

HEPARİN'İN YENİ FARMASÖTİK YAKLAŞIMLARI

NEW PHARMACEUTICAL APPROACHES OF HEPARIN

Ayca YILDIZ, Yıldız ÖZSOY

İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı,
34116-Üniversite/İstanbul-TÜRKİYE

ÖZET

Heparin, antikoagülan özelliğe sahip bir maddedir ve bir antikoagülan olarak özellikle ven trombozunun ve pulmoner embolinin önlenmesinde ve tedavisinde parenteral olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda heparinin oral, transdermal, pulmoner ve rektal yoldan kullanımı gibi diğer uygulama yolları ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Bu derlemede heparin ile ilgili genel bilgiler ve antikoagülan kullanımı dışındaki parenteral uygulamalar ile şimdiye kadar yapılmış alternatif uygulama yollarına yönelik çalışmalardan örnekler verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Heparin; parenteral, oral, nazal, transdermal, pulmoner ve rektal veriliş yolları

ABSTRACT

Heparin possesses anticoagulant structure and widely used as anticoagulants in the prevention and treatment of deep vein thrombosis and pulmonary embolism via paranteral route. Recently, several heparin studies have been performed on other administration routes such as oral, transdermal, pulmonary and rectal route.

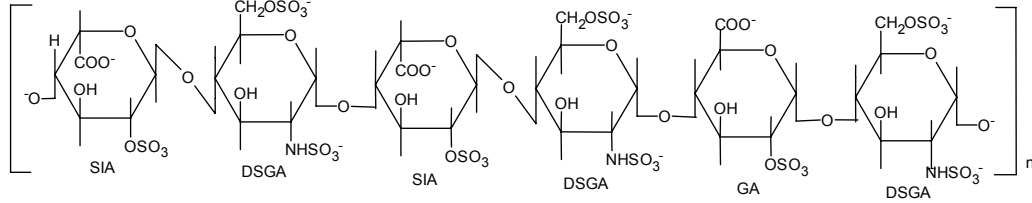
In this review, general knowledge about heparin and reported formulations studies concerning alternative administration routes up to now were given.

Keywords: Heparin, alternative routes (parenteral, oral, nasal, transdermal, pulmonary and rectal)

*Correspondence: onur@pharmacy.ankara.edu.tr

GİRİŞ

Heparin sığır akciğeri ve domuz ince barsak mukozasından ekstraksiyon ve saflaştırma suretiyle elde edilen doğal bir maddedir (1). Heparin, kimyasal olarak glikozaminoglikan yapısında; zincir uzunluğu farklı asidik polisakaritlerden oluşmuş bir mukopolisakarittir (2).



SIA: 2- Sülfoiduronik asit, DSGA: 2,6 disülfoglikozamin, β -GA: β - glukuronik asit (3)

Fraksiyonlandırılmamış heparin (UF) ve düşük molekül ağırlığında heparin (LMWH) derin ven trombozunun ve pulmoner embolinin önlenmesinde ve tedavisinde yaygın olarak kullanılan antikoagülandır. Heparin membranlardan geçemediği için parenteral (*iv*, *sc*) olarak uygulanmaktadır. Ancak UF ve LMWH'in alternatif uygulama yolları ile verilebilmesi için pek çok çalışma yapılmaktadır.

Heparin, tedavideki üstünlüğü ve oral antikoagülanlara göre daha güvenilir olması nedeniyle oldukça tercih edilen bir antikoagülan maddedir. Heparinin plasentadan geçmemesi, etkisinin hızlı ortaya çıkması ve tedavinin kesilmesiyle de hızla ortadan kalkması avantaj sağlar.

Heparinin en iyi bilinen özelliği olan antikoagülan özelliği dışında antilipidemik (4), tümör gelişimini engelleyici ve anjiyogenezi düzenleyici (5), antibakteriyal ve antiviral gibi diğer farmakolojik özellikleri çalışılmıştır (4).

Johansson (6) heparinin antialerjik etkisi olduğunu vurgulamıştır. Dahl (7) bu düşüncüyü deneysel olarak ispatlamaya çalışmış ve özel antijeni hastalara vermeden önce heparin enjekte edilen hastalarda alerjik astımı engellemeyi başarmıştır. Ayrıca heparinin otoimmün hemolitik anemide bir kısım hastada etkili olduğunu göstermiştir.

Heparinin ağır romatizma vakalarında farklı bir yoldan etki ederek tedavi sağladığı ve aktivitesinin hiyaluronidazı inhibe ederek oluşturduğu düşünülmektedir (8). Heparinin bağlı dokularda romatizma üzerindeki etkisi antienflamatuvar özelliği ile ilişkilidir. Diğer tedavi edici etkisi ise tromboflebit ve interstisyel sistit üzerinedir.

Heparin, çoklu sklerozisler üzerinde etkilidir ve araştırmacılar bunun lipid metabolizması üzerinde etkisi ile ilgili olduğunu düşünmektedirler (9,10).

Heparinin ayrıca tinnitus, ani sağırılık, Meniere's hastalığı ve Bell's felcinde de etkili olduğu bildirilmiştir (11). Bu tedavilerde nikotinic asit prokain ile kombine halde kullanılmıştır. Viral enfeksiyon vakalarında heparinin etkisinin antienflamatuvar veya antihyaluronidaz etkisi ile olabileceği vurgulanmıştır .

Hyaluronidazlı heparinoid kombinasyonu ile hazırlanan merhemlerin etkisi araştırmacılar tarafından tekrar gözden geçirilmiştir (12). Bu merhemler yüzeysel flebit, hematoma, varisli damar, enflamasyonlu hemaroid, don incinmesi, diabetik nekrozun ön safhası, tortikollis ve ter bezleri absesinde iyi sonuçlar alınmıştır.

