T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK NANOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Dr. Öğr. Üyesi Gülşah GEDİK

KURU GÖZ HASTALIĞI TEDAVİSİNE YÖNELİK İNSERT FORMÜLASYONUNUN GELİŞTİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Merve Gül BİNİCİ

EDİRNE-2023

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK NANOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Dr. Öğr. Üyesi Gülşah GEDİK

KURU GÖZ HASTALIĞI TEDAVİSİNE YÖNELİK İNSERT FORMÜLASYONUNUN GELİŞTİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Merve Gül BİNİCİ

EDİRNE-2023

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen hocam Sn. Dr. Öğr. Üyesi Gülşah GEDİK'e, tüm sevgi ve destekleri ile herzaman yanımda olan Canım Babam, Annem ve kardeşim'e, manevi abim ve çalışma ark. Yük. Kimyager Hakan GEDİK'e, deneysel çalışmaların gerçekleştirmesinde sağlamış oldukları maddi ve manevi destekleri için DEVA HOLDİNG A.Ş.'ye teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

GÖZ VE GÖZÜN YAPISI 3

OKÜLER SİSTEMLER 10

OKÜLER İNSERTLER 17

KORNEA HASTALIKLARI 25

SİKLOSPORİN 36

QbD- TASARIMLA KALİTE YAKLAŞIMI 40

GEREÇ VE YÖNTEMLER 46

BULGULAR 75

TARTIŞMA 98

SONUÇLAR 105

ÖZET 107

SUMMARY 109

KAYNAKLAR 111

ŞEKİLLER LİSTESİ 121

ÖZGEÇMİŞ 125

SİMGE VE KISALTMALAR

ANN : Artifical Neural Network

BUT : Tear Break up Time

CPP : Critical Proces Parameter

CPP : Kritik Proses Parametresi

CQA : Kritik Kalite Özelliği

CTD : Common Technical Document

DEWS : International Dry Eye Workshop

DoE : Design of Experiment

DSC : Differential Scanning Calotimetry

EMA : Europoean Medicines Agency

FDA : Food and Drug Administration

FT-IR : Fourier Transform Infrared Spectroscopy

H_3PO_4 : Phosphoric acid

HEMA : Etillmetakrilat

HPLC : High Performance Liquid Chromatography

HSA : Human Serum Albumin

ICH : The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements

NMR : Nuclear Magnetic Resonance

NMR : Nuclear Magnetic Resonance

PAT : Proses Analitik Teknolojisi

PMMA : Poli Metil Metakrilat

PMMA : Poli Metil Metakrilat

QbD : Quality by Design

QTPP : Quality Target Product Profile

SODI : Soluble Ocular Drug Insert)

TPP : Target Product Profile

GİRİŞ VE AMAÇ

Çalışmamızdaki amacımız, birçok risk faktörü ile birlikte genellikle çevresel koşulların sebep olduğu kuru göz hastalığının tedavisi için, günümüzde topikal uygulanan ticari göz damlası dozaj formlarına alternatif olarak, yeni bir farmasötik form geliştirmektir. Bu sebeple siklosporin içeren insert formülasyonu geliştirilmesi ve göz yüzeyinde kalış süresini artırmak amacıyla farklı insert formülasyonları Tasarımla Kalite (QbD) kavramıyla tasarlanmıştır.

Dünyada sıklıkla karşılaşılan bir oküler rahatsızlık olan göz kuruluğu; gözyaşı ve oküler yüzeyin görüş kalitesini ve semptomlar ile kendini göstererek konforunu bozan, oküler yüzeyin işlevinin bozulması ile birlikte batma hissi, görüş bozukluğu ve instabil gözyaşı film bozukluğuna sebep olan gözyaşının oküler yüzey ile birlikte multifaktöriyel fonksiyon bozukluğu şeklinde tanımlanmıştır. Gözyaşı film tabakasının artan ozmolaritesi ve oküler yüzeyin inflamasyonu hastalıkta birlikte görülmektedir. Dünya'da yetişkin popülasyonun neredeyse üçte bir oranda kuru göz sendromu görüldüğü tahmin edilmektedir. Kuru göz sendromu, neden olduğu rahatsızlık ile beraber yaşam kalitesini azaltarak, inflamatuar süreç varlığında korneada oluşan ülser, kornea erimesi gibi riskli hastalıklar ile görme yetisi için tehlike arz eder.

Günümüzde kuru göz tedavisi amacıyla uygulanan damla ve merhemler gibi ilaçlar gözyaşı ile tesir bölgesinden akarak uzaklaşır ve sonuçta kornea bariyerinin geçilmesi ve göz yüzeyinde kalış süresi azalır.

Siklosporin, immünosüpresan etkinlik gösteren bir peptiddir. Yapı özellikleri sebebiyle etkin maddenin su içerisinde çözünürlüğünün az olmasına neden olmaktadır. Su içerisinde düşük çözünürlüğü, topikal ve oral olarak alındığında düşük biyoyararlanım gibi olumsuz sonuçları ortaya çıkmaktadır. Siklosporin suda düşük çözünürlükte olması nedeniyle zayıf

geçirgenlik gösterdiğinden formülasyonları kornea bariyerini geçmesini sağlayarak ve biyoyararlanımı artırmak amacıyla hazırlanan lipit bazlı mikro ve nano boyutta formülasyonlar geliştirilmektedir.

Çalışmamızda mikro siklosporin içeren, uzun salımlı, insert dozaj şeklinin oküler formülasyonlarının geliştirilmesi amaçlanmıştır.

QbD yaklaşımını benimsemiş olduğumuz çalışmamızda Başlangıç Risk Değerlendirmesi çalışması ile kritik tüm adımlar değerlendirilmiştir. Bu süreçte kritik adımların birbiri ile etkileşimi buna bağlı olarak final ürünün etkilenme derecesinin ayrıntılı değerlendirilmesiyle birlikte yapılan planlama, değerlendirme ve geliştirme sürecinin sonunda elde edilen veri bütünlüğüne dayanarak final risk değerlendirmesi yapılmıştır.

Yukarda açıklandığı üzere çalışmalarımızın planı insert formülasyon geliştirmesinin in-vitro aşamada gerçekleştirilmesi planlanmışıtr. Şuan ki hayat şartlarında, maliyetlerin fazla olması sebebiyle yeni molekül keşfi yerine mevcutta bulunan bir molekülün biyoyaralanımının farklı dozaj formlarında ve uzun salım ile yüksek yararlanım sağlanması hedeflenmiştir. Biz de tez çalışmamız kapsamında, farmasötik gelişim süresince siklosporin oftalmik insert'in geleneksel göz damlası dozaj formlarına göre terapötik etkisinin uzun süreli olarak sağlanması amacıyla alternatif bir dozaj formu sunmayı amaçlamaktayız.

GENEL BİLGİLER

GÖZ VE GÖZÜN YAPISI

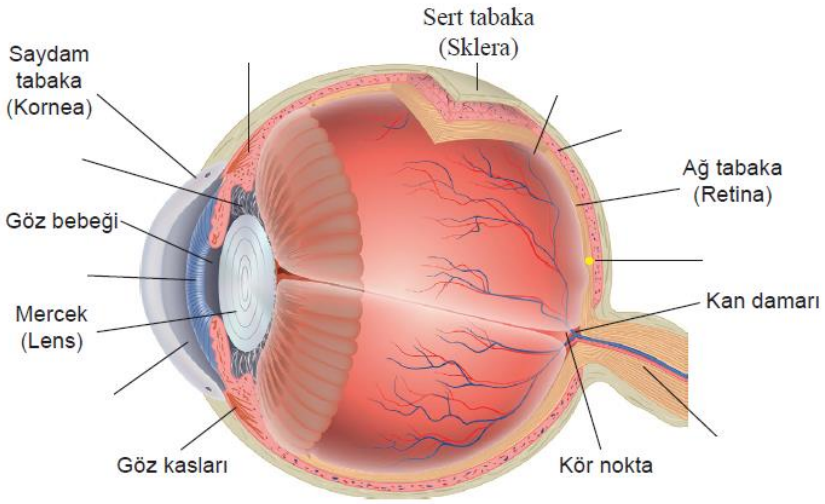
Göz, göz yuvarı (orbita) adı verilen kemikte koruyucu boşluk içerisinde bulunan ve birbirlerinin peşi sıra yerleştirilen farklı büyüklüklerdeki iki adet kürenin parçalarından meydana gelmiştir.

Ön taraftaki küçük parça saydam; göz küresinin %16'lık kısmını oluşturur ve 8 mm'lik yarıçapı bulunmaktadır. Arkada bulunan geniş bölüm ise opak görünüşlüdür, gözyuvarının %84'lük kısmını meydana getirir ve 12 mm yarıçapı vardır. Erişkin bireyde çap 24 mm dır. Bu değer 21 ile 26 arasında değişmektedir. Hipermetropi de küçük, miyopide daha büyüktür. Bebeklerde de 16mm kadardır. Görme olayını gerçekleştiren göz, göz yuvarlağı ve yardımcı yapılardan oluşmaktadır (1,2).

Göz anatomisi iki bölümden meydana gelir:

1. Göz Küresi Dışındaki Yapılar
2. Göz Küresi (Bulbus Oculi)

Gözde görmenin sağlanması için yardımcı organlar ve bazı koruyucu yapılar bulunur. Göz kapakları göze zarar veren yabancı molekül ve maddelerin göz içerisine girmesine engel olur. Kirpikler ise gözleri toz ve partiküllerden korur iken, gözyaşı bezleri gözü yıkayarak steril halde tutmaktadır. Bu koruma ve temizlik işlemleri gözyaşları sayesinde yapılmaktadır (2,3).



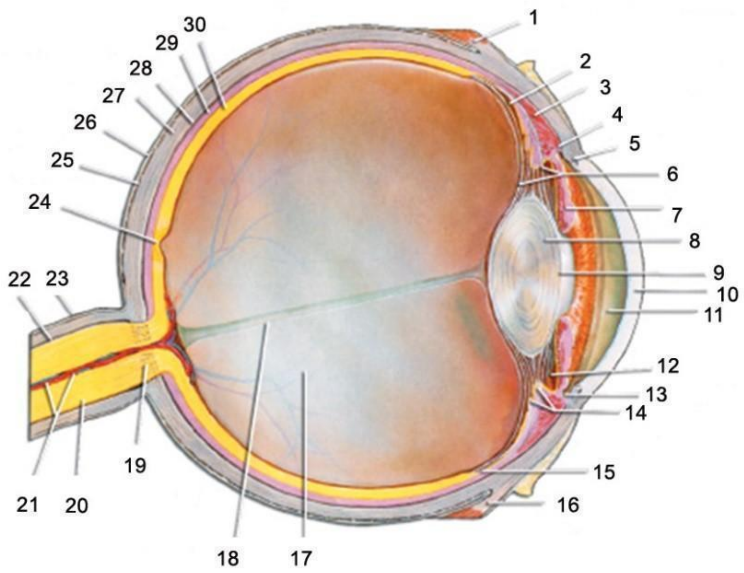
Şekil 1. Gözün yapısı

Göz Küresi (Bulbus Oculi) Orbita içerisinde yapılanmış olan göz küresi, orbitanın kemik duvarları tarafından çevrelenmiştir. Küre şeklindedir ve yalnızca ön yüzü dış çevre ile etkileşim halindedir (2,3). Göz üç tabakadan meydana gelmektedir. Dış tabaka, sklera ve kornea dan; orta tabaka, irisle merceklerden ve iç tabaka da ağ tabakadan oluşmaktadır (3).

Gözün interior bölümünde sklera, ince zar yapı ile örülmüştür, Işık saydam ve kubbeli yapıdan oluşan korneadan girer. Gözün korunmasını sağlayan kornea, gözün arka bölümündeki ağ tabakaya ışığı iletmektedir. Göz küre şeklinde olup orbita denilen kemikten yuva içerisinde bulunur ve göz kapakları ile dış etkenlere karşı koruma altındadır. Dış tarafında beyaz renkli sert dış tabaka ve onu takip eden kornea yer almaktadır. Kornea yapısının alt tarafında göze renk veren iris bulunur. İrisin orta kısmında göze giren ışık miktarına göre genişliği değişebilen gözbebeği (pupilla) bulunmaktadır. İrisin arka kısmında göz merceği (lens) bulunur. Bu yapı şeffaf olup bir disk görünümündedir. Skleranın alt kısmında gözün damarlı tabakası (uvea) uveanın alt kısmında ise görmeyi gerçekleştiren ağ tabaka (retina) bulunmaktadır.

Gözde en ince tabaka olan ağ tabaka, ışığa karşı duyu reseptörlerinin bulunduğu hassas bir yapıdır. Hemen arka kısmında görme duyusunun alınamadığı "kör nokta" olarak bilinen bölge bulunmaktadır. Kör noktanın ilerisinde, sarı nokta bulunur; Mercek üzerinden göze gelen impulslar, reseptörlerce zengin bölgeye gelerek uyartı oluşturur. Bu uyartı beyinde görme bölgesine taşınır ve üç katman halinde dizilmiş nöronlarla sona erer (3-5).

Göz tabakaların bir araya gelmesi ile meydana gelmiştir. Bu tabaka önde tümsekleşerek, saydam tabakayı oluşturur. Sklera metabolizma olarak yarı inaktiftir ve sadece kısmi kan akışı bulunur. Skleradan geçerek başka dokulara uzanan kan damarları da bulunmaktadır (4,5).



Şekil 2. Gözün anatomik yapısı (6)

1. Vitre ile dolu boşluk
2. Ora Serrata
3. Siliyer kaslar
4. Lens askı bağları
5. Schlemm kanalı
6. Gözbebegi
7. Ön kamara
8. Kornea
9. İris
10. Göz mercegi dış(Korteks)
11. Göz mercegi iç (Nükleus)
12. Silier cisim
13. Konjonktiva
14. Alt oblik kas
15. Alt düz (rektus) kas
16. İç düz (medial rektus) kası
17. Retina arter ve venleri
18. Papilla
19. Lamina kribroza
20. Santral retinal arter
21. Sanral retinal ven (toplardamar)

22. Optik sinir (görme siniri)
23. Vortikoz ven
24. Konjoktif
25. Makula
26. Fovea (sarı leke)
27. Sklera (ağtabaka)
28. Koroid (damar tabaka)
29. Üst düz kas
30. Retina

Sklera

Gözyuvarının 5/6 arka bölümünü kaplamaktadır. Korneanın sklera ile birleştiği bölgeye limbus denilir ve büyük öneme sahip köşe taşı olarak bilinir. Sklera rektus kaslarının tutunma bölgelerinde en ince (0.3mm), posteriorda en kalın (1mm) ve ekvatorda 0.4-0.5mm kalınlığında bulunmaktadır (7,8).

Sklera tamamen olmasada damarsız bir yapı olarak sayılabilir. Yalnızca limbusun hemen arkasında intraskleral ve episkleral damarlanma bulunur. Sklera stroma kornea gibi kolajen demetleri, fibroblastlar ve ara maddelerden meydana gelmektedir ancak burda farklı olarak, kolajen liflerin şekil ve büyüklüklüğü değişmektedir ve düzensiz olarak dağılım gösterirler (8,9).

Konjunktiva

Konjunktiva açısal olarak göz kapağının arka yüzeyini ve gözün dış çevre ile temasta bulunan bölgelerini saran mukoz yapıda zar yapısıdır. Alt- üst göz kapağı kenarlarından başlar arka yüzlerini kapatarak katlanır, göz yuvarını sarar ve gözün içerisine doğru uzanır (1,3).

Aköz Hümör

Gözyuvarının arka ve ön kameralarında bulunan berrak sıvıdır. Daima kinetik haldedir. Siliyer epiteli renkli ve renksiz 2 katmandan meydana gelmektedir. Renksiz hücreler metabolizma açıdan aktiftir ve kan-aköz bariyer yapısını meydana getirirler. Aköz hümör üretimi hızı 1,2-3µl/dakika olup, arka kamerada 2 saat de bir, ön kamarada yarım saat debir değişmektedir. Aköz, pupil ile lens bağları arasından ön kameraya doğru akar. Lens ve korneada kan dolaşımı bulunmadığından lens ve korneanın ihtiyaçlarını aköz humörden gidermektedir.

İçeriği glukoz, aminoasitler, yoğunluğu yüksek askorbik asiıt ve erimiş bazı gazlardır. Gözyuvarının duvarlarını basıncı ile destekleyerek optik şeklinin korunumunu sağlar(5,6,7).

Pupil

Pupil genel olarak iris'in tam ortasında bulunan ve retinaya direct gelen ışık miktarına göre büyüyüp küçülen açıklık olarak tanımlanır. Pupilla sahip olduğu refleksi kontrol mekanizmaları ile göz içine girecek ışık miktarını ayarlar. Aynı zamanda " ışık refleks" olarak da bilinir. Pupillanın çapı ise 1–8 mm arasında olduğu bilinmektedir(2,3).

İris

İris, gözün dışarıdan bakıldığında renkli olarak seçilebilen kısmını oluşturmaktadır. Korneanın arka kısmında, lens'in ön kısmında yeralmaktadır. Lensin ön kısmında olan, göze giren ışığın miktarını ayarlayabilen, boyutu değişebilir bir diyafram gibi davranır. Ön ve arka kameraları birbirinden ayırmaktadır. İris, sklera ile siliyer cismin önünde birleşir (1,7).
İris iki tabakadan oluşur.

1 - Stroma, ön kısımda bulunur
2 - Pigment epiteli, arka kısımda bulunur

Lens

Lens ince ve saydam bir yapıdadır. Göz bebeğinin arkasına kornea üzerinden kırılıp gelen ışığı tekrar kırarak retinaya odaklar. Lens, İris ve pupilin arka tarafında bulunan ince, saydam bikonveks bir yapıdır. Yapı içeriği % 63,5 su ve %35 protein den oluşur. Şeffaf ve damarsızdır Çok esnektir asıcı bağlar ile sabit kalır. Lens +15 diyoptri kırma gücü ne sahiptir(1,6,9).

Vitröz Hümör

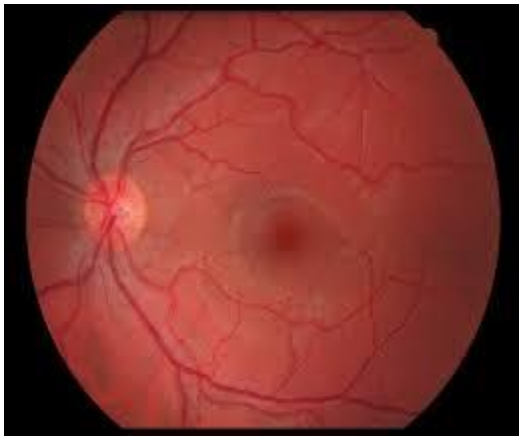
Gözyuvarının içinde bulunan sıvı 'vitröz humor' (vitreous humor) olarak bilinir. vitreous humor lens ile retinanın arasında bulunur. Vitreus sıvısı hiyaluronik asit ve kolajen ağı içerir, berrak ve saydam bir sıvıdır(1,3).Vitreus, lens ile retina arasında bulunan boşluğu doldurmaktadır(9).

Retina

Retina, gözyuvarının en arka kısmında bulunan, milyonlarca ışığa hassas görme hücrelerinden meydana getirilen görüntü sinyalinin beyne nöronlar ile iletilmesini sağlayan,

duyusal ağ tabakasıdır. Retina tabakasına ters olarak düşen görüntüler beyne ulaştırılarak yorumlanır. Kalınlık miktarı 0,1- 0,5 mm arasında değişmektedir(3,6,9).

Retina yapısında 2 tip fotoreseptör hücresi bulundurmaktadır. Bunlar çubuk ve koni hücrelerdir. Bu t hücreler, ışık enerjisini işlenmesi ve daha sonra görmenin tamamlandığı beyin kabuğuna iletilmesi için elektrik sinyallerine dönüştürür. Çubuk hücreler hareketli herşeyi seçer, loş ışıktaki görme işlevini gerçekleştirir ve siyah beyaz görüşün algılanmasını sağlamaktadır(9).



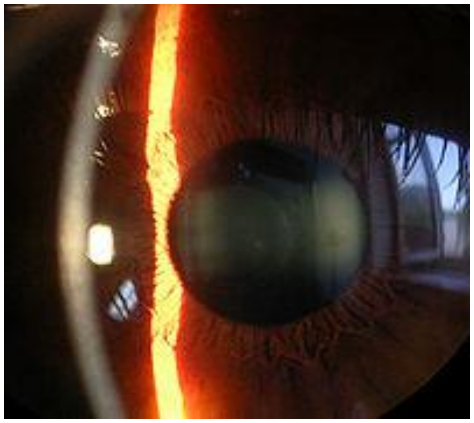
Şekil 3. Retina (8)

Kornea

Kornea gözün en ön kısmındaki saat camına benzeyen kırıcılığı en yüksek, kubbe şeklinde olan şeffaf yapıya kornea ismi verilir. Kornea gözün toplam kırıcılığının 2/3'ünü oluşturmaktadır. 3 ana tabaka ve iki zar yapılıdır.

Kornea, göze gelen ışığın kırılmasından yetkili olarak gözün kırıcı özelliğini oluşturmaktadır. Kırma indeksi, 1.00 olan hava 1.33 olan aköz hümör den ayırmaktadır ve tabakanın tam alt kısmında ince zar yapısı bulunmaktadır. Devamında kornea kalınlığının % 90'lık kısmı olan stroma tabakası gelmektedir. Kornea dokusu yapısında sinir lifleri bulunmaktadır. Bu nedenle dış ve iç etkilere karşı çok hassastır(1,2,3,6).

Kornea içinde kan damarları bulunmamaktadır. Dolayısıyla saydam yapıdadır. Göz yuvarının içi, jel yapılı şeffaf görünümlü sıvı (corpus vitreum) ile doludur. Bu dolgu sıvısının özelliği şekil vermesinin ve korumasının yanıs sıra basınç değerinin sistemimiz tarafından ayarlanmalıdır. Kornea; epitelyum, Bowman katmanı stroma, Descement mebran ve endotelyum olmak üzere 5 farklı katmandan meydana gelmektedir (5,6,9).



Şekil 4. Kornea (10)

Kornea Epiteli

Çok katlı hücrelerden oluşan tabakadır. 50 - 90 µm kalınlıklığında, beş katmandan meydana gelen çok katlı nonkeratinize membran hücreleri düz skuamöz epitel hücrelerinden meydana gelmektedir(9).

Epitelin dış katmanını meydana getiren yassı, skuamöz yüzeysel hücreleri iki-üç hücre tabakasından meydanda gelir. Aralarında desmozom bağları bulunur. Yüzeylerinde çıkıntılar bulunur ve bu yapı gözyaşı filmine doğru giderek gözyaşının kornea içine girişine engel olur. .Ayrıca, korneayı ağrıya karşı duyarlı kılan küçük sinir uçlarıyla doludur, lipofilik özelliktedir. Lipofilik yapılı ilaçlar korneaepitel dokusundan hücre içi (transselüler), hidrofilik ilaçlar hücrelerarası (paraselüler) yollaar ile geçmektedirler (11,12).

Dış Sınırlayıcı Tabaka (Bowman Zarı)

Bowman membrane çok ince bir yapıdır. Bowman zarı şeffaftır ve yenilenebilme ve esneme özelliği yoktur. Mikrobiyal etkilere ve travmalara karşı koruyucu bir tabakadır. Zar yapısında olmayıp altındaki bağ dokunun dış katmanıdır. Epitel hücreleri bu zar üzerinde oturur. kalınlığı yaklaşık 8-15 µm'dır. Şeffaftır ve yenilenebilme ve esneme özelliği yoktur Limbusda sonlanarak stroma içerisine girinti yapar. Zar yapısında olmayıp altındaki bağ dokunun dış katmanıdır. Bu membrane yapı bir kez deforme olduğunda tekrar eski haline dönemez ve yara meydana gelir (13,14).

Kornea Stroması

Stroma, epitelyumun alt kısmında yer alır ve yüksek hidrofilik tabakalardan oluşmuştur (5). Bu tabaka yapısında Tip 1 ve Tip V kolajen lifleri ve liflerin üretemini yapan lameller

arasında çok sayıda uzantıları olan düzleşmiş keratinosit hücreleri yer almaktadır. Korneadaki kolajen yapısı düzenli bir şekilde sıralanmış kolajen liflerinin oluşturduğu yaklaşık 200 katmandan oluşur. Stroma tabakası en kalın katmandır ve kornea kalınlığının yaklaşık %90'ını oluşturmaktadır.Kolajen liflerinin çok düzenli olması stromaya saydamlık ve kuvvet kazandırır. Bu sayede travma ve deformasyona karşı çok dirençlidir Stroma tabakası en kalın katmandır (12,14).

İç Sınırlayıcı Tabaka

Vücuttaki en kalın zar yapısıdır. Homojen ve dayanıklı bir yapıda olup 10 µm kalınlığındadır Stromanın arka tarafında, gevşek halde stromaya yapışmış, kollajen liflerden meydana gelen, rejenerasyon yeteneği olan, endotelin bazal katmanıdır. Descemet membranı Tip VIII kollajen içerir (14,15). Membrane şeklindeki bu oluşum korneanın en altta bulunan yapısı endotel hücrelerinin üzerine yerleşen yapı olarak önem göstermektedir. Kornea dışındaki ön kamara içerisine membranın küçük girintiler ve uzantıları görünür. Endotel ile çevrili bu uzantılara "Hassal - Henle cisimleri" denir (12,15).

Kornea Endoteli (Konjuctiva)

Kornea endoteli, bir layer hegzagonal hücrelerden meydana gelir, makula oklüdenslerle sıkı halde bağ kurmuştur. Endotel yapı hücrelerinin bölünme yetenekleri yoktur. Desmozomlar aracılığı ile birbirine sağlam bağlı hücreler korneanın normal hidrasyonundan sorumludur. Endotel hücrelerinin yapı ve işlevsel olarak bütün olması korneanın saydam yapısının korunmasında esastır. Bariyerlik işlevi ile aköz humör bölgesinden kornea stromasına doğru su geçişini kontrol eder, Bu da görüşü kısıtlar. yetişkinlerde bu hücrelerin yenilenebilme yeteneği yoktur (15,16).

OKÜLER SİSTEMLER

Göz anatomiksel yapısı açıdan ön ve arka segmentlere bölünmüştür. Kendisine özgü anatomik fizyolojik durumu sebebiyle tanımadığı maddelere ve alınan ilaçlara karşı koruma bariyerleri bulunmaktadır. Oküler yüzeye ilaç uygulaması yapıldığında kornea, konjonktiva bölgelerindeki bariyerlerle engellenir. Buna istinaden; ilacın oküler yüzeyde kalma süresini uzatarak biyoyararlanımı yükseltmek hedeflenerek geleneksel dozaj şekillerinden ayrı biçimde oküler ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Uygulanan yeni taşıyıcı sistemleri ile esas amaçlar, bariyerleri etkin şekilde geçer iken, ilaçların göz katmanlarında geçişinin artırılması dır(17,18).

Oküler sistemde emilim öncelikle kornea ve konjonktivadan gerçekleşir. Etkin maddeler kornea epitel hücreleri içerisinden difüze olurlar, korneadan geçişinin hızı ile yapısal özellikleri fizikokimyasal davranışları arasında bir bağlantı bulunmaktadır. lipofilik afinite gösteren etkin maddeler kornea epitelini rahatça aşarlar (17,19,20).

Buna ek olarak biyoyararlanım; koruyucu oküler oluşumlar, nazolakrimal drenaj, gözden dışarı akma ve lakrimasyon gibi nedenlere bağlı olarak çok düşük kalmaktadır(%1-7). Bu formlar göz damlaları, yarı katı dozaj şekilleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Kontrollü ilaç salım sistemlerinin uygulama çeşitleri etkin maddenin moleküler yapısına, salım sisteminin çeşidine ve hastalığın seviyesine göre çok çeşitli, kontrollü salım uygulamaları mevcuttur. İlacın uygulama yolu terapötik etkisini direct olarak değiştirmektedir (21,22). Oküler geçirgenliği etkileyen faktörler tabloda gösterilmiştir.

Tablo 1. Oküler geçirgenliği etkileyen faktörler (23)

Membran	**İlaç**	**Formülasyon**
Absopsiyon bölgesi engelleri	Konsantrasyon	Etki bölgesine maruziyet süresi
Kalınlık	Çözünürlüğü	pH
Porozite	Partisyon katsayısı	Tonisitesi
Kıvrımlı yapısı	Molekül ağırlığı	Viskozite
Lipofilik/hidrofilik denge	pKa'sı	Salım tamamlama süresi

Oküler yüzeyde istenen terapötik etkinin sağlanması etkin ilaç konsantrasyonun gerçekleşebilmesi için, etkin maddenin göz yüzeyinde yeteri kadar ve devamlı etkinlikle maruz kalması şarttır. Yüksek kaliteli topikal preparat dan beklentiler; uygulamanın kolayca yapılabilmesi, ilaç uygulanırken kayıplardaan kaçınılması ve gözde maruz kalma süresinin artırılmış olmasıdır (23,21).

Geleneksel dozaj formları, kısa sürede ve tam bir sistemik emilim gerçekleştirebilmek için etkin maddeyi alındığı andan itibaren bırakacak şekilde geliştirilmiş sistemlerdir. Fakat böyle tip dozaj formlarının kullanılması ile çok kısa aaralıklarla ve yinelenen dozların verilmesi, etkin madde derişiminin efektif sınırın altına düşmesi ve bu duruma bağlı olarak yan etkilerin ortaya çıkması veya yan etki belirtilerinin artması gibi sıkıntılar kendini göstermektedir. Bu problemler, etkin maddeyi hızlıca salıveren dozaj formlarında kıyasla daha uzun zamanda salarak sistemik kayıpların etkin maddenin tedavi edici özelliğini uzatan sistemlerin yardımıyla tamamen yok etmektir.

Kontrollü salım sistemleri, yani etkisi devamlı preparatlar; tek kullanımlık ilaçların birkaç defa alınması ile yararlanılan etkinin daha az uygulama yaparak gerçekleştirmek hedeflenmiştir(22,23,24).

Kontrollü salım sistemlerinin göze uygulanması ile sağlanan faydalar aşağıdaki gibi sıralanabilir (18):

- Etkin maddenin göze maruziyet süresini artırarak terapötik etki ile hedeflenen biyoyararlanımı sağlamak.
- Bireylerin ilaç uygulama sıklığı daha azdır
- Kandaki etkin madde düzeyi sabit olduğundan düzenli terapötik etki sağlanır
- Kısa sürede etkili ilaçların uzun dozaj aralıklarında verilmesi sağlanır
- Hastaya kolaylık sağlamak ve yaşam kalitesini artırmak
- Uniform terapötik cevap elde edilir.
- Bu sistemler daha ucuz ve ekonomiktirler.

Oküler İlaç Uygulama Yolları ve Karşılaşılan Zorluklar

Göz, diğer organlara kıyasla, ilaç uygulamada koruyucu yapısı sebebiyle bazı zorluklar oluşturur ve dolaylı olarak düşük biyoyararlanımı da beraberinde getirir. Bu zorluklardan kaynaklanan sorunları bazı önformülasyon ve formülasyon etmenlerinin formülasyon dizayn etme çalışmalarında göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Göze ilaç uygulama şekilleri ve zorlukları Tablo 2.' de özetlenmiştir (18,19).

Tablo 2. Oküler ilaç uygulama yollarının zorlukları

Uygulama şekli	**Zorlukları**
Topikal	Gözyaşı sıvısı ile atılımı sonucunda biyoyaralanım %5'in altındadır.
sistemik	Uzun süreli kullanımda toksik etki ortaya çıkar, biyoyararlanımı %2'den düşüktür. Kanama, katarakt, endoftalmitis, hasta uyumsuzluğu
Intravitreal	Kanama, katarakt, endoftalmitis, hasta uyumsuzluğu
Subkonjiktival	Konjonktival ve koroidal dolaşım
Retrobulbar	Retrobulbar kanamalar, globuler perforasyon, nefes alış verişinde durma.
Posterior jukstaskleral	Cerrahi operasyon ile uygulanır, retina pigment epitel dokusu bariyer görevi yapar.

Oküler tedavi yöntemlerinde terapötik etkinin sağlanabilmesi için, hedeflenen yüzeye uzun süre yüksek etkinlik ile maruz kalması gerekmektedir. Doğru uygulama yöntemi de kullanılması terapötik etkiyi doğrudan etkilemektedir (25).

Yetişkin göz küresinin çapı yaklaşık 24 mm'dir.Göz küresinin ön segmenti esas olarak korea, konjonktiva, iris, siliyer cisim, sklera, aköz hümör ve lensten oluşurken arka segment vitröz cisim. retina, koroid ve skleradan oluşmaktadır (5).

Oküler kürenin ön bölümü olan kornea çok katlı skuamöz ve epitel tabakalarından meydana gelir. Kornea ve konjonktival epitel potansiyel olarak zararlı maddelerin ve terapötik ilaçların girişini sınırlayan hücreler arası sıkı bağlantılara sahiptir. Koruyucu biyolojik mekanizmalar genellikle uygulanan tedavilerinin etkinliğini sınırlar. Bu durum sık sık ilaç kullanmayı gerektirdiği için hastalarda uyum sorunlarına neden olmaktadır (12).

Işığa duyarlı, özelleşmiş hücrelerden oluşan retina, net bir görüntünün oluşmasından sorumlu, görsel sistemin ana lensi olarak görev yapan şeffaf, vaskülarize olmayan bir doku yapısına sahiptir. Kornea ve prekorneal alanı kaplayan gözyaşı filmi, gözün yüzeyini örterek nemli kalmasını sağlayan tabaka olup aynı zamanda içerisindeki immün sıvıları enzimler nedeniyle gözü hastalıklardan da korumaktadır. Bununla beraber, göz hastalıklarını tedavi etmek için yaygın olarak damla, merhem ve jel gibi ilaç formları kullanılmaktadır. Kullanılan ilaçların yaklaşık %90'ı göz damlası olarak uygulanmaktadır. İlacın yaklaşık %95'i, gözü zararlı maddelere karşı koruyan bir mekanizma olan gözyaşı drenajı yoluyla kaybolur (25,26).

Gözyaşı filmi bariyeri, korea bariyeri, konjunktival bariyer, skleral bariyerin yanı sıra kan su bariyeri ve kan retina bariyeri dahil olmak üzere çok sayıda oküler bariyer ve hızlı gözyaşı filtrasyonu nedeniyle zayıf geçirgenlik, etkisiz dağılım ve yetersiz biyoyararlanım ve intravitreal yolla ilaç uygulaması ilaçların klinik etkinliklerini sınırlar. Özellikle gözyaşı gibi fizyolojik engeller, uygulanan ilaçların biyoyararlanımını sınırlayarak oküler hastalıkların tedavisini güçleştirirken kan su bariyeri ve kan retina bariyeri sistemik olarak uygulanan ilaçların sadece %1 ile %2'sinin hedef dokuya ulaşmasına neden olur. Bu nedenlerle tedavinin sık sık uygulanması gerekir(17,25)

Oftalmik preparatların topikal uygulamasında bazı sistemik engeller kornea bariyeri başta olmak üzere yararlanımı oldukça düşürmektedir. Özellikle arka segment hastalıklarının tedavisinde uygulanan ilaçların sınırlı penetrasyonundan dolayı sistemik yoldan etkili ilaç iletimi oldukça zorlayıcı olması nedeniyle ilacın nanoparçacık içinde kapsüllenmesi ilacın bozulmasını önlemeye yardımcı olmaktadır (22,25).

Topikal Uygulama

İlaçların topikal uygulaması, oküler tedavide diğerlerine göre daha kolay uygulanabilir ve yan etkisinin daha az olması sebebiyle ilk uygulama seçeneğidir. Ancak gözün benzersiz anatomik ve fizyolojik bariyerleri, ilaç geçişi için büyük bir zorluktur. Savunma bariyerleri ilaç dağıtımı sırasında, ilacın yüzeyden emilimini azaltır ve zayıf biyoyararlanıma yol açar. Uygulanan ilacın %1 - 5'i etkin olur (20).

Ek olarak oftalmik preparatlarda topikal uygulama sırasında göz kırpma refleksi, gözyaşı akıntısı gibi faktörler de düşük etkinlik, alınan ilaç miktarı kaybı ve dolayısıyla düşük oküler biyoyararlanım sorununu da beraberinde getirmektedir.

