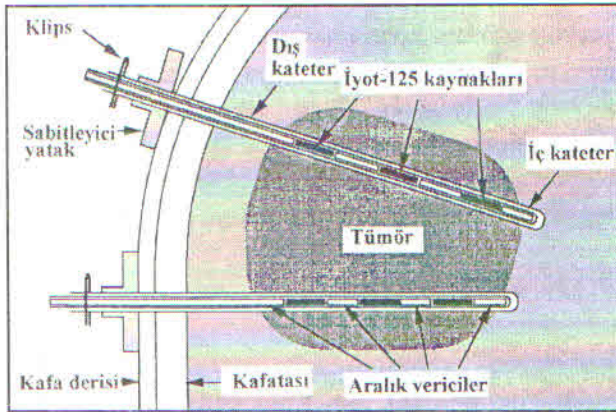
III.2.1. Partikül Işın Tedavisi

Radyasyon terapisinin daha etkin olabilmesi için farklı tipte partikül ışınlarının kullanımı önemlidir. Özellikle nötronlar yüksek derecede Göreceli Biyolojik Etki (GBE) sağlarlar. Protonlar ve helyum çekirdeği (α - parçacıkları) normal dokularda kabul edilebilir risk düzeyinde doz sağlarken tümörde artan doz dağılımı görülür¹⁴. Negatif π -mezonlar (pionlar) ve neon iyonları gibi partiküllerin ışınları GBE ve doz dağılımı açısından avantaj sağlarlar¹⁵. Bor nötron yakalama terapisi (boron neutron capture therapy, BNCT), radyoaktif olmayan bor izotopunun (^{10}B) düşük enerjili nötronlar ile ışınlanması sonucu meydana gelen nükleer reaksiyona dayanır. Reaksiyon sonucunda yüksek sitotoksositeye sahip parçacıklar meydana gelir ve izotopu içine almış olan ya da izotopun bağlı olduğu hücreler tahrip edilir. BNCT için

kliniğe kullanılan maddelere örnek olarak borokaptat sodyum (BSH) ve p-boronofenilalanin (BPA) verilebilir. Bu maddelerin hedef hücrelere taşınmasında lipozom, immünolipozom ve mikrokapsül gibi dozaj şekilleri kullanılmaktadır¹⁶.

III.2.2. Dokuarası (Interstitial) Radyasyon Uygulaması ve Hipertermi

Brakiterapi (brachytherapy), dokuarası ya da tümöre yakın bölgede ışınlamada olduğu gibi yakın mesafede gerçekleştirilen ve radyasyon kaynağının doğrudan tümörün içine yerleştirildiği bir radyasyon terapisi şeklindedir. Dokuarasına implante edilen radyasyon kaynağı tümöre yüksek doz verilmesini sağlarken, civardaki sağlıklı dokulara çok düşük bir dozun ulaşmasına yol açmaktadır (Şekil 1)¹⁷. Brakiterapi için radyasyon kaynağı olarak literatürde İyot-125¹⁸⁻²¹, Altın-198²², İridyum-192²³ gibi radyoaktif elementlerin kullanıldığı görülmektedir.



Şekil 1. Tümör içinde iki adet yüklü kateter içeren beyin implantının şematik görünümü¹⁷.

Sıcaklığın 41 °C' nin üzerinde uygulanması, hücreleri zamanın ve sıcaklığın fonksiyonu olarak öldürür ve hücrelerin radyasyonun verdiği hasarı onarmasını engeller. Hipertermi, doğrudan tümör hücresi öldürülmesi, tümör reoksijenasyonu (tümördeki hipoksik bölgelerin radyasyona hassasiyetini artırmak amacıyla) ve radyosensitizasyonunda lokal kontrolün geliştirilmesi için brakiterapi ile birlikte değerlendirilmektedir. Hipertermi tekniği brakiterapidenden önce ve sonra 15-30 dk süreyle uygulanır. Bu teknikte, brakiterapide radyasyon kay-

nağının implante edilmesinde kullanılan kateter aracılığıyla bir prob uygulanır ve 5-10 dk ısıtma süresinden sonra kararlı durum sıcaklığı sağlanır; bu durumda tümörün minimum sıcaklığı 42.5 °C'dir¹⁷.

III.2.3. Radyocerrahi

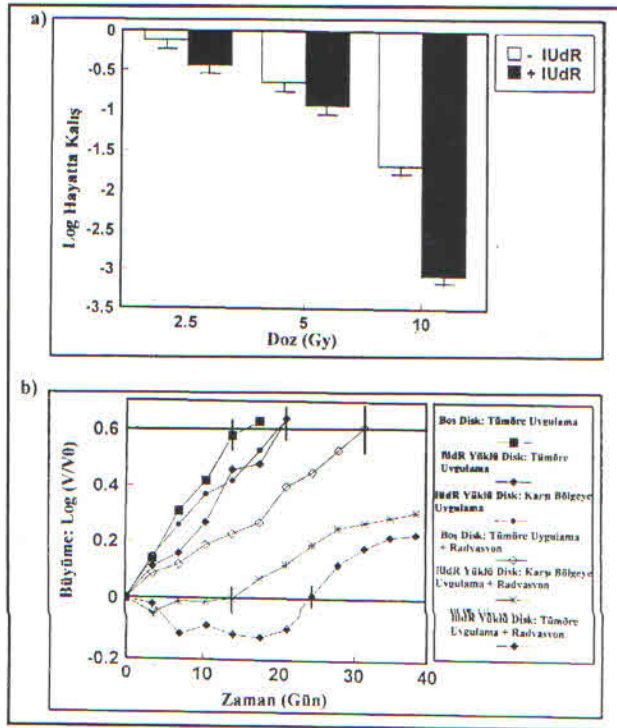
Radyocerrahi, verilen radyasyon dozunun çevre dokulara minimum miktarda ulaşmasını sağlamak ve küçük intrakraniyel hedeflere uygulama yapmak amacıyla, tekli, yüksek dozda iyonize edici radyasyonun stereotaksik yöntem ile dar bir ışın demeti halinde uygulandığı bir tekniktir²⁴. Gama bıçağı radyocerrahisi, doğrusal hızlandırıcı radyocerrahisi ve yüklü partikül radyocerrahisi gibi tipleri bulunmaktadır¹⁷. Malign primer tümörlerin aksine, az çok küresel olan ve iyi sınırlanan metastatik tümörler, mikrocerrahi ya da stereotaksik radyocerrahi için ideal hedeflerdir²⁴.

III.2.4. Radyosensitizerler

Minimum normal doku ve maksimum tümör hasarı oluşturmak amacıyla kullanılan radyosensitizerler, radyasyon ile beraber uygulandıkları zaman basit bir ilave etkiden çok daha fazla tümör hücresinin ölümüne yol açan maddelerdir (örneğin; metronidazol, misonidazol, etanidazol, 5-bromodeoksiüridin (BUdR), 5-iyododeoksiüridin(IUdR)vb.)¹⁷. Çoğu kemoterapötik madde radyasyon dozunda artışa neden olan etkiye sahiptir. Kemoterapötik maddenin radyasyon ile birlikte kullanılması tümörlü ve normal dokuda ek bir toksisiteye neden olmaz; bu maddelere sisplatin²⁵, karmustin²⁶ ve 5-florourasil⁷ örnek olarak verilebilir.

Williams ve arkadaşları²⁷ tarafından yapılan çalışmada radyosensitizer bir madde olan IUdR içeren diskler hazırlanmıştır. Disklerin hazırlanmasında polimer olarak poli(bis(p-karboksifenoksi)propansebasik asit) (PCPP-SA) (20:80) kullanılmıştır. Çalışmanın in vitro bölümünde insan malign gliom hücreleri (U 251), IUdR içeren ya da içermeyen ortam ile işleme sokulmuş ve artan dozlarda ışınlama (0, 2.5, 5 ya da 10 Gy) yapılmıştır. Araştırmacılar, radyasyon dozunun artırılması ile hücre ölümünün arttığını ve bu artışın IUdR diskinin uygulandığı grupta daha

fazla olduğunu bildirmişlerdir (Şekil 2a). Çalışmanın in vivo bölümünde ise farelerin karın sol tarafına U 251 hücreleri subkutan olarak enjekte edilmiş ve tümör oluşumu sağlanmıştır. Daha sonra hazırlanan diskler (IUdR içeren ve içermeyen) tümörün üzerine ve karşı tarafa (karnın sağ tarafı) yerleştirilmiş ve bazı gruplara radyasyon uygulanmıştır. Çalışmada, radyasyon uygulanmayan gruplarda tümör hacminde 4 kat büyüme kaydedilirken radyasyon uygulanan grupta tümör büyümesinde en çok yavaşlamanın IUdR içeren disklerin yerleştirilmesi sonucu elde edildiği bildirilmiştir (Şekil 2b).



Şekil 2. a) İnsan malign gliom hücrelerinin (U251) in vitro olarak IUdR uygulaması ile radyosensitizasyonu. b) İnsan malign gliom hücreleri ile farelerde tümör oluşturulmasını takiben IUdR diskleri ile meydana getirilen radyosensitizasyon²⁷ (Vo: başlangıçtaki tümör hacmi; V: t anındaki tümör hacmi)

III.3. İmmünoterapi

III.3.1. Biyolojik Cevabı Değiştiriciler (BCD)

BCD, tümör hücrelerinin fenotipik karakterlerini değiştirebilen heterojenik bir gruptur (doğal ya da rekombinant) (Tablo 2). Beyin tümörlerinin tedavisinde BCD' in kullanılma nedenleri olarak: a)

hastanın immün durumunun anomali göstermesi, b) tümör hücrelerinin büyümesi ve "immün denetim sisteminden bu hücrelerin kaçabileceği" görüşü, c) sitokinler gibi pek çok BCD'in tümör hücrelerinin biyolojik çevrelerini modüle etmesi, gösterilebilir.

Tablo 2. Malign beyin tümörü tedavisinde kullanılan biyolojik cevabı değiştiriciler¹⁷

Sitokinler
İnterferonlar (IFN- α , IFN- β , IFN- γ)
İnterlökinler (IL 2, IL 4)
Tümör nekroz faktörü (TNF-A)
Pasif immünoterapi
Monoklonal antikorlar
İmmünokonjugatlar
Adoptif immünoterapi
IL2/lemfokinle aktive edilmiş öldürücü hücreler
Tümöre infiltre olan lenfosit hücreleri
Aktif immünoterapi
"Calmette - Guérin" basili
"Corynebacterium parvum"
"Serratia marcescens (Immunert)"
Otolog tümör hücreleri

BCD, genellikle 4 gruba ayrılır: a) aktif immün cevabı tetikleyen maddeler, b) ev sahibi hücre için pasif immünite sağlayan maddeler ya da cisimler (spesifik antikorlar), c) aktive olmuş veya hassaslaşmış immün hücreler (hücre kaynaklı sitotoksik özelliklerin aktarımı), d) çeşitli spesifik olmayan immün cevap sağlayabilen ya da direk olarak tümör hücrelerinin büyüme mekanizmalarını modüle eden maddeler veya cisimler (interferonlar, interlökinler ve diğer sitokinler)¹⁷.

Benveniste ve arkadaşları²⁸ interlökin-2 (IL-2)'nin insan gliom hücre kültürü üzerinde hücre büyümesini inhibe edici etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Iwasaki ve arkadaşları²⁹ yaptıkları çalışmada IL-4'ün tümör nekroz faktörü-A (TNF-A) ve interferon- γ (IFN- γ) ile birlikte kullanıldığında 9L gliom hücre kültüründe hücre büyümesini inhibe ettiği ve IL-4'ün tek başına kullanıldığında etkili olmadığı sonucuna ulaşmışlardır.

İmmünokonjugatlar, bir antikor ve efektör molekülden meydana gelmektedirler. Efektör madde,

tümör hücresi tahribine neden olabilecek bir radyoizotop³⁰, protein toksini³¹ ya da ilaç olabilir. Etketör maddenin tipi tümör tahribinde önemlidir; söz konusu maddenin etki mekanizması bir antijene hedeflenerek etkileşme biçiminde ise uygulama daha etkindir. İnsan gliomunda immünokonjugatlar ilk defa Day ve arkadaşları³² tarafından kullanılmışlardır. Söz konusu araştırmacılar, radyoaktif işaretli tavşan anti gliom antiserumu'nun intraarteriyel enjeksiyon sonrasında insan gliom dokusunda lokalize olduğunu göstermişlerdir.

Sampath ve arkadaşları³³ tarafından yapılan çalışmada iki antikanser ilaç (karmustin ve karboplatin) içeren PCPP-SA (20:80) diskleri hazırlanmış ve bu disklerin lokal olarak IL-2 taşınması ile beraber kullanılması ile elde edilecek terapötik etkinlik değerlendirilmiştir. Çalışmada B16 F-10 melanom hücrelerine mürin IL-2 aktarımı sağlanmış ve daha sonra bu hücreler fare beynine stereotaksik olarak implante edilmiştir. Tümör oluşumunu takiben hazırlanan diskler kortekse yerleştirilmiş ve farelerin OHKS tespit edilmiştir. Çalışmada kombinasyon terapisi ile elde edilen OHKS'nin sadece immünoterapi (lokal IL-2 uygulaması) ya da sadece kemoterapi (antikanser madde içeren disklerin uygulanması) ile elde edilen OHKS'ne göre daha yüksek bulunduğu bildirilmiştir.

III.4. Fototerapi

III.4.1. Fotodinamik Terapi (FDT)

FDT, lokal adjuvan tümör tedavisinin iki aşamalı şeklidir. FDT, tümör dokusu tarafından bir fotosensitizerin selektif alımı ve/veya alıkonmasını takiben uygun dalga boyundaki ışığın uygulanması sonucunda sensitizerin aktive olarak tümörün selektif bir şekilde tahribi şeklinde tanımlanabilir. Bu terapi fotoradyasyon terapisi, fototerapi ve fotokemoterapi gibi değişik şekillerde adlandırılmaktaysa da günümüzde fotodinamik terapi terimi kabul görmektedir. İdeal bir fotosensitizerin özellikleri a) sistemik olarak toksik olmamalı, b) maksimum tümör-beyin selektivitesine sahip olmalı, c) tek bir bileşik olmalı, d) infiltre olan hücrelere ulaşmak için hasar görmeden kan-beyin engelini ge-

çebilmeli ancak normal beyine girmemeli, e) maksimum doku penetrasyonu sağlayan ışık dalga boyu (650-800 nm) ile yüksek düzeyde aktivasyona uğramalı, f) çevre dokularda minimum, tümörde ise maksimum sitotoksik etki göstermeli, g) sistemik dokulardan hızla uzaklaşmalı, şeklinde sıralanabilir. Birinci nesil fotosensitizerlere fotofrin, hematoporfirin türevleri, ikinci nesle ise Rodamin-123, klorinler ve bakteriochlorinler gibi maddeler örnek olarak verilebilir¹⁷.

FDT aynı zamanda cerrahi girişimin etkinliğini artırmak amacıyla klinik nörocerrahide işlem öncesinde, işlem sırasında ve sonrasında kullanılmaktadır³⁴.

III.5. Gen Terapisi

Genetik vektörler eksik ya da hatalı genleri yerine koymak ya da alıcı hücrelere yeni fonksiyonlar öğretmek için kullanılabilir. Beyin tümörü tedavisinde gen transferi, a) tümörün immunojenitesini artırmak ve immün kaynaklı antitümör etkileri etkin hale getirmek, ya da b) bazı ürünleri, alıcı tümör hücrelerinde selektif toksisite sağlayabilecek bir genin transferi için spesifik olarak bu hücrelere hedeflemek amacıyla yapılabilmektedir¹⁷.

Retroviral Vektörler; Ribonükleik asit (RNA) virüsleri ev sahibi hücre genomuna rastgele bir şekilde kromozomlar boyunca entegre olurlar³⁵. Bu entegrasyon retrovirüs kaynaklı gen transferi için temeldir. Bu tip gen transferini kullanan bir çok deneysel çalışma terapötik gen olarak, herpes simplex tip I timidin kinaz (HStk)'ı kullanır³⁶. Bu yaklaşım Moolten ve arkadaşları³⁷ tarafından antiviral bir ilaç olan gansiklovir için HStk'ı ekspres eden hücrelerin hassaslaştırılmasında kullanılmıştır.

Adenoviral Vektörler; Doğal hedefleri solunum yolu epiteli olan adenovirüslerin insanda düşük patojeniteye sahip olmaları, nörotoksik olmamaları ve yüksek titrelerde elde edilmeleri gibi özellikleri, bu virüslerin santral sinir sistemi (SSS) neoplazmalarına gen transferi için taşıyıcı olarak kullanılmalarını çekici hale getirmektedir³⁸. Chen ve arkadaşları³⁹ tarafından fareler üzerinde yapılan çalışmada sıçan C6

gliom hücrelerinin adenovirüs kaynaklı HStk gen transdüksiyonunu takip eden gansiklovir uygulamasının terapötik etkinliği incelenmiş ve kontrol grubuna oranla tümör hacminde 500 kat azalma görüldüğü bildirilmiştir.

Patojenik virüsler seçilen hücre popülasyonu üzerinde toksik etkilerini selektif olarak gösterebileceği için beyin tümörlerinin biyolojik tedavisinde bir potansiyele sahiptirler.

Antisens Oligonükleotid (AO) Hedeflendirilmesi; Antisens oligo(deoksi)nükleotidler ya da oligomer analogları, 15-21 baz nükleotid çifti uzunluğundadır ve nükleotidlerin dizilimi, moleküle hedef olan tamamlayıcı genetik materyal için spesifite sağlar. AO'lerin etki mekanizması, a) DNA transkripsiyonunun inhibisyonu ve b) mRNA translasyonunun inhibisyonu (pasif, reaktif ya da aktif) olarak özetlenebilir. Literatürde bu konuda az sayıda çalışmaya rastlanmakta olup AO'lerin in vitro ortamda malign beyin tümörlerinin büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir⁴⁰.

III.6. Kemoterapi

Bu bölümde beyin tümörü kemoterapisinde kullanılan ilaçların farmakolojik özelliklerinden değil, ilaçların beyine taşınmasında önemli bir yer tutan kan-beyin engelinden, uygulama yollarından ve dozaj şekillerinden bahsedilecektir.

III.6.1. Kan-Beyin Engeli (KBE)

KBE, beyin kapillerlerinin luminal yüzeyini oluşturan, sıkı kavşaklar (tight junctions) ile birbirine bağlanan endotel hücrelerinden meydana gelen bir engeldir⁴¹⁻⁴². Fenestrasyonların (endotel hücreleri arasında görülen boşluklar) bulunmaması, hücrelerarası sıkı kavşakların bulunması, pinositik veziküllerin azlığı ve çok sayıda mitokondri bulunması KBE'ni periferik endotelden farklı kılan özelliklerdir. KBE'nin fonksiyonları: a) kan ile SSS arasında besinlerin ve suda çözünen maddelerin serbest alışverişini kısıtlamak, b) özel taşıma sistemleri aracılığı ile spesifik moleküllerin taşınmasını sağlamak, c) kan ve/veya beyin kaynaklı maddelerin modifikasyonu

/metabolizasyonunu sağlamak, olarak sıralanabilir.

Beyin tümörlerinde KBE, kapillerlerin kısmi tahribi sonucunda vazogenik ödem ile sonuçlanan daha geçirgen bir hal alır¹⁷.

Bir ilacın KBE'den geçebilmesi için, lipitte çözünür olması, fizyolojik pH da iyonize olmamış durumda bulunması, düşük molekül ağırlıklı olması ve serum proteinlerine düşük oranda bağlanması gerektiği bildirilmiştir. KBE'den ilaçların geçişinde lokal serebral kan akımı hızının da önemli olduğu bildirilmiştir².

III.6.2. İlaç Uygulama Bölgeleri

İntravenöz (iv) uygulama, konvansiyonel beyin tümörü kemoterapisinde ilaç taşınımı için en sık kullanılan uygulama yoludur. Gliom tedavisinde intrakarotid ve intratümöral yollar da değerlendirilmektedir⁴³. Nitrozoüreler (karmustin, lomustin vb)⁴⁴ ve sisplatin⁴⁵ gibi ilaçların intrakarotid arter uygulaması yüksek ilaç konsantrasyonu ve düşük sistemik etki sağlamıştır. Bu uygulamanın dezavantajları, ilacın tümöre eşit şekilde dağılmaması ve yöntemin düşük düzeyde difüze olan ilaçlar için uygun olmaması olarak sıralanabilir.

Diğer odaksal tedavilerde olduğu gibi intraarteriyel (ia) uygulamanın amacı sistemik uygulama miktarında verilen ilacın tümöre maksimum oranda taşınmasıdır⁴⁶. Tyler ve arkadaşları⁴⁷ yaptıkları çalışmada karmustinin süperselektif infüzyonunu hastaların orta serebral arterine uygulamış ve daha sonra Positron Emisyon Tomografik Tarama ile inceleme sonucunda ilacın tümöre taşınımında ia uygulamanın iv uygulamaya göre 50 kat daha fazla avantajlı olduğunu bildirmişlerdir.

III.6.3. KBE'ni Aşmak İçin Uygulanan Stratejiler

III.6.3.1. İlaç Modifikasyonu

Lipofilik ilaçlar transselüler difüzyon ile kolayca KBE'den geçebilmektedirler. KBE'den geçemeyen ilaçların lipofilik analoglarının hazırlanması önemli

bir yaklaşımdır⁴⁸. Greig ve arkadaşları² fizyolojik pH larda iyonize durumda olan, plazma proteinlerine yüksek derecede bağlanan ve KBE'nden geçişi minimum olan klorambusilin'in karboksilik asit gruplarını maskeleyerek lipofilik ester formlarını hazırlamışlardır. Ratlara madde ve ester formlarının uygulanması sonucunda ester formlarının beyinde daha yüksek konsantrasyonda bulunduğu tespit edilmiştir.

Lipofilik ilaç taşınımında bir başka görüş ilaçları lipozom içine hapsedmek ve KBE'ni aşmasını sağlamaktır^{49,50}. Doksurubisin (DOX), KBE'den geçişi oldukça düşük olan antikanser bir ilaçtır. Sharma ve arkadaşları⁵¹ tarafından yapılan çalışmada DOX yüklü, yapısında polietilen glikol taşıyan lipozom formülasyonları hazırlanmıştır. Çalışmada serbest DOX ve DOX içeren lipozomlar beyin tümörü oluşturulmuş ratlara iv olarak uygulanmış ve OHKS'leri sırasıyla 23.5 gün ve 31.5 gün olarak (kontrol grubunda 24.5 gün) tespit edilmiştir.

Ön İlaç Kullanımı: İlaç kimyasal bir madde ile bağlanarak lipofilik bir konjugat haline getirilir. Bu ön ilaç, beyinde ilacın hapsi için redoks bazlı kimyasal taşıyıcı sistem olarak oksidasyon ya da esterazlar ile hedef dokuda hidrolize edilebilir. 1-metil-1,4-dihidronikotinat gibi redoks bazlı sistemler östrojen, AZT, gansiklovir gibi ilaçlara başarılı bir biçimde bağlanmakta ve beyine penetrasyonlarını artırmaktadır.

Beyine ilaç taşınımında bir başka yaklaşım da beyinde bulunan özel taşıma sistemlerinin kullanılmasıdır. Kolaylaştırılmış transportun avantajlarından yararlanmak için, ilaç substratı taklit etmek üzere değiştirilir ya da substrata bağlanır. Örneğin Parkinson hastalığında kullanılan L-Dopa, fenilalanin gibi büyük bir nötral aminoasit ile taşınır. Aynı prensip ile şimerik peptid olarak adlandırılan peptidlerin de taşınımı söz konusudur⁴⁸.

III.6.3.2. KBE' de Geri Dönüşümlü Açıklık Oluşturma

III.6.3.2.1. Ozmotik Yaklaşım

Hipertonik çözeltilerin ozmotik etkisi, beyine ilaç ta-

şınımında geçici olarak KBE'nin açılması için kullanılmaktadır⁵². Mannitol^{53,54}, arabinoz⁵⁴, dehidrokolat⁵⁵ gibi maddelerin hipertonik çözeltilerinin uygulanması ile beyinde sıralanan endotel hücrelerin büzülmesi ve sıkı kavşakların açılması sonucunda KBE'de açıklıklar meydana gelmektedir. Bu yolla farklı beyin tümörleri tedavi edilebilmektedir^{56,57}. Bu yaklaşım ile beyin tümörleri için antikor fragmanlarıyla konjuge edilmiş peptidlerin hedeflendirilmesi yapılabilir.

III.6.3.2.2. Biyokimyasal Yaklaşım

Lökotrienler, periferik kapillerlerin geçirgenliğini büyük ölçüde artıran maddelerdir. Normal beyin kapillerleri γ -glutamil transpeptidaz gibi periferik kapillerlerde bulunmayan ve C4 - D4 ve E4 - F4 lökotrienleri inaktive eden enzimlere sahiptir. Ancak beyin tümörü varlığında bu kapillerler söz konusu özelliklerini kaybeder ve C4 lökotrien infüzyonu uygulamasından sonra geçirgenliklerinde bir artış görülür⁵⁸.

III.6.3.3. Polimerik İlaç Taşıyıcı Sistemlerin İmplantasyonu

KBE'nin aşılmasında diğer bir yaklaşım ilaç taşıyıcı polimerik sistemlerin geliştirilmesidir⁵⁹. Bu sistemler ile KBE aşılarak lokal ilaç konsantrasyonu ve etkinliğinde artış ve ilacın sistemik toksisitesinde azalma sağlanmaktadır⁶⁰.

Beyinde kontrollü salım sağlayan polimerik sistemlerin ilk uygulaması kedi üçlü gangliyonundan perivasküler meningeal çıkıntılarının işaretlenmesini amaçlamaktaydı⁶¹. Geliştirilen ilk polimerik aletler makroskopik implantlardı ve *monolitik aletler* olarak isimlendirilmişlerdi⁶².

Büyüklikleri nedeniyle süspansiyon içindeki mikropartiküller, stereotaksi yöntemi ile beyinin fonksiyonel alanlarına çevre dokulara zarar vermeden kolayca implante edilebilir. Bu teknik ile büyük implantların açık cerrahi ile zahmetli bir şekilde yerleştirilmesinden kaçınılır⁵⁹.

III.6.3.3.1. Polimerik İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Kullanılan Polimerler

Beyine implante edilen ilk polimerik ilaç taşıyıcı aletler polidimetilsiloksan (Silastic®)⁶³, poli(etilen-kovinilasetat) (EVAc)⁶², polimetil metakrilat⁶⁴, polistren ve etil selüloz⁶⁵ gibi biyoparçalanabilir olmayan polimerler kullanılarak üretilmiştir. Biyoparçalanabilir polimerlerin medikal alana girmesiyle bu polimerlerin doğal makromoleküller (insan ya da sığır albumini (HSA, BSA), jelatin, kolajen, aljinat, kitosan vb) ve alifatik poliester ve polianhidritler gibi sentetik olan tipleri kullanılmıştır. Alifatik poliesterler, poli(α -hidroksiasit)ler ve poli (ϵ -kaprolakton)'dan meydana gelmektedir. Oldukça yavaş bir biçimde biyoparçalananan poli(ϵ -kaprolakton) üzerinde Menei ve arkadaşlarının⁶⁵ yaptığı çalışmada bu polimer ile elde edilen mikrokürelerin sıçan beynine implantasyonundan 9 ay sonra dahi biyolojik olarak parçalanmadığı ve iyi tolere edildiği bildirilmiştir. Poli (α -hidroksiasit)ler laktik ve/veya glikolik asit ünitelerinden meydana gelirler. Poli(laktid-ko-glikolid) (PLGA) kopolimerlerinin biyoparçalanma hızı polimer yapısına bağlı olarak 1 aydan birkaç yıla kadar değişebilir ve gama ışınlamasıyla (polimerde meydana gelebilen değişiklere karşı) kolayca sterilize edilebilirler⁶⁶. PLGA mikrokürelerinin beyin dokusu

ile uyumlu olduğu Menei ve arkadaşları⁶⁷ tarafından gösterilmiştir.

Polianhidritler mutajenik, sitotoksik ve teratojenik olmayan polimerler olup, biyoparçalanmaları birkaç günden birkaç yıla kadar uzayabilmektedir⁶⁸. Bu polimerlerin beyin dokusu ile uyumlu olduğu gösterilmiştir⁶⁹. Bir polianhidrit kopolimer olan PCPP-SA 'in de beyin dokuları ile uyumlu olduğu bildirilmiştir⁷⁰.

III.6.3.3.2. Polimerik İlaç Taşıyıcı Sistemler ile Beyine Implante Edilen İlaçlar

Tablo 3' de beyin tümörlerinin tedavisine yönelik, polimerik ilaç taşıyıcı sistemler ile beyne implante edilen bazı ilaçlar görülmektedir⁷¹. Bu bölümde, bu ilaçlardan bazıları ile yapılan çalışmalara örnekler verilecektir.