1. Parenteral Yoldan Uygulanması

Heparinin parenteral uygulamasında yeni strateji olarak damar içine yerleştirilen stentler ve antikor hedefli yaklaşımlar eklenmiştir (13-16). Heparin yüklü zein mikroküpleri kardiyovasküler uygulandığında, ilaç yüklü stentlerin kan uyumsuzluğunu düzeltmiştir. Hiç bir yüklü stent, stent implantasyonunu takiben trombotik komplikasyonları azaltmamaktadır. Stentlerin performansında dizayn ve konfigürasyon önemli rol oynar. Çapraz bağlı fibrinlere hedeflenmiş antikor bazlı anti-restenoikler için dizayn edilen lokal salım yapan stentler, UF ve LMWH hedeflemesi ile hasarlı arter duvarlarında sistemik komplikasyon olmaksızın lokal etki sağlamaktadır (17).

Heparin antikoagülan özelliği dışında parenteral olarak aşağıdaki hastalıklarda da kullanılmaktadır.

Ekzema: Heparinin antikoagülan kullanımını dışında ilk seçilen kullanım alanı, tümünde histamin salımı olan enflamasyon, alerji ve enfeksiyonun bir arada bulunduğu görünür lezyonlarla teşhis edilen klinik problem olan ekzamadır. Bu hastalıkta heparin ile antibiyotik neomisin, streptomisin, polimiksin, viomisin kombine halde kullanılır. Heparin bu kombinasyonda endojen olarak salınan histamini bağlayarak antienflamatuvar etkisi ile ikincil bir etki sağlar. Antibiyotik-steroid karışımına yanıt vermeyen hastalarda %3 antibiyotik, %2.5 kortizon ve %1 oranında heparin karışımı lokal olarak uygulanmıştır. Üç kişi haricinde 63 hasta bu tedaviye olumlu yanıt vermiştir (4).

Saman ateşi: Heparinin ekzemada kullanımını ile klinikte histamini bağladığı gözlenmiş ve saman ateşi tedavisi için çalışmalar başlatılmıştır. Heparin 100-200 mg aralığında i.v olarak akut polinosiz atağı geçiren 27 hastaya enjekte edilmiş ve alerjik belirtilerden olan burun tıkanıklığı, akıntısı, konjunktivit, kızarıklık ve deri kaşınması gibi pek çok vakada yardımcı olduğu tespit

edilmiştir. Nazal polipli kronik vakalarda benzer tedaviye bir kaç gün devam edilmiştir. Poliplerin çoğunda etkili olmamış ancak polinosiz belirtileri yok olmuştur (4) .

Laringotrekeal bronşit: Bu vakalarda 100-200 mg heparin i.v olarak uygulanarak 10 çocuk tedavi edilmiştir. Hepsi heparine erken yanıt vermiş ve 9 vaka trakeotomiden kurtulmuştur (4).

2. Oral Yoldan Uygulanması

Heparinin oral kullanımı ile ilgili çeşitli *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar yapılmıştır. *İn vivo* çalışmalarda fare, sıçan, tavşan, köpek, domuz, primat ve insanlar kullanılmıştır (5,18,19). Heparinin hidrofobik organik bazlı komplekslerinin veya spermin ve lizin tuzlarının sıçan ve köpeklere intraduodenal uygulaması ile limitli oral biyoyararlanım gözlenmiştir (20). Başka bir çalışmada, heparin ile birlikte verilen organik asitlerin farelerde ince barsaklardan absorpsiyonu arttırdığını göstermiştir (21). Yağ/su emülsiyonlarının (22), lipozomların (18) ve kalsiyuma bağlı moleküllerin (23) heparinin oral absorpsiyonunu arttırdığı kanıtlanmıştır. Heparin- SNAC (sodium N-(8[2-hidroksibenzoil] amino) kaprilat karışımının ven trombozu oluşturulmuş model sıçanlara oral uygulanması sonucu aPTT seviyesini yükselttiği ve derin ven trombozunda başarılı bir sonuç verdiği görülmüştür (24).

UF heparinin absorpsiyonunun sınırlı olması sebebiyle LMWH'in oral uygulanmasına ait çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların birinde LMWH'in oral verilikten sonra doku dağılımı profili saptanmaya çalışılmıştır (25). LMWH, 24 saatte karaciğer, akciğer, endotelial sistem ve idrarda tespit edilmiştir, feçeste bulunmamıştır. aPTT zamanlarında anlamlı bir değişme olmazken, anti-Xa aktivitede anlamlı bir artış saptanmıştır. Diğer bir çalışmada, LMWH'in poliester ve polikatyonik polimetakrilat karışımı ile nanopartikülleri hazırlanmış ve tavşanlara oral olarak uygulandığında, 8 saatin üzerinde uzatılmış etki sağlanmıştır. Nanopartiküllerden mutlak biyoyararlanım >%50 olarak hesaplanmıştır (26).

Heparin'in hidrofobik deoksikolik asit (DOCA) konjugatının ince barsakların ileum ve jejunum bölgesinden tamamen absorbe edildiği, Caco-2 hücrelerinden transselüler yolu tercih ettiği ve venöz tromboembolizm tedavisi için klinik çalışmalar yapılması gerektiği vurgulanmıştır (27). Bir başka grup araştırmacı da heparinin en önemli absorpsiyonun bölgesinin mide olduğunu vurgulamıştır (28)

Oral absorpsiyonun artırılması amacıyla kullanılan mono-karboksimetil kitozan'ın LMWH' in barsak epitelinden geçişte permeasyonunu, dolayısıyla absorpsiyonunu arttırdığı kaydedilmiştir (29).

