

**IN SITU OLUŞAN ENJEKTABL BİYOPARÇALANABİLİR
İMLANT SİSTEMLER**
IN SITU FORMING INJECTABLE BIODEGRADABLE
IMPLANT SYSTEMS

Evren ALĞIN, Tamer BAYKARA

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology
06100 Tandoğan, Ankara - TURKEY

ÖZET

Subkütan veya intramüsküler uygulanan, in situ oluşan enjektabl biyoparçalanabilir implantlar, etkin maddelerin kontrollü salımı açısından birçok avantaj sunan, mikroküreler ve standart implantlar gibi genel parenteral depo sistemlerine alternatif olma yolunda olan sistemlerdir. Bu derlemede, bu yeni implant sistemler; depo oluşum mekanizmaları, depo oluşturmada kullanılan materyalleri, hazırlama yöntemleri, uygulamaları, avantajları ve dezavantajları açısından incelenmiştir.

***Anahtar kelimeler:** Enjektabl, Biyoparçalanabilir, In situ oluşan implant, Kontrollü ilaç salım sistemleri*

ABSTRACT

In situ forming injectable biodegradable implants for subcutan or intramuscular administration offer many advantages for controlled drug delivery have become an alternative systems to common parenteral depot systems such as microspheres and standart implants. In this review; these newer implant systems were investigated with their depot formation mechanisms, materials used as depot components, preparation methods, applications, advantages and disadvantages.

***Key words:** Injectable, Biodegradable, In situ forming implant, Controlled drug delivery systems*

I. GİRİŞ

Enjektabl biyoparçalanabilir *in situ* oluşan aygıtlar (ISFD: *In situ* Forming Devices), subkütan veya intramüsküler enjeksiyonu takiben yarı katı/katı depo formu meydana getiren sıvı formülasyonlar olup, aynı zamanda implant olarak tasarlanan parenteral sistemlerdir. Günümüzün

parenteral depo sistemleri olan implantlar ve mikrokürelere de birçok olumlu yönleri nedeni ile alternatif oluşturmaktadırlar. Sistemlerin tercih nedenlerinden biri, sadece lokal anestezi ve küçük bir cerrahi müdahale gerektiren uygulamalarının implantlara göre daha az girişimsel ve daha az acı verici olması, bir diğeri ise lokal ve sistemik etkili ilaçların uzun süreli salımına olanak sağlamasıdır.

Bu sistemler ile biyoaktif makromoleküllerin verililişinin getirdiği avantajlardan bazıları ise; uygulama kolaylığı ve özellikle protein yapılı etkin maddelerle üretim koşullarında kolaylık sağlanması olarak belirtilmektedir (1). Protein yapılı etkin maddelerin oral yolla verililişte gastrointestinal sistemde dayanıksız olmaları nedeniyle, ISFD halinde verilmelerinin mümkün olabileceği düşünülmekte ve bu nedenle de bir çok polimerik ilaç salım sisteminin enjeksiyon bölgesinde bir depo oluşturabilme olasılıkları araştırılmaktadır (2).

ISFD`in başlangıcı, dişeti hastalıklarının lokal tedavisinde enjektabl depo antibiyotik formülasyonlarının kullanıldığı Southern Araştırma Enstitüsü`ne, 1980`lerin başlarına dayanmaktadır (3,4). ISFD`ler ile ilgili çalışmaların devamını ATRIX Laboratuvarları (USA) gerçekleştirmiş (5), benzer bir teknoloji ile ALZA Şirketi (USA) bu sahaya girmiş (6) ve bu sahadaki üçüncü isim AP PHARMA (USA) ise enjektabl termoplastik pasta olarak kullanılan düşük erime sıcaklığına sahip biyoparçalanabilir poli(orto ester)leri bulmuştur (7). Son olarak da MacroMed (USA), termal olarak jelleşen poli(laktit-ko-glikolit) A-blokları ve polietilen glikol B-blokları içeren ABA ve BAB triblok kopolimer sistemlerini geliştirmiştir (8).

II. *IN SITU* İMPLANT OLUŞUM MEKANİZMALARI

Temel olarak *in situ* oluşan implantlar, *in vivo* depo oluşum mekanizmalarına göre dört gruba ayrılmaktadır (9);

- ◆ Termoplastik pastalar
- ◆ *In situ* çapraz bağlanan polimer sistemleri
- ◆ *In situ* polimer çöktürülmesi
- ◆ *In situ* katılaştıran organojeller

II-1. Termoplastik Pastalar

Bu sistemler, etkin maddelerin çözücü kullanılmaksızın karıştırma yolu ile erimiş haldeki polimere ilave edilerek hazırlandığı, 37-65°C enjeksiyon sıcaklığında viskoz sıvılar gibi davranan ve enjeksiyondan sonra vücut sıcaklığına soğuduğunda katılaştıran, yüksek viskoziteye sahip bir depo meydana getiren sistemlerdir. Termoplastik pastalar, cerrahi operasyon sonrasında lokal

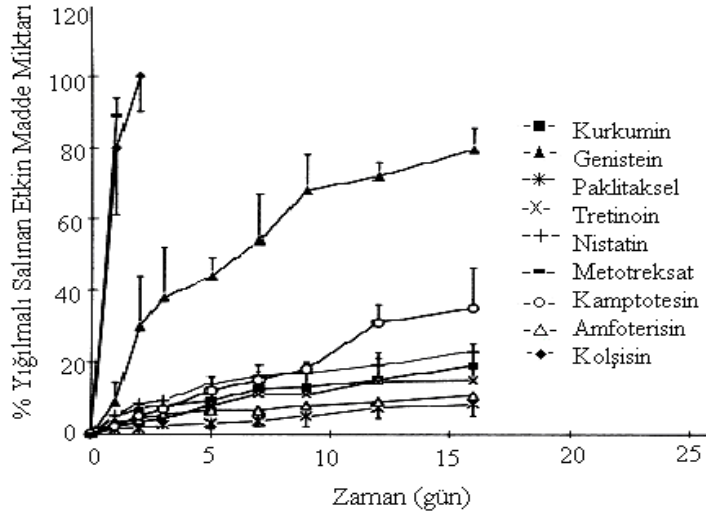
olarak antibiyotik veya sitotoksik ajanların salınmasında, alternatif olarak da sistemik dolaşıma difüze olabilen, subkütan etkin madde deposu olarak kullanılabilir (1).

Bu tarzda bir ISFD hazırlamak için düşük erime sıcaklığı veya düşük camsı geçiş sıcaklığına yani yaklaşık 25-65°C'ye ve 0.05-0.8 dl/g intrinsik viskoziteye ihtiyaç duyulmaktadır. Sistemde, 0.05 dl/g intrinsik viskozitenin altında etkin maddenin difüzyonunun geciktirilemediği, 0.8 dl/g intrinsik viskozitenin üstünde de ISFD'nin standart iğne ile enjekte edilemediği belirtilmiştir. Bu sistemler DL-laktit, glikolit, ε-kaprolakton, anhidrit, trimetilen karbonat, dioksanon ve orto ester monomerlerinden oluşan polimer veya kopolimer kullanılarak hazırlanabilmektedir (10-13).

Etkin madde olarak paklitaksel ve polimer olarak polianhidritlerden poli(bis(p-karboksifenoksi) propan-sebasik asit) (14), polikaprolakton (PCL) (15) ve ABA triblok kopolimerlerinden poli(D,L-laktit)-*blok*-poli(etilen glikol)-*blok*-poli(D,L-laktit) (PLA-PEG-PLA) kullanılarak yapılan araştırmalarda, paklitaksel salımının 60 gün boyunca devam ettiği ancak etkin madde salım hızının oldukça yavaş olduğu belirtilmiştir (16). Benzer bir araştırmada, etkin madde salım hızını arttırmak amacıyla PEG, jelatin veya albümin gibi düşük molekül ağırlığına sahip polimer karışımları denenmiş, ancak bu girişimler genellikle salım hızını arttırmak yerine hızlı bir etkin madde boşalması şeklinde sonuç vermiştir. Hazırlanan formülasyonlardan yalnız PCL-jelatin-taksol (60:20:20) içeren pasta formülasyonunun *in vivo* başarılı sonuçlar gösterdiği belirtilmiştir. Bu formülasyonun farelerde oluşturulan hissedilir derecede büyük tümör kütlesi içerisine enjeksiyonu sonucunda, formülasyonun tümör kütlelerini kontrol grubuna göre ortalama % 63 oranında küçülttüğü tespit edilmiş ve sadece taksol-PCL içeren, suda çözünebilir katkı maddeleri içermeyen pasta formülasyonlarının tümör kütlesi üzerinde dikkate değer bir küçülme meydana getirmediği de saptanmıştır (17).

Araştırılan bu polimerlerin uygulanmasında, hazırlanan termoplastik pastaların enjekte edilebilmesi için 60°C'nin üzerinde bir sıcaklık gerektirmesinin oldukça acı verici bir enjeksiyona neden olduğu ve enjeksiyon yerinde nekroz ile etkin madde deposu etrafında enkapsülasyona neden olarak etkin maddenin difüzyonuna engel olduğu belirtilmiştir (18). Yüksek enjeksiyon sıcaklığına bağlı sakıncaları ortadan kaldırmak amacıyla, Jackson ve ark. (19) oda sıcaklığında enjekte edilebilen, paklitaksel içeren bölgesel kanser tedavisinde kullanılmak üzere, intratümöral polimerik pasta formülasyonları hazırlamışlardır. Çalışmada, polimer olarak poli(D,L-laktit-ko-kaprolakton)-*blok*-polietilen glikol-*blok*-poli(D,L-laktit-ko-kaprolakton) (PLC-PEG-PLC) triblok kopolimeri veya bu kopolimer ile düşük molekül ağırlıklı metoksi-polietilen glikol (MePEG) karışımları kullanılmış, bunlardan PLC-PEG-PLC:MePEG (40:60) karışımı ve %10 paklitaksel içeren pasta formülasyonunun 23 gauge iğne ile enjekte edilebildiği ve *in vitro* çözünme hızı testinde 7 hafta

boyunca paklitakselin kontrollü salımını sağladığı tespit edilmiştir. Jackson ve ark. çalışmanın devamında, başarılı olan PLC-PEG-PLC:MePEG (40:60) karışımı ve %10 etkin madde yükleme oranını kullanarak, farklı etkin maddeler ile yeni formülasyonlar hazırlamışlar ve bu formülasyonlar ile çözünme hızı testi öncesinde yaptıkları katılaşma çalışmalarında, suda çözünmeyen etkin maddelerin yer aldığı formülasyonların suda çözünenlere göre daha kalıcı/dayanıklı katı pelletler oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, formülasyonlara fosfat tamponu içinde, *in vitro* çözünme hızı testi uygulandığında, suda çözünürlüğü orta derecede olan metotreksat ve kolşisin salımının yaklaşık 24 saatte tamamlandığını, ancak suda çözünmeyen diğer etkin maddelerin salımının daha uzun sürede gerçekleştiğini saptamışlardır (Şekil 1) (19).

