

İntestinal Absorpsiyonu Artırmak Amacıyla Kullanılan Permeasyon Artırıcı Ajanlar

Received : 17.07.2012

Revised : 13.08.2012

Accepted : 17.08.2012

Müge Ateş, Mustafa Sinan Kaynak**, Selma Şahin*⁰**

Giriş

Sistemik etki elde etmek amacıyla ilaçlar farklı yollarla uygulanmaktadır. Bunlar arasında en yaygın olarak kullanılanı oral yoldur¹. Oral yolla verilen ilaçların absorpsiyonu ve biyoyararlanımı üzerine ilacın fizikokimyasal özellikleri (partikül büyüklüğü, kristal şekli, polimorfizm tuz-ester yapısı gibi), dozaj şekline ait faktörler (dozaj şeklinin tipi, üretim değişkenleri, formülasyondaki diğer bileşenler ve kullanılma oranları) ve fizyolojik faktörler (mide-barsak kanalından geçiş süresi, pH'sı, gastrointestinal membranın kalınlığı, kan akış hızı, bireysel farklılıklar gibi) önemli derecede etki etmektedir^{2,3}. Dolayısıyla biyolojik sıvılarda düşük çözünürlük ve düşük çözünme hızı, fizyolojik pH'larda çözünmüş ilacın stabilite problemi, biyolojik membranlardan düşük permeasyon, aşırı presistemik metabolizasyon ve gastrointestinal kanaldan absorpsiyonun kısıtlanması oral yolla kullanılan ilaçlar için biyoyararlanımın azalmasına neden olmaktadır. Biyoyararlanımla ilgili problemleri giderebilmek için farklı yaklaşımlar da bulunmaktadır. Genel olarak bu yaklaşımlar farmasötik, farmakokinetik ve biyolojik olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır⁴. Farmasötik ürününün fizikokimyasal özellikleri ve üretim yöntemi değiştirilerek, formülasyonda değişiklikler yapılarak (farmasötik yaklaşım), kimyasal yapı değişiklikleriyle ilacın absorpsiyon, metabolizasyon ve eliminasyonunun düzenlenerek (farmasötik kimya-farmakokinetik yaklaşım) veya ilacın uygulama yolu değiştirilerek (biyolojik yaklaşım) biyoyararlanım değiştirilebilir.

* Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

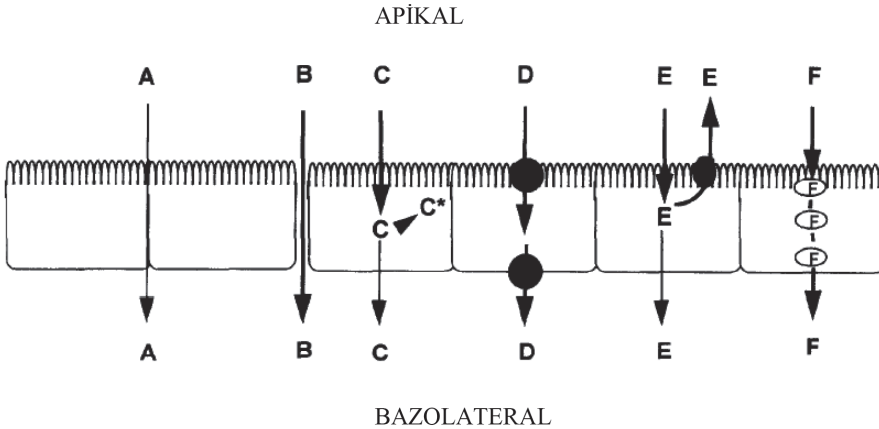
** İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

⁰ Corresponding author: E-mail: sahin.selma@gmail.com

Oral yolla uygulanan ilaçların gastrointestinal kanaldan absorpsiyonlarının kısıtlı olması düşük biyoyararlanım nedenlerinden biridir. İlaçların barsaklardan paraselüler (hücreler arası) yolla taşınımı sırasında sıkı kavşaklar olarak adlandırılan ve hücrelerin apikal yüzeyinde bulunan hücresel uzantılar gastrointestinal absorpsiyonu kısıtlayan bölgeler olarak bilinmektedir. Örneğin, bu sıkı kavşak bağlantılarının yapısal düzenlenmesiyle ilaçların intestinal permeabilitelerinin artacağı gösterilmiştir. İlaç formülasyonlarına eklenen birçok yardımcı madde, intestinal epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde bulunan sıkı kavşak bağlantılarında yapısal değişikliklere yol açarak ilaçların intestinal permeabilitelerini artırmaktadır. Permeasyon artırıcılar olarak da bilinen bu maddeler formülasyona eklenerek ilaçların absorpsiyon ve biyoyararlanımı artırılabilir. Bu derlemede aşağıdaki bölümlerde oral yolla kullanılan ilaçların permeasyonu artırmak amacıyla kullanılan permeasyon artırıcı ajanlar ve bunların etki mekanizmalarından bahsedilmektedir.

İlaçların Membranlardan Geçiş Mekanizmaları

İlaçların barsak epitelinden pasif olarak absorpsiyonu transselüler ve paraselüler yollarla gerçekleşmektedir (Şekil 1). Transselüler absorpsiyon epitel hücre membranından, paraselüler absorpsiyon ise epitel hücreler



Şekil 1

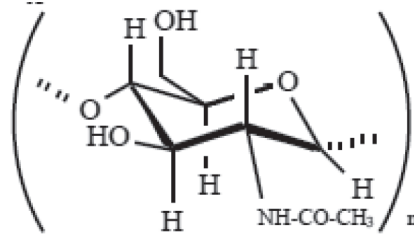
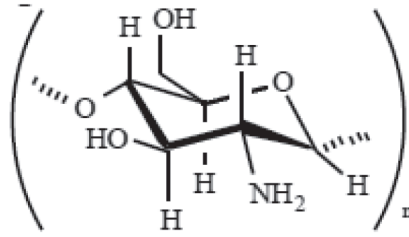
İntestinal absorpsiyon yolları (A) Paraselüler difüzyon, (B) Sıkı kavşakları düzenleyici maddeler tarafından artırılmış paraselüler difüzyon, (C) transselüler pasif difüzyon (C* hücre içi metabolizasyon), (D) taşıyıcı aracılı transselüler taşınma, (E) Apikal yüzeydeki polarize efluks mekanizmasıyla düzenlenmiş transselüler difüzyon, (F) transselüler veziküler taşınma⁹.

arasındaki sıkı kavşaklardan absorpsiyonu ifade eder⁵⁻⁸. Birçok ilacın barsak membranlarından taşınması yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona doğru pasif difüzyonla gerçekleşmektedir. Hem transselüler hem de paraselüler yolla gerçekleşen pasif difüzyon enerji gerektirmez ve her iki bölgede ilaç konsantrasyonu eşitleninceye kadar devam eder. Bazı ilaçların barsak membranlarından taşınması ise konsantrasyona karşı (düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru) gerçekleşir. Sadece transselüler yolla gerçekleşen bu taşınma, aktif, enerji gerektiren ve özel taşıyıcıların bulunduğu bir taşıma yöntemidir. Bu yöntemde taşıyıcılar doygunluğa ulaştığında ilaç absorpsiyon hızı sabit bir değere ulaşır³. Aktif taşınma pasif difüzyona göre daha az karşılaşılan bir transport şeklidir ve ilaçların paraselüler yolla absorpsiyonunda önem taşımaktadır.

Paraselüler yol, komşu hücreler (enterositler) arasındaki alan boyunca uzanan sulu bir ortam olarak da tanımlanmaktadır. Paraselüler yolun sulu bir ortam olması nedeniyle suda çözülmüş besin, iyon gibi küçük maddelerin pasif difüzyon aracılığı ile geçişi kolaylaşmaktadır. Paraselüler permeabilite esas olarak hücrelerin apikal yüzeylerinde yer alan sıkı kavşaklar tarafından düzenlenmektedir. Bu sıkı kavşaklar absorpsiyon için hız sınırlayıcı bariyerler olarak değerlendirilmektedir (Şekil 2). Ancak sıkı kavşakların hareketli yapısı özellikle hidrofilik ilaçların absorpsiyonunun artmasına yardımcı olur^{5,9}. Bu bağlantı kavşakları paraselüler yoldan iyon ve suda çözünen küçük moleküllerin pasif difüzyonunu kontrol eder¹⁰. Paraselüler permeabilitenin artırılması, ilaç absorpsiyonunun artırılmasında bir çözüm olarak düşünülmektedir. Bunun gerçekleştirilmesi için sıkı kavşakların yapısının anlaşılması ve düzenlenmesi gerekmektedir¹¹.

Permeasyon Artırıcı Ajanlar

Permeasyon artırıcı ajanlar intestinal permeabilityyi artırarak oral biyoyararlanımı iyileştiren yardımcı maddelerdir. Yüzey etkin maddeler, yağ asitleri, orta zincirli gliseridler, steroidal deterjanlar, açıl karnitin ve alkanoilkolinler, N-asetil α -amino asitler, kitosan ve diğer mukoadhezif polimerler permeasyon artırıcı ajanlara örnek olarak verilmektedir. Bu maddeler çeşitli müstahzarlarda permeasyon artırıcı olarak kullanılmaktadır (Tablo I). Bu yardımcı maddeler önemli bir intestinal hasara neden olmaksızın, zayıf absorplanan ilaçların oral biyoyararlanımlarını artırmaktadır. Birçok intestinal permeasyon artırıcı ajan *in-vitro* çalışmalarla değerlendirilmiş ve bu ajanların permeasyon artırma mekanizmaları Tablo II'de özetlenmiştir^{11,12}.