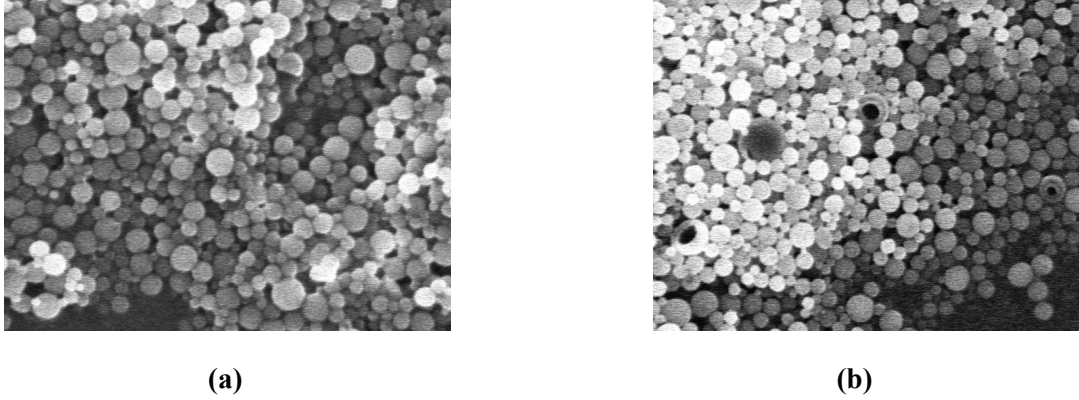
LMWH in sodyum aljinat ve CaCl_2 ile iyonik etkileşme esasına göre 2^3 faktöriyel deney tasarımı kullanılarak boncukları ve kitozan tablet formülasyonları hazırlanmıştır (30). Bu formülasyonların tavşanlara oral yoldan uygulanması ile kitozan tabletlerle oral antikoagülan etki gözlenmezken aljinat boncukları ile etkinlik sağlanmıştır. Aljinat boncuklardan LMWH in mutlak biyoyararlanımı %2.10, bağıl biyoyararlanımı ise %6930 olarak hesaplanmıştır.

3. Nazal Yoldan Uygulanması

Nazal yol son yıllarda ilaçların sistemik uygulaması açısından oldukça önem taşımaktadır. Heparinin intranasal uygulaması ile ilgili çeşitli çalışmalar yayınlanmıştır. Araştırmalar sıçanda ve insanda gerçekleştirilmiştir. Nazal heparin salım sistemleri hızlı etki elde edilmesi ve karaciğer ilk geçiş etkisinin olmaması açısından tercih edilmektedir. Heparinin bu yoldan başarılı ve güvenli uygulaması sistemik tromboz tedavisi dışında diğer hastalıklar (alerji vb.) için de geçerlidir. Bir çalışmada, alerjik rinitte heparinin eozinofil miktarını azaltarak etkili olduğu tespit edilmiştir (31). Bir başka çalışmada ise mast hücresi aktivasyonunu inhibe ederek adenosin monofosfata karşı koruyucu etki sağladığı, bunun sonucunda başarılı bir oranda histamin ve triptaz azalmasına neden olduğu tespit edilmiştir (32).

Heparinin sürekli etkili mikrokürelerinin oluşturulması ve heparinin tedavide kullanılan dozaj şekillerine alternatif olabilecek nazal farmasötik preparatının hazırlanmasına ait çalışmamızda, heparin mikroküreleri biyoparçalanabilir bir polimer olan polilaktik asit (PLA) kullanılarak çözücü uçurma yöntemi ile hazırlanmıştır (33). Farklı polimer-etkin madde oranı (10:1, 2.5:1, 1:1) ve farklı yüzey aktif madde polivinil alkol (PVA) (%1.5 ve %2.5) konsantrasyonlarının mikrokürelerin heparin tutma kapasitesi, verimi ve partikül büyüklüğü üzerine etkileri incelenmiştir.

Mikrokürelerin elektron mikroskobunda çekilen fotoğrafları incelendiğinde; küresel, düzgün yüzeyli oldukları ve agregat meydana getirmedikleri gözlenmiştir (Şekil 1). Ortalama partikül büyüklüğü tekli emülsiyon yöntemiyle hazırlanan mikrokürelerde 1.426-2.830 μm , çift emülsiyon tekniği ile hazırlanan mikrokürelerde ise 1.425-2.930 μm aralığında bulunmuştur.

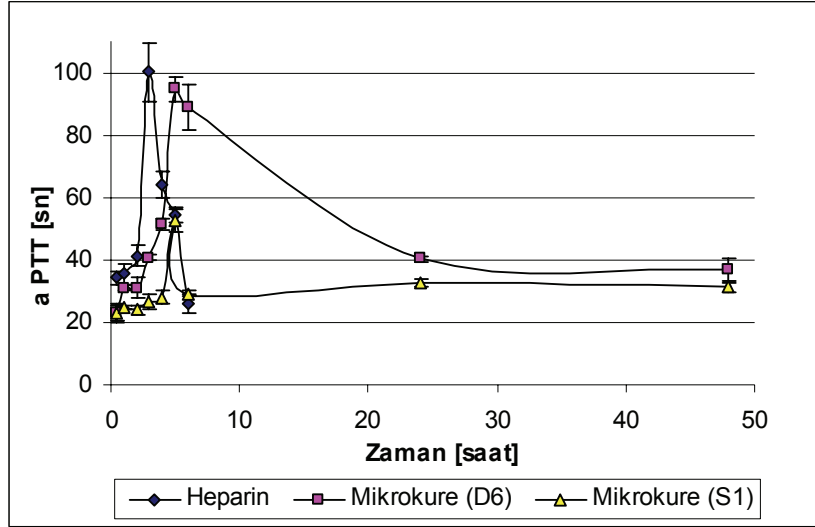


Şekil 1. Tekli (a) ve çoklu (b) emülsiyon çözücü uçurma tekniği kullanılarak hazırlanan heparin yüklü mikrokürelere ait taramalı elektron mikroskobu fotoğrafları (33).

Tüm formülasyonların ortalama partikül büyüklükleri arasında anlamlı bir fark görülmezken ($p>0.05$), heparin miktarı arttıkça etkin madde tutma kapasitelerinin yükseldiği ve ortalama tutma kapasitesinin %20 nin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Formülasyonların verimleri birbiri ile karşılaştırıldığında, heparin miktarı arttıkça verimin düştüğü gözlenmiştir. Dış fazda yüzey aktif madde olarak kullanılan PVA konsantrasyonunun mikrokürelere partikül büyüklüğünü etkilemediği saptanmıştır. *In vitro* salım çalışmaları ile tekli ve çift emülsiyon yöntemiyle hazırlanan bütün mikroküre formülasyonlarının uzun süreli heparin salımı sağladığı kanıtlanmıştır.