5 - Florourasil (5-FU)

Menei ve arkadaşları⁷ tarafından 5-FU içeren ve farklı in vitro salım kinetikleri gösteren PLGA mikroküreleri hazırlanmıştır. In vitro ortamda hızlı ve yavaş salım gösteren mikrokürelerden yüklenen 5-FU'nin % 100'ünün salınması için gereken süre sı-

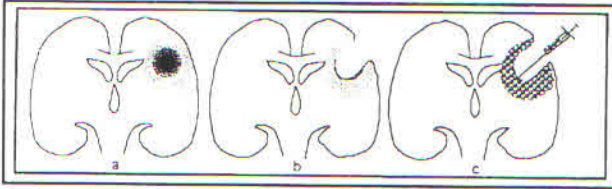
Tablo 3. Polimerik ilaç taşıyıcı sistemler ile beyine implante edilen bazı antikanserojen ilaçlar⁷¹.

Polimer	Taşıyıcı Sistem		İlaç
	Tip	Boyut	
Polidimetilsiloksan	pellet*	-	5-FU
Polimetilmetakrilat	iğne şekilli pellet*	7-10x0.81-1.6 mm	mitomisin, adriamisin, nimustin, 5-FU
Polimetilmetakrilat	pellet	-	metotreksat
Etilenvinilasetat kopolimeri	silindir	1.5 x 1.5 x 1 mm	heparin - kortizon
Etilenvinilasetat kopolimeri	silindir	2.5 x 2.2 mm	deksametazon
Etilenvinilasetat kopolimeri	disk	3 x 3 x 1 mm	minosiklin
Etilenvinilasetat kopolimeri	silindir	2.5 x 2.5 mm 1.4 cm x 1 mm	karmustin
Polianhidrit kopolimer	disk*	2.5 cm x 1 mm 3 x 1 mm	karmustin
Polianhidrit kopolimer	disk	2.5 mm (çap)	taksol
Polianhidrit kopolimer	disk	2 x 1 mm	hidroperoksi-siklofosfamid
Poli (DL-laktid)	çubuk	10 x 0.8 mm	metotreksat
Poli(DL-laktid-ko-glikolid)	mikroküre*	20-40 μ m	5-FU
Poli (DL-laktid-ko-glikolid)	mikroküre	30 μ m	karmustin

* klinik denemelerde kullanılmıştır.

rasıyla 72 saat ve 18 gün olarak bulunmuştur. Bu iki grup mikrokürenin sıçan beynine implantasyonundan sonra in vitro salımdan daha uzun bir in vivo salım periyodu gözlenmiştir (hızlı ve yavaş salım sağlayan mikroküreler için sırasıyla 12 ve 20 gün). Yapılan terapötik değerlendirmede sadece yavaş salım sağlayan mikrokürelerin sıçan ölümünü önemli bir şekilde azalttığı bildirilmiştir. Elde edilen bu sonucun sistemik olarak uygulandığında etkisiz olan 5-FU'in lokal ve sürekli taşınımı ile meydana geldiği bildirilmiştir.

Aynı araştırma grubu^{71,72} tarafından yapılan bir başka çalışmada, 8 adet yeni glioblastoma teşhisi konmuş hastada tümör çıkarıldıktan sonra oluşan kavitenin duvarına 5-FU içeren PLGA mikroküreleri implante edilmiştir (Şekil 3). Daha sonra hastalar 6



Şekil 3. 5-FU yüklü PLGA mikrokürelerinin implantasyonu⁷¹.
a) malign gliom ve infiltre olan tümör hücreleri
b) tümörün cerrahi operasyon ile çıkarılması.
c) tümörün alınması ile oluşan kaviteye mikrokürelerin implantasyonu.

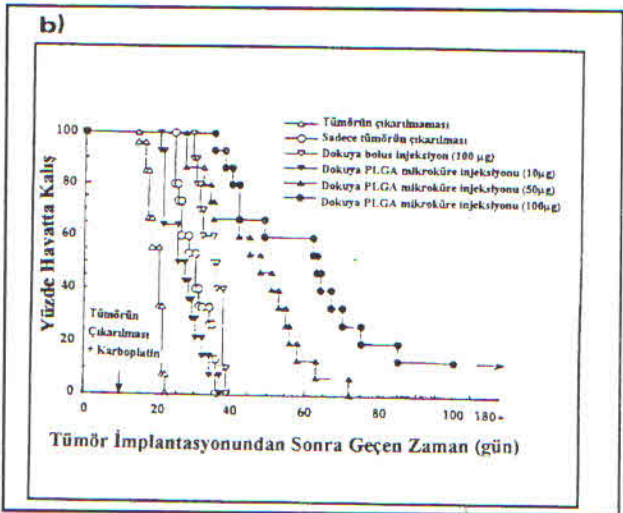
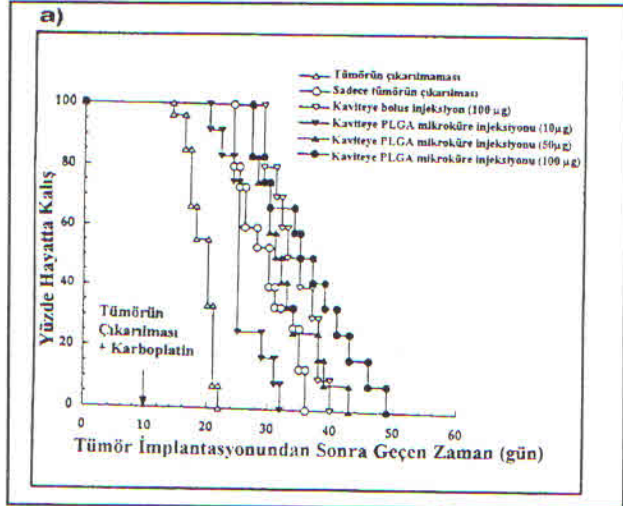
haftalık bir konvansiyonel fraksiyonlandırılmış radyoterapiye tabi tutulmuştur (60 Gy). 70 mg (I. grup) ve 132 mg (II. grup) dozda 5-FU içeren mikroküre uygulanan hiç bir hastada nörolojik ya da sistemik bir toksisite gözlenmemiştir. Çalışmada serbrospinal sıvıda 30. günde etken madde tayin edilebilmiştir. Yapılan en son kontrolde bütün hastalar için OHKS'nin 98 hafta olduğu ve in vivo değerlendirmenin devam ettiği bildirilmiştir.

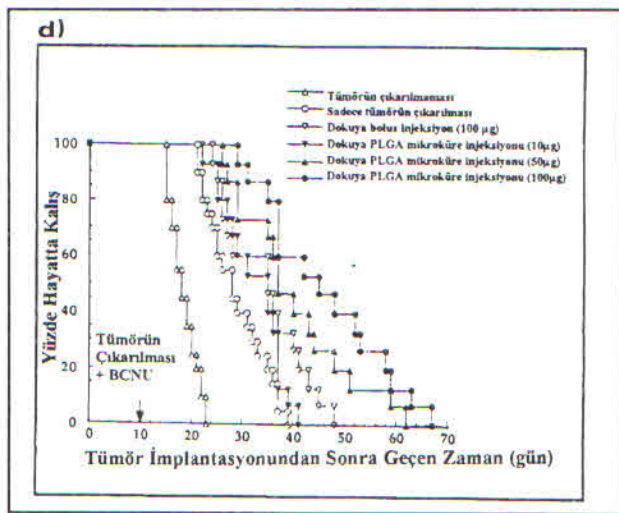
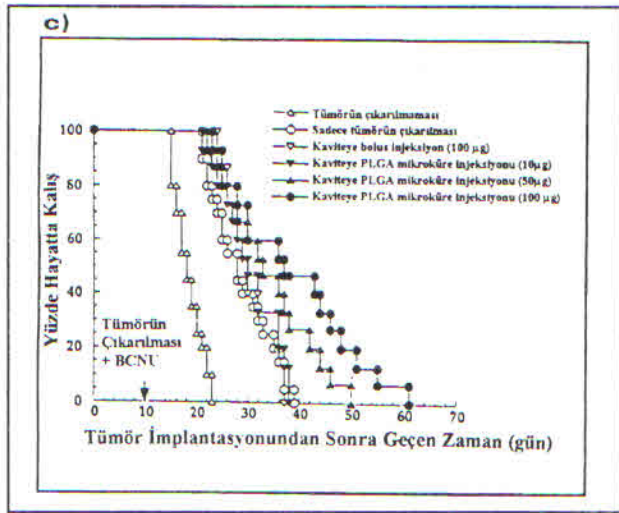
Karmustin (BCNU)

Beyin tümörlerinin tedavisinde etkin bir biçimde kullanılan BCNU, düşük moleküler ağırlığa sahip, lipofilik bir ilaçtır. Fizikokimyasal özellikleri nedeniyle iv uygulamayı takiben KBE'den geçebilen bu maddenin biyolojik sıvılardaki yarı ömrünün kısa olması (yaklaşık 12 dk) ve önemli derecede sistemik toksisite göstermesi kullanımını kısıtlamaktadır⁶⁰. Bu nedenle bir çok araştırmacı hazırladıkları polimerik ilaç ta-

şıyıcı sistemler ile bu problemi aşmaya çalışmaktadır^{60,73-76}.

Emerich ve arkadaşları⁷⁷ tarafından yapılan bir çalışmada gliom tedavisinde enjeksiyon yolu ile kullanılmak üzere BCNU ve karboplatin içeren PLGA mikroküreleri hazırlanmıştır. İn vitro ortamda, yüklenen ilacın % 100'ünün salınması için gereken süre BCNU için 14 gün, karboplatin için 14-21 gün olarak bulunmuştur. Daha sonra hazırlanan mikroküreler gliom oluşturulmuş sıçanlara uygulanmıştır. 4 gruba ayrılan sıçanlarda 1. grupta tümör çıkarılmamış, 2. grupta ise sadece tümör çıkarılmıştır. 3. grupta tümör çıkarıldıktan sonra oluşan kavite içine ya da kavite duvarına 100 µg BCNU ve karboplatin içeren bolus enjeksiyonlar yapılmış, 4. grupta yine kavite içi ya da duvarına etken madde içeren mikroküreler enjekte edilmiştir. Her bir grup için OHKS' nin belirlenmesi sonucu (Şekil 4) yapılan karşılaştırmada, tümörün

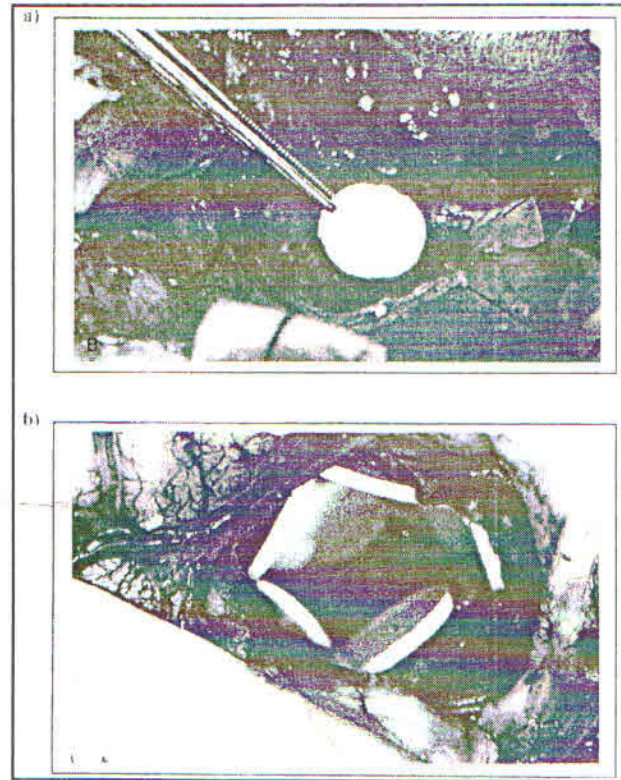




Şekil 4. a) Karboplatin'in bolus enjeksiyonu (100 µg) ya da karboplatin yüklü (10 µg, 50 µg yada 100 µg, total) mikrokürelerin tümörün çıkarılmasından sonra oluşan kaviteye direk implantasyonu sonucu belirlenen hayatta kalış yüzdeleri.
 b) Karboplatin'in bolus enjeksiyonu (25 µg/alan) ya da karboplatin yüklü (2.5 µg, 12.5 µg ya da 25 µg/alan) mikrokürelerin tümörün çıkarılmasından sonra oluşan kavite etrafındaki dokuya 4 farklı yerden implantasyonu sonucu belirlenen hayatta kalış yüzdeleri.
 c) BCNU'in bolus enjeksiyonu (100 µg) ya da BCNU yüklü (10 µg, 50 µg ya da 100 µg, total) mikrokürelerin tümörün çıkarılmasından sonra oluşan kaviteye direk implantasyonu sonucu belirlenen hayatta kalış yüzdeleri.
 d) BCNU'in bolus enjeksiyonu (25 µg/alan) ya da BCNU yüklü (2.5 µg, 12.5 µg ya da 25 µg/alan) mikrokürelerin tümörün çıkarılmasından sonra oluşan kavite etrafındaki dokuya 4 farklı yerden implantasyonu sonucu belirlenen hayatta kalış yüzdeleri⁷⁷.

linmaması < sadece tümörün alınması < bolus kemoterapi < sürekli salım kemoterapi şeklinde bir sıralama elde edilmiştir. Aynı zamanda çalışmada karboplatin içeren mikrokürelerin kavite duvarına enjeksiyonu sonucunda elde edilen OHKS'nin kavite içine enjeksiyonu ile elde edilen değerden daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

BCNU içeren implantlar, Brem ve arkadaşları⁷⁸ tarafından PCPP-SA (20:80) kopolimeri ile hazırlanmış ve tekrar eden malign gliomlu 21 hasta üzerinde Faz I-II çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Tümörün çıkarılmasından sonra, hazırlanan implantlar oluşan kaviteye yerleştirilmiş (Şekil 5) ve implantlardan 3



Şekil 5. a) BCNU içeren PCPP-SA (20:80) steril implantın tümörün çıkarılması ile oluşan kaviteye cerrahi işlem ile yerleştirilmesi.
 b) BCNU içeren PCPP-SA (20:80) steril implantların tümörün çıkarılması ile oluşan kaviteye cerrahi işlem ile dizilmesi^{17,78}.

hafta boyunca ilaç salımı gözlenmiştir. Çalışmada hastalar düşük, orta ve yüksek dozun kullanıldığı 3 gruba ayrılmış ve elde edilen OHKS'leri sırasıyla 65, 64 ve 32 hafta olarak belirlenmiştir. Hastaların % 38'inin implantasyondan sonra 1 yıldan fazla yaşadığı ve herhangi bir toksik etki görülmediği bil-

dirilmiştir. Aynı grup tarafından⁷⁹ 27 merkezde ve 222 hasta üzerinde benzer bir çalışma yapılarak BCNU içeren PCPP-SA (20:80) diskleri hazırlanmış ve tümör çıkarıldıktan sonra hastalara uygulanmıştır. Plasebo diskin yerleştirildiği 112 hastada OHKS 23 hafta iken, BCNU içeren disklerde bu değer 110 hasta için 31 hafta olarak bulunmuştur.

PCPP-SA (20:80) ile hazırlanan BCNU içeren implant FDA tarafından kabul edilmiştir ve Gliadel® ismi ile ticarileştirilmiştir.

Karboplatin

Platin türevi antikanser ilaçlardan olan karboplatinin sistemik toksik etkilerini ortadan kaldırmak ve lokal uygulama sağlamak için PCPP-SA (20:80) ve dimer erusik asit ve sebasik asitten sentezlenen FAD:SA (18:78) kopolimerleri kullanılarak implant hazırlanmıştır⁸⁰. Çalışmada gliom oluşturulmuş bir grup sıçana intraperitoneal (ip) olarak karboplatin çözeltisi, diğer bir grup sıçana da hazırlanan implantlar yerleştirilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PCPP-SA implantlarında OHKS' nin 23 günden % 2 ve % 5 etken madde içeren gruplar için sırasıyla 46.5 ve 86.5 güne çıktığı; FAD:SA implantlarında (% 5 etken madde içeren) ise 19 günden 53 güne yükseldiği ve lokal uygulamanın sistemik uygulamaya göre daha etkin olduğu bildirilmiştir.

Taksol

Bitkisel kaynaklı bir taksan türevi olan, yumurtalık, meme ve akciğer kanserlerinde etkin bir biçimde kullanılan taksolün malign glioma karşı etkili olduğu in vitro ortamda gösterilmiştir⁸¹. KBE'ni geçme yeteneği oldukça zayıf olan taksolün PCPP-SA (20:80) polimeri ile implantı hazırlanmış⁸² ve sıçanlarda 9L gliosarkoma modelinde incelenmiştir. Hazırlanan implantlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında OHKS'nin % 40 ve % 20 etken madde taşıyan implantlar için 19 günden 38 ve 61.5 güne çıktığı bildirilmiştir.

Kamptotesin

Weingart ve arkadaşları⁸³ tarafından yapılan çalışmada EVAc polimeri ile kamptotesin içeren imp-

lantlar hazırlanmış ve 9L gliosarkoma oluşturulmuş sıçanların bir grubuna implante edilmiştir. Sıçanların başka bir grubuna da ip kamptotesin uygulanmıştır. Kontrol grubu ile yapılan karşılaştırmada implant uygulanan sıçanların % 59'unda OHKS'nin 32 günden 120 günün üzerine çıktığı ve sistemik uygulamanın ise kontrol grubuna oranla OHKS'nde bir artış sağlamadığı bildirilmiştir.

4-Hidroksiperoksisiklofosamid (4-HC)

Siklofosamid'in hidrofilik bir türevi olan 4-HC'in FAD-SA polimeri ile implant formu hazırlanmış ve F98 gliom hücreleri enjekte edilmiş sıçanlara enjeksiyondan 5 gün sonra etken madde içeren ve içermeyen implantlar yerleştirilmiştir. Boş implant yerleştirilen sıçanlarda OHKS 22 gün iken % 10 ve % 20 4-HC içeren implantlarda bu değer sırasıyla 28 ve 35 gün olarak bulunmuştur⁷⁵.

Metotreksat (MTX) - Dekstran

Lokal ilaç taşınımında, terapötik etkinliğin artırılması amacıyla, etkin maddeler modifiye edilebilmektedir¹⁷. Dang ve arkadaşları⁸⁴ MTX' i dekstran ile konjuge ederek FAD-SA polimeri ile implant hazırlamış ve 9L gliosarkoma oluşturulmuş sıçanların beynine yerleştirmişlerdir. Çalışmada modifiye edilmemiş MTX ile hazırlanan implantlara oranla OHKS'nde önemli bir artış meydana geldiği bildirilmiştir.

Bozdağ ve arkadaşları⁸⁵⁻⁸⁶ tarafından yapılan çalışmalarda beyin tümörlerinin tedavisine yönelik olarak antikanser bir ilaç olan mitoksantron yüklü PLGA mikroküreleri hazırlanmış ve etkin tedavi için gerekli olan kontrollü salımın elde edildiği bildirilmiştir.

Literatürde, oksantrazol⁸⁷, mitomisin, adriyamisin⁸⁸ gibi antikanser ilaçları içeren ve beyne implante edilmek üzere hazırlanmış polimerik ilaç taşıyıcı sistemlerine de rastlanmaktadır.

SONUÇ

Günümüzde bazı tipleri dışında tedavi edilemeyen

hastalıkların başında gelen kanserin en öldürücü şekli olan malign beyin tümörlerinde, hastaların hayatta kalış sürelerinin uzatılması için araştırmalar büyük bir yoğunlukla devam etmektedir. Klasik tedavi yöntemlerinin tatmin edici sonuçlar vermemesi, teknoloji ve moleküler genetikte kaydedilen ilerlemeler, radyasyonla tedavi ve kemoterapide yeni yaklaşımların araştırılmasına ve immünoterapi, fototerapi ve gen terapisi gibi yeni tedavi şekillerinin geliştirilmesine neden olmuştur. Kemoterapinin ana ilkesi, hastanın normal hücrelerine zarar vermeksizin tümör hücresinin öldürülmesi ya da çoğalmasının durdurulmasıdır. Bu amaçla, ciddi yan etkilere sahip olan kemoterapötik maddelerin sistemik toksisitesinin azaltılmasını ve ilacın tümörlü bölgede konsantrasyonunu sağlayan polimerik ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Günümüzde bu sistemlerden bazılarının insanlar üzerinde Faz I ve II çalışmaları yapılmış ve hatta bazıları ticari olarak satışa sunulmuştur. Bu alan ile ilgili çalışmalar üzerinde yoğunlaşıp hasta uyuncunun artırılarak, yaşam kalitesinin düzeltilmesi ve yaşam süresinin uzatılması için daha etkin sistemlerin geliştirilmesinde araştırmacılara büyük görevler düşmektedir.

KAYNAKLAR

1. Kaye AH. Essential Neurosurgery, Churchill Livingstone Inc., Singapore, 93-134, 1997.
2. Greig NH, Genka S, Rapoport S I. Delivery of vital drugs to the brain for the treatment of brain tumors, *J. Control. Rel.*, 11, 61-78, 1990.
3. TC Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Daire Başkanlığı. Kanser Bildirimlerinin Değerlendirilmesi 1993-1994, Bizi Büro Basımevi, Ankara, 3-9, 1997.
4. Varlı K. Ana Hatlarıyla Nöroloji, Öztekin Matbaası, Ankara, 113-127, 1989.
5. Walker MD, Green SB, Byar DP. Randomized comparisons of radiotherapy and nitrosoureas for the treatment of malignant glioma after surgery, *N. Eng. J. Med.*, 303, 1323-1329, 1980.
6. Hildebrand J. Current status of chemotherapy of brain tumors, *Prog. Exp. Tumor Res.*, 29, 152-166, 1985.
7. Menei P, Boisdron-Celle M, Croue A, Guy G, Benoit JP. Effect of stereotactic implantation of biodegradable 5-fluorouracil-loaded microspheres in healthy and C6 glioma bearing rats, *Neurosurgery*, 39, 117-124, 1996.
8. Becker EL, Jay V. Tumors of the Central Nervous System in Children, Deutsch M (ed.), Management of Childhood Brain Tumors, Kluwer Academic Publishers, Boston, 5-51, 1990.
9. Hoshino T, Kobayashi S, Townsend JJ, Wilson CB. A cell kinetic study on medullablastomas, *Cancer*, 55, 1711-1713, 1985.
10. Hoshino T, Wilson CB. Cell kinetic analyses of human of human malignant brain tumors (gliomas), *Cancer*, 44, 956-962, 1979.
11. Hoshino T, Wilson CB, Rosenblum ML. Chemotherapeutic implications of growth fraction and cell - cycle time in glioblastomas, *J. Neurosurg.*, 43, 127-135, 1975.
12. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Toraman ve Ulucan Matbaası, Ankara, Cilt 1, 954-1017, 1987.
13. Paoletti P, Knerich R, Adinolfi D, Butti G, Pezotta G. Therapy for Central Nervous System Malignant Tumors, Neuwelt E (ed.), Brain Tumors: Biopathology and Therapy, *Advances in the Biosciences*, Pergamon Press, Oxford, Vol 58, 223-235, 1985.
14. Tatsuzaki H, Urie MM, Linggood R. Comparative treatment planning: proton versus x-ray beams against glioblastoma multifome, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 22, 265-269, 1991.
15. Fowler PH, Perkins DH. The possibility of therapeutic application of beams of negative π -mesons, *Nature*, 189, 524-530, 1961.
16. Mehta SM, Lu DR. Targeted drug delivery for boron neutron capture therapy, *Pharm. Res.*, 13, 344-351, 1996.
17. Berger MS, Wilson CB. The Gliomas, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1999.
18. Ryken TC, Hitchon PW, VanGilder JC, Wen BC, Jani S. Interstitial Brachytherapy versus cytoreductive surgery in recurrent malignant glioma, *Stereotact. Funct. Neurosurg.*, 63, 241-245, 1994.
19. Willis B, Heilbrun MP, Sapozink MD, McDonald PR. Stereotactic interstitial Brachytherapy of malignant astrocytomas with remarks on postimplantation computed tomographic appearance, *Neurosurgery*, 23, 348-354, 1988.
20. Voges J, Treuer H, Schlegel W, Pastyr O, Sturm V. Interstitial irradiation of cerebral gliomas with stereotactically implanted iodine-125 seeds, *Acta Neurochir.*, 58, 108-111, 1993.
21. Schulder M, Black P McL., Shrieve CD, Alexander III E, Loeffler JS. Permanent low-activity iodine-125 implants for cerebral metastases, *J. Neuro-Oncol.*, 33, 213-221, 1997.
22. Thomson ES, Afshar F, Plowman PN. Paediatric brachytherapy II. brain implantation, *The Br. J. Rad.*, 62, 223-229, 1989.
23. Saw CB, Suntharalingam N, Ayyangar KM. Dosimetric considerations of stereotactic brain implants, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 17, 887-891, 1989.
24. Larson DA, Bovo F, Eisert D. Current radiosurgery practice: results of an ASTRO survey. Task force on stereotactic radiosurgery, American Society for therapeutic ra-

- diology and oncology, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 28, 523-526,1994.
25. Fu KK, Kitty NL, Rayner PA, The influence of time sequence of cisplatin administration and continuous low dose rate irradiation on the combined effects on a murine squamous cell carcinoma, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2, 2119-2122,1985.
 26. Levin VA, Wilson CM, Davis RL. Phase III comparison of BCNU, hydroxyurea and radiation therapy for treatment of primary malignant gliomas, *J. Neurosurg.*, 63, 218-223, 1985.
 27. Williams JA, Dillehay LE, Tabassi K, Sapos E, Fahiman C, Brem H. Implantable biodegradable polymers for IUDR radiosensitization of experimental human malignant glioma, *J. Neuro-Oncol.*, 32, 181-192, 1997.
 28. Benveniste, EN, Tozawa H, Gasson JC. Response of human glioblastoma cells to recombinant interleukin-2, *J. Neuroimmunol.*, 17, 301-305,1988.
 29. Iwasaki K, Rogers LR, Esters ML. Modulation of proliferation and antigen expression of a cloned human glioblastoma by interleukin 4 alone and in combination with tumor necrosis factor-alpha and/or interferon-gamma, *Neurosurgery*, 33, 489-495,1993.
 30. Mausner LF, Srivastava SC. Selection of radionuclides for radioimmunotherapy, *Med. Phys.*, 20,503-507, 1992.
 31. Pastan I, Willingham MC, FitzGerald DJ. Immunotoxins, *Cell*, 47, 641-645,1986.
 32. Day ED, Lassiter S, Woodhall B. The localization of radioantibodies in human brain tumors: I. Preliminary exploration, *Cancer Res.*, 25, 773-776, 1965.
 33. Sampath P, Hanes J, DiMeco F, Tyler B, Brat D, Pardoll DM, Brem H. Paracrine immunotherapy with interleukin-2 and local chemotherapy is synergistic in the treatment of experimental brain tumors, *Cancer Res.*, 59, 2107-2114, 1999.
 34. Kaye AH, Hill JS. Photodynamic therapy of cerebral tumors, *Neurosurgery Q*, 1,223-358,1992.
 35. Miller DG, Adam MA, Miller AD. Gene transfer by retroviral vectors occurs only in cells that are actively replicating at the time of infection, *Mol. Cell Biol.*, 10,4239-4242,1990.
 36. Barba D, Hardin J, Ray J. Thymidine kinase-mediated killing of rat brain tumors, *J. Neurosurg.*, 79, 729-735, 1993.
 37. Moolten FL. Tumor chemosensitivity conferred by inserted herpes thymidine kinase genes:paradigm for a prospective cancer control strategy, *Cancer Res.*, 46, 5276-5281, 1986.
 38. Lemarchand P, Jaffe H, Danel C. Adenovirus-mediated transfer of a recombinant human alpha1-antitrypsin cDNA to human endothelialcells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89,6482-6486, 1992.
 39. Chen SH, Shine HD, Goodman JC. Gene therapy for brain tumors: regression of experimental gliomas by adenovirus-mediated gene transfer in vivo, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91,3054-3057,1994.
 40. Behl C, Winkler J, Bogdhan U. Autocrine growth regulation in neuroectodermal tumors as detected with oligodeoxynucleotide antisense molecules, *Neurosurgery*, 33, 679-684, 1993.
 41. Reese T, Karnosvsky M. Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase, *J. Cell Biol.*, 34, 207-217, 1967.
 42. Brightman MW, Hori M, Rapoport SI, Reese T, Westergaad E. Osmotic opening of tight junctions in cerebral endothelium, *J. Comp. Neurol.*, 152, 317-326, 1973.
 43. Collins JM. Pharmacokinetics of intraventricular administration, *J. Neurooncol*, 1, 283-285,1983.
 44. Rosenblum ML, Dougherty DA, Wilson JB. Rational planning of brain tumor therapy based on laboratory investigation: comparison of single and multiple-dose BCNU schedules, *Br. J. Cancer*, 41,253-261, 1980.
 45. Steward DJ, Benjamin RS, Zimmerman S. Clinical pharmacology of intraarterial cisdiamminedichloroplatinum (II)., *Cancer Res.*, 43, 917-923, 1983.
 46. Madajewicz S, Chowhan N, Tfayli A, Roque C, Meek A, Davis R, Wolf W, Cabahug C, Roche P, Manzione J, Iliya A, Shady M, Hentschel P, Atkins H, Braun A. Therapy for patients with high grade astrocytoma using intraarterial chemotherapy and radiation therapy, *Cancer*, 88, 2350-2356, 2000.
 47. Tyler JL, Yamamoto L, Diksic M. Pharmacokinetics of superselective intra-arterial and intravenous ¹¹C-BCNU evaluated by PET., *J. Nucl. Med.*, 27, 775-781, 1986.
 48. Kalyanasundaram S, Leong KW. Intracranial drug delivery systems, *STP Pharm. Sci.*, 7, 62-70,1997.
 49. Shibata S, Ochi A, Mori K. Liposomes as carriers of cisplatin in to the central nervous system, experiments with 9L gliomas in rats, *Neurol. Med.Chir.*, 30, 242-245, 1990.
 50. Koukourakis MI, Koukouraki S, Fezoulidis I, Kelekis N, Kyrias G, Archimandritis S, Karkavitsas. High intratumoral accumulation of "stealth" liposomal doxorubicin (Caelyx") in glioblastomas and in metastatic brain tumours, *Br. J. Cancer*, 83, 1281-1286, 2000.
 51. Sharma US, Sharma A, Chau RI, Straubinger RM. Liposome-mediated therapy of intracranial brain tumors in a rat model, *Pharm. Res.*, 14, 992-998, 1997.
 52. Emerich DF, Snodgrass P, Dean R, Agostino M, Hasler B, Pink M, Xiong H, Kim BS, Bartus RT. Enhanced delivery of carboplatin into brain tumours with intravenous Cereport™ (RMP-7): dramatic differences and insight gained from dosing parameters, *Br. J. Cancer*, 80, 964-970, 1999.
 53. Neuwelt EA, Frenkel EP, D'Agostino AN. Growth of human lung tumor in the brain of the nude rat as a model to evaluate antitumor agent delivery across the blood-brain barrier. *Cancer Res.*, 45, 2827-2833,1985.
 54. Bullard DE, Bigner DD. Blood-brain barrier disruption