**Kitin****Kitosan****Şekil 2**Kitin ve kitosanın kimyasal yapısı⁵

Junginger ve ark. yaptıkları bir çalışmada permeasyon artırıcı ajanları sistemik tedavide görülen yan etkileri azaltarak daha etkin tedavi sağlamak amacıyla biyolojik bariyerlere karşı ilaç absorpsiyonunu artırmak için ihtiyaç duyulan yardımcı maddeler olarak tanımlanmıştır. Bu durum genellikle hidrofilik ilaçlar (özellikle peptid ve protein yapılı) için geçerlidir. Çoğunlukla kronik hastalıkların tedavisinde kullanılan peptid yapılı ilaçlar; yüksek molekül ağırlığı, yüksek su çözünürlüğü ve stabilite sorunu nedeniyle etkin tedavi sağlayamaz. Penetrasyon artırıcılar hidrofilik ilaçların absorpsiyonunu artırarak bu problemlerin çözümünü sağlayabilir. Penetrasyon artırıcılar mukus tabakasına, membran bileşenlerine veya sıkı kavşakları etkileyerek etkilerini gösterirler. Düşük molekül ağırlığına sahip permeasyon artırıcı ajanlar fizikokimyasal özelliklerine

TABLO I

Permeasyon artırıcı ajanların kullanıldığı müstahzarlar (Rx Media Pharma İnteraktif Bilgi Kaynağı)

Permeasyon artırıcı ajan	Müstahzar Adı	Etken Madde	Kullanım Yolu
Sodyum kaprilat	Human Albumin Immuno	İnsan albumini	iv
	Plasbumin	İnsan albumini	iv
Sodyum lauril sülfat	Anjioflux	Sulodeksit	Oral
	Flomax	Talmusolin HCl	Oral
	Flucan	Flukonazol	Oral
	Lipanthyl	Fenofibrat	Oral
	Panto	Pantoprazol sodyum	Oral
	Proleukin	Aldeslökın	iv
Siklodekstrinler	Maxthio	Tiyokolşikozit	Topikal
	Liftactivpro	Kozmetik Ürün	Topikal
Glikolik asit	Age Perceft	Kozmetik Ürün	Topikal
	Konakion	K1 vitamini	Oral, iv
Sodyum deoksikolat	Cernevit	A, B1, B2, B6, B12 C ve D3 vitaminleri	iv, im
	Fungizone	Amfoterisin B	iv
Dokusat sodyum	Benzalin	Benzoil peroksit Klindamisin fosfat	Topikal
	Mesulid	Nimesulid	Oral
	R-X Kolon	Baryum sülfat	Rektal, Oral

bağlı olarak absorbe olabilecekleri için genellikle tercih edilmezler. Polimerik yapıda olan permeasyon artırıcı ajanlar absorbe olmadıkları ve sistemik yan etkileri bulunmadığı için daha çok kullanılmaktadır. Ayrıca polimerik yapıda olan ajanların daha güçlü mukoadhezif özellik gösterdikleri yapılan çalışmalarda bildirilmiştir¹³. Permeasyon artırıcı ajanların herhangi bir farmakolojik aktiviteye sahip olmaması, alerjenik ve toksik olmaması istenir¹⁴. Tablo III'te çeşitli permeasyon artırıcılar sınıflandırılarak ve etki mekanizmaları verilmiştir¹⁵.

TABLO II

İntestinal permeasyon artırıcı ajanların in vitro etkilerinin gösterildiği çalışma örnekleri ¹¹.

Permeasyon artırıcı ajan	Yöntem	Etki	Konsantrasyon	Membrandan Geçiş Mekanizması
Sodyum lauril sülfat	Caco-2	TEER↓, Mannitol ve PEG 4000 Papp↑	<0.58 mM	
Dioktil sodyum sülfosüksinat	Caco-2	TEER↓, Mannitol ve PEG 4000 Papp↑	≤0.48 mM	
Sodyum kaprat	Caco-2	Fluorescein, FITC- dekstran 4000, Rodamin 123 Papp↑	%0.2 (10 mM)	Paraselüler Transselüler
Sodyum kaprat MCG:PC (3:1)	Sıçan ileumu Caco-2	[51Cr]-EDTA Papp↑ TEER↓, Mannitol ve düşük MA heparin Papp↑	1-10 mM ≥4 mM	Paraselüler
Deoksikolat	Caco-2	Fluorescein, FITC- dekstran 4000, Rodamin 123 Papp↑	%0.05 (1.2 mM)	Paraselüler Transselüler
Glikolat Taurodihidrofusidat	Caco-2 Caco-2	Mannitol Papp↑ TEER↓, Fluorescein, FITC-dekstran 4000 Papp↑	10 mM 2.8 mM	Paraselüler
Saponin, DS-1	Caco-2	TEER↓, Mannitol ve Dekapeptid Papp↑	%0.025-0.2	Transselüler
Palmitoil karnitin	Caco-2	TEER↓, Mannitol ve PEG 4000 Papp↑	≥0.4 mM	Paraselüler
Palmitoil karnitin	Rat kolon	TEER↓, Lucifer yellow Papp↑	≤1 mM	Paraselüler

TEER: Transepithelial electrical resistance (Transepitelyal elektriksel direnç)

Papp : Apparent permeability (Görünür permeabilite)

↑ : Artırmaktadır

↓ : Azaltmaktadır

Kitosan ve Türevleri

Deniz kabuklarından elde edilen, biyobozunabilir ve non-toksik doğal bir polimer olan kitinden deasetilasyonla sentezlenen katyonik bir polisakkarit olan kitosan ((poli[β-(1-4)-2-amino-2-deoksi-D-glukopiranoz]; Şekil 2) hidrofilik, biyouyumlu ve biyodegradasyona uğrayabilen bir polimerdir. Kitosanın molekül ağırlığı yüksek olduğu için gastrointestinal

TABLO III

Permeasyon artırıcı ajanların sınıflandırılması ve etki mekanizmaları ¹⁵.

Sınıf	Örnek	Mekanizma	Taşınma yolu	Etki
Yüzey etkin maddeler	Sodyum lauril sülfat Polioksietilen-9-lauril eter	Fosfolipid açıl zincirinin pertürbasyonu (karışıklığı)	Transselüler	TEER değerlerine bakılmıştır
	Safra tuzları: Sodyum deoksikolat Sodyum glikokolat Sodyum taurokolat	Mukus viskozitesinin azalması Peptidaz inhibisyonu	Paraselüler	
Yağ asitleri	Oleik asit Kısa zincirli yağ asitleri	Fosfolipid açıl zincirinin pertürbasyonu (karışıklığı)	Transselüler Paraselüler	Mannitolün permeabilite (Papp) değerlerine bakılmıştır
Siklodekstrinler	α -, β -, γ -siklodekstrin metil β -siklodekstrin	Membran bileşenlerinin inklüzyonu	Transselüler Paraselüler	Mannitolün permeabilite (Papp) ve TEER değerlerine bakılmıştır
Şelat yapıcı ajanlar	EDTA	Ca ²⁺ kompleksi	Transselüler Paraselüler	Referans maddelerin permeabilite (Papp) değerlerine bakılmıştır
	Poliakrilatlar	Sıkı kavşakların açılması	Paraselüler	
Pozitif yüklü polimerler	Kitosan tuzları Trimetil kitosan	Glikokaliksin negatif yüklü grupları ile iyonik etkileşimler	Paraselüler	Mannitolün permeabilite (Papp) ve TEER değerlerine bakılmıştır

TEER: Transepithelial electrical resistance (Transepitelyal elektriksel direnç)

Papp : Apparent permeability (Görünür permeabilite)

kanaldan absorplanmaz ve sistemik bir yan etkisi gözlenmez. FDA onaylı bir polimer olan kitosan⁵ flokülasyon ajanı, afinite kromatografisi kolon matriksi, gaz-seçici membran, antikanser, yara iyileştirici ve antimikrobiyal etkileri nedeni ile sıklıkla kullanılmaktadır^{12,16}. Kitosanın toksisitesi düşük olup, piyasa preparatlarında farklı molekül ağırlığına (kitosanın polimerleri 50.000 Da, oligomerleri 2000 Da) ve farklı deasetilasyon derecesine (% 40-98) sahip formları, farklı tuzları (glutamat, laktat gibi)

mevcuttur¹⁵. Kitosan nötral ve alkali pH'larda çözünmez. Glutamik asit, hidroklorik asit, laktik asit, asetik asit gibi organik ve inorganik asitlerle tuzu oluşturulmaktadır¹⁷. Kitosanın pH 7.0'ın altındaki sulu çözeltilerdeki çözünürlüğü deasetilasyon derecesi, moleküler yapı ve fiziksel durumu (konformasyon, partikül büyüklüğü vs.) ile ilişkilidir¹².

Kitosan lineer poliamin yapısında olup reaktif amino grupları ve reaktif hidroksil grupları taşır. Değişik metal iyonları ile şelat yapmaktadır. Ayrıca biyouyumlu, doğal, non-toksik bir polimer olan kitosan, memeli ve çeşitli mikrobiyal hücrelerle girişim yaparak bağlanır. Bağlandığı dokularda rejeneratif etki sağlar. Ayrıca hemostatik, fungostatik, spermidal, antitümoral etkileri vardır. Santral sinir sistemi depresandır¹⁸. Kitosan güçlü bir mukoadhezif özelliğe sahip olup C-2 pozisyonunda bulunan pozitif yüklü amino grubunun hücre yüzeyi ve sıkı kavşaklarda yer alan negatif yüklü gruplarla etkileşerek paraselüler geçişe olanak sağlar^{19,20}.

Kitosan ve türevlerinin permeasyon artırıcı özellikleri *in-vitro* ve *in-vivo* çalışmalarla gösterilmiştir (Tablo IV). Kitosan hidroklorür ve kitosan glutamat hafif asidik ortamda güçlü permeasyon artırıcı özellik göstermektedir²¹. Caco-2 hücre hattı kullanarak yapılan bir çalışmada kitosan glutamatın C-mannitolün transportunu artırdığı bulunmuştur²². Deasetilasyon derecesi ve molekül ağırlığı kitosanın permeasyon artırıcı özelliğini önemli derecede etkilemektedir. Yüksek deasetilasyon derecesine sahip formların hem düşük hem de yüksek molekül ağırlığına sahip türevleri etkin bir permeasyon artırıcı özellik gösterirken, düşük deasetilasyon derecesine sahip formların sadece yüksek molekül ağırlığına sahip türevleri permeasyon üzerine etkilidir. Ayrıca yüksek deasetilasyon derecesine sahip formlarda toksisite de daha düşüktür²⁰. Yüksek deasetilasyon derecesine ve yüksek molekül ağırlığına sahip formlarda sıkı kavşakların yapısal düzenlemesi ile paraselüler permeabilitede artış daha hızlı bir şekilde başlamaktadır²³.