Mikroküre formülasyonları arasında en fazla heparin salımı yapan formülasyonlar (tekli emülsiyon yöntemi ile hazırlanan-[S1] ve çift emülsiyon yöntemi ile hazırlanan-[D6]) *in vivo* çalışmalar için seçilmiştir. *In vivo* çalışmalar sonucunda seçilen mikroküre formülasyonlarının heparin çözeltisine göre uzatılmış etki sağladığı ve D6 mikroküre formülasyonunun heparin çözeltisine nazaran %143.63 relatif biyoyararlanım sağladığı tespit edilmiştir (Şekil 2).

Sonuç olarak bu çalışmada vücutta parçalanabilen bir polimer ile oldukça küçük boyutta (1.772 μm) düzgün yüzeyli, heparin yüklü mikroküre formülasyonları hazırlanmış, nazal yol ile uygulanan mikrokürelere ile uzatılmış salım elde edilmiş ve nazal yolun parenteral yola alternatif olabileceği belirtilmiştir.



Şekil 2. Heparin çözeltisi ve heparin yüklü mikrokürelerin sıçanlara nazal uygulanması sonrası pıhtılaşma süresi-zaman profili (33).

4. Transdermal Yoldan Uygulanması

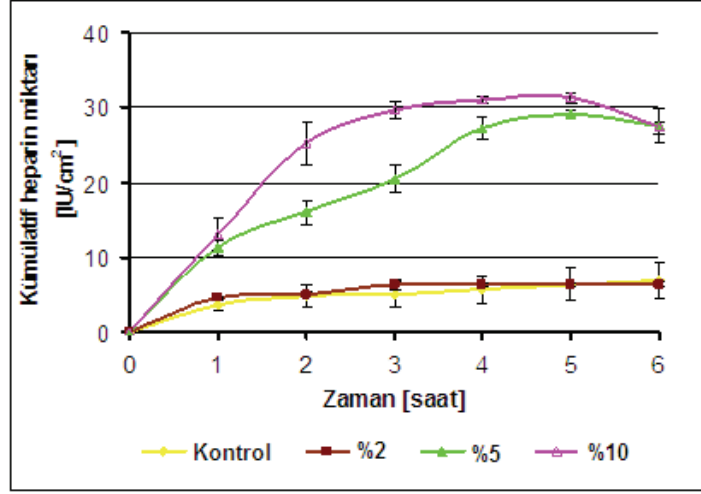
Heparinin *in vitro* ve *in vivo* perkütan absorpsiyonuna ait bazı çalışmalar vardır (34,35). Heparinin transdermal salımının en büyük dezavantajı, bu biyoaktif makromolekülün deri üzerindeki *stratum corneum* tabakasından geçişinin zor olması nedeniyle düşük biyoyararlanımıdır. Çalışmalarda bu bariyerden geçişin kolaylaştırılması ve geçirgenliğin artırılması için penetrasyon artırıcılar (35,36), lipozomlar(37,38) kullanılmış ve fonofrez (39,40), elektroporasyon (41,42), iyontofrez (40,41), iğnesiz enjeksiyon (43), mikroığneler (44) gibi tekniklerden yararlanılmıştır.

Yaptığımız bir çalışmada LMWH'in topikal jel formülasyonları (1:1) ve (1:2) oranlarında kitozan-sodium aljinat polimerlerinin karışımları kullanılarak hazırlanmıştır (45). Bu formülasyonlara penetrasyon artırıcı olarak farklı konsantrasyonlarda d-limonen (%2, %5 ve %10) ilavesi ile perkütan absorpsiyonun artırılması amaçlanmıştır. Jellerin salım özellikleri Franz tipi difüzyon hücresi kullanılarak selüloz nitrat membrandan geçişleri değerlendirilerek belirlenmiştir. Elde edilen verilerden formülasyonlara ait LMWH in salım hızı değerleri hesaplanmıştır. Penetrasyon artırıcı konsantrasyonunun heparin salımı üzerine etkisi, kontrol formülasyonlarından (FC-A, FC-B) salınan heparin miktarı ile mukayese edilerek tespit edilmiştir.

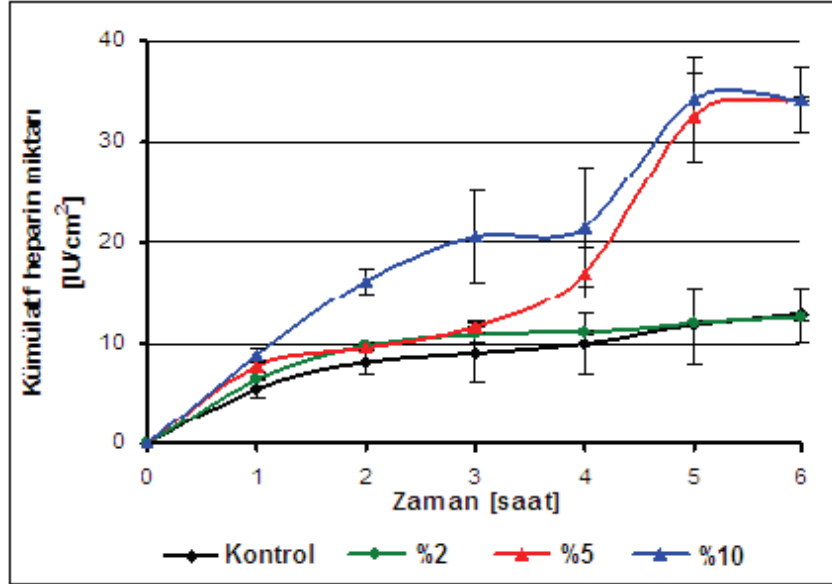
Sonuç olarak, kitozan-sodyum aljinat (1:2) oranında içeren formülasyonlardan heparin salımı diğer formülasyonlara göre en fazla olmuştur ($p<0.05$) (Şekil 3 ve 4). D-limonen (%2) içeren formülasyonlar, kontrol formülasyonu ile mukayese edildiğinde ilaç salımında anlamlı bir artışa neden olmadığı ($p>0.05$); %5 ve %10 oranında d-limonen içeren formülasyonlardan LMWH

salımının anlamlı bir şekilde arttırdığı saptanmıştır ($p<0.05$). %5 ve %10 d-limonen içeren formülasyonlar arasında ise ilaç salımında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$).