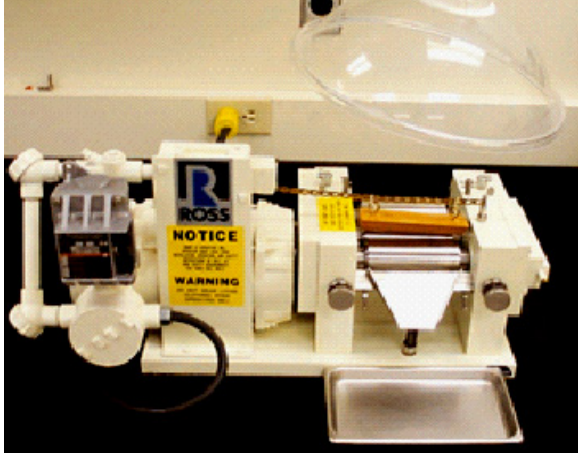


Şekil 1. %10 etkin madde ve PLC-PEG-PLC:MePEG (40:60) karışımlarından etkin madde salım profilleri (19).

Poliortoesterler (POE), biyoyumlu olmaları açısından termoplastik pastalar için araştırılan bir diğer grup polimerlerdir. Düşük molekül ağırlıklı POE'lerin erime sıcaklıklarının düşük (25-45°C) olması nedeniyle yüksek enjeksiyon sıcaklığına gerek duyulmaması, formülasyonda organik çözücü kullanılmaması, yüzey erozyonu ile parçalanmalarının asidik mikroçevre oluşturmaması nedeniyle sisteme yüklenmiş olan proteinlere ilaveten DNA'nın da korunmuş olması ve etkin maddenin doz boşalmasını engellemeleri nedeniyle termoplastik pasta sistemlerine uygun oldukları ve son kuşak POE'lerin bu alanda oldukça başarılı oldukları tespit edilmiştir (20).

Bu polimerlerin etkin maddeler ile oda sıcaklığında çözücü kullanılmaksızın fiziksel olarak karıştırılmaları amacıyla, merhem karıştırmada kullanılan tipleri ile aynı karıştırma prensibine sahip, üç silindriklili değirmenlerin kullanılabilmesi belirtilmektedir (Şekil 2). Yarı katı POE'lere

yaklaşık %20 a/a PEG-monometil eter ilavesi ile, enjeksiyon işleminin özel ekipman (hidrolik şırınga) gerektirmeksizin 22 *gauge* iğneden daha küçük iğne ile yapılabileceği tespit edilmiştir (2).



Şekil 2. Etkin maddelerin yarı katı polimerler ile karıştırılmasında kullanılan üç silindirli değirmen (2).

Düşük molekül ağırlıklı POE ve metoklopramid (MTC) kullanılarak yapılan bir çalışmada, etkin maddenin sudaki yüksek çözünürlüğü ve asidik karakteri nedeniyle düşük viskozluğa sahip polimerden hızla salındığı belirtilmiştir. Polimerin aşınma süresini uzatmak ve etkin maddenin salım hızını yavaşlatmak amacıyla formülasyona suda çözünürlüğü düşük magnezyum hidroksit ilave edilmiş ve bazik magnezyum hidroksitin polimer hidrolizini ve dolayısıyla etkin madde salım hızını yavaşlattığı tespit edilmiştir (12).

Termoplastik pasta sistemlerindeki son gelişmeler trietilen glikol (TEG) ve glikolit içeren blok kopolimerler yapılı POE'lerin katalizlenme ortamında kendiliğinden parçalandıklarının bulunmasıdır. Bu anlamda, POE'ler içinde en başarılı olan grup diketen asetal ile bir polioliol reaksiyonundan elde edilen polimerlerdir. Polioliol olarak TEG kullanımı ile hidrofilik polimer elde edilirken, 1-10 dekandiol kullanımı ile de hidrofobik materyal elde edildiği belirtilmiştir. Diketen asetal + TEG polimeri toksikolojik çalışmalar sonucu nontoksik olarak kaydedilirken, dekandiol'un yer aldığı polimer toksisite çalışmalarının ise devam ettiği belirtilmiştir (2,21-25). Bu grup POE'ler ile yapılan bir çalışmada, yarı katı kendiliğinden parçalanan POE'lerden protein salımının, protein çözeltisinin uygun pH ve tampon kapasitesine ayarlanması ile mümkün olacağı tespit edilmiştir (26).

Yapılan bir başka çalışmada, periodontal cerrahi işlem sonrasında bölgesel ağrıyı gidermek amacıyla operasyon bölgesine uygulanmak üzere birkaç gün boyunca sürekli etkili bupivakain salımı yapan formülasyonların hazırlanması amaçlanmıştır. Çalışmada, 3,9-dietiliden-2,4,8,10-

tetraoksaspirol [5.5] undekan (DETOSU), TEG ve trietilen glikol diglikolid (TEG-diGL) (60:50:50) karışımından oluşan polimeri %40 a/a oranında, MePEG'i (enjeksiyonu kolaylaştırmak amacıyla ilave edilmiş) %50 a/a oranında ve etkin madde bupivakain bazı %10 a/a oranında içeren formülasyonun başarılı olduğu tespit edilmiştir (23). Etkin madde olarak 5-florourasil polimer olarak DETOSU ve esnek dioller (1,8-oktandiol, 1,10-dekandiol, 1,12-dodekandiol) kullanılarak hazırlanan pasta formülasyonlarından etkin madde salımının, polimere bağlanan diollerin alkil zincir uzunluklarından etkilendiği ancak etkin madde yükleme oranından etkilenmediği belirtilmiştir (27).

Diş eti hastalıklarının lokal olarak antibiyotik tedavisi amacıyla geliştirilen, polimer olarak biyoparçalanabilir oto kataliz laktoil laktül dimerleri içeren POE'ler (POE_xLA_y), etkin madde olarak da tetrasiklinin yer aldığı formülasyonlardan özellikle düşük molekül ağırlığına sahip $POE_{70}LA_{30}$ içeren formülasyonun, hazırlanma ve enjekte edilebilme açısından oldukça başarılı olup, 2 hafta boyunca etkin maddenin uzatılmış salımını sağladığı tespit edilmiştir (28).

Termoplastik pasta sistemlerinde gelinen son nokta, birçok olumsuzluğun AP Pharma'nın geliştirdiği yeni kuşak POE'ler ile aşılmış olmasıdır (21). Yeni kuşak POE'ler oda sıcaklığında yarı katı halde olup etkin madde ilavesi veya enjeksiyon açısından ısıtılmalarına gerek yoktur. Enjeksiyon 22 gauge iğne genişliğinden fazlasına gerek duyulmaksızın, genellikle kas içine yapılabilmektedir. Bu sistemlere protein yapılı etkin maddelerin kuru halde ilave edilebilir olması nedeniyle, sulu çözeltideki protein parçalanması önlenmekte, bununla beraber iritasyona neden olan çözücü kullanımı ortadan kaldırılmış olmaktadır. Enjeksiyon sonrasında formülasyondaki büzülme veya şişme çok belirsiz olduğundan, başlangıç doz boşalmasının diğer ISFD'lerden daha az olacağı düşünülmekte ve katalizlenme ortamında kendiliğinden parçalanma ile yüzey aşınması meydana gelmesinden dolayı daha iyi protein stabilitesi ve sürekli salımı görülmektedir.

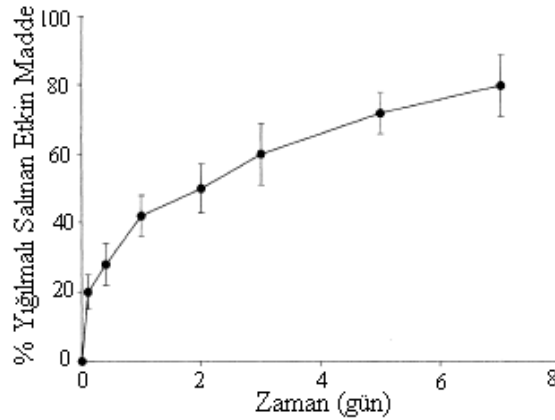
II-2. *In situ* Çapraz Bağlanan Polimer Sistemleri

Bu sistemler polimer ve etkin madde karışımından hareketle, polimerin çapraz bağlanma reaksiyonu sonucunda meydana gelen polimer ağı içinde etkin maddenin hapsedilmesi ile hazırlanmaktadır. Çapraz bağlı polimer ağının oluşumu, serbest radikal uçların ısı etkisi (termosetler), fotonların absorpsiyonu veya polimer anyonları ile ortamdaki katyonların iyonik etkileşimi ile reaksiyona girmesine dayanmaktadır. Bu çapraz bağlanma sonucunda sistem katı polimer ağı veya jel haline dönüşmektedir (9).

2.1. Termosetler

Termoset polimerler, ilk yapılandırıldıklarında akabilme ve şekil değiştirebilme zelliklerine sahip olan, ısı uygulaması ile final şekillerini alan polimerlerdir. Pişme terimi ile ifade edilen ısı uygulaması sonucu polimer zincirleri arasında kovalan çapraz bağlanma ile makromoleküler ağ oluşmakta ve bu yapının tekrar ısıtılması polimerin parçalanması ile sonuçlanmaktadır (29).

Dunn ve ark., prostetik implant ve yavaş etkin madde salımı sağlayan bir sistem oluşturmak amacıyla ϵ -kaprolakton ile D,L-laktit veya L-laktit kopolimerleri kullanarak, sıvı ve enjekte edilebilen ancak enjeksiyon sonrasında vücut sıcaklığında pişerek final formunu alan termoset sistemler hazırlamışlardır (4). Bu sistem daha sonra terminal akrilik esteri içeren poli ϵ -kaprolakton kopolimeri ve katalizör (benzoil peroksit veya N,N dimetil p-toluidin) ile hazırlanmış ve etkin madde olarak flurbiprofen kullanılmıştır. Hazırlanan bu sistemde dezavantaj olarak *in vivo* enjeksiyondan sonra sistemin katılaşma süreci olan ilk 1 saatte etkin madde boşalmasının meydana geldiği tespit edilmiştir (Şekil 3.) (30). Ayrıca bu sistemlerde, katalizör olarak kullanılan benzoil peroksit gibi maddelerin vücutta tümör oluşumunu tetikleyebileceği belirtilmiştir (31,32).