Bu nedenle yeni çalışmalar, oküler bozukluklar için sık damlatmaya ihtiyaç duymadan ilacın biyoyararlanımı yüksek formülasyonlarla geliştirilmesine yönelik çözümler sunabilen oküler dağıtım sistemlerini formüle etmeye odaklanmıştır (2,20,26).

Subkonjoktival Uygulama

Subkonjonktival enjeksiyonlar ya göz küresi konjonktivasının (epibulbar) altına ya da göz kapağını kaplayan konjonktivanın altına (subpalpebral) verilebilir. Subkonjonktival enjeksiyonlar genellikle kornea, sklera, ön uvea ve vitreustaki lezyonların tedavisi için kullanılan bir uygulamadır ayrıca yüksek ilaç konsantrasyonları gerektiren ağır koşullarda kullanılabilir.

Konjonktivanın altına enjeksiyon ilaçların, ilaç girişini sınırlayan ana engellerden biri olan epiteli atlamasına izin verir ve enjekte edilen ilaçların oküler venöz dolaşıma hızlı emilimini gerçekleştirir (27).

İntravitreal Uygulama

İntravitreal enjeksiyon oküler ilaç dağıtımının bir modelidir. İntravitreal enjeksiyon, hedef organa daha yüksek bir ilaç konsantrasyonu sağlar ve sistemik uygulamanın eşlik eden istenmeyen yan etkilerini önler. Ancak bu tür enjeksiyonların hacmi ön kamarada 0,1'den fazla olmamalıdır. İntravitreal ilaç dağıtımı, retina ve vitreus bölgesinde daha yüksek miktarda ilaç sağlar. Bu nedenle sistem, diğer yollardan ilaç verilmesinde meydana gelen çeşitli advers reaksiyonlardan gözü korur (2,27).

Göze Uygulanan Dozaj Şekilleri

Oftalmik preparatlar aşağıdaki gibi sıralanabilir (2,23,28):

1- Göz Damlaları

- Çözeltiler
- Jeller
- Süspansiyonlar
- Kullanılacağı zaman sulandırılan tozlar

2- Yarı Katı Dozaj Şekilleri

- Merhem ve jeller

3- Kolloidal Oküler Sistemler

- Mikroküreler
- Nanoküreler
- Nanokapsüller
- Lipozomlar
- Niozomlar
- Dendrimerler
- Mikroemülsiyonlar
- Nanoemülsiyonlar
- Katı lipit nanopartilüüler
- Nano yapılı lipit taşıyıcılar

4- Katı Dozaj Şekilleri

- Lensler
- İmplantlar
- Oküler insertler

Göz Damlaları

Göz damlaları, su ve yağ çözeltileri, emülsiyonlar veya bir veya daha fazla aktif bileşen içeren süspansiyonlar dahil olmak üzere farklı steril ve izotonik formlarda sunulur. Göz damlaları, genellikle doğrudan göz yüzeyine veya göze uygulanan farmasötik formlarda kullanılır. Kullanımı kolay ve daha ucuz olduğundan tedavi amaçlı preparatların başında gelir (29).

Göz damlası formülasyonların bazı doğal dezavantajları (çözelti veya süspansiyon şeklinde göz damlaları), yüksek lokal konsantrasyonda daha uzun süre kalamamaları, dolayısıyla zayıf biyoyararlanıma ve çözünmüş ilacın kararsızlığına yol açmalarıdır. Koruyucular gibi diğer katkı maddeleri toksisiteye yol açabilir. Göz preparatlarının çoğu sulu ortam, tamponlar, çeşitli katkı maddeleri, emülgatörler, süspanse edici maddeler, çözücüler ve yardımcı çözücüler, izotonisite değiştiriciler, koruyuculardan oluşur. Göz damlası için optimum pH, yaklaşık 7.4 olan gözyaşı sıvısı ile aynı olmalıdır. Ayrıca etkin maddenin tamponlanması, etkin maddenin stabilitesi ve göz dokusunun göz damlasına olan toleransı kritik etkin maddelerindendir.

Formülasyon geliştirme sırasında; polivinil asetat, metil selüloz gibi viskozite arttırıcıların eklenmesiyle veya hidrojen iyonu konsantrasyonu ile viskozite artırılarak çözeltilerin gözde kalma süresi iyileştirilebilir. Gözlerden drenaj da, solüsyonların damıtılmasından sonra ya zamanında oklüzyonla ya da göz kapağı kapatılarak azaltılır. Bu sayede ilaç ve dokuların temas süresi arttırılırken sistemik absorpsiyon da azaltılır (2, 23,30).

Yarı Katı Dozaj Şekilleri

Bu sınıf dozaj şekilleri uygun taşıyıcı içerisinde çözünmüş olan yada dağınık halde bir ve birden fazla etkin maddeyi içeriklidirler(30). Sıklıkla tercih edilen yarı katı bir dozaj şekli, göz merhemleridir.

Göz merhemleri, harici kullanım için yarı katı dozaj formları dır ve genellikle vücut sıcaklığı olan 36,5°C civarında erime noktasında olup katı veya yarı katı hidrokarbon bazından oluşur. Göz merhemleri göze uygulandıktan sonra küçük damlalara ayrışır, bu damlalar konjonktival kesede daha uzun süre kalır, Bu nedenle göz merheminin biyoyararlanımı göz damlasına göre daha yüksektir. Genellikle çoğu güvenlidir ve hastalar tarafından iyi tolere edilir, ancak tahriş ve bulanık görme gibi dezavantajları vardır, bu nedenle göz merheminin yatmadan önce uygulanması tavsiye edilir (25,31).

Katı Dozaj Şekilleri

Lensler: Oküler ve intraoküler olmak üzere iki tiptir;

Kontakt lens, gözlük kullanımına alternatif, görme bozukluğunu düzeltmek için kullanılan korneada yapışmış halde, ince ve görünmez halde olan bir dozaj şeklidir. Kontakt lensler ile bai yaygın hastalıklar olan miyop, astigmatism ve hipermetropun düzeltmenin yanı sıra terapötik olarak ve kozmetik amaçlı olarak kullanılabilirler. Kontakt lensler genellikle poli

(metil metakrilat) (PMMA), hidrojeller,hidroksi (etilmetakrilat) (HEMA) ve silikondan hazırlanmaktadır. Kontakt lensler hasta konforu açısından; iritasyon yapmamalı, gaz geçirebilmeli sterilitesi dayanıklı olmalı, kontaminasyona açık olmamalıdır**.**

İntraoküler lensler genellikle PMMA kullanılarak üretilir. Ek olarak HEMA, hidrojel, poliüretan, polikarbonat ve akrilat gibi polimerler maddeler de kullanılmaktadır. Gözde bir işlem ile uygulanabidikleri için, sonrasında enfeksiyon oluşturmamaları, immün tepkilerin çok düşük oranlarda görülmesi, sterilitenin uzun ve kullanım ömrünün kısa olmaması istenmektedir (28,30,32).

İmplantlar: İmplantlar cerrahi bir işlem ile doku yatağı içine yerleştirilen materyallerdir. Göz kasları normal olarak hareket ederken ,oküler kaslar üzerine bağlanan implantlar da birlikte kas hareketi yapmaktadır. Böylelikle implant gözün bir dereceye kadar hareket edebilme yeteneği olur ve daha kaliteli yararlanım elde edilir. Biyoparçalanan polimerlerden yapılan implant formları salım bittiğinde tekrar ameliyat işlemi ile gözden alınırlar (2,28,30).

OKÜLER İNSERTLER

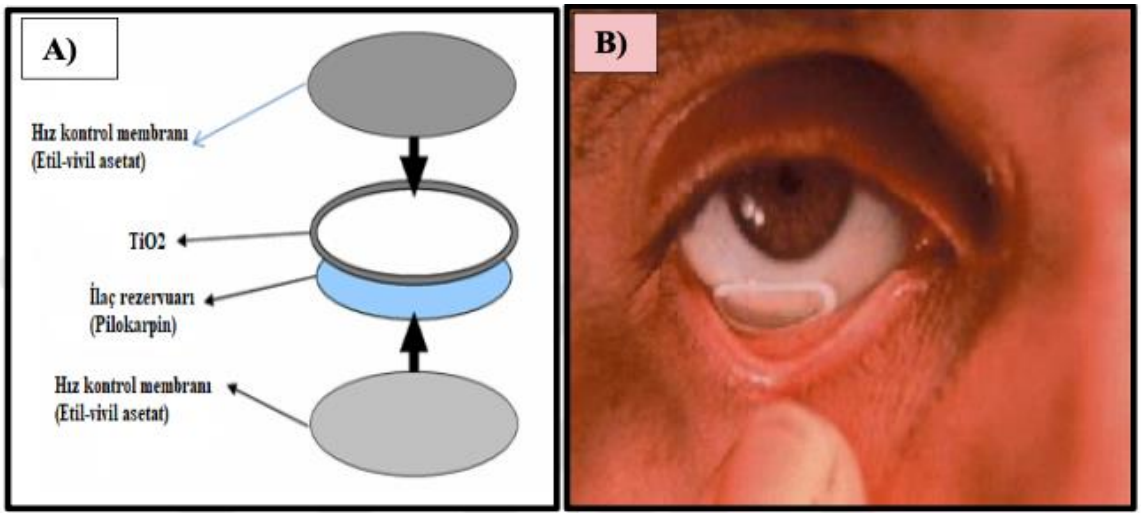
Oküler insertler çeşitli göz hastalıklarını tedavi etmek için kullanılmakta olan dozaj formları içerisindeki en önemli yenilikçi geliştirmelerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Oküler İnsert şekil ve büyüklüklüğü konjuktival keseye yerleştirilebilecek şekilde, lokal veya sistematik etki oluşturmak için tasarlanmış katı ve steril ilaçlardır. Oküler insertler biyolojik açıdan zararlı reaksiyon vermeyen, alerjik etki göstermeyen, yardımcı polimerlerden hazırlanırlar. Etkin madde polimerik yapı içerisinde çözülerek insertlere yüklenirler. Gözün alt göz kapağının içinde bulunan Cul-de-sac bölgesine yapıştırılırlar ve etkin maddenin salımı uzun süre devam eder. Diğer oftalmik dozaj formlarında karşılaşılan dezavantajların önüne geçilmesinde kullanılır (33,34).

Oküler insertlerin geleneksel oftalmik ilaç verme sistemlerine göre birçok avantajı vardır;

- Doğru dozlama olanağı
- Aktif bileşenlerin sabit hızda ve sınırlı sistemik absorpsiyonla yavaş salınması olasılığı,
- savunma mekanizmalarına daha az duyarlılık sağlar,
- Konjonktival kesede daha uzun süre kalır ve geleneksel oftalmik dozaj formlarından daha stabildir,
- Uygulama sıklığı azaldığı için hasta uyuncu artar.
- Yeni formülasyon yaklaşımlarının kullanılmasına olanak sağlar,

- İlacın sistemik absorpsiyonunun aza indirir (34).

Ayrıca oküler insertlerin kullanılması ilaç uygulama sıklığının azalmasına bağlı olarak yan etki ve bulanık görme oluşumunun da azaltılmasını sağlar. Böylece hem oküler biyoyaralanımı artırarak iyi bir tedavi sağlar hemde kontrollü salım ile ilaca maruziyet süresini uzatarak önemli bir problemin önüne geçer (35,36).

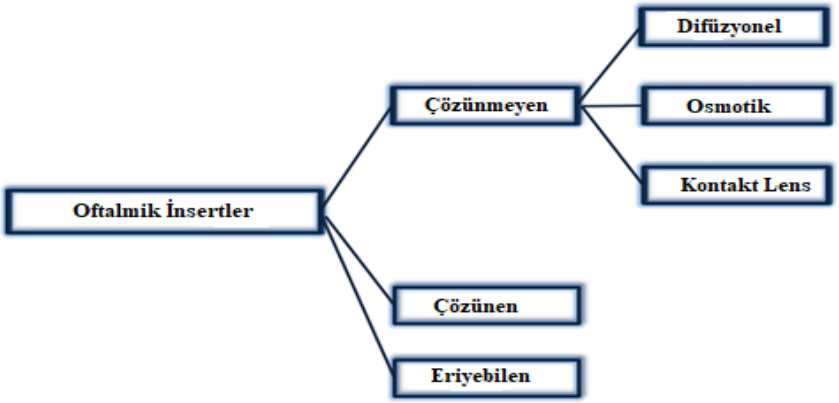


A) Ocusert® insertin gösterimi **B)** Ocusert®'in uygulaması gösterimi (37).

Şekil 5. İnsert uygulanması

Tedavide oftalmik insertlerin uygulanmasını sınırlayan birincil kusurlar ve faktörler, uyumdur, çünkü çoğu hasta, oküler insertlerin gözde yabancı cisim gibi hissetmesi ve insertlerin kullanılması ve yerleştirilmesindeki başarısızlıklar nedeniyle geleneksel oftalmik dozaj formlarını tercih etmek istemektedir. Örnek olarak gözden fark edilmeyen atılımlar gerçekleşebilir bu durum tedavide aksaklık ve hastanın güven kaybına sebep olmaktadır (38, 39).

İnsertler çeşitli olarak doğal, yarı sentetik ve sentetik polimer maddelerden üretilmektedir. Kullanılan polimer maddeler gözde parçalanabilir yada parçalanmadan kalır bu çeşit kullanım sonrası etkin madde salımı sona erdiğinde oftalmik insert göz içinden çıkartılırlar(35-40).



Şekil 6. Oftalmik insertlerin sınıflandırılması

Kuru göz sendromu tedavisi için yapay gözyaşı üretiminde kullanılan, etkin madde içermeyen form (Lacrisert®) Hidroksi propil selüloz'dan hazırlanır ve alt göz kapağı içine yerleştirilir. Uygulama alanlarından çıkarılmalarına gerek kalmaması için tamamen çözünür olmaları büyük avantaj sunar. Oküler yüzey ile temas ettikleri zaman çözünürler ve 6-12 saat çözünmeden kalır ve sonunda viskoz ve sulu bir tabaka meydana getirirler(42).

Çözünür oftalmik insertler doğal, sentetik veya yarı sentetik polimerlere dayalı olarak üretilmektedir.

Çözürlük durumu farketmeksizin yeni ilaç taşıyıcı sistemlerde geliştirilen oftalmik insertler yüklü olduğu etkin maddeyi belirlenen tedavi süresince yavaş ve uzun sürede salarak göz doku sistemlerine taşımaktadır. Etkin madde insertten göz dokularına salımı 3 farklı mekanizma ile gerçekleştirir(43):

- Difüzyon
- Ozmos
- Biyoparçalanma

Difüzyon

oftalmik insert etkin madde yüklü bir polimerik yapıdır. Kullanılan polimer biyoparçalanabilir özellikte değil ise ve etkin madde salımı bu polimerik yapının gözeneklerinden difüzyon ile gerçekleştirilir.

Gözyaşı sıvısı insertin içine geçer ve bu gözeneklerinden difüzyona uğrar. Diğer yolu ise etkin madde polimer içerisinde dağılmış ise haldeyse göz yüzeyine yapıştırılır ve gözyaşı sıvısı ile insert içerisinde dağılmış halde bulunan etkin madde matrisine geçerek polimer yapıyı

gevşetmeye başlar. Ve matris parçalanarak çözünen matristeki etkin maddenin göz dokularına difüzyon ile geçişinin gerçekleşmesini sağlar(43).

Ozmoz

Oftalmik insert içerisini iki bölüm olarak ayıran madde geçişine izin vermeyen elastic bir zar yapısı içerir. İnsertin geçirgen olmayan elastik zar tarafında etkin madde salınımını gerçekleştirmek üzere aralık bulunmaktadır. ilk kısım yarı geçirgen bir zar ve geçirgen olmayan elastik bir zar arasındadır. Birinci bölme yarı geçirgen zardan geçemeyecek çözücü içermektedir. Diğer kısmı da ise geçirgen olmayan bir zar sarmalamaktadır İkinci kısım ilacın jelimsi bir yapı oluşturması için görevi yapar. Göz yaşı elastik zarda gergin bir yapı oluşturarak birinci kısmı genişletir. Ve birinci kısım genişlediğinde ikinci kısımda daralma meydana gelir. Böylelikle etkin maddenin geçirgen olmayan esnek zarındaki aralıktan salım olayı meydana gelmektedir(43).

Biyoparçalanma

Biyoparçalanan insert yapısında; etkin madde nin dağılma gösterdiği biyolojik açıdan parçalanabilir polimer maddenin kullanılarak hazırlandığı bir yapı matrisinden meydana gelmektedir. Yani insertlerde, ilaç matriks içerisinde homojen olarak dağıtılmıştır. İnsert gözyaşı ile temas ettiğinde polimere yüklü etkin maddenin yer aldığı matris biyoparçalanma geçirerek etkin maddenin devamlı halde salımını sağlamaktadır.

Etkin madde salımı aynı zamanda polimerin biyoparçalanmasına neden olan kimyasal ve enzimatik tepkimelere dayanmaktadır. Yeni nesil taşıyıcı sistemlerin asıl amacı, konjonktival bölge içerisine uygulanmakta olan formların etki süresinin devamlı olmasını sağlayan formülasyonların geliştirilmesidir. Yapılan yeni tasarımlar ile insert uygulamasından sonra göz içerisinde kalıntı kalmadan tamamiyle parçalanmasını amaçlamaktadır (43).

İnsert Formülasyon Bileşenleri

İnsert formülasyonlarında kullanılan formülasyon bileşenleri olarak mikrobiyal koruyucular, emülgatörler, kıvam arttırıcılar, plastifiyan ve nemlendiriciler gibi yardımcılar ile uzun salım, irite etmeyen ve göz yüzeyine kolay yapışan bir form elde edilmesi sağlanmaktadır.

Polimerler

Doğal polimerler: Doğal polimerlerin ve sentetik polimerlerin kullanıldığı preparatlar yüksek terapötik etkinliği ve gelişmiş hasta uyuncu sağlamaktadır. taşıyıcı sistemde biyoparçalanabilir doğal polimerlerin kullanılması azalmış toksisite ile birlikte salım bittiğinde gözü rahatsız edecek kalıntı da bırakmaz. ilaç formülasyonunda kullanılan polimerlerin parçalanması sırasındaki en önemli parçalanma mekanizması kimyasal parçalanmadır. Bazı belirli enzimler içeren doğal polimerler için enzimatik parçalanma, mekanizmaları mevcuttur.

Çözünebilen oküler insertler üretilirken tercih edilen doğal kaynaklı polimerler genellikle kolajen,kitosan ve türevleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çeşit polimerler kullanıldığında etkin madde insertlere, etkin madde çözeltisine daldırılarak ilacı emmesi suretiyle yapılır ve daha sonra kurutma işlemi uygulanır. İnsertlere yüklenen ilacın miktarı, kullanılan bağlayıcı miktarına, konsantrasyon ve ıslatma süresine bağlıdır (44,45).

Sentetik polimerler: Sentetik polimerler kullanılarak hazırlanan insert formülasyonları, oküler kullanım açısından iyi uyum sağlamışlardır. Biyoparçalanabilir polimerler vücut içerisinde kimyasal tepkimeler ile suda çözünür forma dönüşürler ve kolay işlenip oküler kullanıma iyi uyum sağlarlar.

Bu çeşit insertler için, etkin madde salımı iki adımda gerçekleşmektedir. Birinci adımda, gözyaşı sıvısı inserti ıslatarak hızlı bir ilaç salımı gerçekleştirir. Daha sonra insertin etrafında jel bir tabaka oluşur. İkinci adımda ise inserti çevreleyen jel tabakası, difüzyon ile uzun salımını gerçekleştirir (28,45).

Bu yapıya SODI (Soluble Ocular Drug Insert) örnek gösterilebilir. Sovyet Sosyalist Cumhuriyetleri Birliği tarafından Rus kozmonotların kullanımı için geliştirilmiş oftalmik insert akrilamid, vinil prolidon, etilakrilat polimerlerini içermekte, bu sayede yaklaşık 15 saniyede yumuşayarak, 10 dakika içerisinde viskoz sıvıya dönüşmekte ve 60 dakika sonra polimerik çözelti haline gelmektedir (45).

Tablo 3. Çözünür insert preparatları için kullanılan sentetik ve doğal polimerler (46,47).

Çözünebilen Sentetik Polimerler	Poli(laktik asit) (PLA) Poli(glikolikasit)(PGA) PLGA) Polikaprolakton Poli(alkil-siyanoakrilat)(PACA) Poli(anhidrit) Poli(aminoasitler)
Çözünebilen Doğal Polimerler	Kitosan ve türevleri (karboksimetil kitosan) Jelatin Albumin Kollajen Aljinat

Jelatin

Kolajennik hayvan dokularının kısmi olan hidrolizinden üretilir. Katı sert yapıda olan kolajeni suda çözünebilen bir proteine yapısına çevirir. Oküler taşıyıcı olarak jelatin kullanıma hazır halde bulunabilir ve parenteral de formüle edilebilmesi gibi üstünlüklere sahiptir (47).Düşük sıcaklık ile üretildiklerinde parçalanma potansiyelinin daha düşük olması nedeniyle jelatin genel olarak ilaçları mikrokapsüle etmek, matriks be kaplama maddesi amacıyla kullanılabilmektedir(43).

Bu özelliklere göre jelatin mikrokürelerden etkin madde salımının en fazla hidrasyone hız miktarına, mikrokürelerden salım hızının ise matriksin parçalanmasına bağlı olduğu bilinmektedir(48).

Sodyum Aljinat

Aljinat, Aljinik asitin sodyum tuzudur. ana kaynağı kahverengi alglerdir. Birçok su yosununda bulunur ve işlemler sonrası elde edilir. mannuronik asitin homojen halde bulunam parçaları(M-M blokları), glukuronik asitin homojen haldeki parçaları (G-G blokları) ve M-G bloklarından meydana gelen karbonhidrat yapıya sahip polimeridir (46).

Farmasötik kullanımda bağlayıcı, viskozite ajanı, stabilizatör olarak kullanımının yanında bu biyolojik polimer uzun salımlı sistemlerin üretilmesinde sıklıkla tercih edilmektedir(47).
Bu intermoleküler bağlar sebebiyle yüksek viskoziteli "asit jel" oluşumunu sağlar. Jelleşmeden sonra su molekülleri aljinat matriks içinde fiziksel olarak tutulurlar fakat hala serbesttirler ve hareket edebilirler. Bu durum kıvam artırıcı görevini yapmasını sağlar (46,47).

Plastifiyanlar

Plastifiyanlar insert formülasyonunda önemli bir rol oynar. Plastikleştiricilerin eklenmesiyle filmin mekanik ve çekme mukavemeti iyileştirilir. Aynı zamanda esneklik ve parlaklığıda artırarak akışkanlığı düzenlenmiş olur. Plastifiyan seçimi, kullanılan polimer ve kullanılan solvent tipi uyumluluğuna bağlıdır.Yaygın olarak kullanılan plastikleştiriciler, polietilen glikol, gliserin, düşük moleküler ağırlıklı a/a konsantrasyonunda plastikleştirici şeridin çatlamasını ayrılmasını ve yayılmasını önlemeye yardımcı olacak şekilde yaygın olarak kullanılır(50).

Mikrobiyal Koruyucular

Çok dozluk göz preparatları, bir ya da birden fazla koruyucu madde içerirler. Kullanılan koruyucu maddelerin, hem formüldeki diğer bileşenlerle geçimli olması, hemde göz dokuları üzerinde irritan ve toksik etki göstermemesi gerekir. Koruyucu maddelerden en çok kullanılanlar, benzalkonyum klorür, klorheksidin glukonat, fenilmerküri nitrat, fenilmerküri borat, fenilmerküri asetat, thimerosal, klorbutanol ve parabenlerdir.

Benzalkonyum klorür, göz preparatlarında en çok kullanılan koruyucu maddedir. % 0.5 konsantrasyonun üzerindeki benzalkonyum klorür çözeltisi, gözyaşı filmi parçalanma zamanını yarıya düşürmektedir (51). Bu koruyucuyu içeren göz preparatları uzun süre kullanılırsa, iritasyon, fotofobi (ışığa duyarlılık) ve kornea ödemi gibi yan etkilere yol açabilir.

Sonuç olarak, kuru göz hastalıklarında kullanılacak Küçük molekül ağırlıklı yüzey etkin maddeler, gözyaşı filminin yayılmasını ve korneanın ıslanmasını kolaylaştırdıkları için, yapay gözyaşı formülasyonlarında, kontakt lens çözeltilerinde ve diğer göz preparatlarında yardımcı madde olarak kullanılır. Bu amaçla, hem iyonik hem de iyonik olmayan yüzey etkin maddelere başvurulmaktadır. Ancak, bu tip küçük moleküllü yüzey etkin maddelerin, makromoleküllü olanlara göre göz dokularında irritasyon ve toksik etki gösterme tehlikesi bulunmaktadır. Koruyucu madde olarak göz preparatlarında sıklıkla kullanılan benzalkonyum klorür, yüzey etkin özellik taşıması nedeniyle de bu tip formülasyonlarda yarar sağlar. Ancak, bilinen bazı sakıncaları nedeniyle günümüzde, yüksek konsantrasyonlarda kullanılmamaktadır (28,51)

İnsert Üretim Yöntemleri

Birçok insert üretim yöntemi bulunması işe birlikte sıklıkla tercih edilen yöntemler(2, 52);

1. Çözücü uçurma
2. Liyofilizasyon
3. Sıcak eriyik ekstrüzyon (Hot-melt)
4. Katı dispersiyon ekstrüzyon
5. Yuvarlama yöntemi olarak sıralanabilir.

Çözücü uçurma yöntemi: Bu metot ile ilk olarak uygun insert formülasyon içeriklerine göre çözelti hazırlanır. Şekline göre belirlenen kaplara dökülerek uygun sıcaklık ve sürede kurutma işlemi gerçekleştirilir(52).

Liyofilizasyon yöntemi: Liyofilizasyon yönteminde uygun insert formülasyon içeriklerine göre çözelti hazırlanarak liyofilizasyon işlemi uygulanır(52).

Kolloidal Oküler Sistemler

Nanopartiküller ilaç veya etkin maddeler için nano boyuttaki ilaç taşıyıcıları dır. Geliştirilen güncel ilaç moleküllerinin düşük biyoyararlanımı ayrıca çözünürlüklerinin düşük olması dezavantajlarına karşı olarak bu sistemler geliştirilmiştir(28). Oküler sistemlerin, yeteri kadar etkin madde yüklenebilmesi ve en önemlisi uzun salım özelliklerini bir arada gösterebilmelidirler. kolloidal ilaç sisteminin yüklü olduğu etkin maddenin hedeflenen bölgeye yavaş ve uzun sürede salıvermesi ve farmasötik yönden de kolay uygulanabilir olması istenir. Ayrıca taşıyıcının kendisi toksik olmamalı, dokularda parçalanabilmeli ve birikmemelidir.

Genellikle 10-1000 nm aralığında partikül boyutunda olan nanopartiküller, boyutlarının çok küçük olması sebebiyle su içerisinde hızlıca disperse olurlar (53,54).
Bu sistemlerin etkinliği ilgili olduklan hücreler tarafından içine alma yada fagosite etme yeteneklerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir(54). Kolloidal ilaç taşıyıcı sistemlerin etkin maddeyi hedeflenen bölgesine taşıması amaçlanırken, ilacın kontrollü şekilde salınması da göz önünde tutulmalıdır(28,50,55).

Bahsedilen bu gereksinimlerin tam olarak karşılanması amacıyla, kolloidal sistemlerin nano boyuttaki preparatlara yönelimi ve üzerindeki geliştirme çalışmaları günümüzde hızla artmaktadır. Kolloidal sistemler içerisinde lipozomlar, nanopartiküller ve nanoemülsiyonlar olarak sınıflandırılmaktadırlar (56).

Kolloidal ilaç taşıyıcı sistemler aşağıda sıralanmıştır (28).

- Lipozomlar
- Niozomlar

- Çoklu emülsiyonlar
- Mikroemülsiyonlar
- Mikrosüngerler
- Mikropartiküller
- Nanopartiküller
- Polimerik yapılı nanopartiküller
- Lipit yapılı nanopartiküller
- Kitozan yapılı nanopartiküller

KORNEA HASTALIKLARI

Kornea, yapısı içerisinde birçok sinir lifi bulundurduğundan dışarıdan gelen etkilere karşı çok duyarlı ve hassastır. Korneanın kırıcılık gücü değişken değildir, göze gelen ışığın en fazla kırılma gösterdiği tabaka olması nedeniyle kornea dokusundaki deformasyon net görüş kalitesinin tamamen yok olmasına neden olmaktadır. Kornea, görüntünün net bir şekilde göz içine iletilmesi için saydamdır. Kan damarı içermediğinden kendine has antikorları, sinir hücreleri doğal koruyucu göz kırpma refleksi özellikleri ile kornea sağlığının sürekliliğini sağlayarak kendini korumaktadır. Bu hayatsal yapı çevresel veya genetik etkinlere bağlı değişime uğrayarak bazı görme rahatsızlıklarına sebep olabilir (11, 57) .

Çoğu göz hastalığı veya inflamasyonu korneanın üst tabakasında gerçekleştiğinde kendini yenileme yetisine sahip olduğundan yeniden eski sağlığına dönebilmektedir. Fakat enfeksiyon kornea ve alt katmanları da etkilenmiş ise iyileşme süreci hem yavaş hem de gözde leke gibi geride hasar bırakarak gerçekleşir. Kornea yapısının saydam özelliğini kaybettiği için görüş kalitesi bozulur ve bulanık hale gelir(57,58).

Korneanın sahip olduğu işlevlere göre görülen hastalıklarda çeşitli semptomlar ile kendini göstermektedir. Bu semptomlar içerisinde yaygın olarak;

- Bulanık Görme
- Göz Yaşarması
- Batma Hissi
- Şiddetli Ağrı
- Kızarıklık
- Kaşıntı
- Çapak oluşumu
- Göz kırpma sıklığının artması

semptomları ile izlenmektedir (58).

Korneayı etkileyen hastalıkların başında; Alerjiler, Konjonktivit, Kornea Enfeksiyonları Kornea Distrofileri, Pterigium, Kornea Ülseri, Keratokonus gelmektedir.

Kuru Göz Sendromu

Kuru göz hastalığının "oküler yüzeye potansiyel hasarı olabilecek, rahatsızlık hissi, görsel bozukluk ve gözyaşı filminin dayanıksızlığına neden olan, gözyaşı ve oküler yüzeyin çok-faktörlü bir hastalığı" şeklinde tanımlanmıştır. kuru göz sendromunun immünopatolojik temeli, lakrimal işlev biriminde, inflamatuar hastalık veya deformasyonunda gözyaşı film instabilitesi ve gözyaşı hiperozmolarite sini içermektedir. Gözyaşı film tabakasının artan ozmolaritesi ve oküler yüzeydeki inflamasyonu ile birlikte, göz yüzeyindeki gözyaşı yeterince yağlı veya mukus bileşeni olmayan gözyaşı üretiminden kaynaklanır (59,60).

Gözyaşı üretimi gözyaşı tabakasında gerçekleşir. Bu tabaka kornea ve konjonktiva sürekli havaya maruz kaldığında hasara karşı sağlıklı bir tampon sağlayan stabil, homojen bir tabakadır. Bu nedenle devamlı üretimi ve drenajı göz sağlığı için çok önemlidir. İyi bir görüş sağlamak için pürüzsüz bir göz yüzeyinin korunmasında hayati bir rol oynar. Yavaşca ve sabit hızlı üretilen gözyaşı sürekli olarak gözün yıkanmasını sağlayarak nemli kalmasını ve korneayı besleyerek konforlu çalışmasına yardımcı olur.. Ayrıca yaraların iyileşmesini sağlayarak gözü enfeksiyonlara karşı korur (60,61).

Azalan gözyaşı salgısı, gözyaşı içeriğinin bozulması ve artam ozmolaritesi sebebiyle cerrahi operasyonlar, koruyucu içerikli topikal göz damlalarının uzun süreli kullanımı gözyaşı film instabilitesini ortaya çıkarmaktadır(61,62).

Kuru göz sendromu da doğrudan, gözün ön tarafını kaplayan gözyaşı film tabakasının yavaşlaması ile doğal gözyaşı salgısının yapı ve işlevinin bozulmasına tepki olarak ortaya çıkar (61,63).

Bazen çevresel ve edinsel faktörlerin etkisiyle, bu tabakada üretilen gözyaşının aşırı buharlaşması veya içerik olarak yeterli bileşeni olmayan gözyaşı üretimi gerçekleşir; gözün nemini koruma işlevini kaybetmesine sebep olur ve kuru göz sendromu ortaya çıkar.

Bu durum gözde, hafif derecede tahriş edici şiddette rahatsızlığa neden olur. ilerlemesi durumunda ise sadece tahriş semptomlarına değil, aynı zamanda kararsız ve aralıklı olarak değişen görüşe de yol açar.

Bu nedenle kuru göz sendromu daha uygun bir şekilde "Gözyaşı Filmi Bozukluğu" olarak adlandırılabilir. Kuru göz sendromu veya gözyaşı filmi disfonksiyonunun diğer semptomları şunları içerir (63,64) :

En sık belirtisi kum gibi batma veya gözde yabancı cisim hissi ile birlikte;

- Tahriş Olma
- Yanma Hissi
- Batma Hissi
- Hafif Kaşıntı
- Işığa Bakamama
- Bulanık Görme
- Kontakt Lens İntoleransı
- Kızarıklık
- Mukoza Akıntısı
- Göz Kırpma Sıklığında Artış
- Göz Yorgunluğu
- Oküler olmayan semptomlar:
- Ağız kuruluğu, diş boşlukları, ağız ülserleri
- Yorgunluk
- Eklem ağrısı/kas ağrısı

gibi günün ilerleyen saatlerinde kötüleşen semptomlar ile kendini göstermektedir. Kuru göz semptomu sıklıkla görülen bir hastalık olmakla beraber hızla yaygınlaşmaktadır.

Dünya genelinde yetişkin popülasyonun % 6-34' nün kuru göz sendromuna yakalandığı düşünülmektedir. Göz hastalıkları polikliniklerine gelen hastaların, tahmini olarak %25'i kuru göz sendromu semptomları göstermektedir (64). Amerika Birleşik Devletleri'nde 40 yaş üzeri popülasyonda yaklaşık olarak 7.2 milyon kişide kuru göz sendromu semptomları görüldüğü bilinmektedir (64, 65).

Risk Faktörleri

Göz kuruluğu için yaşlılık hali ve kadınlarda menopoz sonrası dönem içerisinde olmak, sık rastlanan risk faktörlerindendir (66).

Diğer risk faktörleri (67):

- Ağırlaştırıcı Çevresel Koşullar
- Topikal İlaç Kullanımı

- Kontakt Lens Kullanımı, Alerjik Konjonktivit
- Sigara İçmek veya Dumanına maruz kalmak
- Sistemik İlaçlar
- Kronik Viral Enfeksiyonlar
- Parkinson Hastalığı (göz kırpma refleksi azalması sonucu)
- Beslenmeyle ilgili Faktörler
- Hormonal Durum

Gözyaşı Sistemi

Gözyaşı sistemi; gözyaşı bezleri, gözyaşı kanalcıkları, burun -gözyaşı kanalı (nazolakrimal kanal) ve kesesini'nden oluşan bir sistemdir(68,69).

Gözyaşı Filmi Tabakası

Prekorneal gözyaşı filmi konjonktiva ve kornea yüzeyini kaplayan ince sıvı bir film tabakasıdır. Bazal gözyaşı denilen gözyaşı tipi ile, korneanın dokusunun kaygan (lubricant) ve doygun halde kalmasını sağlar. Gözyaşı film yapısı göz yüzeyine gelen mikropartiküllerin lizozim enzimi ile yok etmektedir yaklaşık %95'ini 10 dakika içinde yok eder bunun yanında epitelyal dokularının göz kırpma sırasında oluşabilecek hasardan korunmasını sağlamaktadır(68,70).

Gözyaşı filminin, kalınlığı 2-5.5 µm olup ultra ince bir yapıya sahiptir. Normal olan gözyaşı hacmi 6.2µl± 2.0 µl'dir. Gözün dış yüzeyindeki total gözyaşı hacmi 10 µl'dir. gözyaşı salgısının hızı 1.2µl/dk olup normal buharlaşma hızı 0.14µl/dakikadır (68,71).