Bu çalışma ile LMWH topikal jel formülasyonu hazırlanmasında kitozan-aljinat kombinasyonunun (1:2 oranında) jel bazı olarak ve d-limonen'in %5 konsantrasyonda penetrasyon artırıcı olarak kullanılabileceği gösterilmiştir.



Şekil 3. Farklı konsantrasyonlarda d-limonen içeren LMWH' in kitozan – sodyum aljinat (1:1) jel formülasyonunun *in vitro* salım profili (n=5) (45).



Şekil 4. Farklı konsantrasyonlarda d-limonen içeren LMWH' in kitozan – sodyum aljinat (1:2) jel formülasyonunun *in vitro* salım profili (n=5) (45).

5. Pulmoner Yoldan Uygulanması

Heparinin pulmoner uygulanması ile ilgili farklı stratejiler geliştirilmiştir. Bu yol ile heparin uygulamasının özellikle pulmoner embolizmde yararları vardır. Heparinin pulmoner yoldan tromboembolizme karşı sistemik etkisi nedeniyle kullanımı dışında lokal olarak alerji ve astım tedavisinde kullanımına ait çalışmalar mevcuttur.

Astım: Heparin aşırı derecede esnek yapısı ve yüksek anyonik yükü ile vücutta enzimler ve reseptörler gibi çeşitli moleküller ile etkileşime girer (46). Heparin mast hücrelerinin sitoplazmasında bulunur, antienflamatuvar etkisinin bu şekilde sağlandığı tahmin edilmektedir. İnsan akciğeri özellikle astım gibi patofizyolojik durumlarda heparin üreten ve salımını gerçekleştiren birçok mast hücresine sahiptir. Astım, allerjenin vücuda alımıyla oluşan inflamatuvar bir hastalıktır. Yeni sentezlenen veya ön formunda olabilen medyatörün bronşiyal tonda, damar geçirgenliğinde ve sıvı - mukus üretiminde etkisi olur. Pro-astmojenik olarak düşünülen birçok medyatör örneğin histamin, bradikinin, trombosit aktive edici faktör ve lökosit faktörler, prostaglandin E₂ ve heparin gibi koruyucu faktörler bronkokonstriktör yanıtta ilerlemeyi dengelemek için salınırlar (47).

Heparin derivelerinin gözlemlenen bir fizyolojik rolü alerjik reaksiyon sırasında proenflamatuvar araçlara bağlanmasıdır. Bu yeni yaklaşım, heparinin astımda mast hücresi degranülasyonunu azaltarak β_2 agonistlerinin uzatılmış etkisini inhibe edici olabileceğini ve bu şekilde solunum sisteminde önemli koruyucu etki gösterebileceğini savunmaktadır (48).

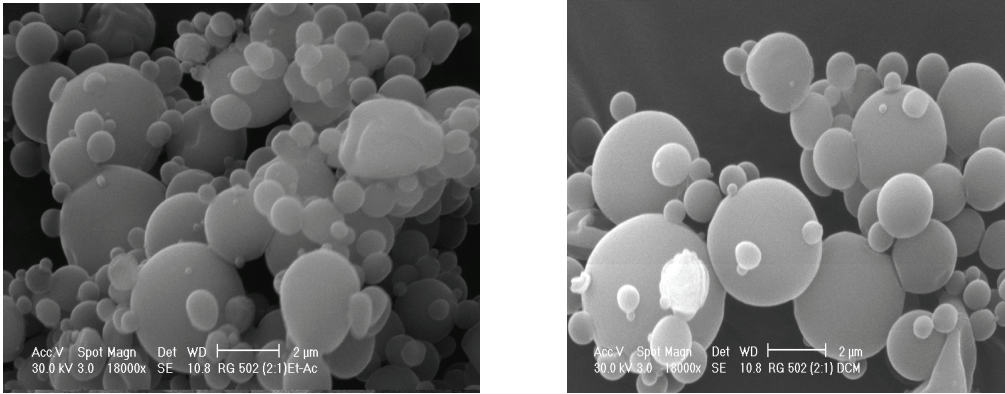
Heparinin antienflamatuvar özelliklerine ait pek çok kanıt vardır. Alerjik reaksiyon sırasında eozinofil katyonik protein ve peroksidaz gibi sitotoksik maddeleri üreten eozinofilleri de içeren birçok farklı hücre aktive olur (49). Heparin gibi anyonik molekül hızla katyonik yüklü proteinlere bağlanır (50). Trombositlerden salınan katyonik protein olan trombosit faktör-4 eozinofiller için kemotaktik özelliktedir ve heparin tarafından inhibe edilir. Heparinin tamamlayıcı sistemin aktivasyonunu inhibe edici olduğu belirtilmektedir. Geniş çaplı immunoallerjik büyük ölçüde nötrofil aktivasyonu ve degranülasyonunu uyarır, bunu takiben salınan lizozomal enzimler reaktif oksijen nedeniyle oluşan doku hasarına yanıt verebilmektedir. Heparinin kronik obstrüktif akciğer hastalıklı (KOAH) hastalarda görülen venöz tromboembolizme karşı kullanımı ile ilgili çalışmalar mevcuttur (51).

Son yıllarda akut astım krizlerinde heparin kullanımı konusunda çalışmalar yoğunlaşmıştır. 10 erkek, 14 kadın hastaya i.v yol ile uygulanan 100-200 mg heparin krizin ilk 24 saatinde etkili olmuştur. Astımda oluşan hırıltının 17 vakada ortadan kalktığı, 6 vakada etkisinin

azaldığı ve 1 vakada ise başarısızlık ile sonuçlandığı görülmüştür. Heparin, oluşan öksürüğün giderilmesinde aynı şekilde tedavi edici etki göstermiştir. 15 vakada öksürük kesilmiş, 8 vakada öksürük etkisi azalmış ve 1 vakada etki görülmemiştir. 24 vakanın 23 ünde solunum kolaylaşmış ve tüm hastalar tedavi süresince kendilerini sağlıklı hissettiklerini belirtmişlerdir (4).