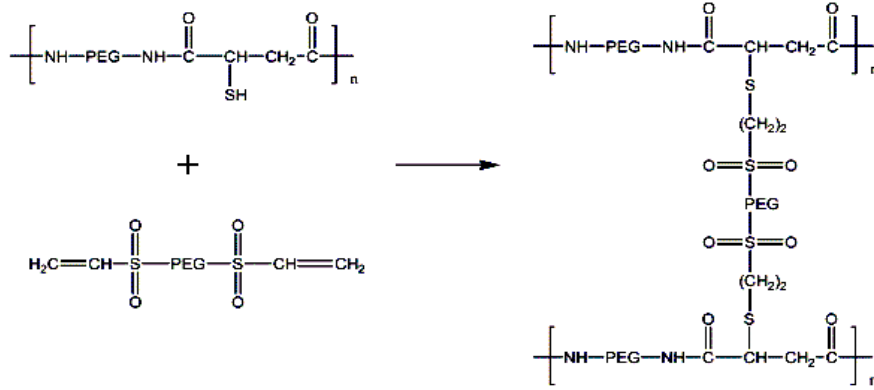
Şekil 3. Fosfat tamponu (PBS) içinde %5 flurbiprofen içeren formülasyondan etkin madde salım profili (30)

Bu sistemlerin prostetik implant olarak, örneğin prostetik kemik çimentosu gibi kullanımlarında polimerin pişmesi için uygulanan yüksek ısının (polietil metakrilat için 94°C) çevre dokularda nekroza neden olabileceği saptanmıştır (33,34). İmplant oluşumu için uygulanan ısının derecesini düşürmek amacıyla yapılan araştırmalardan Mendez ve ark.'nın (35) polimetil metakrilat (PMMA) veya biyoaktif $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ cam materyalleri kullanarak hazırladıkları analjezik etkili fosfoler içeren enjektabl formülasyonların 50-60°C'de piştiği ve PMMA formülasyonlarından 175 saat, cam içeren formülasyonlardan da 48 saat süreyle *in vitro* etkin madde salımının sağlandığı tespit edilmiştir. Bu formülasyonların *in vivo* biyoyumluluk

testlerinde, sıçanlarda kas içine uygulanmaları sonucu PMMA içerenlerin enjeksiyon bölgesinde enflamasyon oluşturmadığı ancak implant çevresinde fibröz bir tabakanın oluşumuna neden olduğu, biyoaktif cam içerenlerin ise implant çevresinde hafif bir enflamasyona ve tipik fibröz kapsül oluşumuna neden olduğu tespit edilmiştir (35). Yapılan bir başka çalışmada poli(2-hidroksietil metakrilat) ve 2-hidroksietil metakrilat kullanılarak hazırlanan formülasyonlardan *in situ* implant oluşumu için gerekli sıcaklığın 40°C'ye düşürüldüğü ve implant oluşumunun birkaç dakikada tamamlandığı belirtilmiştir (36).

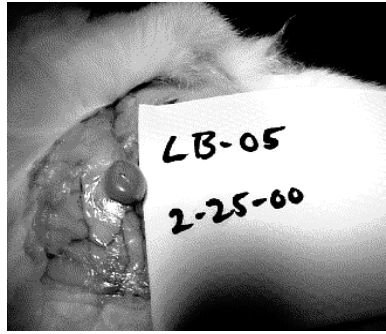
Çapraz bağlı polimer ağının oluşturulması, hidrofilik makromoleküllerin difüzyonunu kontrol altında tutmak açısından avantajlıdır. Bu tip bir sistemin peptit ve proteinlerin uzun süreli salımı için ideal olabileceği belirtilmekte, ancak bu tarz ISFD'lerde polimerin çifte bağ ve zincir uçlarında serbest radikal içermesi istenmemektedir. Çünkü bu faktör canlı doku ve hapsedilmiş etkin madde (biyoaktif ajan) için zararlıdır. Bu nedenle de biyoaktif ajanların çapraz bağlanma reaksiyonu süresince korunması gerekmektedir. Bu korumanın biyoaktif ajanın dokuda hızla parçalanan jelatin mikropartikülleri içine enkapsüle edilmesi ile sağlanabileceği belirtilmiştir (37,38).

Zincir uçlarındaki serbest radikal ile polimerizasyon gerektirmeyen fonksiyonel tiyol gruplarının çapraz bağlanması, farklı polimerler için araştırılmış, bazı araştırmacılar kitozan ve dealkillenmiş Sphingomonas elodea zankı (Sphingomonas elodea bakterisinden fermentasyonla elde edilen polisakkarit; deacylated gellan gum: DGG) gibi suda çözünebilir polimerler üzerindeki tiyol gruplarını aktive ederek *in situ* hidrojel oluşumunu sağlamışlardır (39,40). Ancak bu şekilde jelleşmenin, birkaç saat sürmesi nedeniyle *in situ* kullanım için uygun olmadığı belirtilmiştir. Qiu ve ark.(41), ise çoklu tiyol (-SH) grupları içeren polietilen glikol bazlı yeni bir kopolimer geliştirmişlerdir. Bu kopolimerde tiyoeter bağları oluşumu ile çapraz bağlı sülfonlar oluşmakta ve bunun sonucu olarak meydana gelen hidrojel %90'dan fazla su içermesi nedeniyle proteinleri hapsetme yeteneğine sahip olmaktadır (Şekil 4.). Bu polimerik hidrojel formülasyonuna etkin madde olarak eritropoietin (EPO) ilave edilip, Yeni Zelanda (albino) tavşanlarına subkütan olarak enjekte edilmesi sonucunda plazma EPO seviyesinin 2 hafta boyunca devam ettiği tespit edilmiştir. Şekil 5.'de tavşanın arka sırt kısmına subkütan olarak uygulanan plasebo jelin *in situ* çapraz bağlanmasını takiben 6 ay sonraki durumu görülmektedir (41).



Şekil 4. Ana iskeletinde PEG ve tiyol grupları içeren kopolimerden çapraz bağlama ajanı kullanılarak kimyasal reaksiyon ile polimerik hidrojel hazırlanması. Kopolimerde yer alan tiyol grupları ile çapraz bağlama ajanının vinil sülfon grupları arasındaki reaksiyon spesifik olup hızla meydana gelmektedir.

Tiyoeter bağları polimerin çapraz bağlı zincirlerini oluşturmaktadır (41).



Şekil 5. Tavşanın arka sırt kısmına subkütan olarak uygulanan plasebo jele ait fotoğraf. Fotoğraf jelin *in situ* çapraz bağlanmasından 6 ay sonra çekilmiştir (41).

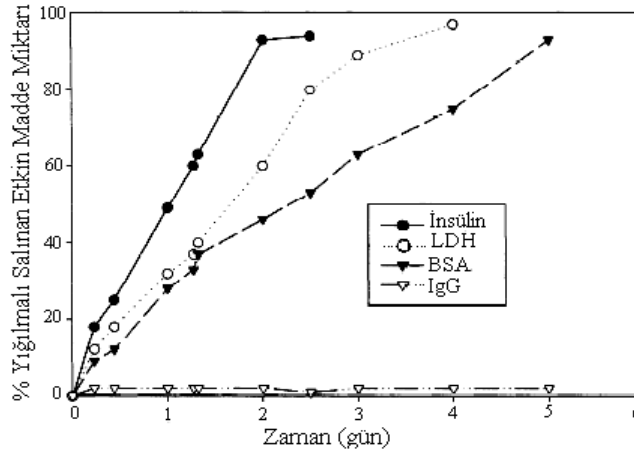
2.2. Foto çapraz bağlanma ile oluşan jeller

Bu sistemde, polimerin enjeksiyon bölgesinde *in situ* çapraz bağlanması, fiber optik kablolar kullanılarak foto pişirme ile gerçekleştirilmekte ve polimerizasyon vücut sıcaklığında termoset sistemlerden daha hızlı meydana gelmektedir (42).

Hubbell ve ark., foto polimerizasyon ile oluşan biyoparçalanabilir bir hidrojel sistemi geliştirmişlerdir. Bu sistem en az 2 serbest radikal uç içeren bir makromer (PEG-oligo glikol-akrilatlar), bir foto katalizör (eosin) ve bir ışık kaynağından (mor ötesi veya görünür ışık) oluşmaktadır. Sistemde makromer ile foto katalizör karışımı ışık kaynağına maruz bırakıldığında, makromerde hızla çapraz bağlanma meydana gelmekte ve polimer ağı oluşmaktadır. Bu sistemin suda çözünen etkin maddelerin ve enzimlerin hapsedilmesi ve kontrollü salımlarının sağlanması amacıyla kullanılabileceği belirtilmiştir (43). Ancak hidrojel oluşumu için enjeksiyondan sonra

operasyon alanına ışık kaynağının ulaşabilir olması gerekmektedir (44). Işık kaynağı olarak argon lazer kullanımı ile dokuda daha derin bölgelere ulaşılacağı, daha hızlı ve yüksek derecede polimerizasyonun sağlanabileceği ancak polimerin büzülme ve kırılabilirliğinin artacağı belirtilmektedir (45).

Hidrojellerden etkin madde salımının araştırılması amacıyla yapılan bir başka çalışmada etkin madde olarak çeşitli proteinler ve hidrojel sistemi olarak foto polimerizasyon ile çapraz bağlanan PEG-PLA hidrojelleri kullanılmıştır. Proteinlerin, hidrojellerden salımı 5 gün içerisinde tamamlanmış ve salım hızları molekül ağırlıklarının artması ile azalma göstermiştir (Şekil 6). Düşük molekül ağırlığına (MA) sahip proteinlerin sistemden difüzyon ile, daha büyük MA'lı immüoglobülin G'nin ise sistemden polimerin parçalanması ile salındığı belirtilmiştir (46).



Şekil.6. Foto çapraz bağlanma ile meydana gelen hidrojelden protein yapılı etkin maddelerin [insülin, laktat dehidrogenaz (LDH), sığır serum albumini (BSA), immüoglobülin G (IgG)] salım profilleri (46).