- in immature Fisher 344 rats, *J. Neurosurgery*, 60,743-750, 1984.
55. Spigelman MK, Zapulla RA, Malis LI. Intracarotid dehydrocholate infusion: a new method for prolonged reversible blood-brain barrier disruption, *Neurosurgery*, 12, 606-612, 1983.
 56. Neuwelt EA, Goldman DL, Dahlborg SA, Crossen J, Ramsey F, Roman - Goldstain S, Braziel R, Dana B. Primary CNS lymphoma treated with osmotic blood-brain barrier disruption: prolong survival and preservation of cognitive function, *J. Clin. Oncol.*, 9, 1580-1590, 1991.
 57. Neuwelt EA, Balaban E, Diehl J, Hill S, Frenkel E. Successful treatment of primary central nervous system lymphomas with chemotherapy after osmotic blood-brain barrier opening, *Neurosurgery*, 12, 662-671, 1983.
 58. Black KL, King WA, Ikezaki K. Selective opening of the blood- tumor barrier by intracarotid infusion of leukotrien C4, *Acta Neurochir. Suppl.*, 51, 140-141, 1990.
 59. Benoit JP, Faisant N, Venier-Julienne MC, Menei P. Development of microspheres for neurological disorders: from basics to clinical applications, *J. Control. Rel.*, 65, 285-296, 2000.
 60. Chasin M, Hollenbeck G, Brem H, Grossman S, Colvin M, Langer R. Interstitial drug therapy for brain tumors: a case study, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 16, 2579-2594, 1990.
 61. Mayberg M, Langer R, Zervas N, Moskowitz M. Perivascular meningeal projections from cat trigeminal ganglia: possible pathway for vascular headaches in man, *Science*, 213, 228-230, 1981.
 62. Langer R. Polymer implants for drug delivery in the brain, *J. Control. Rel.*, 16, 53-60, 1991.
 63. Oda Y, Uchida T, Murata T, Mori K, Tokuriki Y, Handa H, Kobayashi A, Hashi K, Kieler J. Treatment of brain tumors with anticancer pellet. experimental and clinical study, *No Shienki Geka*, 10,375-381, 1982.
 64. Rama B, Mandel T, Jansen J, Dingeldein E, Mennel HD. The intraneoplastic chemotherapy in a rat brain tumour model utilizing methotrexate-polymethylmethacrylate-pellets, *Acta Neurochir. Wien.*, 87, 70-75, 1987.
 65. Menei P, Croue A, Daniel V, Pouplard-Barthelaix A, Benoit JP. Fate and biocompatibility of three types of microspheres implanted into the brain, *J. Biomed. Mater. Res.*, 28, 1079-1085, 1994.
 66. Spenlehauer G, Vert M, Benoit JP, Boddaert A. In vitro and in vivo degradation of poly (D,L lactide/glycolide) type microspheres made by solvent evaporation method, *Biomaterials*, 10, 557-563, 1989.
 67. Menei P, Daniel V, Montero-Menei C, Brouillard A, Pouplard-Barthelaix, Benoit JP. Biodegradation and brain tissue reaction to poly(D,L lactide-co-glycolide) microspheres, *Biomaterials*, 14, 470-478, 1993.
 68. Leong KW, Brott BC, Langer R. Bioerodible poly-anhydrides as drug-carrier matrices I: characterization, degradation and release characteristics, *J. Biomed. Mater. Res.*, 19, 941-955, 1985.
 69. Leong KW, D'Amore P, Marletta M, Langer R. Bioerodible poly-anhydrides as drug-carrier matrices II: biocompatibility and chemical reactivity. *J. Biomed. Mater. Res.*, 20, 51-64, 1986.
 70. Tamargo RJ, Epstein JJ, Reinhard CS, Chasin M, Brem H. Brain biocompatibility of a biodegradable, controlled release polymer in rats, *J. Biomed. Mater. Res.*, 23, 253-266, 1989.
 71. Menei P, Venier-Julienne MC, Benoit JP. Drug delivery into the brain using implantable polymeric systems, *STP Pharma Sci.*, 7, 53-61, 1997.
 72. Menei P, Venier MC, Gamelin E, Saint-Andre JP, Hayek G, Jadaud E, Fournier D, Mercier P, Guy G, Benoit JP. Local and sustained delivery of 5-fluorouracil from biodegradable microspheres for radiosensitization, *Cancer*, 86, 324-329, 1999.
 73. Grossman SA, Reinhard C, Colvin MO, Chasin M, Brundrett R, Tamargo RJ, Brem H. The intracerebral distribution of BCNU delivered by surgically implanted biodegradable polymers, *J. Neurosurg.*, 76, 640-647, 1992.
 74. Brem H, Tamargo R, Alessandro O, Pinn M, Weingart JD, Wharam M, Epstein JJ. Biodegradable polymers for controlled delivery of chemotherapy with and without radiation therapy in the monkey brain, *J. Neurosurg.*, 80, 283-290, 1994.
 75. Judy KD, Alessandro O, Buahin KG, Domb A, Epstein JJ, Colvin OM, Brem H. Effectiveness of controlled release of a cyclophosphamide derivative with polymers against rat gliomas, *J. Neurosurg.*, 82, 481-486, 1995.
 76. Emerich DF, Winn SR, Snodgrass P, LaFereniere D, Agostino M, Wiens T, Xiong H, Bartus RT. Injectable chemotherapeutic microspheres and glioma II: enhanced survival following implantation into deep inoperable tumors, *Pharm. Res.*, 17, 776-781, 2000.
 77. Emerich DF, Winn SR, Hu Y, Marsh J, Snodgrass P, LaFereniere D, Wiens T, Hasler BP, Bartus RT. Injectable chemotherapeutic microspheres and glioma I: enhanced survival following implantation into cavity wall of debulked tumors, *Pharm. Res.*, 17, 767-775, 2000.
 78. Brem H, Mahaley S, Vick NA, Black KL, Schold SC, Burger PC, Friedman AH, Ciric IS, Eller TW, Cozzens JW, Kenealy JN. Interstitial chemotherapy with drug polymer implants for the treatment of recurrent gliomas, *J. Neurosurgery*, 74, 441-446, 1991.
 79. Brem H, Piantadosi S, Burger PC, Walker M, Selker R, Vick NA, Black KL, Sisti M, Brem S, Mohr G, Muller P, Morawetz R, Schold SC. Placebo-controlled trial of safety and efficacy of intraoperative controlled delivery by biodegradable polymers of chemotherapy for recurrent gliomas, *The Lancet*, 345, 1008-1012, 1995.
 80. Olivi A, Ewend MG, Utsuki T, Tyler B, Domb AJ, Brat DJ, Brem H. Interstitial delivery of carboplatin via bio-

- degradable polymers is effective against experimental glioma in the rat, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 39, 90-96, 1996.
81. Cahan MA, Walter KA, Colvin OM. Cytotoxicity of taxol in vitro against human and rat malignant brain tumors, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 33, 441-444, 1994.
 82. Walter KA, Cahan MA, Gur A, Tyler B, Hilton J, Colvin OM, Burger PC, Domb A, Brem H. Interstitial taxol delivered from a biodegradable polymer implant against experimental malignant glioma, *Cancer Res.*, 54, 2207-2212, 1994.
 83. Weingart J, Thompson R, Tyler B. Local delivery of the topoisomerase I inhibitor camptothecin prolongs survival in the rat intracranial 9L gliosarcoma model, *Int. J. Cancer*, 62, 605-612, 1995.
 84. Dang W, Colvin O, Brem H. Covalent coupling of methotrexate to dextran enhances the penetration of cytotoxicity into a tissue-like matrix, *Cancer Res.*, 54, 1729-1735, 1994.
 85. Bozdağ S, Çapan Y, Vural I, Hincal AA, DeLuca PP. Mitoxantrone loaded poly(D,L-lactide-co-glycolide) microspheres for treatment of brain tumors I. Formulation and release characteristics, 8th Biomedical Science and Technology Symposium, September 5-8, Ankara, Turkey, 2001.
 86. Bozdağ S, Çapan Y, Vural I, Hincal AA, DeLuca PP. Validation of an HPLC method for quantitative analysis of mitoxantrone, AAPS Annual Meeting and Exposition, October 21-25, Denver, USA, 2001.
 87. Hassan EE, Gallo JM. Targeting anticancer drugs to the brain: enhanced brain delivery of oxantrazole following administration in magnetic cationic microspheres, *J. Drug Targeting*, 1, 7-14, 1993.
 88. Kubo O., Tajika Y, Muragaki Y. Local chemotherapy with slowly-releasing anticancer drug polymers for malignant brain tumors, *J. Control. Rel.*, 32, 1-8, 1994.

Vücuttaki İlaç Dağılımı ve Eliminasyonu Üzerine Eritrositlerin Etkisi

Selma ŞAHİN^{*o}, Emel Öykü ÇETİN^{**}

Vücuttaki İlaç Dağılımı ve Eliminasyonu Üzerine Eritrositlerin Etkisi

Özet : Pek çok ilaç için plazma ve eritrositler arasındaki dengenin çok hızlı bir şekilde sağlandığı varsayıldığından eritrositlerin vücuttaki ilaç dağılımı ve eliminasyonunu (dispozisyon) etkilemesi beklenmez. Ancak, eritrositlere yavaş penetre olan ve/veya eritrosit bileşenlerine bağlanan ilaçlar, eliminasyon organlarının kapillerlerinden ayrılmayacakları için bu ilaçların vücuttaki dağılımı ve eliminasyonu eritrositler tarafından etkilenecektir. Bu derlemede eritrositlerin genel özellikleri, kan-plazma konsantrasyon oranı, vücuttaki ilaç dispozisyonuna etkileri ve ilaç metabolizasyonundaki rolü tartışılmış, uygulama alanları kısaca incelenmiştir.

Anahtar kelimeler : Eritrositler, Dispozisyon, Metabolizma, Farmakokinetik

Received : 23.7.2001
Revised : 12.3.2002
Accepted : 2.4.2002

Effect of Erythrocytes on Drug Distribution and Elimination within the Body

Summary : As the equilibration of many drugs between plasma and erythrocytes has been assumed to occur very fast, erythrocytes are not expected to influence the drug distribution and elimination (disposition) within the body. However, disposition of drugs that penetrate slowly to erythrocytes and/or bound to erythrocytes components will be influenced by the erythrocytes, as they cannot leave the capillaries of eliminatory organs. In this review, general characteristics of erythrocytes, blood to plasma concentration ratio, their effects on the drug disposition within the body and their role in drug metabolism were discussed, and their usage was investigated briefly.

Key Words: Erythrocytes, Disposition, Metabolism, Pharmacokinetics

GİRİŞ

Vücuttaki (veya organdaki) ilaç dispozisyonu üzerine kan akış hızı, kan ve/veya doku bileşenlerine bağlanma, enzimatik aktivite ve membran permeabilitesi gibi pek çok faktör etki etmektedir¹. Pek çok ilaç eritrositlerle kısa sürede dengeye ulaştığı için vücuttaki ilaç dispozisyonu üzerine eritrositlerin etkisinin fazla olmadığı kabul edilir. Eritrositlere hızlı penetre olan ilaçlar için bu varsayım doğru olmasına rağmen penetrasyonu yavaş olan ve/veya hemoglobinin, hücre membranı, karbonik anhidraz gibi eritrosit bileşenlerine bağlanan ilaçlar için geçerli değildir. Sadece plazmadaki serbest ilacın vücutta da-

ğıldığı ve elimine edildiği düşünülürse, eritrositlerde tutulan ilaçlar eliminasyon organlarının kapillerlerinden ayrılmayacakları için hemen elimine edilemeyecek, dolayısıyla farmakokinetik parametreleri de serbest ilaca göre farklılık gösterecektir. Diğer taraftan eritrositlerin metabolik olarak aktif olması eritrositlerde bulunan ilacın metabolize olmasına neden olabilecektir. Eritrositler doğal olmaları, biyolojik olarak geçimli olmaları nedeniyle ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmaktadırlar. Ayrıca, sadece vasküler boşlukta dağılmaları bu sistemin görüntülenmesi ve hacminin tayin edilmesi amacıyla da kullanılmalarına yol açmıştır.

* Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 06100 Sıhhiye, ANKARA.

** Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 35100 İZMİR.

^o Yazışma Adresi

Eritrositlerin Genel Özellikleri

Kan, şekilli elemanların (eritrosit, beyaz kan hücresi, trombosit) plazmadaki bir süspansiyonudur. Bu şekilli elemanlardan eritrositler hem sayı (erkeklerde 5.5-6 milyon/mm³, kadınlarda 4.5-5 milyon/mm³) hem de hacim (total kan hacminin % 40-50' si) açısından en büyük grubu oluşturur. Eritrosit sayısının normalden az olması anemi, normalden fazla olması ise polistemi olarak adlandırılır²⁻⁴. Eritrosit hacminin total kan hacmine oranı hematokrit olarak ifade edilir. Bu değer in sistemik dolaşım ve dokular arasında farklılık gösterdiği, sistemik hematokritin doku hematokrit değerinden daha yüksek olduğu belirtilmiştir^{5,6}.

Eritrositler 7-9 µm çapında, 2 µm kalınlığında, 83 µm³ hacminde ve 163 µm² yüzey alanına sahip bikonkav disklerdir⁷. Kemik iliğinde üretilirler. Sadece oluşum safhasında çekirdekleri vardır ve şekilleri düzensizdir, olgunlaştıklarında hücre içi organelleri kaybettiklerinden dolayı protein sentez edemezler. Eritrositler yaşlandıkça şekillerini kaybederler ve elektrolit içerikleri azalır, yoğunlukları ve hemoglobin konsantrasyonları artar. Yaşam sürelerinin sonunda (100- 120 gün) retiküloendotelial sistem tarafından sistemik dolaşımdan uzaklaştırılırlar⁸⁻¹³. Bu süre boyunca eritrositlerin kardiyovasküler sistemde 250 km yol katedebildikleri belirtilmiştir¹⁴.

Eritrositler, hücre membranı ve sitoplazma olmak üzere başlıca iki kısımdan oluşur. Hücre membranı 7-10 nm kalınlığında olup 0.4 nm çapında porlar içeren elastik bir katı gibi davranır. Temel bileşenleri fosfolipidler, kolesterol ve proteinlerdir. Çift tabaka şeklinde düzenlenmiş olan membran lipidleri permeabilite için bir engel oluşturduğu gibi lipidlerin kimyasal yapısındaki değişiklikler de eritrositlerin permeabilite özelliklerini değiştirebilmektedir. Membran proteinleri ise reseptörler, taşıyıcılar ve enzimleri kapsamaktadır. Bu proteinlerin elektroforezle ayrılması sonucu çeşitli bantlar gözlenmiştir. Bu bantlardan 3 nolu bantın bir anyon kanalı olduğu ve her bir eritrosit membranının yaklaşık 1.2x10⁶ band 3 molekülü içerdiği belirtilmiştir^{8,10,11,15,16}.

Eritrositlerin sitoplazması Newtonian akış gösteren

bir sıvı olup pH'sı (pH 7.1-7.3) plazma pH'sından (pH 7.4) düşüktür. Enzimleri, ilaç bağlayan proteinleri ve hücreye kırmızı rengini veren hemoglobini içermektedir^{8,11,14,17}. Yetişkin bir insandaki total proteinlerin %10'una karşılık gelen miktardaki hemoglobin (760 g) eritrositlerde yer almaktadır¹⁴. Hemoglobinin O₂, CO₂ ve NO gibi küçük moleküllerle etkileştiği ve kan basıncının kontrolünde de bir rolü olabileceği belirtilmiştir¹⁸. Ayrıca, karbondioksitin geri dönüşümlü olarak hidrolizini katalize eden karbonik anhidraz enziminin %90'ı eritrositlerde yer almaktadır^{14,19}.

Eritrositler, hücre zarının elastik yapısı nedeniyle yüksek kayma gerilimi altında elastik deformasyona uğrarlar. Deformasyon derecesi membran elastisitesi, sitozolik viskozite, yüzey alanı ve hücre hacmi gibi faktörlere bağlıdır⁸. Ayrıca kolesterol ve fosfolipid oranının da deformasyonda önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir²⁰. Ancak, deformasyon esnasında eritrosit hacmi, yüzey alanı ve kalınlığında herhangi bir değişiklik olmaz⁸. Eritrositlerin deforme olabilmesi önemli bir reolojik kavram olup bu özellikleri nedeniyle kendi çaplarından çok daha küçük kapillerden kolayca geçerler. Ancak geçebilecekleri en küçük damar çapının 2.8 µm olduğu belirtilmiştir^{21,22}.

Eritrositler hipotonik bir çözeltiye konduğunda hücre zarının yırtılarak hemoglobin kaybetmesi olayına hemoliz, elde edilen diskoid yapılar ise "ghost" adı verilir. Genellikle bu yapıların intrasellüler yapıdan yoksun olduğu ve esas olarak membrandan oluştuğu varsayılmaktadır. Diğer taraftan hipertonic çözeltiye konulan eritrositler su kaybederek büzülürler. Bu olay geri dönüşümlü olmasına rağmen hemoliz olayı geri dönüşümsüzdür^{2,23,24}.

Kan-Plazma Konsantrasyon Oranı

Pek çok farmakokinetik çalışmada plazma klerensi tayin edilmektedir. Ancak klerens değeri ekstraksiyon oranının tayininde kullanılacağı zaman, ekstraksiyon oranı ve organın kan akışı ile doğrudan ilişkili olan kan klerensinin kullanılması gerekmektedir. Bu durumda plazma klerensinin kan klerensine dönüştürülmesi gerekir ki bu da kan-

plazma konsantrasyon oranının deneysel olarak tayin edilmesiyle sağlanır. Hematokrit değerinin (H), plazma proteinlerine bağlanmanın (f_u) ve kan hücrelerine ilginin (σ) bir fonksiyonu olan bu oran, denge durumunda aşağıdaki eşitlik ile verilmiştir¹.

$$\frac{C_b}{C} = 1 + H [f_u \sigma - 1] \quad (1)$$

Eritrositlere ilgisi çok fazla olan ilaçlar için bu oran çok yüksek bir değer olup plazma proteinlerine olan afinite arttıkça 1-H değerine yaklaşmaktadır. Örneğin, plazmayla eritrositler arasında kolayca dengeye ulaşan üre için bu değer 1 iken²⁵, eritrositlere ilgisi fazla olan asetazolamid için 2.9²⁶, klorokin için 3.5²⁷, hidrosiklorokin için 7.2²⁸, klortalidon için 30.7²⁹ ve metazolamid için ise 241³⁰ olarak tayin edilmiştir. Ancak bu oran ilacın plazma proteinlerine ya da diğer kan bileşenlerine (akyuvar, lipoprotein, platelet gibi) afinitesinin yüksek olmasına^{31,32}, bağlanmada doygunluğun söz konusu olduğu durumlarda ortamdaki ilaç konsantrasyonuna^{26,33,34} ve ortamda diğer ilaçların bulunmasına³⁵ bağlı olarak değişebilmektedir.

Eritrosit Membranından Penetrasyon

Plazma ve eritrosit içeriği arasında büyük farklar olmasına rağmen (ör. hücre içindeki protein konsantrasyonu plazmadan daha yüksektir), eritrositler yaşam süreleri boyunca hem hacim hem de iyonik içerik açısından kararlı bir durumda kalırlar. Bu durum, hücre membranının permeabilite özelliğine ve elektrokimyasal potansiyel gradyanına karşı iyon taşıyıcı mekanizmaların varlığına bağlıdır³⁶. Eritrosit membranından penetrasyon maddenin yapısına bağlı olarak gerçekleşir. Su ve üre gibi bazı maddeler için plazma ve eritrositler arasındaki denge çok kısa sürede sağlanırken bazı maddeler için bu süre çok daha uzundur (Tablo 1). Yapılan araştırmalarda küçük organik anyon, katyon ve nonelektrolit moleküllerin eritrosit membranından penetrasyonunda yağda çözünürlük, molekül büyüklüğü ve maddenin kimyasal yapısının önemli olduğu belirtilmiştir^{36,38,44}. Yağda çözünürlük arttıkça eritrosit membranından permeabilitenin arttığı ancak mo-

Tablo 1. Maddelerin eritrositlere penetrasyon süreleri

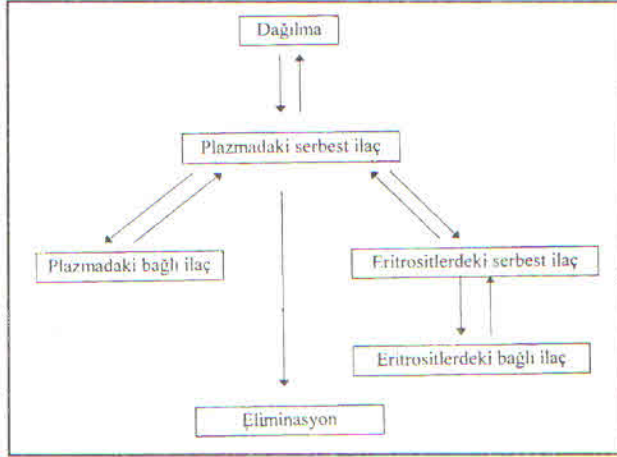
Madde	Penetrasyon	
	Süresi	Kaynak
Su	4.2 msn.	37
Üre	0.3 sn.	38
Propranolol	20 sn.	39
Tiyoure	2 dak.	40
Doksozobisin	1-2.5 dak.	41
Valproat	3 dak.	42
Hidro kortizon		
Pentazosin	5 dak.	42
Fentonil		
Busulfan		
Trisiklik antidepresanlar		
Klortalidon	15 dak.	43
Asetaminofen	40 dak.	26

lekül büyüklüğü arttıkça permeabilitenin azaldığı bulunmuştur. Ayrıca molekülün hidrojen bağı oluşturma kapasitesi arttıkça eritrosit membranından penetrasyonu azalır³⁸. Lipofilik yapıdaki organik maddeler membranın lipid tabakalarında çözünerek eritrosit içine girerken küçük hidrofilik maddeler (<150 d) porlar aracılığı ile hücre içine girmektedir. Organik yapıdaki anyonik ve katyonik ilaçlar ve nonelektrolitlerin pasif difüzyon yoluyla eritrositlere girdiği belirtilmiştir^{44,45}. Bazı ilaçların eritrositlere penetrasyonunda ise pasif difüzyon ve aktif transport gibi iki taşıma işleminin paralel olarak gerçekleştiği tayin edilmiştir^{26,46}.

Vücuttaki İlaç Dispozisyonu Üzerine Eritrositlerin Etkisi

Pek çok ilaç kandaki plazma proteinleri ile etkileşerek ilaç-protein kompleksi oluşturmakta ve/veya eritrosit gibi kan hücrelerine penetre olmaktadır. Bağlı yada penetre olmuş ilaçlar kapiller yataktan ayrılamadıkları için sadece plazmada serbest halde bulunan ilacın vücutta dağıldığı ve eliminasyona uğradığı kabul edilmektedir (Şekil 1).

Yapılan hayvan deneylerinde eritrositlerin karaciğer kapillerlerinden ortalama geçiş zamanının 10 sn civarında olduğu bulunmuştur^{47,48}. Böbrek korteksi ve medullası için bu değerler sırasıyla 2.5 sn ve 28 sn



Şekil 1. Kan kompartmanlarındaki ilaç dağılımı

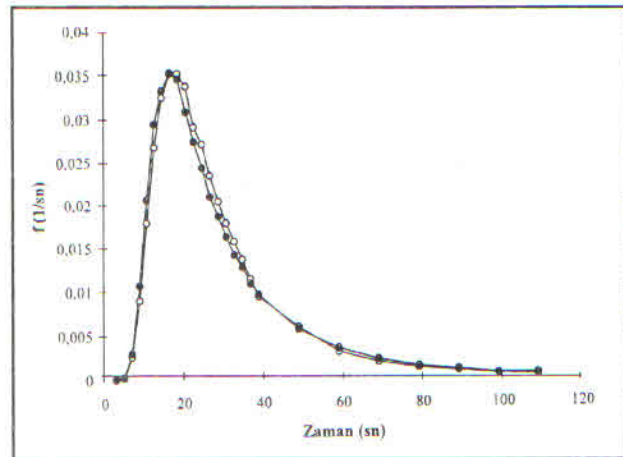
olarak tayin edilmiştir⁴⁹. Serbest haldeki ilaç bu süre zarfında kapiller yataktan ayrılarak elimine edilebileceği halde, eritrositlere penetre olmuş bir ilacın dispozisyonu o ilacın eritrositlerden serbestleşme hızının kanın eliminasyon organlarından ortalama geçiş zamanından daha hızlı ya da yavaş olmasına bağlı olarak değişecektir. Eğer bir maddenin eritrositlerden plazmaya olan partisyonu eritrositlerin eliminasyon organlarından ortalama geçiş süresinden daha kısa ise (su için 4.2 msn, Tablo 1), ilaç plazma ve eritrositler arasında serbestçe hareket edeceğinden o ilacın dispozisyonu üzerine eritrositlerin bir etkisi olmayacaktır. Ancak bu süre eritrositlerin kapillerlerden ortalama geçiş zamanından çok daha uzun ise (tiyoüre için 2 dak, Tablo 1), eliminasyon organlarından geçiş esnasında eritrositlerde bulunan ilacın plazmaya geçebilmesi için gerekli süre yetersiz olacağı için, eritrositlerde bulunan ilaç eritrositlerle birlikte taşınacak ve bu fraksiyon eliminasyondan kurtulacaktır. Benzer şekilde, eritrosit bileşenlerine (eritrosit membranı, hemogloblin, karbonik anhidraz, proteinler) bağlanmış olan moleküller de eliminasyon organlarındaki kapillerlerden ayrılamayacakları için hemen elimine edilmeyecekler ve dolaşımında daha uzun süre kalacaktır^{14,39,41}. Eritrosit bileşenlerine bağlanan ilaç örnekleri Tablo 2'de verilmiştir. İlaçların eritrositler tarafından bu şekilde taşınması Goresky ve ark.⁶² tarafından "Red Cell Carriage" olarak adlandırılmış ve bugüne kadar pek çok araştırmaya konu olmuştur.