Kitosanın çözünürlüğünün sınırlı olması ve nötral pH'ya sahip dokularda permeasyon artırıcı etkisinin olmaması nedeniyle kitosan türevleri kullanılmaktadır. Bu amaçla farklı katernizasyon derecelerine sahip N-trimetil kitosan hidroklorür (TMC) sentezlenmiştir. TMC sıkı kavşakların yapısındaki bileşenlere geri dönüşümlü olarak bağlanarak paraselüler yolun genişlemesini sağlar. Bu mekanizma ile paraselüler permeability artırırken hücre membranına zarar vermez ve intestinal epitel hücrelerinin canlılığını değiştirmez. Caco-2 hücreleriyle yapılan bir

TABLO IV
Kitosan ve türevlerinin permeasyon artırıcı etkilerinin incelendiği çalışmalar

Polimer	Madde	Yöntem	Etki	Referans
N-trimetil kitosan	FD-4	- Caco-2 - Ex-vivo rat jejunum	FD-4 için permeasyon katsayısındaki (Papp) artış ve TEER değerindeki azalma değerlendirilmiştir.	[25]
Katerner Amonyum Kitosan Türevleri	FD-4	Caco-2	FD-4 için permeasyon katsayısındaki (Papp) artış ve TEER değerindeki azalma değerlendirilmiştir.	[27]
-Tripsin inhibitörü -EDTA -Kitosan -Aljinat	Löprolid	- Caco-2 - Everted gut sac tekniği (rat ve tavşan barsağı)	Löprolid için permeasyon katsayısındaki (Papp) artış ve TEER değerindeki azalma değerlendirilmiştir.	[26]
-Kitosan	LY	Caco-2	LY için permeasyon katsayısındaki (Papp) artış ve TEER değerindeki azalma değerlendirilmiştir.	[62]
TMC	FTC-BSA	- Caco-2 - Farelerde in vivo çalışma	TMC nanopartikülleri için TEER değerindeki azalma değerlendirilmiştir.	[63]
Kitosan-TBA konjugatu	Rodamin 123	Ussing chamber	Rodamin 123 için permeasyon katsayısındaki (Papp) artış değerlendirilmiştir.	[24]
TMC	Mannitol FD-4	- Caco-2	Mannitol, FD-4 ve buserelin için permeasyon katsayısındaki (Papp) artış değerlendirilmiştir.	[64]
	Buserelin	- Domuzlarda in vivo çalışma	İntravenöz ve intrajejunal uygulamadan sonra serum ve plazma oktreotid konsantrasyonları değerlendirilmiştir.	
MCC	Heparin (MA: 4500 Da)	- Ratlarda in vivo çalışma - Caco-2	Heparinin absorpsiyonu Anti-Xa serum seviyesi ölçülerek belirlenmiştir.	[17]
Kitosan-TBA konjugatu	Kalsitonin	Ratlarda in vivo çalışma	Oral yolla uygulanan tablet ve çözeltilerin plazma Ca+2 seviyesinde oluşturdıkları değişiklikler değerlendirilmiştir.	[65]

Polimer	Madde	Yöntem	Etki	Referans
Kitosan-TBA konjuğatı	İnsülin	Ratlarda in vivo çalışma	Oral yolla uygulanan tablet ve çözeltilerin kan glukoz seviyesinde oluşturdıkları değişiklikler değerlendirilmiştir.	[66]
TMC	Mannitol PEG 4000	Caco-2	TEER değerindeki azalma değerlendirilmiştir.	[67]
TMC	Mannitol	Caco-2	TEER değerindeki azalma değerlendirilmiştir.	[21]

LY: Lucifer Yellow

FD-4: Fluorescein izotiyosiyanat dekstan

FTC-BSA: Fluorescein izotiyosiyanat-Sığır serum albumini

TMC: Trimetil kitosan

MCC: Monokarboksimetil kitosan

TBA: Tiyobütül amidin

EDTA: Etilendiamintetraasetik asit

çalışmada, TMC'nin nötral ve katyonik peptit analoglarının permeabilitesini önemli derecede artırdığı gösterilmiştir. Başka bir kitosan türeviden mono-karboksümetil kitosan (MCC) poliamfolitik yapıda bir polimer olup sulu ortamlarda ve anyonik makromoleküllerle beraber nötral ortamlarda visko-elastik jel formuna dönüşebilmektedir. MCC'nin anyonik bir polisakkarit olan düşük molekül ağırlıklı heparinin intestinal epitel hücrelerinden absorpsiyon ve permeasyonunu artırdığı bulunmuştur¹⁷. Kitosanın tiyol gruplarının immobilizasyonu ile oluşturulan kitosan-4-tiyo-bütülamidin (kitosan-TBA) konjugatı, permeasyon mediyatörü olan glutatyon (GSH) ile kombine edilerek permeasyon artırıcı etkisi incelenmiştir. Ussing chamber kullanılarak Rodamin 123'ün barsak mukozasından permeabilitesinin incelendiği bir çalışmada kitosan-TBA konjugatı/GSH'nın permeasyon artırıcı etkisinin modifiye edilmemiş kitosana oranla 3 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ayrıca kitosan-TBA konjugatının mukoadhezif özelliği pH 3, 5 ve 7'de dönen silindir yöntemi ile incelenmiş ve düşük pH'da konjugatın mukoadhezif özelliğinin daha fazla olduğu bulunmuştur²⁴. Fluoresein izotiyosiyanat dekstran yüklenmiş TMC nanopartiküllerinin Caco-2 hücrelerinin transepitelyal elektriksel direnç (TEER) değerleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, TEER değerlerinin azaldığı, ve TMC'nin katernizasyon derecesi arttıkça mukoadhezif özelliğinin artmasına bağlı olarak nanopartiküllerin intestinal mukozada kalış süresinin uzadığı gösterilmiştir²⁵.

Guo ve ark. löprolid asetatinin intestinal permeabilitesi üzerine EDTA, kitosan, aljinat gibi maddelerin etkisini Caco-2 hücre hattı ve everted gut sac tekniği kullanarak incelemiştir. Kitosan löprolidin permeabilitesinde yaklaşık 5 katlık bir artış sağlayarak ($4.87 \pm 0.36 \times 10^{-7}$ cm/s ve $2.53 \pm 0.17 \times 10^{-6}$ cm/s) absorpsiyonunu artırdığı bulunmuştur. Löprolidin permeabilitesindeki bu artış membrana bağlı glikoproteinlerin negatif yüklü siyalik grupları ve kitosanın pozitif yüklü amino gruplarının etkileşmesi sonucu komşu hücreler arasındaki sıkı kavşak bağlantılarının açılmasına bağlı olarak gerçekleşmiştir²⁶.

Kitosanın içerdiği hidrofobik fonksiyonel grup tipi, N-sübstitüsyon oranı ve katernizasyon derecesi TEER değeri ve Caco-2 hücre hattında permeabilite üzerine etki etmektedir. Paraselüler yolla taşınan fluoresein izotiyosiyanat dekstran 4.400 (FD-4)'in model madde olarak kullanıldığı bir çalışmada, suda çözünen katerner amonyum kitosan türevlerinin Caco-2 hücre hattında permeabilite üzerine etkisi incelenmiştir. Yüksek

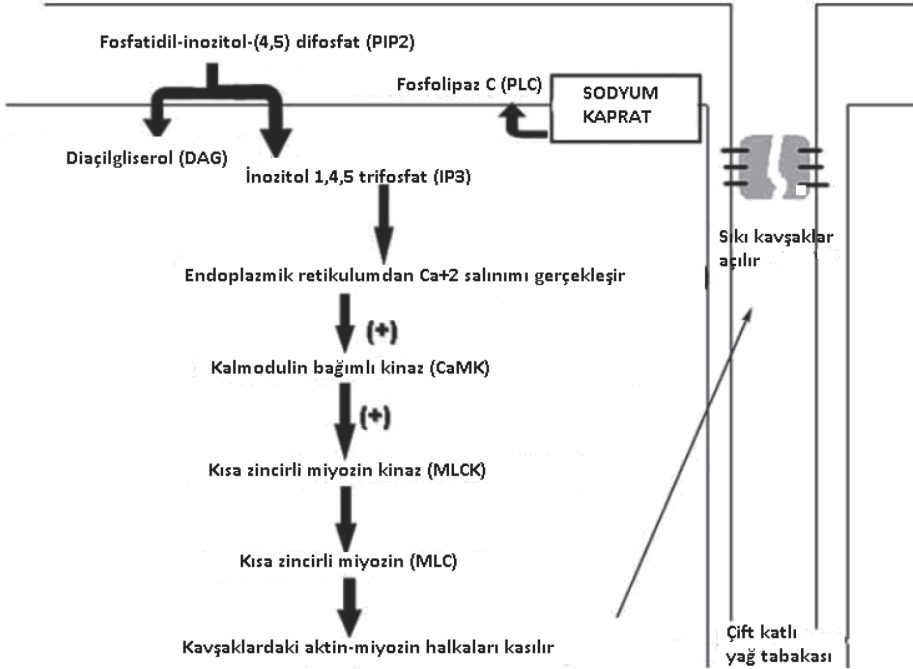
katernizasyon derecesi ve N-sübstitüsyon oranı, FD-4 permeabilitesinin artmasına yol açmaktadır. Optimum katernizasyon derecesinin % 60-73 arasında olduğu bulunmuştur. Kitosan hidrofobik fonksiyonel gruplarla [alifatik aldehit (n-oktil) veya aromatik aldehit (benzil)] sübstitüe edildiğinde FD-4 permeabilitesinin azaldığı tespit edilmiştir²⁷.

Orta Zincirli Yağ Asitleri

Orta zincirli yağ asitleri (trigliseritler) gliserolün 6-12 karbonlu yağ asidi esterleridir. Diğer trigliseritler gibi bir gliserol ve üç yağ asidi omurgasına sahiptirler. Farklı karbon sayılarına göre isimlendirilmektedirler (C₆: kaproik asit, C₈: kaprilik asit, C₁₀: kaprik asit, C₁₂: laurik asit gibi). Orta zincirli yağ asitleri insan vücudu için inert ve biyolojik enerji kaynağıdır. Erime noktaları uzun zincirli yağ asitlerine nazaran daha düşük olup, küçük molekül ağırlığına sahip oldukları için suda nispeten çözümlenirler. Lipit metabolizmasındaki absorpsiyon bozukluklarına karşı ve hiperlipidemi durumlarında klinik kullanımları da vardır²⁸.

Orta zincirli yağ asitlerinden [kaprilat (C₈), kaprat (C₁₀), laurat (C₁₂)] sodyum tuzları hidrofilik ilaçların paraselüler permeabilitesini artırdığı için permeasyon artırıcı ajan olarak kullanılmaktadır. Sodyum kaprilat, kaprat, laurat ve kaproatın permeabilite artırıcı etkilerinin karşılaştırılması olarak incelendiği bir çalışmada sodyum kaprilat, kaprat ve lauratın Caco-2 hücre hattından mannitolün geçişini doza bağlı olarak artırdıkları gözlenmiştir. Bu çalışmada sodyum kaproat etkisiz bulunurken, en etkili bileşiğin sodyum laurat olduğu belirtilmiştir²⁹. Sodyum kaprat hidrofilik yapıdaki ilaçların paraselüler yolla, hidrofobik yapıdaki ilaçların hem paraselüler hem de transselüler yolla transportunu artırmaktadır³⁰. Sodyum kaprat sıkı kavşakları açarak paraselüler yolla ilaç taşınmasını sağlar. Barsak mukozasında ise Ca⁺² iyonlarını geçici olarak elimine ederek hücreler arası boşlukları daha girilebilir hale getirir³¹. Caco-2 hücreleriyle yapılan çalışmalarda mannitol, fenol kırmızısı veya sodyum fluoresein gibi referans maddelerin paraselüler permeabilitesinin sodyum kapratla önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir³². Ayrıca sodyum kaprat peptit yapılı ilaçların Caco-2 hücrelerinden permeabilitesini artırmaktadır^{32,33}. Absorpsiyonu düşük bir antibiyotik olan sefmetazolun jejunumdan absorpsiyonunun % 0.25 konsantrasyonda sodyum kaprat kullanılarak artırıldığı da bildirilmiştir³⁴. Sodyum kapratın permeabilite artırıcı etkisi doza bağımlı olarak gerçekleşmektedir.