Gözyaşı

Gözyaşı; oküler yüzeyin fonksiyonunu korumak ve sağlığının devamını sağlamak için gereklidir. Bikarbonat, klor, potasyum ve sodyumun; plazma seviyesinin hafif üzerinde olduğu söylenebilir(69). Gözyaşındaki üre miktarı 0.04 mg/100 ml, glikoz miktarı ise 2.5 mg/100 ml'dir (70). Glikozun plazmadaki artışı, aynı oranda gözyaşına yansır (68). Göz yaşındaki protein miktarı oldukça yüksek olup, yaklaşık 1-2 gr/ 100 ml'dir. Bu konsantrasyon yaşla birlikte azalır. Gözyaşı proteini, % 30 albümin, % 40 globulin, % 30 lizozim enziminden oluşur(64,70).

Gözyaşı tüm tabakaları ile bir bütün olarak alınırsa, fonksiyonları şu başlıklar altında toplanabilir (61,72):

- Kornea ön yüzeyine yapmış olduğu ince tabaka ile korneanın yüzeyel katlarının oksijen ve glikoz alışverişlerini sağlamaktadır
- Korneaya düzgün bir oküler yüzey sağlar.
- İçinde bulunan IGA, lizozim, laktoferrin, beta lizin ve bazı immun hücreler, antibakteriyel özelliğe sahiptir.
- Kornea ve konjonktiva daki ölü hücreler ve yabancı cisimleri mekanik olarak temizler.
- Kornea ve konjonktiva nın kayganlığını sağlar.

Kuru Göz Etiyolojisi ve Sınıflandırılması

Kuru göz sendromunun sınıflandırılmasında son olarak, Kuru Göz Çalışma Grubu (DEWS)'nun yaptığı, tüm araştırmaları ve sınıflamaları toplayıp gözden geçirerek, sendrom nedenlerine göre (Etyopatogenez) sınıflama yapılmasına karar vermiştir ve bu şekilde sınıflandırılmıştır. (70,72)

Buna göre, iki ana grup ve çevresel etkinler olmak üzere, üç gruba ayırarak yeni bir sınıflandırma sistemi önerisinde bulunmuştur (70,73):

- Etyopatojenik Sınıflama:
  a. Aköz Gözyaşı yetmezliği (Sjögren veya non-Sjögren)
  b. Aşırı Buharlaşmaya Bağlı Oluşan Kuru Göz (Evaporatif Kuru Göz)
- Mekanizmaya Dayanan Sınıflama:
  a. Gözyaşı Hiperozmolaritesi
  b. Gözyaşı Film İnstabilitesi
- Çevresel Faktörler:
  a. İç Çevresel Faktörler
  b. Dış Çevresel Faktörler

Kuru göz semptomları görülen bireylerin %10'unda yalnızca aköz yetmezlik ile izlenmektedir. Sıklıkla meibum bez disfonksiyonuna bağlı olarak kendini gösteren buharlaşmaya bağlı kuru göz sendromu ve aköz gözyaşı yetmezliği veya aşırı evaporatif karışık tip kuru göz sendromu ise vakaların %80'inden fazlasını içine almaktadır. Her iki mekanizmaya bağlı oluşan kuru göz sendromunda oküler yüzey inflamasyonu sendrom oluşumunun ana nedeni olarak görülmektedir (74,75).

Tablo 4. Kuru göz etiyolojisinin sınıflaması (64,70)

Kuru Göz Oluşumunu Etkileyen Faktörler	
Çevresel Faktörler **İç Çevresel Faktörler** **a)**Göz Kırpma Sıklığının Azalması **b)**Düşük Androjen Yüksek Östrojen Seviyesi **c)**Yaşlanmayla Oluşan Fizyolojik Değişimler **d)**Kontakt Lens Kullanımı **e)** Vitamin A Eksikliği **f)** Yetersiz Su Tüketimi	**Dış Çevresel Faktörler** **a)**Ortamdaki Düşük Nem Oranı **b)**Rüzgarlı Hava **c)**Uzun Süre Bilgisayar Kullanımı
Aköz Gözyaşı Yetmezliği **a)** Sjögren Sendromuna Bağlı Gelişen Gözyaşı Yetmezliği **b)**Sjögren Sendromuna Bağlı Olmayan Gözyaşı Yetmezliği	**Aşırı Buharlaşmaya Bağlı Oluşan Kuru Göz (Evoporatif Kuru Göz)** **a)**İntrinsik Sebepler **b)**Ekstrinsik Sebepler

Etyopatojenik sınıflama:

1. Aköz gözyaşı yetmezliğine bağlı gelişen kuru göz: Aköz gözyaşı yetmezliği, lakrimal bez hasarına veya yokluğuna bağlı ortaya çıkmakta olup gözyaşı bezinin yeteri kadar gözyaşı üretememe durumuna bağlı olarak gelişmektedir. Gözyaşı miktarının azalması ile birlikte oluşan hiperozmolarite, inflamasyonu tetikleyerek ve kuru gözün şiddetini artırmaktadır (107,108).

Gözyaşı yetmezliğine bağlı kuru göz sendromu:

- Sjögren Sendromuna Bağlı Gelişen Gözyaşı Yetmezliği
- Sjögren Sendromuna Bağlı Olmayan Gözyaşı Yetmezliği

olarak iki alt grupta incelenir.

2. Sjögren sendromu bağlı gelişen gözyaşı yetmezliği: Primer Sjögren sendromu, salgı bezlerinden gözyaşı sıvısı ve tükürük salgısı ilk sırada gelmek üzere ekzokrin bezlerin tamamının lenfositik infiltrasyonuna bağlı otoimmün hastalık çeşididir. Temelinde otoimmün ekzokrinopati ile ilişkili olan bu hastalığın başlangıç semptomları tükürük ve gözyaşı bezlerinin deformasyonu sebebiyle kserostomi (kuru ağız) ve keratokonjonktivitis sikka ortaya çıkışı ile halde kendini göstermesidir.

Sjögren sendromu primer yada sekonder olarak ortaya çıkabilir. Tek başına ise primer Sjögren Sendromu, diğer hastalıklar ile beraber ise sekonder Sjögren Sendromu olarak adlandırılır(76,77).

3. Sjögren sendromuna bağlı olmayan gözyaşı yetersizliği: Altta yatan bir otoimmün hastalığın neden olmadığı gözyaşı bezi disfonksiyonudur. Bu sendrom dışı sebepler de aköz yetmezlik tipinde kuru göz ortaya çıkarabilir. Yaşla beraber periduktal fibrozis, interasiner fibrozis, periduktal kan damarı kaybı ve asiner atrofi gelişebilmektedir. Salgılı kanallarında stenozda, Sjögren sendromuna bağlı olarak gelişmeyen aköz yetmezlik oluşumuna sebep olabilir (76,78).

Mekanizmaya dayanan sınıflama:

1. Gözyaşı hiperozmolaritesi: Ozmolarite, bir çözelti içerisindeki aktif moleküllerin toplamını belirten bir ifadedir. Solüsyon içerisinde normalin üzerinde bir değerde osmotik olarak aktif partikül bulunması ise hiperozmolarite olarak adlandırılır ve kuru gözün en kritik bulgusudur.

Bu kritik bulgu, gözde aralık olan yüzeyden gözyaşının buharlaşmasına, miktarı düşmüş aköz gözyaşı akışının yada bu etkilerin çıktısı olarak ortaya çıkmakta ve göz yüzeyinin hiperozmolaritesine sebep olmaktadır. Bu durumu göz yaşı salgısının azalması ile birlikte kuru göz sendromu semptomlarının görülmesi takip eder (79,80,81).

2. Gözyaşı filmi instabilitesi: Gözyaşı film instabilitesi, kuru göz sendromunun en belirgin nedenlerinden biri olup multifaktöriyel olarak gelişmektedir. Kendisi tek başına ortaya çıkarak veya gözyaşı hiperozmolaritesine ikincil olarak gelişmektedir. Gözyaşı salgısının stabil halinin bozularak hiperosmoz hale gelmesine ve buharlaşmasına katkıda bulunmaktadır (81,82).

Aşırı buharlaşmaya bağlı olarak gelişen kuru göz (evaporatif kuru göz): Evaporatif kuru göz; kirpik dibi inflamasyonuna bağlı, meibomian bezlerinin tıkanmasıyla gelişen meibomian bezi disfonksiyonu dur. Posterior blefarit olarak da bilinmektedir.

Evaporatif tipte ortaya çıkan kuru göz sendromuna toplumda sıklıkla rastlanmaktadır. Göz kırpma sıklığının azalması yada başka sebeplerle göz kapaklarının açık kalarak havayla temas eden yüzeyin artması, kirpik diplerinde yer alan meibum bezlerinin disfonksiyonuna bağlı olarak gözyaşının olması gerekenden fazla buharlaşmasıyla kendini gösteren kuru göz tipidir. Ve kuru göz sendromunun sık görülen nedenidir (81,82).

Meibum Bez Disfonksiyonu multifaktöriyel hastalık çeşididir; göz kapağı enflamasyonu, konjonktiva inflamasyonu, kornea hasarı, mikrobiyal değişimler ve gözyaşı filmi instabilitesi gibi 5 farklı mekanizmanın farklı kombinasyonları ile meydana geldiği tahmin edilmektedir(83,84).

Kuru göz sendromunun hem sebebi hem sonucu olmakla beraber ortaya çıktığında gözyaşının içerik ve kalitesini düşürerek, kornea ve göz kapaklarında deformasyona neden olmaktadır(84,85).

- Çevresel Faktörler

İç Çevresel Faktörler ve Dış Çevresel Faktörler olarak 2 sınıfa ayrılmaktadır.

- İç Çevresel Faktörler

Kuru göz semptomuna neden olan bireysel faktörler bu şekilde sıralanabilir(64,70);

a) Göz kırpma sıklığının azalması

Refleks, çeşitli sebeplere bağlı olarak azaldığında, göz kırpma arası süre artar ve oküler yüzey daha uzun süre açık kalır bu durum buharlaşarak kaybedilen gözyaşı miktarının artmasına neden olur (86).

b)Düşük Androjen, Yüksek Östrojen Seviyesi:

Kuru göz, genellikle kadınlarda görülen bir hastalık olarak karşımıza çıkar. Bunun nedenlerinden biri, kan serumunda bulunan düşük androjen, yüksek östrojen seviyesidir. Androjene hormonu, gözyaşı ve meibomius bezlerinde, lipid sekresyonunu artırmaktadır. Buna bağlı olarak göz kuruluğu kadınlarda, erkeklerden daha sık görülmektedir (85,87).

b) Yaşlanma ile Oluşan Fizyolojik Değişimler:

Yaş ilerledikçe, metabolizma tarafından gözyaşı üretimi azalmaktadır. Bu durum doğrudan gözyaşı ozmolaritesi artmasına stabilitesi bozulmasına neden olur. Bununla birlikte 50 yaş sonrası kişilerde kuruluk belirtilerine daha fazla rastlanmasının diğer nedeni vücuttaki androjen miktarının azalması ile gözyaşı bezinde işlev yavaşlaması ve meibomian bezinden oluşan lipit tabakasının içeriğinde bozulmaların meydana gelmesidir. Bu yüzden kuru göz sendromu; 50 yaş ve üstü hasta popülasyonunda yaşlanmanın doğal bir sonucu kabul edilmektedir (87,88)

c) Kontakt Lens Kullanımı

Kontakt lenslerin yanlış kullanımı, uygun olan kullanım süresi dışında gözde tutulması, gözyaşı solüsyonunda bekletilmeden gözün uzun süreli kontakt lense maruz kalması korneanın oksijenden mahrum kalmasına sebep olur ve buna bağlı olarak gözyaşı içeriğindeki lipit

oranında azalma gerçekleşir. Buna bağlı olarak nem kaybı sorunu ortaya çıkar ve göz kuruluğu gelişir (89).

d) A Vitamini Eksikliği

A vitamini göz sağlığının korunması ve devamlılığı açısından elzemdir. İnsan diyetine yeterli alınmazsa gerekli enzim ve sentezlerin aksamasına bağlı olarak gözün; nem durumu ve gözyaşı içeriği değişir. Bu eksiklik göz kuruluğu sendromunun ortaya çıkmasına ek olarak gece körlüğü ve kornea yumuşaması gibi bazı göz rahatsızlıklarına neden olmaktadır (90).

e) Yetersiz Su Tüketimi ve Dehidrasyon

Yaz aylarının gelmesiyle beraber göz yaşımızın buharlaşma miktarı da artış göstermektedir. Günlük yeterli su tüketimi gözyaşı sekresyonunun dengesi için önemlidir. Uzun süreli dehidrasyon durumunda kuru göz sendromu gelişebilir (90).

- **Dış Çevresel Faktörler:**

Kuru göz sendromuna neden olan, bireyin kendisine bağlı olmadan gelişen dış faktörlerdir.

a) Ortamdaki Düşük Nem Oranı:

Nem oranı, coğrafi bölgelere göre değişmektedir; Hava koşulları sert ve rüzgarlı olan iklim bölgelerinde kronik göz kuruluğu, insidansı yüksek olarak karşımıza çıkar. Devamlı olarak rüzgara maruz kalmak oküler dış yüzeydeki gözyaşının daha hızlı şekilde buharlaşmasına neden olur. Uzun süre maruz kalınan klimanın varlığı da ortamın nem oranını düşürdüğü için kuru göz semptomlarına yol açmaktadır (88).

b) Rüzgarlı Hava:

Hava koşullarına bağlı olarak buharlaşmanın artmasına yol açar oküler yüzeyin nemsiz kalmasına sebep olur sürekli maruz kalma durumunda, kuru göz sendromu gelişmektedir (87,89).

c) Uzun Süre Bilgisayar Kullanımı

Bulunduğumuz çağda teknolojik cihazların kullanımı yüksek oranda artış göstermiştir. Mavi ışık olarak nitelendirilen ışınlara fazla maruz kalmanın sonucu olarak göz kırpma sıklığımız azalır; oküler yüzeyden gözyaşı buharlaşma hızı artar, ve gözün nemliliğinin düşmesiyle beraber göz kuruluğu gelişir (91).

Kuru göz tanısı: Göz kuruluğu karakteristik bulgular olmadan yalnızca belirtiler ile de kendini gösterebilir. Genel göz muayenesi ile çeşitli testler uygulanarak bu hastalığın tanısı ve derecelendirilmesi yapılmaktadır. Bu bağlamda muayene sırasında uygulanan bazı kuru göz

anketleri hastalık belirtilerinin şiddetini ve süreç boyunca takibin kolay olması için kullanılan yöntemlerdir(92). Kuru göz tanısında semptom anketi dışında bazı klasik testlerde yapılmaktadır. Ayrıca Hastadan alınacak bilgiler; kullandığı ilaçlar, maruz kaldığı çevresel koşullar gibi faktörler tanı konmasında yardımcı olmaktadır (80,92).

Kuru göz anketleri: Semptomları sorgulayan anketler tanı belirlemede yardımcı olmaktadır (93).

En sık kullanılan anketler;

- Oküler Yüzey Hastalık İndeksi (Ocular Surface Disease Index (OSDI))
- McMonnies Kuru Göz Anketi (McMonnies Dry Eye Questionnaire)
- Kanada Kuru Göz Epidemiyoloji Çalışması Anketi (Canadian Dry Eye Epidemiology Study (CANDEES) Questionnaire)
- Kuru Göz Epidemiyoloji Anketi(Dry Eye Epidemiology Projects (DEEP) Questionnaire)
- Kadın Sağlığı Anketi (Women's Health Study (WHS) Questionnaire)
- Yaşam Kalitesi Ölçeği (National Eye Institute Visual Function Questionnaire (NEI-VFQ))
- Kuru Göz Anketi (Dry Eye Questionnaire (DEQ))
- Kontakt Lens Kuru Göz Anketi (Contact Lens Dry Eye Questionnaire (CLDEQ))
- Kuru Göz Hastalığı Etki Anketi (Dry Eye Disease Impact Questionnaire (DEDIQ))
- Oküler Yüzey Hastalık İndeksi (Ocular Comfort Index (OCI))

OSDI anketi 12 sorudan oluşmaktadır. Bu anket dahilinde göz kuruluğu ile ilgili irritasyon belirtileri ve belirtilerin görsel işlevleri üzerindeki etkileri değerlendirilmektedir (92,93). Kesin tanı için gözyaşı üretimini ölçen bazı testler yapılmaktadır ve aşağıdaki gibi belirtilmektedir;

1. Schirmer 1 testi: Klinik tanı da en sık tercih edilen yöntemdir. Bu test uygulaması için ince bir kağıt filtre kullanılarak gözyaşı miktarı ölçülmektedir: Kağıt filtre gözün alt kapağının dış kısmına yerleştirilerek beş dakika beklenir. Süre sonunda kağıt üstündeki ıslanma derecesinin miktarı ölçülerek test tamamlanır.

Kağıt üstündeki ıslanma 10 mm'den fazla ise gözyaşı üretiminin normal seviyede olduğuna karar verilir. Eğer 5 mm'den daha az olarak tespit edilirse sendromu tanısı için bulgu olduğu Kabul edilir (94,95).

2. Schirmer 2 testi: Bazal gözyaşı sekresyonunu değerlendirmek için yapılır. Testten önce göze topikal anestezik damlatılır ve ucu pamuk çubukla irite edilir. Schirmer 1 testindeki uygulama ile aynı olarak test kağıdı konduktan 5 dk sonra ölçüm yapılır. Sonuç 15mm'nin altında ise kuru göz sendromu lehine bir bulgu olarak kabul edilir (94,96).

3. Gözyaşı Filmi kırılma zamanı (BUT): Kuru göz tespitinde sıkça kullanılan bir diğer yöntemdir. Hasta gözünü uzun süre boyunca hiç kırpmadan açık halde tutarsa kornea üzerindeki gözyaşı filminin bütünlüğü bozulur ve birkaç noktadan kırılır, bu bütünlüğün kontrolü sırasında, bazı boyar maddeler kullanılır.

Dokulara renk veren; sırasıyla Fluorescein ve kobalt mavisi isimli bir boyar madde göze bir damla olacak şekilde uygulanır. Önce hastadan birkaç defa gözünü kırpması söylenir ve sonrasında ise kırpmaması istenir. Ve gözyaşı film tabakası biyomikroskop kullanılaarak incelenir ve değerlendirilir. Gözyaşı kırılma zamanı 10 saniyeden daha kısa ise bulgular semptom olduğunu gösterir(96,97).

Oküler Yüzeyin Boyanması

Vital boyalar bakteriler, protozoa, hücrre yada dokular canlıyken etki etmektedirler(80). Kullanılan bu vital boyalar; flöresein, Bengal pembesi ve lissamin yeşili boyalardır. Oküler yüzeyin boyanmasının yanı sıra teşhis sonrası tedaviye verilen cevabın değerlendirilmesinde de yardımcıdır (98).

Kornea yüzeyindeki boyanmayı bütünüyle derecelendirmek için üst göz kapağını hafifçe kaldırılarak gözlemlenmesi gerekmektedir(98,99).

Kuru Göz Tedavisi

Göz kuruluğu semptomunun tam olarak tedavisinin bulunmadığını belirtilmiştir ve bu zamana kadar yapılan bazı ilaçlar ve punktum plak gibi uygulamalarla bir miktar rahatlama sağlanarak; net görebilme, yaşam kalitesinin artırılması, gözyaşı filminin normal olan hemostatik seviyelere getirilmesi ve hastalığa neden olan bazı faktörlerin ortadan kaldırılması amaçlanmıştır (80,100).

Kuru göz tedavisinde sıklıkla, suni gözyaşı preparatları ile gözyaşını yerine getirme tedavisi uygulanmaktadır.

Başlıca tedavi yöntemleri (100);

- Gözyaşı Destek Tedavisi; Suni gözyaşı preparatları
- Gözyaşı Retansiyon Tedavisi; Punktum tıkaçları

- Cerrahi Punktal Oklüzyon; Terapötik kontakt lensler
- Biyolojik Olarak Gözyaşına Benzeyen Maddeler; Otolog serum, Tükrük bezi ototransplantasyonu
- Gözyaşı Sekresyonunun Uyarılması (Sekretagoglar); Diquafosol, Pilokarpin, Cevimeline
- Antiflamatuar Tedavi; Topikal kortikosteroidler, Tetrasiklinler, siklosporin
- Diğer Tedaviler; Esansiyel yağ asitleri, Topikal A Vitamini, Hormon Tedavisi

SİKLOSPORİN

Genel Bilgiler

Siklosporin A (siklosporin), *Tolypocladium inflatum* ve *Beauveria nevus* mantarlarından elde edilen sıklik peptit çeşididir. Siklosporin, T-hücrelerinin aktivitesini ve inflamatuar sitokin oluşumunu inhibe ederek; immünsüpresyon sağlayan, bir kalsinörin inhibitörüdür. 1981 yılından beri transplantasyonlarda immunosüpresan ajan olarak kullanılmaktadır. siklosporin, Amerika Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) ve Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından, inflamasyona bağlı olarak gelişen gözyaşı eksikliğinin tedavisinde kullanılmak üzere onay almıştır (101, 102).

Siklosporin, göz hastalıklarında kullanılmaya başlamadan önce uzun yıllar otoimmün hastalıkların tedavisi için ve transplantasyon sonrası organ reddini engellemek amacıyla kullanılan güçlü immünsüpresif olarak olarak kullanıldığından, etki mekanizmaları çok iyi bilinmektedir. Etkinliği hızlı, miyelotoksisitesi ise düşük olduğundan çeşitli formlarda karşımıza çıkmaktadır (102).

Tez çalışmamız için etkin madde olarak seçilen siklosporin'in; terapötik özellikleri, etki mekanizması, fizikokimyasal ve farmakokinetik özellikleri bu kısımda ele alınmıştır.

Siklosporin A'nın Kimyasal Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri

Nötral siklik yapılı bir polipeptit olan siklosporin A; 11 aminoasitten oluşmaktadır. Fiziksel görünümü, beyaz veya beyaza yakın renkte toz halindedir (103).

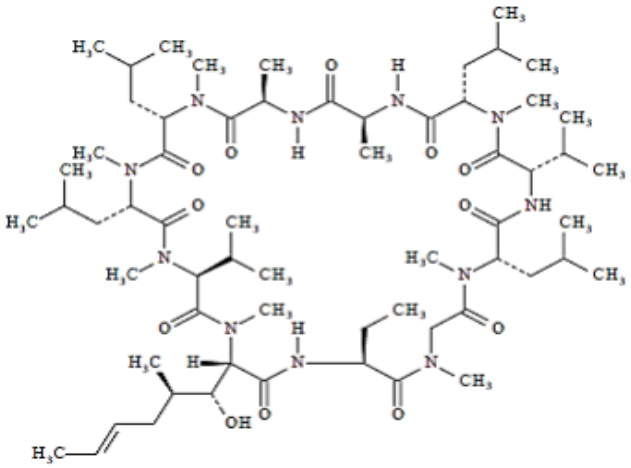
Molekül Ağırlığı, 1202.61 gr/mol'dür.

Kapalı Formülü $C_{62}H_{111}N_{11}0_{12}$·dir.

Erime Noktası 148°C-151°C'dir

Kaynama noktası 1293°C'dir (103).

Su ve n-hekzanda çözünürlük göstermezken siklosporin; diğer organik çözücüler ve lipitler ile yüksek çözünürlük özelliği gösterir. Siklosporin'in 25°C'de su içindeki çözünürlük miktarı 0.04 mg/mL, n-hekzan içinde ise 1.6 mg/g'dır. Sulu çözeltisindeki siklosporin;, ekzotermik çözünme davranışı gösterir. Siklosporin'in; hidrofobisitesi yüksektir, log P değeri 2.92'dir (103,104). Siklosporinin kimyasal yapısı Şekil-7'de gösterilmiştir (103).



Şekil 7. Siklosporin'in kimyasal yapısı

Siklosporin A'nın Terapötik Etkinliği

Siklosporin'in transplantasyon sonrasında organ reddini engellemesi, en mühim endikasyonudur. Siklosporin'in immunosupresiyon etkinliğinin keşfedilmesi ile; organ reddi önemli bir düşüş göstermeye başlamıştır, ve artan hasta uyuncu gözlenmiştir (105). Siklosporin ile tadavide; iskelet kasları, akciğer, kornea, deri, kalp ve karaciğer gibi organlar başarılı şekilde nakil edilebilmiş ve öüm oranınlarının düştüğü tespit edilmiştir (101,106). Transplantasyon sonrası immunsupresif etkinliğinin yanı sıra siklosporin ayrıca; Kuru göz sendromu başta olmak üzere, vernal konjuktivit, atopik keratokonjuktivit gibi birçok oküler tedavide de siklosporin sıklıkla kullanılmaktadır(106).

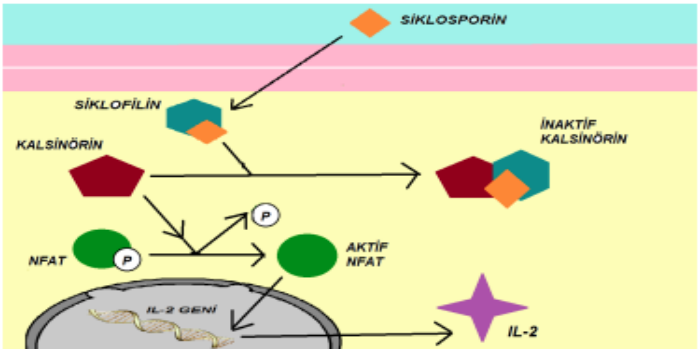
Kuru göz sendromunda siklosporin'in farmasötik etkisi ilk kez tesadüfi olarak kronik göz kuruluğu olan köpeklerde anlaşılmıştır(107). Siklosporin gözyaşı bezinde ve konjunktivadaki lenfositlerde apopitozi sağladığı, gözyaşı bezi ve konjonktiva, epitel hücrelerinde de apoptozisi baskılayarak inflamasyonu yavaşlatttığı görülmüştür. İnsanlarda terapötik etkisi, öncelikle, küçük çaplı, çalışmalar ile başlayıp (108,109), sonra daha geniş, çalışmalarda devam etmiş ve incelenmiştir. Yapılan klinik araştırmalar sonucunda, gözyaşı bezinde bozukluk görülmeyen hastalarda, topikal siklosporin A tedavisinin inflamasyonu azaltarak etkin tedavi sağladığı sonucuna varılmıştır (109,110).

Romatoid artriitli hastalarda, hastalığın metotreksata yeterli cevabı vermediğinde, Sedef hastalığında, sistemik tedaviye yanıt vermeyen şiddetli, bağışıklık sistemi baskılanmamış erişkin hastaların tedavisinde, Amyotrofik lateral sklerozu (ALS) olan hastalarda, da etkinlik gösterir (103).

Siklosporin A'nın Etki Mekanizması

Siklosporin, T lenfositlerin interlökin-2 üretimini engelleyen bir kalsinörin inhibitörü olarak çalışır. Siklosporinin limfokin sentezini azaltarak T hücre aktivasyonunu engellediğine ve dolaylı olarak keratinosit proliferasyonunu inhibe ettiği düşünülmektedir. siklosporin lipofilik bir moleküldür ve geleneksel yöntemlerle üretilen bazı ilaçların absorpsiyonu çok zayıftır. Hidrofilik özelliği yükseitilmiş olarak hazırlanan mikroemülsiyonların biyoyararlanımı daha fazladır (101,111).

Siklofilin ailesi peptidil-prolil izomeraz özelliğine sahip proteinlerden oluşur. Siklofilin A'nın peptidil-propil cis-trans isomeraz (PPI) etkinliğinin bulunduğu ve siklosporin'in siklofiline bağlanması ile PPI aktivitesini bloke ettiği bilinmektedir. Şekil 2'de siklosporin'in etki mekanizması görülmektedir(104,106)



Şekil 8. Siklosporin'in etki mekanizması (101)

Kuru göz vakalarında konjonktiva epiteli inflamatuar göstergesi olan HLA-DR nin arttığı gözlenmiştir. Semptomlu hastaların gözyaşı filminde artış gösteren IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-8, TNF-a, ve TGF-b1 gibi inflamatuvar sitokinlerden IL-6'nin mRNA düzeylerini baskılayarak konjonktivada CD3, CD4 ve CD8 pozitif T-hücreler ve IL-6 seviyelerini azaltır, goblet hücre yoğunluğunda artışa neden olur, bu da inflamatuar sitokin salımını azaltarak indirekt antienflamatuar etki göstermesini sağlar(103,106).

Siklosporin'in Kullanıldığı Ticari Preparatlar

Siklosporin A'nın Ticari Formları siklosporin; oral, intravenöz ve oftalmik olarak uygulanmaktadır. İlaç sanayiinde ilk kez siklosporin formülasyonu; Sandimmune® ismi ile Novartis firması tarafından piyasaya sürülmüştür. Bazı siklosporin içeren farklı ticari dozaj formları ve kullanım şekilleri Tablo 5.'de belirtilmiştir (103,111,112).

Tablo 5. Siklosporin içeren preparatlar

Ürün Adı	Dozaj Şekli	Dozaj	Kullanım Şekli	Üretici Firma
Aqua-stasis	Likit	0.0005g/ 100mL	Oftalmik	DrMarc's Manufacturing And Sales
Cequa	Likit/damla	0.0009 g/1mL	Oftalmik Topikal	SunPharmaceutical Industries, Inc.
Resteasis	Emülsiyon	%0.09	Oftalmik Topikal	SunPharmaceutical Industries, Inc.
Sandimmün	Kapsül	50 mg	Oral	NovartisPharmaceuticals Corporation
Cyclosporine/ ChonRestasisdroitin PF	Emülsiyon	1 mg/1mL	Oftalmik	Imprimis Njof, Llc
Cyclosporine/Chondroitin Sulfate PF	Emülsiyon	1 mg/1mL	Oftalmik	ImprimisRx NJ
Cyclosporine/Chondroitin Sulfate PF	Emülsiyon	1 mg/1mL	Oftalmik	ImprimisRx NJ
Restasis	Emülsiyon	0.5 mg/1mL	Oftalmik	Allergan
İkervis	Emülsiyon	0.5 mg/1mL	Oftalmik	A-SMedication Solutions
Restasis	Emülsiyon	1.0 mg/1mL	Oftalmik	Allergan
Neoral	Solüsyon	100 mg/1mL	Oral	NovartisPharmaceuticals Corporation

Kuru Göz Tedavisinde Topikal Siklosporin Kullanımı ile Yapılan Klinik Çalışmalar

Siklosporin %0.05 oftalmik emülsiyonu yaklaşık 20 yıl önce FDA onaylı olarak göz kuruluğu tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır..

Göz kuruluğu tedavisi için %0.05 siklosporin oftalmik çözeltisi ile yapılan grup hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda anlamlı iyileşme sağlandığı ve yapay gözyaşı kullanımında anlamlı düşüş olduğu gözlenmiştir. Terapötik etkisi farklı hasta grupları ile yapılan deneysel çalışmalar ile de sabittir (113,114).

Çatak ve ark. yaptığı çalışmada; Posterior blefaritli 15 hasta üzerinde 2 ay süreyle günde 2 kez siklosporin %0.05 (Restasis, Allergan Pharmaceuticals) uygulaması yapılarak tedavi edildi. Grupta tedaviye başlamadan önce ve sonra subjektif semptomlara ve gözyaşı kırılma testi, Schirmer testi, konjunktival hiperemi, ve meibomian bezi sekresyonları incelendi. 2 ay

süren tedavi ve takip sonucunda belirli yanma, kaşıntı, konjonktival hiperemi gibi semptomlarda anlamlı bir şikayet azalması gözlemlendi ($p<0,001$) (115,116).

Şevik ve ark. Göz kuruluğu tedavisi için sıklıkla tercih edilen (siklosporin) %0.05'in terapötik etkisinin değerlendirilmesi amacıyla; kuru göz sendromlu 51 hasta üzerinde (46'sı bayan, 5'i bay). Grubun ilaç kullanma süreleri ortalama olarak; 8,72 ± 3,59 ay (6-16 ay) olarak belirlendiğinde; Sjögren olan ve olmayan hasta gruplarının 1, 6. ve son ay test sonuç verilerinde gözlenen tedavi öncesi Schirmer skorları arasında istatistiki değerlerin anlamlı fark oluştruduğu gözlenmişken ($p<0.05$), Sjögren ve Non-Sjögren bireylerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi. Sjögren grupları ($p>0.05$). Buna sonuçlara bağlı olarak, Sjögren olan ve olmayan olmayan hasta gruplarının Schirmer ve fluorescein gözyaşı kırılma zamanı skorlarında, topikal siklosporin A (siklosporin) %0.05'in etkinliği ile anlamlı bir artış olduğu gösterilmiştir (117,118).

Bu bulgular hastalarda %0.05 siklosporin oftalmik çözelti ile yapılan tedavi sonrası gözyaşı miktarında ve stabilitesinde artış gözlendiği, göz yüzeyinde gerçekleşen hasarın ve kuru göz belirtilerinin azaldığını göstererek, siklosporin tedavisinin göz kuruluğunda güvenli ve etkili tedavi seçeneği olduğunu göstermektedir(119,120).

QbD- TASARIMLA KALİTE YAKLAŞIMI

QbD, ilk olarak Joseph M. Juran ‘ın “Juran on Quality by Design” adlı yayını ile açığa çıkmış bir kavramdır. QbD, yaşamın tüm alanlarında öne çıktığı gibi ilaç endüstrisinin de önemle üzerinde durduğu bir kavram olarak karşımıza çıkar.

Otorite olarak, FDA’nın üstlendiği iki önemli rol vardır. Öncelikle, üretilen ilaçların güvenirliğini, etkinliğini güvence altına alarak toplum sağlığını korumakla yükümlüdür. Ayrıca, farmasötik ilaç gruplarını etkinliği yüksek, güvenilir ve maliyeti düşürecek her adımı hızlandırmayı hedefler. Dolayısıyla, bir taraftan güvenliğin sağlanması, öte yandan yeniliklerin geliştirilmesi açısından kritik konuma sahip bir kurumdur (121,122).

FDA Direktörü Janet Woodcock 2004 yılı, ilaçta kalitenin “kontamine olmamış ve etiketinde belirtilen terapötik etkiyi kullanıcıya tekrarlanabilir şekilde sağlayan ürün” şeklinde açıklamıştır.

Tasarımla kalite, önceden belirlenmiş amaçlarla başlayan ve üretim prosesi sonucunda bitmiş ürün ile başlangıçta hedeflenmiş olan kalitenin sağlanması için başlangıçtan beri kalite risk yönetiminin temel alındığı, üretim prosesler,nin dizayn edilmesini ifade eden bilimsel, riske dayalı sistematik bir yaklaşım olarak karşımıza çıkmaktadır (123,124).

Bu kavramlara bütünüyle baktığımızda farmasötik endüstrinin önceledi̇ği önemli kriterler ortaya çıkmaktadır. ObD'nin amacı doğrultusunda ürünün yaşam sürecinde kullanılan en yeni ilaç teknolojilerinin ve kurallarının etkili biçimde uygulanmasını sağlamaktadır. Bu durum ruhsat alma sürecinin kolay ve esnek geçmesini sağlamaktadır. Bu sayede daha az maliyet ve sürede ilacın anlaşılır, güvenilir yollarla hastaya sunulması sağlanmaktadır. Nitekim tasarımla kalite yaklaşımı, ilaç şirketlerinde benimsenerek uygulanmaya başlanmıştır (122,125,126)

Aşağıdaki tabloda mevcut geleneksel yaklaşım ve tasarımla kalite yaklaşımının karşılaştırılması
gösterilmiştir (128).

Tablo 6. Mevcut geleneksel yaklaşım ile tasarımla kalite yaklaşımının karşılaştırılması

Kriterler	**Geleneksel Yaklaşım**	**Tasarımla Kalite Yaklaşımı**
Farmasötik Gelişimi	Ampirik: Tipik tek değişkenli deneyler	Sistematik: çok değişkenli deneyler
Üretim İşlemi	Sabit, üç seri üzerinde validasyon, tekrarlanabilirlik odaklı	Tasarım alanı dahilinde ayarlanabilir, tasarım alanı içinde sürekli doğrulama, kontrol stratejisi odaklı
İşlem Kontrolü	Devam et/etme kararı için ''in-proses'' testler, ''off-line'' analizler	Proses Analitik Teknolojisi (PAT) kullanılarak gerçek zamanlı geri bildirim
Ürün Spesifikasyonları	Ana amaç kalite kontroldür, serilerden elde edilen verilere dayanır	Genel kontrol stratejisinin bir parçasıdır, hedeflenen ürün performansına dayanır
Kontrol Stratejisi	Ağırlıklı olarak ara ürün ve bitmiş ürün testlerinden oluşur	Risk tabanlıdır, kontroller üretime kaymıştır, gerçek zamanlı serbest bırakma
Yaşam Döngüsü Yönetimi	Problem ve spesifikasyon dışı durumlara duyarlı, onay sonrası değişikliklere ihtiyaç duyar	Tasarım alanı dahilinde sürekli gelişim mümkün

FDA 20 yıl kadar önce; ilaç şirketlerini yeni teknoloji kullanımlarına yönlendirmek, kalite kavramlarının ve yönetimi stratejilerinin uygulanmasına yardımcı olmak amacıyla cGMP – Güncel İyi Üretim Uygulamaları klavuzunu çıkarmıştır. Böylelikle ilaç endüstrisini, yüksek terapötik etkili ürün üretmeye yönlendirmiştir (126,127).