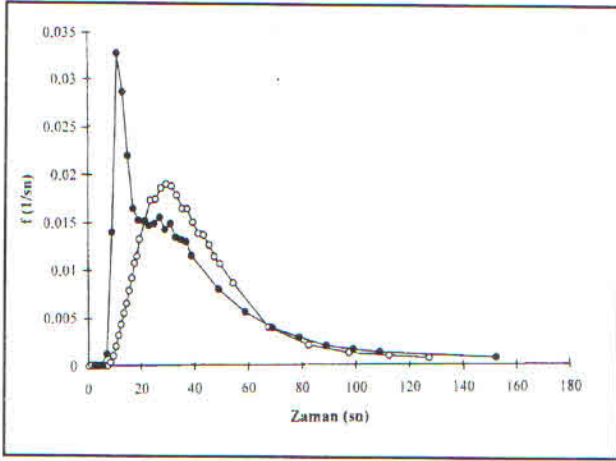
Eritrositlerin karaciğerdeki ilaç dağılımı üzerine etkisini inceleyen bir çalışmada, fizikokimyasal açıdan

Tablo 2. Eritrosit bileşenlerine bağlanan ilaçlar ve bağlanma bölgeleri

Bağlanma bölgesi	İlaç	Kaynak
Hücre membranı	Klorpromazin	50, 51
	Kodein	14
	İmipramin	31
Karbonik anhidraz	Klortalidon	35, 52
	Asetazolamid	53, 54
	Dorzolamid	55
	Sülfonamidler	56
	Hemogloblin	Barbitüratlar
Hemogloblin	Digoksin ve türevleri	14
	İmipramin ve türevleri	14
	Nitrofurantoin	14
	Fenotiyazinler	59
	Fenitoin	60
	Salisilik asit	58, 61

olduğu benzer olan ancak plazmayla eritrositler arasındaki dağılıma dengesine ulaşma süreleri farklı olan üre (0.3 sn³⁸) ve tiyoüre (2 dk⁴⁰) kullanılmıştır. Ürenin karaciğerdeki dağılımı üzerine eritrositlerin hiçbir etkisi olmazken, tiyoürenin karaciğerdeki dağılımı iki pikli bir grafikte tanımlanmıştır; birinci pik eritrositlerde hapsedilmiş olan maddenin sadece vasküler boşlukta dağılmasına bağlı olarak ikinci pik ise serbest haldeki tiyoürenin hepatositler içerisine de dağılmasına bağlı olarak gerçekleşmiştir^{25,62,63} (Şekil 2, Şekil 3). Hematokrit değeri arttıkça eritrositler tarafından taşınan tiyoüre fraksiyonunun arttığı gözlenmiştir^{25,63}. Benzer şekilde hidroklotiyazidin eritrositlerden plazmaya olan partisyon süresi, kanın böbreklerden olan geçiş za-

Şekil 2. Karaciğerdeki üre dağılımı üzerine eritrositli (•) ve eritrositsiz (O) ortamın etkisi²⁵

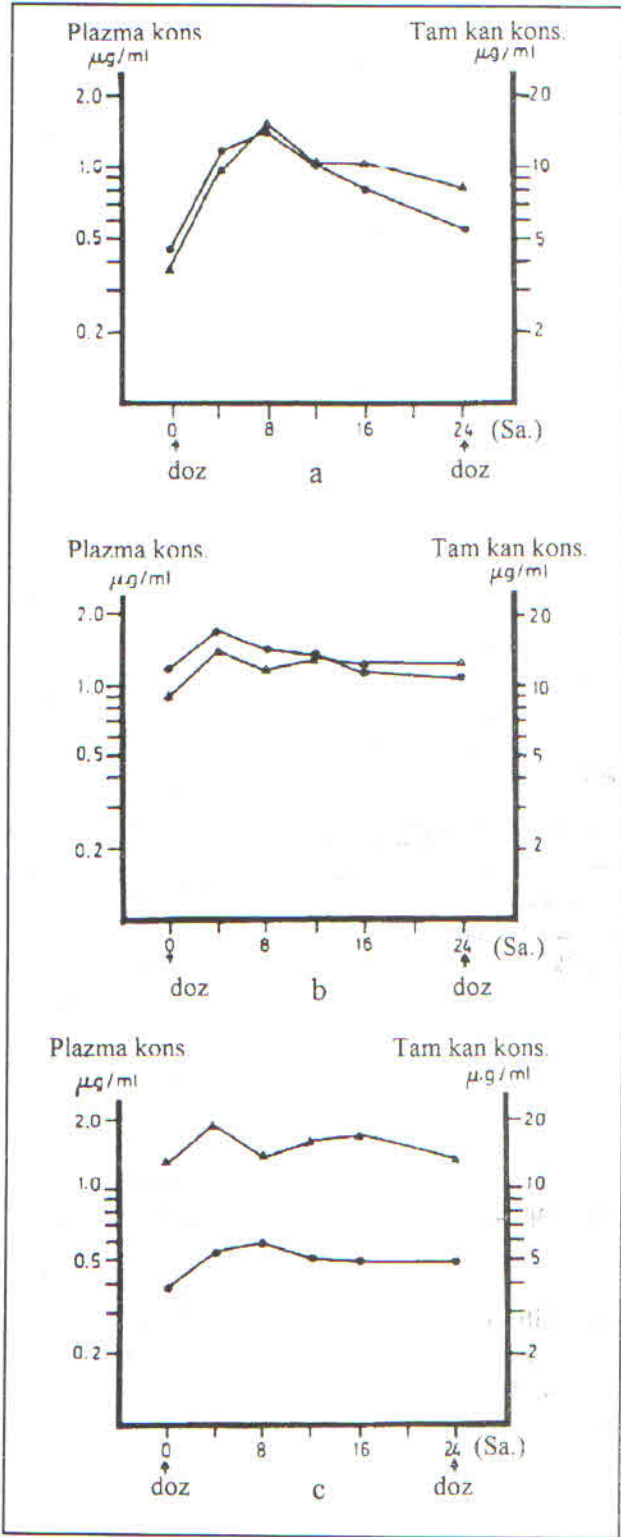


Şekil 3. Karaciğerdeki tiyoüre dağılımı üzerine eritrositli (●) ve eritrositsiz (○) ortamın etkisi²⁵

manundan daha uzun olduğu için eritrositlerde bulunan ilacın böbreklerden itrah edilemediği belirtilmiştir⁶⁴.

Bu konuyla ilgili diğer örnekler incelendiğinde monohidrik alkoller⁶⁵, ksenon⁶⁶, salisilamid⁶⁷ ve harmolün⁶⁸ karaciğerdeki dağılımı ve eliminasyonu üzerine eritrositlerin herhangi bir etkisinin olmadığı ancak doksorubisin⁴¹, propranolol³⁹, takrolimus⁶⁹ ve asetaminofen⁷⁰ gibi maddelerin karaciğerden eliminasyonunda eritrositlerin önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda da metilumberrilferil sülfat⁷¹ ve laktat'ında⁷² hepatositler tarafından alımının eritrositler tarafından etkilendiği gözlenmiştir.

Asetazolamid ve klortalidon karbonik anhidraza oldukça fazla oranda bağlanan iki ilaçtır. Bunlardan asetazolamidin oral yolla tek dozda verilmesinden 21-34 saat sonra eritrositlerdeki konsantrasyonun plazmadakinden dört kat daha fazla olduğu bulunmuştur²⁶. Benzer şekilde kortalidonun eritrositlerdeki konsantrasyonunun plazmadakinden 7-10 kat daha fazla olduğu ve kronik tedavi sırasında kandaki ilacın %95'nin eritrositlerde olduğu belirtilmiştir⁴³(Şekil 4). Klortalidon oral yolla verildiğinde eritrositlerdeki konsantrasyonu plazmadakine oranla çok daha yavaş bir şekilde artmış, plazma konsantrasyonu azalsa bile eritrositlerdeki artış devam etmiştir. Bu ilaç esas olarak böbreklerden atıldığı için eritrositlere fazlaca bağlanması nedeniyle eliminasyonunun çok yavaş olduğu belirtilmiştir²⁹.



Şekil 4. Üç hastanın klortalidonla kronik tedavisi sırasında bir dozlama aralığında elde edilen plazma (●) ve kan (▲) konsantrasyonları. Klortalidon birinci hastaya (a) 1.60 mg/kg dozda; ikinci hastaya (b) 0.88 mg/kg dozda; üçüncü hastaya (c) 1.14 mg/kg dozda verilmiştir⁴³

Eritrosit-ilaç etkileşmesi veriliş yoluna bağlı olarak da vücuttaki ilaç dispoziyonunu etkileyebilir. Oral yolla verilişte emilme bölgesi ile karaciğer arasındaki ortalama geçiş zamanı oldukça kısa olduğu için (1-2 sn⁷³) ilaçların karaciğere ulaşmadan önce eritrositlere penetrasyonu için zaman yetersiz olacaktır. Diğer taraftan intravenöz yolla verilen ilaçlar karaciğere ulaşmadan önce daha uzun süre kanla temas edecekleri için oral yolla verilen ilaçların karaciğerden ilk geçiş etkisi intravenöz yolla verilen ilaçlara göre daha fazla olabileceği belirtilmektedir^{39,41}.

İlaç Metabolizasyonunda Eritrositlerin Rolü

Eritrositler ana fonksiyonları olan oksijen-karbondioksit değişimini gerçekleştirebilmek amacıyla çeşitli enzim sistemleri ile donatılmışlardır. Bu enzim sistemlerinin görevi hücreye enerji sağlanmasının yanı sıra hemoglobin ve hücre membranı gibi hücrenin ana bileşenlerini oksidasyondan korumaktır. Eritrositlerin mitokondrisi, çekirdeği, ri-

bozumu ya da m-RNA' sı olmadığından ve fonksiyonel üre döngüsü yapamadıklarından dolayı ilaç metabolizasyonunda aktif bir görev almadıkları varsayılmıştır. Ancak yapılan araştırmalarda eritrositlerde çeşitli enzimlerin ya da enzim benzeri aktivitelerin varlığı (esteraz, glutatyon transferaz, adenozin deaminaz) tayin edilmiştir⁹ (Tablo 3). Eritrositlerde ilaç metabolize edici enzimlerin varlığı bunların in vivo ilaç metabolizasyonuna ne derecede katkıda bulunduğu sorusunu akla getirmektedir. Tablo 4'de verilen örnekler incelendiğinde aspirin ve eroin haricinde diğer ilaçlar için in vivo eritrosit metabolizasyonunun önemli olmadığı görülmektedir. Bununla birlikte eritrosit metabolizasyonunun önemli olduğu diğer durumlar sözkonusu olabilir. Örneğin, uygun şekilde işlem görmeyen kan örneklerinin plazmasından tayin edilen ilaç konsantrasyonlarının kullanılması farmakokinetik parametrelerin hatalı tayin edilmesine neden olabilecektir. Diğer taraftan, kan örneklerinin geç santrifüjlenmesi, uygun şekilde soğutulmaması ve uygun enzim inhibitörlerinin eklenmemesi maddenin in

Tablo 3. Eritrositler tarafından metabolize edilen ilaçlar ve metabolizasyondan sorumlu enzimler⁹

Sınıf	İlaç	Eritrosit enzimi
Analjezik/ Antienflamatuar	Aspirin	Esteraz
	Eroin	Esteraz
Antikanser	9-β-D-arabinofuranosiladenozin	Adenozin deaminaz
	9-β-D-ksilofuranosiladenozin	Adenozin deaminaz
	6-merkaptopürin	Hipoksantinofosforil transferaz
	Sitarabin	Sitidin deaminaz
	5-flourourasil	Dihidrourasil dehidrogenaz
	Metotreksat	Hemoglobin
	Etoposid	Hemoglobin
Antianjinal	Nitrogliserin	Glutatyontransferaz,Hemoglobin
	İzosorbid dinitrat	Glutatyon transferaz
	Pentaeritritol tetranitrat	Glutatyon transferaz
Antiaritmik	Prokainamid	N-asetil transferaz
Antiparkinson	L-DOPA	Hemoglobin
β Blokörler	Esmolol	Esteraz
	Kateşolaminler	Epinefrin
Steroid hormonlar	Dopamin	Kateşol-O-metil transferaz
	Estradiol	Steroid dehidrogenaz
	Testosteron	Steroid dehidrogenaz
Peptid hormonlar	Progesteron	Steroid dehidrogenaz
	İnsülin	Endopeptidaz
Sitokrom P-450 substratları		Hemoglobin
Nitroaromatikler		Hemoglobin
		Glutatyon transferaz

Tablo 4. İlaçların sistemik klerenslerine in vivo eritrosit metabolizasyonunun katkısı⁹

İlaç	k_{el} (dak^{-1})	Eritrosit klerensi ($ml/dak\ kg^{-1}$)	Sistemik klerens ($ml/dak\ kg^{-1}$)	Sistemik klerense katkı (%)
Aspirin	0.0230	0.8	11.6	6.9
Esmolol	0.0255	0.9	285.0	0.3
5-Florourasil	0.0025	0.1	32.8	0.3
Eroin	0.0460	1.7	30.8	5.4
İsosorbid dinitrat	0.0076	0.27	54.0	0.5
Nirogliserin	0.1720	6.1	720.0	0.8
6-Merkaptopürin	0.0020	0.07	115.0	0.05
Metotreksat	0.0011	0.04	2.0	2.0
Prokainamid	0.0001	0.003	9.5	0.03

k_{el} : eritrositlerde bulunan ilacın 37°C'de in vitro koşullarda tayin edilen eliminasyon hız sabiti

vitro olarak metabolize edilmesine yol açabildiği gibi kan örneklerinin saklanması sırasında eritrositlerle plazma arasındaki ilaç dağılımının değişebileceği göz önünde bulundurulmalıdır^{9,61,74,75}.

Eritrositlerin Kullanım Alanları

İlaç taşıyıcı sistemler olarak eritrositler: Doğal olmaları, biyolojik olarak uyumlu olmaları, sistemik dolaşımında uzun süre kalabilmeleri ve retiküloendotelial sistem tarafından kolayca uzaklaştırılabilmeleri eritrositleri diğer enkapsülasyon yöntemlerine göre daha avantajlı duruma getirmiştir^{76,77}. Yükleme işlemi için kimyasal modifikasyon gerekmediği gibi, farklı yöntemler (hipo-ozmotik liziz, endositoz, antibiyotikle yükleme, elektroporasyon, normal transport mekanizması gibi) kullanılarak hazırlanmış eritrositler nispeten uzun bir süre (2 hafta-1 ay) bozulmadan saklanabilmektedir^{78,79}.

Pek çok ilaç eritrositlerden hızlı bir şekilde salınma eğiliminde olup salım hızı hücre içi ilaç konsantrasyonuyla orantılıdır. Ancak yapılan çalışmalarda eritrositlerden salım kinetiğinin genelde sıfır derece salım kinetiğine uyduğu belirtilmiştir^{77,80-82}. İlaçların taşıyıcı eritrositler içinde enkapsülasyonundan sonra farmakokinetik parametrelerde gözlenen en önemli değişiklik yarı ömürde artış ve plazma doruk konsantrasyonunda azalmadır⁷⁷. Sitarabinin yarı ömrü köpeklerde 2.8 saat iken eritrositlerde enkapsülasyon sonucu bu süre 4.6 güne çıkmıştır. Benzer şekilde asparaginazın eritrositlere enkapsülasyonu ile ilacın yarı ömrünün

8-30 saatten 28 güne çıktığı belirtilmiştir⁸³. Diğer taraftan doksorubisin eritrositlerde enkapsüle edilmiş olarak verildiğinde serbest ilaca göre plazma doruk konsantrasyonunda önemli bir artış olduğu ve eğri altında kalan alanın 7 kat arttığı belirtilmiştir⁸¹. Metotreksat serbest halde verildiğinde ilk bir saat içinde dozun % 30-40' ı idrarla atılırken eritrositler içine enkapsüle edildiğinde bu oran % 7-9 olup safra ile atılımı artmıştır⁸⁴.

Eritrositler, endojen ve eksojen enzimlerin yerine konma tedavisinde kullanıldığı gibi⁸⁵⁻⁸⁷, sitotoksik, antifibrinojenik ve antikanserojen ilaçların yüklenmesi amacıyla da kullanılmıştır⁸⁸⁻⁹¹. Eritrositlerin karaciğer ve dalakta bulunan fagosit hücreleri tarafından dolaşımdan uzaklaştırılmaları, bu hücrelere hedeflendirilmiş ilaç salımını mümkün kılmaktadır. Köpek eritrositlerinde enkapsüle edilmiş metotreksat, eritrositlerden hızla salınırken eritrositlerin glutaraldehit ile muamelesi sonucu salım hızı yavaşlamış ve verilen dozun % 50' si karaciğerde toplanmıştır⁹². Farelerde yapılan bir çalışmada, glutaraldehit ile muamele edilmiş eritrositlerde enkapsüle edilen doksorubisinin karaciğer tarafından tutulumunda 10 kat bir artış olduğu gözlenmiştir⁹³. Isı, nöroaminidaz ve oksidatif stres ile muamele edilen fare eritrositleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, ısı ve nöroaminidaz ile muamele edilen eritrositlerin 2 saat içinde sırasıyla % 50 ve 75 oranında karaciğerde tutulduğu bulunmuştur. Ayrıca oksidatif stres uygulanan fare eritrositlerinin % 40' ının 4 saat içinde dalakta toplandığı görülmüştür. Bu üç yöntem ile hazırlanan eritrositler kullanılarak dalak ve karaciğere

hedefleme yapılabileceği belirtilmiştir⁹⁴. Ancak eritrositlerin ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanıldığı durumlarda enkapsüle edilmiş ilaçların metabolize edilebilme olasılığı gözönünde bulundurulmalıdır.

Oksijen taşıyıcı olarak eritrositler: Perfüze organ sistemlerinde, perfüzyon ortamın oksijen taşıma kapasitesini artırmak amacıyla eritrositler kullanılmaktadır. Eritrosit içeren perfüzyon çözeltileri fizyolojik koşulları taklit edebilmesi ve organın ihtiyacına göre oksijen salınımı sağlaması nedenleriyle tercih edilirken, optimum oksijen taşınımı için, %20 hematokrit değerinin ideal olduğu belirtilmiştir. Ancak hemolizin organ fonksiyonu üzerine olumsuz etkisi ve eritrosit-ilâç etkileşimleri eritrositlerin bu amaçla kullanımını kısıtlayan faktörlerdir^{95,96}.

Vasküler hacmin tayininde eritrositler: Kendi çaplarından çok daha küçük damarlardan kolayca geçebilmeleri ve sadece vasküler boşlukta dağılmaları nedeniyle eritrositler vasküler hacmin tayininde sıklıkla kullanılmaktadır. Radyoaktif (⁵¹Cr) işaretli eritrositlerin yaygın olarak kullanıldığı yöntemde enjeksiyonu takiben toplanan doku⁹⁷ ya da perfüzyon örneklerindeki^{67,70,98} aktivite tayin edilerek vasküler hacim hesaplanmaktadır. Enjeksiyon ve örnekleme sırasında radyoaktivitenin getireceği mahsurları ortadan kaldırmak amacıyla spektrofotometrik esasa dayanan bir yöntem geliştirilmiş ve her iki yöntem arasında tayin edilen vasküler hacim açısından iyi bir korelasyon olduğu rapor edilmiştir⁴⁸.

Vasküler sistemin görüntülenmesinde eritrositler: Floresein izotiyosiyanat ile işaretlenmiş eritrositler hem vasküler sistemin görüntülenmesi hem de eritrositlerin kapillerlerdeki hızını tayin etmek amacıyla kullanılmıştır^{80,99}.

Biyoadhezif sistem olarak eritrositler: Glutaraldehit ile muamele edilmiş olan eritrositlerin iyi bir biyoadhezif özellik gösterdiği, propranolol hidroklorürün nazal yolla verilmesinde kontrollü salım sağlayan biyoadhezif sistem olarak kullanılabileceği belirtilmiştir¹⁰⁰.

SONUÇ

Pek çok ilaç için plazma ve eritrositler arasındaki dengenin çok hızlı bir şekilde sağlandığı varsayıldığından vücuttaki ilaç dağılımı ve eliminasyonu üzerine eritrositlerin herhangi bir etkisinin olmadığı kabul edilir. Ancak, eritrositlere çok yavaş penetre olan ve/veya eritrosit bileşenlerine bağlanan ilaçlar için bu varsayım geçerli olmayabilir. Sadece plazmadaki serbest ilacın vücutta dağıldığı ve eliminasyona uğradığı düşünülürse, eritrositlerde hapsedilmiş olan ilaç eliminasyon organlarının kapillerlerinden ayrılamayacağı için vücuttan hemen uzaklaştırılmayacak, dolayısıyla farmakokinetik parametreleri serbest ilaca göre farklılık gösterecektir. Ayrıca metabolik olarak aktif olmaları nedeniyle eritrositlerde tutulan ilaçların metabolize edilme olasılığının gözönünde bulundurulması gerekmektedir. Diğer yandan toplanan kan örneklerinin saklanması sırasında plazma ve eritrositler arasındaki ilaç dağılımının değişebilmesi ve in vitro eritrosit metabolize olmasından dolayı uygun şekilde işlem görmeyen kan örneklerinin plazmasından tayin edilen ilaç konsantrasyonlarının kullanılması farmakokinetik parametrelerin hatalı tayin edilmesine neden olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Rowland M, Tozer TN. Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications, Lea&Febiger, Philadelphia, 1995.
2. Langley LL. Review of Physiology, McGrawHill, New York, 1971.
3. Bell GH, Davidson JN, Scarborough H, Garry RC. Textbook of Physiology and Biochemistry, V. Baskı, E.&S. Livingstone Ltd., London, 1961.
4. MacSween RNM, Whaley K. Muir's Textbook of Pathology, XXIII. Baskı, Edward Arnold, London, 1992.
5. Johnson PC. Red cell separation in the mesenteric capillary network. *Am. J. Physiol.*, 221, 99-104, 1971.
6. Lipowsky HH, Usomi S, Chien S. In vivo measurement of 'apparent viscosity' and microvessel hemocrit in the mesentery of cat. *Microvasc. Res.*, 19, 297-312, 1980.
7. Bumstead SJ. Intestinal Paracellular Drug Absorption, Manchester University, M.Sc. Thesis, 1993.
8. Hochmuth RM. Properties of red blood cells. Handbook of Bioengineering'de (Ed.R. Skalak ve S. Chien) McGraw-Hill, New York, 12.1-12.7, 1987.
9. Cossam PA. Role of red blood cell in drug metabolism. *Biopharm. Drug Dispos.*, 9, 321-336, 1988.

10. Fung YC. Biomechanics Mechanical Properties of Living Tissues, Springer-Verlag Press, New York, 1981.
11. Russell NJ, Powell GM, Jones JG, Winterburn PJ, Basford JM. Blood Biochemistry, Croom Helm Press, London, 1982.
12. Vacha J. Red cell life span. Red Blood Cells of Domestic Mammals' da (Ed. NS Agar ve PG Board) *Elsevier Science Publisher*, Amsterdam, 1983, 67-132.
13. Bartosz G. Erythrocyte membrane changes during ageing in vivo. Blood Cell Biochemistry Erythroid Cells' de (Ed. JR Harris), *Plenum Press*, New York, 1990, 45-79.
14. Hinderling PH. Red blood cells: a neglected compartment in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacol. Rev.*, 49, 279-295, 1997.
15. Van Deenen LLM. Lipids of the red cell membrane. The Red Blood Cell'de (Ed. DM Surgenor) *Academic Press*, New York, 1974, 147-211.
16. Gratzer WB. The red cell membrane and its cytoskeleton. *Biochem. J.*, 198, 1-8, 1981.
17. Shappell S, Lenfant CJM. Physiological role of the oxyhemoglobin dissociation curve. The Red Blood Cell'de (Ed. DM Surgenor) *Academic Press*, London, 1975, 841-871.
18. Jia L, Bonaventura C, Bonaventura T, Stamler SS. S-Nitrosohaemoglobin: A dynamic activity of blood involved in vascular control. *Nature (Lond.)*, 30, 221-226, 1996.
19. Iyer GR, Bellantone RA, Taft DR. In vitro characterisation of the erythrocyte distribution of methazolamide: A model of the erythrocyte transport and binding kinetics. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, 27(1), 45-66, 1999.
20. Larsson H, Persson SU, Hedner P. Changes in the functional state of the erythrocyte membrane: Significance for red cell filterability and blood viscosity. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 50, 177-181, 1990.
21. Smith JE. Erythrocyte deformability. Red blood cell of domestic mammals'da (Ed. NS Agar, PG Board), *Elsevier Science Publishers*, Amsterdam, 1983, 55-66.
22. Secomb TW. Mechanics of blood flow in the microcirculation. Biological Fluid Dynamics'de (Ed. CP Ellington, TJ Pedley) *The Company of Biologists Limited*, Cambridge, 1995.
23. Dodge JT, Mitchell C, Hanatlan DJ. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 100, 119-130, 1963.
24. Schwoch G, Passow H. Preparation and properties of human erythrocyte ghosts. *Mol. Cell. Biochem.*, 2(2), 197-218, 1973.
25. Sahin S. The influence of Erythrocytes on Hepatic Elimination of Drugs. M.Sc. Method II First Year Transfer Report, Department of Pharmacy, University of Manchester, 1991.
26. Wallace SM, Riegelman S. Uptake of acetazolamide by human erythrocytes in vitro. *J. Pharm. Sci.*, 66(5), 729-731, 1977.
27. Rambo L, Ericsson O, Alvan G, Lindstroem B, Gustafsson LL, Sjoqvist F. Chloroquin and desmethylchloroquine in plasma, serum and whole blood: Problems in assay and handling of samples. *Ther. Drug Monit.*, 7, 211-215, 1985.
28. Tett SE, Cutler DJ, Day RO, Brown KF. A dose-ranging study of the pharmacokinetics of hydroxychloroquine following intravenous administration to healthy volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 26, 303-313, 1988.
29. Fleuren HLJ, Van Rossum JM. Nonlinear relationship between plasma and red blood cell pharmacokinetics of chlorthalidone in man. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, 5, 359-375, 1977.
30. Bayne WF, Tao TF, Rogers G, Chu LC, Theeuwes F. Time course and disposition of methazolamide in human plasma and red blood cells. *J. Pharm. Sci.*, 70, 75-80, 1981.
31. Bickel MH. Binding of Chlorpromazine and imipramine to red cells, albumin, lipoprotein and other blood components. *J. Pharm. Pharmacol.*, 27, 733-738, 1975.
32. Ehrnebo M, Agurell S, Boreus LO, Gordon E, Löntroth U. Pentazocine binding to blood cells and plasma proteins. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 16(3), 424-429, 1974.
33. Dieterle W, Wagner J, Faigle JW. Binding of Chlorthalidone (hygroton) to blood components in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 10, 37-42, 1976.
34. Legg B, Rowland M. Saturable binding of cyclosporin A to erythrocytes: estimation of binding parameters in renal transplant patients and implications for bioavailability assessment. *Pharm. Res.*, 5:80-85, 1988.
35. Beerman B, Hellstrom K, Lindstrom B, Rosen A. Binding site interaction of chlorthalidone and acetazolamide, two drugs transported by red blood cells. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 17(4), 424-432, 1975.
36. Sachs JR, Knauf PA, Dunham PB. Transport through red cell membrane. The Red Blood Cells'de (Ed. DM Surgenor) *Academic Press*, New York, 1975, 613-703.
37. Paganelli CV, Solomon AK. The rate and exchange of tritiated water across the human red cell membrane. *J. Gen. Physiol.*, 41(2), 259-277, 1957.
38. Sha'afi RI, Gary-Bobo CM, Solomon AK. Permeability of red cell membranes to small hydrophilic and lipophilic solutes. *J. Gen. Physiol.*, 58, 238-258, 1971.
39. Lee HJ, Chiou WL. Erythrocytes as barriers for drug elimination in the isolated rat liver II. Propranolol. *Pharm. Res.* 6(10), 840-843, 1989.
40. Jacobs MH. The measurements of cell permeability with particular reference to erythrocyte. Modern Trends in Physiology and Biochemistry'de (Ed. ES Guzman Barron) *Academic Press*, New York, 1958.
41. Lee HJ, Chiou WL. Erythrocytes as barriers for drug elimination in the isolated rat liver I. Doxorubicin. *Pharm. Res.*, 6(10), 833-838, 1989.