2.3. İyonik etkileşme ile oluşan jeller

Bir grup polimerin iyonik ortamda jelleştiği belirlenmiş olup, örnek olarak aljinatların kalsiyum iyonları ile kitozanın fosfat iyonları ile jel oluşturup her iki durumda da çapraz bağlı polimer ağı meydana getirdikleri saptanmıştır (47,48). Ancak jel oluşumunun genellikle *in situ* olmadığı, çünkü fizyolojik ortamda bu iyonların, bu polimerlerin çapraz bağlanmaları için yeterli konsantrasyonda bulunmadığı belirtilmekle beraber sadece göz yaşındaki kalsiyum konsantrasyonunun aljinat formülasyonlarından *in situ* jel oluşumuna olanak verdiği saptanmıştır (48). Aljinat kullanılarak yapılan bir çalışmada, oksitlenmiş sodyum aljinat, jelatin ve düşük miktarda soydum tetraborat (boraks) kullanılarak hazırlanan yeni hidrojel sistemin biyoyumlu,

biyoparçalanabilir ve doku yaması olarak enjektabl ilaç salım sistemlerinde kullanılabileceği belirtilmiştir (49). Yapılan bir başka çalışmada doku yaması olarak hazırlanan aljinat çözeltisi, trikalsiyum fosfat granülleri ve PLGA mikroküreleri ile etkin madde olarak osteoindüktif büyüme hormonu içeren formülasyonun kemik dolgusu olarak kullanılabilecek *in situ* katılaştıran bir kompozit sistemi olabileceği belirtilmektedir (50).

II-3. *In situ* Polimer Çöktürülmesi

Çözeltiden polimer çöktürülmesi esasına dayanan depo sistemlerde, polimerin çöktürülmesi; çözücü göçüne (51,52), sıcaklık (53,54) veya pH değişimine (55,56) bağlı olarak meydana gelebilmektedir.

3.1. Çözücü göçü ile polimer çöktürülmesi

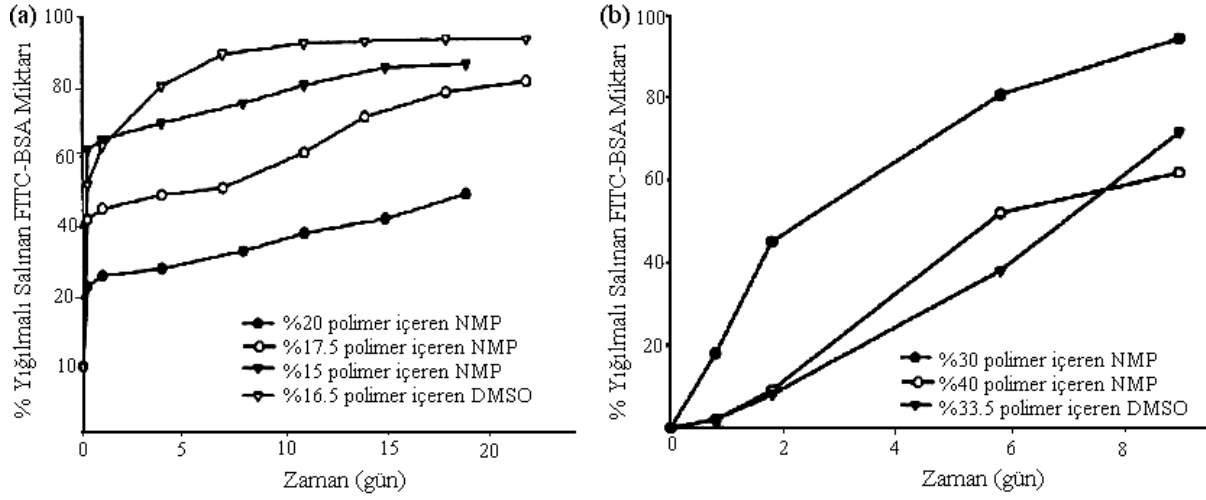
Bu sistem, suda çözünmeyen biyoparçalanabilir bir polimerin [PLA, PLGA, poli(DL-laktit-ko- ϵ -kaprolakton)], biyoyumlu organik bir çözücü [N-metil-2-pirolidon (NMP), propilen glikol, aseton, dimetil sülfoksit (DMSO), tetrahidrofuran, 2-pirolidon, glikofurol, triasetin] içinde çözülmesi ve etkin maddenin oluşan bu yapı içine karıştırılması sonucu meydana gelen çözelti veya süspansiyon şeklindedir. Bu tip bir formülasyon vücuda enjekte edildiğinde, formülasyondaki organik çözücü doku sıvısında yer alan su ile miselleşerek dağılmakta ve su organik faza penetre olmaktadır. Bunun sonucunda faz ayrışması ve polimerin enjeksiyon bölgesinde çökmesi ile bir depo meydana gelmektedir (57).

Bu yöntem ATRIX Laboratuvarları (USA) tarafından geliştirilmiş ve Atrigel™ teknolojisini olarak adlandırılmıştır (58-60). Atrigel™'in ilaç taşıyıcısı olarak kullanıldığı en gelişmiş preparatı Eligard™ olup farklı dozlarda (7.5 mg, 22.5 mg ve 30 mg) löprolid asetat içeren PLGA (75:25) ile NMP'un 45:55 a/a oranındaki çözeltisidir (5,59,61,62). Klinik araştırmalar sonucu 22.5 mg löprolid içeren bir deponun etkili bir biçimde serum testosteronunu baskıladığı, 50 ng/dl olan medikal kastrat (ilgili organın cerrahi olarak çıkarılması ve işlevinin sonlandırılması) seviyesinin altına indirdiği belirtilmiştir (63). Atrigel™ teknolojisinin yer aldığı diğer preparatlar arasında, dişeti hastalıklarının tedavisinde kullanılan ve subgingival doksisisiklin salımı yapan Atridox® (64-66), dişeti dokusunun rejenerasyonunda bariyer ürün olarak görev yapan ve etkin madde içermeyen Atrisorb® GTR (67), dişeti dokusunun rejenerasyonunda kullanılan ve doksisisiklin içeren Atrisorb® D (64) ve küçük evcil hayvanların dişeti hastalıklarının tedavisinde kullanılan doksisisiklin içeren Doxyrobe® (58) yer almaktadır.

Bu sistemin en önemli sakıncası, enjeksiyonu takiben depo oluşumu için geçen birkaç saatlik sürenin etkin maddenin doz boşalmasına neden olmasıdır. Bu istenmeyen durum nedeniyle bu sistemin dar terapötik indekse sahip etkin maddelere uygun olmadığı belirtilmektedir (9). Etkin maddelerin başlangıçtaki doz boşalmasını önlemek amacıyla sistem bileşenleri incelenmiş; sistemdeki polimer konsantrasyonu (69), polimerin MA'sı (70), çözücü tipi (51,70,71) ve sisteme eklenebilecek bir yüzey etkin maddenin polimerin çökme hızı üzerinde etkili olacağı tespit edilmiştir. Bu sistemler için birçok organik çözücü denenmiş, bunlardan propilen glikol, aseton, DMSO, tetrahidrofur, 2-pirolidon ve glikofurol'un başlangıç etkin madde doz boşalmasını minimum düzeyde tuttuğu tespit edilmiştir (59). Ancak yine de çözücü seçiminin etkileri tam olarak tanımlanamamış ve çoğu organik çözücünün vücut tarafından tolere edilemediği ve enjeksiyon bölgesinde ağrıya neden olduğu belirtilmiştir.

Brodbeck ve ark. (72), bu tarz ISFD'lerden protein salım kinetiklerinin, çözelti termodinamiklerinden örneğin çözücü gücü ve su ile miselleşebilme yeteneğinden etkilendiğini tespit etmişlerdir. Çalışmalarında NMP, triasetin, etil benzoat, PLGA ve su kullanmış bunlardan NMP'un hızlı faz dönüşümü ile poröz süngerimsi bir jel oluşturarak yüksek doz boşalmasına neden olduğunu saptamışlardır. Triasetin ve etil benzoat'ın ise PLGA için zayıf birer çözücü olup düşük faz dönüşüm hızı ile yavaş jelleşme meydana getirerek proteinlerin doz boşalmasını önemli ölçüde azalttığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar, protein salımında temel faktörlerin polimer tipi ve MA'sı olduğunu belirtmiş, çözücü tipi ve polimer konsantrasyonunun da salım profilini etkileyen önemli parametreler olduğunu tespit etmişlerdir (72,73).

Lambert ve Peck (70), çözücü tipi, polimer konsantrasyonu ve polimerin MA'sının PLGA sistemden floressein izotiyosiyanat ile işaretlenmiş sığır serum albumini (FITC-BSA) salımına etkilerini incelemiş; yüksek polimer MA'sının (PLGA 75-115 000 Da) ve yüksek polimer konsantrasyonunun (%10-20) başlangıç doz boşalmasını azalttığını, düşük MA'ya sahip PLGA'nın (10-15 000 Da) daha yüksek konsantrasyonda (%35-40) kullanılması ile doz boşalmasının engellendiğini, çözücünün polimeri çözme gücündeki artışın ise doz boşalmasını artırdığını tespit etmişlerdir. Çalışmada çözücü tipinin etkileri tam olarak saptanamamakla birlikte yüksek MA'lı polimer ile DMSO'nun en yüksek doz boşalmasına neden olduğu, ancak düşük MA'lı polimer için tam tersinin söz konusu olduğu belirtilmiştir. Şekil 7.'de yüksek ve düşük MA'ya sahip PLGA sistemlerinin, değişik polimer konsantrasyonlarında başlangıç doz boşalmasına etkileri görülmektedir (70). Genellikle başlangıç doz boşalmasını engellemek amacıyla polimer konsantrasyonunun %40-50 a/a oranında olması gerektiği sonucuna varılmıştır.



Şekil 7. (a) PBS içinde yer alan yüksek MA'lı PLGA sistemlerinden FITC-BSA salımı. (b) PBS içinde yer alan düşük MA'lı PLGA sistemlerinden FITC-BSA salımı (70).

Southern Biosystems'in sukroz asetat izobütirat (SABER) teknolojisinin etanol ve benzil alkol ile modifiye edilerek PLA için bir salım düzenleyicisi olarak kullanılması ile etkin maddenin başlangıç doz boşalmasında azalma elde edildiği belirtilmiştir (74).

NMP biyoyumlu ve güvenilir olması nedeniyle önem kazanmış ancak AtrigelTM için tercih edilen NMP, DMSO ve 2-pirolidon'un, izole edilmiş kemirgen iskelet kasında kreatin kinaz salımının toksisite kriteri kabul edildiği çalışmalarda, NMP ve DMSO'nun yüksek miyotoksik potansiyel gösterdiği saptanmıştır (75,76). Bu sonuçlar *in vivo* sıçan çalışmaları ile de doğrulanarak bu formülasyonların zararlı akut miyotoksisiteye neden olabilecekleri belirtilmiştir. Ancak, bu bulguların al yanaklı maymunlara 4 ml AtrigelTM enjeksiyonundan sonra elde edilen verilerle çelişkili olduğu da tespit edilmiştir (77).