Bölümümüzde yapılan bir doktora çalışmasında, heparinin valide edilmiş hayvan modelinde antijene bağlı akciğer inflamasyonu ve havayolu aşırı duyarlılığı üzerinde etkisini araştırmak için heparin mikrokürelerinin geliştirilmesi, karakterize edilmesi ve belirtilen hayvan modelinde test edilmesi amaçlanmıştır (52). Heparinin pulmoner mukozadan absorpsiyonunu sağlamak amacıyla düzgün yüzeyli küçük partikül büyüklüğüne sahip heparin yüklü mikroküreler hazırlanmıştır. Bu amaçla farklı polimer-etkin madde oranında (10:1, 5:1 ve 2:1) farklı poli(D,L-laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) rezomerleri (RG®503, RG®502, RG®504) kullanılarak püskürterek kurutma yöntemi ile hazırlanmıştır. Mikrokürelerin şekil ve yüzey özellikleri, partikül büyüklükleri, yüzey yükleri, üretim verimleri, tutma kapasiteleri, *in vitro* salım çalışmaları, kültür edilmiş insan bronşioepitel hücreleri (Calu-3) üzerine sitotoksik etkileri ve kobaylar üzerinde antijene bağlı akciğer enflamasyonunu ve havayolu aşırı duyarlılığı üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

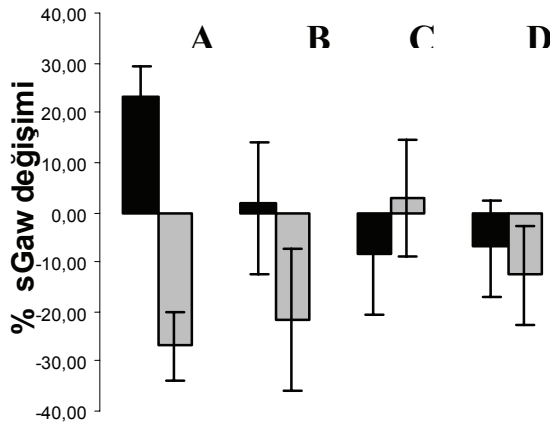
Bu çalışma ile pulmoner uygulamaya elverişli olarak hazırlanan heparin yüklü mikroküreler karakterize edilmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Püskürterek kurutma yöntemi ile hazırlanan heparin yüklü PLGA mikrokürelerine ait taramalı elektron mikroskobu fotoğrafları (52).

In vivo çalışmalar için yükleme kapasitesi en fazla ve partikül büyüklüğü en küçük olan formülasyonlar seçilmiştir. Tedavi gruplarının ovalbumin ile hassaslaşma öncesi ve sonrası histamin uygulamasını takiben sGaw değerleri Şekil 6'da verilmiştir. Bu histogramdan da anlaşılacağı gibi serum fizyolojik ve heparin çözeltisi 2 defa (5000 IU/kg) uygulandığında

havayolu aşırı duyarlılığı üzerinde etki etmezken; heparin çözeltisi 5 defa (5000 IU/kg) ve heparin yüklü mikroküreler 2 defa (5000 IU/kg) uygulandığında havayolu aşırı duyarlılığını engellemektedir. Sonuç olarak bu çalışma ile pulmoner uygulama için uygun partikül büyüklüğüne, iyi morfolojik özelliklere ve yüksek etkin madde salımına sahip, uzatılmış etkili heparin yüklü mikroküreler üretilmiştir. Heparin yüklü mikrokürelerin pulmoner uygulama için uygunluğu karakterize edilmiş ve kobay modelinde pulmoner yoldan uygulama için seçilen formülasyonun uzatılmış etki sağlayarak antijene bağlı akciğer enflamasyonu ve solunum yolu aşırı duyarlılığında etkili olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 6. Serum fizyolojik (A), heparin çözeltisi (x2) (B), heparin çözeltisi (x5) (C) ve heparin yüklü mikroküre (x2) (D) uygulamalarını takiben kobayların ovalbumin ile hassaslaştırılmasından önce (■) ve sonra (▒) histamin uygulanması takiben sGaw değişimine ait histogram (52).

6. Rektal Yoldan Uygulanması

Heparinin rektal uygulaması ile ilgili bazı stratejiler geliştirilmiştir. Ana formülasyon stratejisi sodyum kolat (53), safra tuzu (54), ve sodyum lauril sarkosinat gibi yüzey aktif ajanlar kullanılarak hücre zarı geçirgenliğinin artırılması üzerinedir. Yağ emülsiyonları heparinin biyoyararlanımını 20 kat arttırmaktadır (55). Yüzey aktif olmayan adjuvanlar ile heparinin tavşanlarda rektal absorpsiyonu araştırılmış ve rektal mukozadan geçtiği saptanmıştır (56).

SONUÇ

Heparin (UF) ve düşük molekül ağırlığında heparinin (LMWH) değişik farmasötik şekiller halinde parenteral, oral, nazal, pulmoner, transdermal ve rektal yoldan uygulanmasına ait çalışmalar oldukça umut vaat etmektedir. Özellikle partiküler sistemler ile heparinin uzatılmış salım sistemli preparatları üzerindeki çalışmaların sayısı da gün geçtikçe artmaktadır. Antikoagülan özelliğinin dışında heparin diğer etkileri amacıyla da alternatif uygulama yollarından kullanılabileceği pekçok çalışma ile ortaya konulmuştur.