42. Kubinyi H. Lipophilicity and biological activity. *Arzneim-Forsch./Drug Res.*, 29(2), 1067-1080, 1979.
43. Collste P, Garle M, Rawlins MD, Sjöqvist F. Inter-individual differences in chlorthalidone concentration in plasma and red cells of man after single and multiple doses. *Europ. J. Clin. Pharmacol.*, 9, 319-325, 1976.
44. Schanker LS, Nafpliotis PA, Johnson M. Passage of organic bases into human cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 133, 325-331, 1961.
45. Lin JH, Lin TH, Cheng H. Uptake and stereoselective binding of enantiomers of MK-927, a potent carbonic anhydrase inhibitor by human erythrocytes in vitro. *Pharm. Res.*, 9(3), 339-344, 1992.
46. Minami T, Cutler DJ. A kinetic study of the role of band 3 anion transport protein in the transport of salicylic acid and other hydroxybenzoic acids across the human erythrocytes membranes. *J. Pharm. Sci.*, 81, 424-427, 1992.
47. Goresky CA. Linear model for determining sinusoidal and extravascular volumes. *Am. J. Physiol.*, 204, 626-640, 1963.
48. Sahin S, Rowland M. Estimation of aqueous distributional spaces in the dual perfused rat liver. *J. Physiol. (Lond.)*, 528.1, 199-207, 2000.
49. Kramer K, Thurou K, Deetjen P. Hamodynamik des Nierenmarks I. Mitteilung, capillare passagezeit, blutvolumen durchblutung, gewebshamotoktitund O2verbrauch des Nierenmarks in situ. *Pfluegers Arch. Ges. Physiol.*, 270, 251-269, 1960.
50. Roth S, Seeman P. The membrane concentrations of neutral and positive anesthetics (alcohols, chlorpromazine, morphine) fit the Meyer-Overton rule of anaesthesia; negative narcotics do not. *Biochim. Biophys. Acta.*, 225, 207-219, 1972.
51. Luxnat M, Galla JH. Partition of chlorpromazine into lipid bilayer membranes: the effect of membrane structure and composition. *Biochim. Biophys. Acta.*, 856, 274-282, 1986.
52. Macgregor TR, Keirns JJ, Farina PR, Matzek KM, Horvath ST, Esber HJ. Chlorthalidone pharmacodynamics in beagle dogs. *J. Pharm. Sci.*, 74(8), 851-856, 1985.
53. Bayne WF, Chu LC, Theeuwes F. Acetazolamide binding two carbonic anhydrase isoenzymes in human erythrocytes. *J. Pharm. Sci.*, 68(7), 912-913, 1979.
54. Sweeney KR, Chapron DJ, Kramer PA. Effect of salicylate on serum protein binding and red blood cell uptake of acetazolamide in vitro. *J. Pharm. Sci.*, 77(9), 751-756, 1988.
55. Hinderling PH. Kinetics of partition and binding of digoxin and its analogues in subcompartments of blood. *J. Pharm. Sci.*, 73(8), 1042-1052, 1984.
56. Boddy A, Edwards P, Rowland M. Binding of sulfonamides to carbonic anhydrase: influence on distribution within blood and on pharmacokinetics. *Pharm. Res.*, 6(3), 203-209, 1989.
57. Ehrnebo M, Odar-Cederlof I. Binding of amobarbital, penobarbital and diphenylhydantoin to blood cells and plasma proteins in healthy volunteers and uremic patients. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 8, 445-453, 1975.
58. Ehrnebo M, Odar-Cederlof I. Distribution of phenobarbital and diphenylhydantoin between plasma and cells in blood: effect of salicylic acid, temperature and total drug concentration. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 11, 37-42, 1977.
59. Wind M, Berliner A, Stern S. The binding of phenothiazine to oxyhemoglobin A and S. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 5, 759-766, 1973.
60. Tamura A, Sugimoto K, Sato T, Fujii T. Effect of haematocrit, plasma protein concentration and temperature of drug-containing blood in-vitro on the concentrations of the drug in plasma. *J. Pharm. Pharmacol.*, 42, 577-580, 1990.
61. Costello PB, Green FA. Aspirin survival in human blood modulated by the concentration of erythrocytes. *Arthritis and Rheumatism.*, 25(5), 550-555, 1982.
62. Goresky CA, Bach GG, Nadeau BE. Red cell carriage of label: its limiting effect on the exchange of materials in the liver. *Circ. Res.*, 36, 328-351, 1975.
63. Sahin S, Rowland M. Comparison of hepatic efflux of urea and thiourea. *Pharmacuetisch Weekblad* 14(5), Suppl. F, 1992, pp42.
64. Chen TM, Abdelhameed MH, Chiou WL. Erythrocytes as a total barrier for renal excretion of hydrochlorthiazide: slow influx and efflux across erythrocyte membranes. *J. Pharm. Sci.*, 81, 212-218, 1992.
65. Goresky CA, Gordon ER, Bach GG, Nadeau BE. Uptake of monohydric alcohols by liver. Demonstration of a shared enzymatic space. *Am. J. Physiol.*, 244, G198-G214, 1983.
66. Goresky CA, Schwab AJ, Rose CP. Xenon handling in the liver: Red cell capacity effect. *Circ. Res.*, 63, 767-778, 1988.
67. Pang KS, Barker III F, Schwab AJ, Goresky CA. Demonstration of rapid entry and a cellular binding space for salicylamide in perfused rat liver: a multiple indicator dilution study. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 270, 285-295, 1994.
68. Morgan DJ, Guttmann A, Peterwatson RG, Ghabnal H, Elliott SL, Smallwood RA. Effect of erythrocyte binding on elimination of harmol by the isolated perfused rat liver. *J. Pharm. Sci.*, 85, 40-44, 1996.
69. Piekoszewski W, Chow FS, Jusko WJ. Disposition of tacrolimus (FK 506) in rabbits: Role of red cell binding in hepatic clearance. *Drug Metab. Dispos.*, 21, 690-698, 1993.
70. Pang KS, Barker III F, Simard A, Schwab AJ, Goresky CA. Sulfation of acetaminophen by the perfused rat liver: The effect of red cell carriage. *Hepatology*, 22, 267-282, 1995.
71. Chiba M, Schwab AJ, Goresky CA, Pang KS. Carrier

- mediated entry of 4-methylumbelliferyl sulphate: Characterisation by the multiple indicator dilution technique in perfused rat liver. *Hepatology*, 27:134-146, 1998.
72. Goresky CA, Bach GG, Simard A, Schwab AJ, Bracht A. Uptake of lactate by the liver: Effect of red blood cell carriage. *Am. J. Physiol.*, 278:G775-G788, 2000.
 73. Chiou WL. A new model-independent physiological approach to study hepatic drug clearance and its applications. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, 22:577-590, 1984.
 74. Intrurrisi EC, Max BM, Foley KM. The pharmacokinetics of heroin in patients with chronic pain. *New Eng. J. Med.*, 310(19), 1213-1217, 1984.
 75. Smith DA, Cole WJ. Identification of an arylesterase as the enzyme hydrolysing diacetylmorphine in human plasma. *Biochem. Pharmacol.*, 25, 367-370, 1970.
 76. Pitt E, Catriona M, Lewis DA. Encapsulation of drugs in intact erythrocytes: an intravenous delivery system. *Biochem. Pharmacol.*, 32(22), 3359-3368, 1983.
 77. Tonetti M, Flora AD. Carrier erythrocytes, pharmacokinetic considerations. *Clin. Pharmacokin.*, 25(5), 351-357, 1993.
 78. Lewis DA, Alpar HO. Erythrocytes as microvesicles. Microcapsules and Nanocapsules in Medicine and Pharmacy'de (Ed. M Dondrow) CRC Press Inc., Florida, 1992, 299-314.
 79. Talwar N, Jain NK. Erythrocytes as carriers of Primaquine-Preparation: Characterisation and evaluation. *J. Contr. Rel.*, 20, 133-142, 1992.
 80. Ihler GM. Erythrocyte carriers. *Pharmac. Ther.*, 20, 151-169, 1983.
 81. Tonetti M, Astroff B, Satterfield W, De Flora A, Benatti U, DeLoach JR. Pharmacokinetic properties of doxorubicin encapsulated in glutaraldehyde treated canine erythrocytes. *Am. J. Vet. Res.*, 52, 1630-1635, 1991.
 82. Eichler HG, Rameis H, Bauer K, Korn A, Bacher S, Gasic S. Survival of Gentamisin- Loaded Carrier Erythrocytes in Healthy Human Volunteers, *Eur. J. Clin. Inv.*, 16, 39-42, 1986.
 83. Kravtsoff R, Desbois I, Chassaigne M, Muh JP, Lamagnere JP. In vivo activity of L-asparaginase entrapped into human and mouse red blood cells. *Advances in Biosciences'da* (Ed. Green), Pergamon Press, London, 1991, 127-137.
 84. DeLoach JR, Barton C. Circulation carrier erythrocyte: slow release vehicles for an antileukemic drug, cytosine arabinoside. *Am. J. Vet. Res.*, 43..2210-2212, 1982.
 85. Thorpe SR, Fiddler MB, Desnick RJ. Enzyme therapy V. in vivo fate of erythrocyte-entrapped betaglucuronidase in beta-glucuronidase-deficient mice. *Pediat. Res.*, 9(12), 918-923, 1975.
 86. Kravtsoff R, Popars ML, Muh JP, Chassaigne M. Erythrocytes as carrier for L-asparaginase. Methodological and mouse in-vivo studies. *J. Pharm. Pharmacol.*, 42, 473-476, 1990.
 87. Adriaenssens K, Karcher D, Lowenthal A, Terheggen HG. Use of enzyme-loaded erythrocytes in-vitro correction of arginase-deficient erythrocytes in familial hyperargininemia. *Clin. Chem.*, 22(3), 323-326, 1976.
 88. Highley MS, Ernst ADB, Erythrocyte and the transport of drugs and the endogenous compounds. *Pharm. Res.*, 13(2), 186-195, 1996.
 89. Goldsmith JC, Roer MES, Orringer EP. A new treatment strategy for hemophilia: incorporation of factor IX in to red cell ghosts. *Am. J. Hematol.*, 7, 119-125, 1979.
 90. Benatti U, Giovine M, Damonte G, Gasparini A, Scarfi S, De Flora A, Fraternali A, Rossi, L, Magnani M. Azidothymidine homodinucleotide-loaded erythrocytes as bioreactors for slow delivery of the antiretroviral drug azidothymidine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 220, 20-25, 1996.
 91. De Flora A, Zocchi E, Polvani C, Benatti U. Conversion of encapsulated 5-fluoro-2'-deoxyuridine-5'-monophosphate to the antineoplastic drug 5-fluoro-2'-deoxyuridine in human erythrocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 85, 3145-3149, 1988.
 92. DeLoach JR, Tagner CH, Barton C. Hepatic pharmacokinetics of glutaraldehyde treated methotrexate loaded carrier erythrocytes in dog. *Res. Exp. Med.*, 183, 167-175, 1983.
 93. Zocchi E, Tonetti M, Polvani C, Guida L, Benatti U, DeFlora A. Encapsulation of doxorubicin in liver-targeted erythrocytes increases the therapeutic index of the drug in a murine metastatic model. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 10(6), 555-562, 1988.
 94. Zocchi E, Guida L, Benatti U, Canepa M, Borgiani L, Zanin T, De Flora A. Hepatic or splenic targeting of carrier erythrocytes: a murine model. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 9(5), 423-434, 1987.
 95. Wolkoff AW, Johansen, KL, Goesser T. The isolated perfused rat liver: preparation and application. *Anal. Biochem.* 167, 1-14, 1987.
 96. Riedel GL, Scholle JL, Shepperd AP, Ward WF. Effects of hematocrit on oxygenation of the isolated perfused rat liver. *Am. J. Physiol.*, 245, G769-G774, 1983.
 97. Gonzalez F, Bassingthwaighte JB. Heterogeneities in regional volumes of distribution and flows in rabbit heart. *Am. J. Physiol.*, 258, H1012-1024, 1990.
 98. Ahmad AB, Bennett PN, Rowland M. Influence of route of hepatic administration of drug availability. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 230, 718-725, 1984.
 99. Pang, KS, Sherman IA, Schwab, AJ, Geng W, Barker III F, Dlugosz JA, Cuerrier G, Goresky, CA. Role of the hepatic artery in the metabolism of phenacetin and acetaminophen: an intravital microscopic and multiple indicator-dilution study in the perfused rat liver. *Hepatology*, 20, 672-683, 1994.
 100. Vyas SP, Talwar N, Karajgi JS, Jain NK. An erythrocyte based bioadhesive system for nasal delivery of propranolol. *J. Cont. Rel.*, 23, 231-237, 1993.

Kolona Özgü İlaç Taşıyıcı Sistemler

Fatmanur TUĞCU-DEMİRÖZ*, Füsün ACARTÜRK^o

Kolona Özgü İlaç Taşıyıcı Sistemler

Özet : Son yıllarda, kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemler kolon hastalıklarının tedavisi ve peptit/proteinlerin oral verilmesi açısından önem kazanmıştır. Klasik farmasötik formdaki ilaçların oral uygulanması en etkili ve en tercih edilen yoldur ve parenteral uygulamaya tercih edilmektedir. Buna rağmen bütün ilaçlar oral yoldan uygulanamaz, çünkü bazı ilaçlar muhtemelen mide asidine veya mide-barsak kanalı enzimlerine karşı hassastırlar. Belli bölgede etki gösteren ilaçların reseptör bölgedeki hedefe taşınması potansiyel olarak yan etkileri azaltmakta ve farmakolojik cevabı artırmaktadır.

İlaçların sistemik dağılımı için oral hedefleme alanlarından biri de kolondur.

Değişik yaklaşımlar kullanılarak kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Bunlardan en çok ümit vadedenler; ön-ilaçlar, pHya hassas polimerlerle kaplama, matris preparatları ve/veya kolonik bakterilerle parçalanabilen polimerler ile kaplama yapılmasıdır.

Bu derlemenin amacı, kolonun fizyolojisi, fonksiyonları, ilaç absorpsiyon karakteristikleri ve kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemler için kullanılan teknolojiler hakkında genel bir bakış sağlamaktır.

Anahtar kelimeler : Kolon, kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemler, pHya hassas polimerler, ön-ilaçlar, polisakkaritler

Received : 14.12.2001

Revised : 12.6.2002

Accepted : 21.6.2002

Colon-Specific Delivery Systems

Summary : Recently, colon-specific delivery systems have gained importance for the treatment of colon diseases and peroral administration of peptides/proteins. Oral administration of drugs in conventional pharmaceutical form is the most convenient and effective route and is preferred over parenteral medication. However, not all drugs can be administered orally, possibly because of their sensitivity to gastric acid and their vulnerability to gastrointestinal enzymes. The site-specific delivery of drugs to the target receptor sites has the potential to reduce side effects and to increase pharmaceutical response.

One of the areas to target drugs orally for systemic drug delivery is the colon.

Using different approaches, several potential colon-specific delivery systems have been developed. Among these, the most promising are prodrugs, coating with pH-sensitive polymers, matrix preparation and/or coating of drugs with colonic bacterial degradable polymers.

The aim of this review was to provide a general overview to colon functions and physiology, drug absorption characteristics and of the technologies available for colon-specific drug delivery systems.

Key Words: Colon, colon-specific delivery systems, pH-sensitive polymers, prodrugs, polysaccharides

GİRİŞ

İlaç şekillerinin tasarımındaki en önemli noktalardan biri, etkin maddenin maksimum terapötik etkinliğinin sağlanabileceği bölgede salımdır. Farmasötik cevabın en yüksek olduğu bölgeye hedeflendirilmiş ilaç şekilleri ile yan etkiler azalarak, yüksek etkinlik sağlanabilmektedir. İlaç kul-

lanımında tercih edilen yol oral yoldur. Ancak oral alınan ilaçların bir kısmı mide asidine veya mide-barsak kanalı enzimlerine duyarlı olmaları nedeniyle her zaman beklenen etkiyi göstermeyebilirler. Kolon, ilaçların kalış süresinin uzun olması ve enzim aktivitesinin mide-barsak kanalı sisteminin diğer kısımlarına oranla daha düşük olması nedeniyle, oral uygulanan ilaçlar için uygun bir hedef bölgedir. Son

* Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Teknolojisi Bölümü, 06330 Ankara, TÜRKİYE.

^o Yazışma Adresi

yıllarda, kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi önem kazanmıştır. Bu sistemlerin geliştirilmesinde üç önemli terapötik yaklaşım söz konusudur.

1. Kolon hastalıklarının lokal olarak tedavi edilmesi
2. Peptit ve protein tipi ilaçların oral yolla verilebilmesi
3. Uzatılmış etkili formülasyonların geliştirilmesi

Kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemler, hem lokal hem de sistemik etki elde etmek amacıyla kullanılmaktadır. Bazı lokal patolojik durumlarda ilacın doğrudan kolonda salımı, tedavinin etkinliğini arttırmaz, fakat potansiyel toksisiteyi azaltır. Bazı kalın barsak hastalıklarında, örneğin, irrite barsak sendromu, kolit, Crohn's hastalığı, kolon kanseri ve lokal infeksiyon hastalıklarında yüksek konsantrasyonda etkin maddelere ihtiyaç vardır.

Yaygın olarak kullanılan konvansiyonel oral dozaj şekilleri kolona ilaç verilmesi için uygun değildir. Çünkü üst mide-barsak kanalında parçalanır ve absorbe olurlar. Oral veya rektal uygulamalarla kolona özgü sistemler uygulanabilir. Ancak supozituar veya enema şeklindeki rektal uygulamalarda ilacın dağılımında çok fazla değişkenlik görülmektedir¹. Bu nedenle oral uygulamalar tercih edilmektedir. Kolon hastalıklarında kullanılacak olan ilaçların etkinliği açısından, etkin maddelerin kolona özgü verilmesi önem taşımaktadır. Böylece, kolona özgü ilaç şeklinin, üst mide-barsak kanalında etkin maddeyi salmadan kolona ulaşması sağlanacaktır.

Kolonun Anatomi ve Fizyolojisi

İnsan sindirim sisteminin mide ile anüs arasındaki bölümünü barsaklar oluşturur. Kolon veya kalın barsak ileumun son kısmından anüse kadar uzanır. Uzunluğu 1.5 m ve çapı ortalama 6 cm'dir. Kalın barsak üç ana bölüme ayrılır¹⁻³:

Çekum : Kalın barsağın kese şeklindeki başlangıç kısmıdır. Boyu 6.5 cm ve genişliği 7.5 cm'dir.

Apendiks : 5-10 cm çapında, tüp şeklinde bir uzantıdır. Çekumun tepesinden başlar.

Kolon : Dört bölümden oluşmaktadır. Ascending Kolon (çıkan kolon) : 20 cm, Transvers Kolon (Yatay Kolon) : 45 cm , Descending Kolon (inen kolon) : 30 cm , Sigmoid Kolon: 40 cm.

Kolonda villiler olmamakla beraber, plica semilunares adı verilen katlanmalar kolonun iç yüzeyinin yüzey alanını 1300 cm²'ye çıkartır⁴. Kimus kalın barsağa girdiği zaman içindeki maddelerden vücuda yararlı olanları emilmiş bulunur. Geriye artık maddelerle su ve bir miktar elektrolit kalmıştır. Kalın barsağın fonksiyonu, kimustaki su ve elektrolitlerin geri emilimi ve artık maddelerin atılıncaya kadar depo edilmesidir. Ayrıca, kalın barsakta bulunan bazı simbiyotik bakteriler B ve K vitamini gibi bazı vitaminleri sentezler. İnsanda K vitamininin başlıca kaynağının barsak bakterileri olduğu düşünülmektedir⁴.

Kolona Özgü İlaç Taşıyıcı Sistemlerin İn Vivo Davranışını Etkileyen Fizyolojik Faktörler

Kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemlerin in vivo davranışlarını etkileyen fiziksel faktörler arasında; mide boşaltımı, ince barsaktan geçiş süresi, kolondan geçiş süresi, mide-barsak kanalının pH'sı, kolonik mikroflora, kolonik emilim ve kalın barsak hastalıkları sayılabilir.

Mide Boşalması: İlaçların kolona ulaşması mideden geçiş hızına bağlıdır. Dozaj şekillerinin mideden geçiş süresi oldukça fazla değişkenlik gösterir, çünkü oral dozaj şekillerinin mide geçişini etkileyen bir çok parametre vardır. Bunlar, açlık-tokluk durumu, dozaj şeklinin büyüklüğü ve dansitesi gibi özellikleridir. Tablo 1'de mide-barsak kanalının pH'sı ve küçük dozaj şekilleri için geçiş süreleri gösterilmiştir⁵.

Tablo 1. Mide-barsak kanalının pH'sı ve ilaçların geçiş süreleri⁵

	Mide	Duedonum	Jejunum	Ileum	Kolon	Rektum
pH	1.5	5-6.1	6-7	7-8	5.5-7	7
Geçiş Süresi(s)	>3	3-4	3-4	3-4	20-30	-

Genellikle yiyecekler ile birlikte alındığında ilaç şekillerinin midede kalış süresi artar. Bu süre, yiyecek alındığında 12 saate kadar çıkabilmektedir. Asitlikteki artış, ozmolarite ve kalori değerindeki artış midenin boşalmasını yavaşlatır. Stres boşaltım hızını artırırken, depresyon yavaşlatmaktadır. Genellikle kadınlarda mide boşalması erkeklere oranla daha yavaştır^{3,6}.

İnce Barsaktan Geçiş: İnce barsaktaki geçiş süresini açlık ve tokluk durumu etkilemez. İnce barsakta ortalama kalış süresi 3-4 saattir. Altı sağlıklı erkek gönüllüde yapılan bir çalışmada tek ünitelik ve çok ünitelik dozaj şekilleri uygulanarak mide-barsak kanalından geçiş süreleri incelenmiştir. İnce barsaktaki geçiş sürelerinde anlamlı bir fark görülmemiştir⁷.

Kolondan Geçiş: Sağlıklı gönüllüler üzerinde yapılan bir çalışmada radyoaktif işaretlenmiş bir kapsülün kolonik geçişi gama sintigrafi yöntemiyle izlenmiştir⁸. Kapsülün büyüklüğüne ve dansitesine göre mideden geçişi değiştiği halde, ince barsaktaki geçiş süreleri değişmemektedir. Yaklaşık olarak 5 saat sonra kapsül kolona ulaşır. Çıkan kolondan geçişte kapsülün dansitesi önemlidir. Kapsül kolona ulaştıktan 10 saat sonra transvers kolon ile inen kolon arasındaki kıvrımlı geçiş bölgesine (splenic flexure) ulaşır. Yetmişüç sağlıklı gönüllü üzerinde yapılan başka bir çalışmada da kolondan geçiş süresi ortalama 35.6 ± 2.1 saat olarak bulunmuştur. Geçiş süreleri, sağ kolon için 11.3 ± 1.1 saat, sol kolon için 11.4 ± 1.4 saat ve rektosigmoidik bölge için 12.4 ± 1.1 saat olarak saptanmıştır⁹. Kapsül ve pelletlerin mide-barsak kanalındaki geçişi incelendiğinde ise mideden geçiş sürelerinin aynı olduğu ve her iki preparatın da 4 saatte kolona ulaştığı gözlenmiştir. Ancak kolona ulaştıktan sonra geçiş sürelerinde farklılaşmalar görülmüştür. Pelletlerin kolondan geçiş süreleri kapsüllere göre daha uzundur¹⁰. Cinsiyet açısından karşılaştırıldığında ise erkeklerde kadınlara göre daha kısa olduğu görülmüştür^{1,9}. Kolonik geçiş hızı açısından katılar ile sıvılar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Katılar için kolondan geçiş 247 ± 60 dakika iken sıvılar için bu süre 312 ± 88 dakikadır¹¹. Sağlıklı gönüllülerde değişik büyüklükteki dozaj şekillerinin kolondan geçiş süreleri gama sintigrafi yön-

temi ile incelenmiştir. Normal şartlar altında 5 mm'lik dağılmayan tablet ile 8 mm'lik dağılmayan tablet arasında kolondan geçiş süreleri arasında fark görülmemiştir¹².

Mide-Barsak Kanalının pH'sı: Mide-barsak kanalının pH'sı, oral alınan ilaçların performansını etkiler. Mide pH'sı ortalama 1.5'tur ve açlık-tokluk durumuna göre 2-6 arasında değişir. Bu durum pH'ya hassas ilaçların parçalanmasında etkilidir. Mide-barsak kanalının pH'sı düzenli olarak artmaz. Bunu incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada pH'ya hassas radyoaktif element içeren kapsülün mide-barsak kanalında ilerleyişi gönüllülerde izlenmiştir. Bütün deneklerde mide asiditesinin çok yüksek olduğu görülmüştür (1-2.5 arasında). Proksimal ince barsağın pH'sı 6.6 olarak, terminal ileumun pH'sı 7.5, çekumun pH'sı 6.4, sağ ve sol kolonun pH'sı 7 olarak ölçülmüştür. İleum ile kolon arasında çok az bir pH farkı vardır⁵.

Kolon Mikroflorası: İnsan mide-barsak kanalında bulunan bakteriler aerobik ve anaerobik mikroorganizmaları kapsayan büyük ve kompleks bir ekosistemden oluşmaktadır. Kolonda aeroblar ve az miktarda mantarlar olmak üzere 400'den fazla bakteri türü bulunmaktadır. Kolonda çoğunlukla bulunan bakteriler; *bacteriodes*, *bifidobacteria*, *eubacteria*, *peptococci*, *peptostafilococci*, *ruminacocci*, *propionibacteria*, *veillonell* ve *clostridiadir*. Kolonda bulunan en önemli bakteriler ise *Escherichia coli* ve *Lactobacillerdir*¹³.

Bazı metabolik reaksiyonlar sonucunda mikroorganizmalardan enzim ve biyolojik sıvılar salgılanmaktadır. Bu enzim sistemlerinden bazıları kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemlerin tasarımında ve geliştirilmesinde önemli bir potansiyel oluşturmuşlardır. Kolonun mikroflorası hastalık durumuna ve yapılan diyeteye göre değişmektedir¹.

Kolon mikroorganizmalarının başlıca besin kaynağı intestinal kimusteki maddelerdir. Bunlar; nişasta, polisakkaritler (selülozlar, hemiselülozlar, guar, pektin), şekerler, oligosakkaritler (laktöz, sorbitol, ksilol), karbohidratlar ve proteinlerdir.

Kolondan Emilim: Günde yaklaşık 1500 mL kadar

kimus ince barsaktan kalın barsağa geçer. Kimus içindeki su ve elektrolitlerin çoğu emilir. Genellikle 100 mLden daha az bir sıvı feçesle atılır. Ayrıca, iyonların hepsi emilir, sadece yaklaşık 1 mEq sodyum klorür iyonu feçesle kaybedilir. Kalın barsaktaki emilimin büyük kısmı kolonun proksimal yarısında yani çıkan kolonda görülür ve bu bölüme absorpsiyon kolonu da denir. İnen kolonun ise başlıca görevi depolamadır¹⁴. Çekum ve çıkan kolonda içerik sıvı ve yarı katıdır, yatay kolonda katılaşma artar ve inen kolonda katı feçes haline gelir. Kalın barsağın mukozasında aktif sodyum absorpsiyonu olur. Ozmotik basınç farkından dolayı su absorplanır. Kalın barsak epitelindeki hücreler arasındaki sıkı bağlanma bölgeleri (tight junctions) ince barsaktan çok daha sıktır. Bu yapı, iyonların sıkı bağlanma bölgelerinden geriye difüzyonunu önler, böylece kalın barsak mukozası sodyum iyonlarının ince barsağa göre tam olarak emilimini sağlar.

Kolon ilaç emiliminin ve biyoyararlanımının zayıf olduğu bir bölgedir. Ancak kolonda kalış süresi uzun olduğu için absorpsiyon artırıcı ajanlar kullanılarak ilaçların emilimi artırılabilir¹⁵. Mide-barsak kanalının çeperini mukus çevreler. Mukusun görevi, epitel hücrelerini mekanik ve enzimatik faktörlere karşı korumaktır. Ancak bu mukus tabakası ilaç emiliminde büyük bir fiziksel bariyerdir. Bariyer kalktığında emilimin arttığı görülür. Emilim proksimal kolonda dis-

tal kolona göre daha fazladır. Biyoadeziv polimerler ve şekerlerle kompleks yapılırsa proksimal kolondaki kalış süresi uzar⁵.

İlaçların kolondan emilimini etkileyen faktörler şöyle sıralanabilir :

- * İlacın fiziksel karakteri (pKa, iyonizasyon dengesi):
- * Mide-barsak kanalının hareketliliği ve kolonda kalış süresi
- * Bakteriyel enzimlerin degradasyonu
- * Mukusa seçici veya seçici olmayan bağlanma
- * İlaçların lokal fizyolojik etkileri
- * Bölgesel hastalıklar

Kalın Barsak Hastalıkları: Kolona özgü ilaç salımı yapan sistemlerin salım ve emilim özellikleri kalın barsakta oluşan hastalıklardan etkilenmektedir. Bu hastalıklar; kabızlık, Hirochaprün's hastalığı, enfeksiyonlu barsak hastalığı (Inflammatory Bowel Disease, IBD), Crohn's hastalığı, ülseratif kolit, irrite barsak sendromudur (Irritable Bowel Syndrome, IBS)¹⁶⁻¹⁸.

Kolona Özgü İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Kullanılan İlaçlar

Kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemlerde lokal ve sistemik amaçlı çeşitli ilaçlar denenmiştir. Bu amaçla seçilen ilaçlar ve ilaç grupları Tablo 2'de gösterilmiştir^{1,3,5}.

Tablo 2. Kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılan ilaçlar^{1,3,5}

AMAÇ	UYGULAMA SEBEBİ	İLAÇLAR
LOKAL ETKİ	Sistik Fibrozis	Sindirim Enzimleri Eklenmesi
	Pankreas İltihabı	
	Kronik Pankreas İltihabı	
	Enflamasyonlu Barsak Hastalığı	Sulfasalazin,Olsalazin,Basalazin
	Crohn's Hastalığı	Mesalazin,Budesonid,Prednisolon,Deksametazon
	İrrite Barsak Sendromu	Antikolinergikler
	Kolorektal Kanserler	5-fluorourasil, Doksorubisin, Bleomisin
SİSTEMİK		
ABSORBSİYON	Gastrik irritasyonu önleme	NSAIDs, İbuprofen, Nitrogliserin,
	İlk geçiş etkisine uğrama	Steroidler,Nitrogliserin
	Üst gastrointestinal sistemde emilimi az olan ilaçlar	Nifedipin, Oksiprenolol, İsosorbid,
	Antiastmatik	Teofilin
	SSS stimulanı	Nikotin
	Peptitlerin oral kullanımı	İnsulin, Vazopresin
	Aşıların oral kullanımı	Tifo

Kolona Özgü İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Hazırlanmasında Farmasötik Yaklaşımlar

Kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemlerin hazırlanması amacıyla basitten karmaşığa doğru pek çok teknik ortaya konulmuştur. Bunlar; ön ilaç tasarımı, pHya hassas polimerlerle kaplama, bakterilerce parçalanabilen polimerler ile kaplama veya matriks şeklinde uygulama ve zaman kontrollü sistemlerdir.