Bu sistemlerin istenmeyen lokal iritasyonlarını azaltmak amacıyla Kranz ve ark. yağ/yağ tipi emülsiyon sistemlerini geliştirmişlerdir. Sistemin iç fazı polimer sistemi (etkin madde + biyoparçalanabilir polimer + organik çözücü), dış fazı ise yer fıstığı yağı içermekte olup enjeksiyon bölgesinde *in situ* oluşumlu mikroküre meydana getirmektedir (75). Benzer olarak, PLGA'nın triasetin/PEG'de çözülmesi ve migliol ile emülsifiye edilmesi ile protein enkapsülasyonuna olanak sağlayan *in situ* oluşumlu mikroküreler hazırlandığı belirtilmiştir (78,79). Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlarda, yağ/etkin madde formülasyonlarının su/etkin madde formülasyonlarından daha az bölgesel kas harabiyetine neden olduğu görülmüştür.

Etkin madde olarak protein yapısındaki maddelerin kullanılması durumunda, bu maddelerin organik çözücüler ile etkileşmesini önlemek amacıyla proteinlerin stabilizatörler ile toz halinde ilave edilmeleri gerektiği belirtilmiştir (21). Depoloma esnasında ise parçalanma açısından tek şüphe edilecek bileşenin etkin madde olmadığı belirtilerek, Wang ve ark.(80) tarafından PLGA polimerinin NMP çözeltisinde 25-37°C`de yaklaşık 26 haftada parçalandığını tespit edilmiştir. Aynı sistemin benzil benzoatta çözünmesiyle, ilave olarak sıcaklığa bağlı jelleşme ile PLGA`nın viskozitesinin de arttığı saptanmıştır (80).

3.2. Isı değişimi ile jelleşme

Bu sistemler, suda çözünen ve sıcaklığa bağlı olarak çözünürlüğü değişen polimerlerin, etkin madde ilave edilmiş çözeltilerinin vücuda uygulanması sonucu vücut sıcaklığında jel haline dönüşmesi ile meydana gelen depo sistemlerdir.

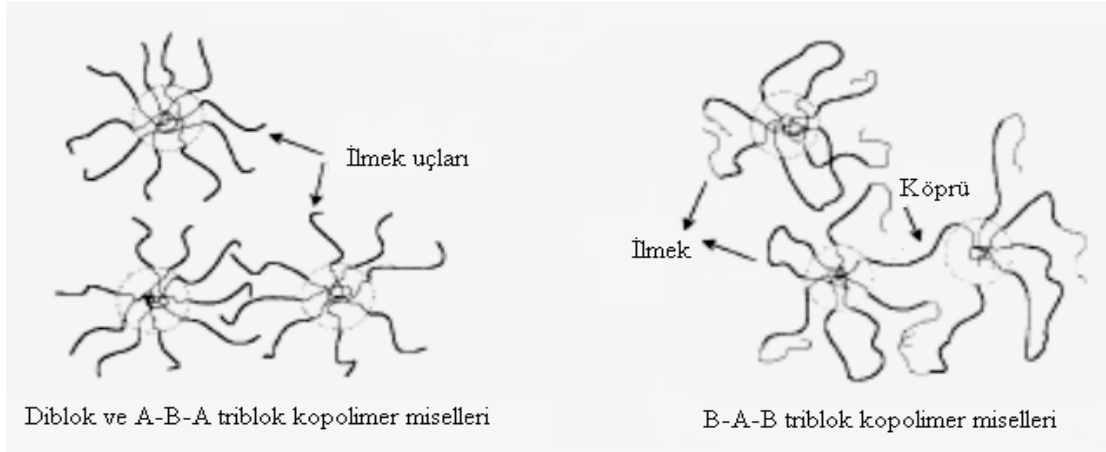
Birçok polimerin ortam sıcaklığına bağlı olarak çözünürlüğünde ani değişimler gösterdiği bilinmektedir. Isıya duyarlı polimerlerin prototipi sayılan poli(N-izopropil akril amid) (poli-NIPAAM), oldukça düşük bir kritik çözelti sıcaklığı (LCST)`na sahip olup bu değer yaklaşık 32 °C`dir (81). Ancak poli-NIPAAM`ın sitotoksitesi ve biyolojik olarak parçalanmaması nedeniyle biyomedikal uygulamaya uygun olmadığı belirtilmiştir.

Poloxamer® veya Pluronic® olarak bilinen polietilen oksit-polipropilen oksit-polietilen oksit (PEO-PPO-PEO) triblok polimerlerinin, polimer konsantrasyonunun %15 a/a`ın üzerinde olduğu çözeltilerinin vücut sıcaklığında jelleşme gösterdiği ancak bu konsantrasyondaki yüzey etkin maddenin sitotoksiteye ek olarak sıçanlarda intraperitoneal enjeksiyonu takiben plazma kolesterol ve trigliserol seviyesinde artışa neden olduğu tespit edilmiştir (82,83). Yapısal olarak trietoksilan veya metakrilat reaktif uçları içeren PEO-PPO-PEO triblok polimerlerinin sulu çözeltide 37°C`de hidrojel tipi implant oluşturduğu, metakrilat içeren triblok polimerde çapraz bağlanmanın hızlı, trietoksilan içerenler de ise daha uzun zamanda meydana geldiği saptanmıştır (84).

MacroMed (USA) bu alanda kullanılmak üzere ısıya duyarlı, biyoparçalanabilir ABA ve BAB triblok kopolimerlerini geliştirmiştir. Bu polimerlerde; A`lar hidrofobik poliester bloklarını, B`ler ise hidrofilik polietilen glikol bloklarını temsil etmektedir.

Bu polimer sınıfının düşük MA`lı olanlarının suda çözüldüğü ve sıcaklığa bağlı olarak geri dönüşümlü jel-çözelti geçişine sahip oldukları belirtilmiştir. Etkin madde olarak hidrofilik FITC-dekstran yüklenmiş PEG-PLA-PEG (MA 5000-2040-5000) sulu çözeltisinin deney hayvanlarına 45°C`de enjekte edilmesinden sonra vücut sıcaklığında jel haline dönüştüğü ve 10-20 gün süresince etkin madde salımı sağladığı belirtilmiştir (85,86).

Yapılan çalışmalar sonucu, ısıya duyarlı jel sistemlerin fizikokimyasal özellikleri üzerine; polimerin hidrofilik (PEG)/ hidrofobik (PLGA/PLA) segmentlerinin oranının, blok uzunluğunun, hidrofobiklik özelliklerinin (PCL>PLA>PLGA), polidispersite ve hidrofobik A-bloklarının steryo-düzeninin (amorf/yarı kristal) etkili kritik faktörler olduğu saptanmıştır. Bunlardaki küçük değişikliklerin miseller özellikleri önemli ölçüde etkilediği belirtilmiştir (8,87). Isıya bağlı jelleşme mekanizmasının, ABA ve BAB triblok kopolimerlerinde farklı şekillerde meydana geldiği tespit edilmiştir (Şekil 8).



Şekil 8. Su içerisindeki PEG-PLGA ABA ve BAB triblok kopolimerlerinin olası miseller zincir topolojileri (82).

MacroMed tarafından geliştirilen ABA ve BAB triblok kopolimerleri, klasik şırıngalar ile uygulanabilmeleri açısından avantajlıdır. MacroMed'in ilaç taşıyıcı sistemi ReGel® piyasaya girmiş durumda olup bu sistem izotonik PBS içinde %23 a/a ABA triblok kopolimeri (PLGA-PEG-PLGA) içeren bir çözelti şeklindedir. Sistemde biyogeçimlilik ve toksisite açısından sorun gözlenmediği belirtilmektedir (88). MacroMed'in piyasaya çıkarmış olduğu OncoGel®, ReGel® taşıyıcı formülasyonu içerisinde 6mg/g paklitaksel içeren, intratümöral enjeksiyon yolu ile kullanılan ve 6 hafta boyunca etkin madde salımı sağlayan bir sistemdir. Bu sistemin (Şekil 9) en önemli avantajları; paklitaksel gibi suda çözünmeyen etkin maddeleri çözünür hale getirebilmesi ve 50 günü aşan etkin madde salımı sağlayabilmesidir (89-91).



Şekil 9. 6mg/g paklitaksel içeren piyasa preparatı OncoGel® (91).

3.3. pH değişimi ile jelleşme

Chenite ve ark. (47), katyonik bir polisakkarit olan kitozan ile gliserofosfat disodyum tuzu (GP) (poliol fosfat tuzu) kombinasyonunun, kitozan çözeltilerine doku pH'larında sıvı, ancak vücut sıcaklığında jel hale dönüşme özelliği kazandırdığını tespit etmişler ve nötr kitozan çözeltileri ile yeni bir hidrojel sistemi geliştirmişlerdir. Kitozan biyoyumlu, pH-bağımlı katyonik özellikte bir polimerdir. pH'ı 6.2'ye kadar olan sulu çözeltilerde çözülmüş halde iken, pH'ın 6.2'yi aşması durumunda sulu jel benzeri bir çökelek meydana getirdiği belirtilmektedir. Chenite ve ark., çalışmalarında pH'ya bağımlı jelleşen katyonik polisakkarit çözeltilerine herhangi bir kimyasal modifikasyon veya çapraz bağlanma reaksiyonu uygulamaksızın, ısıya duyarlı ve pH'ya bağımlı jelleşme özelliği kazandırmışlardır. Bunu kitozanın sulu çözeltilerine gliserol-, sorbitol-, fruktoz- veya glukoz-fosfat gibi anyonik bir baş içeren poliol tuzlarını ekleyerek başarmışlardır. Bu araştırmacılar kemik oluşumunu tetikleyici hormon kullanarak hazırlamış oldukları sıvı kitozan/GP tuzu çözeltilerini yetişkin sıçanların sırt kısmına subkütan yolla uygulamış ve etkin madde salımını monitör yardımı ile izleyerek ektopik kartilaj ve kemik formasyonunun başarılı olarak gerçekleştiğini tespit etmişlerdir (47).

Yetişkinlerde kıkırdak hasarlarının tedavisinde, artiküler kondrositlerin enjeksiyon yolu ile lokal olarak verilmesi amacıyla kemik ve kıkırdak dokulara yapışma ve jelleşme gösteren kitozan çözeltileri kullanılmıştır. Farelerin sırtına subkütan enjeksiyon yolu ile uygulanan formülasyonların kısa sürede implant oluşumunu tamamladığı ve bir hafta boyunca etkili oldukları saptanmıştır (92).