Kaynaklar

1. **Kayaalp, S.O.** Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 10.Baskı.Hacettepe –Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara, (2002).
2. Martindale, The Extra Pharmacopoeia, 29. ed. The Pharm. Press., London, 227-231, (1989).
3. **Jaques, L.B.** “Heparins-anionic polyelectrolyte drugs” *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **31**, 99-138, (1981).
4. **Dougherty, T.F., Dolowitz, D.A.** “Physiologic actions of heparin not related to blood clotting” *The American Journal of Cardiology* , 18-24, (1964).
5. **Folkman, J., Langer, R., Linhardt, R.J., Haudenschild, C., Taylor, S.** “Angiogenesis inhibition and tumor regression caused by heparin or a heparin fragment in the presence of cortisone” *Science*, **221**, 719-725, (1983).
6. **Johansson, S.A.** “Inhibition of thrombocytopenia and 5-hydroxytryptamine release in anaphylactic shock by heparin” *Acta Physiol Scandinav*, **50**, 95, (1960)
7. **Dahl, S.V.** “Heparin und Asthma” *Ztschr Tuberk*, **118**, 255, (1962).
8. **Donzelot, E., Kaufmann, H.** “Heparine et rhumastisme. L’action antiexsudative de l’heparine” *Pres Med.*, **57**, 989, (1949).
9. **Courville, C.B.** “The effects of heparin in acute exacerbations of multiple sclerosis. Observations and deductions” *Bull Los Angeles Neurol Soc.*, **24**, 187, (1959).
10. **Maschmeyer, J., Shearer, R., Lonser, E., Spindle, D.K.** “Heparin potassium in the treatment of chronic multiple sclerosis” *Bull LosAngles Neurol Soc.*, **26**, 165, (1961).
11. **Zenker, D.O., Fowler, E.P.** “Medical treatment of sudden deafness, Meniere’s disease, and Bell’s palsy” *New York State J. Med.*, **63**, 1137, (1963).
12. **Sikorski, H.** “Hyaluronidase und Heparinoide bei der Behandlung entzündlicher Staungen” *Ztschr Haut Geschlechtskr*, **31**, 225, (1961).
13. **Verheught, F.W., Dieker, H., Aengevaeren, W.R.** “Antithrombotic therapy during percutaneous coronary interventions” *Ned Tijdschr Geneesk.*, **149**, 912-916, (2005).
14. **Medina, R.P., Foto, D.** “The use of bivalirudin to prevent subacute thrombosis during drug-eluting stent implantation” *J Invasive Cardiol.*, **16**, 236-239, (2004).

15. **Rha, S.W., Kuchulakanti, P.K., Pakala, R., Cheneau, E., Pinnow, E., Gebreyesus, A., Aggrey, G., Pichard, A.D., Satler, L.F., Kent, K.M., Lindsay, J., Waksman, R.** “Addition of heparin to contrast media is associated with increased bleeding and peripheral vascular complications during percutaneous coronary intervention with bivalirudin and drug-eluting stents” *Cardiovasc Radiat Med.*, **5**: 64-70, (2004).
16. **Roffi, M., Topol, E.J.** “Percutaneous coronary intervention in diabetic patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes” *Eur Heart. J.*, **25**: 190-198, (2004).
17. **Thomas, A.C., Campbell, J.H.** “Targeted delivery of heparin and LMWH using a fibrin antibody prevents restenosis” *Artherosclerosis*, **176**, 73-81, (2004).
18. **Ueno, M., Nakasaki, T., Horikoshi, I., Sakuragawa, N.** “Oral administration of liposomally-entrapped heparin to beagle dogs” *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 2245-2247, (1982).
19. **Berkowitz, S.D., Marder, V.J., Kosutic, G., Baughman, R.A.** “Oral heparin administration with a novel drug delivery agents (SNAC) in healthy volunteers and patients undergoing elective total hip arthroplasty” *J. Thromb. Haemost.*, **1**, 1914-1919, (2003)
20. **Morton, A.K., Edwards, H.E., Allen, J.C., Phillips, G.O.** “An evaluation of the oral administration of commercial and fractionated heparin samples in rats” *Int. J. Pharm.*, **9**, 321-335, (1982).
21. **Sue, T.K., Jaques, L.B., Yuen, E.** “Effects of acidity, cations, and alcoholic fractionation on absorption of heparin from the gastrointestinal tract” *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **54**, 613-618, (1976).
22. **Guarini, S., Ferrari, W.** “Olive oil-provoked, bile-dependant absorption of heparin from gastrointestinal tract in rats” *Pharm. Res. Commun.* **17**, 685-694, (1985).
23. **Windsor, E., Cronheim, G.E.** “Gastrointestinal absorption of heparin and synthetic heparinoids” *Nature* **190**, 263-264, (1961).
24. **Gonze, M.D., Manord, J.D., Leona-Bay, A., Bauhman, R.A., Garrard, C.L., Sternbergh, W.C., Money, S.R.** “Orally administered heparin for preventing deep venous thrombosis” *The American Journal of Surgery* **176**, 176-178, (1998).
25. **Hiebert, L.M., Wice, S.M., Ping, T.** “Tissue distribution of the low molecular weight heparin, tinzaparin, following administration to rats by the oral route” *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **58**, 372-380, (2004).

26. **Hoffart, V., Lamprecht, A., Maincent, P., Lecompte, T., Vigneron, C., Ubrich, N.** “Oral bioavailability of a low molecular weight heparin using a polymeric delivery system” *J. Control. Release* **113**, 38-42, (2006).
27. **Kim, S.K., Lee, D.Y., Lee, E., Lee, Y., Kim, C., Moo, H.T., Byun, Y.** “Absorption study of deoxycholic acid-heparin conjugate as a new form of oral anti-coagulant” *J. Control. Release* **120**, 4-10, (2007).
28. **Hiebert, L.M., Wice, S.M., Abdelhameed, T.** “Evidence for the absorption of heparin by rat stomach” *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **61**, 68-74, (2007).
29. **Thanou, M., Verhoef, J. C., Junginger, H. E.** “Oral drug absorption enhancement by chitosan and its derivatives” *Advanced Drug Delivery Reviews*, **52**, 117-126, (2001).
30. **İskenderoğlu, C.** “Düşük Molekül Ağırlıklı Heparinin Oral İlaç Şekli Üzerine Çalışmalar” Doktora Tezi (Danışman: Prof. Dr. F. Acartürk), Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2007.
31. **Vancheri, C., Mastruzzo, C., Ferdinando, A., Tomaselli, V., Magri, S.M., Pistorio, M.P., LaMicela, M., D’Amico, L., Crimi, N.** “Intranasal heparin reduces eosinophil recruitment after nasal allergen challenge in patients with allergic rhinitis” *J. Allergy. Clin. Immunol.* **108**, 703-708, (2001).
32. **Zeng, D., Prosperini, G., Russo, C., Spicuzza, L., Cacciola, R.R., DiMaria, G.U., Polosa, R.** “Heparin attenuates symptoms and mast cell degranulation induced by AMP nasal provocation” *J. Allergy Clin Immunol.* **114**, 316-320, (2004).
33. **Yildiz, A., Okyar, A., Baktır, G., Araman, A., Özsoy, Y.** “Nasal administration of heparin-loaded microspheres based on poly(lactic acid)” *Il Farmaco*, **60**, 919-924, (2005).
34. **Sznitowska, M., Janicki, S.** “Percutaneous absorption of heparin: a critical review of experimental results” *Pol. Mercuriusz Lek.* **7**, 58-63, (2000).
35. **Zesch, A., Schaefer, H.** “Penetration, permeation and resorption of heparin. *In vivo* studies on human skin” *Arzneimittelforschung*, **26**, 1365-1368, (1976).
36. **Ku, F., Izquierdo, R., Vandevender, D., Warpeha, Wolf H, Fareed, J.** “Topical application of low molecular weight heparin in a rabbit traumatic anastomosis model” *Thromb. Res.* **86**, 355-361, (1997).
37. **Katzenschlager, R., Ugurluoglu, A., Hirsch, M.** “Liposomal heparin-spraygel in comparison with subcutaneous low molecular weight heparin in patients with superficial