Tüm bu system ve kavramların anlaşılması ve benimsenmesine rehberlik etmek amacı ile Amerika Birleşik Devletleri, Avrupa ve Japonya'nın katılımlarıyla ICH(Uluslar Arası Uyum Konferansı) kurulmuştur.

ICH, ilaç geliştirilmesi konusunda tüm karar ve aksiyonların üye olan ülkeler genelinde uyumlu hale gelmesini yüksek kalitede, geliştirilmekte olan ilaçların kısa bir süreç içerisinde tamamlanması, araştırma ve geliştirme sırasında tekrar edilen test sayısının düşürülmesi, işgücü ve zaman kaybının önüne geçmeyi, herhangi bir ülkede geliştirilmiş ruhsatlı ilacın ruhsat

belgesinin başka ülke sınırlarında da geçerli olabilmesini hedefler. ICH'ın en önemli vazifelerinden biri de kalite, güvenlik ve etkinlik konularında güncellenen kılavuzlar yayınlamaktadır.

ICH kalite - risk yönetimi kılavuzları (ICH Q8, Q9, Q10, Q11) ve QbD ile beraber ilaç sanayinde teknolojiyle bütünleşme aşamaları da hız kazanmıştır. Bu modernleşme esasında kalite ve etkinlik tabanlı, risk yönetimine dayanır. Bu sayede kalitenin de klinik uygunluğunun elde edilmesini sağlamaktadır (128,129).

ICH Kalite Kılavuzları

ICH Q8 (R2) – farmasötik gelişim: Q8 kılavuzu, CTD formatı içerisinde sunulmuş olan geliştirme kısmındaki (3.2.P.2) tavsiyelerini tanımlamaktadır. Farmasötik Gelişim kısmı, bilimsel uygulamalara güncel bilgiler kazandırma ve üretim prosesi ile birlikte ürün için gelişim süreci boyunca kalite risk yönetimine yeni bakış açısı kazandıran bölümdür (130,131).

ICH Q8'e göre, "Kalite üründe test edilmez, kalite tasarımla inşa edilmelidir" şeklinde tanımlanmaktadır. Bu kılavuzda ifade edilen kalite kavramı, etkin madde veya bitmiş ürün için hedeflenen kullanıma uygunluğunu ve yaşam boyu devamlılığını ifade eder. Bu sebeple ICH Q8 ile ek yayın olarak farmasötik gelişim revizyon kılavuzunda QbD yaklaşımına yer verilerek tasarımla kalitenin prensipleri tanımlanmıştır (131,133).

ICH Q9 – kalite risk yönetimi: ICH Steering Committee tarafından, ilaç kalitesine farklı noktalardan uygulanabilecek kalite risk yönetimi prensiplerini ve yönetim sürecini açıklayarak, risk değerlendirme sırasında kullanılan terminoloji ve materyalleri anlatmaktadır. ICH Q9'a göre risk, zarar görme durumunun olasılığı ve o zararın derecesinin hesaplanmasıdır (132,134).

ICH Q10- farmasötik kalite sistemi: İlaçta kalite sistemleri ile ilgili güncel bildirimler içeren ICH Q10 kılavuzu, ICH Steering Committee tarafından 2008'de resmen kabul edilmiştir.

ICH Q10, kalite risk yönetimi ile bilimin bütünleşmesi yaklaşımıyla uygulanması kolay, farmasötik kalite sistemi oluşturmayı amaçlayarak dünya sağlığını ilgilendiren ilaçların kalite ve biyoyararlılığını artırmaya çalışmaktadır. ICH Q10 içerik olarak, GMP nin kapsamına da ilave edilmiş ve kaliteli bir bileşim sağlanmıştır(135,136).

ICH Q11 – etkin maddenin geliştirme ve üretim işlemleri: ICH Q11 2012'de üretim ve gelişim için harmonize edilmiş öneri olması amacıyla kabul edilen olan bu kılavuz, etkin maddelerin üretimi ve geliştirilmeleri amacıyla bilim ve tekniksel birtakım kuralların bileşimiyle hazırlanmıştır. biyoteknolojik ürünler ile beraber küçük molekülleri de kapsayan

bir rehber olup; ICH Q8, ICH Q9 ve ICH Q10'dan oluşan kalite rehberlerine dayanır bununla beraber ayrıntılı olarak Tasarımla Kaliteyi içerir (135).

İçeriklerinde ayrıntılı olarak belirtilen temelinde Tasarımla Kalite yaklaşımını benimseyen, dünyaca kabul gören bir otorite tarafından yayınlanmış olan bu kılavuzlar, bütünsel olarak bakıldığında Tasarımda Kaliteyi her adımda bilimsel temel ile uygulamaya dayanan ve farmasötik kaliteyi, yaşam döngüsü boyunca inşa edilmesini amaçlayan bir prensipler bütünüdür.

Bu modern ve sistematik yaklaşım (QbD), bazı öğelerden oluşmaktadır (137).

QbD'nin Adımları

Projenin ele alınmasıyla başlayan ve tüm aşamalarında uygulanması ve izlenmesi gereken QbD adımları aşağıda sıralanmıştır (138,139):

Hedef bitmiş ürün profili (Target Product Profile, TPP): İlacın başlangıç ve geliştirilmesi süreçlerinde etkin olarak rol alır(169). Ürünün kullanımını, etkinlik ve güvenliğini belirten hedef ürün profili planlanır ve ürün için geliştirme aşamasında hedef ürün kalite profili tanımlanmış olur. Bu aşama, ürünü garanti altına almak amacıyla merkezine hastayı ve hastalığı alan bir yaklaşımdır.

Genel olarak ilacın etiketinde bulunması gereken ürün ile iligili bazı belirli kavramları ifade eden TPP özellikleri içerisinde kullanma nedeni, uygulama şekli, dozu, boyutu sayılabilir (137,138).

QTPP - Hedef ürün kalite profili (Quality target product profile): QTPP aşamasında final ürürn ve üretim proseslerinin dizayn edilmesi yapılır. TPP nin alt kolu olarak gösterilir. QTPP, hedeflenmiş olan final ürün için klinik güvenlik ve etkinlik sağlamakta olan üretim prosesi ve formülasyonu optimize etmek amacıyla belirlenir(138).

QTPP dahilinde, final ürün için kalitenin sağlandığını gösteren; safsızlık, stabilite, salım profilleri, tanıma, miktar tayini ve ürüne ait spesifik özellikler yer almaktadır. Bunlarak dozaj şekli, ambalajı ve uygulama şekli de dahil edilmektedir(137, 140).

Kritik kalite özelliği (CQA): Hedeflenen bitmiş ürün kalite profil özelliklerini sağlamak amacıyla kontrol altında tutulması gereken final ürüne kritik kalite özellikleri (CQA) belirlenir (140).

CQA, bitmiş ürün için direkt performans yada performansı belirleyen parametreleri tanımlamaktadır. ICH Q8 (R2) rehberi, tüm bu kontrol altında tutulması gereken değişkenlerin

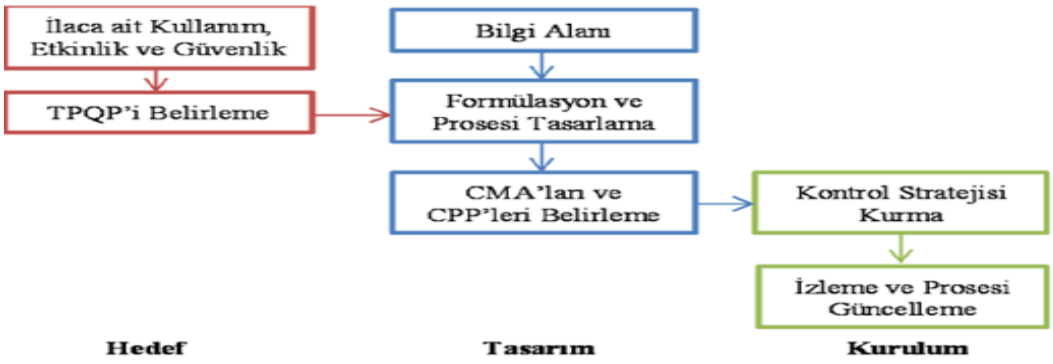
takibi ve güvencesi için spesifikasyon limitleri belirler ve limit içi değerler ile kalitenin kontrolünü sağlar. Bitmiş ürün CQA'lari, ürünün performansını doğrudan etkileyen özelliklerdir (140,141).

Kritik proses parametresi (CPP): Prosesler için belirlenen kritik değişkenler CQA'ları direkt olarak etkileyen işlem verileridir. Ürün içeriğine alınan maddelerin gerçekleştirilen proses ile ilgili parametrelerin bitmiş ürün kalitesine olan kritik etkisi sebebiyle izlenmesi ve kontrol altında tutulması gerekmektedir (138,141).

Ön formülasyon deneme çalışmaları, literatür bilgileri ile birlikte parametrelerin spesifikasyon ve limitlerinin belirlenmesi ile bilgi alanı oluşturulur (140).

Tasarım alanı sınırları içinde hazırlanmış olan formülasyon içeriklerinin kritik kalite özelliklerini belirlemek için gereken metotların tanımlanması ile tüm prosesi içeren kontrol stratejisi planlaması yapılır.

7- Elde edilen tüm dataların incelenmesi, test edilmesi ve formülünün valide edilmesi amacıyla bazı yapay zeka tabanlı model programları uygulanmaktadır(141,142).



Şekil 9. Tasarımla kalite genel şeması

Yapay Sinir Ağları

Artifical Neural Network (ANN), nörolojik sinir hücrelerini simüle edebilen bir yazılım programıdır. Beyin organı gibi fazla sayıda node yada yapay sinir hücrelerinden meydana gelir. Bu yapay sinir hücreleri; girdi sinyali alır, bunları işleyerek çıktı sinyali üretir. ANN, beyin hücrelerinin nöroişlem yeteneklerini simüle etmeye odaklanmış olan bilgisayar uygulamalarıdır (144).

Deney Tasarımı (DoE)

İlaç üretiminde gelişim süreçleri asıl olarak, iki temel etken olan materyal ve üretim işleminin belirlenmesi ve sahip olunan bilgi toplamına dayandırılmaktadır bu sebeple ürün geliştirme süreci boyunca CQA ve ürün arasındaki bağlantılar değerlenmektedir. Bu sebeple yararlanılan QbD etmenlerinden olan DoE, kaliteyi sağladığını gösteren üretim parametreleri ve veri bütünlüğünün çok yönlü kombinasyonu ve etkileşimi olarak tanımlanmaktadır (143,144).

DoE, ihtiyaç olan verileri toplamak için gereken deney çalışmalarını yüksek kalite ve net matematiksel hesaplar ile uygulandığı sistematik yaklaşım seçeneği olarak karşımıza çıkmaktadır (144).

Proses Analitik Teknolojisi (PAT)

PAT, "Kalite üründe test edilmez, kalite ürün içinde inşa edilmelidir" şeklinde tanımlanan QbD'nin etkin olarak uygulanmasını sağlayan araçlardan biridir. PAT'ın amacı, üretim prosesinin iyi kavranmasını ve kontrol mekanizmasının geliştirilmesidir. Diğer ifadeyle, etkin maddeye, in-proses materyallere ve proseslerin kritik kalite ve performans özelliklerinin vaktinde ölçümlenerek üretimin doğru tasarımının yapılması, test ve kontrollerinin gerçekleşmesi, için geliştirilmiş bir yazılım programıdır (144,145).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

KULLANILAN ARAÇ ve GEREÇLER

Kimyasallar Malzemeler

- Siklosporin A(Teva, İsrail)
- Asetonitril(J.T. Baker, ABD)
- Metanol(J.T. Baker, ABD)
- %85 Fosforik Asit (Merck KGaA, Almanya)
- Dötere kloroform(Sigma Aldrich, ABD)
- Jelatin (BASF, Almanya)
- Gliserol Monolinoleat (Maisine 35-1)(Gattefosse, Fransa)
- Propilen Glikol (BASF, Almanya)
- P (Merck KGaA, Almanya)
- PEG 400 (BASF, Almanya)

Araç ve Gereçler

- Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) (DSC-60, Shimadzu, Japonya)
- Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) (Varian 300 MHz, ABD)
- Fourier Transformed Infrared (FT-IR) (Shimadzu Corporation, Japonya)
- Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) (Shimadzu Corporation, Japonya)
- Manyetik Karıştırıcı (Heidolph, Almanya)
- Hassas Terazi (Mettler Toledo, İsviçre)
- ODS HYPERSIL, 250 x 4,6 x 3 μm (Thermo Scientific, USA)

- Çoklu Manyetik Karıştırıcı (Jeiotech, Güney Kore)
- Mekanik Karıştırıcı (Hei-TORQUE 100) (Heidolph, Almanya)
- Yoğunluk Tayin Cihazı (DMA 4100M) (Anton Paar, Avusturya)
- Ultrasonik Banyo (Jeiotech, Güney Kore)
- Kırılma İndisi Tayin Cihazı (P8000T) (A KRÜSS Optronic, Almanya)
- Viskozite Ölçüm Cihazı (DV II + Pro EXTRA, LV) (Brookfield, ABD)
- Kurutucu (Etüv) Cihazı Thermo Evolution Array - Amerika
- pH Tayin Cihazı (Mettler Toledo, ABD)
- UV-spektrometre Thermo Evolution Array - Amerika
- Bilgisayar programları;
- Microsoft Office Word
- Microsoft Office Excel

Kullanılan Tampon Çözeltiler

pH 7.4 fosfat tamponu hazirlanmasi: 0.190 g potasyum dihidrojen fosfat, 8.0145 g sodyum klorür, 3.025 g sodyum hidrojen fosfat, tartılıp distile su ile 1000 mL'ye tamamlanır.

0,1N NaOH: 4 g NaOH behere alınarak, 50 mL saf suda çözülmüştür daha sonra hacmi 100 mL saf su ile tamamlanmıştır.

pH:7,4 gözyaşi tamponu: 8.06g sodyum klorür, 0.2g potasyum klorür, 0.1956g, potasyum dihidrojen fosfat, 1.22 g disodyum hidrojen fosfat tartılır, üzerine 800 mL ultra saf su eklenir. pH kontrol edilir gerekirse Fosforik asit ve 1N sodyum hidroksit çözeltisi ile 7.4'e ayarlanır ve 1000mL'ye su ile tamamlanır.

Siklosporin'in Karakterizasyonu İçin Yapılan Testler

Çalışmada kullanılan siklosporin'in karakterizasyon çalışmalarında, Görünüş analizi, Infrared Spektroskopisi (IR) Analizi, Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) Analizi, Nükleer Manyetik Rezonans(NMR) Analizi, ve Miktar tayini analizleri yapılmıştır. Yapılan analiz çalışmalarına ait detaylar aşağıda verilmiştir.

Siklosporin'in görünüş analizi: Siklosporin'in görünüş testi görsel olarak değerlendirilmiştir.

Siklosporin'in ultraviyole (UV) analizi: 5 mg siklosporin, 10 mL'lik balon jojeye alınarak, üzerine çözücü (%50 metanol:su), eklendi, hazırlanan çözeltiden 1 mL alınarak, 100mL'ye hacmine çözücü ile tamamlandı. 5 dakika ultrasonik banyoda çözünmesi sağlandı. Hazırlanan çözelti UV spektrofotometre cihazında okutularak görüntüsü belirlendi.

Siklosporin'in infrared spektroskopisi analizi: Siklosporin'in FTIR cihazında 4000 – 600 cm^{-1} aralığında taranıp pik verdiği dalga boyları belirlendi, IR spektrumu çizildi.

Siklosporin'in diferansiyel tarama kalorimetri analizi: Siklosporin'in Diferansiyel tarama kalorimetresi (DSC) ile termogramları elde edilmiştir. Yaklaşık olarak 5 mg tartılan numune kapaklı alüminyum pan içine konularak preslenerek kapatılması sağlandı. Maddenin DSC termogramı azot gazı geçirilerek 50°C ila 180°C sıcaklık aralığında 10°C/dk sıcaklık artışı hızında ölçülerek elde edildi.

Siklosporin'in nükleer manyetik rezonans analizi: Siklosporin'in ^{1}H ve ^{13}C değerlendirmesi nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (NMR) ile yapıldı. Çözücü olarak dötero kloroform ($CDCl_3$) kullanıldı.

Siklosporin'in Mass spektrometre analizi: Siklosporin'in 40 ppm konsantrasyonunda hazırlanan çözeltisi, kütle spektrum analizi için (LC/MS) cihazında uygun koşullarda okutulmuştur. Kütle/elektriksel yük oranına göre en yüksek bağıl bolluğu tespit edilmiştir. Analiz 3 defa tekrar edilmiştir.

Siklosporin'in Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile Analitik Yöntem Validasyon Çalışmaları

İn vitro çalışmaların tamamında siklosporin'in miktar tayini analizi için HPLC cihazı kullanılmıştır. Bu sistem sıcaklığı ayarlanabilen kolon, pompa, (PDA veya UV) dedektörden oluşmaktadır. Metot bilgileri aşağıdaki gibidir.

Tablo 7. Kromatografik şartlar

	HPLC Analitik Metot Koşulları
Mobil faz	Su: Asetonitril: Metanol %85 H_3PO_4, 300:650:50:0.5, (h/h/h/h)
Cihaz	Değiştirilebilir dalga boylu UV dedektörlü HPLC sistemi
Kolon	Thermo Hypersil ODS 250mm x 4.0mm x 3.0µm
Kolon Sıcaklığı	65°C
Numune Sıcaklığı	20°C
Akış Hızı	1.0 mL/dk
Dalga Boyu	210 nm
Enjeksiyon Hacmi	50 µL
Analiz Süresi	15 dk

Mobil Fazın Hazırlanması

Öncelikle, mezür ile su: Asetonitril: Metanol %85 H_3PO_4, 300:650:50:0.5, (h/h/h/h) oranlarından; sırası ile asetonitril ve metanol belirtilen miktarda mobil faz şişesine alınıp, manyetik karıştırıcı kullanılarak karıştırıldıktan sonra 0.5 mL fosforik asit ilave edilmiştir ve 300 mL distile su eklenerek tamamlanmıştır. HPLC cihazında okutulmadan önce ultrasonik banyo kullanılarak 20 dakika boyunca degaze edilerek, gazların uzaklaştırılması sağlamıştır. Çözücü olarak kullanılacak olan çözelti; Su: Metanol, 50:50, (h/h) oranlarında karıştırılmış ve degaze edilmiştir.

Analizlerde UV dedektörlü HPLC cihazı ve Thermo Hypersil ODS kolon (250mm x 4.0mm x 3.0µm) kullanılmıştır. UV dalga boyu 210 nm ve mobil fazın akış hızı 1 ml/dk olarak ayarlanmıştır. Numuneler cihaza 50 µL hacminde enjekte edilmiş ve analiz süresinde kolon 20°C sıcaklıkta tutulmuştur. Bu koşullarda siklosporin'in alıkonma zamanı 27. dk olarak tespit edilmiştir (165).

Standart ve Numune Hazırlıkları

Standart çözeltisinin hazırlanması: Yaklaşık 5 mg siklosporin standardı 10 mL'lik balon jojeye tartıldı, üzerine 5 mL çözünü eklendi, hacmine çözücü ile tamamlandı. Edilen çözeltiden 1 mL alınarak, 10 mL'lik balon jojeye aktarıldı, 5 dk ultrasonik banyoda

çözdürülerek hacmine çözücü tamamlandı. Standart ve kontrol standart olarak iki farklı hazırlık yapıldı. ($C_{siklosporin}$: 0.05mg/mL)

Siklosporin numunesinin hazırlanması: Yaklaşık 5 mg siklosporin standardı 10 mL'lik balon jojeye tartıldı, üzerine 5 mL çözünü eklendi, hacmine çözücü ile tamamlandı. Edilen çözeltiden 1 mL alınarak, 10 mL'lik balon jojeye aktarıldı, 5 dk ultrasonik banyoda çözdürülerek hacmine çözücü tamamlandı. İki farklı numune hazırlığı yapıldı. ($C_{siklosporin}$: 0.05mg/mL)

Etkin Madde Miktar Tayini Yöntem Validasyonu

Analitik yöntem validasyonu için incelenen parametreler aşağıda sıralanmıştır

- Doğrusallık
- Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirlik
- Kesinlik
- Tekrar Edilebilirlik
- Seçicilik
- Teşhis ve Tayin Sınırları (LOD ve LOQ)

Validasyon Çalışması Parametreleri

Seçicilik: Seçicilik parametresi için çözücü, plasebo, standart ve numune çözeltileri hazırlanıp analiz edildi. salım sonucu bulunan pik alan değerlerinin etkin maddeye ait olduğunu göstermek için etkin içermeyen çözelti piklerinin çakışma durumları kontrol edilmiştir.

Standart ve numune çözeltisi kromatogramlarında siklosporin pikinin alıkonma zamanında çözücü ve plasebodan gelen herhangi bir pik olmamalıdır.

Siklosporin piki kapasite faktörü (k′) en az 2.0 olmalıdır

$$k' = \frac{siklosporin\ pik\ alıkonma\ zamanı - Kolon\ ölü\ hacminin\ alıkonma\ zamanı}{Kolon\ ölü\ hacminin\ alıkonma\ zamanı}$$

Doğrusallık: Standart eğrisinin çizimi için yaklaşık 10 mg siklosporin çalışma standardı 100 mL'lik balon jojeye tartıldı, üzerine 60 mL çözücü eklendi, 5 dakika ultrasonik banyoda çözünmesi sağlandı ve çözücüsü ile hacmine tamamlandı.Hazırlanan %200'lük stok standart çözeltisinden 6 farklı seyreltme yapılarak standart konsantrasyonunun %20, %50, %80, %100, %120, %150 konsantrasyonuna denk gelecek şekilde standart çözeltileri hazırlandı.Her bir

standart çözeltisi için 2 defa enjeksiyon ve %20, %100 ve %120 standart çözeltilerinden 6 kez enjeksiyon yapıldı.

Her enjeksiyondan sonra elde edilen alan sonuçları konsantrasyonuna karşılık grafiğe değer girilerek kalibrasyon eğrisi çizilmiş, doğrunun eşitliği ve R^2 değeri hesaplanmıştır.

Korelasyon kat sayısı (R^2) 0.997'den az olmamalıdır.

Kesim noktası %100 konsantrasyona karşılık gelen alanın %2' sinden fazla olmamalıdır.

$$Kesim\ Noktası = \frac{y - Kesim\ Noktası}{\%100\ Seviye\ siklosporin\ Pik\ Alanı} x\ 100$$

Çalışma aralığı: Doğrusallık parametresi için hazırlanan %20 ve %150 standart çözeltilerinin 6 enjeksiyonu değerlendirilmiştir.

Bulunan siklosporin standart pik değerlerinin relatif standart sapma değeri (%RSD) %2' den küçük olmalıdır.

Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirlik

Doğruluk elde edilen deneysel sonucun gerçek değere yakınlığını saptamak amacıyla yapılır. Metot doğruluğu geri elde etme yüzdesine bağlıdır.

Analitik metod doğruluğunu kontrol etmek için siklosporin standardı kullanıldı. Numune hazırlıkları %100 konsantrasyondaki plasebo karışımına siklosporin'in %80, %100 ve %120 seviyelerinde olmak üzere 3 farklı konsantrasyonda ilave edilmesi ile hazırlandı. Her seviyeden 3 adet numune hazırlandı ve yöntemde belirtildiği gibi enjeksiyonlar yapıldı.

Alan değerine karşılık gelen konsantrasyon miktarı kalibrasyon eşitliğinde yerine konularak bulunmuştur. Bulunan değerden yüzde geri kazanımlar aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır.

$$Doğruluk = \frac{A}{B} x\ 100$$

A = Teorik numune konsantrasyonu (mg/mL)

B = Deneysel numune konsantrasyonu (mg/mL)

Her bir geri kazanım % 98.0 - % 102.0 arasında olmalıdır.

Sistem Kesinliği

Standart çözeltisinin 6 enjeksiyonundan elde edilen siklosporin pik alanlarının relatif standart sapma değeri (%RSD) %2.0' den fazla olmamalıdır.

Standart sapma (SS), %95 güven aralığı belirlenerek, pik değerlendirme parametreleri raporlandı.

Güven aralığı=$\chi \pm t_{n-1} \times \frac{s}{\sqrt{n}}$

χ : Ortalama değer

n : Hesaplanacak data sayısı

s : Standart sapma

t_{n-1} : Güven aralığı katsayısı % 95

n = 6

t_{n-1} = 2.57

Kesinlik (tekrar edilebilirlik): Kesinlik, normal çalışma koşullarında analitik yöntemin tekrarlanabilirlik (repeatability) derecesinin göstergesidir.

Numune hazırlanışına göre 6 adet numune çözeltisi hazırlandı. Metot da belirtildiği gibi standart çözeltisine göre % miktar tayinleri hesaplandı. Miktar tayini numunesi için 6 örneğin okutulmasıyla elde edilen miktar tayini sonuçları arasında relatif standart sapma değeri (%RSD) %2' den küçük olmalıdır.

Teşhis ve tayin sinirlari (LOD ve LOQ): Teşhis Sınırı (limit of detection: LOD): analizi yapılan maddenin doğruluk ve tekrar edilebilirlik ile tayin edilebilecek en düşük konsantrasyonudur. Signal/Noise oranı (S/N) 3:1 olmalıdır.

Tayin Sınırı (limit of quantitation: LOQ): Analiz edilen maddenin saptanabilen en düşük konsantrasyonudur.

Bu sınırlar çok düşük konsantrasyona sahip numunelerin analiz edilmesi ile saptanmıştır. 10'ar örnek ile çalışılarak elde edilen sonuçların; kalibrasyon eşitliğinde minimum değere karşılık gelen alanların standart sapmaları hesaplanmış ve bu değerlerin ortalaması kalibrasyon eğrisinin eğim değerine bölünmesi ile elde edilir. Bu değer 3.3 ile çarpılarak teşhis sınırı, 10 ile çarpılarak tayin sınırı değeri belirlenmiştir.

Lipit/su partisyon katsayı tayini: Lipit/su partisyon katsayısının tayin etmek amacıyla, yağ fazı olarak n-oktanol, su fazı olarak enjeksiyonluk su kullanılmıştır. Su fazı deney öncesinde 1 gün boyunca yatay çalkalayıcı ile karıştırılarak yağ fazı ile doyurulması gerçekleştirilmiştir. 2 mL, doyurulmuş n-oktanol 10 mL'lik ependorf deney tüpüne aktarılıp, üzerine enjeksiyonluk su ile hazırlanan $4x10^{-3}$ M, siklosporin A çözeltisi 2 mL eklendikten

sonra 1 gün boyunca yatay çalkalayıcı ile çalkalanmış ve ardından 3500 devir/dakika ile 15 dakika santrifüj edilmiştir. Çalışmadan alınan örnekler 0.2 µm PVDF filtreden süzülerek miktar analizi yapılmıştır. ve sonuçlar aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmaktadır(2).

$$\log P = C_{\text{yağ fazı}} / C_{\text{su fazı}}$$

Siklosporin İçeren Oftalmik Insert Için Yapılan Ön Formülasyon Çalışmaları

Tez çalışması kapsamında Tasarımla Kalite Yaklaşımı'nın ilerleyişi: Tasarımla kalite (QbD) yaklaşımının ilk basamağı; Hedef Ürün Kalite Profili (QTTP) belirleme çalışması Tablo 8'de gösterilmiştir. Bu çalışmada hazırlık aşamasında olan ürün için hedef profil belirlenmiştir.

Hedef ürün kalite profili belirleme (Quality target product profile):

Tablo 8. Hedef ürün kalite profili belirleme

Hedef Ürün Kalite Profili	**Hedef**
Uygulama yolu	Oftalmik, topikal
Uygulama sistemi	Lipit mikropartikül
Dozaj Formu	Oftalmik insert
Terapötik Etkisi	Keratokonjunktivitis sikka ile ilişkili oküler enflamasyonabağlı olarak gözyaşı yapımının baskılandığı öngörülen hastalarda gözyaşı yapımının artırılması, topikal anti-inflamatuvar
Salım Profili	Uzun salım

Kritik kalite özelliklerinin değerlendirilmesi (Critical quality attribute): Tasarımla kalite (QbD) yaklaşımının ikinci basamağı; Kritik Kalite Özelliklerinin (CQA) Değerlendirilmesi çalışması yapılmıştır. Tablo 9'da gösterildiği gibidir. Bu çalışmada hedeflenen ürün için sağlanması gereken kritik kalite özellikleri değerlendirilmiştir.

Tasarımla kalite yaklaşımı ile; bu kritik parametreler proje hazırlığı sırasında belirlenmiştir ve formülasyon gelişimi boyunca takip edilmiştir.

Tasarımla Kalitenin (QbD), bu aşaması belirlenen Kritik Kalite Özelliklerinin (CQA); ürünün gelişiminden son haline gelene kadar kontrollü ve planlı yürütülmesini amaçlar. Bu aşamada kaliteyi etkileyecek her bir değişken belirlenir ve derecelendirilir. Sonraki aşamada; belirlenen risk parametrelerine göre yapılan analiz çalışmaları sonucunda, başlangıç risk

değerlendirmesi tablosunun sonuç risk değerlendirmesi tablosuna güncellenmesiyle sonuçlanır.

Önformülasyon aşamasına geçilmeden önce QbD kapsamında Kritik Proses Parametrelerinin Değerlendirilmesi yapılmıştır.

Tablo 9. Kritik kalite özelliklerinin değerlendirilmesi (Critical quality attribute)

Ürünün Kritik Kalite Özelliği (CQA)	**Hedef**	**Kritik Mi?**		**Gerekçe**
		E	H	
Görünüş	Beyaz opak-yarı saydam arası homojen, yuvarlak insert	✓		fiziksel görünüş terapötik etkinliğini etkilemez ancak hasta kabul edilebilirliği için kritiktir.
Etkin Madde Miktarı (siklosporin)	%95-%105	✓		İçerikteki etkin madde miktarı direkt olarak ilacın etkinliği ve güvenilirliği ile bağlantılıdır.
pH	6.5-8.0	✓		İlacın uygun salımı için uygun pH ortamında bulunması terapötik etkisini değiştirebilir
Viskozite	>140 cP	✓		viskozite, ilacın oküler yüzeyde kalmasını ve salımını etkiler ve biyoyararlanım ile doğrudan bağlantılıdır
Salım Süresi	> 240 dakika	✓		İlacın alındığı andan itibaren kontrollü olarak belirli süre içerisinde verilmesi, biyoyararlanımı etkiler
Zeta Potansiyel	< -20 mV	✓		emülsifiye fazın zeta potansiyeli, ürün stabilitesi için kritiktir çünkü itme yükü formülasyon bileşiminde çökmeyi engelleyerek stabilizasyonu sağlar.
Nem Tayini	En Fazla %5	✓		ilacın neme duyarlı olması ve yüksek nem içermesi etkinliğini etkilemektedir.

Kritik Proses Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Tasarımla kalite (QbD) kapsamında ürün profili belirleme ve kritik parametrelerin belirlenmesi sonrasında; ürün kalitesini etkileyecek olan kritik proses parametrelerinin değerlendirmesi yapılmıştır. Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. Kritik proses parametrelerinin değerlendirilmesi

Proses Adımları	**Proses Parametreleri**	**Kritik Mi?**		**Gerekçe**
		E	**H**	
Başlangıç Kontrolleri	Tartım, etiket,materyal kontrolleri	✓		Hatalı olan tartım final halde beklenen sonuçları etkileyebilir. Formülde hesaplanan içerik ile aynı olmalıdır Kullanılacak olan her bir madde ayrı ayrı etiketlenmiş olmalıdır Kullanılacak materyaller kontrolleri yapılmış ve uygun olmalıdır.
Polimer Faz Hazırlığı	Sıcaklık	✓		Tüm proses boyunca belirlenen uygun sıcaklık değerlerinde tutulmalıdır. Yüksek sıcaklık yardımcı maddelerin yapısının bozulmasına, düşük sıcaklık ise yardımcı maddelerin yeterli çözünmemesine neden olur.
Polimer Faz Hazırlığı	Karıştırma Devri ve Süresi	✓		Karışma hızı ve süresi belirlenen aralıkta tutulmalıdır. Düşük karıştırma hızı yardımcı maddelerin çözünmemesine sebep olur. Optimum devirde ve sürede karıştırılmalıdır.
Emülsiyon Fazı Hazırlığı	Karıştırma Devri ve Süresi	✓		Karışma hızı ve süresi belirtildiği gibi uygulanmalıdır. Düşük karıştırma hızı polimer faz ve emülsiyon fazın yetersiz karışmasına sebep olur. homojenite için optimum devirde ve sürede karıştırılmalıdır.
Final Ürün	Kurutma Sıcaklığı ve Süresi	✓		Final çözelti için kurutma sıcaklığı belirlenen değerde tutulmalıdır. Yükseksıcaklık hızlı buharlaşmaya bağlı olarak form ve içerik değişikliğine neden olmakta ve ürün kalitesine etki etmektedir.

Oftalmik İnsert Hazırlık Prosesinin Başlangıç Risk Değerlendirmesi

Hazırlık prosesinin başlangiç risk değerlendirmesi: Genel hazırlık ve proses aşamasının risk değerlendirmesi çalışması yapılmıştır. Proses adımlarının; etkin miktarı, pH ve salım süresini; potansiyel olarak değiştirebilecek risk dereceleri değerlendirilmiştir. Tablo 11'de oftalmik insert hazırlık süreci için başlangıç risk değerlendirmesini göstermektedir.

Tablo 11. Proses adımlarının başlangıç risk değerlendirilmesi

Ürünün Kritik Kalite Özelliği (CQA)	Proses Adımları			
	Polimer Faz Hazırlığı	Emülsiyon Faz Hazırlığı	Final Karıştırma	Kurutma
Miktar Tayini	Düşük	Yüksek	Yüksek	Yüksek
pH	Yüksek	Yüksek	Orta	Düşük
salım Süresi	Yüksek	Yüksek	Düşük	Düşük
Zeta Potansiyel	Düşük	Yüksek	Düşük	Düşük
Viskozite	Yüksek	Yüksek	Düşük	Düşük

Kritik proses parametrelerinin başlangıç risk değerlendirmesi: Genel proses aşamasının başlangıç risk değerlendirmesi yapılmıştır. Proses adımlarının; etkin miktarı, pH ve salım süresini potansiyel olarak değiştirebilecek risk dereceleri değerlendirilmiştir. Tablo 12'de oftalmik insert hazırlık süreci için başlangıç risk değerlendirmesini göstermektedir.

Oftalmik insert kritik proses parametreleri başlangıç risk değerlendirmesi

Tablo 12. Proses parametreleri başlangıç risk değerlendirilmesi

Ürünün Kritik Kalite Özelliği(CQA)	Proses Parametreleri		
	Sıcaklık	Karıştırma Devri ve Süresi	Kurutma Sıcaklığı ve Süresi
Miktar Tayini	Yüksek	Yüksek	Yüksek
pH	Yüksek	Düşük	Düşük
Salım Süresi	Düşük	Düşük	Düşük
Zeta Potansiyel	Düşük	Düşük	Düşük
Viskozite	Yüksek	Düşük	Düşük

QbD yaklaşımını benimsemiş olduğumuz çalışmamızda Başlangıç Risk Değerlendirmesi çalışması ile kritik tüm adımlar değerlendirilmiştir. Bu süreçte kritik adımların birbiri ile etkileşimi buna bağlı olarak final ürünün etkilenme derecesini ayrıntılarıyla değerlendirip geliştirilmesi süreci uzun bir zaman istemektedir. Dolayısıyla QbD yaklaşımıyla yapılan bir çalışma, baştan sona aşağıda açıklandığı gibi geliştirilerek devam ettirilebilir.