Kitozan çözeltileri, bir başka çalışmada tömür içine verilmek üzere hazırlanan kamptotesin içeren *in situ* implantların formülasyonunda kullanılmış ve *in vivo* test sonuçlarının başarılı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu formülasyonun suda çözünmeyen kemoterapötik maddelerin (paklitaksel vb.) verilmesinde de kullanılabilceği belirtilmiştir (93).

II- 4. *In situ* Katılaşan Organojeller

Organojeller, suda çözünmeyen ancak şişen ve çeşitli tiplerde liyotropik sıvı kristaller meydana getiren amfifilik lipitlerden meydana gelen sistemlerdir.

Enjektabl biyoparçalanabilir *in situ* katılaşan organojel hazırlanması amacıyla amfifilik lipitlerden oda sıcaklığında mum halinde olan yağ asidi gliserol esterlerinin (gliserol monooleat, gliserol monopalmitostearat, gliserol monolinoleat) kullanılabileceği belirtilmektedir. Bu bileşikler, sulu ortama enjekte edildiklerinde jel benzeri yüksek viskoziteye sahip kübik sıvı kristal forma dönüşmekte ve bu jel yapı hidrofilik veya lipofilik etkin madde deposu olarak kullanılabilir (94).

Ericson ve ark., somatostatin içeren depo formunu oluşturmak üzere gliserol monooleat kullanarak hazırladıkları formülasyonları tavşanlara subkütan enjeksiyon yolu ile uygulamış ve etkin madde salımının 6 saat sonunda tamamlandığını tespit etmişlerdir. Meydana gelen organojelin yaklaşık %35 oranında su içermesi nedeniyle hidrofilik yapılı etkin maddenin kısa sürede salınmasına neden olduğunu belirtmişlerdir. Bu nedenle bu tip bir sistemin lipofilik etkin maddeler için daha uygun olabileceği düşünölmektedir (95).

Gao ve ark., lipofilik levonorgestrel ile gliserol palmitostearat (Precirol®) kullanarak bir depo formu hazırlamış ve *in vitro* özünme hızı testinde levonorgestrel salımının 14 gün boyunca devam ettiğini tespit etmişlerdir. *In vivo* tavşan deneyinde subkütan uygulanan organojelin tavşanlarda 40 gün boyunca kızışma dönemini baskıladığını saptamışlardır (96,97).

Organojel formülasyonlarında su konsantrasyonunun düşürölebileceği ancak bu durumda enjeksiyonu kolaylaştırmak amacıyla sisteme bitkisel yağların ilave edilmesinin gerektiği ve bitkisel yağ ilavesi ile özellikle lipofilik etkin maddelerin salım hızının azaltılabileceği belirtilmektedir. Bu amaçla Gao ve ark. (97), levonorgestrel/Precirol® sistemine glikolize kayısı çekirdeği yağı (Labrafil® 1944 CS) ilave etmiş ve bu durumun etkin madde salım hızında azalmaya neden olduğunu *in vitro* özünme hızı testi ile tespit etmişlerdir. Araştırmacılar bu sistemlerden lipofilik etkin maddelerin salım hızları üzerine etkin maddenin kübik fazdaki özünörlüğünün etkili olduğunu, formülasyonda etkin maddenin konsantrasyonunun kübik fazdaki özünörlüğünü aşması durumunda etkin maddenin partiköler hale geçeceğini ve partiköl büyüklüğü küçöldüke etkin maddenin salım hızının artacağını belirtmişlerdir (97). Bu araştırmacılar, ayrıca Precirol®/Labrafil® 1944 CS sisteminin biyoparçalanma süresinin 5-6 hafta olduğunu da saptamışlardır (96).

Plourde ve ark., N-stearoil L-alanin metil esterleri, yalancı safran yağı (*Carthamus tinctorius* tohumundan elde edilen yağ) ve NMP kullanarak hazırladıkları organojel

formülasyonlarından *in vivo* löprolid salımının 14-25 gün sürdüğünü ve biyolojik etkinin 50 gün boyunca devam ettiğini testosteron seviyesi takibi ile saptadıklarını belirtmişlerdir (98).

Bu sistemlerin dezavantajları arasında ilk sırayı, mumların içerebileceği kalıntılar ve yağların stabilite problemleri almaktadır. Yağların stabilite ve raf ömürlerini artırmak amacıyla genellikle yağlara stabilizatör, antioksidan ve koruyucuların ilavesi tavsiye edilmektedir. İkinci sırayı ise kullanılan yağların farklı erime noktalarına sahip olmaları durumunda faz ayrışmasının meydana gelme ihtimali almaktadır. Örneğin Labrafil® birçok farklı bitkisel yağ karışımından, Precirol® ise değişik yağ asidi gliserol esterlerinin karışımından oluşmaktadır. Bununla beraber mumlar ve yağları karıştırmak için uygulanan ve 60°C'ye yükselebilen yaklaşık 30 dakikalık ısı uygulamasının bazı etkin maddeleri olumsuz etkileyebileceği düşünülmektedir (96,99). Ayrıca, mumların ve yağların içerebileceği kalıntılar ve toksisitelerine dair yeterli bilgi bulunmadığı da belirtilmektedir (9).

III. SONUÇ

In situ oluşan enjektabl implant sistemleri, lokal ve sistemik etkili etkin maddelerin uzun süreli verilmesine olanak sunması, uygulama ve üretim kolaylıkları ile protein yapılı etkin maddelerle çalışılmasında kolaylık sağlaması açısından umut verici bir yaklaşımdır. Gelişmeler hızla devam ederken, genel anlamda bu sistemlerin *in vitro* olarak formülasyon geliştirme ve stabilite çalışmalarının, *in vivo* olarak biyoparçalanma, biyoyumluluk ve toksisite çalışmalarının devam etmesine paralel olarak bu sistemlerin bir kısmının ticarileştiği, birçoğunun da klinik çalışmalarının halen devam ettiği belirtilmektedir (1,9). Sonuç olarak, gelişimi 1980'lerin ilk yarısına dayanan bu sistemler ile etkin madde uygulanması açısından günümüze kadar başarılı bir süreç olduğu görülmektedir.

KAYNAKLAR

1. **Packhaueser, C.B., Schneiders, J., Oster, C.G. and Kissel, T.** “*In situ* forming parenteral drug delivery systems” *Eur. J. Pharm Biopharm.*, **58**, 445-455 (2004).
2. **Heller, J., Barr, J., Ng, S. and Shen, H.-R.** “Injectable semi-solid poly (ortho esters) for the controlled delivery of therapeutic agents: synthesis and applications” *Drug Deliv. Technol.*, **2**(1), 38-43 (2002).
3. **Dunn, R.L., Tipton, A.J., Harkrader, R.J. and Rogers, J.A.** “Intragingival delivery systems containing chemotherapeutic agents for treatment of periodontal diseases” *PCT Int. Appl.* **9**,200,718 (1992).

4. **Dunn, R.L. , English, J.P., Cowsar, D.R. and Vanderbilt, D.P.** “Biodegradable in-situ forming implants and methods of producing the same” *US Patent* 4,938,763 (1990).
5. **Sartor, O.** “Eligard: leuprolide acetate in a novel sustained-release delivery system” *Urology*, **61**(2), Suppl 1 (2003).
6. **Chen, G., Houston, P.R., Kleiner, L.W. and Wright, J.C.** “Injectable depot compositions containing polymers and aromatic alcohols” *PCT Int. Appl.*, **28**,3,41,684 (2003).
7. **Heller, J. and Ng, S.Y.** “PEG-poly(ortho ester), PEG-poly(ortho ester)-PEG, and poly(ortho ester)- PEG-poly(ortho ester) block copolymers” *US Patent* 5,939,453 (1999).
8. **Rathi, R.C., Zentner, G.M. and Jeong, B.** “Biodegradable low molecular weight triblock lactide-glycolide-polyethylene glycol copolymers having reverse thermal gelation properties” *US Patent* 6,201,072 (2001).
9. **Hatefi, A., Amsden, B.** “Biodegradable injectable *in situ* forming drug delivery systems” *J. Contr. Release*, **80**, 9-28 (2002).
10. **Bezwada, R.S.** “Preparation of liquid copolymers of e-caprolactone and lactide” *US Patent* 5,442,033 (1995).
11. **Bezwada, R.S., Arnold, S.C., Shalaby, S.W. and Williams, B.L.** “Liquid absorbable copolymers for parenteral applications” *Eur. Pat. Appl.*, **635**,272 (1995).
12. **Schwach-Abdellaoui, K., Moreau, M., Schneider, M., Boisramc, B. and Gurny, R.** “Controlled delivery of metoclopramide using an injectable semi-solid poly(ortho ester) for veterinary application” *Int. J. Pharm.*, **248**(12), 31–37 (2002).
13. **Einmahl, S., Behar-Cohen, F., Tabatay, C., Savoldelli, M., Hermies, F.D., Chauvaud, D., Heler, J. and Gurny, R.** “A viscous bioerodible, poly(ortho ester) as a new biomaterial for intraocular application” *J. Biomed. Mater. Res.*, **50**, 566-577 (2000).
14. **Walter, K.A , Cahan, M.A., Gur, A., Tyler, B., Hilton, J., Colvin, O.M., Burger, P.C. Domb A. and Brem, H.** “Interstitial taxol delivered from a biodegradable polymer implant against experimental malignant glioma” *Cancer Res.*, **54**(8), 2207–2212 (1994).
15. **Winternitz, C.I., Jackson, J.K., Oktaba, A.M. and Burt, H.M.** “Development of a polymeric surgical paste formulation for taxol” *Pharm. Res.* **13**(3), 368–375 (1996).