Sodyum kapratın etki mekanizmasını açıklamak amacıyla farklı mekanizmalar öne sürülmüştür. Plazma membranında bulunan fosfolipaz C'nin sodyum kaprat tarafından aktivasyonu sonucu intraselüler kalsiyum seviyesinin artmasıyla paraselüler permeabilitenin düzenlenmesinin mümkün olduğu ve kalsiyum seviyesindeki bu artışın kalmoduline bağımlı aktin mikrofilyamentlerinin daralmasını indükleyerek paraselüler permeabiliteyi artırdığı belirtilmiştir. (Şekil 3)^{29,35-37}. Başka bir çalışmada ise sodyum kapratın sıkı kavşak porlarında dilatasyon yaparak değil, bu porların sayısında artış sağlayarak etki gösterdiği ileri sürülmüştür³⁸. Sodyum kapratın etki mekanizmasıyla ilgili olarak öne sürülen başka mekanizmaya göre sodyum kaprat intraselüler ATP miktarını azaltarak maddelerin hücre içine alınabilmesi için gerekli potansiyel enerji yükünü artırır ve buna bağlı olarak paraselüler permeabiliteyi artırır. Sodyum kapratın farklı moleküllerin permeasyonunu artırıcı etkisi mitokondriyal dehidrojenaz aktivitesinin azalmasıyla ilişkilidir³⁹.



Şekil 3
Sodyum kapratın etki mekanizması⁵

Caco-2 hücreleri kullanılarak yapılan bir çalışmada sodyum kapratın sıkı kavşaklarda yapısal değişikliklere yol açarak etkisini gösterdiği bulunmuştur. Sodyum kapratın etkisinin doza ve uygulama süresine bağlı olarak değişip değişmediği incelemek amacıyla model ilaç olarak mannitol kullanılmıştır. Çalışmadan elde edilen bulgular 10-24 mM doz aralığında sodyum kapratın etkisinin doza bağımlı olduğunu göstermiştir. Diğer taraftan 10 mM konsantrasyonda zamana bağlı olarak etkide önemli bir değişiklik gözlenmezken 13 mM ve daha yüksek konsantrasyonlarda sodyum kapratın sıkı kavşaklar üzerine etkisinin zamana bağlı olarak değiştiği bulunmuştur. Caco-2 hücreleri sodyum kapratla muamele edildikten sonraki ilk 20 dk içinde mannitolün permeabilite değeri ($P_{app} = 9.22 \pm 5.55 \times 10^{-7}$ cm/dk) kontrol grubuna göre ($P_{app} = 2.36 \pm 0.54 \times 10^{-7}$ cm/dk) daha yüksek bulunmuştur. Bir sonraki 20 dk içinde de sodyum kaprat grubundaki mannitolün permeabilite değerleri ($P_{app} = 3.82 \pm 1.37 \times 10^{-6}$ cm/dk) kontrol grubundan ($P_{app} = 2.62 \pm 0.20 \times 10^{-7}$ cm/dk) oldukça yüksek bulunmuştur⁴⁰. Başka bir çalışmada ise farklı permeasyon artırıcı ajanlar ve farklı lipofilisiteye sahip etken maddeler kullanılarak permeasyon artırıcı etkileri değerlendirilmiştir. Bu amaçla absorpsiyon artırıcı ajan olarak yağ asitleri (sodyum kaprat, sodyum kaprilat), siklodekstrinler (β -siklodekstrin, hidroksipropil β -siklodekstrin) ve safra tuzları (sodyum deoksikolat, sodyum kolat), farklı lipofiliteye sahip etken maddeler olarak hidrofilik ilaçlar (sefoksim sodyum, seftazidim pentahidrat) ve lipofilik ilaçlar (lovastatin, siklosporin A) kullanılmıştır. In vitro everted sıçan intestinal sac tekniği ile yapılan çalışmalar sonucunda sodyum kaprat ve kaprilatın lovastatinin permeasyonunu sırasıyla 10 ve 8 kat artırdığı bildirilmiştir. Ayrıca yağ asitlerinin permeasyon artırıcı etkilerini hem sıkı kavşakların açılmasını sağlayarak hem de çift katlı membran tabakasını bozarak etki gösterdikleri belirtilmiştir⁴¹. Sodyum kapratın oral biyoyararlanım üzerine etkisi incelemek amacıyla yapılan çalışmalar Tablo V'de özetlenmiştir⁵. Sasaki ve ark.'nın sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada glisirizin ve sodyum kapratın oral yolla uygulamasından sonra ilk dört saat içerisinde plazma konsantrasyon-zaman eğrisi altında kalan alan değerleri tayin edilerek etkinin doza bağımlı olup olmadığı incelenmiştir. Ayrıca birden fazla orta zincirli yağ asidinin *in-vivo* etkileri de değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar etki gücünün sodyum kaprat > laurat > kaprilat sırasına göre azaldığını göstermiştir⁴². Sodyum kapratın toksisitesini incelemek amacıyla yapılan çalışmalarda farklı dozlarda [intrajejunal-intrakolonik: %0.5-1, intraileal: 0.05, 0.2, 0.5 mmol/kg (1

TABLO V

Sodyum kapratın in vivo etkilerinin araştırıldığı çalışmalar⁵.

Etken madde	Deneş hayvanı	Uygulama yolu (Dozaj formu)	Doz	Etki
Fosfomisin	Sıçan	İntrajejunal-İntrakolonik (Çözelti)	% 0.5-1 (a/h)	Plazma ilaç seviyesi artmıştır. Özellikle kolonda konsantrasyon bağı etki gözlenmiştir.
Asiklovir	Sıçan	Rektal (Supozituar)	% 1, 2, 4 ve 6	% 4 oranında kullanıldığında net oral biyoyararlanım (F %) %119 artmıştır.
DMP ^{728(a)}	Sıçan-köpek	Oral (Sert kapsül-Mikrokapsül)	Formülasyon tozunun % 40.2'si	AUC, C _{maks} ve F(%) ratlarda 2 kat, köpeklerde %60 artmıştır.
Ampisilin	İnsan	Rektal (Supozituar)	25 mg/supozituar	İdrar verilerinden hesaplanan biyoyararlanım (BA) 1-8 kat artmıştır. C _{maks} 2-3 kat, AUC 2-6 kat artmıştır
D-dekapeptid	Sıçan	İntraileal (Çözelti)	0.05, 0.2, 0.5 mmol/kg (1 ml/kg)	Doza bağı olarak F(%) 5 kata kadar artmıştır.
Fenoksimetil penisilin ve Antipirin	İnsan	Rektal perfüzyon (Çözelti)	3.5 mg/ml 50-100 mM	Plazma ilaç seviyesinde hafif bir artış olmuştur. İlaçların efektif rektal permeabilitesinde (P _{ef}) herhangi bir etki gözlenmemiştir.
ISIS 2503-ISIS 10 4838 ^(b)	Domuz	İntrajejunal (Çözelti)	25, 50, 100 mg/kg (0.5 ml/kg)	AUC, C _{maks} ve F(%) artmıştır. Bu etki dozdan bağımsızdır.
Norfloksasin	Tavşan	Oral (Sert kapsül)	Her kapsülde 10 veya 50 mg/kg	t _{maks} azalmış, C _{maks} artmıştır. AUC ₀₋₂₄ değışmemiştir. Etki dozdan bağımsızdır.
Glisirizin	Sıçan	Per oral (Çözelti)	% 0.2, 0.5, 1 ve 2 (a/h) (5 ml/kg)	F(%) 60 artmıştır.
Akamprosot	Sıçan	Oral (Çözelti)	13, 16 ve 50 mM	İdrar verilerinden hesaplanan biyoyararlanımda (BA) değışim gözlenmemiştir.

ml/kg), intrajejunal: 25, 50 ve 100 mg/kg (0.5 ml/kg)] çözelti uygulaması yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar çalışılan dozlarda intestinal mukozada herhangi bir hasara yol açmadığını göstermiştir⁴³.

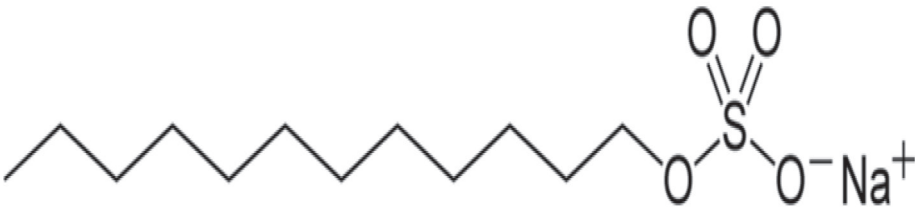
Yüzey Etkin Maddeler

Yüzey etkin maddeler iki sıvı veya bir sıvı bir katı arasındaki yüzeyler arası gerilimi azaltarak deterjan, ıslatıcı ajan, emülgatör, köpürtücü ajan veya dispersiyon ajanı olarak kullanılmaktadırlar. Katyonik (ör. setiltrimetil amonyum bromür), anyonik (ör. sodyum lauril sülfat) ve nötral yüzey etkin maddeler (ör. dodesil betain) olarak sınıflandırılırlar¹⁴. Çeşitli yüzey etkin maddeler intestinal permeasyon artırıcı olarak araştırılmıştır. Örneğin noniyonik yüzey etkin maddeler için hem alkil zinciri hem polar grubun yapısı ve büyüklüğü absorpsiyon artırıcı etkilerini değiştirmektedir. Genel olarak membran bileşenlerini çözerek hücre membranına etki etmektedirler¹¹. Yüzey etkin maddeler farklı mukozal yüzeylerde ve deride de permeasyon artırıcı etki göstermektedirler. Franz difüzyon hücrelerine yerleştirmiş sıçan derileri kullanılarak piroksikamın deriden penetrasyonunun non-iyonik yüzey etkin maddeler varlığında incelendiği bir çalışmada permeasyon oranları ve permeasyon artırma faktörleri değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda permeasyon artırma faktörü 1 iken, polioksietilen-23-lauril eter için 2.18, polioksietilen-2-oleil eter için 2.84, polioksietilen-2-stearil eter için 2.62 olarak bulunmuştur. Bu çalışmayla piroksikam jel formülasyonlarında belirli yüzey etkin maddeler kullanıldığında deriden penetrasyonun artırılacağı gösterilmiştir⁴⁴.

Safra tuzları memelilerde safra salgısında bulunan steroid yapılı asitlerin (kolik asit, kenodeoksikolik asit, glikokolik asit, taurokolik asit, deoksikolik asit ve litokolik asit) tuzları olup sürfaktan olarak da kullanılmaktadır. Bu amaçla genellikle sodyum tuzları kullanılır. Oktreotidin Caco-2 hücrelerinden permeasyonu üzerine farklı safra tuzlarının (urso-deoksikolat ve kenodeoksikolat) etkisinin incelendiği bir çalışmada etkin maddenin permeabilite değeri 0.008 ± 0.004 cm/sa iken, inkübasyon ortamına % 0.2-1 konsantrasyonda kenodeoksikolat eklenmesiyle bu değer 0.015-0.037 cm/sa'e yükselmiştir. Ayrıca oktreotidin absorpsiyonunu incelemek amacıyla sağlıklı gönüllülerde farmakokinetik bir çalışma yapılmış, her iki safra tuzunun biyoyararlanımı önemli oranda arttığı gösterilmiştir⁴⁵. Başka bir çalışmada ise safra tuzları ile safra tuzu:yağ asidi karışımının permeasyon artırıcı etkileri kıyaslanmıştır. Sodyum kolat ve

sodyum taurokolat tek başlarına uygulandıklarında Caco-2 hücrelerinden mannitol, PEG 900, PEG 4000 gibi hidrofilik referans maddelerin permeasyonunu artırmıştır. Sodyum kolatın permeasyon artırıcı etkisinin sodyum taurokolata göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ancak sodyum kolatın membran yapısında bozulma ve toksisiteye neden olduğu bulunmuştur. Diğer taraftan sodyum kolat ve taurokolatın linoleik asit ile karışımlarından en iyi permeasyon artırıcı etkinin sodyum taurokolat:linoleik asit karışımıyla elde edildiği bildirilmiştir⁴⁶.