QbD yaklaşımı ile projeye başlandığında, yukarıda ayrıntılarıyla açıklandığı gibi; ilk basamak; Hedef Ürün Kalite Profili (QTTP) belirleme ikinci basamak; Kritik Kalite Özelliklerinin (CQA) belirlenmesi çalışmasıdır. Bu çalışmayı bir öngörü değerlendirme olarak Başlangıç Risk Değerlendirmesi süreci takip eder, kritik değişkenlerin birbiri ile etkileşimini deneysel olarak ispatlamadan önce bu parametrelerin ne derecede risk arz ettiği değerlendirmesi çalışmasıdır. Bunun ardından formülasyon geliştirme süreci gelir, bu süreç için kullanılan bazı formülasyon yazılımları denemelerin daha planlı takip edilmesi ile birlikte, tüm değişkenlerin ve proseslerin ürün için kritik testleri nasıl etkilediği sonucunu göstererek güvenilir tasarım aralığının oluşturulmasını sağlar. Bu planlama ve değerlendirme ve geliştirme sürecinin sonunda elde edilen veri bütünlüğüne dayanarak final risk değerlendirmesi yapılır. Bu

değerlendirme başlangıçta risk derecesine göre belirlenmiş olan faktörlerinin deneyler sonucunda ne derece risk teşkil edip etmediğinin tespit edilmesidir. Böylelikle yapılan çalışmalar sonucu belirlenen sınırlar dahilinde geliştirilen ürün, yaşamı boyunca kalitenin inşa edildiği bir süreci devamında gelen ruhsat alınması süreci de dhail olmak üzere tamamlamış olur. Yapılması gereken tüm detaylı çalışmalar yapılmış tasarım sürecinde yapılmış olduğu için, herhangi bir soru olduğunda hız ve kolaylık sağlar.

Formülasyon Çalışmaları

Formülasyonlarda %0.05 siklosporin içeren emülsiyon yapılı, oftalmik ticari preparat kullanılarak, belirli orandaki yardımcı maddeler ile bileşimi sağlanmıştır.

Formülasyonu geliştirme çalışmaları; yüksek biyoyararlanıma sahip ve kontrollü salımlı topikal oküler kullanıma yönelik, oftalmik insert formu için gerekli tüm özellikleri barındıracak göz damlası formuna alternatif, stabil bir ürün geliştirmek amacı ile yapılmıştır.

Formülasyon geliştirme çalışmaları sırasında taşıması gereken karakteristik özellikleri ve kalitatif/kantitatif içerik değerleri için literatür araştırmaları göz önünde bulundurulmuştur. Ayrıca formülasyon çalışmaları sırasında QbD kapsamında belirlenmiş olan kritik proses parametreleri belirlenerek, başlangıç risk değerlendirmelerine göre sonuç risk değerlendirmesi çalışması yapılmıştır.

Emülsiyon Fazın İncelenmesi (%0.05 Siklosporin)

Formülasyon geliştirme çalışmalarında kullanılan emülsiyon yapılı %0.05 etkin yüklü ticari preparatın içeriğinde bulunan yardımcılar ve fonksiyonları Tablo 13'de belirtilmiştir.

Tablo 13. Emülsiyon fazın incelenmesi

Kastor yağı (Hint yağı)	Taşıyıcı/Yardımcı Çözücü
Karbomer 934	Viskozite Arttırıcı Ajan
Polisorbat 80	Emülgatör
Gliserin	Yardımcı Çözücü / Tonisite Ajanı
Sodyum Hidroksit	Alkalite Ajanı
Enjeksiyonluk Su	Taşıyıcı

İnsert formülasyonu geliştirme çalışmaları emülsiyon preparatı ile birlikte, bazı yardımcı maddelerin farklı oranlardaki bileşimi ile elde edilmiştir. Yardımcı maddeler ve fonksiyonları aşağıdaki tabloda belirtildiği gibidir.

Tablo 14. Yardımcı maddelerin incelenmesi

Sodyum Aljinat	Kıvam Arttırıcı, Emülgatör
Polietilen Glikol	Viskozite Ayarlayıcı, Kaydırıcı
Jelatin	Plastikleştirici Ajan
Gliserin	Plastikleştirici Ajan, Nemlendirici
Benzalkonyum Klorür	Mikrobiyal Koruyucu, Kaydırıcı
Enjeksiyonluk Su	Taşıyıcı

Polimer Faz Hazırlama Parametreleri

Formülasyon geliştirme çalışmaları sırasında; yüzde oranları aşağıdaki gibi belirlenen Sodyum Aljinat ve Plastifiyan karışımları ile polimer fazın, insert'in uzun salımının sağlanması, etkin madde geçişinin etkin olarak sağlanması için, optimum kıvam ve dayanıklılığı belirleme denemeleri yapılmıştır. Çözücü ile belirtilen oranlarda karışımları sağlanan yardımcı maddeler; bir beher içerisine alınarak, 50°C sıcaklıkta, manyetik karıştırıcı (1000-1200 devir/dk) ile, çözelti homojen ve berrak olana kadar karıştırılmıştır. Elde edilen çözeltilerin; rengi, karışma süreleri ve kıvamları gözlemlenerek tespit edilmiştir ve pH değeri kontrol edilmiştir.

Homojenite sağlandıktan sonra bulk, petri kaplarına yaklaşık 2 mm kalınlıkta olacak şekilde aktarılarak, nihai formunu alması için 65°C sıcaklıktaki etüve ~6 saat kurumaya bırakılmıştır. Elde edilen nihai formdaki plasebo insertlerin gözyaşı çözeltisi içerisinde parçalanabilme süreleri ölçülmüştür.

Tüm formülasyon denemeleri Tablo 15'de gösterilmiştir.

Tablo 15. Polimer faz formülasyon denemeler

Formülasyon	Sodyum Aljinat (%)	Plastifiyan (%)
F1	0.75	% 1 Gliserin
F2	0.75	% 3 Gliserin
F3	0.75	% 5 Gliserin
F4	0.75	% 10 Gliserin
F5	0.75	% 1 PEG(400)
F6	0.75	% 3 PEG(400)
F7	0.75	% 5 PEG(400)
F8	0.75	% 10 PEG(400)
F9	0.75	% 1 Jelatin
F10	0.75	% 5 Jelatin
F11	0.75	% 10 Jelatin
F12	0.75	% 13 Jelatin
F13	0.75	% 15 Jelatin
F14	0.75	% 24 Jelatin
F15	0.75	% 25 Jelatin
F16	0.75	% 30 Jelatin

Formülasyon Çalışmaları

Yukarıda tablocc verilen oranlarda yardımcılar ile hazırlanan polimer faz çalışmaları sonucunda istenen kıvam ve dayanıklılık süresi elde edilemediği için, yapılan gözlemler ve elde edilen verilere dayanarak tablovv verilen yüzdeler ile yeni kombinasyonlar yapılarak geliştirme sürecine devam edilmiştir.

Tablo 16. Polimer faz formülasyon denemeleri devamı

Formülasyon	Sodyum Aljinat (%)	Jelatin (%)	Gliserin (%)
F17	% 1.5	% 10 Jelatin	% 3 Gliserin
F18	% 1.5	% 15 Jelatin	% 3 Gliserin
F19	% 2.5	% 10 Jelatin	% 5 Gliserin
F20	% 3.5	% 5 Jelatin	% 10 Gliserin
F21	% 0.75	% 24 Jelatin	% 5 Gliserin
F22	% 3.5	% 10 Jelatin	% 3 Gliserin

Etkin Madde Eklenmesi

Tablo belirtilen oranlara göre; belirlenen optimum polimer faz formülasyonuna; %0.05 oranında siklosporin içeren emülsiyon fazı ilave edilir. Polimer faz ve emülsiyon fazın birbiri ile homojen karışmasını sağlamak amacıyla 45°C ± 5°C sıcaklıkta, manyetik karıştırıcı (1000 devir/dk) ile, 40 dakika boyunca karıştırılır.

Ürün Hazırlama Yöntemi

Uygulanan yöntem kısaca şöyledir;

Polimer faz için belirlenen optimum orana göre; yardımcı maddeler 50°C sıcaklıkta, 2 ml enjeksiyonluk su ilave edilerek, manyetik karıştırıcı (1200 devir/dk) ile, 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Homojen ve berrak görüntü elde edildikten sonra, pH kontrolü yapılıp, hazırlanan 1N NaOH çözeltisi ile pH 7.4'e ayarlanmıştır. Ardından 5 dakika daha karıştırılarak çözelti sıcaklığı 65°C ± 5°C' ye çıkarılmıştır.

Emülsiyon faz, 1 mL'sinde 0.5 mg siklosporin içermektedir ve kullanılacak olan miktar öncesinde ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ~45°C'ye ısıtılmıştır.

Polimer faz, manyetik karıştırıcı (1300 devir/dk) ile, 55°C'de karıştırmaya devam edilirken; emülsiyon faz yavaş yavaş ilave edilmiştir. ardından 0.5 ml %0.5'lik Benzalkonyum klorür çözeltisi eklenerek, 10 dakika karışmaya bırakılmıştır daha sonra sıcaklık ~45°C'ye sabitleyerek 30 dakika boyunca karıştırmaya devam edilmiştir.

Elde edilen bulk çözelti; 2 mm'lik petri kaplarına aktarılarak; nihai formunu alması için 65°C sıcaklıktaki etüve ~6 saat kurumaya bırakılmıştır.

6 saat sonunda çıkarılan petri kaplarına 2 mm çapında, daire şeklinde kesitler alınarak final formuna getirilmiştir. Hazırlanan oftalmik insertler alu-alu blister ile paketlenerek 25°C' de oda koşulunda ışıktan korunacak şekilde saklanmıştır.

Seçilen formülasyonların fizikokimyasal özelliklerini belirlemek, formülasyon geliştirme aşamalarından gelebilecek herhangi bir olumsuzluğu veya bileşenler arasındaki geçimsizliği önceden saptamak amacıyla kapsamlı bir seri analizler gerçekleştirilmiştir.

Hazırlanan Polimer Fazların Belirlenmesi

Polimer faz çalışmaları sonucu elde edilen formların; yapılan in vitro gözde erime süresi testi (siklosporin içermeyen), fiziksel görünüş ve kıvam testlerine dayanarak; istenilen özelliklere uygun F21 ve F22 formülasyonları seçilmiştir. Yapılacak olan testler bu formülasyonlar üzerinden ilerlemiştir.

QbD Kapsamında Formülasyon Hazırlığı

Formülasyon geliştirme çalışmaları sırasında uygun metodun belirlenmesi ile QbD kapsamında, kritik proses parametreleri olarak belirlenen, Sıcaklık(55±10°C), Karıştırma Devri ve Süresi(1200±500 devir/dk ile, 30±15 dakika), Kurutma Sıcaklığı ve Süresi (65°C±20 ~6±3 saat adımlarının final ürün kalitesine etkisini belirlemek ve buna bağlı olarak sonuç risk değerlendirmesinin yapılması amacıyla formülasyon yönteminde parametreler değiştirilerek formülasyonlar hazırlanmış ve belirli testler yapılmıştır. Hazırlanan formülasyonların değişen parametreleri ile birlikte aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 17. Parametreleri değiştirilen formülasyonlar

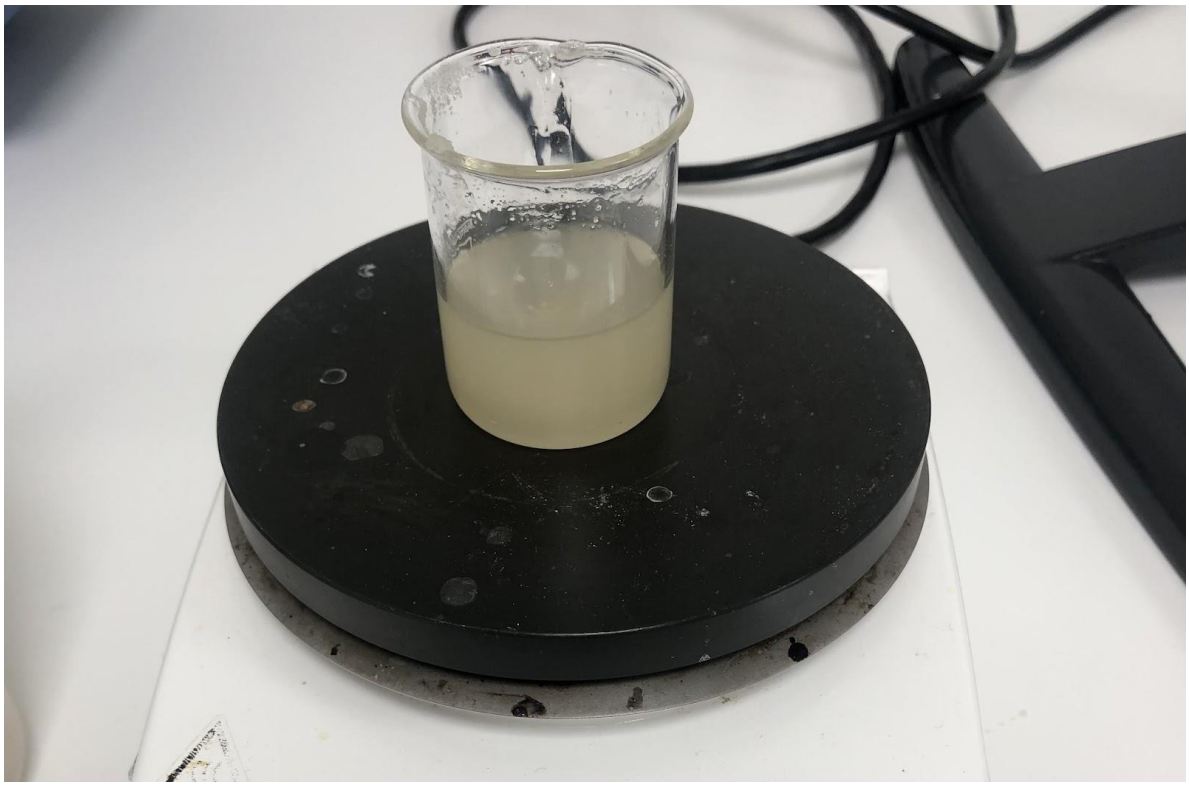
Sıcaklık (55°C)	F21-A, F22-A
Sıcaklık (45°C)	F21-B, F22-B
Karıştırma Devri ve Süresi(700 rpm, 15 dakika)	F21-C, F22-C
Karıştırma Devri ve Süresi(1200 rpm, 45 dakika)	F21-D, F22-D
Kurutma Sıcaklığı ve Süresi 45°C, ~ 8 saat	F21-E, F22-E
Kurutma Sıcaklığı ve Süresi 85°C, ~ 3 saat	F21-F, F22-F

F21 Formülasyon Hazırlığı

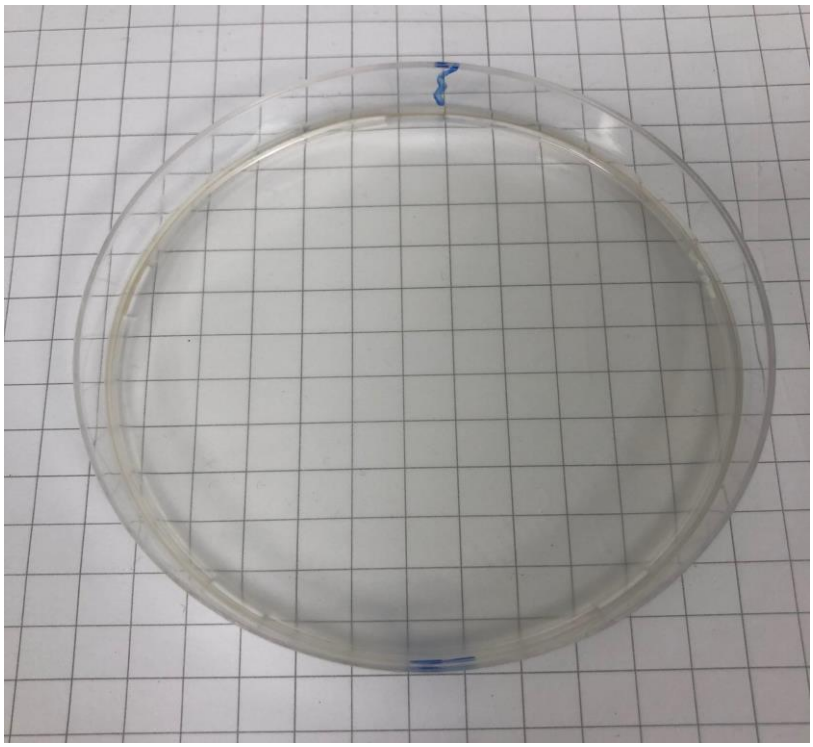
Polimer faz için belirlenen F21 formülasyon orana göre; yardımcı maddeler 50°C sıcaklıkta, 2 ml enjeksiyonluk su ilave edilerek, manyetik karıştırıcı (1200 devir/dk) ile, 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Homojen ve berrak görüntü elde edildikten sonra, pH kontrolü yapılıp, hazırlanan 1N NaOH çözeltisi ile pH 7.4'e ayarlanmıştır. Ardından 5 dakika daha karıştırılarak çözelti sıcaklığı 55°C ' ye çıkarılmıştır.

Emülsiyon faz, 1 mL'sinde 0.5 mg siklosporin içermektedir ve kullanılacak olan miktar öncesinde ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ~45°C'ye ısıtılmıştır.

Polimer faz, manyetik karıştırıcı (1300 devir/dk) ile, 55°C'de karıştırmaya devam edilirken; emülsiyon faz yavaş yavaş ilave edilmiştir. ardından 0.5 ml %0.5'lik Benzalkonyum klorür çözeltisi eklenerek, 10 dakika karışmaya bırakılmıştır daha sonra sıcaklık ~45°C'ye sabitleyerek 30 dakika boyunca karıştırmaya devam edilmiştir.



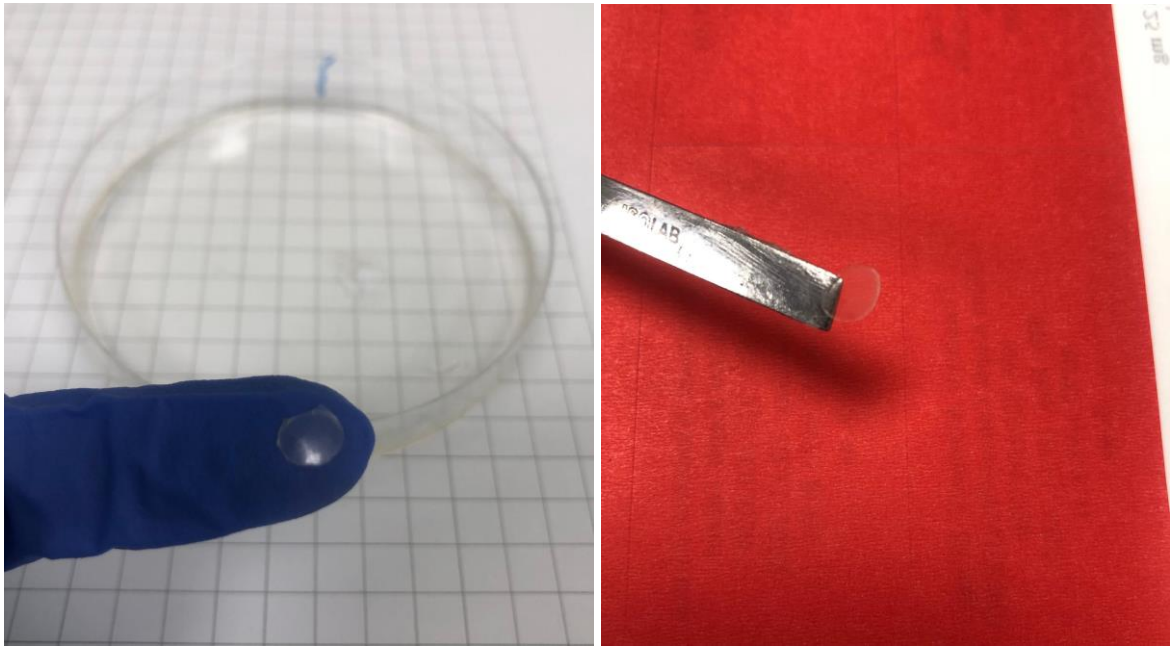
Şekil 10. F21 Formülasyonu fazların eklenmesi ile 30 dakika karışmaya bırakılması



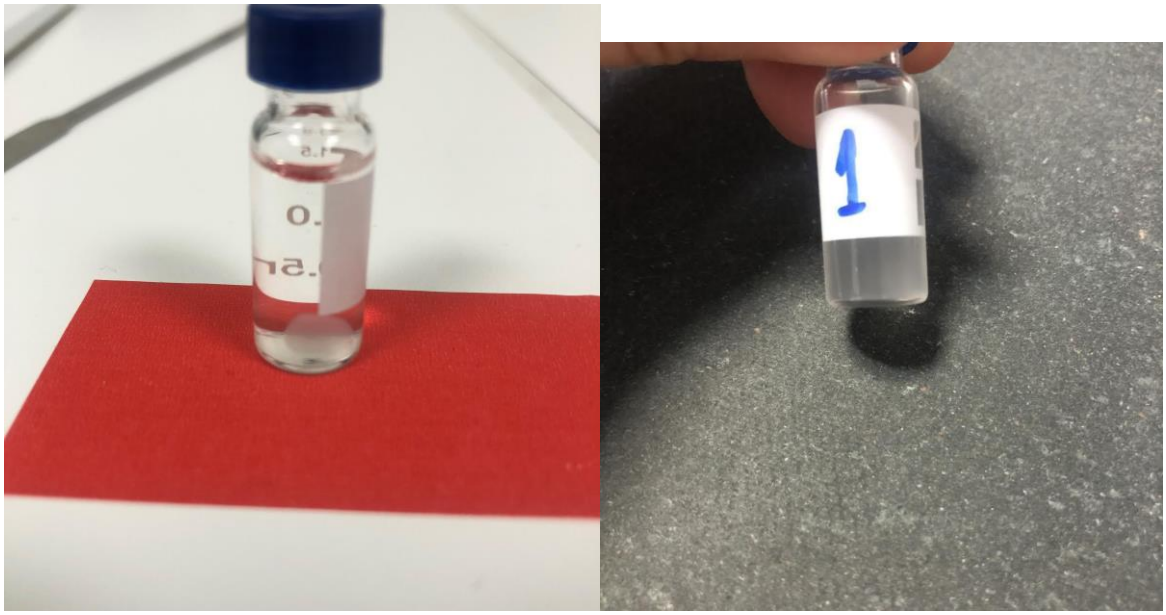
Şekil 11. F21 İnsert formülasyonu petri kabına aktarılması

Elde edilen bulk çözelti; 100x20 mm'lik petri kaplarına aktarılarak; nihai formunu alması için 65°C sıcaklıktaki etüve ~6 saat kurumaya bırakılmıştır.

6 saat sonunda çıkarılan petri kabından 4.6 mm çapında, daire şeklinde kesitler alınarak final formuna getirilmiştir.



Şekil 12. F21 formülasyonu kuruması ve şekil verilmesi



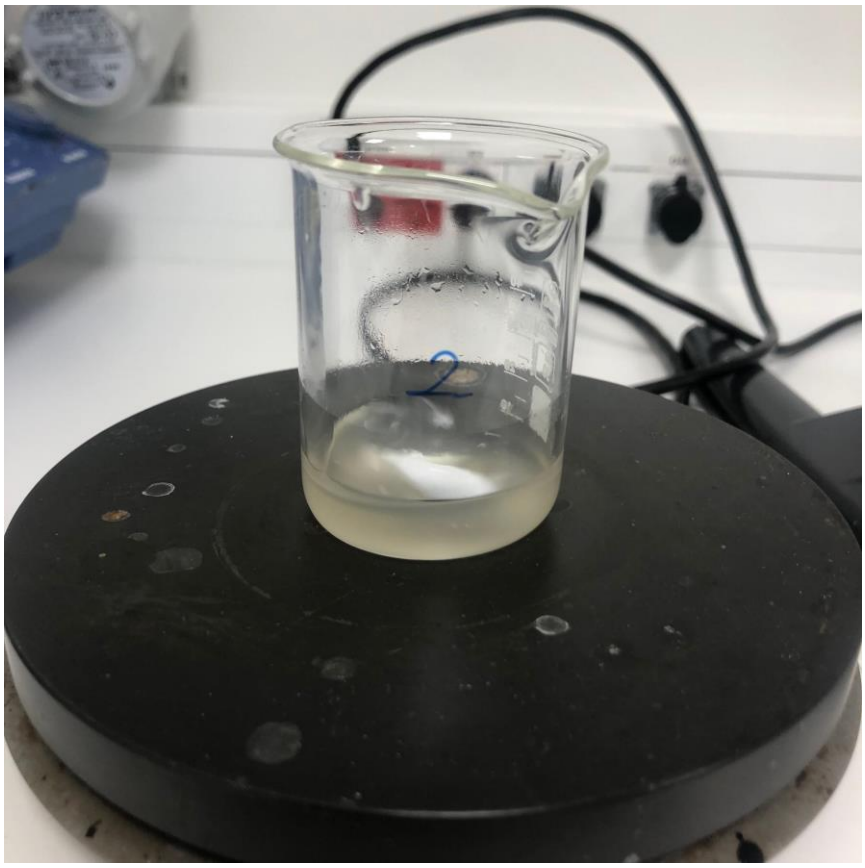
Şekil 13. Hazırlanan insert formülasyonu gözyaşı çözeltisine bırakılması ve salımını tamamladıktan sonra görünüşü

F22 Formülasyon Hazırlığı

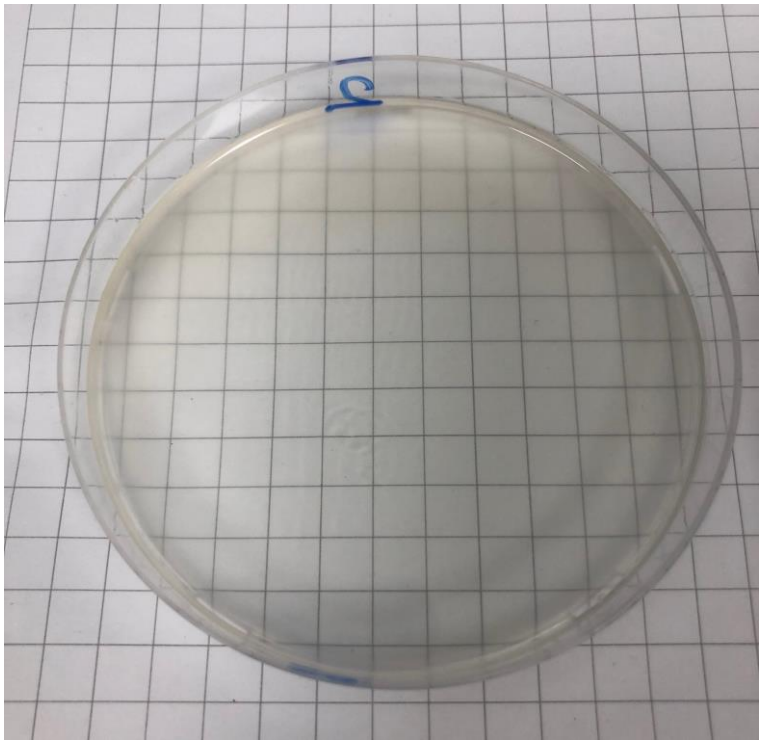
Polimer faz için belirlenen F22 formülasyon orana göre; yardımcı maddeler 50°C sıcaklıkta, 2 ml enjeksiyonluk su ilave edilerek, manyetik karıştırıcı (1200 devir/dk) ile, 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Homojen ve berrak görüntü elde edildikten sonra, pH kontrolü yapılıp, hazırlanan 1N NaOH çözeltisi ile pH 7.4'e ayarlanmıştır. Ardından 5 dakika daha karıştırılarak çözelti sıcaklığı 55°C ' ye çıkarılmıştır.

Emülsiyon faz, 1 mL'sinde 0.5mg siklosporin içermektedir ve kullanılacak olan miktar öncesinde ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda karıştırılarak ~45°C'ye ısıtılmıştır.

Polimer faz, manyetik karıştırıcı (1300 devir/dk) ile, 55°C'de karıştırmaya devam edilirken; emülsiyon faz yavaş yavaş ilave edilmiştir. ardından 0.5 ml %0.5'lik Benzalkonyum klorür çözeltisi eklenerek, 10 dakika karışmaya bırakılmıştır daha sonra sıcaklık ~45°C'ye sabitleyerek 30 dakika boyunca karıştırmaya devam edilmiştir.



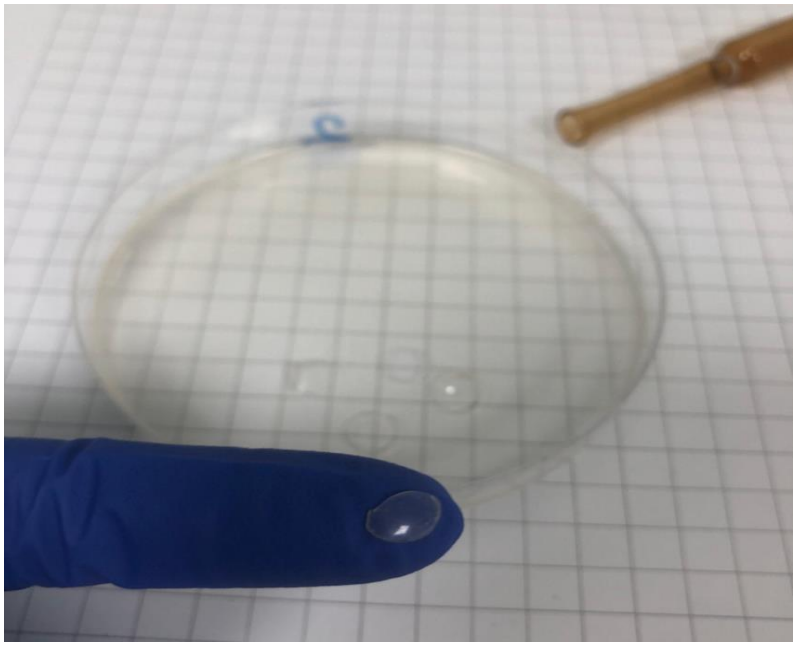
Şekil 14. F22 formülasyonu fazların son karışmaya bırakılması



Şekil 15. F22 insert formülasyonu petri kabına aktarılması

Elde edilen bulk çözelti; 100x20 mm'lik petri kaplarına aktarılarak; nihai formunu alması için 65°C sıcaklıktaki etüve ~6 saat kurumaya bırakılmıştır.

6 saat sonunda çıkarılan petri kabından 4.6 mm çapında, daire şeklinde kesitler alınarak final formuna getirilmiştir.



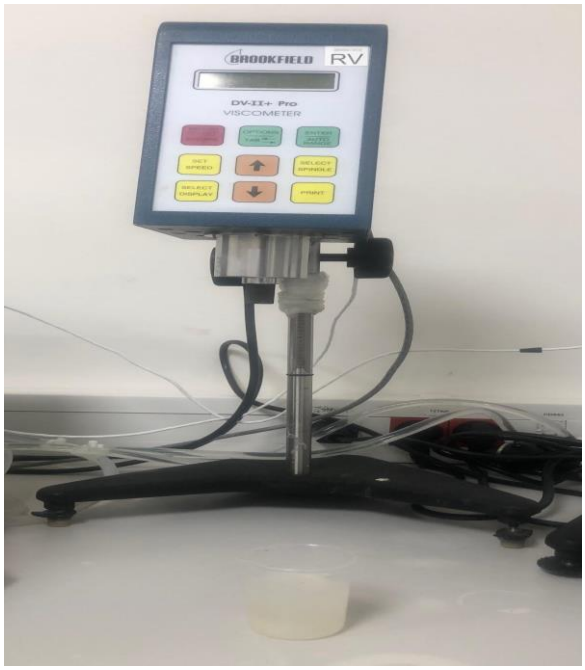
Şekil 16. F22 formülasyonu petri kabından çıkarılması ve şekil verilmesi



Şekil 17. Hazırlanan insert formülasyonu gözyaşı çözeltisine bırakılması

Hazırlanan Oftalmik İnsertler İçin Karakterizasyon Çalışmaları

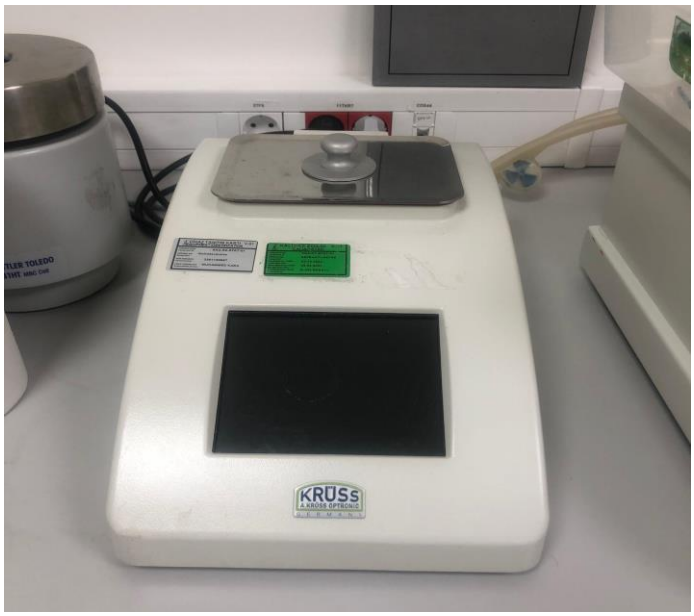
Viskozite ölçümü: Siklosporin içeren formülasyonlar petri kaplarına dökülmeden önce viskoziteleri ölçülmüştür. Her formülasyon denemesi için 5'er deneme yapılmıştır.



Şekil 18. Viskozimetre cihazı

Zeta potansiyel değeri ölçümü: Siklosporin içeren bulk formülasyonların zeta potansiyel değerleri ölçülmüştür. Her formülasyon denemesi için 5'er deneme yapılmıştır.

Kırılma indisi ölçümü: Siklosporin içeren insert formülasyonları petri kaplarına dökülmeden önce kırılma indisleri refraktometre ile ölçülmüştür. Her insert formülasyonu için 5'er kez ölçüm alınmıştır.



Şekil 19. Refraktometre Cihazı

pH ölçümü: Siklosporin içeren ve içermeyen insert formülasyonları petri kaplarına dökülmeden önce pH metre ile pH değerleri ölçülmüştür. Her insert formülasyonu için 5'er kez ölçüm yapılmıştır.

Yoğunluk ölçümü: Siklosporin içeren ve içermeyen insert formülasyonları petri kaplarına dökülmeden önce yoğunluk ölçer ile yoğunluk değerleri ölçülmüştür. Her çözelti insert formülasyonu için 5'er kez ölçüm yapılmıştır.