Ön-ilaç (Pro-Drug) Tasarımı

Ön-ilaçlar hem lokal hem de sistemik etki elde etmek amacıyla uygulanmaktadır. Ön-ilaç uygulamalarında ilacın ince barsaklarda emilmesi, buna karşın ilacın aktif forma dönüşümünün üst mide-barsak kanalına oranla kolonda hızlı olması istenir. Kolon lümeninde ilaçların hidrolize veya reduksiyona uğramaları başlıca reaksiyonlardır. Kolona özgü hazırlanan ön-ilaçlar, kolonda bulunan spesifik bakteriyel enzimlerle parçalanırlar. Bu bakteriyel floranın başlıca enzimleri azoredüktaz, glikozidaz ve siklodekstrinazdır¹. Ön-ilaçların hazırlanmasında azo bağlı konjugatlar, glikozit konjugatları, glukuronit konjugatları, siklodekstrin konjugatları, dekstran konjugatları, polipeptid konjugatları gibi değişik yaklaşımlar mevcuttur.

Azo Bağlı Konjugatlar: Mikrobiyal azoredüktazlar, kolonda diğer enzimlere göre daha fazla bulunur ve azo-aromatik bağların kırılmasında etkilidir. Enflamasyonlu barsak hastalığı tedavisi için geliştirilmiş olan sulfasalazin, bu tip konjugatlara en tipik örnektir. Sulfasalazin antibakteriyel etkili sulfapiridin ve antienflamatuvar etkili 5-aminosalisilik asidin (5-ASA) azo bağlarıyla bağlanmasından oluşmuştur (-N=N-)¹⁹. Pek çok klinik çalışma ile sulfasalazinin, 5-ASA için ön ilaç etkisi gösterdiği saptanmıştır. 5-ASA tek başına kullanıldığında ince barsaklarda yüksek oranda emilir ve etkisizdir. Ancak ön-ilaç olarak verildiğinde sulfapiridin, 5-ASAYı kolona kadar taşıyıcı görevi yapar. Kolonda azoredüktazların etkisiyle sulfasalazin parçalanır ve aktif metaboliti olan 5-ASA açığa çıkar. 5-ASA topik etkilidir. Kolondan emilen sulfapiridinin yan etkilerinden dolayı 5-ASA için yeni kuşak ön-ilaçlar geliştirilmiştir. Bunlar, ip-salazid, basalazid ve olsalazindir²⁰.

pHdan bağımsız olarak kolondaki bakteriler tarafından parçalanabilen polimerler sentezlenmiştir. Bu polimerler ya çapraz bağlanma bölgelerinden parçalanmakta veya polimer degrade olmaktadır. Azoredüktaz veya kondroitin sülfataz gibi bakteriyel enzimler bu bozunmayı hızlandırmaktadır. İlk kez hidroksietilmetakrilatın divinil azobenzen ile çapraz bağlanması ile hazırlanan azopolimerler, insülin ve vazopressinin kaplanması için kullanılmıştır^{21,22}.

Son yıllarda 5-ASAYı kolona taşımak amacıyla aminoasitler ve polimerler taşıyıcı olarak kullanılmaktadır²³. Oral uygulanan tedavinin etkinliğinde, mide-barsak kanalından geçiş süresi çok önemlidir. Geçiş süresini biyoadeziv polimerler uzatır. Kolon duvarına biyoadezyon hem ilaç salımını geciktirir hem de defekasyona bağlı olarak sistemin atılmasını engeller²⁴. Değişik şeker grupları içeren (fukosilamin, glukozamin, mannazamin, galaktozamin) ve suda çözünen biyoadeziv polimerlerden N-(2-hidroksipropil)-metakrilamid (HPMA) bu amaçla sentezlenmiştir^{25,26}. Şeker gruplarının bulunması polimere biyoadeziv özellik kazandırır. 5-ASA polimerik taşıyıcıya azo bağları ile bağlanır ve kolondaki mikrobiyal enzimlerle parçalanır.

Glikozit Konjugatları: Glikozidazlar intestinal mikroflorada bulunan bir enzim grubudur. En önemli glikozidazlardan; β -D-galaktozidaz, α -L-arabinofuranozidaz, β -D-ksilo-piranozidaz ve β -D-glukozidaz insan feçesinde bulunur²⁷.

Antienflamatuvar bir madde olan dekzametazonun kolonik dağılımı için dekzametazon(-D-glikosid şeklinde ön-ilaçları hazırlanmıştır²⁷. Glikozit ön-ilaçları sindirim kanalında yavaş emilir. Mide ile ince barsakta enzimatik ve kimyasal bozunmaya dayanıklıdır. Enflamasyonlu barsak hastalığı olan sıçan ve kobay modellerinde yapılan çalışmalarda β -D-galaktozidaz aktivitesinin en çok proksimal ince barsak, çekum ve kolonda görüldüğü belirtilmiştir. Friend ve arkadaşlarının²⁸ yaptığı bir çalışmada enflamasyonlu barsak hastalığı olan kobaylara karragen diyeti uygulanarak hastalıkta atak meydana getirilmiştir. Dekzametazonun 1.3 μ mol/kg dozda çözeltili halinde uygulandığı kontrol grubunda kalın bar-

sak enflamasyonunda bir etki görülmemiştir. Aynı dozda dekzametazon- β -D-glikozit uygulandığında hastalığın patolojisinde azalma görülmüştür.

Prednizolon, deksametazon, hidrokortizon ve fludrokortizon gibi ilaçların β -D-galaktozid ve β -D-glukozid ile ön-ilaçları hazırlanmıştır^{5,29}.

Glukuronit Konjugatları: İnsan vücudundaki metabolik yollar gözönüne alınarak, ilaçların hedef bölgeye özgü taşıyıcı sistemlerinin geliştirilmesinde alternatif yaklaşımlar sunulmuştur. Pek çok ilacın inaktivasyonu için ana mekanizma glukuronit ve sülfat konjugasyonudur⁵.

Enzimlerce parçalanabilen glukuronitler kolona özgü ilaç sistemlerinde kullanılabilir. Çeşitli hayvan deneylerinde glukuronitlerin üst mide-barsak kanalında fazla parçalanmadıkları, ancak çekum ve kolonda hızla parçalandıkları görülmüştür. Bu nedenle glukuronit konjugatlarının kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemler için uygun olacağı düşünülmektedir⁵.

Siklodekstrin Konjugatları: Doğal siklodekstrinler (α , β , γ) ve bazı kimyasal modifiye siklo-dekstrinler farmasötik formülasyonlarda taşıyıcı olarak kullanılmaktadır. Bu moleküllerin iç boşlukları lipofilik, dış kısımları hidrofilik özelliğe sahiptir. Hidrofilik özelliklerinden dolayı üst mide-barsak kanalından emilimleri düşüktür. Sağlıklı gönüllülerde yapılan bir çalışmada β -siklodekstrinin insan ince barsağında çok az parçalandığı ve kolon mikroflorasına ulaştığında tamamen parçalandığı görülmüştür³⁰.

İnsan kolonundan izole edilmiş 30 bakteri çeşidinden 24 tanesi siklodekstrinleri parçalamaktadır. Bakterioides bu bakteriler arasında yer alır. Bu özelliğinden dolayı siklodekstrinler hedefleme sistemlerinde kullanılmaktadır. Siklodekstrin molekülleri ilaçlara kovalan bağlarla bağlanarak kolona özgü ön-ilaçlar oluşturulur. Bu şekilde oluşturulan komplekslerin stabilitesi ve çözünürlüğü artmaktadır³¹.

Hirayama ve arkadaşları iki siklodekstrin konjugatı hazırlamışlardır. Bunlardan birinde β -siklodekstrinin hidroksil grubu ile antienflamatuvar bir ilaç olan bi-

fenil asetik asit ile ester veya amit bağları yapılmıştır. Konjugatların sudaki çözünürlüğü daha düşüktür. Amit konjugatı sulu çözeltilerde, biyolojik sıvılarda ve mide-barsak kanalı içeriğinde stabildir. Ester konjugatı, ilacı çekum veya kolonda salar. Mide veya ince barsakta herhangi bir salım olmamaktadır. Ester bağlarıyla konjugat oluşturan β -siklodekstrinler kolona özgü ön-ilaçlar olarak kullanılabilirler³²⁻³⁴.

Dekstran Konjugatları: Dekstran konjugatlarında ilaç dekstranın hidroksil gruplarına ester bağlarıyla bağlanmıştır. Kolon içeriği yüksek konsantrasyonda dekstranaz içerir. Dekstranazın endodekstranaz ve eksodekstranaz olmak üzere iki şekli vardır. Endodekstranaz, dekstranı oligosakkarit karışımına hidroliz eder.

Naprokseinin dekstran esteri ile oluşturduğu ön-ilaçından in vitro salımı incelenmiştir. Salım, çekum ve kolon homojenatında, pH 7.4 tamponuna ve ince barsak homojenatına göre 15-17 kat daha hızlıdır. Domuzlarda naprokseinin sulu çözeltisi ile dekstran-naprokse ester ön-ilaçlarının oral uygulandıktan sonra biyoyararlanımları tayin edilmiştir. Sulu çözelti ile kıyaslandığında ön-ilaçların biyoyararlanımının % 100'e yakın olduğu görülmüştür. Ancak ön-ilaç olarak uygulanan formülasyonda kan seviyesinde 2-3 saatlik bir gecikme süresi olmuştur³⁵. Bir başka çalışmada metronidazol dekstran ön-ilaç hazırlanmıştır. Metronidazolmonosüksinat-dekstran konjugatının parçalanmasına paralel olarak metronidazol salımı görülmüştür³⁶.

Dekstran ön-ilaçları kimyasal olarak son derece dayanıklıdır ve kalın barsakta ilacın serbest kalmasını sağlar. Bu yüzden kolona özgü ilaç sistemleri için tercih edilmektedir³⁷.

Polipeptit Konjugatları: Kolona özgü ilaç sistemleri hazırlamak amacıyla polipeptit konjugatları da oluşturulmuştur. Bu konjugatların peptit ve ester bağları mide-barsak kanalının mikroflorasının enzimleri tarafından kırılır. Dekzametazonun poli (L-aspartik asit) konjugatı kalın barsakta salım yapmak üzere geliştirilmiştir. Ön-ilaç uygulamasının sonucunda çekum ve kolon mukozasında belirgin bir şekilde yüksek ilaç konsantrasyonu görülmüştür³⁸.

pHya Hassas Polimerler ile Kaplama

Klasik yaklaşımlara göre ilaçlar enterik kaplama ile mide ve üst mide-barsak kanalında bozulmadan geçebilir. Bazı yüklü grup taşıyan polimerler dış ortamın pHsına hassastır. Çoğunlukla kullanılan polimerlerin pHya hassasiyet sınırlarının başladığı noktalar Tablo 3'de gösterilmiştir.

pHya hassas polimerlerle kaplanmış tablet, kapsül veya pelletler, etkin maddeyi mide sıvılarından korur ve kontrollü salım yapmalarına olanak verir. Kolona özgü sistemlerde kullanılan polimerler mide ve ince barsağın başlangıç bölümündeki düşük pHya karşı dayanıklıdır. Nötr ve alkali pHda ise yani ileum ve ileoçekal kapakta dağılırlar. Böylece ilaç kolona ulaşmış ve orada dağılmış olur. Ancak bu yaklaşımları sınırlayan faktörler vardır; dağılma alanı mide-barsak kanalının motilitesine bağlı olarak stabil değildir ve kısa zincirli yağ asitlerinin, safra asitlerinin, karbondioksit ve fermantasyon ürünlerinin ortamda bulunması da sınırlayıcı faktörler arasındadır⁵.

Tablo 3. Enterik kaplama için kullanılan polimerlerin hassas oldukları pH noktaları³⁹

POLİMER	pH
Selüloz asetat trimellitat	4.8
Hidroksipropilmetilselüloz ftalat	4.5-4.8
Polivinil asetat ftalat	5.0
Hidroksipropilmetilselüloz ftalat 50	5.2
Hidroksipropilmetilselüloz ftalat 55	5.4
Eudragit®-L 30D	5.6
Aquateric((polivinil asetat ftalat)	5.8
Selüloz asetat ftalat	6.0
Eudragit®-L	6.0
Eudragit®-S	6.8
Şellak	7.2

Kolona özgü formülasyonlarda en çok kullanılan polimerler, metakrilik asit türevidir olan Eudragit®lerdir. Eudragit-L® ve Eudragit-S® en çok kullanılan akrilik polimerlerdir. Her iki polimer de gastrik sıvılara karşı dayanıklıdır. Düşük pHlarda su geçirmezler, ancak barsak pHsında iyonize olur ve çözünürler. Eudragit-L pH 6da, Eudragit-S ise pH 7 civarında çözünmektedir. Sudaki çözünürlükleri serbest kar-

boksil gruplarına bağlıdır. Her iki polimerin performansına etki eden kritik faktör polimerin çözündüğü ortamın pHsıdır.

pHya hassas polimerlerle kaplı tabletlerin kolona özgünlüğünün uygunluğunun araştırıldığı bir çalışmada Ashford ve arkadaşları³⁹ Eudragit S ile kapladıkları tabletleri sağlıklı gönüllüler üzerinde denemişlerdir. Gama sintigrafi yönteminin kullanıldığı çalışmada mide ve üst mide-barsak kanalında tabletin bütünlüğünün bozulmadığı görülmüştür. In vivo dağılma 5-15 saat arasında değişmektedir. Dağılma bölgesi ileumdan splenic flexur'a kadar değişkenlik gösterir. Tablet dağılma alanı oldukça çok çeşitlilik göstermektedir.

Eudragit S ile kaplanan formülasyonların pH 7'nin üzerinde 5-ASA'yı saldığı görülmüştür. Bu preparatlar ülseratif kolitte son derece etkilidir. Al-mardini ve arkadaşlarının⁴⁰ yaptığı bir çalışmada Eudragit S ile kaplanmış 5-ASA preparatı ile kaplanmamış 5-ASA preparatının etkinliği karşılaştırılmış ve kaplanmış tabletlerin kolonda etkinliğinin daha fazla olduğu görülmüştür. 5-ASA'nın ince barsaktan emilimi polimerle kaplanarak geciktirilmştir.

Ülseratif kolitli hastalarda yapılan bir başka çalışmada, Eudragit S ile kaplanmış, 1.6 ve 4.8 g günlük dozda uygulanan, 5-ASA preparatının etkisi plasebo ile karşılaştırılmıştır. Düşük doz uygulananlarda tedavi etkinliği açısından plasebo ile çok fazla fark görülmezken, günde 4.8 g dozda uygulanan 5-ASA ile etkili tedavi sağlanmıştır. Bu sonuçlara göre kaplama yapılarak 5-ASA'nın kolona ulaşması sağlanmıştır⁴¹. 5-ASA'nın Eudragit® S ile kaplanmış Asacol® ve Eudragit® L ile kaplanmış Salofalk® adında ticari preparatları bulunmaktadır.

Prednisolon ile yapılan bir çalışmada Eudragit S ile kaplanmış sert jelatin kapsül ve kaplanmamış kapsül, oral uygulanarak emilimi incelenmiştir. Ülseratif kolitli hastalarda emilimin kaplanmış kapsül kolona ulaşana kadar geciktiği görülmüştür. Crohn's hastalığı olan altı hastada ise kapsül dağılana kadar emilim görülmemiştir⁴².

Morishita ve arkadaşlarının⁴³ yaptığı bir çalışmada ise insülinin, Eudragit-L 100, Eudragit-S 100 ve bunların 1:1 karışımı ile kaplanmış üç formülasyonundan salımı karşılaştırılmıştır. Eudragit-S ile kaplanmış formülasyonun, ileumda pH 7'de etkin maddeyi saldığı görülmüştür.

pHya hassas polimerlerle kaplama ile kolona özgü sistemlerde mide-barsak kanalının pHsının değişkenliğine bağlı olarak her zaman olumlu sonuç almak mümkün olmamaktadır.

Bakterilerle Parçalanın Polimerler İle Kaplama veya Matriks Şeklinde Uygulama

Bu amaçla sentetik ve doğal polimerler kullanılmaktadır. Doğal polimerler düşük toksisiteleri, stabil ve biyoparçalanabilir olmaları nedeniyle kolona hedeflendirilmiş ilaç şekillerinin geliştirilmesinde tercih edilmektedirler. Polisakkaritler uzun yıllardır ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılmaktadır. Kolona hedeflendirmede, bazı bitki polisakkaritlerinin sindiriminde insan üst mide-barsak kanalı enzimlerinin yetersiz kalmasından yararlanılmıştır. İlaç, parçalanabilen polimerle karıştırılıp matriks tipi tabletler hazırlanmakta ve/veya yine bu polimerler kullanılarak kaplama yapılmaktadır. Polimerleri parçalayan enzimleri üreten bakterilerin kolonda çok fazla miktarda bulunmasından dolayı enzim aktivitesi artarak polimerler kolonda hızla parçalanmaktadır. Pek çok polisakkarit bu özelliklerinden dolayı kolona ilaç taşıyıcı sistemler için tercih edilmektedir⁴⁴. Bunlardan kondroitin sülfat, pektin ve guar zamkı en yaygın olarak kullanılanlardır.

Azopolimerler: Kalın barsakta fazla miktardaki mikroorganizmanın metabolik aktivitesi kolona özgü ilaç hazırlanması için kullanılan bir özelliktir. Birçok mikroorganizmanın kolonda azo bağlarını kıldığı bilinmektedir. Azo polimerler kullanılarak yapılan film kaplama mide sıvısında çözünmez ancak in vivo ve in vitro yapılan testlerde azo polimerlerin kolonda bakterilerce parçalandığı görülmüştür⁴⁵.

Mooter ve arkadaşları^{46,47} azopolimerlerin çok hidrofilik olmasının kolon bakterilerince yüksek oranda

degradasyona uğramalarına neden olduğunu belirtmişlerdir. İbuprofen ve teofilin gibi ilaçların in vitro ve in vivo salım çalışmaları yapıldığında azo bağlarının azoredüktaz etkinliği ile kırıldığı ve ilaçların serbest kaldığı görülmektedir⁴⁸. In vitro ortama sıçan çekal içeriği ilave edildiğinde, 48 saatte azopolimerlerin % 60'ı degrade olmaktadır⁴⁹. In vivo çalışmalarda ise teofilin içeren, azopolimerler ile kaplanmış formülasyonun kolonda salımı ve emilimi incelenmiştir. Bakteriyal azoredüktazlar ile azopolimerler parçalanmakta ve teofilin molekülleri kolonda serbest kalmaktadır^{50,51}.

Amiloz: Amiloz bitki ekstresinden elde edilen bir polisakkarittir ve nişastanın bir komponentidir. D-glukopiranozların α - (1-4) bağları ile bağlanmasından oluşmaktadır. Bu doğal polisakkarit film oluşturabilmektedir. Bu film suda şişer ve pankreatik α -amilaz enzimine karşı dayanıklılık gösterir. Kolon bakterilerince salınan enzimler tarafından parçalanır⁴⁴.

Amiloz ve etilselüloz karışımı (Amylose-Ethocel®) ile kaplamanın kolona özgü taşıyıcı sistemlerde kullanılabileceği bildirilmiştir. Amiloz pankreatik enzimlere karşı dayanıklıdır ancak kolondaki bakterilerle parçalanır. Amiloz ile etilselüloz 1:4 oranında karıştırılıp 5-ASA pelletleri kaplanmıştır. Böylece mide ve ince barsakta dayanıklı hale gelmiştir. 5-ASA'nın salımı kolonda oluşan fermentasyona bağlı olarak gerçekleşmektedir³.

Pektin: Narenciye meyvelerinin kabuklarının veya elma posasının dilüe asitlerle ekstraksiyonundan elde edilen karbonhidrat yapısında bir maddedir. Pektin bitkinin kaynağına ve hazırlama yöntemine bağlı olarak çeşitli derecelerde metil esteri içeren α -(1-4) bağlı D-galakturonik asitlerden oluşmuştur. Toksik olmayan, kolondaki bakterilerle parçalanın ve mide ve barsak enzimleri ile sindirilemeyen doğal bir polisakkarit olan pektin, kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında kullanılmaktadır⁵².

Kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemlerde pektin bazı avantajlar sağlar. Bunlar, viskozluktan dolayı difüzyona karşı oluşan bir bariyer ve insan kalın barsağında fermente olabilme özelliğidir. Yapılan bir ça-

lişmada radyoaktif madde ile işaretlenen çekirdek tabletler, farklı miktarlarda, 700 mg veya 1000 mg, pektin kullanılarak kaplanmıştır. Oldukça büyük dozaj şekilleri oluşmuştur. Ancak pektinle kaplama radyoaktif maddenin salımının gecikmesine neden olmaktadır. Ortama pektinolitik enzimler ilave edildiğinde ise salım hızlanmaktadır⁵³.

Bir pektin tuzu olan kalsiyum pektinat da kolona özgü sistemlerde taşıyıcı olarak kullanılmıştır. Pektinin CaCl_2 ile çöktürülmesi ile kalsiyum pektinat elde edilmiş ve suda çözünürlüğü düşük indometazin ile suda çözünürlüğü yüksek insülinin kalsiyum pektinat ile matriks tabletleri hazırlanmıştır^{54,55}. In vitro çalışmaların sonunda her iki maddenin de üst mide-barsak kanalında salınmadığı, ancak Pectinex 3XL enzimi, insan kolon bakterilerinden *Bacterioides ovatus* veya sıçan çekal içeriği içeren ortamlarda tabletlerin parçalandığı belirtilmiştir⁵⁴⁻⁵⁶.

Türkoğlu ve arkadaşları⁵⁷ kolona özgü ilaç taşıyıcı sistem hazırlamak amacıyla yaptıkları çalışmada, sadece pektin kullanımının uygun olmadığını, ancak %75 pektin-% 25 HPMC karışımının uygun bir ilaç taşıyıcı sistem olduğunu gözlemişlerdir. Türkoğlu ve Uğurlu'nun⁵⁸ yaptığı bir çalışmada ise etkin madde olarak seçilen 5-ASA pektin ve değişen oranlarda HPMC karışımı ile kompresyonla kaplanmıştır. Tabletlerin kolona ulaşma süresi 6 saat olarak tasarlanmıştır. Kaplanan tabletlerin çözünme/aşınma/degradasyon çalışmaları pH 1.2 ve 6.8 tamponlarında yapılmıştır. Pektinin tek başına yeterli olmadığı, % 20 HPMC ve pektin karışımı ile kaplanan tabletlerin 6 saat süreyle parçalanmadığı ve daha sonra pektinaz enzimi varlığında etkin maddenin salındığı görülmüştür.

Pektin ve etilselüloz kombinasyonu ile film kaplama yapılarak hazırlanan bir formülasyonun kolonda dağılımının incelendiği bir çalışmada model ilaç olarak parasetamol seçilmiştir. Pektin ve etilselüloz karışımının sulu dispersiyonu ile parasetamol çekirdek tabletleri kaplanmış ve bir tabaka oluşturulmuştur. Bu formülasyonun çözünme hızı çalışması, in vivo ortamı taklit etmesi açısından sürekli akış hücrelerinde değişen pHlarda yapılmıştır. Kolonun bakteriyel florasına ben-

zemesi için ortama pektinolitik enzimler ilave edilmiştir. İlaç salımını kaplamadaki etilselüloz ve pektinin kontrol ettiği bulunmuştur. Etilselüloz ile pektin kombinasyonu ilacı üst mide-barsak kanalında korurken, kolonda parçalanarak ilacı salmaktadır⁵⁹.

Hidrojeller: Hidrojeller, çok miktarda su veya biyolojik sıvıları absorplayabilen, üç boyutlu, hidrofilik, polimerik ağ şeklinde yapıdadır. Salımı istenilen ilacın kolona gelinceye kadar hidrojel içerisinde muhafaza edildiği ve ilacın tamamına yakınının kolonda salındığı sistemlerde hem pHya hassas hem de biyoparçalanabilen hidrojeller kullanılması gerekir, çünkü ince barsak ile kalın barsağın pH'sı birbirine benzediği için kolona özgü ilaç sistemlerinde sadece pHya hassas hidrojellerin kullanılması yeterli değildir⁶⁰. Brøndsted ve Kopecek⁶¹ yaptığı bir çalışmada asidik ko-monomerler içeren yeni hidrojeller sentezlemiştir. Bu hidrojellerin midenin düşük pH değerinde şişme oranı düşüktür ve böylece ilacı midedeki enzimlerden korur. Ancak pH değeri yükseldikçe şişme oranı artar. Hidrojeldeki çapraz bağların enzimatik bozunması jelin şişme derecesine bağlıdır. Kolonda jel, azoredüktaz enzimleri ile çapraz bağların bozunabileceği bir şişme derecesine ulaşır ve daha sonra bozunarak ilacın salımı gerçekleşir.

Kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemler için kullanılan hidrojellerden biri de çapraz bağlı dekstranlardır. Dekstran hidrojelleri mide ve ince barsakta dayanıklıdır ve ilacı bu bölgelerde salmaz. Kolona ulaştığında ise mikrobiyal dekstranaz enzimi ile parçalanır ve ilaç salımı gerçekleşir^{62,63}.

Aljinatlar: Kahverengi alglerin (Phaeophyta) yapı taşı olan aljinik asit $\beta(1-4)$ -D- mannuronik asit ve $\alpha(1-4)$ -L- gluronik asit yapısında lineer bir polimerdir. Aljinatlar hidrofilik kolloidal yapıda maddelerdir. Aljinik asit ve tuzları, farmasötik teknolojide ve farmasötik biyoteknoloji alanında yapılan çalışmalarda oral, rektal, parenteral ve transdermal yoldan uygulanmaktadır⁶⁴. Son yıllarda, aljinat jel sistemleri ile etkin maddeyi kontrollü salınan boncuk yapısındaki ilaç şekillerinin hazırlanması önem kazanmıştır⁶⁵. Aljinat ile yapılan çalışmalarda hazırlanan jel boncukları Eudragit L 30 D⁶⁶ veya dekstran⁴⁴ ile kaplanarak kolona özgü sistemler hazırlanmıştır.

Lin ve Ayres⁶⁷ ise 5-ASA ile kalsiyum aljinat çekirdekleri hazırlamışlar ve bu çekirdekleri önce Aquacoat®, daha sonra Eudragit® L 30 D ile kaplamışlardır. Aljinat ile hazırlanan sistemlerle ilacın distal ince barsakta salındığı ve kolonda sürekli salım sağladığı görülmektedir.

Tuğcu-Demiröz ve arkadaşlarının⁶⁸ yaptığı bir çalışmada 5-ASA ile değişik oranlarda düşük ve yüksek viskoziteli olmak üzere iki çeşit sodyum aljinat kullanılarak kolona hedeflenen matriks tabletler hazırlanmıştır. Bu tabletlerin çözünme hızı testi sürekli akış hücrelerinde dört ayrı pH'da (pH 1.2, 4.5, 6.8, 7.4) sekiz saat süreyle yapıldığında viskozitesi yüksek olan sodyum aljinat içeren tabletlerden etkin madde salımının daha yavaş olduğu görülmüştür. Çalışmanın in vivo kısmında ise baryum sülfat ile işaretlenen matriks tabletler sekiz sağlıklı gönüllü üzerinde X-ışınları ile görüntülenmiş ve deneklerin üçünde 3 saat sonra tablet çekuma ulaşırken, bir denekte 6 saatte çekuma ulaştığı görülmüştür. Tüm olarak değerlendirildiğinde, sekiz deneğin beşinde tabletlerin kolona ulaştığı görülmüştür (% 62). Diğer üç denekte ise tabletler terminal ileum ve jejunumda parçalanmıştır. Bu sonuçlara göre sodyum aljinat ile hazırlanan formülasyonların pH'ya bağlı olarak ince barsak ve kolonun başında açılması nedeniyle, kolon ve ince barsaklara yayılan bir hastalık olan Crohn's hastalığının tedavisi için daha uygun olacağı belirtilmiştir⁶⁹.

Guar Zamkı: *Cyamopsis tetragonolobus* bitkisinin topraküstü endospermelerinden elde edilen doğal galaktomannan yapısında bir polisakkarittir. Kimyasal yapısı, β -(1-4) D-mannopiranoz birimlerinden oluşan düz zincir ve buna bağlı α -(1-6) D-galaktopiranosil yan zincirlerinden oluşur⁷⁰.

Guar zamkı kalın barsakta mikrobiyal bozunmaya uğrar. Viskoz bir guar zamkı çözeltisinin feçes homojenatı ile inkübasyonu sonucunda 40 dakika içinde guar zamkı miktarının % 70'nin azaldığı görülmüştür^{71,72}. Guar zamkı ile hazırlanan matriks tabletlerin mide, ince barsak ve kolon ortamlarını taklit eden in vitro çalışmalarında, guar zamkının tabletlerden mide ve ince barsakta salımı engellediği ve ilacı korumayı başardığı görülmüştür. Ancak guar

zamkı kolon bakterilerinin enzimatik aktivitelerine karşı hassastır. Bu dozaj şeklinin in vivo performansı insanda gama sintigrafi yöntemi kullanılarak incelenmiş ve guar zamkının kolona spesifik ilaç salım sistemlerinde kullanılabilir bir taşıyıcı olduğu sonucuna varılmıştır⁷³.