Anyonik bir sürfaktan olan sodyum lauril (dodesil) sülfat da permeasyon artırıcı ajan olarak birçok çalışmada kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda (%2, %3, %4) sodyum lauril sülfat (SLS; Şekil 4) kullanılarak hazırlanan mukoadhezif asiklovir tabletlerinin permeabilitesinin piyasada bulunan asiklovir tabletleri ile kıyaslandığı bir çalışmada, piyasadaki tabletlerin permeabilite değerlerinin mukoadhezif tabletlerden daha düşük olduğu bulunmuştur. Ayrıca sodyum lauril sülfat konsantrasyonunu arttıkça permeabilitenin de arttığı ve en yüksek permeasyon artırıcı etkinin %4 sodyum lauril sülfat içeren mukoadhezif tablette gözlemlendiği bildirilmiştir⁴⁷. Anderberg ve ark. tarafından anyonik (sodyum lauril sülfat, sodyum dioktil sülfosüksinat), noniyonik (polisorbat 80, polioksil 40), sentetik yüzey etkin maddeler ve safra asitlerinin (sodyum taurokolat, sodyum taurodeoksikolat, sodyum taurodihidrofusidat) Caco-2 hücrelerinin permeabilite, enzim aktivitesi ve hücre morfolojisi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Permeabilite üzerine etki referans moleküllerin (mannitol ve polietilen glikol) transportu ve TEER değerleri ölçülerek belirlenmiştir. Elde edilen bulgular çalışmada kullanılan yüzey etkin maddelerin permeabilite artırıcı etkisinin konsantrasyona bağımlı olduğunu ve anyonik yüzey etkin maddelerin permeabilite artırıcı etkisinin noniyonik yüzey etkin maddelere kıyasla çok daha fazla olduğunu göstermiştir⁴⁰.



Şekil 4

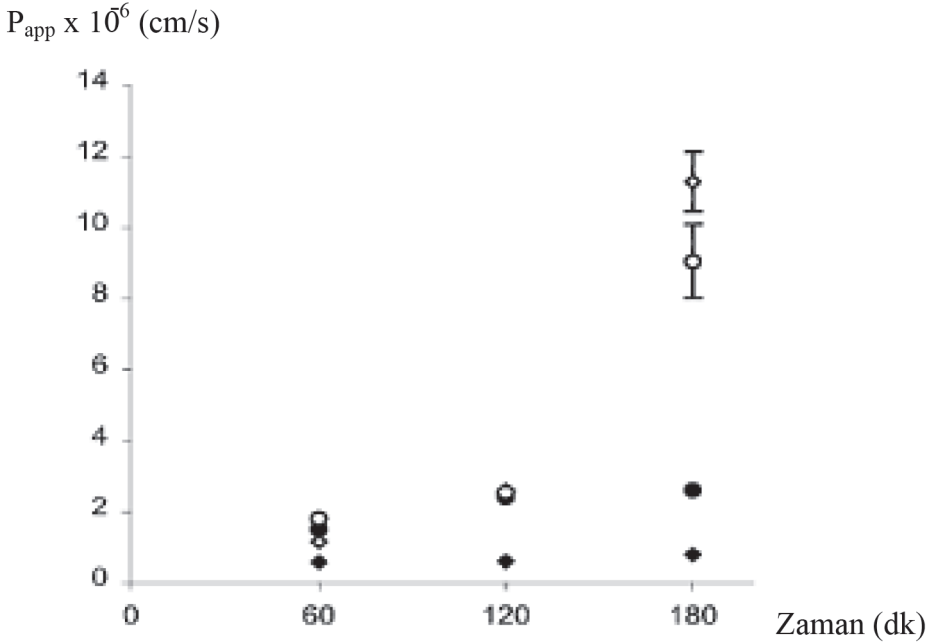
Sodyum lauril sülfatın kimyasal yapısı

Farklı ekspiyanların (laktoz, sodyum lauril sülfat, Tween 80, hidrosipropil metil selüloz, dokusat sodyum, EDTA, propilen glikol, PEG 400, susuz çilek aroması) ve permeabilitesi düşük ilaçların (asiklovir, atenolol, simetidin, furosemid, hidroklorotiyazid, ranitidin hidroklorür, mannitol) kullanıldığı bir çalışmada, Caco-2 hücre hattında en fazla permeabilite artırıcı etki gösteren ekspiyanın SLS olduğu bulunmuştur. Bu çalışmalarda SLS 0.139 mM dozda kullanılmış ve atenolol hariç diğer ilaçlarda permeabilite artırıcı etki göstermiştir. Caco-2 hücreleriyle yapılan çalışmalarda sadece apikal kompartmana SLS eklendikten sonra ranitidin hidroklorür, asiklovir ve hidroklorotiyazidin permeabilite değerleri sırasıyla 1.53, 1.27 ve 1.42 kat artmıştır. Hem apikal hem basolateral kompartmana SLS eklendiğinde ise bir saat içerisinde simetidin permeabilitesi 1.43 kat artarken, furosemidin permeabilitesinde önemli bir değişme gözlenmemiştir. Ancak 2. ve 3. saat içerisinde zamana bağlı olarak furosemid ve simetidin permeabilitesi artmıştır. Her iki kompartmana da SLS eklendiğinde sıkı kavşakların yapısında ciddi bozulmalara neden olarak permeabiliteyi artırdığı belirtilmiştir (Şekil 5,6)⁴⁸.

Caco-2 ve MDCK hücre hatlarından asiklovirin transepitel permeasyonu üzerine absorpsiyon artırıcıların (dimetil β -siklodekstrin, kitosan hidroklorür, sodyum lauril sülfat ve bunların kombinasyonları) etkisi incelenmiş, bu hücrelerde sıkı kavşakların ve paraselüler bütünlüğün değerlendirilmesinde referans madde olarak mannitolün permeabilite değeri ve TEER değeri esas alınmıştır. Asiklovirin permeabilitesi absorpsiyon artırıcıların varlığında daha yüksek bulunmuştur. Absorpsiyon artırıcıların kombine halde kullanıldığı gruplarda sinerjistik etki ile asiklovirin permeabilitesi daha da artmıştır (Tablo VI). Caco-2 hücrelerinde % 0.015 konsantrasyonda sodyum lauril sülfat kullanıldığında mannitolün permeabilite değeri kontrol grubuna kıyasla 6 kat artarken, MDCK hücrelerinde 8 kat artmıştır⁴⁹.

Siklodekstrinler

Siklodekstrinler halkalı yapıdaki oligosakkaritler olup, (α -1,4 bağlı) α -D-glukopiranoz ünitelerinden oluşmuş, kesik koni şeklinde esnek olmayan (rijit) moleküllerdir. Nişastadan enzimatik yolla üretilmektedirler. Yapılarında hidrofilik dış yüzey ve merkezde hidrofobik özellikte bir boşluk bulunmaktadır. Bu boşluk, ilaç moleküllerin bağlanması için uygun bir bağlanma bölgesidir.

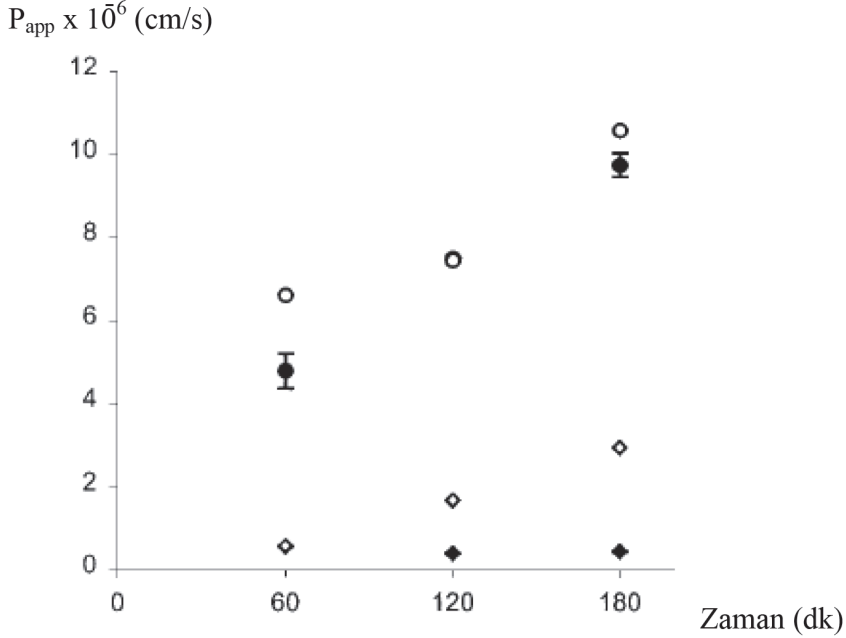


Şekil 5

Simetidin'in görünür permeabilitesi (P_{app}) üzerine SLS'nin etkisi⁴⁸. SLS hem apikal hem basolateral kompartmana eklenmiştir.

- / ♦ : SLS olmadan ölçülen P_{app} değerleri
- o / ◇ : 0.04 mg/mL konsantrasyonda SLS kullanıldığında ölçülen P_{app} değerleri
- ♦ / ◇ : Apikalden basolaterale ölçülen P_{app} değerleri
- / o : Basolateralden apikale ölçülen P_{app} değerleri

Siklodekstrinler ilaç formülasyonlarına absorpsiyon artırıcı olarak eklenmektedir. En iyi bilinen ve doğal olarak oluşturulan türevleri α , β , γ – siklodekstrinler olup, α -siklodekstrin halkalı yapı içerisinde 6 glikoz monomeri, β -siklodekstrin 7 glikoz monomeri ve γ -siklodekstrin 8 glikoz monomeri taşımaktadır (Şekil 7)⁵⁰. Diğer siklodekstrin türevleri (hidroksipropil β -siklodekstrin, sülfobütileter β -siklodekstrin gibi) suda çözünürlüğün artırılması veya parenteral uygulamadaki stabilite sorunları nedeniyle kimyasal modifikasyonla üretilmektedir⁵¹. Suda çözünürlüğü çok az olan siklodekstrin türevlerine serbest –OH (hidroksil) grupları üzerinden metil, etil, propil gibi alkil zincirlerinin bağlanmasıyla suda çözünürlük önemli derecede artar. Örneğin β -siklodekstrinin sudaki çözünürlüğü %1.85 (a/h) iken, (2-hidroksipropil)- β -siklodekstrinin sudaki çözünürlüğü %60 (a/h)'dir. Siklodekstrinler üzerinde yapılan kimyasal modifikasyonlarla ilaç



Şekil 6

Furosemidin görünür permeabilitesi (Papp) üzerine SLS'nin etkisi⁴⁸. SLS hem apikal hem basolateral kompartmana eklenmiştir.