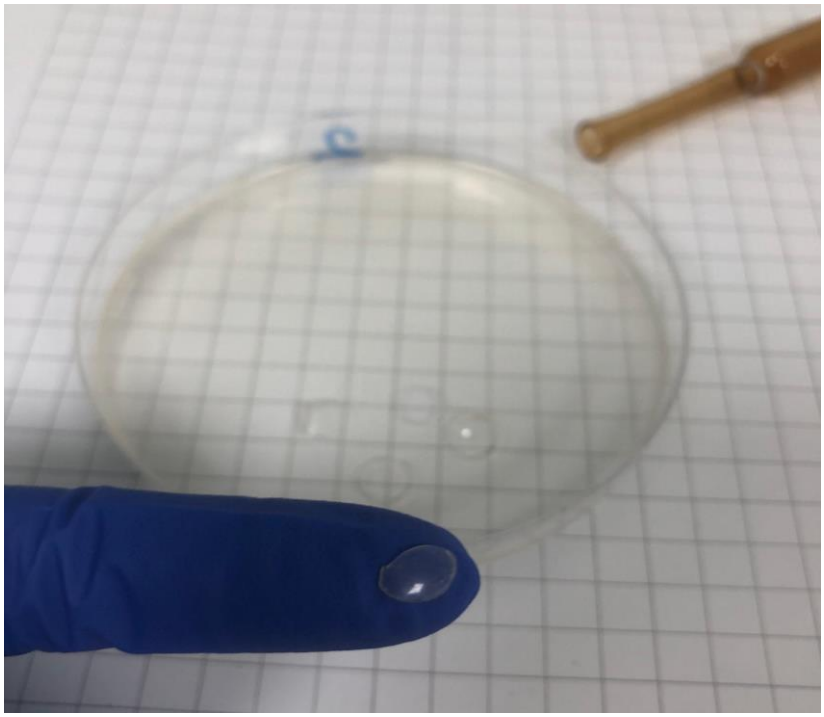
Şekil 20. Yoğunluk ölçer

İnsert Formülasyonlarının Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

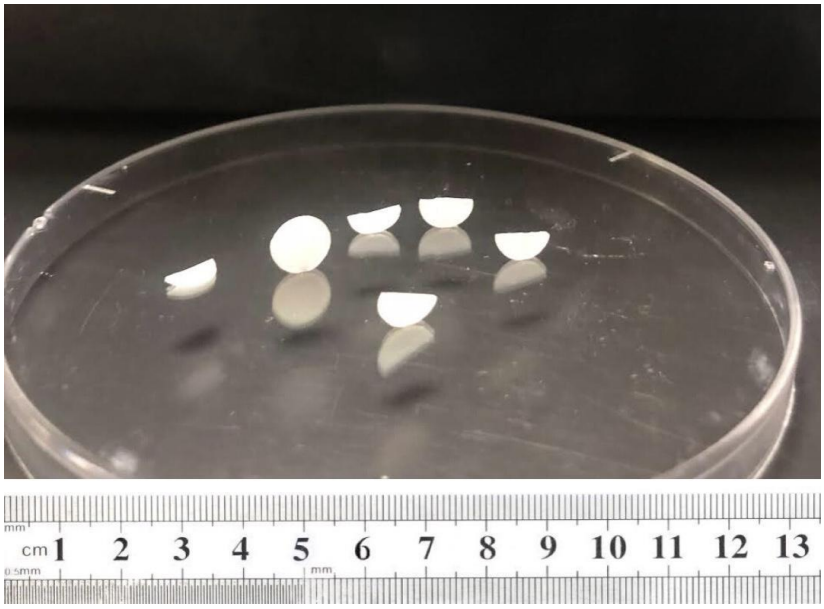
İnsert formülasyonları için kalınlık, etkin madde miktar tayini, nem tayini, ağırlık tayini, petri kabına dökülmeden önceki pH değeri, kırılma indisi, viskozite analizleri yapılarak fizikokimyasal özellikleri belirlenmiştir.

Kalınlık tayini: Hazırlanan insertlerin kalınlıkları dijital mikrometre ile ölçülmüştür. Hazırlanan her formülasyon için 3'er ölçüm alınmıştır.

Formülasyonlara şekil verilmesi ve çap tayini: Seçilen formülasyonların gözün alt kapağının içine uygulanabilmesi için formülasyonlar 4.6 mm çapında cam kalıp kullanılarak baskı ile kesilerek şekillendirilmiştir. Cam kalıpla kesilen her bir insertin çapı dijital mikrometre ile ölçülmüştür.



Şekil 21. Resimde gösterilen 4,6 mm çapındaki cam ampul ile şekil verilmesi



Şekil 22. Elde edilen oftalmik insert şekilleri

İnsertlerdeki siklosporin miktar tayini: İnsert formülasyon geliştirme çalışmaları ile yapılan analiz denemeleri sonucu ideal yöntem belirlendikten sonra, final formül ile hazırlanan %0.014 (a/h) oranında siklosporin içeren insertler hazırlanarak ağırlıkları belli halde şekillendirilmiştir. Metoda uygun olarak; 3.5 adet şekillendirilmiş oftalmik insert, önce 5 mL, 1:1 metanol:su (v/v) karışımı ile vortex ile 5 dakika boyunca karıştırılmış ardından 10 ml'ye çözücü ile tamamlanarak ultrasonik banyoda tamamen çözünmesi için 15 dakika bırakılmıştır.

Daha sonra 0.22 µm'lik membrandan süzülerek viallere alınan süzüntü HPLC'de okutularak, miktar tayini analizi gerçekleştirilmiştir. Her insert formülasyonu için 6'şar okuma gerçekleştirilmiştir.



Şekil 23. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)

Ağırlık tayini: Cam kalıp ile şekillendirilmiş siklosporin içeren insert formülasyonları hassas terazide tartım alınarak ağırlık sapması çalışması yapılmıştır. Her Biri için 10 kez ölçüm alınmıştır.

Nem miktar tayini: İnsertlerin hazırlandıktan sonra içerdikleri nem miktarının belirlenmesi için (susuz) kalsiyum klorür bulunan desikatörde 3 gün bekletilmiş ve 3 günün sonunda tartım alınmıştır. Nem miktar yüzdesi hesaplanmıştır. Her formülasyon için 5 deneme yapılmıştır.

Eşitlik 1= % Nem miktarı = ((Ab -As) / Ab) X 100

As: Son insert ağırlığı

Ab: Başlangıç insert ağırlığı

***İn vitro* Salım Çalışmaları**

İnsertler (14 adet), 10 mL 32℃'de pH 7.4 Gözyaşı tamponu ortamına bırakılmıştır. Sistem manyetik karıştırıcı ile 100 devir/dakikada 5 saat karışmaya bırakılmıştır. 5 saat boyunca belirli aralıklarla salım bitene kadar örnekler alınmıştır. Elde edilen sulu kısım 0.22µm'lik

membrandan süzülerek HPLC'de miktar tayini analizi gerçekleştirilmiştir. Her insert formülasyonu için 6'şar okuma gerçekleştirilmiştir.

İnsertlerde şişme tayini: İnsertler (3 adet), 10 mL 32℃'de pH 7.4 PBS tampon ortamına bırakılmıştır. 15, 30, 45 dakika, 1, 2, 3, 4. saatlerde ortamdan alınarak, tartılmış, çapı ve yüksekliği ölçülmüştür. Başlangıçtaki ağırlık, çap ve yüksekliklerine göre şişme yüzdeleri Eşitlik 2 ye göre hesaplanmıştır.

% Şişme indeksi = (Vt-V0/V0)x 100

Vt: t zamandaki ağırlık

V0: başlangıçtaki ağırlık

Hazırlama Prosesinin Sonuç Risk Değerlendirmesi

Genel hazırlık ve proses aşamasının sonuç risk değerlendirmesi yapılmıştır. Proses adımlarının; etkin miktarı, pH ve Partikül boyutunu değiştirebilecek risk dereceleri yapılan deneyler sonucu belirlenmiştir. Tablo 18 oftalmik insert hazırlık süreci için sonuç risk değerlendirmesini göstermektedir.

Oftalmik İnsert Hazırlık Prosesinin Sonuç Risk Değerlendirmesi

Tablo 18. Oftalmik insert hazırlık prosesinin sonuç risk değerlendirmesi

Ürünün Kritik Kalite Özelliği(CQA)	Proses Adımları			
	Polimer Faz Hazırlığı	Emülsiyon Faz Eklenmesi	Final Karıştırma	Kurutma
Etkin Miktar Tayini	Düşük	Yüksek	Yüksek	Düşük
pH	Yüksek	Yüksek	Orta	Düşük
Salım Süresi	Yüksek	Düşük	Yüksek	Düşük
Zeta Potansiyel	Yüksek	Yüksek	Orta	Düşük
Viskozite	Yüksek	Düşük	Düşük	Düşük

Kritik Proses Parametrelerinin Sonuç Risk Değerlendirmesi

Genel hazırlık ve proses aşamasının sonuç risk değerlendirmesi çalışması yapılmıştır. Proses adımlarının; siklosporin miktarı, pH ve salınım süresini potansiyel olarak

değiştirebilecek risk derecelerinin yapılan deneyler sonucu risk durumları değerlendirilmiştir. Tabloxx oftalmik insert kritik proses parametrelerinin sonuç risk değerlendirmesini göstermektedir.

Oftalmik İnsert Kritik Proses Parametreleri Sonuç Risk Değerlendirmesi

Tablo 19. Oftalmik insert hazırlık prosesinin parametreleri sonuç risk değerlendirmesi

Ürünün Kritik Kalite Özelliği(CQA)	Proses Adımları		
	Sıcaklık	Karıştırma Devri ve Süresi	Kurutma Sıcaklığı ve Süresi
Etkin Madde Miktarı (Siklosporin)	Düşük	Düşük	Düşük
pH	Orta	Düşük	Düşük
Salım Süresi	Düşük	Düşük	Düşük
Zeta Potansiyel	Düşük	Düşük	Düşük
Viskozite	Yüksek	Düşük	Düşük

Stabilite Çalışmaları

İnsert formları elde edilen F21 ve F22 formülasyon bitmiş ürünlerinin stabilitelerini değerlendirmek amacıyla 3 ay boyunca 25 ± 2°C ve %60± 5 ve 40 ± 2°C ve %75 ± 5 bağıl nem koşulunda resimde gösterildiği gibi Alu-Alu tipi blister ile hazırlanarak stabilite kabinlerinde tutulmuştur. 3. Ay sonunda stabilite numuneleri görünüş, miktar tayini, kırılma indisi ve salım süresi analizleri ile takip edilmiştir.



Şekil 24. Oftalmik insert ürünlerinin stabiliteye kaldırılan final hali

İstatiksel Değerlendirme

Farklı formülasyonlardan elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi ile istatistiksel anlamlılık (ANOVA) olarak değerlendirilerek, Excel üzerinde hesaplatılmıştır. İstatiksel olarak önemli anlamlı fark vardır kararını verileceğimiz zaman, yapılacak olası hata miktarını p değeri göstermektedir.İstatik bilim insanı Fisher tarafından bu hatanın maksimum kabul edilebilir düzeyi 0,05 olarak önerilmiş ve kabul görmüştür. Aşağıdaki tabloda gösterildiği gibi; Karar olasılığı; p>0,05 önemli fark yoktur, p≤0,05 önemli fark vardır, p≤0,01 çok önemli fark vardır, p≤0,001 ileri düzeyde önemli fark vardır anlamına gelmektedir. Üç ve daha fazla sonuçlar için standart sapma (SD) verileri verilmiştir (147).

Tablo 20. Tek yönlü varyans analizi değerlendirme tablosu

Karar Olasılığı	**Karar**
p >0,05	Önemli fark yoktur
p ≤0,05	Önemli fark vardır
p ≤0,01	Çok önemli fark vardır
p ≤0,001	İleri düzeyde önemli fark vardır

BULGULAR

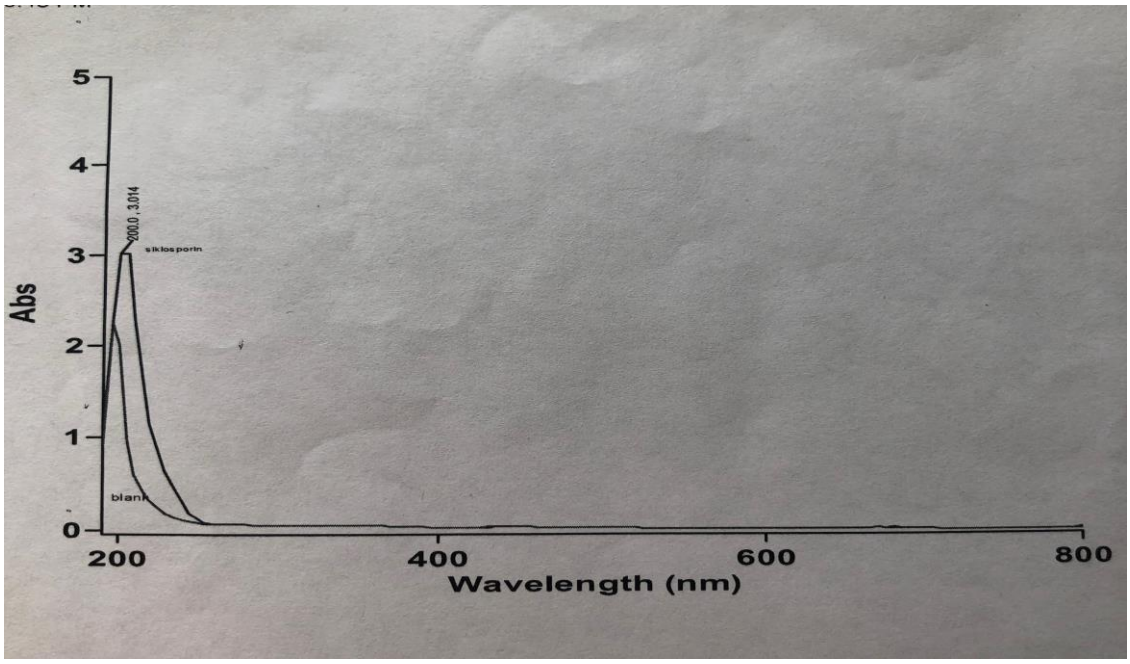
Siklosporin Görünüşü

Siklosporin'in beyaz yada beyazımsı toz olarak gözlenmiştir. Şekil 25 de verilmiştir.



Şekil 25. Siklosporin fiziksel görünüşü

Siklosporin'in Ultraviyole (UV) Analizi

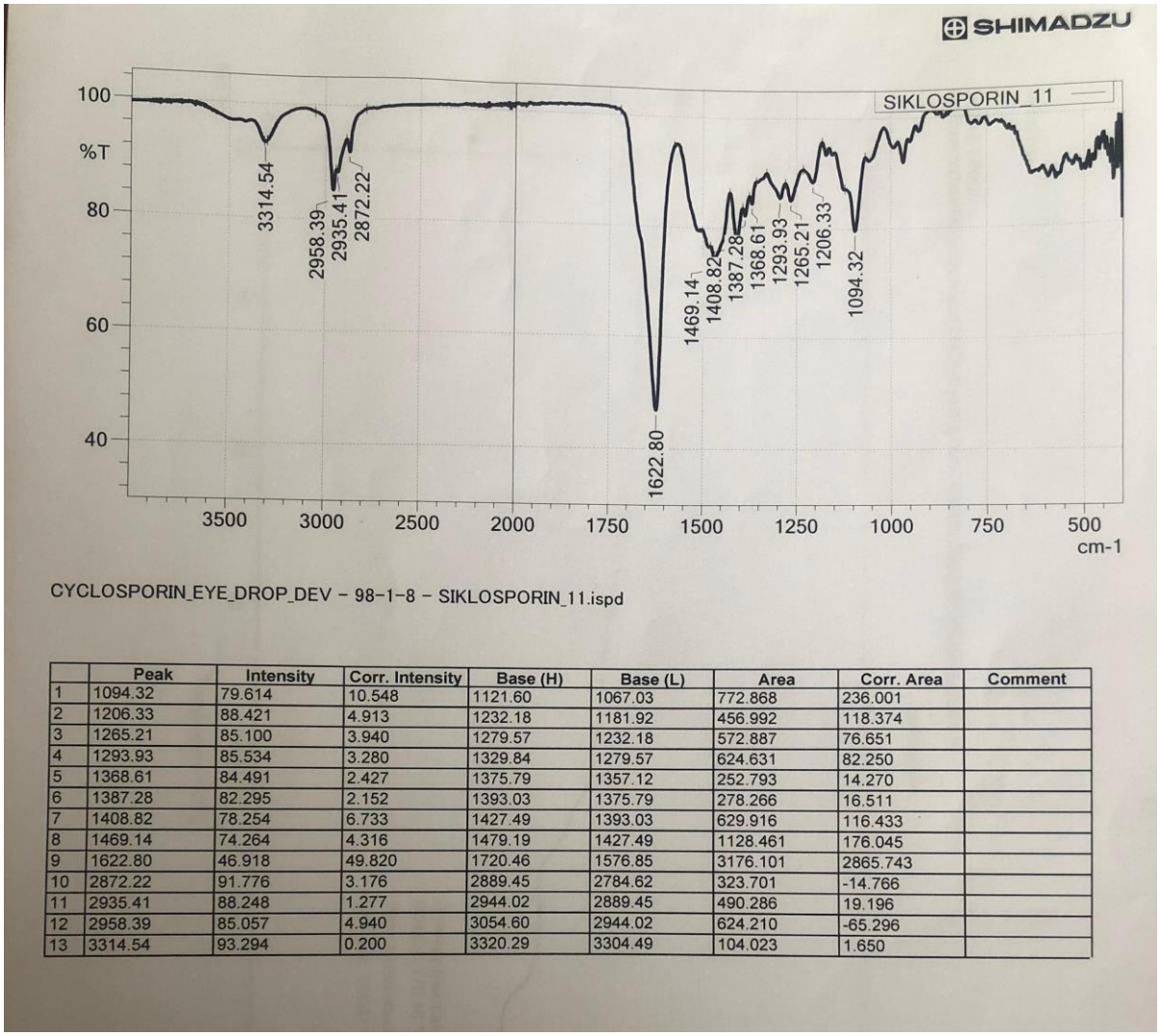


Şekil 26. Siklosporin ultraviyole (UV) kromatogramı

Siklosporin'in Ultraviyole (UV) Analizi Şekil 26 'de verilmiştir. Elde edilen sonuç 250 nm olarak bulunmuştur ve bu değer literatür ile uygunluk göstermektedir.(155)

Siklosporin'in Infrared Spektroskopisi Analizi Sonucu

Siklosporin'in FT-IR spektrumu Şekil 26'da verilmiştir. 4000 – 600 cm-1 aralığında okutulup pik yaptığı dalga boyları belirlendi, IR sonucunda görüntülenmesi ile siklosporin yapısındaki fonksiyonall gruplar ve bağlantı noktaları, aromatik veya alifatiklik durumu tespit edildi. Ke ve ark. (154) yaptıkları çalışmalar ile karşılaştırıldığında sonuç piklerinin benzerlik gösterdiği sonucuna varılmıştır.

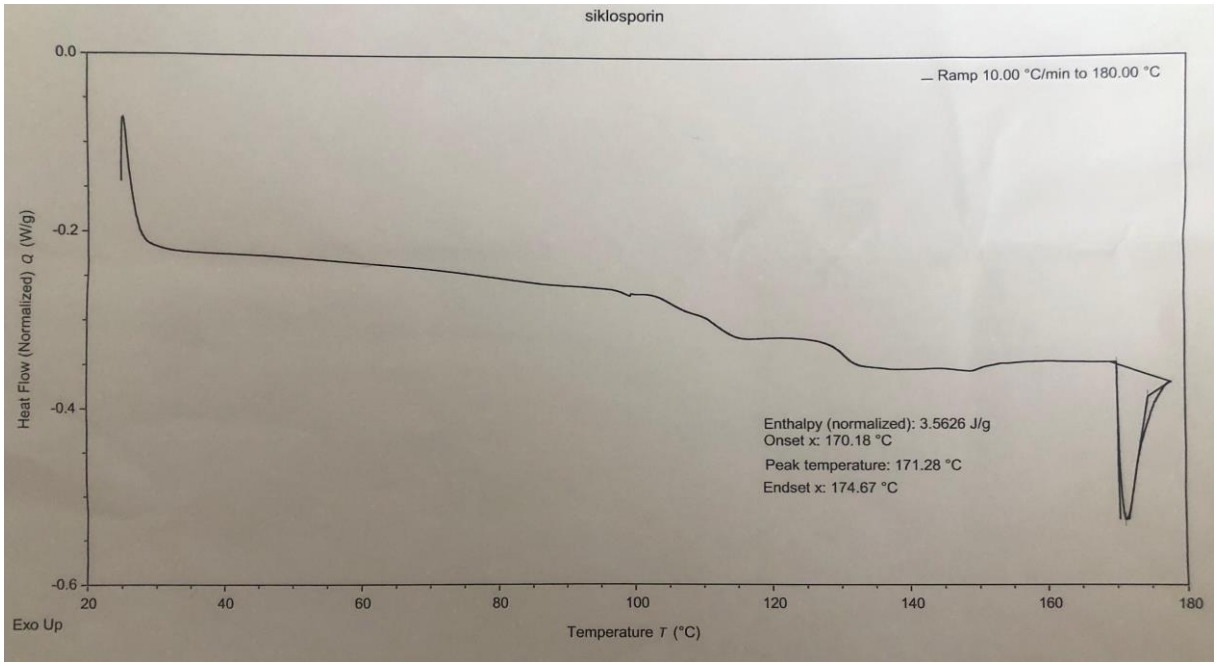


	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area	Comment
1	1094.32	79.614	10.548	1121.60	1067.03	772.868	236.001	
2	1206.33	88.421	4.913	1232.18	1181.92	456.992	118.374	
3	1265.21	85.100	3.940	1279.57	1232.18	572.887	76.651	
4	1293.93	85.534	3.280	1329.84	1279.57	624.631	82.250	
5	1368.61	84.491	2.427	1375.79	1357.12	252.793	14.270	
6	1387.28	82.295	2.152	1393.03	1375.79	278.266	16.511	
7	1408.82	78.254	6.733	1427.49	1393.03	629.916	116.433	
8	1469.14	74.264	4.316	1479.19	1427.49	1128.461	176.045	
9	1622.80	46.918	49.820	1720.46	1576.85	3176.101	2865.743	
10	2872.22	91.776	3.176	2889.45	2784.62	323.701	-14.766	
11	2935.41	88.248	1.277	2944.02	2889.45	490.286	19.196	
12	2958.39	85.057	4.940	3054.60	2944.02	624.210	-65.296	
13	3314.54	93.294	0.200	3320.29	3304.49	104.023	1.650	

Şekil 27. Siklosporin FT-IR spektrumu kromatogramı

Siklosporin Diferansiyel Tarama Kalorimetri Analizi Sonucu

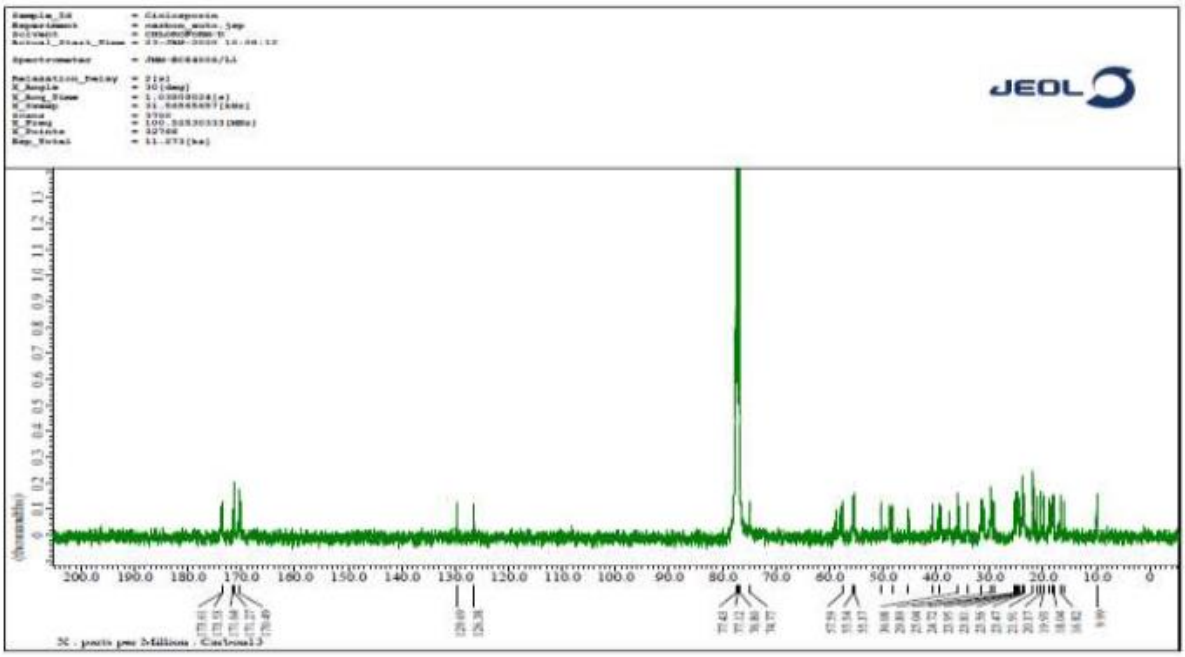
Siklosporin'in DSC termogramı Şekil 28 'de verilmiştir. DSC ile yapılan erime derecesi tayininde, literature uygun şekilde siklosporin'in erime başlangıcı 177 ºC olarak bulunmuştur. Literaturde Ke ve ark. tarafından yapılan çalışma ile kıyaslandığında form 3 ile benzer olduğu görülmüştür (154).



Şekil 28. Siklosporin'in DSC termogramı

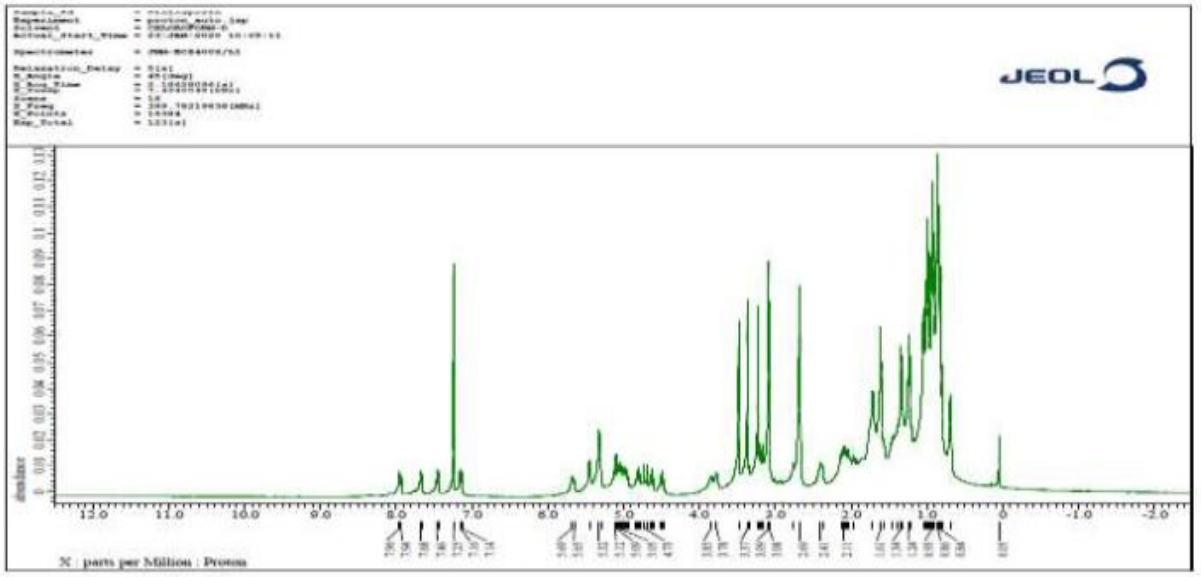
Siklosporin Nükleer Manyetik Rezonans Analizi Sonucu

Siklosporin'in ^{1}H-NMR ve ^{13}C-NMR spektrumu Şekil 29 ve Şekil 30'de verilmiştir. ^{1}H-NMR ile molekülleri dahilinde bulunan hidrojen atomlarımın sinyal grubları içerisindeki yarılma, bağ özelliklerini ve çevre gruplarımdaki bağ özelliklerini göstermektedir.



Şekil 29. Siklosporin ^{1}H-NMR spektrumu

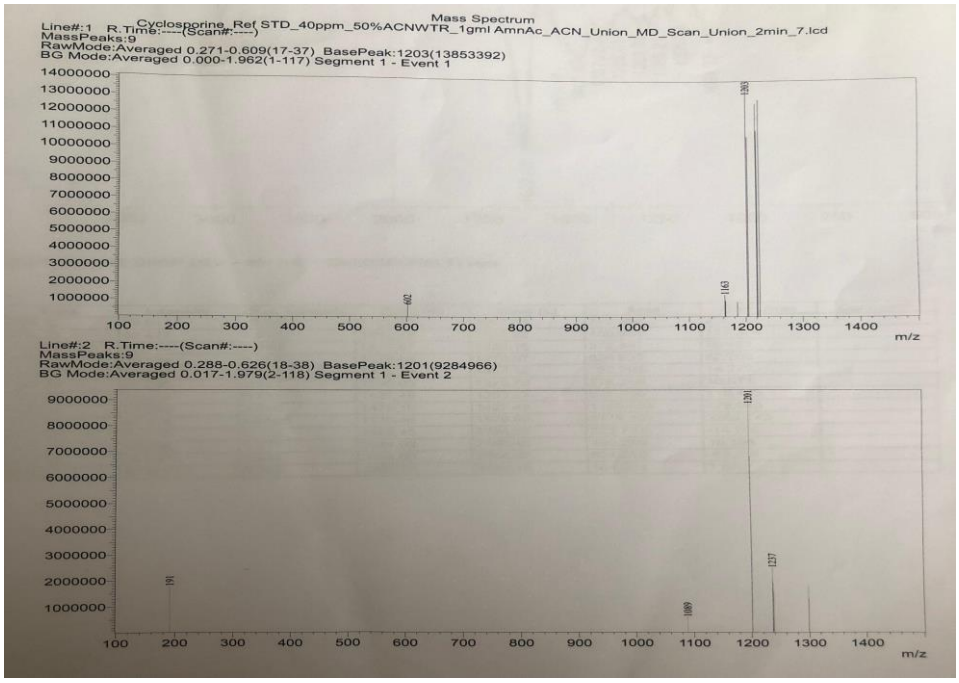
^{13}C-NMR ile moleküllerindeki çeşitli tip ve karbon atomlarının elektronik çevresini, karbon atomunun komşu sayılarının sayısını yarılma olarak göstermektedir.



Şekil 30. Siklosporin ^{13}C -NMR spektrumu

Siklosporin Mass Spektrometre Analizi

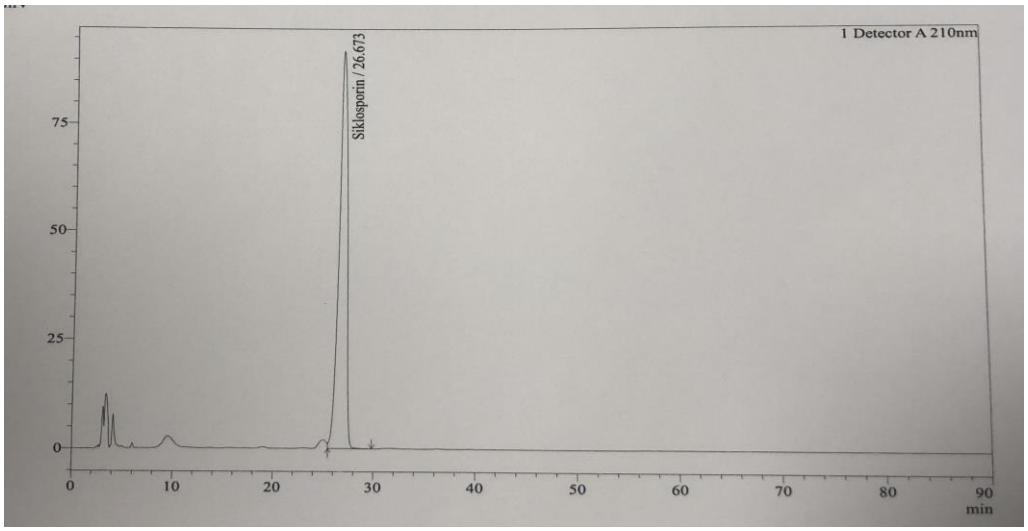
Siklosporin'in Mass Spektrometre Analizi Şekil 30 'da verilmiştir. Siklosporin'in kütle spektrum analizinde bulunan standart sonucları; 1163,1263 m/z ve numune sonuçları 1089, 1201m/z olarak birbirine paralel veriler elde edilmiştir. Kütle/elektiriksel yük oranı değeri ile Salm ve ark. yaptığı çalışmalar ile karşılaştırıldığında (156). birbiri ile uyumlu olduğu gosterilmiştir.



Şekil 31. Siklosporin'in mass spektrometre analizi

Siklosporin Miktar Tayini Sonuçları

Siklosporin miktar tayini sonucu %99,2 bulunmuştur ve Tablo 21'de verilmiştir.



Şekil 32. Siklosporin'in miktar tayini sonucu

Lipit/Su Partisyon Katsayı Tayini Sonucu

Lipit/su partisyon katsayı tayini yönteminde anlatıldığı gibi çalışılmıştır. etkin maddenin birbiri ile karışmayan yağ fazı n-oktanol ile su fazdaki dağılımının kantitatif ölçüsü partisyon katsayı değerini vermektedir. Yağ fazı olarak lipofilik dokularla benzerlik gösteren n-oktanol

kullanılmıştır. Partisyon katsayısı genelde log P olarak gösterilir. Yöntemde verilen eşitliğe göre hesaplanan log P değeri 2,92±0,086 olarak bulunmuştur.

Polimer Faz (Siklosporin İçermeyen İnsertlerin) Parçalanma Süresi Sonuçları

Tüm formülasyon denemeleri için gözyaşı çözeltisi içerisinde tamamen parçalanma süreleri Tablo 21'de gösterilmiştir.

Tablo 21. Polimer faz denemeleri için gözyaşı çözeltisi içerisinde tamamen parçalanma süreleri

Formülasyon	Parçalanma süresi	Formülasyon	Parçalanma süresi
F1	< 1 dakika	F12	83 dakika
F2	< 1 dakika	F13	116 dakika
F3	< 1 dakika	F14	227 dakika
F4	~ 2 dakika	F15	238 dakika
F5	< 1 dakika	F16	274 dakika
F6	< 1 dakika	F17	77 dakika
F7	~ 2 dakika	F18	~ 131 dakika
F8	~ 4 dakika	F19	~ 96 dakika
F9	13 dakika	F20	~ 44 dakika
F10	27 dakika	F21	~ 248 dakika
F11	61 dakika	F22	~ 102 dakika

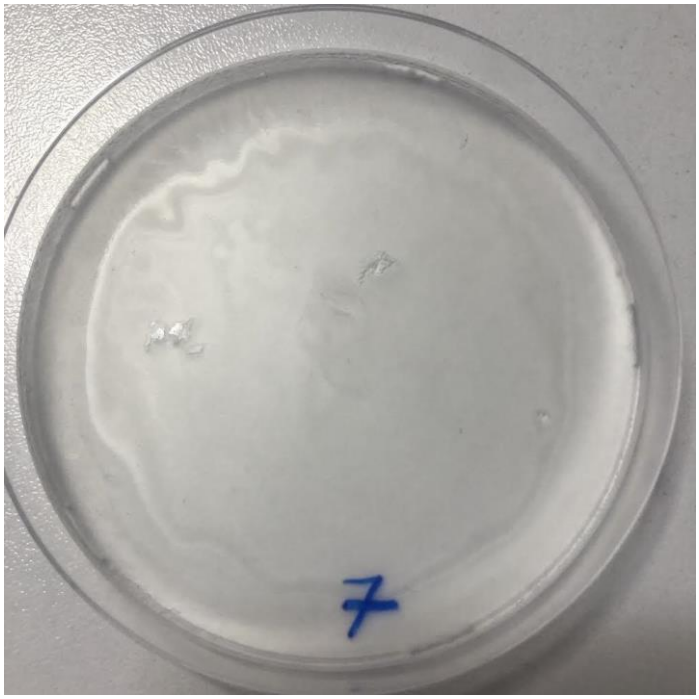
Yukarıda verilen polimer faz çalışmalarında elde edilen görseller aşağıda verilmiştir.