16. **Zhang, X., Jackson, J.K., Wong, W., Min, W., Cruz, T., Hunter, W.L. and Burt, H.M.** “Development of biodegradable polymeric paste formulations for taxol: an in vitro and in vivo study” *Int. J. Pharm.*, **137**(2), 199–208 (1996).
17. **Dordunoo, S.K., Oktaba, A.M.C., Hunter, W., Min, W., Cruz T. and Burt, H.M.** “Release of taxol from poly(ϵ -caprolactone) pastes: effect of water-soluble additives” *J. Contr. Release*, **44**(1), 87–94 (1997).
18. **Alonso, P.E., Perula, L.A. and Rioja, L.F.** “Pain-temperature relation in the application of local anaesthesia” *Br. J. Plast. Surg.*, **46** (1), 76–78 (1993).
19. **Jackson, J.K., Zhang, X., Llewellyn, S., Hunter, W.L. and Burt, H.M.** “The characterization of novel polymeric paste formulations for intratumoral delivery” *Int. J. Pharm.*, **270**, 185-198 (2004).
20. **Bernatchez, S.F. , Merkli, A., Tabatabay, C., Gurny, R., Zhao, Q.H., Anderson, J.M. and Heller, J.** “Biotolerance of a semisolid hydrophobic biodegradable poly(ortho ester) for controlled drug delivery” *J. Biomed. Mater. Res.*, **27** (5), 677–681(1993).
21. **Heller, J., Barr, J., Ng, S., Shen, H.-R., Gurny, R., Schwach-Abdelaoui, K., Rothen-Weinhold, A. and Van De Weert, M.** “Development of poly(ortho esters) and their application for bovine serum albumin and bupivacaine delivery” *J. Control. Release*, **78** (13), 133–141(2002).
22. **Heller, J., Barr, J., Ng, S.Y., Shen, H.-R., Schwach-Abdellaoui, K., Gurny, R., Vivien-Castioni, N., Loup, P.J., Baehni, P. and Mombelli, A.** “Development and applications of injectable poly(ortho esters) for pain control and periodontal treatment” *Biomaterials*, **23**(22), 4397–4404 (2002).
23. **Heller, J. and Ng, S.Y.** “PEG-poly(ortho ester), PEG-poly(ortho ester)-PEG, and poly(ortho ester)- PEG-poly(ortho ester) block copolymers” *US Patent* 5,939,453 (1999).
24. **Ng, S.Y., Vandamme, T., Taylor, M.S. and Heller, J.** “Synthesis and erosion studies of self-catalyzed poly(ortho ester)s” *Macromolecules*, **30** (4), 770–772 (1997).
25. **Merkli, A., Heller, J., Tabatabay, C. and Gurny, R.** “Purity and stability assessment of a semi-solid poly(ortho ester) used in drug delivery systems” *Biomaterials*, **17**(9), 897–902 (1996).

26. **Van De Weert, M., Van Steenberghe, M.J., Cleland, J.L., Heller, J., Hennink, W.E., and Crommelin, D.J.A.** "Semisolid, self-catalyzed poly(ortho esters) as controlled-release systems: protein release and protein stability issues" *J. Pharm. Sci.*, **91** (4), 1065–1074 (2002).
27. **Sintzel, M.B., Heller, J., Ng, S.Y., Tabatabay, C., Schwach-Abdellaoui, K. and Gurny, R.** "In vitro drug release from self-catalyzed poly(ortho ester): Case study of 5-fluorouracil" *J. Control. Release*, **55**, 213-218 (1998).
28. **Swach-Abdellaoui, K., Manti, A., Barr, J., Heller, J. and Gurny, R.** "Optimization of a novel bioerodible device based on auto-catalyzed poly(ortho esters) for controlled delivery of tetracycline to periodontal pocket" *Biomaterials* **22**, 1659-1666 (2001).
29. **Painter, P.C., and Coleman, M.M.** Fundamentals of Polymer Science, Technomic, Lancaster, PA, p:4-5, (1994).
30. **Moore, L.A., Norton, R.L., Whitman, S.L. and Dunn, R.L.** "An injectable biodegradable drug delivery system based on acrylic terminated poly ϵ -caprolactone" 21st Annual Meeting of the Society of Biomaterials, CA, 1995.
31. **Gimenez-Conti, I.B., Binder, R.L., Johnston, D. and Slaga, T.J.** "Comparison of the skin tumor-promoting potential of different organic peroxides in SENCAR mice" *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **149**(1), 73-79 (1998).
32. **Zhao, J.L., Sharma, Y., Chatterjee, M.L. and Agarwal, R.** "Inhibitory effect of a flavonoid antioxidant silymarin on benzoyl peroxide-induced tumor promotion, oxidative stress and inflammatory response in SENCAR Mouse skin" *Carcinogenesis* **21**(4), 811-816 (2000).
33. **Sund, G. and Rosequist, J.** "Morphological changes in bone following implantation of methyl methacrylate" *Acta Orthop. Scand.* **54**, 148-156 (1983).
34. **Temenoff, J.S. and Mikos, A.G.** "Injectable biodegradable materials for orthopedic tissue engineering" *Biomaterials* **21**, 2405-2412 (2000).
35. **Méndez, J.A., Fernández, M., González-Corchón, A., Salvado, M., Collía, F., de Pedro, J A., Levenfeld, B L., López-Bravo, A., Vázquez, B. and San Román J.** "Injectable self-curing bioactive acrylic-glass composites charged with specific anti-inflammatory/analgesic agent" *Biomaterials* **25**(12), 2381-2392 (2004).
36. **Ferruti, P., Grigolini, M. and Ranucci, E.** "PHEMA hydrogels obtained by a novel low-heat curing procedure with a potential for *in situ* preparation" *Macromol Biosci*, **4**(6), 591-600 (2004).

37. **Payne, R.G., Mcgonigle, J.S., Yaszemski, M.J., Yasko, A.W. and Mikos, A.G.** “Development of an injectable, *in situ* crosslinkable, degradable polymeric carrier for osteogenic cell populations. Part 2. Viability of encapsulated marrow stromal osteoblasts cultured on crosslinking poly(propylene fumarate)” *Biomaterials* **23**(22), 4373–4380 (2002).
38. **Hedberg, E.L., Tang, A., Crowther, R.S., Carney, D.H. and Mikos, A.G.** “Controlled release of an osteogenic peptide from injectable biodegradable polymeric composites” *J. Control. Release*, **84** (3), 137–150 (2002).
39. **Bernkop-Schnurch, A., Hornof, M. and Zoidl, T.** “Thiolated polymers–thiomers: synthesis and in vitro evaluation of chitosan-2-iminothiolane conjugates” *Int. J. Pharm.* **260**(2), 229–237 (2003).
40. **Krauland, A.H., Leitner, V.M. and Bernkop-Schnuerch, A.** “Improvement in the *in situ* gelling properties of deacetylated gellan gum by the immobilization of thiol groups” *J. Pharm. Sci.*, **92** (6), 1234–1241 (2003).
41. **Qiu, B., Stefanos, S., Ma, J., Laloo, A., Perry, B.A., Leibowitz, M.J., Sinko, P.J. and Stein, S.** “A hydrogel prepared by *in situ* cross-linking of a thiol-containing poly(ethylene glycol)-based copolymer: a new biomaterial for protein drug delivery” *Biomaterials* **24** (1), 11–18 (2002).
42. **Burkoth, A.K. and Anseth, K.S.** “A review of photocrosslinked polyanhydrides: in-situ forming degradable networks” *Biomaterials*, **21**, 2395-2404 (2000).
43. **Hubbell, J.A., Pathak, C.P., Sawhney, A.S., Desai, N.P. and Hill, J.L.** “Photopolymerizable biodegradable hydrogels as tissue contacting materials and controlled release carriers” US Pat. 5 410 016 (1995).
44. **Sawhney, A.S., Pathak C.P. and Hubbell, J.A.** “Bioerodible hydrogels based on photopolymerized poly(ethylene glycol)-co-poly(alpha-hydroxy acid) diacrylate macromers” *Macromolecules*, **26**(4), 581–587 (1993).
45. **Fleming, M.G. and Maillet, W.A.** “Photopolymerization of composite resin using the argon laser” *J. Can. Dent. Assoc.* **65**(8), 447-450 (1999).
46. **West, J.L. and Hubbell, J.A.** “Localized intravascular protein delivery from photopolymerized hydrogels” Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. **22**, 17-18 (1995).
47. **Chenite, A., Chaput, C., Wang, D., Combes, C., Buschmann, M.D., Hoemann, C. D., Leroux, J. C., Atkinson, B. L., Binette, F. and Selmani, A.** “Novel injectable neutral

- solutions of chitosan form biodegradable gels *in situ*” *Biomaterials*, **21** (21), 2155–2161 (2000).
48. **Cohen, S., Lobel, E., Trevgoda, A. and Peled, Y.** “A novel, *in situ*-forming ophthalmic drug delivery system from alginates undergoing gelation in the eye” *J. Control. Release*, **44**(23) 201–208 (1997).
49. **Balakrishnan, B. and Jayakrishnan, A.** “Self-cross-linking biopolymers as injectable *in situ* forming biodegradable scaffolds” *Biomaterials*, **26**(18), 3941-3951(2005).
50. **Luginbuehl, V., Wenk, E., Koch, A., Gander, B., Merkle, H.P. and Meinel, L.** “Insulin-like growth factor I-releasing alginate-tricalciumphosphate composites for bone regeneration” *Pharm. Res.*, **22**(6), 940-950 (2005).
51. **Shah, N.H., Railkar, A.S., Chen, F.C., Tarantino, R., Kumar, S., Murjani, M., Palmer, D., Infeld, M.H. and Malick, A.W.** “A biodegradable injectable implant for delivering micro and macromolecules using poly(lactic-co-glycolic)acid copolymers” *J. Control. Release*, **27**, 139–147 (1994).
52. **Eliaz, R.E. and Kost, J.** “Characterization of a polymeric PLGA-injectable implant delivery system for controlled release of proteins” *J. Biomed. Mater. Res.* 50, 388-396 (2000).
53. **Jeong, B., Bae, Y.H. and Kim, S.W.** “*In situ* gelation of PEG-PLGA-PEG triblock copolymer aqueous solutions and degradation thereof” *J. Biomed. Mater. Res.* 50, 171-177 (2000).
54. **Paavola, A., Yliruusi, J. and Rosenberg, P.** “Controlled release and dura mater permeability of lidocaine and ibuprofen from injectable poloxamer-based gels” *J. Control. Release*, **52**(1-2), 169-178 (1998).
55. **Siegel, R.A. and Firestone, B.A.** “pH-dependent equilibrium swelling properties of hydrophobic poly-electrolyte copolymer gels” *Macromolecules*, 21, 3254-3259 (1988).
56. **Tanaka, T.** “Phase transitions in ionic gels” *Phys. Rev. Lett.* 45, 1636-1639 (1980).
57. **Dunn, R.L., Tripton, A.J., Southard, G.L. and Rogers, J.A.** “Biodegradable polymer composition” *US Patent* 5,599,552 (1997).
58. **Dunn, R.L.** “The Atrigel Drug Delivery System” in *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, vol. 126, Dekker, New York, p:67-71, MA (2003).
59. **Ravivarapu, H.B., Moyer, K.L. and Dunn, R.L.** “Parameters affecting the efficacy of a sustained release polymeric implant of leuprolide” *Int. J. Pharm.*, **194**(2), 181–191 (2000).