Guar zamkı kullanılarak dekzametazon⁷⁴, indometazin⁷⁵ ve diltiazemin⁷⁶ kolona hedeflendirilmiş tablet formülasyonları hazırlanarak in vitro ve in vivo koşullarda incelenmiştir. Hazırlanan tabletlerin kolona ulaşana kadar dağılmadığı ve kolonda bakteriyel parçalanmaya uğradığı görülmüştür.

Gliko-Kabir ve arkadaşlarının⁷⁷ yaptığı bir çalışmada fosfatlanmış çapraz bağlı guar türevlerinin kolona özgü ilaç sistemlerinde kullanılabilirliği incelenmiştir. Etkin madde olarak hidrokortizon seçilmiştir. Sağlıklı sıçanlarda yapılan çalışmada çapraz bağlı guar hidrojellerinin, guar zamkını parçalayan enzim varlığında ve yokluğunda salım profilleri incelenmiştir. Enzim olarak ortama 0.2 U/mL galaktomannaz (*Aspergillus niger*'den elde edilir) ve 0.033 U/mL α -galaktosidaz (*Escherichia coli*'den elde edilir) katılmıştır. Enzim varlığında etkin maddenin büyük bir bölümünün salındığı görülmüştür. Sonuç olarak trisodyum trimetafosfatla çapraz bağlanmış guar zamkı hidrojelleri kolon ortamında toplam ilaç miktarının % 80'ini koruyacak kapasiteye ulaştırılmıştır.

Polisakkarit bazlı laurodekstran ve çapraz bağlı galaktomannan (guar zamkı) mikrobiyal parçalanmaya uğradığı için kaplama materyali olarak kolona özgü ilaç şekillerinde kullanılmaktadır. Hirsch ve arkadaşlarının⁷⁸ yaptığı bir çalışmada, teofilin tabletleri laurodekstran ve galaktomannan ile kaplanmıştır. Kaplamanın kolondaki bakterilerle parçalanması sonucunda etkin maddenin kolonda dağılımı sağlanmıştır.

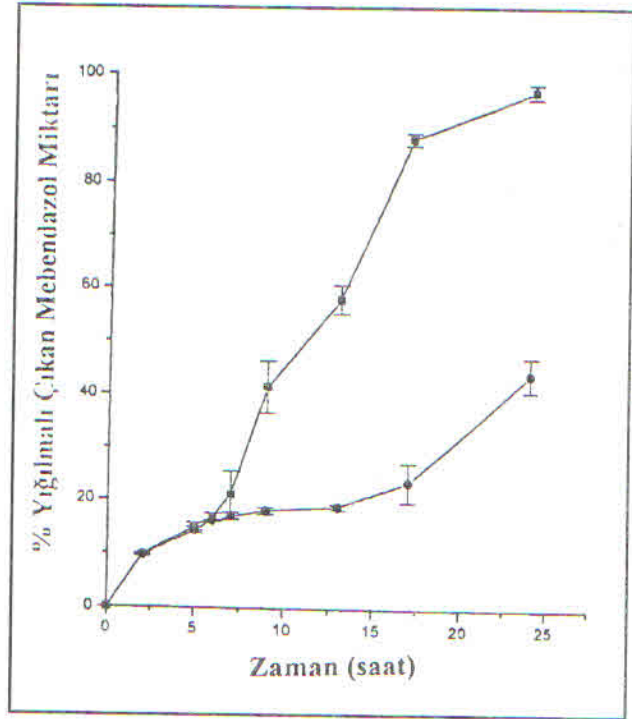
Krishnaiah ve arkadaşları⁷⁹ ise 5-ASA içeren tabletleri guar zamkı ile basınçla kaplamışlardır. Tabletler 300-250-150 mg guar zamkı ile kaplanmış ve tabletlerin salım profilleri karşılaştırılmıştır. Guar zamkı miktarı arttıkça salımın azaldığı görülmüştür. Çalışmanın ikinci kısmında, pH 6.8 fosfat tamponuna sıçan çekal içeriği ilave edilmiştir. Guar zamkı ile

kaplı tabletlerden ilk 5 saatte salımın çok az olduğu görüldükten, sıçan çekal içeriği eklendikten sonra 5-ASA salımı artmaya başlamıştır.

Bajaj ve arkadaşlarının⁸⁰ yaptığı bir çalışmada ise 5-ASA'nın guar zamkı ULV 1000 ile (1:1 ve 1:2 oranında) matriks tableti ve basınçla kaplanmış tableti hazırlanmıştır. In vitro yapılan salım çalışmalarında ilk 3 saatte (mide ve barsak ortamı) matriks tabletten % 25 oranında 5-ASA salımı gözlenirken, kaplanmış tabletten % 3.45 oranında 5-ASA salındığı görülmüştür. Çalışmanın ikinci kısmında ise 5-ASA'nın guar zamkı ile kaplanmış tabletlerinin in vitro salım çalışmasında 6 saatten sonra ortama kolonik içerik ve anaerob bakteriler ilave edildiğinde salımın, matriks ve kaplanmış tabletlerde % 80 olduğu gözlenmiştir.

Mebendazol ile yapılan bir çalışmada, ilaç değişen oranlarda guar zamkı kullanılarak kolona hedeflendirilmiştir. % 10 oranında guar zamkı içeren mebendazol matriks tableti kolona ulaşmadan mide ortamında parçalanmıştır. % 40 oranında guar zamkı içeren matriks tablet ise 24 saat süren çözünme hızı çalışması sonucunda, mebendazolün ancak % 21ini salmaktadır ve bu oranın kolona hedeflemede uygun olmadığı belirtilmektedir. % 20 oranında guar zamkı içeren matriks tablet ise sıçan çekal içeriği içeren ortamda tamamen parçalanmış ve mebendazolün tamamını salmıştır (Şekil 1). Sonuç olarak % 20 oranında guar zamkı içeren matriks tabletlerin mebendazolün mide ve ince barsakta salınmadan kolona ulaşması için uygun bir formülasyon olduğu sonucuna varılmıştır⁸¹.

Tuğcu-Demiröz⁶⁹ kaynakları ve viskoziteleri farklı iki ayrı guar zamkı kullanarak kolona özgü matriks tipi tabletler hazırlamıştır. Çözünme hızı çalışmaları sonunda viskozitesi düşük olan guar zamkı ile hazırlanan tabletlerden salım hızının ilk saatlerde yüksek olduğu ve daha sonra sabitleştiği görülmüştür. Viskozitesi yüksek olan guar zamkı ile hazırlanan tabletlerden etkin madde salımı incelendiğinde ise tabletlerde guar zamkı miktarı arttıkça salım yavaşlamaktadır. Guar zamkı mide ve ince barsaklarda parçalanmayıp kolonda bulunan bakteriyel enzimlerle parçalanarak etkin maddeyi salmaktadır. Bu nedenle in vivo koşulları taklit etmek amacıyla çalışmada yüksek viskoziteli guar zamkı ile ha-



Şekil 1. % 20 oranında guar zamkı içeren matriks tabletten mebendazolün sıçan çekal içeriği bulunan ve bulunmayan ortamlarda salımı (■: sıçan çekal içeriği taşıyan ortam, ●: sıçan çekal içeriği taşımayan ortam)⁸¹.

zırlanmış tabletlerin çözünme hızı testinde pH 7.4 ortamına galaktomannaz enzimi ilave edilmiştir. Enzim ilavesi ile salımın arttığı gözlenmiştir. Çalışmanın in vivo kısmında ise yüksek viskoziteli guar zamkı ile hazırlanan tabletler baryum sülfat ile işaretlenmiş ve 8 sağlıklı gönüllüde X-ışınları ile incelenmiştir. Radyolojik incelemelerin sonucuna göre tabletlerin altı denekte sekizinci saatin sonunda kolona ulaştığı, diğer iki denekte ise 8-24 saatte kolona ulaştığı saptanmıştır. Guar zamkı ile hazırlanan tabletlerin in vivo deneylerinde de mide ve ileumdan geçiş sürelerinin denekler arasında farklılık gösterdiği görülmektedir. Sonuç olarak guar zamkı ile hazırlanan tabletlerin hepsinin mide ve ince barsaklarda parçalanmadan kolona ulaştığı görülmüştür. Bu sonuçlara göre sadece kolonda görülen ülseratif kolit hastalığında guar zamkı ile hazırlanan tabletlerin daha etkili olacağı belirtilmiştir.

Kondroitin Sülfat: Bakterilerce parçalanabilen diğer bir polimer kondroitin sülfattır. Kondroitin sülfat mukopolisakkarit yapısında bir maddedir ve kimyasal yapısı D-glukuronik asit ve N-asetil-D-

galaktozamininden oluşmaktadır. Kondroitin sülfat kalın barsağın anaerobik bakteri ortamında parçalanır. Buradaki başlıca bakteriler *Bacteroides thetaiotaomicron* ve *B. Ovatus*'dur. Yapılan bir çalışmada kondroitin sülfat ile indometazin karışımı tablet haline getirilmiştir. İndometazin salımı anaerobik fermentasyon yapan bakterilerin enzimatik aktivitesine bağlıdır. Sıçan çekal içeriğinin bulunduğu ortamlarda bu matriks tabletin parçalandığı görülmüştür⁸².

Kitosan: Yüksek molekül ağırlığına sahip polikationik bir polisakkarittir. Doğal bir madde olan kitinin deasetilasyonu ile elde edilir. Kimyasal yapısı poli(N-glukozamin)dir. Kitosan biyoparçalanabilir olması ve toksik olmaması nedeniyle tercih edilen bir polimerdir. Düşük pH larda çözünmesinden dolayı kolona özgü sistemlerde enterik bir tabaka ile kaplanarak mide asidine karşı dayanıklı hale getirilmiş ve kolona özgü ilaç sistemlerinde başarılı sonuçlar alınmıştır⁸³.

Kitosan kapsüllerinin hidrokispropilmetilselüloz ftalat ile enterik kaplanarak kolonda dağılımlarının gerçekleştirildiği bir çalışmada 5-(6)-karboksifloressein kullanılmıştır. In vitro çalışmalarda kapsülün gastrik ortamda 2 saat boyunca çok az salım yaptığı görülmüştür. Daha sonraki 4 saatte sıçan çekal içeriği ilave edilen barsak ortamında çözünme hızı yapılmış ve ilaç salımının arttığı gözlenmiştir. Sıçan çekal içeriği bulunan ortamlarda kitosan parçalanmaktadır. Çekal içerikteki bakteriyel fermentasyon ile ortamın pH değeri düşer ve bu asit ortamda kitosanın dağılması daha kolay olur. İn vivo çalışmada model ilaç olarak insülin kullanılmış ve sıçanlarda çalışılmıştır. Bu kapsüller kullanıldığında insülin emiliminin arttığı görülmüştür⁸⁴. Kitosan kapsüllerinin peptit ve proteinlerin kolona özgü sistemlerin hazırlanmasında uygun bir taşıyıcı sistem olduğu belirtilmektedir.

Yeni bir tromboksan sentetaz inhibitörü olan R68070'in sıçanlarda ülseratif koliti iyileştirme etkisinin incelendiği bir çalışmada R68070'in kitosan kapsülü ve karboksimetilselüloz süspansiyonu karşılaştırılmıştır. Kitosan kapsülünün kolona özgü da-

ğılım sistemlerinde taşıyıcı olarak daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir⁸⁵.

Bir diğer çalışmada dondurarak kurutma tekniği ile sodyum diklofenakın mikroküreleri hazırlanmış ve daha sonra mikroküreler Eudragit® L-100 veya Eudragit® S-100 ile kaplanmışır. Eudragit® ile kaplama sonucunda pHya bağlı bir salım elde edilmiştir. Asidik pHda 3 saat boyunca hiç salım olmamıştır, fakat yüksek pHlarda Eudragit® parçalanmakta ve kitosan şişmeye başlamaktadır, böylece difüzyonla ilaç salımı gerçekleşmektedir⁸⁶.

Kitosanın, kitosan süksinat ve kitosan ftalat gibi semisentetik türevleri hazırlanmıştır. Sodyum diklofenak bu polimerler içinde dağıtılarak formülasyon hazırlanmış ve in vitro çalışmalarda asidik ortama karşı dayanıklı olduğu görülmüştür. Bazik ortamda ise çözünme artmaktadır. Bu durum kolona özgü ilaç sistemleri için uygundur⁸⁷.

Kolona Özgü İlaç Taşıyıcı Zaman Kontrollü Sistemler

Dozaj şekillerinin ağızdan kolona kadar geçiş süreleri gama sintigrafi yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Buna göre mideden geçiş büyük farklılıklar göstermesine rağmen ince barsaktan geçişte neredeyse hiç farklılık görülmez. Kolona ilaç taşınmasının başarılı olabilmesi için dozaj şekli mideyi geçtikten sonra 3-4 saat etkin maddenin salınmaması gerekmektedir. Bu temel kavramlar göz önüne alınarak zaman kontrollü sistemler geliştirilmiştir. Bu sistemlerden biri Pulsincap®'dir. Bu sistem yapısı sert jelatin kapsüle benzeyen bir kapsülden oluşur. Bu kapsülün yarısı dağılmayan, diğer yarısı da enterik kaplamadan oluşmaktadır. Enterik kaplama ince barsağa gelindiğinde parçalanmaya başlar ancak dağılmayan parça olduğu gibi kalır. Bu iki bölüm arasında bulunan hidrojel tabaka, enterik kısım ince barsakta parçalandığında şişmeye başlar. Bir süre sonra hidrojel tabaka dağılmayan kapsül parçasından ayrılır ve etkin madde serbest kalır^{1,3}.

Time Clock® adı verilen ilaç sisteminde katı çekirdek, hidrofobik bir madde, yüzey etkin madde ve suda çözünen polimerlerin karışımı ile kaplanmıştır. Kaplama yavaş yavaş aşınır ve ilaç salınır. In-vitro ve in-

vivo incelemelerde, karnauba mumu, polioksietilen sorbitan monoleat ve hidroksipropil metilselüloz karışımı ile kaplanmış plasebo tabletler in vitro test ortamında 196 dakika sonra parçalanmıştır. In vivo çalışmada ise hafif bir kahvaltıdan sonra radyoaktif olarak işaretlenmiş tabletin dağılması incelenmiş ve kolonda dağıldığı gözlenmiştir³.

Kolona hedeflemede kullanılan zaman kontrollü sistemler arasında ozmotik pompa içeren sistemler de vardır. Oros-CT[®] zamana bağlı salım yapan bir sistem olup tek bir ozmotik üniteden veya 5-6 tane küçük sert jelatin kapsül yapısında 4 mm lik tabletlerden oluşan bir sistemdir. Bu birbirinden bağımsız üniteler enterik kaplanarak midede salım engellenmiş ve intestinal pHya hassas hale getirilmiştir. Oros-CT[®] sisteminin avantajları kolon lümenine devamlı ilaç vermesidir. Ülseratif kolit gibi kolon hastalıklarında bu özellik lokal tedavide oldukça etkili olmaktadır⁵. Minyatür bir ozmotik pompa olan Osmet[®] ise mide ve ince barsağı parçalanmadan geçip, 8 saatte kolona ulaşım salım yapacak şekilde geliştirilmiştir. Bu sistem uzaktan kontrol eden bilgisayar kontrollü bir sistem ile çalışmaktadır. Ancak terapötik etkinliği henüz test edilmemiştir.

Kolona Özgü İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Test Edilmesinde Kullanılan Yöntemler

Bu yöntemler, in vitro yöntemler ve in vivo yöntemler olmak üzere ikiye ayrılmıştır.

In Vitro Yöntemler: Kolona özgü ilaç şekillerinden etkin maddenin in vitro salımının incelenmesi amacıyla USP I^{79,81}, II⁷⁶, III⁷¹ veya sürekli akış hücresi^{54,69} yöntemi kullanılmıştır. USP I, II ve III yöntemlerinde salım hızı önce 0.1 N HCl ortamında 1.5-2 saat süreyle saptanır ve daha sonra pH 6.4-7.4 fosfat tamponunda incelenir. Sürekli akış hücresi yönteminde ise 1.5-2 saat süreyle pH 1.2, 4.5, 6.8, 7.4 ortamlarında çalışılmaktadır.

Çözünme hızı çalışmalarında insan kolon ortamını daha iyi taklit edebilmek amacıyla ortama çeşitli enzimler ve bakteriler ilave edilerek enzimatik par-

çalanma sağlanmıştır. Örneğin pektin ile hazırlanan dozaj şekilleri ile yapılan çalışmalarda ortama Pectinex 3XL enzimi^{56,58} veya *Bacteroides ovatus*⁵⁵ ilave edilmektedir. Benzer şekilde guar zamkı için galaktomannaz enzimi^{20,69,71,77,88} ilave edilmektedir.

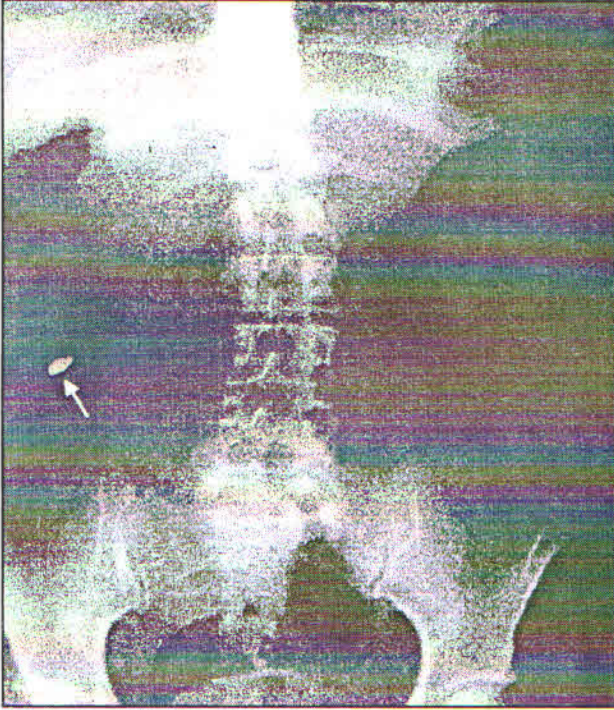
Bir başka yöntem ise önceden polisakkarit ile beslenen (pektin, guar zamkı veya kondroitin sülfat) sıçanların öldürülüp çekum içeriklerinin alınarak in vitro test ortamına ilave edilmesidir^{75,79,82}. Böylelikle in vivo koşullara en uygun olan ortam oluşturulmaya çalışılmıştır.

In Vivo Yöntemler: Kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemlerin in vivo yöntemlerle test edilmesinde değişik hayvan modelleri kullanılmıştır. Bunun için anatomisi ve fizyolojisi insana en yakın olan hayvanlar seçilmiştir. İnsan ile benzer kolon mikroflorasına sahip sıçan, köpek ve domuzlar in vivo çalışmalarda kullanılmıştır⁵.

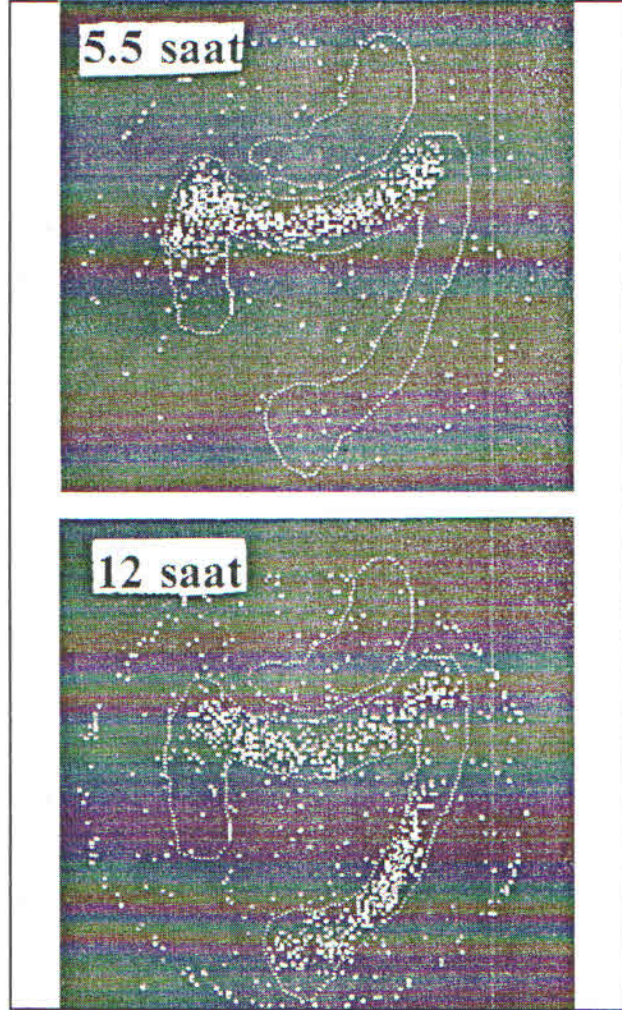
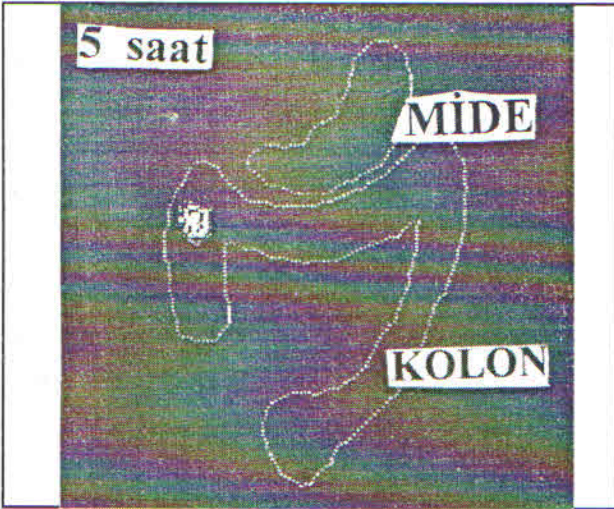
İnsanda yapılan çalışmalarda X-ışınları veya γ -sintigrafi gibi görüntüleme yöntemleri kullanılarak dozaj şekilleri izlenmiştir. X-ışınları ile yapılan çalışmalarda kolona hedeflendirilmiş tabletler baryum sülfat içerecek şekilde hazırlanmaktadır. Dew ve arkadaşlarının⁸⁹ yaptığı bir çalışmada ise Eudragit S ile kaplanan 5-ASA tabletleri ülseratif kolitli sekiz hastada X-ışınları ile görüntülenmiştir. Radyolojik incelemeler sonucunda 12 saatte bir tablet hariç hepsinin kolona ulaştığı gözlenmiştir.

Tuğcu-Demiröz⁶⁹ de guar zamkı ile hazırlanan tabletlerin kolona ulaştığını X-ışınları ile görüntülemiştir(Şekil 2).

γ -sintigrafi yapılan çalışmalarda ise tabletler ^{99m}Tc-DTPA⁷³, veya ¹⁵³Sm⁹⁰ ile işaretlenmiştir. Radyoaktif maddenin dağılımı görüntülenerek izleme yapılmaktadır. Kolona hedeflenen ilaç şekillerinin mide-barsak kanalındaki ilerleyişi bu yöntemle daha doğru olarak saptanabilmektedir^{56,74,80,91,92}. γ -sintigrafi ile görüntülenmiş bir tabletin mide-barsak kanalındaki dağılımı şekil 3'de görülmektedir.



Şekil 2. Guar zamkı ile hazırlanmış matris tabletin sağlıklı bir gönüllüde 6. saatte çıkan kolonda X-ışını görüntüsü⁶⁹.



Şekil 3. ¹⁵³Sm ile işaretlenmiş bir tabletin kolondaki dağılımının sintigrafi görüntüleri⁹⁰

E. SONUÇ

Oral yoldan kullanılan ilaçların kolona özgü sistemler olarak hazırlanması son yıllarda gittikçe artan bir önem kazanmaktadır. Kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemlerin en büyük üstünlüğü lokal hastalıkların doğrudan bu yolla tedavi edilebilmesi ve kolonda kalış süresinin uzun olması nedeniyle sistemik tedavide kolonun kullanılabilir olmasıdır. Kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemlerde değişik teknolojik yaklaşımlar denenmiştir. Her yaklaşımda, diyet, çevre koşulları ve hastalık durumuna göre üstünlük ve sakıncalar değişmektedir. pHya bağlı salım yapan sistemler, mide-barsak kanalı sistemin pHsının değişkenlik göstermesi dolayısıyla çok fazla başarılı değildir. Ön ilaçlar kolona hedefleme açısından başarılı olmakla beraber ekonomik ve toksikolojik sorunların gö-

zönünde bulundurulması gerekir.

Kolonun kendine özgü mikroflorası, kolondaki bakteri ve enzimlerle parçalanan polimerler ile hazırlanan ilaç şekillerinin tasarımında önemli bir avantaj sağlamaktadır. Polisakkaritler nontoksik, biyoparçalanır, formülasyonlarının basit, kolay hazırlanabilir ve ucuz olması nedeniyle kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında son yıllarda önem kazanmıştır. Bu polisakkaritler arasında özellikle pektin, guar zımkı, dekstran ve kitosan daha fazla ümit vaat etmektedir.

Kolona özgü ilaç şekillerinin geliştirilmesinde araştırmacıların fiziksel, kimyasal, teknolojik ve ekonomik pek çok faktörü gözönüne alarak tasarım yapmaları gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Mooter GV, Kinget R. Oral colon-specific drug delivery: A review, *Drug Delivery*, 2, 81-93, 1995.
2. Vander AJ, Sherman, JH, Luciano, DS. Human physiology, 6. basım, McGraw-Hill, USA, 561-600, 1994.
3. Watts PJ, Illum L. Colonic drug delivery, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 23, 893-913, 1997.
4. Haberman B, Friend DR. Anatomy and physiology of the gastrointestinal tract: Implications for colonic drug delivery in "Oral Colon-specific Drug Delivery", Friend DR, ed., 1-43, *CRC Press*, Florida 1992.
5. Reddy SM, Sinha VR, Reddy DS. Novel oral colon-specific drug delivery systems for pharmacotherapy of peptide and nonpeptide drugs, *Drugs of Today*, 35, 537-580, 1999.
6. Meyer JH, Dressman J, Fink A, Amidon G. Effect of size and density on canine gastric emptying of non-digestible solids, *Gastroenterol.*, 89, 805-13, 1985.
7. Coupe AJ, Davis SS, Wilding IR. Variation in gastrointestinal transit of pharmaceutical dosage forms in healthy subjects, *Pharm. Res.*, 8, 360-364, 1991.
8. Parker G, Wilson CG, Hardy JG. The effect of capsule size and density on transit through the proximal colon, *J. Pharm. Pharmacol.*, 40, 376-377, 1988.
9. Metcalf AM, Phillips SF, Zinsmeister AR, MacCarty RL, Beart RW, Wolff B G. Simplified assessment of segmental colonic transit, *Gastroenterol.*, 92, 40-47, 1987.
10. Hardy JG, Wilson CG, Wood E. Drug delivery to the proximal colon, *J. Pharm. Pharmacol.*, 37, 874-877, 1985.
11. Chavan-Patil M, Mishra B. Colon-specific drug delivery- An Overview, *Acta.Pharm.Turc.*, XLT, 173-179, 1999.
12. Watts PJ, Barrow L, Steed KP, Wilson CG, Spiller RC, Melia CD, Davies MC. The transit rate of different-sized model dosage forms through the human colon and the effects of a lactulose- induced catharsis, *Int. J. Pharm.*, 87, 215-221, 1992.
13. Gorbach SL. Intestinal microflora, *Gastroenterol.*, 60, 1110-1129, 1971.
14. Çavuşoğlu H, Yeğen BC, Aydın Z, Alican, İ. Tıbbi Fizyoloji, Yüce Yayın, İstanbul, 9. Baskı, 793-851, 1996.
15. Msrny RJ. The colon as a site for drug delivery, *J. Control. Rel.*, 22, 15-34, 1992.
16. Botoman VA, Bonner GF, Botoman DA. Management of inflammatory bowel disease, *Am. Fam. Physician*, 57, 57-68, 1998.
17. Selby W. Pathogenesis and therapeutic aspects of Crohn's disease, *Vet. Microbiol.*, 77, 505-511, 2000.
18. Rothstein RD. Irritable bowel syndrome, *Med. Clin. Nort Am.*, 84, 115-123, 2000.
19. Klotz U. Clinical pharmacokinetics of sulphasalazine, its metabolites and other prodrugs of 5-aminosalicylic acid, *Clin. Pharmacokinetics*, 10, 285-302, 1985.
20. Hovgaard L, Brondsted H. Current applications of polysaccharides in colon targeting, *Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst.*, 13, 185-223, 1996.
21. Saffran M. Oral colon-specific drug delivery with emphasis on insulin in "Oral colon-specific drug delivery", Friend DR, ed., *CRC Press*, Florida, 115-142, 1992.
22. Saffran M, Bedra C, Kumar GS, Neckers DC. Vasopressin: A model for the study of effects of additives on the oral and rectal administration of peptide drugs, *J. Pharm. Sci.*, 77, 33-38, 1988.
23. Pellicciari R, Garzon-Aburbeh AG, Natalini B, Marinozzi M, Clerici C, Gentili G, Morelli A. Brush-border-enzyme-mediated intestine-specific drug delivery amino acid prodrugs of 5-aminosalicylic acid, *J. Med. Chem.*, 36, 4201-4207, 1993.
24. Rihova B, Rath R, Kopeckova P, Kopecek J. Bioadhesive polymers for oral drug delivery, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 371B, 1491-1494, 1995.
25. Kopecek J. The potential of water-soluble polymeric carriers in targeted and site-specific drug delivery, *J. Control. Rel.*, 11, 279-290, 1990.
26. Kopeckova P, Rath R, Takada S, Rihova B, Berenson MM, Kopecek J. Bioadhesive n-2-hydroxypropyl methacrylamide copolymers for colon-specific drug delivery, *J. Control. Rel.*, 28, 211-222, 1994.
27. Friend DR, Tozer TN. Drug glycosides in oral colon-specific drug delivery, *J. Control. Rel.*, 19, 109-120, 1992.
28. Friend D R, Phillips S, Tozer T N. Colon-specific drug delivery from a glucoside prodrug in the guinea-pig. efficacy study, *J. Control. Rel.*, 15, 47-54, 1991.
29. Friend DR, Chang GW. A Colon-specific drug-delivery system based on drug glycosides and the glycosidases of colonic bacteria, *J. Med. Chem.*, 27, 261-266, 1984.
30. Flourie B, Molis C, Achour L, Dupas H, Hatat C, Rambaud JC. Fate of β -cyclodextrin in the human intestine, *Am. Inst. Nutr.* 123, 676-680, 1993.