Şekil 33. F4 polimer formülasyonu 6 saat etüvde bekledikten sonra görünüşü



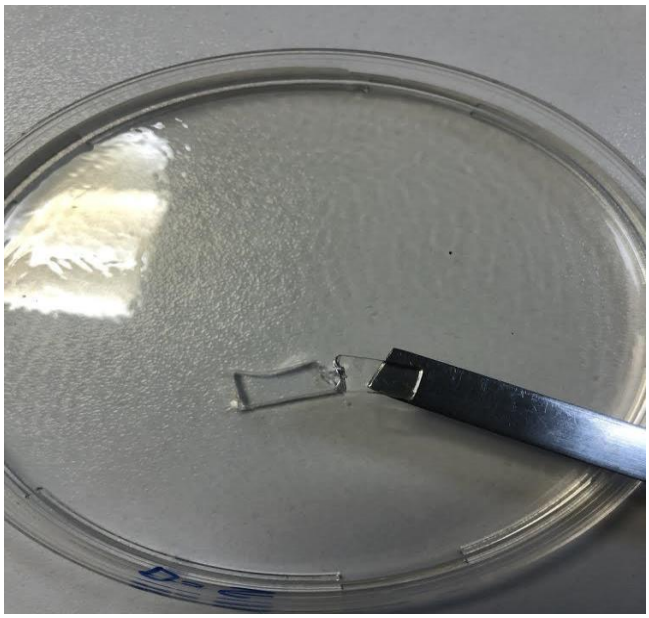
Şekil 34. F5 polimer formülasyonu 2 saat etüvde bekledikten sonra görünüşü



Şekil 35. F7 polimer formülasyonu 2 saat etüvde bekledikten sonra görünüşü

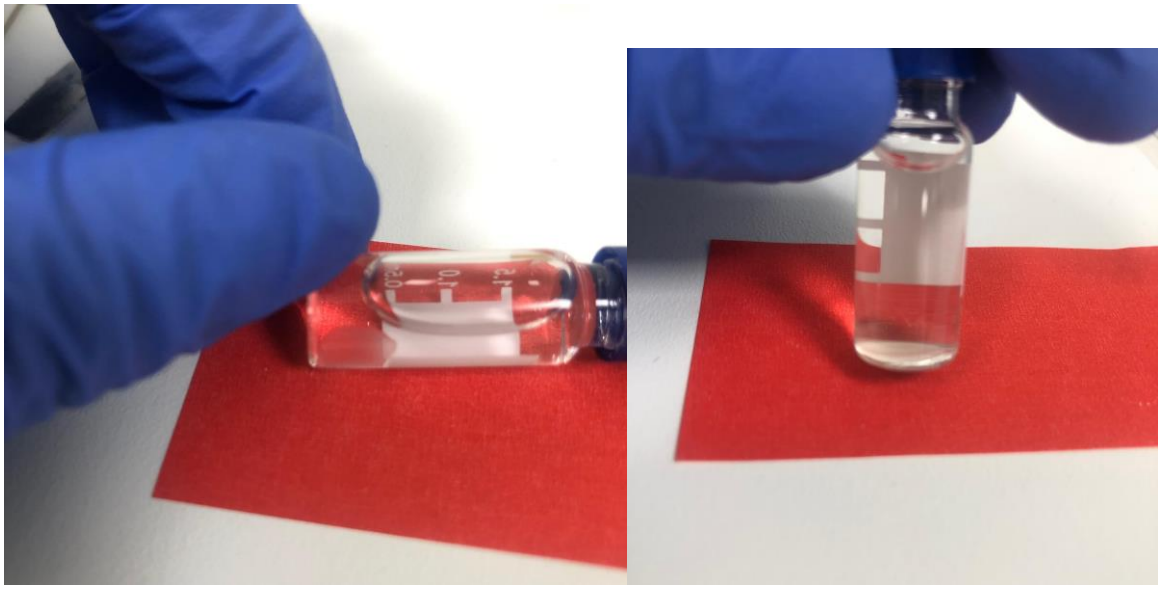


Şekil 36. F13 polimer formülasyonu 5 saat etüvde bekledikten sonra görünüşü



Şekil 37. F15 polimer formülasyonu 5 saat etüvde bekledikten sonra görünüşü

Yapılan deneme çalışmalarının ardından kıvamı ve tutuculuğu açısından uygun bulunan plasebo insertler gözyaşı çözeltisine bırakılarak göz içerisindeki dayanıklılık ve uzun salım süreleri test edilmiştir. Gözyaşı içerisinde bırakılması resim de gösterilmiştir.



Şekil 38. Plasebo insertlerin gözyaşı içerisine bırakılması

SİKLOSPORİN İÇEREN OFTALMİK İNSERT DENEMELERİ İÇİN YAPILAN TESTLER VE SONUÇLARI

Formülasyonların Viskozite Analizi Sonucu

Formülasyonların viskozite ölçümleri; Brookfield DV II+Pro markalı spindle viskometre ile, 15 rpm ve 25 °C sıcaklıkta yapılmıştır. QbD kapsamında parametreleri açıklandığı gibi değiştirilerek hazırlanan formülasyonların sıcaklığın artmasına bağlı olarak viskozite değerlerinin düştüğü ve belirlenen spesifikasyon limiti dışında değer elde edilmesi ile sıcaklığın yüksek riskli proses parametresi olduğu gösterilmiştir. Ölçülen viskozite değerleri Tablo 22'de verilmiştir.

Tablo 22. Hazırlanan formülasyon denemeleri için viskozite sonuçları

Formülasyonlar	Viskozite (cP)	Formülasyonlar	Viskozite (cP)
F21	178±5	**F22**	139±5
F21-A	135±5	**F22-A**	142±5
F21-B	191±5	**F22-B**	144±5
F21-C	168±5	**F22-C**	147±5
F21-D	174±5	**F22-D**	146±5

Formülasyonların Zeta Potansiyel Değeri Ölçümü

Siklosporin içeren bulk formülasyonların ölçümleri Zeta Sizer cihazı ile yapılmıştır. Her formülasyon denemesi için 5'er deneme yapılmıştır. QbD kapsamında parametreleri

açıklandığı gibi değiştirilerek hazırlanan formülasyonların sdeğişen proses parametrelerine bağlı olarak zeta potansiyel değerlerinin değişmediği ve belirlenen spesifikasyon limiti dışında değerler edilmemesi ile değiştirilen parametrelerin zeta potansiyel değeri için düşük riskli proses parametresi olduğu gösterilmiştir. Ölçülen zeta potansiyel değerleri Tablo 23'de verilmiştir.

Tablo 23. Hazırlanan formülasyon denemeleri için zeta potansiyel sonuçları

Formülasyonlar	Zeta Potansiyel (mV)	Formülasyonlar	Zeta Potansiyel (mV)
F21	-26,4± 0.09	**F22**	-30,1± 0.13
F21-A	-29,1± 0.14	**F22-A**	-32,6± 0.10
F21-B	-24,3± 0.07	**F22-B**	-29,7± 0.13
F21-C	-27,9± 0.11	**F22-C**	-32,4± 0.13
F21-D	-26,3± 0.12	**F22-D**	-31,3± 0.13
F21-E	-32,1± 0.16	**F22-E**	-33,9± 0.13
F21-F	-31,5± 0.12	**F22-F**	-33,1± 0.13

Formülasyonların Kırılma İndisi Analiz Sonuçları

Hazırlanan formülasyonlar için 3 farklı ölçüm alınmıştır ve ölçülen kırılma indisi değerleri Tablo 24'te verilmiştir.

Tablo 24. Kırılma indisi değerleri

Formülasyonlar	Kırılma İndisi (°)
F21	1,3573± 0.015
F22	1,3392± 0.019

İnsert Formülasyonları pH Analizi Sonuçları

İnsert formülasyonları için bulk çözelti pH değerleri tabloxx da verilmiştir.Daha sonra pH değeri 1N NaOH çözeltisi kullanılarak 7.4'e ayarlanmıştır. QbD kapsamında parametreleri açıklandığı gibi değiştirilerek hazırlanan formülasyonların değişen proses parametrelerine bağlı olarak pH değerlerinin değişmediği ve belirlenen spesifikasyon limiti dışında sonuçlar elde edilmemesi ile değiştirilen parametrelerin pH değeri için düşük riskli proses parametresi olduğu gösterilmiştir. Ölçülen pH değerleri Tablo 25'de verilmiştir.

Tablo 25. Hazırlanan formülasyon denemeleri için pH sonuçları

Formülasyonlar	pH	Formülasyonlar	pH
F21	5,56±0.1	**F22**	5,64±0.1
F21-A	5,84±0.1	**F22-A**	5,92±0.1
F21-B	5,41±0.1	**F22-B**	5,52±0.1
F21-C	5,55±0.1	**F22-C**	5,66±0.1
F21-D	5,56±0.1	**F22-D**	5,64±0.1

Formülasyonların Bulk Yoğunluk Analizi Sonucu

Hazırlanan insert formülasyonları için bulk yoğunluk analiz sonuçları tablod 26'da verilmiştir.

Tablo 26. Bulk yoğunluk analiz sonuçları

Formülasyonlar	Yoğunluk Analizi (g/cm^3)
F21	1.044 g/cm^3
F22	1.027 g/cm^3

İnsert Formülasyonların Çap Tayini

Cam kalıpla kesilen insertlerin çapları dijital mikrometre ile ölçülmüştür. Hazırlanan formülasyonlar için 3'er ölçüm alınmıştır.

Tablo 27. Bulk yoğunluk analiz sonuçları

Formülasyonlar	Çap Tayini (mm) ± SS
F21	4.63± 0.028
F22	4.61± 0.012

İnsert Formülasyonların Kalınlık Tayini

Hazırlanan insert formülasyonlarının kalınlığı dijital kumpas ile ölçülmüştür. Her formülasyon için 3'er ölçüm alınmıştır.

Tablo 28. İnsert formülasyonlarının kalınlık ölçüm sonuçları

Formülasyonlar	Kalınlık Tayini (mm) ± SS
F21	0.242±0.026
F22	0.247±0.035

İnsert Formülasyonların Şişme Tayini

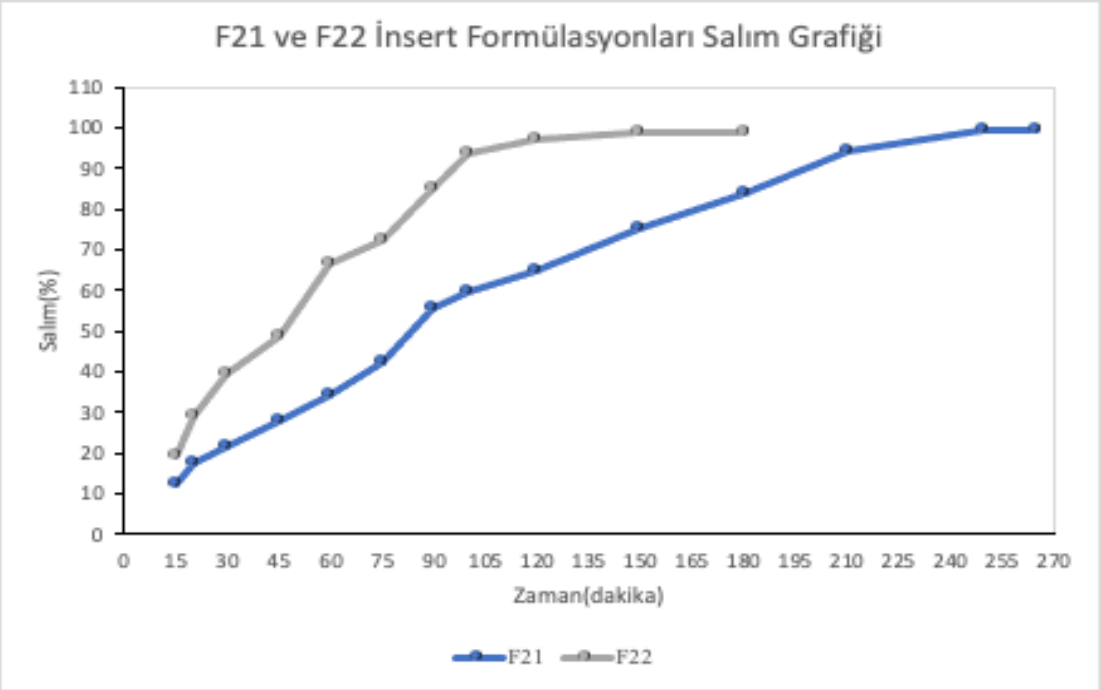
İnsertlerin 15., 30., 45. dakika, 1., 2., 3., 4., saatlerde PBS ortamından alınarak, tartılmış, çapı ve yüksekliği ölçülmüştür. Tablo 29'da verilen şişme yüzdelerine göre hesaplanan istatistiksel değerlendirme sonucu p değeri: 0,3362 olarak tespit edilmiş ve karar olasılığına göre p>0,05 olup formüller arası anlamlı fark olmadığı gösterilmiştir.

Tablo 29. İnsert formülasyonlarının şişme tayini

Şişme Tayini (%) ± SS		
Süre(dakika)	**F21**	**F22**
15	0.22±0.038	0.69±0.047
30	0.59±0.031	0.96±0.031
45	0.86±0.022	1.53±0.022
60	1.04±0.030	1.84±0.030
120	1.22±0.041	2.12±0.021
180	-0.37±0.019	-0.58±0.026
240	-0.92±0.044	-1.17±0.019

İnsert Formülasyonların *İn vitro* Salım Çalışması

Yöntemler kısmında belirtildiği gibi çalışılmıştır. Emülsiyon faz ile birleştirilmesi sonucu elde edilen insert formu, plasebo polimer fazın gözyaşı içerisindeki salım süresine göre; 10 dakika artışa neden olduğu tespit edilmiştir. İnsertlerin elde edilen salım yüzdeleri Şekil 39. da gösterilmektedir. 4.5 saat boyunca belirli aralıklarda salım örnekleri alınmıştır. F21 insertleri 258±5 dakikada %99,0 salım yaparken, F22 insertleri 130±5 dakikada % 98,8 salıma ulaşmıştır. Buna göre yüksek aljinat ve düşük jelatin oranı içeren formülasyonun siklosporin salımını daha hızlı gerçekleştirdiği tespit edilmiştir. elde edilen sonuçlar Tablo 30. da karşılaştırmalı salım grafikleri ise Şekil 38' de verilmiştir.



Şekil 39. F21 ve F22 insert formülasyonları salım grafiği

Tablo 30'da verilen salım miktar tayini yüzdelerine göre hesaplanan istatistiksel değerlendirme sonucu p değeri: 0,3464 olarak tespit edilmiş ve karar olasılığına göre p>0,05 olup formüller arası anlamlı fark olmadığı gösterilmiştir.

Tablo 30. İnsert formülasyonlarının zamana bağlı salım miktar yüzdeleri

Zaman (Dakika)	F21 Miktar Tayini(%)	F22 Miktar Tayini(%)
15	12,5	19,3
20	17,2	28,7
30	21,4	39,3
45	27,6	48,8
60	34,2	66,4
75	42,5	72,5
90	55,7	85,2
100	59,5	93,7
120	64,8	97,1
150	75,1	98,8
180	83,6	-
210	94,2	-
250	99,6	-
265	99,6	-

Ayrıca QbD kapsamında parametreleri açıklandığı gibi değiştirilerek hazırlanan formülasyonların değişen proses parametrelerine bağlı olarak salım sürelerinin değişmediği ve belirlenen spesifikasyon limiti dışında sonuçlar elde edilmemesi ile değiştirilen parametrelerin salım süresi için düşük riskli proses parametresi olduğu gösterilmiştir. Elde edilen salım süreleri Tablo 31'de verilmiştir.

Tablo 31. İnsert formülasyonlarının salım tamamlama süreleri

Formülasyonlar	Salım Süresi (dakika)	Formülasyonlar	Salım Süresi (dakika)
F21	251±5	**F22**	102±5
F21-A	248±5	**F22-A**	104±5
F21-B	251±5	**F22-B**	99±5
F21-C	245±5	**F22-C**	100±5
F21-D	246±5	**F22-D**	98±5
F21-E	245±5	**F22-E**	96±5
F21-F	248±5	**F22-F**	98±5

Formülasyonların Nem Miktar Tayini

İnsert formülasyonlar 3. günün sonunda, nem kaybetme yüzdesi sonucu Eşitlik 1'e göre hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 32'de gösterildiği gibidir.

Tablo 32. Formülasyonların nem miktar tayini

Formülasyonlar	Nem Miktar Tayini (mm) ± SS
F21	2.046 ±0,281
F22	3.102 ±0,398

İnsert Formülasyonların Ağırlık Tayini

Her bir insert için hassas terazide tartım alınmıştır. Ağırlık tayini sonuçları Tablo 33'de verilmiştir. Hazırlanan her formülasyon için 5'er ölçüm alınmıştır.

Tablo 33. Formülasyonların ağırlık tayini

Formülasyonlar	Ağırlık Tayini (mg) ± SS
F21	0.40±0,448
F22	0.41±0,386

İnsert Formülasyonlarının Siklosporin Miktar Tayini

Formülasyonlar için miktar tayini analizi geliştirilen HPLC yöntemi ile analiz edilmiştir. QbD kapsamında parametreleri açıklandığı gibi değiştirilerek hazırlanan formülasyonların değişen proses parametrelerine bağlı olarak miktar tayini (%) değerinin değişmediği ve belirlenen spesifikasyon limiti dışında sonuçlar elde edilmemesi ile değiştirilen parametrelerin miktar tayini değeri için düşük riskli proses parametresi olduğu gösterilmiştir. Elde edilen analiz sonuçları Tablo 34'de verilmiştir.

Tablo 34. İnsert formülasyonların siklosporin miktar tayini

Formülasyonlar	Miktar Tayini(%)	Formülasyonlar	Miktar Tayini(%)
F21	99,8	**F22**	99,6
F21-A	100,1	**F22-A**	99,8
F21-B	99,2	**F22-B**	99,5
F21-C	100,2	**F22-C**	99,4
F21-D	99,3	**F22-D**	100,6
F21-E	98,5	**F22-E**	98,9
F21-F	99,1	**F22-F**	99,5

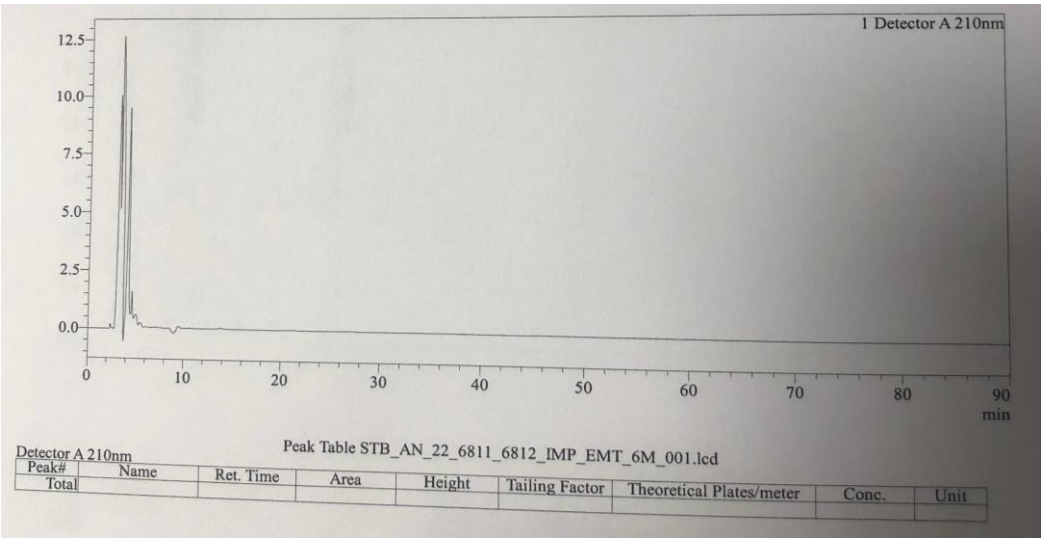
Analitik Metot Validasyon Bulguları

Seçicilik: Bu parametrede çözücü, çözeltileri, standart, plasebo ve numune çözeltileri hazırlanarak cihazda okuma yapılmıştır. Elde edilen analiz sonuçları Tablo 35. 'de gösterilmiştir. Sonuç kromatogramları Şekil 40-41'de sunulmuştur.

Siklosporin'in, çözücü, plasebo çözeltileri sonuçlarında pik görülmemiştir. Kapasite faktörü 3,7 kuyruklanma faktörü 0,9, teorik plaka sayısı ise 6065 olarak elde edilmiştir.

Tablo 35. İnsert formülasyonların seçicilik parametresi sonuçları

Numune	Alıkonma Zamanı (dk)	Kapasite Faktörü (k´)	Kuyruklanma Faktörü	Teorik Plaka Sayısı
Çözücü	-	-	-	-
Plasebo	-	-	-	-
Standart	22,9	3,7	0,9	6065
Numune F21	23,7	3,7	0,9	6065

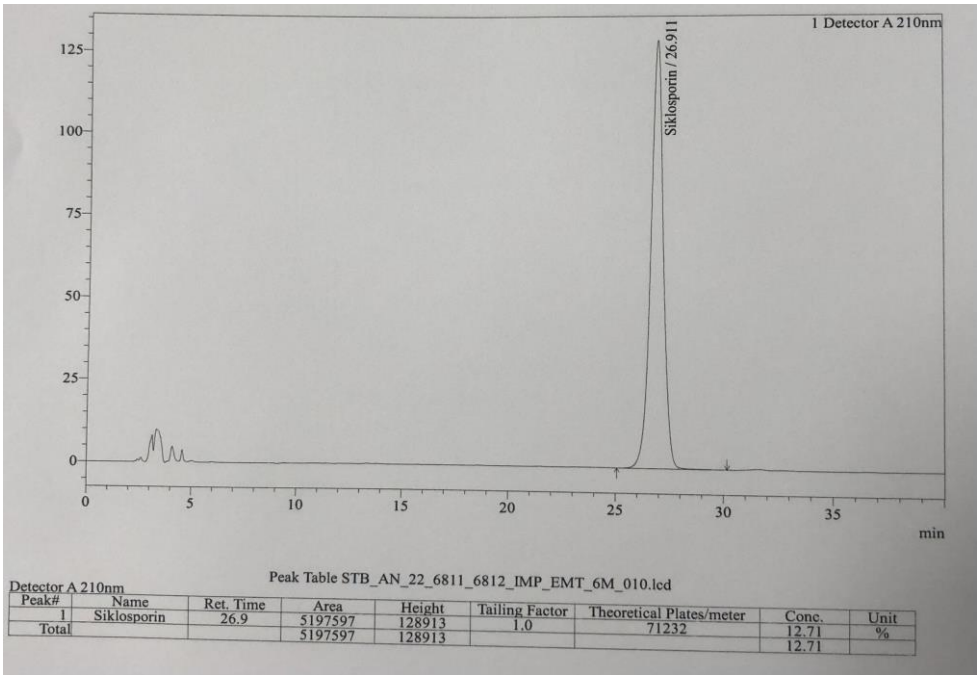


Peak Table STB_AN_22_6811_6812_IMP_EMT_6M_001.lcd

Detector A 210nm

Peak#	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Theoretical Plates/meter	Conc.	Unit
Total								

Şekil 40. Siklosporin çözücü kromatogramı

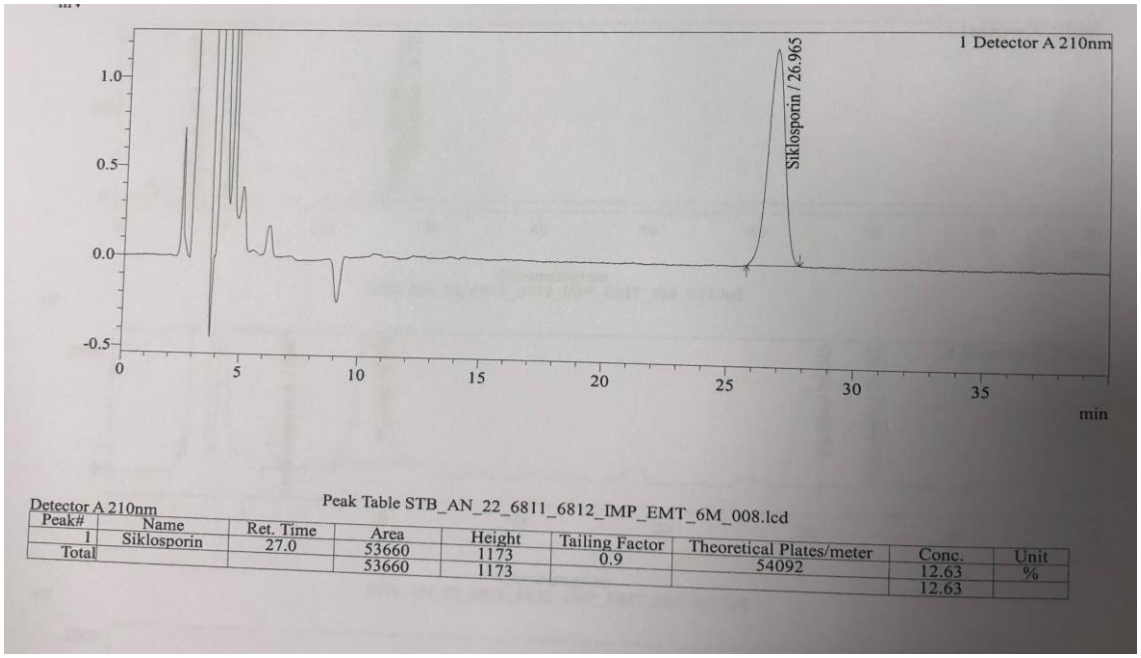


Peak Table STB_AN_22_6811_6812_IMP_EMT_6M_010.lcd

Detector A 210nm

Peak#	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Theoretical Plates/meter	Conc.	Unit
1	Siklosporin	26.9	5197597	128913	1.0	71232	12.71	%
Total			5197597	128913			12.71	

Şekil 41. Siklosporin standart miktar tayini kromatogramı



Detector A 210nm — Peak Table STB_AN_22_6811_6812_IMP_EMT_6M_008.lcd

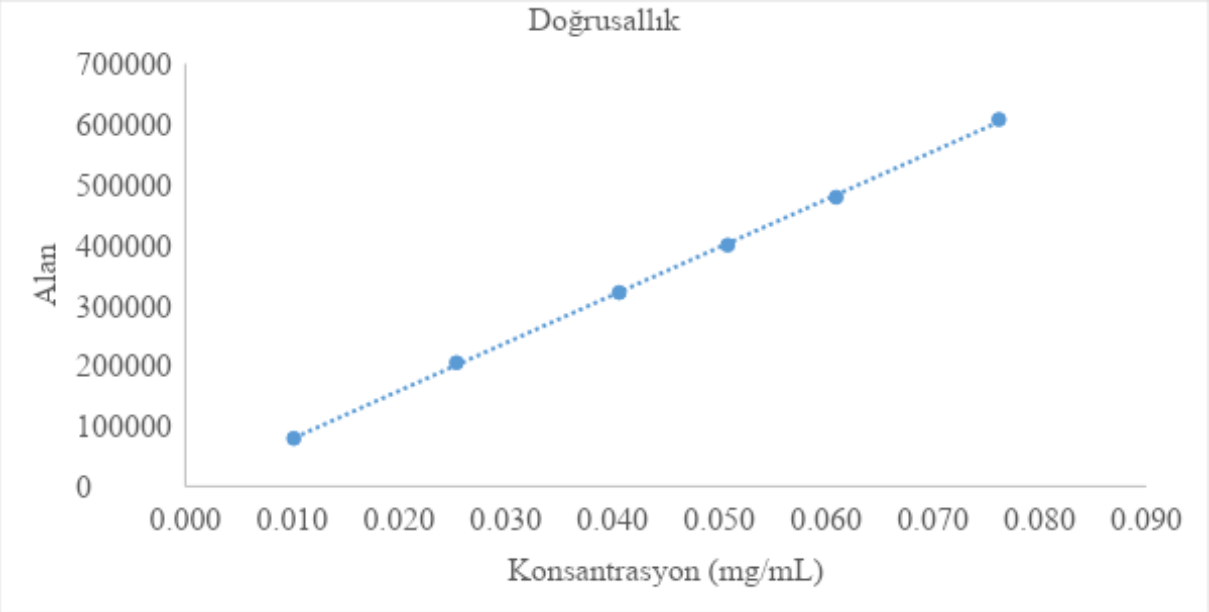
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Height	Tailing Factor	Theoretical Plates/meter	Conc.	Unit
1	Siklosporin	27.0	53660	1173	0.9	54092	12.63	%
Total			53660	1173			12.63	

Şekil 42. Siklosporin numune miktar tayini kromatogramı

Doğrusallık: Hazırlanmış olan stok standart çözeltisi 6 farklı balon jojede seyreltme işlemi yapılarak konsantrasyon yüzdesinin %20, %50, %80, %100, %120, %150 konsantrasyona getirmek suretiyle hazır edilmiştir. Her bir standart çözeltisi için 2 defa ve %20, %100 ve %120 standart hazırlıkları için 6 defa okuma gerçekleştirilmiştir. Analizlenen numune sonuçları Tablo 36'da gösterimiştir. Kalibrasyon doğruları çizilmiş ve doğrusallık grafişi Şekil 43'de verilmiştir. y=6,60x-0,281 doğru denklemi elde edilmiştir. y-kesim noktası; %0,18, korelasypn katsayısı ise (R^2):0,997 olarak sonuçlandırılmıştır.

Tablo 36. İnsert formülasyonların doğrusallık parametresi sonuçları

Standart Çözelti No	Seviye (%)	Hazırlanan Çözelti Konsantrasyonu (mg/mL)	Alan	Hesaplanan Alan
1	20	0,01026	86573	86798
2	50	0,02554	216455	220712
3	80	0,04048	346328	353140
4	100	0,05026	432910	441455
5	120	0,06071	519492	522089
6	150	0,07594	649131	653910



Şekil 43. Doğrusallık grafiği

Korelasyon kat sayısı: 0,9997

Kesim Noktası: %0,18

Çalışma aralığı: Doğrusallık için hazırlanan %20 ve %150 standart çözeltilerinin 6 enjeksiyonu değerlendirilmiştir ve Tablo ’de verilmiştir.

Tablo 37. Çalışma aralığı sonuçları

Enjeksiyon Sayısı	**Pik Alanı**	
	%20 Standart Çözeltisi	**%150 Standart Çözeltisi**
1	86493	649895
2	86389	649978
3	86524	648454
4	86269	648713
5	86831	649398
6	86934	648346
Ortalama	**86573**	**649131**
SD	257,6	724,1
% RSD	0,3	0,11

Doğruluk: Siklosporin içermeyen plasebo içerisinde siklosporin etkin madde miktarının %80, %100 ve %120 seviyelerinde etkin madde ilave edilerek çözeltiler numune hazırlığında

anlatıldığı gibi hazırlandı. Her seviyeden 3 adet numune hazırlandı ve yöntemde belirtildiği gibi enjeksiyonlar yapıldı. Tablo 38'de doğruluk sonuçları verilmiştir.

Tablo 38. İnsert formülasyonların doğruluk parametresi sonuçları

Seviye (%)	Teorik Konsantrasyon (mg/mL)	Deneysel Konsantrasyon (mg/mL)	Geri Kazanım (%)	Ortalama (%)
80	0,0405	0,0403	101,1	**100,7**
	0,0402	0,0406	100,9	
	0,0407	0,0408	100,2	
100	0,0505	0,0501	100,7	**100,1**
	0,0504	0,0506	99,6	
	0,0509	0,0507	100,3	
150	0,0608	0,0610	99,6	**99,6**
	0,0609	0,0612	99,5	
	0,0610	0,0611	99,8	
			Ortalama	**100,1**
			SD	0,550
			%RSD	0,6

Sistem kesinliği: Standart çözeltisinden 6 enjeksiyonundan elde edilen siklosporin pik alanları değerlendirilmiştir. % RSD, SD, %95 Güven Aralığı ve pik performans parametreleri Tablo 39'daverilmiştir.

Tablo 39. İnsert formülasyonların sistem kesinliği parametresi sonuçları

Sistem Kesinliği			
Enjeksiyon Sayısı	**Pik Alanı**	**Teorik Plaka Sayısı**	**Kuyruklanma Faktörü**
1	436906	6061	0,9
2	434874	6108	0,9
3	433761	6072	0,9
4	435810	6084	0,9
5	434193	6068	0,9
6	432338	6052	0,9
Ortalama	**434647**	**6074**	**0,9**
SD	**1602**	19,7	0,0
% RSD	**0,4**	**0,3**	**0,0**
%95 Güven Aralığı	**434647 ± 2135**		

Kesinlik tekrarlanabilirlik: Numune hazırlıklarına göre 6 adet numune çözeltisi hazırlandı. Metot da belirtildiği gibi standart çözeltiye göre % miktar tayinleri hesaplandı.

Tablo 40. Kesinlik tekrarlanabilirlk sonuçları

Enjeksiyon Sayısı	Siklosporin Konsantrasyonu (mg/mL)	Siklosporin Miktarı (%)
1	0,05021	100,4
2	0,04986	99,7
3	0,05012	100,2
4	0,04993	99,8
5	0,05029	100,5
6	0,05014	100,2
Ortalama	**0,05009**	**100,1**
SD	**0,00016**	**0,3**
% RSD	**0,3**	**0,3**
%95 Güven Aralığı	**0,0501 ± 0,0002**	**100,1 ± 0,3**

Teşhis ve Tayin Sınırları (LOD ve LOQ) Sonuçları

Yöntemde anlatıldığı gibi analiz çalışması yapılmıştır. Elde edilen teşhis ve tayin sınırları sonucu tablo da gösterilmiştir.

Tablo 41. Elde edilen LOD ve LOQ değerleri

	RRT	LOQ(%)	LOD(%)
Siklosporin	0.88	0.019	0.056

Stabilite Analiz Sonuçları

Stabilite görünüş analizi sonucu: Görsel görünüm sonuçları Tablo 42'de verilmiştir. Görsel görünümleri Şekil 15 ve Şekil 42'de verilmiştir.

Tablo 42. F21 ve F22 formülasyonları görünüş sonuçları

	Görünüş	
Formülasyonlar	**25°C± 2 %60 ± 5 RH**	**40°C± 2 %75 ± 5 RH**
F21	Saydam,yarısaydam-arası, homojen, yarım ay şekilde insert	Saydam,yarısaydam-arası, homojen, yarım ay şekilde,yumuşak yapılı insert
F22	Saydam,yarısaydam-arası, homojen, yarım ay şekilde insert	Saydam,yarısaydam-arası, homojen, yarım ay şekilde, yumuşak yapılı insert

Stabilite salım süresi analizi sonucu: F21 ve F22 formülasyonları için 3.Ay stabilitesi formülasyonları için salım süresi testi yapılmıştır elde edilen değerler Tablo 43. verilmiştir.

Tablo 43. F21 ve F22 formülasyonları için stabilite salım süresi sonuçları

Salım Süresi(dakika)		
Formülasyonlar	**25°C± 2 %60 ± 5 RH**	**40°C ± 2 %75 ± 5 RH**
F21	246±**2**	167±**2**
F22	98±**2**	52±**2**

Stabilite miktar tayini analizi sonucu: F21 ve F22 formülasyonları için Başlangıç, 3.Ay 25 ± 2°C %60 ± 5 RH ve 40 ± 2°C %75 ± 5 RH koşulunda bekletilen numunelerin stabilite miktar tayini analizi yapılmıştır. Tabloda verilen miktar tayini yüzdelerine göre hesaplanan, koşulların birbirine göre istatistiksel değerlendirilmesi sonucu p değerleri tespit edilmiş ve karar olasılığına göre anlamlı fark olup olmadığı Tablo 44' de gösterilmiştir.

Tablo 44. F21 ve F22 formülasyonlarının 3. ay stabilite miktar tayini sonuçları

Numune Sayıları	**F21(%)**			**F22(%)**		
	Başlangıç	**25 ± 2°C %60 ± 5 RH**	**40 ± 2°C %75 ± 5 RH**	**Başlangıç**	**25 ± 2°C %60 ± 5 RH**	**40 ± 2°C %75 ± 5 RH**
1	100,3	100,1	99,8	100,7	99,6	99,4
2	100,8	100,6	98,8	99,6	99,3	99,1
3	99,2	99,2	98,6	99,8	99,1	98,7
4	99,6	99,4	99,3	100,2	99,8	99,0
5	100,2	99,6	99,3	99,8	99,1	98,5
6	99,8	99,5	99,2	99,7	99,3	98,9

Tablo 45. F21 ve F22 formülasyonlarının 3. ay stabilite miktar tayini sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi

Formülasyonlar ve Periyotlar	p Değeri	Karar Olasılığı
F21-Başlangıç/ F21- 3.Ay 25 ± 2°C %60 ± 5 RH	0,4447	p>0,05
F21-Başlangıç / F21 3.Ay 40 ± 2°C %75 ± 5 RH	0,0179	p≤0,05
F22-Başlangıç / F22-3.Ay 25 ± 2°C %60 ± 5 RH	0,0147	p≤0,05
F22-Başlangıç / F22 3.Ay 40 ± 2°C %75 ± 5 RH	0,0006	p≤0,001
F21-Başlangıç /F22- Başlangıç	0,9547	p>0,05
F21 / F22-3.Ay 25 ± 2°C %60 ± 5 RH	0,1596	p>0,05
F21/ F22 3.Ay 40 ± 2°C %75 ± 5 RH	0,3033	p>0,05

Stabilite Kırılma İndisi Değerleri

F21 ve F22 formülasyonları için 3.Ay stabilitesi kırılma indisi analizi yapılmıştır elde edilen değerler Tablo 46.'de verilmiştir.