60. **Ravivarapu, H.B., Moyer, K.L. and Dunn, R.L.** “Sustained activity and release of leuprolide acetate from an *in situ* forming polymeric implant” *AAPS Pharm. Sci.Tech.*, **1** (1),1 (2000).
61. **Dunn, R.L., Garrett, J.S., Ravivarapu, H. and Chandrashekar, B.L.** “Polymeric delivery formulations of leuprolide with improved efficacy” *US Patent* 6,565,874 (2003).
62. **ELIGARD®** 7.5-mg leuprolide acetate for injectable suspension. <http://www.products.sanofi-aventis.us/eligard>, (2005).
63. **Chu, F.M., Jayson, M., Dineen, M.K., Perez, R., Harkaway, R. and Tyler, R.C.** “A clinical study of 22.5 mg La-2550: a new subcutaneous depot delivery system for leuprolide acetate for the treatment of prostate cancer” *J. Urol.*, **168**(3), 1199–1203 (2002).
64. **Polson, A.M., Dunn, R.L., Fulfs, J.C., Godowski, K.C., Polson, A.P., Southard, G.L. and Yewey, G.L.** “Periodontal pocket treatment with subgingival doxycycline from a biodegradable system” *J. Dent. Res.*, **72**, 360 (1993).
65. **Polson, A.M., Garrett, S., Stoller, N., Brandt, C., Haner, P., Killoy, W., Southard, G., Duke, S., Bogle, G., Drisko, C. and Friesen, L.** “Multicenter comparative evaluation of subgingivally delivered sanguinarine and doxycycline in the treatment of periodontitis. II. Clinical results” *J. Periodontol.*, **68**, 119-126 (1997).
66. **Garrett, S.** “Local delivery of doxycycline for the treatment of periodontitis” *Compendium*, **20**,437-448 (1999).
67. **Polson, A.M., Southard, G., Dunn, R.L., Polson, A.P., Bilen, J. and Laster, L.** “Initial study of guided tissue regeneration in class III furcation results after use of a biodegradable barrier” *Int. J. Periodont. Rest. Dent.* **15**, 45-55 (1995).
68. **Garrett, J.S., Holland, K.M., Coonts, B.A., Moore, L.A., Cady, K.E., Yarborough, C., Bawa, R. and Dunn, R.L.** “An *in situ* forming guided tissue regeneration barrier with doxycycline” *Trans. Soc. Biomater.*, **22**, 251-255 (1999).
69. **Radomsky, M.L., Brouwer, G., Floy, B.J., Loury, D.J., Chu, F., Tipton, A.J. and Sanders, L.M.** “The controlled release of Ganirelix from the Atrigel injectable implant system” *Proc. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* **20** (1993).
70. **Lambert, W.J. and Peck, K.D.** “Development of an *in situ* forming biodegradable polylactide-co-glycolide system for the controlled release proteins” *J. Control. Release*, **33**, 189-195 (1995).

71. **Shively, M.L., Bennett, A.T., Coonts, B.A., Renner, W.D. and Southard, J.L.** “Physico-chemical characterization of polymeric injectable implant delivery system” *J. Control. Release*, **33**, 237-243 (1995).
72. **Brodbeck, K.J., Desnoyer, J.R. and Mchugh, A.J.** “Phase inversion dynamics of PLGA solutions related to drug delivery. Part II. The role of solution thermodynamics and bath-side mass transfer” *J. Control. Release*, **62**(3), 333–344 (1999).
73. **Graham, P.D., Brodbeck, K.J. and Mchugh, A.J.** “Phase inversion dynamics of PLGA solutions related to drug delivery” *J. Control. Release*, **58**(2), 233–245 (1999).
74. **Okumu, F.W., Daugherty, A., Dao, L., Fielder, P.J., Brooks, D., Sane, S., Sullivan, S., Tipton, A.J. and Cleland, J.L.** “Evaluation of the SABER Delivery System for Sustained Release of Growth Hormone-Formulation Design and In Vivo Assessment Proceedings” 28th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials and Fourth Consumer & Diversified Products Conference **Vol. 2** 1031–1032 (2001).
75. **Kranz, H., Brazeau, G.A., Napaporn, J., Martin, R.L., Millard, W. and Bodmeier, R.** “Myotoxicity studies of injectable biodegradable in-situ forming drug delivery systems” *Int. J. Pharm.* **212**(1), 11–18 (2001).
76. **Lee, K.P., Chromey, C. and Culik, R.** “Toxicity of N-methyl-2-pyrrolidone (NMP): teratogenic, subchronic and two-year inhalation studies” *Fundam. Appl. Toxicol.*, **9**, 222-235 (1987).
77. **Royals, M.A., Fujita, S.M., Yewey, G.L., Rodriguez, J., Schultheiss, P.C. and Dunn, R.L.** “Biocompatibility of a biodegradable *in situ* forming implant system in rhesus monkeys” *J. Biomed. Mater. Res.*, **45**(3), 231–239 (1999).
78. **Jain, R.A., Rhodes, C.T., Railkar, A.M., Malick, A.W. and Shah N.H.**, “Controlled delivery of drugs from a novel injectable *in situ* formed biodegradable PLGA microsphere system” *J. Microencapsul.*, **17**(3), 343–362 (2000).
79. **Jain, R.A., Rhodes, C.T., Railkar, A.M., Malick, A.W. and Shah, N.H.** “Controlled release of drugs from injectable *in situ* formed biodegradable PLGA microspheres: effect of various formulation variables” *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **50**(2), 257–262 (2000).
80. **Wang, L., Kleiner, L. and Venkatraman, S.** “Structure formation in injectable poly(lactide-coglycolide) depots” *J. Control. Release*, **90**(3), 345–354 (2003).

81. **Stile, R.A., Burghardt, W.R. and Healy, K.E.** “Synthesis and characterization of injectable poly(N-isopropylacrylamide)-based hydrogels that support tissue formation in vitro”, **32**(22), 7370–7379 (1999).
82. **Bochot, A., Fattal, E., Gulik, A., Couarraze, G. and Couvreur, P.** “Liposomes dispersed within a thermosensitive gel: a new dosage form for ocular delivery of oligonucleotides” *Pharm. Res.*, (9), 1364–1369 (1998).
83. **Yong, C.S., Choi, J.S., Quan, Q.Z., Rhee, J.D., Kim, C.K., Lim, S.J., Kim, K.M., Oh, P.S. and Choi, H.G.** “Effect of sodium chloride on the gelation temperature, gel strength and bioadhesive force of poloxamer gels containing diclofenac sodium” *Int. J. Pharm.*, **226** (12), 195–205 (2001).
84. **Cohn, D., Sosnik, A. and Garty, S.** “Smart hydrogels for *in situ* generated implants” *Biomacromolecules*, 6(3), 1168-1175 (2005).
85. **Jeong, Y.H., Bae, D.S., Lee, S. and Kim, W.** “Biodegradable block copolymers as injectable drug-delivery systems” *Nature*, **388** (6645), 860–862 (1997).
86. **Jeong, B., Choi, Y.K., Bae, Y.H., Zentner, G. and Kim, S.W.** “New biodegradable polymers for injectable drug delivery systems” *J. Control. Release*, **62** (12), 109–114 (1999).
87. **Lee, D.S.** “Functional Biodegradable Polymers for Drug Delivery Proceedings” 8th Workshop on *Advanced and Functional Polymer Materials*, 109–137 (2000).
88. **Zentner, G.M., Rathi, R., Shih, C., McRea, J.C., Seo, M., Oh, H., Rhee, B.G., Mestecky, J., Moldoveanu, Z., Morgan, M. and Weitman, S.** “Biodegradable block copolymers for delivery of proteins and water-insoluble drugs” *J. Control. Release*, **72**(13), 203–215 (2001).
89. **Jeong, B., Bae, Y.H. and Kim, S.W.** “Thermoreversible gelation of PEG-PLGA-PEG triblock copolymer aqueous solutions” *Macromolecules*, **32**(21), 7064–7069 (1999).
90. **Cha, Y., Choi, Y.K. and Bae, Y.H.** “Thermosensitive biodegradable polymers based on oly(ether-ester) block copolymers” *PCT Int. Appl.* **9**,715,287 (1997).
91. “OncoGel (Paclitaxel, injectable depot) Phase II.” <http://www.macromed.com/OncoGel>, (2005).
92. **Hoemann, C D., Sun, J., Légaré, A., McKee, M D. and Buschmann, M D.** “Tissue engineering of cartilage using an injectable and adhesive chitosan-based cell-delivery vehicle” *Osteoarthritis and Cartilage* **13**(4), 318-32 (2005).

93. **Berrada, M., Serreqi, A., Dabbarh, F., Owusu, A., Gupta, A. and Lehnert, S.** “A novel nontoxic camptothecin formulation for cancer chemotherapy” *Biomaterials*, **26**(14),2115-2120 (2005).
94. **Engstrom, S and Engstrom, L.** “Phase behavior of the lidocaine-monoolein-water system” *Int. J. Pharm.* **79**, 113-122 (1992).
95. **Ericson, B., Ericson, P.O., Lofroth, J.E. and Engstrom, S.** “Cubic phases as drug delivery systems for peptid drugs” *ACS Symp. Ser.* **469**, 251-265 (1991).
96. **Gao, Z., Crowley, W.R., Shukla, A.J., Johnson, J.R. and Reger, J.F.** “Controlled release of contraceptive steroid from biodegradable and injectable gel formulations: in-vivo evaluation” *Pharm. Res.* **12**(6), 864-868 (1998).
97. **Gao, Z., Shukla, A.J., Johnson, J.R. and Crowley, W.R.** “Controlled release of contraceptive steroid from biodegradable and injectable gel formulations: in-vitro evaluation” *Pharm. Res.* **12**(6), 857-864 (1995).
98. **Plourde, F., Motulsky, A., Couffin-Hoarau, A.C., Hoarau, D., Ong, H. and Leroux, J.C.** “First report on the efficacy of l-alanine-based *in situ*-forming implants for the long-term parenteral delivery of drugs” *J. Control. Release*, **108**(2-3), 433-441 (2005).
99. **Chang, C.M. and Bodmeier, R.** “Effect of dissolution media and additives on the drug release from cubic phase delivery systems” *J. Control. Release*, **46**, 215– 222 (1997).

Received: 21.12.2005

Accepted: 14.05.2006