- / ♦ : SLS olmadan ölçülen Papp değerleri
- ◊ / ◇ : 0.04 mg/mL konsantrasyonda SLS kullanıldığında ölçülen Papp değerleri
- ♦ / ◇ : Apikalden basolaterale ölçülen Papp değerleri
- / o : Basolateralden apikale ölçülen Papp değerleri

molekülleriyle etkileşim ve kompleks oluşturma eğilimleri artırılmıştır. α -, β -, γ -siklodekstrinlerin bazı fizikokimyasal özellikleri Tablo VII'de verilmiştir⁵².

Farmasötik formülasyonlarda β -siklodekstrin, özellikle hidrok-sipropil β -siklodekstrin (HP- β -CD), sülfobütileter β -siklodekstrin (SBE- β -CD) oral ilaç absorpsiyonunu artırmak için kullanılmaktadır. β -siklodekstrinlerin absorpsiyon artırıcı etkisi iki mekanizma ile ilişkilendirilmiştir. Bu mekanizmalardan birincisinde β -siklodekstrinler intestinal membran yüzeyinde ilaçların permeabilitesini artırarak direkt etki göstermektedirler⁵³. Diğer mekanizmada ise β -siklodekstrinler ilaç taşıyıcı olarak görev yaparak ilaçların çözünürlüğünü artırır ve gastrointestinal sıvıda ilacın bozunmasını engellerler⁵⁴. Başka çalışmalarda ise metillenmiş β -siklodekstrinlerin membran kolesterolünün ekstraksiyonu ile hidrofilik ilaçların mukozal permeabilitesini geçici olarak değiştirdiği ve sıkı kavşakları açtığı belirtilmiştir^{55, 56}.

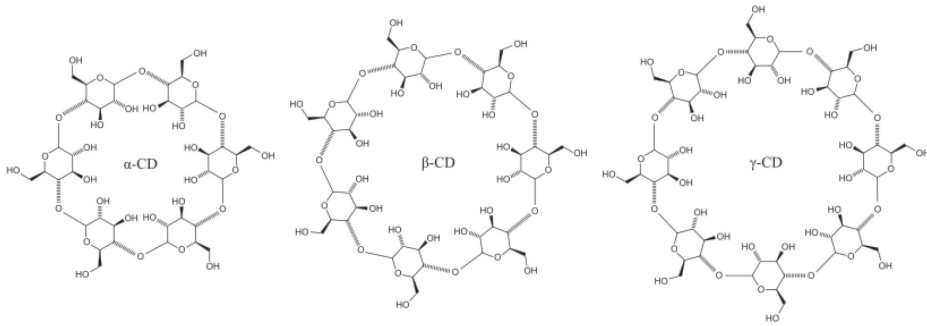
TABLO VI

Caco-2 ve MDCK hücre hatlarından asiklovirin permeabilitesi (P_{app}) sodyum lauril sülfatın etkisi⁴⁹

SLS konsantrasyonu	P_{app} - Caco-2 ($\times 10^{-6}$ cm/dk)	P_{app} -MDCK ($\times 10^{-6}$ cm/dk)
Kontrol	0.352 \pm 0.07	0.523 \pm 0.011
%0.009 SLS (a/h)	0.771 \pm 0.114	1.744 \pm 0.159
%0.012 SLS (a/h)	1.47 \pm 0.213	2.96 \pm 0.156
%0.015 SLS (a/h)	1.986 \pm 0.083	3.957 \pm 0.206

SLS : Sodyum lauril sülfat

Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. (n = 3)



Şekil 7

α -, β -, γ -siklodekstrinlerin (CD) kimyasal yapısı⁵⁰

TABLO VII

Siklodekstrinlerin fizikokimyasal özellikleri⁵²

	α -siklodekstrin	β -siklodekstrin	γ -siklodekstrin
Glikopiranoz ünite sayısı	6	7	8
Molekül Ağırlığı (g/mol)	972	1135	1297
Merkezi Boşluk Çapı (Å)	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3
25 °C'de suda çözünürlük (g/100 μ l)	14.5	1.85	23.2

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada asiklovirin nazal mukozadan absorpsiyonu üzerine siklodekstrinlerin (α , β , γ , metil- β , hidroksipropil- β -siklodekstrin) etkisi nasal perfüzyon tekniği kullanılarak incelenmiştir. Asiklovirin nazal absorpsiyonu pH bağımlı olarak gerçekleşmektedir. Absorpsiyonun pH 7.4'te maksimum olduğu, daha düşük veya daha yüksek pH değerlerinde absorpsiyonun azaldığı gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan siklodekstrinler absorpsiyon artırıcı etkilerine göre hidroksipropil- β -siklodekstrin (%38) > metil- β -siklodekstrin (%30) > α -siklodekstrin (%24) > γ -siklodekstrin (%20) > β -siklodekstrin (%15) olarak sıralanmıştır⁵⁷. Asiklovirin permeasyonunun absorpsiyon artırıcıları varlığında *in vitro* olarak değerlendirildiği başka bir çalışmada ise dimetil β -siklodekstrin, kitosan hidroklorür, sodyum lauril sülfat ve bunların kombinasyonları kullanılmıştır. Etkinin değerlendirilmesi için mannitölün permeabilite (P_{app}) ve transepitel elektriksel direnç (TEER) değerleri kullanılmıştır. Çalışma, %1, 3, 5 (a/h) oranlarında dimetil β -siklodekstrin kullanılarak Caco-2 ve MDCK (Madin-Darby canine kidney) hücre hatlarında yapılmıştır. Her iki hücre hattında da absorpsiyon artırıcıları varlığında mannitölün permeasyon katsayısı artmıştır. Bu artış doza bağımlı olarak gerçekleşmektedir. Caco-2 hücrelerinde %5 (a/h) oranında dimetil β -siklodekstrin kullanıldığında mannitölün permeabilitesi 11 kat artarken, MDCK hücrelerinde 14 kat artmıştır (Tablo VIII). Caco-2 hücrelerinde %5 (a/h) oranında dimetil β -siklodekstrin kullanıldığında TEER değeri 2 saatte başlangıç değerinin %42'sine ulaşırken, MDCK hücrelerinde başlangıç değerinin %39'una ulaşmıştır (Tablo IX). Bununla birlikte %5(a/h) oranında dimetil β -siklodekstrin kullanıldığı durumda asiklovirin permeabilitesi Caco-2 hücre hattında 11 kat, MDCK hücre hattında 15 kat artmıştır⁴⁹.

Şelat Yapıcı Ajanlar

Şelasyon ligand ve organik bir molekül arasında iki veya daha fazla bağ ile gerçekleşen bir olaydır. Bu ligand ve organik moleküller şelat yapıcı ajanlar olarak isimlendirilmektedir. Şelat yapıcı ajanlar intestinal permeasyonu ve özellikle paraselüler permeabiliteyi artırmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu ajanlar barsaklardaki epitel hücreler arasında bulunan Ca^{+2} ve Mg^{+2} iyonları ile şelat yaparak sıkı kavşakların açılmasına yol açar. Özellikle ekstraselüler Ca^{+2} seviyesi sıkı kavşakların yapısal düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Ca^{+2} iyonlarının taşınması, sıkı kavşak proteinlerinin dağılmasına ve sıkı kavşak permeabilitesinin artmasına yol açmaktadır⁵⁸. Ca^{+2} şelatörleri olan etilendiamin tetraasetik

TABLO VIII

Caco-2 ve MDCK hücre hatlarından mannitolün permeabilitesi (P_{app}) üzerine dimetil β -siklodekstrinin etkisi⁴⁹

Konsantrasyon	P_{app} - Caco-2 ($\times 10^{-6}$ cm/dk)	P_{app} - MDCK ($\times 10^{-6}$ cm/dk)
Kontrol	0.286 \pm 0.056	0.507 \pm 0.049
%1 DM β CD (a/h)	2.057 \pm 0.066	5.669 \pm 0.229
%3 DM β CD (a/h)	2.399 \pm 0.038	6.891 \pm 0.155
%5 DM β CD (a/h)	3.103 \pm 0.126	7.317 \pm 1.089

DM β CD : Dimetil β -siklodekstrin

Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. (n = 3)

Verilen değerler 2 saat sonunda ölçülmüştür.

TABLO IX

Caco-2 ve MDCK hücre hatlarındaki TEER değerleri üzerine Dimetil β -siklodekstrinin etkisi⁴⁹

	Caco-2-TEER ($\Omega \cdot \text{cm}^2$)		
	0.5 saat	1 saat	2 saat
Kontrol	98.97 \pm 2.11	98.21 \pm 1.73	97.31 \pm 1.86
%1 DM β CD (a/h)	62.51 \pm 1.17	58.32 \pm 2.33	54.45 \pm 3.07
%3 DM β CD (a/h)	58.93 \pm 2.04	55.36 \pm 1.15	46.74 \pm 3.02
%5 DM β CD (a/h)	59.07 \pm 2.07	47.30 \pm 1.86	42.33 \pm 2.10
	MDCK-TEER ($\Omega \cdot \text{cm}^2$)		
	0.5 saat	1 saat	2 saat
Kontrol	98.72 \pm 1.96	97.91 \pm 2.17	96.83 \pm 1.42
%1 DM β CD (a/h)	61.63 \pm 1.51	51.66 \pm 1.39	45.92 \pm 1.64
%3 DM β CD (a/h)	60.12 \pm 3.11	48.16 \pm 2.43	42.33 \pm 3.02
%5 DM β CD (a/h)	56.68 \pm 1.59	43.92 \pm 2.75	38.58 \pm 1.36

DM β CD : Dimetil β -siklodekstrin

Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. (n = 6)

asit (EDTA) ve etilen glükol tetraasetik asit (EGTA) ekstraselüler Ca^{+2} seviyesini azaltarak etki etmektedir⁵⁹. Bazı çalışmalarda poliakrilatlar, sitrik asit ve salisilatlar da bu ajanların içerisinde gösterilmiştir^{15, 58}.