- venous thrombosis: A randomized, controlled, open multicentre study” *J. Kardio.* **10**, 375-378, (2003).
38. **Betz, G., Nowbakht, P., Imboden, R., Imanidis, G.** “Heparin penetration into and permeation through human skin from aqueous and liposomal formulations *in vitro*” *Int. J. Pharm.* **228**, 147-159, (2001).
 39. **Mitragotri, S., Kost, J.** “Transdermal delivery of heparin and low-molecular weight heparin using low-frequency ultrasound” *Pharm. Res.* **18**, 1151-1156, (2001).
 40. **Le, L., Kost, J., Mitragotri, S.** “Combined effect of low-frequency ultrasound and iontophoresis: Applications for transdermal heparin delivery” *Pharm. Res.* **17**, 1151-1154, (2000).
 41. **Prausnitz, M.R., Edelman, E.R., Gimm, J.A., Langer, R., Weaver, J.C.** “Transdermal delivery of heparin by skin electroporation” *Biotechnology (NY)*, **13**: 1205-1209, (1995).
 42. **Vanbever, R., Prausnitz, M.R., Preat, V.** “Macromolecules as novel transdermal transport enhancers for skin electroporation” *Pharm. Res.* **14**, 638-644, (1997).
 43. **Hollinsworth, S.J., Hoque, K., Linnard, D., Corry, D.G., Barker, S.G.** “Delivery of low molecular weight heparin for prophylaxis against deep vein thrombosis using novel needle-less injection device (J-tip)” *Ann. R. Col.l Sur.g Engl.*, **82**, 428-431, (2000).
 44. **McAllister, D.V., Wang, P.M., Davis, S.P., Park, J.H.,Canatella, P.J., Allen, M.G., Prausnitz, M.R.** “Microfabricated needles for transdermal delivery of macromolecules and nanoparticles: Fabrication methods and transport studies” *Proc. Natl. Acad. Sci .U.S.A.*, **100**, 13755-13760, (2003).
 45. **Yıldız, A., Güngör, S., Özsoy, Y., Araman, A.** “*In vitro* studies on topical gel formulations of low molecular weight heparin” *Symposium Skin and Formulation*, 23-24 Ekim 2003, Paris- Fransa.
 46. **Diamant, Z., Page, CP.** “Heparin and related molecules as a new treatment for asthma” *Pulm. Pharmacol Ther.* **13**, 1-4, (2000).
 47. **Ahmed, T., Syriste, T., Mendelsohn, R., Sorace, D., Mansour, E., Lansing, M., Abraham, W.M., Robinson, M.J.** “Heparin prevents antigen- induced airway hyperresponsiveness: Interference with IP₃- mediated mast cell degranulation?” *J. Appl . Physiol.* **76**, 893-901, (1994).

48. **Lever, R., Page, C.** “Glycosaminoglycans, airways inflammation and bronchial hyperresponsiveness” *Pulm. Pharmacol. Ther.* **14**, 249-254, (2001).
49. **Frigas, E., Gleich, G.J.** “The eosinophil and pathophysiology of asthma” *J. Aller . Clin. Immunol.* **77**, 527-537, (1986).
50. **Motojima, S., Frigas, E., Wegering, D.A., Gleich, G.J.** “Toxicity of eosinophil cationic protein from guinea-pig tracheal epithelium *in vitro*” *Am. Rev. Respir. Dis.* **139**: 801-805, (1989).
51. **Ambrosetti, M., Ageno, W., Antonio, S., Salerno, M., Pedretti, R.F.E.** “Prevalence and prevention of venous thromboembolism in patients with acute exacerbations of COPD” *Thrombosis Research*, **112**, 203-207, (2003).
52. **Yıldız, A.** “Heparin yüklü mikrokürelerin hazırlanması ve akciğerlere hedeflenmesi” (Danışman: Ahmet Araman), İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İstanbul, 2006.
53. **Nissan, A., Ziv, E., Kidron, M., Bar-On, H., Friedman, G., Hyam, E., Eldor, A.** “Intestinal absorption of low molecular weight heparin in animals and human subjects” *Haemostasis*, **30**, 225-232, (2000).
54. **Ziv, E., Eldor, A., Kleinman, Y., Bar-On, H., Kidron, M.** “Bile salts facilitate the absorption of heparin from intestine” *Biochem. Pharmacol.* **32**, 773-776, (1983).
55. **Stanzani, L., Mascellani, G., Corbelli, G.P., Bianchini, P.** “Rectal absorption of some glycosaminoglycan sulphates and heparin in rats” *J. Pharm. Pharmacol.*, **33**, 783-786, (1981).
56. **Miyake, M., Nishihata, T., Wada, N., Takeshima, E., Kamada, A.** “Rectal absorption of lysozyme and heparin in rabbits in the presence of non-surfactant adjuvants” *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **32**, 2020-2025, (1984).

Received: 25.07.2007

Accepted: 16.10.2007