31. Antenucci R N, Palmer J K. Enzymatic degradation of α - and β -cyclodextrins by bacteroides of the human colon, *J. Agric. Food Chem.*, 32, 1316-1321, 1984.
32. Hirayama F, Minami K, Uekama K. In-vitro evaluation of biphenyl acetic acid- β -cyclodextrin conjugates as colon-targeting prodrugs: Drug release behavior in rat biological media, *J. Pharm. Pharmacol.*, 48, 27-31, 1996.
33. Minami K, Hirayama F, Uekama K. Colon-specific drug delivery based on a cyclodextrin prodrug : Release behaviour of biphenylacetic acid from its cyclodextrin conjugates in rat intestinal tracts after oral administration, *J. Pharm. Sci.*, 87, 715-720, 1998.
34. Uekama K, Minami K, Hirayama, F. 6^a-O-[4-biphenylacetyl]- α -, β -, and γ -cyclodextrins and 6^a-deoxy-6^a-[[4-biphenylacetyl]-amino]- α -, β -, and γ -cyclodextrins: potential prodrugs for colon-specific delivery, *J. Med. Chem.*, 40, 2755-2761, 1997.
35. Harboe E, Larsen C, Johansen M, Olesen HP. Macromolecular prodrugs. XV.Colon-targeted delivery-bioavailability of naproxen from orally administered dextran-naproxen ester prodrugs varying in molecular size in the pig, *Pharm. Res.*, 6, 919-923, 1989.
36. Larsen C, Johansen M. Macromolecular prodrugs IV. kinetics of hydrolysis of metronidazole monosuccinate dextran ester conjugates in a aqueous solution and in plasma-sequential release of metronidazole from the conjugates at physiological pH, *Int. J. Pharm.*, 35, 39-45, 1987.
37. Mcleod AD, Friend DR, Tozer TN. Synthesis and chemical stability of glucocorticoid-dextran esters: potential prodrugs for colon-specific delivery, *Int. J. Pharm.*, 92, 105-114, 1993.
38. Leopold CS, Friend DR. In vitro study for the assessment of poly (L-aspartic acid) as a drug carrier for colon-specific drug delivery, *Int. J. Pharm.*, 126, 139-145, 1995.
39. Ashford M, Fell JT, Attwood D, Sharma H, Woodhead PJ. An in vivo investigation into the suitability of pH dependent polymers for colonic targeting, *Int. J. Pharm.*, 95, 193-199, 1993.
40. Almardini H, Lindsay DC, Deighton CM, Record CO. Effect of polymer coating on faecal recovery of ingested 5-aminosalicylic acid in patients with ulcerative colitis, *Gut*, 28, 1084-1089, 1987.
41. Faber SM, Korelitz BI. Experience with Eudragit-S-coated Mesalamine Asacol[®] in inflammatory bowel disease, *J. Clin. Gastroenterol.*, 17, 213-218, 1993.
42. Thomas P, Richards D, Richards A, Rogers L, Evans BK, Dew MJ, Rhodes J. Absorption of delayed-release prednisolone in ulcerative colitis and Crohn's disease, *J. Pharm. Pharmacol.* 37, 757-758, 1985.
43. Morishita I, Morishita M, Takayama K, Machida Y, Nagai T. Enteral insulin delivery by microspheres in 3 different formulations using Eudragit L100 and S100, *Int. J. Pharm.*, 91, 29-37, 1993.
44. Sinha VR, Kumria R. Polysaccharides in colon-specific drug delivery, *Int. J. Pharm.*, 224, 19-38, 2001.
45. Van Den Mooter G, Samyn C, Kinget R. Azo polymers for colon-specific drug delivery, *Int. J. Pharm.*, 87, 37-46, 1992.
46. Van Den Mooter G, Samyn C, Kinget R. Characterization of colon-specific azo polymers: a study of the swelling properties and the permeability of isolated polymer films, *Int. J. Pharm.*, 111, 127-136, 1994.
47. Van Den Mooter G, Maris B, Samyn C, Augustijns P, Kinget R. Use of azo polymers for colon-specific drug delivery, *J. Pharm. Sci.*, 86, 1321-1327, 1997.
48. Van Den Mooter G, Samyn C, Kinget R. The relation between swelling properties and enzymatic degradation of azo polymers designed for colon-specific drug delivery, *Pharm. Res.*, 11, 1737-1741, 1994.
49. Van Den Mooter G, Samyn C, Kinget R. Azo polymers for colon-specific drug delivery. II: Influence of the type of azo polymer on the degradation by intestinal microflora, *Int. J. Pharm.*, 97, 133-139, 1993.
50. Van Den Mooter G, Samyn C, Kinget R. In vivo evaluation of a colon-specific drug, delivery system: An absorption study of theophylline from capsules coated with azo polymers in rats, *Pharm. Res.*, 12, 244-247, 1995.
51. Samyn C, Kalala W, Van Den Mooter G, Kinget R. Synthesis and in vitro biodegradation of polyether-ester azo polymers designed for colon targeting, *Int. J. Pharm.*, 121, 211-216, 1995.
52. Önder HN, Dortunç B. Pektin'in farmasötik teknolojide kullanımı, *FABAD Farm. Bil. Derg.*, 25, 19-26, 2000.
53. Ashford M, Fell JT, Attwood D, Sharma H, Woodhead P. Studies on pectin formulations for colonic drug delivery, *J. Control. Rel.*, 30, 225-232, 1994.
54. Rubinstein A, Radai R, Ezra M, Pathak S, Rokem JS. In vitro evaluation of calcium pectinate a potential colon-specific drug delivery carrier, *Pharm. Res.*, 10, 258-263, 1993.
55. Rubinstein A, Radai R. In vitro and in vivo analysis of colon specificity of calcium pectinate formulations, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 41, 291-295, 1995
56. Ashford M, Fell JT, Attwood D, Sharma H, Woodhead P. An evaluation of pectin as a carrier for drug targeting to the colon, *J. Control. Rel.*, 26, 213-220, 1993.
57. Türkoğlu T, Takka S, Baran H, Sakr A. Pectin-HPMC drug delivery system for colon targeting, *Pharm. Ind.*, 61, 662-665, 1999.
58. Türkoğlu M, Uğurlu T. In vitro evaluation of pectin-HPMC compression coated 5-aminosalicylic acid tablets for colonic delivery, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 53, 65-73, 2002.
59. Wakerly Z, Fell JT, Attwood D, Parkins D. Pectin/Ethylcellulose film coating formulations for colonic drug delivery, *Pharm. Res.*, 13, 1210-1212, 1996.
60. Basan H, İmren D, Gümüşderelioğlu M, pıŦya hassas

- hidrojeller ve kontrollü ilaç salım sistemlerindeki uygulamaları, *FABAD Farm. Bil. Derg.*, 26, 81-92, 2001.
61. Brondsted H, Kopecek J. Hydrogels for site-specific oral drug delivery: Synthesis and characterization, *Bio-materials*, 12, 584-592, 1991.
 62. Brondsted H, Hovgaard L, Simonsen L. Dextran hydrogels for colon-specific drug delivery II. Synthesis and characterization, *Eur. J. Biopharm.*, 42, 85-89, 1996.
 63. Simonsen L, Hovgaard L, Mortensen PB, Brondsted H. Dextran hydrogels for colon-specific drug delivery. V. Degradation in human intestinal incubation models, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 3, 329-337, 1995.
 64. Takka S, Acartürk F. Aljiniik asit ve tuzlarının eczacılıkta kullanımı, *FABAD Farm. Bil. Derg.*, 23, 17-27 1998.
 65. Takka S, Acartürk F. Calcium alginate microparticles for oral administration : I-Effect of sodium alginate type on drug release and drug entrapment efficiency, *J. Microencap.*, 16, 275-290, 1999.
 66. Fernandez-Hervas MJ, Holgado MA, Fini A, Fell JT. In vitro evaluation of alginate beads of a diclofenac salt, *Int. J. Pharm.*, 163, 23-34, 1998.
 67. Lin SY, Ayres JW. Calcium alginate beads as core carriers of 5-aminosalicylic acid, *Pharm. Res.*, 9, 1128-1131, 1992.
 68. Tuğcu-Demiröz F, Acartürk F, Takka S. Investigation of the colon-specific dosage forms using sodium alginate, Pharmacy and Pharmaceutical Sciences World Congress, 61th International Congress of FIP, 1-6 Sep., 2001. Singapur, Abstracts p.81
 69. Tuğcu-Demiröz F, Kolona hedeflendirilmiş ilaç şekillerinin geliştirilmesi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2001.
 70. Yu K, Wong D, Parasrampur J, Friend D. Guar Gum; in "Analytical profiles of drug substances and excipients", (Florey, A.T. ed.), *Academic Press*, 24, 245-276, 1998.
 71. Wong D, Larrabee S, Clifford K, Tremblay J, Friend DR. USP dissolution apparatus III reciprocating cylinder for screening of guar-based colonic delivery formulations, *J. Control. Rel.*, 47, 173-179, 1997.
 72. Weaver GA, Tangel CT, Krause JA, Alpern HA, Jenkins PL, Parfitt MM, Stragand JJ. Dietary guar gum alters colonic microbial fermentation in azoxymethane-treated rats, *J. Nutrition*, 126, 1979-1991, 1996.
 73. Krishnaiah YSR, Satyanarayana S, Prasad YVR, Rao SN. Gamma scintigraphic studies on guar gum matrix tablets for colonic drug delivery in healthy human volunteers, *J. Control. Rel.*, 55, 245-252, 1998.
 74. Kenyon CJ, Nardi RV, Wong D, Hooper G, Wilding IR, Friend DR. Colonic delivery of dexamethasone: A pharmacoscintigraphic evaluation, *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 11, 205-213, 1997.
 75. Prasad YVR, Krishnaiah YSR, Satyanarayana S. In vitro evaluation of guar gum as a carrier for colon-specific drug delivery, *J. Cont. Rel.*, 51, 281-287, 1998.
 76. Altaf SA, Yu K, Parasrampur J, Friend DR. Guar gum-based sustained release diltiazem, *Pharm. Res.*, 15, 1196-1201, 1998.
 77. Gliko-Kabir VI, Yagen B, Baluom M, Rubinstein A. Phosphated crosslinked guar for colon-specific drug delivery II. in vitro and in vivo evaluation in the rat, *J. Control. Rel.*, 63, 129-134, 2000.
 78. Hirsch S, Binder V, Schelmann V, Kolter K, Bauer KH. Lauroyldextran and cross-linked galactomannan as coating materials for site-specific drug delivery to the colon, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 47, 61-71, 1999.
 79. Krishnaiah YSR, Satyanarayana S, Rama Prasad YV. Studies of guar gum compression-coated 5-aminosalicylic acid tablets for colon-specific drug delivery, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 25, 651-657, 1999.
 80. Bajaj A, Sawarkar S, Deshpande S, Soni P, Pandit, P. In vivo-in vitro evaluation of natural polymer guar gum as carrier for drug targeting to the colon, *Proceed. Int. Symp. Rel. Control. Rel. Bioact. Mater.*, 28, #6043, 2001.
 81. Krishnaiah YSR, Raju PV, Dinesh Kumar B, Bhaskar P, Satyanarayana V. Development of colon targeted drug delivery systems for mebendazol, *J. Control. Rel.*, 77, 87-95, 2001.
 82. Rubinstein A, Nakar D, Sintov A. Chondroitin sulfate: A potential biodegradable carrier for colon-specific drug delivery, *Int. J. Pharm.*, 84, 141-150, 1992.
 83. Kumar M.N.V.R. A review of chitin and chitosan applications, *Reactive & Functional Polymers*, 46, 1-27, 2000.
 84. Tozaki H, Komoike J, Maruyama T, Terabe A, Suzuki T, Yamamoto A, Muranishi S. Chitosan capsules for colon-specific drug delivery: improvement of insulin absorption from the rat colon, *J. Pharm. Sci.*, 86, 1016-1021, 1997.
 85. Tozaki H, Fujita T, Odoriba T, Terabe A, Suzuki T, Tanaka C, Okabe S, Muranishi S, Yamamoto A., Colon-specific delivery of R68070, a new thromboxane synthase inhibitor, using chitosan capsules: Therapeutic effect against 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced ulcerative colitis in rats, *Life Sciences*, 64 1155-1162, 1999.
 86. Lorenzo-Lamosa ML, Remunan-Lopez C, Vila-Jato JL, Alonso MJ., Design of microencapsulated chitosan microspheres for colonic drug delivery, *J. Control. Rel.*, 52, 109-118, 1998.
 87. Aiedeh K, Taha MO., Synthesis of chitosan succinate and chitosan phthalate and their evaluation as suggested matrices in orally administered, colon-specific drug delivery systems, *Archiv Der Pharmazie*, 332, 103-107, 1999.
 88. Khullar P, Khar RK, Agarwal SP. Evaluation of guar gum in the preparation of sustained-release matrix tablets, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 24, 1095-1099, 1998.
 89. Dew MJ, Ryder REJ, Evans N, Evans BK, Rhodes J., Co-

- lonic release of 5-amino salicylic acid from an oral preparation in active ulcerative colitis, *Br. J. Clin. Pharm.*, 16, 185-187, 1983.
90. Habib W A, Sakr A. Development and human in vivo evaluation of a colonic drug delivery system, *Pharm. Ind.*, 61, 1145-1149, 1999.
91. Ahmad FJ, Khar RK. A new colon specific drug delivery system: Formulation and gammascintigraphic evaluation in healthy human volunteers, *Proceed. Int. Symp. Rel. Control. Rel. Bioact. Mater.*, 28, #6001, 2001.
92. Sangalli ME, Buseti C, Maroni A, Zema L, Olgiati V, Giordano F, Gazzaniga A. Chronotopic system for colon specific delivery: Pharmacokinetic and scintigraphic evaluation, *Proceed. Int. Symp. Rel. Control. Rel. Bioact. Mater.*, 25, #6403, 1998.

ANNOUNCEMENTS / DUYURULAR *

- 3rd June 2002 - 5th June 2002, AAPS Workshop on the Integration of Exposure Response Relationships in Drug Development and Regulatory Assessment - Revisiting a Decade of Experience, Co-Sponsored with FDA, Crystal Gateway Marriott, Arlington, VA, USA.
- 13th June 2002 - 15th June 2002, CSPS 5th Annual Symposium on Pharmaceutical Sciences, The Banff Centre for Conferences, Alberta, Canada.
- 13th June 2002 - 14th June 2002, AAPS Workshop on the Paperless Laboratory - Finally a Reality: Defining the Criteria for a Quality System, Co-Sponsored with FDA, Crystal Gateway Marriott, Arlington, VA, USA.
- 25th June 2002 - 27th June 2002, 5th International Conference on Lifelong Learning in Pharmacy, Rhodes University, Grahamstown, South Africa.
- 1st July 2002 - 12th July 2002, Training Course on High-throughput Drug Metabolism / Disposition, Amsterdam, The Netherlands.
- 4th July 2002 - 6th July 2002, The 6th International Congress Phytopharm 2002, Saint - Petersburg, Russia.
- 19th July 2002 - 24th July 2002, 29th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials, Seoul, Korea.
- 18th August 2002 - 22nd August 2002, 224th American Chemical Society National Meeting, Boston, Massachusetts, USA.
- 25th August 2002 - 29th August 2002, 12th International Conference on Advances in Prostaglandin, Leukotriene and Other Bioactive Lipid Research: Basic Sciences and Clinical Applications, Lütfi Kırdar Congress Center, Istanbul, Turkey.
- 31st August 2002 - 5th September 2002, 62nd International Congress of FIP, Nice Acropolis, Nice, France.
- 9th September 2002 - 11th September 2002, 11th International Pharmaceutical Technology Symposium - Intelligent Drug Delivery Systems, Hotel Dedeman, Istanbul, Turkey.
- 16th September 2002 - 20th September 2002, 18th European Workshop on Drug Metabolism, Valencia Conference Centre, Valencia, Spain.
- 23rd September 2002 - 25th September 2002, 139th British Pharmaceutical Conference, G-Mex Exhibition Centre, Manchester, UK.
- 25-28 September 2002, 1st International Meeting on Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, IMMPC-1, Gazi University, Ankara-Turkey.
- 17th October 2002 - 18th October 2002, Pharmacogenomics 2, Pasteur Institute, Paris, France.
- 20th October 2002 - 23rd October 2002, EUFEPS 2002: New Safe Medicines Faster, Stockholm International Fairs, Stockholm, Sweden.
- 10th November 2002 - 14th November 2002, AAPS Annual Meeting and Exposition, Metro Toronto Convention Center, Toronto, Canada.
- 7th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-7) Ankara University, Faculty of Pharmacy, June 24-27, 2003.
- 3rd February 2003 - 7th February 2003, The Third World Congress on Medicinal and Aromatic Plants for Human Welfare (WOCMAP III), Lotus Hotel Pang Saun Keaw, Chiang Mai, Thailand.
- 6th September 2003 - 11th September 2003, 63rd International Congress of FIP, Darling Harbor Convention Centre, Sydney, Australia.
- 29th May 2004 - 3rd June 2004, Pharmaceutical Sciences World Congress - 2nd World Congress of the Board of Pharmaceutical Sciences of FIP, Kyoto, Japan.

* <http://www.pharmweb.net>'den alınmıştır.

YAYIM KOŞULLARI

FABAD Farmasötik Bilimler Dergisi'nde aşağıda sayılan özellikleri taşıyan yazılar yayımlanabilir:

1. **Bilimsel Araştırmalar:** Farmasötik bilimlerin (kimya, biyoloji, klinik, sosyal, fizik v.b.) her dalında orijinal bir araştırmayı bulgu ve sonuçlarıyla ortaya koyan İngilizce olarak yazılmış makaleler (tamamı en çok 15 daktilo sayfası).

2. **Bilimsel Taramalar:** Yeterli sayıda bilimsel kaynağı tarayarak, mutlaka yazarın kendi özgün çalışmalarını da içeren, bir konuyu bugünkü bilgi düzeyinde özetleyen ve değerlendiren veya bulguları eleştiren Türkçe/İngilizce olarak yazılmış yazılar (tamamı en çok 25 daktilo sayfası).

3. **Önbilgiler:** Devam etmekte olan bir çalışmanın bulgularını zaman kaybetmeden duyurmak için tamamı iki sayfayı geçmeyen ve İngilizce olarak yazılmış yazılar.

4. **Farmasötik Forum:** Dergimizde yayınlanan makaleler hakkında tartışma veya önemli bir gözlemin bildirilmesi için yazılan en çok bir sayfadan oluşan yazılar.

5. Bilim Haberleri:

- Eczacılık konusunda Türkiye'de ve dünyadaki önemli bilimsel olaylara ilişkin yazılar
- İlk defa uygulamaya konulan araç ve gereçler
- Eczacılıkla ilgili kongre, konferans, sempozyum vb. hakkında kısa bilgi ve tutanaklar
- Eczacılıkta yararlı bilim kitaplarının tanıtılması
- Yayımlanmaya yeni başlayan bilimsel dergi vb. hakkında bilgiler
- Doktora tez özetleri (İngilizce)

Yayıma gönderilecek yazıların hazırlanışında aşağıda belirtilen kurallara uyulmalıdır:

1. Metinler üç nüsha olarak A-4 normuna uygun (210x297 mm) kağıtlara iki satır aralıkla yazılmalı, sayfanın sağ ve solundan iki santimetre aralık bırakılmalıdır.

2. Yazarın isim ve soyadı, başlığın altına ünvan belirtilmeden yazılmalıdır. Birden çok yazar varsa, aralarına virgül konularak yanyana yazılmalıdır. Yazarların soyadları üzerine konulacak farklı sayıda yıldız işaretleriyle, ilk sayfanın altında kurum adları ve görev ünvanları posta adresi olarak kullanılacak açıklıkta verilmelidir.

3. Üç nüsha halinde gönderilecek metinlerin herbirinin başına eklenecek bir sayfaya, yayının adı, yazarların adları ve ilişki kurulması istenilen yazarın yazışma adresi (fax, telefon, e-posta adresi) belirtilmelidir. Gönderilecek makaleye yazarlarının herbirinin imzalarını içeren bir mektup eklenmelidir.

4. Etik Kurallar

İnsan denekleri kapsayan çalışmalar için lokal etik komite onayı bulunmalı veya çalışma Helsinki Deklarasyonu ile tanımlanmış olan etik koşullara uygun yapılmış olmalıdır. Hayvan çalışmaları için de lokal etik komite onayı alınmış olmalı veya çalışma National Research Council tarafından yayınlanmış olan (National Academy Press, Washington, DC, 1996) "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" isimli kitapta yer alan deney hayvanlarına yönelik etik standartlara uygun olarak yapılmış olmalıdır.

5. Yazının bölümleri aşağıdaki sıraya uygun olmalıdır:

ÖZET: Bilimsel taramalar için 500 kelime, bilimsel araştırmalar için 200 kelimeyi geçmeyecek şekilde Türkçe ve İngilizce yazılmalıdır. Araştırma makalelerinin özeti çalışmanın amacı, yöntemi, bulguları ve sonucu kısaca içermelidir. Her iki dildeki özeti başına makalenin aynı dilde adı ve sonuna, 10 adedi geçmemek üzere aynı dildeki anahtar sözcükler yazılmalıdır.

GİRİŞ: Çalışmanın amacı ve konuyla ilgili bilgiler ışığında verilmelidir.

GEREÇ ve YÖNTEM

BULGULAR ve SONUÇ

TARTIŞMA

KAYNAKLAR: Metinde satır üstünde, geçiş sırasına göre numaralandırılmalı ve metnin sonunda bu numaralar sıra ile belirtilmelidir. Kaynaklar şöyle düzenlenmelidir:

Makale için: Yazarın soyadı, adının baş harfleri, makalenin tam başlığı, derginin adı (italik ve uluslararası kısaltmalara uygun olarak), cilt no, sayfa no (başlangıç ve bitiş), yıl. Birden fazla yazar adı varsa, hepsi yazılmalıdır.

Stalcup AM, Chang SC, Armstrong DW, Pitha J. (s) - 2 - Hydroxypropyl - β - cyclodextrin, a new chiral stationary phase for reversed-phase liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, 513, 181-194, 1990.

Kitap için: Yazarın soyadı, adının baş harfleri, varsa bölüm başlığı, varsa editörün soyadı, adının baş harfleri, (ed) ibaresi, kitabın adı (italik), yayınevinin adı, şehir varsa cilt no, sayfa no, basıldığı yıl.

Nagai T, Takayama K. A Novel Method Based on Artificial Neural Networks for Optimizing Transdermal Drug Delivery Systems, Wise DL (eds.), Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology, Marcel Dekker, Inc., New York, 271-285, 2000.

5. Şekil ve grafikler belirgin ve net olmalıdır. Bilgisayar yazıcıları ile alınan şekil/grafiklerin "Laser printer", diğerlerinin çini mürekkebi ile hazırlanması gereklidir. Resimler parlak fotoğraf kağıdına, siyah-beyaz ve net basılmış olmalıdır. Şekil, grafik ve fotoğrafların arkasında yazar adı, makale başlığı ve şekil numarası yazılıp ayrı bir zarf içinde yazıya eklenmelidir. Şekil altı yazılar, metin dışında ayrı bir kağıda yazılmalıdır.

6. Kabul edilmiş yazılar doğrudan bilgisayar ortamına gireceği için, uygun bir bilgisayar kelime işlemci programıyla; MS Office for Windows, Wordperfect veya Macintosh ortamında (Word, Wordperfect, Quark Express, Ready Set Go, Design Studio vb.) yazılarak 3.5" 720 KB veya 1.44 MB diskette gönderilmelidir. Bu gönderilen son metin, bütün düzeltmelerin yapıldığı metin olacaktır.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Manuscripts, having the characteristics mentioned below can be published in the FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences:

1. **Research Articles:** Articles in every field of pharmaceutical sciences (physical, chemical, biological, clinical, social, etc.), presenting an original research with results and conclusion in English (maximum 15 printed pages).

2. **Scientific Reviews:** An updated comprehensive review, with sufficient number of scientific articles including original paper (s) of the author (s) on a subject, by evaluating and discussing the results (maximum 25 printed pages) (in Turkish or English).

3. **Short Communications:** Rapid announcement of the results of a continuing research, not exceeding 2 printed pages.

4. **Pharmaceutical Forum:** A commentary/discussion on published articles or communications in the Journal of Pharmaceutical Sciences - FABAD that report an important observation limited to one printed page.

5. **Scientific Reports:**

- a) Articles dealing with important scientific pharmaceutical events in Turkey and in the world
- b) Recent equipment and materials
- c) Short information and reports on the pharmaceutical congresses, conferences, symposia, etc
- d) English summaries of Ph.D. thesis in Pharmaceutical sciences
- e) Reviews of scientific books in pharmaceutical sciences.
- f) Reviews on recently published scientific journals, etc.

The instructions mentioned below should be followed for the preparation of manuscripts submitted.

1. Text should be typed double spaced on A4 paper (210x297 mm) with a margin of 2 cm on each side of each page and submitted in triplicate.

2. Following the article title, the name and surname of the author should be written without giving author's degrees. In case of more than one author, the names and surnames of the authors should be separated with commas. The authors' affiliations and degrees should be typed as footnotes to the authors' surnames on the bottom of the first page, by using asterixes of different numbers.

3. Each copy of the manuscript, that is submitted in triplicate, should have a cover page, indicating the title of article, the names of authors and the name and the address (including fax, telephone, e-mail addresses) of the author to whom all correspondence should be made. Manuscripts submitted should have a separate letter including the signatures of each author.

4. **Ethical Considerations**

Papers reporting experiments involving human subjects must contain the statement that the research was approved by a local ethical committee or be suitable to the ethical standards that was described by Helsinki Declaration. Papers describing animal experiments must also indicate that the research was approved by a local ethical committee or clearly state that the experiments were performed in accordance with accepted guidelines such as "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" by National Research Council (National Academy Press, Washington, DC, 1996).

5. Sections of the manuscripts should adhere to the following sequence:

SUMMARY: It should be written in Turkish and in English no longer than 500 words for review articles and 200 words for research articles. The summary in both languages should have a title of that language and a list of keywords (maximum 10) is to be provided directly after the summary in the same language. For the research articles, the aim of the study, method, results and conclusion should be given briefly.

INTRODUCTION: The objective of the research and previous researches dealing with the subject should be mentioned briefly.

MATERIALS and METHODS

RESULTS

DISCUSSION

CONCLUSION

REFERENCES: Within the text, references should be numbered consecutively in the order, in which they were cited. Full references should be compiled at the end of the text with these numbers. The style and punctuation of references should be as follows:

Articles: Surname of the author, initials of the author's name, title of the article, journal title (italicized and abbreviated according to international list of scientific journals), volume number, inclusive page numbers and year. If there is more than one author, all the names of the authors should be written.

Stalcup AM, Chang SC, Armstrong DW, Pitha J. (s) - 2 - Hydroxypropyl - β - cyclodextrin, a new chiral stationary phase for reversed-phase liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, 513, 181-194, 1990.

Books: Surname of the author, initials of the author's name, chapter title, initials of the editor's name, surname of the editor, (ed) clause, name of the book (underlined), address and name of the publisher, site of publisher volume number, page number and year.

Nagai T, Takayama K. A Novel Method Based on Artificial Neural Networks for Optimizing Transdermal Drug Delivery Systems, Wise DL (eds.), Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology, Marcel Dekker, Inc., New York, 271-285, 2000.

5. Figures and graphics should be drawn with india ink on smooth tracing paper or white paper or printed by Laser Printer, Photographs should be glossy prints, showing high contrast in black and white. Figures, graphics and photographs should be identified on the back with author's name, article title and number and they should be submitted separately within an envelope attached to the manuscript. Figure legends should be written on a separate manuscript sheet.

6. Manuscripts accepted for publication are sent on a 3.5" 720K or 1.44 MB diskette, written with a word processor; MS Office for Windows, Wordperfect or on a Macintosh Word Processor (Word, Wordperfect, Quark Express, Ready Set Go, Design Studio, etc.)