Çeşitli besinsel ve sentetik şelat yapıcı ajanların kurşunun intestinal absorpsiyonu üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada askorbat, sitrat, nitriloasetik asit (NTA), EDTA, dietilentriamin pentaasetik asit (DTPA) kullanılmıştır. Everted sac tekniği kullanılarak yapılan bir çalışmada sitrat, EDTA ve DTPA kullanıldığında serozal kompartmana taşınan kurşun miktarında artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur⁶⁰. Düşük permeabiliteye sahip farklı etken maddelerin (atenolol, ranitidin hidroklorür, asiklovir, furosemid, simetidin, hidroklorotiyazid) Caco-2 hücrelerinden permeabiliteleri üzerine dokuz farklı eksipiyanın etkisinin araştırıldığı bir çalışmada şelat yapıcı ajanlardan EDTA kullanılmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlar atenolol'ün permeabilitesinin kontrol grubunda $0.592 \pm 0.041 \times 10^{-6}$ (cm/s) iken EDTA kullanıldığında bu değer $0.692 \pm 0.121 \times 10^{-6}$ (cm/s) olarak bulunmuştur. Furosemid için apikalden basolaterale doğru olan permeabilite değeri kontrol grubunda $0.466 \pm 0.029 \times 10^{-6}$ (cm/s) iken, EDTA varlığında $0.596 \pm 0.023 \times 10^{-6}$ (cm/s) olarak tayin edilmiştir. Furosemid için basolateralden apikale doğru olan permeabilite değeri kontrol grubunda $6.46 \pm 0.12 \times 10^{-6}$ (cm/s) iken, EDTA varlığında $8.64 \pm 0.23 \times 10^{-6}$ (cm/s) bulunmuştur. Permeabilite değerlerinde görülen bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ancak EDTA'nın sıkı kavşak fonksiyonlarını düzenlediği belirtilmiştir⁴⁸.

FDA onaylı bir poliakrilat türevi olan Carbopol 934P Ca^{+2} iyonları ile şelat oluşturarak paraselüler permeabiliteyi artırmaktadır. Carbopol 934P'nin düşük molekül ağırlıklı heparinin (LMWH) barsaklardan absorpsiyonunu artırdığı gösterilmiştir. Sıçan ve domuzlarda yapılan bir çalışmada intraduodenal yolla LMWH uygulandıktan sonra (Carbopol 934P varlığında ve yokluğunda) kandaki anti-Xa seviyesi belirlenerek değerlendirme yapılmıştır. Kontrol grubunda kandaki anti-Xa seviyesi 0.03 U/mL civarındayken polimer varlığında bu değer 0.3 U/ μ l'ye yükselmiştir. Bu sonuçlar LMWH absorpsiyonunun polimer varlığında önemli oranda arttığını göstermiştir⁶¹.

Sonuç

Peptid, protein yapıda olan ilaçlar gibi oral biyoyararlanımı düşük olan ilaçların permeasyon artırıcı maddeler varlığında absorpsiyonlarının arttığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Birçok permeasyon artırıcı

ajan olmasına rağmen kitosan ve türevleri, siklodekstrinler, sodyum kaprat ve sodyum lauril sülfat bu amaçla en fazla kullanılan maddeler olup permeasyon artırıcı etkinlikleri yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Sıkı kavşakların yapısında bulunan ve farklı yollarla da elde edilebilen protein yapılı maddelerinde permeasyon artırıcı ajan olarak kullanılabilmesi ileri sürülmüştür. Ayrıca birçok maddenin permeasyon artırıcı etkinlikleri araştırılmaya devam etmektedir. Bu konuda yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu in vitro çalışmalardan oluşmaktadır. Ancak in vitro ve in vivo çalışmalardan elde edilen sonuçların her zaman paralel olmaması nedeniyle bu konuda daha fazla in vivo çalışmaya gereksinim vardır. Sonuç olarak oral biyoyararlanımı düşük maddelerin biyoyararlanımının artırılması için permeasyon artırıcı ajanlar uygun bir çözüm olarak düşünülebilir.

Özet

Sistemik etki elde etmek amacıyla ilaçlar farklı yollarla uygulanmaktadır. Bu uygulama yolları arasında en yaygın olarak kullanılanı oral yoldur. Oral yolla verilen bir ilaç etki edeceği bölgeye ulaşana kadar çeşitli biyolojik membranlardan geçmek zorundadır. Bu membranların en önemlilerinden biri de barsak epitelidir. Barsak epitelinden absorpsiyon başlıca iki mekanizma ile gerçekleşmektedir. Bunlar epitel hücre membranlarından absorpsiyon (transselüler yol) ve epitel hücreler arasındaki sıkı kavşaklar (tight junction)'dan absorpsiyondur. Moleküllerin hücreler arasındaki sıkı kavşaklardan geçmesi paraselüler (interselüler) transport olarak adlandırılmaktadır. Paraselüler permeabilitenin düzenlenerek ilaç absorpsiyonunu artırmak için en etkili yol sıkı kavşakların yapısal olarak düzenlenmesidir. Polimer ve yüzey etkin özellikteki bazı maddelerin membranlardan paraselüler yolla geçen ilaçların absorpsiyonunu çeşitli mekanizmalarla artırdığı belirtilmiştir. Bu maddeler permeasyon artırıcılar olarak da bilinmektedir. Bu derlemede, permeasyon artırıcıların fizikokimyasal özellikleri ve intestinal absorpsiyonu artırma mekanizmalarından bahsedilmektedir. Ayrıca permeasyon artırıcılara çeşitli örnekler verilerek, ve bu maddelerle yapılmış çalışmalar değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Permeasyon artırıcılar, Paraselüler absorpsiyon, Permeabilite

*Abstract***Permeability enhancers used to increase intestinal absorption**

Drugs are administered through various routes to obtain systemic effect. Of these, the most commonly used route of administration is the oral route. Following oral administration, the drug has to pass through several biological membranes until it reaches the site of effect. The most important one among these membranes is the intestinal epithelium. Absorption through the intestinal epithelium occurs mainly by two mechanisms. These mechanisms are absorption through the epithelial cell membranes (transcellular route) and absorption through the tight junctions between epithelial cells. Transport of molecules through the tight junctions is called as paracellular (intercellular) transport. The most effective way to improve drug absorption by regulating paracellular permeability is the structural organization of tight junctions. It is reported that some substances such as polymers, surfactants increase the absorption of paracellularly transported drugs across membranes by means of various mechanisms. These substances are also known as permeation enhancers. In this review, physicochemical properties of permeability enhancers and their mechanism of effect to increase intestinal absorption were discussed. Also various examples were given for these permeability enhancers and the studies conducted using these substances were evaluated.

Keywords: Permeation enhancers, Paracellular absorption, Permeability

KAYNAKLAR

1. Kayaalp, S.O. (1987). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (Fourth bs.): Toraman ve Ulucan Matbaası, Ankara.
2. Martinez, M.N., Amidon, G.L.: A mechanistic approach to understanding the factors affecting drug absorption: a review of fundamentals. *J Clin Pharmacol*, 42 (6), 620 (2002).
3. Shargel, L.Y., A.B.C. (1993). *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics* (Third bs.): Prentice-Hall International Editions, London.
4. Bajaj, H., Bisht, S., Yadav, M., Singh, V.: Bioavailability Enhancement: A Review. *Int J Pharm Bio Sci*, 2 (2), 202 (2011).
5. Cano-Cebrian, M.J., Zornoza, T., Granero, L., Polache, A.: Intestinal absorption enhancement via the paracellular route by fatty acids, chitosans and others: a target for drug delivery. *Curr Drug Deliv*, 2 (1), 9 (2005).

6. Lobenberg, R., Amidon, G.L.: Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. *Eur J Pharm Biopharm*, 50 (1), 3 (2000).
7. Hillgren, K.M., Kato, A., Borchardt, R.T.: In vitro systems for studying intestinal drug absorption. *Med Res Rev*, 15 (2), 83 (1995).
8. Kararli, T.T.: Gastrointestinal absorption of drugs. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 6 (1), 39 (1989).
9. Hunter, J., Hirst, B.H.: Intestinal secretion of drugs. The role of P-glycoprotein and related drug efflux systems in limiting oral drug absorption. *Adv Drug Deliv Rev*, 25 (2-3), 129 (1997).
10. Cox, D.S., Raje, S., Gao, H.L., Salama, N.N., Eddington, N.D.: Enhanced permeability of molecular weight markers and poorly bioavailable compounds across Caco-2 cell monolayers using the absorption enhancer, zonula occludens toxin. *Pharm Res*, 19 (11), 1680 (2002).
11. Aungst, B.J.: Intestinal permeation enhancers. *J Pharm Sci*, 89 (4), 429 (2000).
12. Shepherd, R., Reader, S., Falshaw, A.: Chitosan functional properties. *Glycoconj J*, 14 (4), 535 (1997).
13. Di Colo, G., Zambito, Y., Zaino, C.: Polymeric enhancers of mucosal epithelia permeability: synthesis, transepithelial penetration-enhancing properties, mechanism of action, safety issues. *J Pharm Sci*, 97 (5), 1652 (2008).
14. Williams, A.C., Barry, B.W.: Penetration enhancers. *Adv Drug Deliv Rev*, 56 (5), 603 (2004).
15. Junginger, H.E., Verhoef, J.C.: Macromolecules as safe penetration enhancers for hydrophilic drugs - a fiction?. *Pharm Sci Technol Today*, 1 (9), 370 (1998).
16. Dodane, V., Vilivalam, V.D.: Pharmaceutical applications of chitosan. *Pharm Sci Technol Today*, 1 (6), 246 (1998).
17. Thanou, M., Verhoef, J.C., Junginger, H.E.: Oral drug absorption enhancement by chitosan and its derivatives. *Adv Drug Deliv Rev*, 52 (2), 117 (2001).
18. Dutta, P.K., Dutta, J., Tripathi, V.S.: Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. *J Sci Ind Res*, 63 (1), 20 (2004).
19. Borchard, G., Luessen, H.L., deBoer, A.G., Verhoef, J.C., Lehr, C.M., Junginger, H.E.: The potential of mucoadhesive polymers in enhancing intestinal peptide drug absorption .3. Effects of chitosan-glutamate and carbomer on epithelial tight junctions in vitro. *J Control Release*, 39 (2-3), 131 (1996).
20. Schipper, N.G.M., Varum, K.M., Artursson, P.: Chitosans as absorption enhancers for poorly absorbable drugs .1. Influence of molecular weight and degree of acetylation on drug transport across human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *Pharm Res*, 13 (11), 1686 (1996).
21. Kotze, A.F., Thanou, M.M., Lueben, H.L., de Boer, A.G., Verhoef, J.C., Junginger, H.E.: Enhancement of paracellular drug transport with highly quaternized N-trimethyl chitosan chloride in neutral environments: In vitro evaluation in intestinal epithelial cells (Caco-2). *J Pharm Sci*, 88 (2), 253 (1999).
22. Artursson, P., Lindmark, T., Davis, S.S., Illum, L.: Effect of Chitosan on the Permeability of Monolayers of Intestinal Epithelial-Cells (Caco-2). *Pharm Res*, 11 (9), 1358 (1994).
23. Schipper, N.G.M., Olsson, S., Hoogstraate, J.A., deBoer, A.G., Varum, K.M., Artursson, P.: Chitosans as absorption enhancers for poorly absorbable drugs .2. Mechanism of absorption enhancement. *Pharm Res*, 14 (7), 923 (1997).

24. Bernkop-Schnurch, A., Guggi, D., Pinter, Y.: Thiolated chitosans: development and in vitro evaluation of a mucoadhesive, permeation enhancing oral drug delivery system. *J Control Release*, 94 (1), 177 (2004).
25. Sandri, G., Bonferoni, M.C., Rossi, S., Ferrari, F., Gibin, S., Zambito, Y., Di Colo, G., Caramella, C.: Nanoparticles based on N-trimethylchitosan: Evaluation of absorption properties using in vitro (Caco-2 cells) and ex vivo (excised rat jejunum) models. *Eur J Pharm Biopharm*, 65 (1), 68 (2007).
26. Guo, J., Ping, Q., Jiang, G., Dong, J., Qi, S., Feng, L., Li, Z., Li, C.: Transport of leuprolide across rat intestine, rabbit intestine and Caco-2 cell monolayer. *Int J Pharm*, 278 (2), 415 (2004).
27. Kowapradit, J., Opanasopit, P., Ngawhirunpat, T., Apirakaramwong, A., Rojanarata, T., Ruktanonchai, U., Sajomsang, W.: In vitro permeability enhancement in intestinal epithelial cells (Caco-2) monolayer of water soluble quaternary ammonium chitosan derivatives. *AAPS PharmSciTech*, 11 (2), 497 (2010).
28. Bach, A.C., Babayan, V.K.: Medium-Chain Triglycerides - an Update. *Am J Clin Nut*, 36 (5), 950 (1982).
29. Lindmark, T., Nikkila, T., Artursson, P.: Mechanisms of absorption enhancement by medium chain fatty acids in intestinal epithelial Caco-2 cell monolayers. *J Pharmacol Exp Ther*, 275 (2), 958 (1995).
30. Sakai, M., Imai, T., Ohtake, H., Azuma, H., Otagiri, M.: Effects of absorption enhancers on the transport of model compounds in Caco-2 cell monolayers: Assessment by confocal laser scanning microscopy. *J Pharm Sci*, 86 (7), 779 (1997).
31. Lo, Y.L., Huang, J.D.: Effects of sodium deoxycholate and sodium caprate on the transport of epirubicin in human intestinal epithelial Caco-2 cell layers and everted gut sacs of rats. *Biochem Pharmacol*, 59 (6), 665 (2000).
32. Chao, A.C., Nguyen, J.V., Broughall, M., Griffin, A., Fix, J.A., Daddona, P.E.: In vitro and in vivo evaluation of effects of sodium caprate on enteral peptide absorption and on mucosal morphology. *Int J Pharm*, 191 (1), 15 (1999).
33. Anderberg, E.K., Lindmark, T., Artursson, P.: Sodium caprate elicits dilatations in human intestinal tight junctions and enhances drug absorption by the paracellular route. *Pharm Res*, 10 (6), 857 (1993).
34. Tomita, M., Sawada, T., Ogawa, T., Ouchi, H., Hayashi, M., Awazu, S.: Differences in the enhancing effects of sodium caprate on colonic and jejunal drug absorption. *Pharm Res*, 9 (5), 648 (1992).
35. Tomita, M., Hayashi, M., Awazu, S.: Absorption-enhancing mechanism of EDTA, caprate, and decanoylcarnitine in Caco-2 cells. *J Pharm Sci*, 85 (6), 608 (1996).
36. Dos Santos, I., Fawaz, F., Lagueny, A.M., Bonini, F.: Improvement of norfloxacin oral bioavailability by EDTA and sodium caprate. *Int J Pharm*, 260 (1), 1 (2003).
37. Sakai, M., Imai, T., Ohtake, H., Otagiri, M.: Cytotoxicity of absorption enhancers in Caco-2 cell monolayers. *J Pharm Pharmacol*, 50 (10), 1101 (1998).
38. Watson, C.J., Rowland, M., Warhurst, G.: Functional modeling of tight junctions in intestinal cell monolayers using polyethylene glycol oligomers. *Am J Physiol Cell Physiol*, 281 (2), C388 (2001).
39. Maher, S., Leonard, T.W., Jacobsen, J., Brayden, D.J.: Safety and efficacy of sodium caprate in promoting oral drug absorption: From in vitro to the clinic. *Adv Drug Deliv Rev*, 61 (15), 1427 (2009).
40. Anderberg, E.K., Nystrom, C., Artursson, P.: Epithelial transport of drugs in cell culture. VII: Effects of pharmaceutical surfactant excipients and bile acids on transepithelial permeability in monolayers of human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *J Pharm Sci*, 81 (9), 879 (1992).

41. Sharma, P., Varma, M.V., Chawla, H.P., Panchagnula, R.: Relationship between lipophilicity of BCS class III and IV drugs and the functional activity of peroral absorption enhancers. *Farmaco*, 60 (11-12), 870 (2005).
42. Sasaki, K., Yonebayashi, S., Yoshida, M., Shimizu, K., Aotsuka, T., Takayama, K.: Improvement in the bioavailability of poorly absorbed glycyrrhizin via various non-vascular administration routes in rats. *Int J Pharm*, 265 (1-2), 95 (2003).
43. Raoof, A.A., Ramtoola, Z., McKenna, B., Yu, R.Z., Hardee, G., Geary, R.S.: Effect of sodium caprate on the intestinal absorption of two modified antisense oligonucleotides in pigs. *Eur J Pharm Sci*, 17 (3), 131 (2002).
44. Shin, S.C., Cho, C.W., Oh, I.J.: Effects of non-ionic surfactants as permeation enhancers towards piroxicam from the poloxamer gel through rat skins. *Int J Pharm*, 222 (2), 199 (2001).
45. Fricker, G., Fahr, A., Beglinger, C., Kissel, T., Reiter, G., Drewe, J.: Permeation enhancement of octreotide by specific bile salts in rats and human subjects: In vitro, in vivo correlations. *Br J Pharmacol*, 117 (1), 217 (1996).
46. Meaney, C.M., O'Driscoll, C.M.: A comparison of the permeation enhancement potential of simple bile salt and mixed bile salt : fatty acid micellar systems using the CaCo-2 cell culture model. *Int J Pharm*, 207 (1-2), 21 (2000).
47. Dias, R., Sakhare, S., Mali, K.: In-vitro Absorption Studies of Mucoadhesive Tablets of Acyclovir. *Indian J Pharm Educ Res*, 44 (2), 183 (2010).
48. Rege, B.D., Yu, L.X., Husain, A.S., Polli, J.E.: Effect of common excipients on Caco-2 transport of low-permeability drugs. *J Pharm Sci*, 90 (11), 1776 (2001).
49. Shah, P., Jogani, V., Mishra, P., Mishra, A.K., Bagchi, T., Misra, A.: In vitro assessment of acyclovir permeation across cell monolayers in the presence of absorption enhancers. *Drug Dev Ind Pharm*, 34 (3), 279 (2008).
50. <http://en.wikipedia.org/wiki/Cyclodextrin>. Ağ
51. Stella, V.J., Rajewski, R.A.: Cyclodextrins: Their future in drug formulation and delivery. *Pharm Res*, 14 (5), 556 (1997).
52. Loftsson, T., Brewster, M.E.: Pharmaceutical applications of cyclodextrins .1. Drug solubilization and stabilization. *J Pharm Sci*, 85 (10), 1017 (1996).
53. Rajewski, R.A., Stella, V.J.: Pharmaceutical applications of cyclodextrins .2. In vivo drug delivery. *J Pharm Sci*, 85 (11), 1142 (1996).
54. Shaker, D.S., Ghanem, A.H., Li, S.K., Warner, K.S., Hashem, F.M., Higuchi, W.I.: Mechanistic studies of the effect of hydroxypropyl-beta-cyclodextrin on in vitro transdermal permeation of corticosterone through hairless mouse skin. *Int J Pharm*, 253 (1-2), 1 (2003).
55. Martin, E., Verhoef, J.C., Cullander, C., Romeijn, S.G., Nagelkerke, J.F., Merkus, F.W.H.M.: Confocal laser scanning microscopic visualization of the transport of dextrans after nasal administration to rats: Effects of absorption enhancers. *Pharm Res*, 14 (5), 631 (1997).
56. Hovgaard, L.: Drug-delivery studies in Caco-2 monolayers IV: Absorption enhancer effects of cyclodextrins. *Pharm Res*, 12 (9), 1328 (1995).
57. Chavanpatil, M., Vavia, P.R.: Enhancement of nasal absorption of acyclovir via cyclodextrins. *J Inclusion Phenom Macrocylic Chem*, 44 (1-4), 137 (2002).
58. Anilkumar, P., Badarinath, A.V., Naveen, N., Prasad, K., Reddy, B.R.S., Hyndhavi, M., Nirosha, M.: A rationalized description on study of intestinal barrier, drug permeability and permeation enhancers. *J Global Trends Pharm Sci*, 2 (4), 431 (2011).
59. Kang, M.J., Cho, J.Y., Shim, B.H., Kim, D.K., Lee, J.: Bioavailability enhancing activities of natural compounds from medicinal plants. *J Med Plants Res*, 3 (13), 1204 (2009).

60. Coleman, I.P.L., Blair, J.A., Hilburn, M.E.: Effect of dietary and synthetic chelating-agents on the intestinal-absorption of lead. *Int J Environ Stud*, 18 (3-4), 187 (1982).
61. Thanou, M., Verhoef, J.C., Nihot, M.T., Verheijden, J.H.M., Junginger, H.E.: Enhancement of the intestinal absorption of low molecular weight heparin (LMWH) in rats and pigs using Carbopol (R) 934P. *Pharm Res*, 18 (11), 1638 (2001).
62. Silva, C.M., Veiga, F., Ribeiro, A.J., Zerrouk, N., Arnaud, P.: Effect of chitosan-coated alginate microspheres on the permeability of Caco-2 cell monolayers. *Drug Dev Ind Pharm*, 32 (9), 1079 (2006).
63. Chen, F., Zhang, Z.R., Yuan, F., Qin, X., Wang, M.T., Huang, Y.: In vitro and in vivo study of N-trimethyl chitosan nanoparticles for oral protein delivery. *Int J Pharm*, 349 (1-2), 226 (2008).
64. Thanou, M., Verhoef, J.C., Marbach, P., Junginger, H.E.: Intestinal absorption of octreotide: N-trimethyl chitosan chloride (TMC) ameliorates the permeability and absorption properties of the somatostatin analogue in vitro and in vivo. *J Pharm Sci*, 89 (7), 951 (2000).
65. Guggi, D., Kast, C.E., Bernkop-Schnurch, A.: In vivo evaluation of an oral salmon calcitonin-delivery system based on a thiolated chitosan carrier matrix. *Pharm Res*, 20 (12), 1989 (2003).
66. Krauland, A.H., Guggi, D., Bernkop-Schnurch, A.: Oral insulin delivery: The potential of thiolated chitosan-insulin tablets on non-diabetic rats. *J Control Release*, 95 (3), 547 (2004).
67. Hamman, J.H., Schultz, C.M., Kotze, A.F.: N-trimethyl chitosan chloride: Optimum degree of quaternization for drug absorption enhancement across epithelial cells. *Drug Dev Ind Pharm*, 29 (2), 161 (2003).