Tablo 46. F21 ve F22 formülasyonlarının 3. Ay stabilite kırılma indisi analiz sonuçları

Kırılma İndisi (°) (3.Ay)		
Formülasyonlar	**25°C± 2 %60 ± 5 RH**	**40°C ± 2 %75 ± 5 RH**
F21	1,3371± 0.035	1,3298± 0.016
F22	1,3145± 0.023	1,3143± 0.021

TARTIŞMA

Oküler hastalıklarda en sık uygulanan tedaviler topikal olarak uygulanan lokal etki için göze uygulanan steril oftalmik preparatlardır. Oküler hastalıklarda sıklıkla tercih edilen tedaviler, oftalmik solüsyon süspansiyonlar, ve merhemlerdir genel olarak hasta için en kabul gören ve tercih edilen kullanımı kolay, konforu yüksek bir seçenektir. Ancak göze topikal olarak uygulanan ilacın dağılımı, göz kırpma, gözyaşı ve nazolakrimal drenaj gibi yer değiştirme mekanizmaları sebebiyle istenilen düzeyde olmamaktadır (23,30).

Kuru göz sendromu tedavisinde en sık kullanılan yöntem eksik gözyaşını damla ile tamamlamaktır ve genellikle anti-inflamatuar ajanlar içeren göz damlası gibi göze bölgesel olarak uygulanan bu oftalmik preparatlar başlıca tercih edilen dozaj şekilleridir. Gözün Cul de Sac bölgesinin maksimum hacmi 30µl topikal olarak uygulanan bir oftalmik solüsyonun damla hacmi ise 50-75µl dir bu durum göze damlatılan solüsyonun lakrimal kanaldan yaklaşık olarak iki dakika içerisinde % 80 oranında drenaj sistemi ile atılmasına neden olmaktadır. Bu kısa süre içerisinde penetrasyon ve yeterli emilim sağlanamaz ve istenilen seviyede terapötik etkiye ulaşılamaz. Bu durum rahatsızlık hissedildiğinde sıklıkla damlatılma zorunluluğu ortaya çıkarmaktadır (25,38, 66).

Kuru göz sendromunda terapötik amaçlı sıklıkla tercih edilen siklosporinin farmasötik etkisi klinik çalışmalarla da kanıtlanmış olup, siklosporin A'nın gözyaşı bezinde ve konjunktivadaki lenfositlerde apopitozi sağladığı, gözyaşı bezi ve konjonktiva, epitel hücrelerinde de apoptozisi baskıladığı ve inflamasyonu yavaşlatarak gerilettiği gösterilmiştir (106).

Göz içi düşük etkinlik, prekorneal bölge bariyerleri, ve sistemik etkiye maruz kalmaya bağlı olarak; düşük oküler biyoyararlanım en sık karşılaşılan sorunlar arasında başta

gelmektedir. Çünkü Göz anatomisi ve fizyolojisi gereği kendini koruma eğilimindedir, dışardan gelen her maddeyi yabancı ve zararlı faktör olarak algılandığından dokular arası madde geçişine izin vermez. Hücre bariyeri lipofilik ve hidrofilik katmanlar ilacın geçiş yaparak absorbe edilmesine izin verir bu sebeple lipofilik (yağ bazlı preparatlar iyi emilim gerçekleştirir) Bu nedenle gözün anatomik olarak sahip olduğu bariyere hasar vermeden etkin tedavi sağlayacak oküler ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilirken bivovaradanımın daha iyi kavranması için total absorbsiyonu etkileyen faktörlerin göz önüne alınması gerekmektedir (38,81).

Sürekli sistemik ve intraoküler kullanım durumunu takiben yan etkileri artmaktadır zamanla sistemik toksisiteye neden olabilmektedir. Ayrıca korneada damarlı yapı olmadığından istenilen terapötik etki hızlı bir emilim ile de sağlanamaz. Bu nedenle, sistemler geliştirilirken göz önüne alınması gereken en önemli nokta, ilacın okuler yüzeyde kalış süresini artırarak kontrollu salınmasını sağlamaktır ek olarak gözün anatomik olarak sahip olduğu bu bariyeri; lipofilik temelli yardımcılar ve prosesler ile etkin maddeyi sarmalayarak geçişini kolaylaştırmaktadır (25,107).

Oftalmik insertler, geleneksel oftalmik göz damlaları ile karşılaştırıldığında, bazı üstünlüklerinin olduğu görülmüştür. Oftalmik preparatlar, gözde kalış süreleri uzun oldugu için biyoyararlanımları diğer preparatlara kıyasla daha yüksektir (35,38). Bu çalışmada kullanılan siklosporin A oftalmik emülsiyon (%0.05,RESTASIS) çözeltisinin gözde kalış süresi 1 saatten azdır ancak hazırlanan insert formülasyonları salımı 4-5 saat içerisinde tamamlamaktadır. Kontrollü salım sistemi ile oftalmik kullanıma yönelik siklosporin etkinli insertler ilk defa bu proje kapsamında geliştirilmiştir.

Bu çalışmanın amacı meybomiyan bez disfonksiyonu oluşan kuru göz hastalığın tedavisinde kullanılan siklosporin yüklü insert formülasyonlarının geliştirilmesi ve etkinliklerinin in vitro değerlendirilmesiyle daha etkin bir tedavi sağlayacak alternatif dozaj formu önermektir.

Bu çalışmada kullanılan geleneksel dozaj şekillerinde karşılaşılan düşük biyoyararlanım gibi istenmeyen durumlara neden olmayan, biyoadezif özellikli polimerler kullanılarak farklı formülasyon deneme tasarımları yapılmıştır. Bu sayede oküler yüzeyde daha uzun süre kalabilen, sürekli etki sağlayan böylece sıklıkla uygulama zorunluluğunu ortadan kaldırarak terapötik etkinligi daha yüksek olan oküler, mikro boyutta etkin içerikli, QbD'ye dayalı insert formülasyonlarının geliştirilmesi hedeflenmiştir.

Mikro boyutta etkin içeren oftalmik ilaçlar, lipit yapı içerisinde etkin molekülü içerdiğinden, topikal uygulanması ile kornael lipofilik bariyeri geçişini kolaylaştırarak etkin terapotik konsantrasyona ulaşılmasını sağladığı yapılan birçok klinik çalışmalarda

gösterilmiştir buna bağlı olarak tedavi süresi kısalmakta ve sistemik toksisitesinin de önüne geçilmektedir. Ancak literatürlerde uzun salımlı siklosporin etkinli oküler insert formülasyonu çalışması bulunmamaktadır. Adhezif polimerler ile uzun salım sağlanmış farklı etkinler içeren oküler insert çalışmaları olmasına rağmen, QbD yaklaşımı ile, uzun salımlı siklosporin etkinli oküler insert formülasyonu geliştirilmesi ilk kez bu çalışma kapsamında ele alınmıştır.

Çalışmamızda QbD'nin ilk adımları olan Kritik Kalite Özelliklerinin de (CQA), Hedef Ürün Kalite Profili (TPQP), bunlara bağlı olarak Kritik Proses Parametreleri (CPP) belirlenmiş ve Başlangıç Risk Analiz Değerlendirmeleri yapılmıştır. Üretilen her seri ürün için belirlenen (CQA) ve Kritik Proses Parametrelerinin (CPP) daima belirli spesifikasyonları sağlamasına ve bu amaçla oluşturulan limit sınırları içerisinde kalarak çalışılmıştır. Çalışmamızda QbD yaklaşımı uzun bir süreç olduğu için bu kapsamda, belirli bir aşamaya kadar gelinmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; QbD kapsamında ele alınan çalışmalarda adım adım takip edilen talimatlar ve stratejilere göre belirlenen kontrol alanı içerisinde kalındığı sürece istenen Hedef Ürün Kalite Profiline ulaşılacaktır, sonucuna varılabilir.

Uzun salımlı oftalmik insert ön formulasyon çalışmalarında belirtilen farklı oranlarda yardımcı maddeler kullanılarak viskoz ve finalde jel film oluşturacak bir sistem oluşturulması amaçlanmıştır. Elde edilen plasebolar, berrak koyu kıvamlı viskoz sıvı görünümünde ve belirli oranda etkin yüklü emülsiyon faz ile karıştırıldıklarında yarı saydam opak bir görünüş alıp kurutma aşamasında opak yarı saydam homojen jel tabaka, oftalmik insert oluşturulmasından sonra ise gözle görülen partikül içermeyen, saydam film yapı olarak görünmektedir.

Önformülasyon aşamasına gelindiğinde araştırmalar sonucu edinilen literatür bilgilerine ve mevcut bilgilere dayanarak, takiben gelecek formülasyon çalışmalarının temelini oluşturacak bir polimer fazı ön formülü ortaya atılmıştır; siklosporin etkin maddesini göz içerisine yavaş yavaş verilmesini sağlayacak, finalde film yapıda bir form elde edilmesi amaçlanmıştır. Bu form uzun salım sistemi oluşturup mikro boyutta siklosporin etkin maddesi kornea bariyerini geçmesini sağlayarak terapötik etkiyi artırdığı düşünülmektedir. Ön formülün hazırlığı aşamasında, akışkanlık ve kıvam gözlemi yapılmıştır, prosesin devamında kurutulup şekil verilen plasebo insert formları, gözyaşı içerisinde salım süresine etki eden dayanıklılık özelliklerini tespit etmek için gözyaşı çözeltisinin pH (7.4) içine bırakılarak çözünme süresi ve şekli gözlemlenmiştir.

Polimer fazı oluşturan; sodyum aljinatın %0.75 oranında sabit olduğu, jelatin, gliserin, polietilen glikol(400), yardımcı maddelerinin değişen oranlarda bulunduğu 22 formülasyon denemesi yapılmıştır. Sodyum aljinat iyonik bir yapıda olduğundan çözünürlüğü artırarak, dayanıklılığı azaltır. Dolayısıyla etkinin yavaş salımını sağlayacak kıvam artırıcı, dayanıklı ve

stabilitesi yüksek bir yardımcı olarak en uygun formülasyon bileşenini tespit etmek amacıyla yapılan 22 ön formülasyon deneme çalışmalar incelenmiştir.

Lee ve ark. Yaptıkları aljinat hidrojelleri çalışmasında; biyouyumluluk ve jelleşme kolaylığı sağlamak için ayrıca emülgatör özelliği için sodyum aljinatı kullanmışlardır. (148).Pawar ve ark. Moksifloksasin hidroklorür oftalmik insert çalışmalarında sodyum aljinatı emülgatör ve kıvam arttırıcı olarak kullanmışlardır (149).

Attia vo ark tarafından, deksametazonun biyoyararlanımı artırmak üzere, çapraz bağlı jelatin, insert formülasyonunda yardımcı olarak kullanılmış ve aköz hümör deki deksametazon seviyelerinin, deksametazon süspansiyonuna kıyasla dört kat daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir (150).

Sonuç olarak, %0.75 sodyum aljinat oranı ile gliserin miktarının arttırıldığı F1- F4 formülasyonlarında; gliserin miktarının yüzde oranı arttıkça merhem gibi kıvamsız bir yapının oluştuğu görülmüştür. Bu sonucun gliserinin nem tutucu özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. PEG 400 ile yapılan F5-F8 denemelerinde %1,3 ve 5 oranlarında istenilen koyu kıvam tam olarak elde edilememiştir. %10 için yapılan deneme sonrası kurutma işleminin diğer formülasyonlara kıyasla daha kısa sürerek, yaklaşık 1 saat de tamamlandığı görülmüştür. Elde edilen formun şekil alamadığı, kıvam olarak tutumsuz olup gözyaşı içerisinde yaklaşık 4 dakika içerisinde dağıldığı gözlemlenmiştir. Bu duruma PEG 400 yardımcı maddesinin suda kolay çözünebilen yapıda olmasının neden olduğu düşünülmektedir.

Jelatin ile yapılan formülasyon denemeleri F9-F16 arasında jelatin % oranı artırılarak devam etmiştir. Başlangıçtan itibaren istenen koyu kıvamın yavaş yavaş % oranı arttıkça elde edildiği, %13-15 oranlarında gözyaşı çözeltisi içerisinde dayanıklılığın 2 saate kadar sürdüğü, %30 oranlarında 4 saati geçtiği, bulgularına ulaşılmıştır. Ancak %30 jelatin içeren bu form dayanıklı olmasına rağmen sert bir yapıda olması korneayı irite edebileceği düşüncesini ortaya çıkarmıştır. Dolayısıyla önformülasyon süreci boyunca yapılan test ve gözlemler sonucunda; polimer faz için yeni kombinasyonlar oluşturulma stratejisine gidilmiştir.

Buna göre F17 ve F22 formülasyon denemeleri; Sodyum aljinat, jelatin, gliserin yardımcı maddeleri ve insert formun etkin fazı olan %0.05 siklosporin emülsiyon çözeltisinin bileşime eklenmesi ile formülasyon denemelere devam edilmiştir.

Yardımcıların; sodyum aljinatı emülgatör ve kıvam artırıcı olarak, gliserinin plastifiyan ve nemlendirici özelliği taşıması, jelatinin plastifiyan özelliğini birleştirerek; uzun salım sağlanması, yumuşak ve göz yüzeyine kolay yapışabilen bir form elde edilmesi amaçlanarak oranları değiştirilerek yeni kombinasyonların denemesine başlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; F17-F22 formülasyonları karşılaştırıldığında, % 10 jelatin, % 1.5 sodyum aljinat içeren

F22'nin salımının daha hızlı olduğu, aljinatın iyonik yapısı sebebiyle çözünmeyi kolaylaştırdığı gözlemlenmiştir. F20 denemesinde %10 oranında gliserinin kıvamın tutumsuz olmasına ve çözünmeye dayanıksız olmasına neden olduğu görülmüştür.

F21 formülasyonu kıvam açısından tutumlu ve şekil alabilen, kurumasını 6 saatlik sürede tamamlayan, 4 saati geçen salım süresi ve hafif nemli yapısıyla göze tutunmayı sağlayacak bir form oluşturabilmesi nedeniyle, çalışmalar arasından en uygun olan bileşimdir. Bundan sonraki aşamada analiz çalışmaları F21 ve F22 çalışmaları üzerinden karşılaştırılmalı olarak yürütülmüştür. Emülsiyon faz ile birleştirilmesi sonucu elde edilen insert formu, plasebo polimer fazın gözyaşı içerisindeki salım süresine göre; 10 dakika artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Buna göre F21 için salım süresi 250±5 dakika, F22 için ise 250±5 dakika olarak saptanmıştır. Siklosporin'in yarılanma ömrü yetişkinlerde ortalama 8.4 saattir(101). Böylelikle yarılanma ömrünün sınırları içerisinde kalan, terapötik etkinliğini devam ettiren formülasyonlar tasarlanmıştır.

Yapılan literatür araştırmalarına dayanarak insert hazırlamak amacıyla kullanılan en yaygın yöntem olan, petri kaplarına konulan formülasyonlara çözücü uçurma yöntemi uygulanmıştır. Bu işleminden sonra homojen bir film elde edilmiştir (Sekil) Oftalmik insertlerde özellikle etkin madde içeriği açısından homojenite sağlanması çok önemlidir. Bu sebeple insert hazırlamak için çözücü uçurma yöntemi uygun bulunmuştur. Formülasyonlar petri kabi içerisinde 65 °C de 6 saat boyunca etüve bırakılmıştır (52).

Formülasyon hazırlama sıcaklığı yöntemde de belirtildiği gibi 55°C sıcaklıkta ısıtıcılı manyetik karıştırıcı ile hazırlanmıştır. Üretim sıcaklığına yakın bir sıcaklık olduğundan bu sürede madde yapısının sıcaklıkla değişmediği bilindiğinden, ayrıca final ürün elde etme süresinin kısa olması sebebi ile 65°C lik etüvde kurutma işleminin yapılmasına karar verilmiştir.

Elde edilen oftalmik insert plasebo çözeltisi, berrak koyu kıvamlı viskoz sıvı görünümünde ve %0.05 oranda etkin yüklü emülsiyon faz ile karıştırıldıklarında yarı saydam opak bir görünüş alıp kurutma aşamasında opak yarı saydam homojen jel tabaka, oftalmik insert oluşturulmasından sonra ise gözle görülen partikül içermeyen, saydam film yapı olarak görünmektedir.

Formülasyon geliştirme çalışmalarımız öncesi siklosporin'in fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir ve sonuçlar literatür verileri ile karşılaştırılarak karakterizasyon çalışmaları tamamlanmıştır. Siklosporin'in fizikokimyasal özellikleri tayin etmek amacıyla görünüş, FT-IR, DSC, H-NMR, C-NMR, UV Spektrofotometre, ve miktar tayını analizler yapılmıştır. Siklosporin görünüşü beyaz- beyazımsı toz olarak gözlemlenmiştir (Şekil).

Lee ve ark. siklosporin miktar tayini analiz yöntemi için UPLC metodu (151), Taylor ark. HPLC metodu (152), ve Stevensen ark. LCMS yöntemi (153), kullanmışlardır. Çalışmamızda siklosporin miktar tayini analiz yöntemi için HPLC yöntemi geliştirilmiş ve validasyon çalışmaları yapılmıştır. Validasyon çalışmasının seçicilik parametresinin kromatogramları incelendiğinde siklosporin pikinin alıkonma zamanı 27.dakikadir, Miktar taymi sonucu 99,23 ± 0,31 olarak bulunmuştur ve kullanılan yardımcı maddelerden herhangi bir girişim olmadığı gözlemlenmiştir.

DSC ile yapılan erime derecesi tayininde, literature uygun şekilde siklosporin'in erime başlangıcı 177 ºC olarak bulunmuştur. Literature Ke ve ark. tarafından yapılan çalışma ile karşılaştırıldığında form 3 ile benzer olduğu görülmüştür (154).

FT-IR spektrumu (Şekil) Ke ve ark. (154) tarafından yapılan çalışma ile karşılaştırıldığında elde edilen piklerin dalga boylarının form 3 ile benzer olduğu görülmüştür. H-NMR ve "C-NMR spekturumları (Şekil Şekil) verilmiştir.

UV spektrumlarında siklosporin'in literatürde belirtilen spektum değeri ile (155), bulunan analiz değerlerinin birbiri ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Siklosporin'in kütle spektrum analizinde bulunan kütle/elektiriksel yük oranı değeri ile Salm ve ark. yaptığı çalışmalar ile karşılaştırıldığında (156). Birbiri ile uyumlu olduğu gösterilmiştir.

Siklosporin A' lipit partisyon katsayısı çalışması ile etkin maddenin su fazında ve yağ fazında olan çözünürlükleri incelendi. Oküler preparatların penetrasyonu genel olrak trans korneal olarak gerçekleşir ancak kornea yapısal olarak kendini korumak için sıkı epitel bağlantılara sahiptir, ilaçlar, bu bariyerden geçemez. Bu bariyer hidrofilik ve lipofilik özelliktedir. Dolayısıyla ilaçların kornea bariyerinden geçebilmesi iyonize ve non iyonize olarak dengede olmasına bağlıdır. Bu nedenle oftalmik preparatlarda lipit/partisyon katsayısı biyoyararlanım için önem arz etmektedir. Yapılan çalışmada yağ faz olarak lipofilik dokulara en yakın yapıda olan,n-oktanol, su faz olarak enjeksiyonluk su kullanılmıştır. Deneyler sonucu yöntemde verilmiş olan eşitlik kullanılarak hesaplandında lipit/su partisyon katsayısı 2,92±0,086 olarak bulunmuştur. Elde ettiğimiz bu değer siklosporin molekülünün yağ ortamına göre kıyaslandığında suda çözünmediğini göstermektedir. Ayrica siklosporin molekulunun lipofilik özellikte olduğunu ve kornea bariyerini geçmek için yeterli lipofilikliğe sahip olduğu da tespit edilmiştir.Oftalmik dozaj şekli olarak mikroemülsiyon içerikli oftalmik insert kullanmamızın bir sebebi de lipofilik özellikte bir taşıyıcı ile kuru göz sendromu tedavisinde

terapötik etkinliği artırmaktır. Çalışmamızda bulunan partisyon katsayısı değeri literatur ile uyum göstermektedir(157).

Zeta potansiyeli nanopartiküllerin yüzey yükünü gösterir ve uzun süreli stabiliteleri hakkında bilgi verir. Zeta potansiyeli değeri büyüdükçe partiküller arası itme kuvveti de o kadar artar ve bu da sistemin ne kadar kararlı olduğunu gösterir (158). Çalışmamızda oftalmik insert formülasyonlarının zeta potansiyelleri -26,40 mV ile -30,13 mV arasında bulunmuştur. Formülasyon geliştirme sürecinde elde edilen zeta potansiyel değerleri -20 mV dan büyük olduğu için oftalmik insert formülasyonlarının stabil olduğu sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak, iyileştirmelere açık, yenilikçi bir siklosporin taşıyıcı system geliştirilmiştir.

SONUÇLAR

Çalışmamızdaki amacımız, birçok risk faktörü ile birlikte genellikle çevresel koşulların sebep olduğu kuru göz hastalığının tedavisinde, günümüzde topikal olarak kullanılan ticari göz damlası dozaj şekillerine alternatif, yeni farmasötik form geliştirmektir. Bu nedenle siklosporin içeren insert formülasyonu geliştirilmesi ve göz yüzeyinde kalış süresini artırmak amacıyla farklı insert formülasyonları Tasarımla Kalite (QbD) kavramıyla tasarlanmıştır.

Oküler yüzeyde çözünebilen, insert sistem içerisine siklosporin yüklemesi yapılarak adhezif yardımcı maddelerin formülasyonda farklı oranlarda kullanımı ile uzun salımın sağlanabileceği bulunmuştur.

Siklosporin oftalmik insert dozaj şekli oküler yüzeyde daha uzun süre kalabilen, sürekli etki sağlayan boylece sıklıkla uygulama zorunluluğunu ortadan kaldırarak terapotik etkinligi daha yüksek olan okuler, mikro boyutta etkin içerikli, QbD'ye dayalı insert formülasyonlarının daha güvenli ve planlı geliştirilebileceği maliyet, zamandan tasarruf sağlayarak kaliteli ve güvenilir ürünler elde edilebileceği bulunmuştur.

Siklosporin oftalmik insert formulasyonu karakterizasyon çalışmaları için yoğunluk, pH, kırılma indisi, nem miktarı, viskozite, zeta potansiyel, salım süresi ve miktar tayini analizlerinin yapılabileceği bulunmuştur.

Çalışmada kullanılan siklosporin'in karakterizasyon çalışmalarında, Görünüş analizi, Infrared Spektroskopisi (IR) Analizi, Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) Analizi, Nükleer Manyetik Rezonans(NMR) Analizi, ve Miktar tayini analizleri ile yapılabileceği bulunmuştur.

Siklosporin Oftalmik Emülsiyon ürünü, formülasyon geliştirme çalışmaları ile adhezif maddeler yardımı ile çözücü uçurma yöntemi kullanılarak insert dozaj şekline dönüşebileceği,

içerik ve molekül yapısının bozulmadan güvenilir final ürün elde edildiği dolayısıla insert üretim yöntemleri arasında,güvenilir ve hızlı bir üretim yöntemi olabileceği bulunmuştur. Ayrıca ticari üretimler için üretim tesislerine yatırım gerekliliği olmadan mevcut üretim ekipmanlarının kullanılabileceği gösterilmiştir.

Siklosporin miktar tayini analizlerinde HPLC yönteminin geliştirilmesi ve validasyon çalışmaları yapılmıştır. Geliştirilen insert formülasyonlarında siklosporin miktar tayinin değişmediği ve 3 ay stabil kaldığı bulunmuştur.

Stabilite çalışmaları ile sıcaklığın salım hızı üzerine etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, iyileştirmelere açık, yenilikçi bir siklosporin taşıyıcı system geliştirilmiştir.

Tez çalışmamızın devamında Siklosporin oftalmik insert içerisine daha fazla etkin madde yüklenmesi, farklı yardımcı maddeler kullanılması ile daha uzun salım özellikli formların üretilmesi, stabilite çalışmalarında farklı ambalaj materyalleri ile takip edilerek *in-vitro* etkinliğinin ayrıntılı incelenmesi şeklinde çalışmalar yapılabilir.

ÖZET

Siklosporin A (siklosporin), *Tolypocladium inflatum* ve *Beauveria nevus* isimli mantarların ürettiği siklik bir peptiddir. siklosporin A, T-hücre aktivitesini ve inflamatuar sitokin üretimini inhibe ederek; immünsüpresyon sağlayan, bir kalsinörin inhibitörüdür. BCS Sınıf II kategorisinde yer alıp suda çözünmeyen ve düşük biyoyararlanım gösteren bir moleküldür. Oftalmik preparatları genellikle göz damlası dozaj formu olarak yaygın kullanılmaktadır. Siklosporin oftalmik insert dozaj şekli oküler yüzeyde daha uzun süre kalabilen, sürekli etki sağlayan böylece sıklıkla uygulama zorunluluğunu ortadan kaldırarak terapötik etkinliği daha yüksek olan okuler, mikro boyutta etkin içerikli, QbD'ye dayalı insert formülasyonları geliştirilip *in-vitro* çalışmaları yapılmıştır.

Çalışmamızda QbD'nin ilk adımları olan Kritik Kalite Özelliklerinin de (CQA), Hedef Ürün Kalite Profili (TPQP), bunlara bağlı olarak Kritik Proses Parametreleri (CPP) belirlenmiş ve Başlangıç Risk Analiz Değerlendirmeleri yapılmıştır. Üretilen her seri ürün için belirlenen (CQA) ve Kritik Proses Parametrelerinin (CPP) daima belirli spesifikasyonları sağlamasına ve bu amaçla oluşturulan limit sınırları içerisinde kalarak çalışılmıştır.

Siklosporin oftalmik insert formulasyonu etkin madde siklosporin, yardımcıların; sodyum aljinatı emülgatör ve kıvam artırıcı olarak, gliserinin plastifiyan ve nemlendirici özelliği taşıması, jelatinin plastifiyan özelliği ve taşıyıcı olarak enjeksiyonluk suyun birleştirilmesi ile uzun salım sağlanmış ve yumuşak, göz yüzeyine kolay yapışabilen bir form elde edilmiştir.

Hazırlanan siklosporin oftalmik insert formulasyonunda karakterizasyon çalışmaları için yoğunluk, pH, kırılma indisi, nem miktarı, viskozite, zeta potansiyeli, salım süresi ve miktar tayini analizlerinin sonuçlarına göre belirlenen kritik ürün kalite özelliklerini sağlamıştır. Başlangıç risk

analiz değerlendirmesine göre öngörülen bazı yüksek risk parametrelerinin, kritik proses özelliklerine bağlı olarak geliştirilen formülasyonlar ve analizleri sonucunda; düşük risk teşkil ettiği görülmüştür. Böylelikle yapılan sonuç risk analiz değerlendirmesine göre üretim yöntem ve parametrelerinin ürünün kalitesini yaşamı boyunca sağlayacağı ve güvenli alan içerisinde kalacağı yapılan test ve analizlere dayanarak gösterilmiştir.

Siklosporin Oftalmik insert için 25 ± 2°C ve %60 ± 5ve 40 ± 2°C ve %75 ± 5'de 3 ay stabilite takibi yapılmıştır. Stabilite periyodunda sıcaklığın salım süresine etkisi olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Siklosporin, İnsert, İn-Vitro, QbD

DEVELOPMENT OF INSERT FORMULATION FOR THE TREATMENT OF DRY EYE DISEASE

SUMMARY

Cyclosporine A (cyclosporine). It is a cyclic peptide produced by the fungi Tolypocladium inflatum and Beauveria nevus. cyclosporine A by inhibiting T-cell activity and inflammatory cytokine production; It is a calcineurin inhibitor that provides immunosuppression. Ophthalmic preparations are commonly used as eye drops dosage form. In-vitro studies have been carried out by developing ocular, micro-sized active ingredient, QbD-based insert formulations with cyclosporine ophthalmic insert dosage form, which can stay on the ocular surface for a longer time, provide a continuous effect, thus eliminating the necessity of frequent application and higher therapeutic effectiveness.

In our study, Critical Quality Characteristics (CQA), Target Product Quality Profile (TPQP), which are the first steps of ObD, Critical Process Parameters (CPP) were determined and Initial Risk Analysis Evaluations were made. It has been tried to ensure that the (CQA) and Critical Process Parameters (CPP) determined for each serial product produced always meet certain specifications and stay within the limits established for this purpose.

Cyclosporine ophthalmic insert formulation active substance cyclosporine, auxiliaries; By combining sodium alginate as emulsifier and thickener, glycerin's plasticizer and moisturizing properties, gelatin's plasticizer properties and injection water as carrier, a long release was achieved and a soft, easily adhered form to the eye surface was obtained.

For the characterization studies of the prepared cyclosporine ophthalmic insert formulation, it provided the critical product quality properties determined according to the

results of density, pH, refractive index, moisture content, viscosity, zeta potential, release time and quantification analysis. As a result of the formulations and analyzes developed depending on the critical process properties of some high risk parameters predicted according to the initial risk analysis evaluation; found to be low risk.

Thus, the result has been shown based on the tests and analyzes made, according to the risk analysis evaluation, that the production methods and parameters will ensure the quality of the product throughout its life and remain in the safe area.

For the Cyclosporine Ophthalmic insert, 3 months stability was monitored at 25+ 2°C and 60% ± 5% and 40 ± 2°C and 75 ± 5%. It has been determined that the temperature has an effect on the release time during the stability period.

Key Words: Cyclosporine, Insert, In-Vitro, QbD

KAYNAKLAR

1. Willoughby CE, Ponzin D, Ferrari S, Lobo A, Landau K, Omidi Y. Anatomy and physiology of the human eye: Effects of mucopolysaccharidoses disease on structure and function–a review. Clinical & Experimental Ophthalmology (2010);38:2-11.

2. Üstündağ Okur N. Antibiyotik İçeren Çeşitli Oküler Nanotaşıyıcı Sistemlerin İn-vitro-İn-Vivo Değerlendirilmesi Üzerine Çalışmalar, Farmasötik Teknoloji (tez). İzmir; 2012.

3. Malkoç I. Layers of the bulbus oculi: An anatomic and histological review. The Eur J Med (2006);38:124-9.

4. Boyd K, Turbert D. Eye anatomy: Parts of the eye and how we see. 2021. https://www.aao.org/eye-health/anatomy/parts-of-eye

5. Land, M. F. The human eye: Structure and function. Nature Medicine, 1999, 5(11), 1229-1229.

6. http://gozunaydin.net/goz-anatomisi (12.10.2022)

7. Dhanapal R, Ratna JV. Ocular drug delivery system: A Review. Int J Innov Drug Dis (2012):4-15.

8. https://www.ceenta.com/patient-resources/the-retina (12.10.2022)

9. Eghrari AO, Riazuddin SA, Gottsch JD. Overview of the cornea: structure, function, and development. Progress in Molecular Biology and Translational Science 2015;134:7-23.

10. https://tr.wikipedia.org/wiki/Kornea (12.10.2022)

11. Cornea JS. External diseases, in ophthalmology. Y. M, D. JS (Editörler). Mosby: St. Louis; 2004. s.395-545.

12. P A. Oftalmolojinin esas ve ilkeleri. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2009:74.

13. Kanski JJ, Bowling B. Klinik oftalmoloji sistematik yaklaşım. Güneş Tıp Kitabevleri; 2011:7.

14. Recep OF. Göz anatomisi. Ankara: Dünya Tıp Kitabevi; 2016:2-42.

15. Can B. Göz histolojisi. Ankara: Göz Histolojisi Notları; 2019:5-56.

16. Behar Cohen F. Vectorisation intra-oculaire. Médecine/Sciences 2004;20(6-7):701–6.

17. Eldem T, Eldem, B. Ocular drug, gene and cellular. Delivery Systems and Advanced Therapy Medicinal Products2018;48(3):132-41.

18. Gaudana R, Ananthula HK, Parenky A, Mitra AK. Ocular drug delivery. AAPS J 2010;12(3):348-60.

19. Gooch N, Molokhia SA, Condie R, Burr RM, Archer B, Ambati BK, vd. Ocular drug delivery for glaucoma management. Pharmaceutics 2012;4(1):197-211.

20. Elgin KU. Oküler enfeksiyonlarda antibiyotik kullanım prensipleri: Subkonjonktival-intravitreal uygulamalar. Turkiye Klinikleri J Ophthalmol-Special Topics 2012;5(2):120-4.

21. Çapan Y. Kontrollü salım sağlayan oral katı dozaj şekilleri. Posyon Derg 4:1-3.

22. Ummadi S, Shravani B, Rao NR, Reddy MS, Sanjeev B. Overview on controlled release dosage form. System 2013;7(8):51-60.

23. https://acikders.ankara.edu.tr/gozpreparatları/2.Hafta.pdf (12.10.2022)

24. Özdemir N. Kontrollü salım mekanizmaları notları 2. hafta, Ankara;2018:2-9.

25. Doğanay T. Oftalmik preparatlar. Ankara: Eczacı Odası Yayınları; 2010:1-12.

26. Çapan Y. Kontrollü salım sağlayan oral katı dozaj şekilleri. Posyon Derg 4:1-3.

27. Güngör A, Karataş A, Oküler ilaç taşıyıcı sistemlerde güncel yaklaşımlar. J Lit Pharm Sci 2019;8(2):108-18.

28. Gürsoy AZ. Oküler sistemler. GürsoyAZ (Ed). Kontrollü salım sistemleri. İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını; 2002:197-215.

29. Patel HA, Patel JK, Patel KN, Patel RR. Ophthalmic drug delivery system a review. Der Pharm Let 2010;2(4):100-15.

30. Gürsoy AZ. Göz, kulak ve buruna uygulanan dozaj şekilleri. İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını; 2002:233-44.

31. Tatham A, Sarodia U, Gatrad F. vd. Eye drop instillation technique in patients with glaucoma. Eye 2013;27:1293–8.

32. İnal Ö, Yüksel A. Kontakt lensler ve lens çözeltileri. Ankara Ecz. Fak. Derg J- Fac Pharm 1998;27(1):31-49.

33. Lallemand F, Felt-Baeyens O, Besseghir K, Behar-Cohen F, Gurny R. Cyclosporine a delivery to the eye: A pharmaceutical challenge. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2003;56(3):307-18.

34. Devhadrao NV, Siddhaia M, Review on ocular Insert drug delivery system. Journal of Drug Delivery and Therapeutics 2018;8(5-s):115-21.

35. Saettone MF, Salminen L. Ocular inserts for topical delivery. Advanced Drug Delivery Reviews 1995;16(1):95–106.

36. Bawa R. Ocular inserts. Mitra AK (Ed.). Ophathalmic drug delivery systems. New York: Marcel Dekker, Inc; 1993; 223.

37. Polat HK. Bakteriyel Keratit Tedavisine Yönelik Besifloksasin Yüklü Oküler İnsertlerin Elektro-Eğirme Yöntemi İle Geliştirilmesi ve Değerlendirilmesi (tez). Ankara: Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2020.

38. Katz IM. Shaped ophthalmic inserts for treating dry eyes syndrome. aUS Patent 4, 343-787.1982.

39. Tangri vd. Basics of ocular drug delivery systems. International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences 2011;2(4):1541-52.

40. Rajput G vd. A review on ophthalmic inserts. International Journal of Pharma Professional Research 2013;4(3):912-20.

41. Saettone MF, Salminen L. Ocular inserts for topical delivery. Adv Drug Del Rev 1995; 16:95-106.

42. http://www.rxlist.com/lacrisert-drug.htm (12.10.2022).

43. Güler A. Yeni ilaç taşıyıcı sistemlerde oküler insertler. Bezelye Dergi 2019:1-2.

44. Bourges JL, Bloquel C, Thomas A, Froussart F, Bochot A, Azan F, Gurny R, Benezra D, Behar-Choen F. Intraocular implants for extended drug delivery: Therapeutic applications. Adv Drug Deliv Rev 2006;58:1182-202.

45. Tunçay M, Çalış S. İlaç taşıyıcı sistemlerde kullanılan biyoparçalanabilir sentetik ve doğal polimerler. FABAD J Pharm Sci 1999;24:109-23.

46. http://bilsenbesergil.blogspot.com/p/biyoparcalanabilir-polimerler.html (12.10.2022).

47. Müderrisoğlu E, Çomoğlu T. İlaç taşıyıcı polimerik partiküler sistem formülasyonlarına genel bakış. Ankara Ecz. Fak. Derg 2010;39(4):343-368.

48. Gürkan H, HS, Yalabık Kaş M, AA. Streptomycin sulphate microspheres: Dissolution rate studies and release kinetics. I Microencapsulation 1987;4(1):39-46.

49. Charoo NA, Kohli K, Ali A, Anwer A. Ophthalmic Delivery of Ciprofloxacin Hydrochloride from Different Polymer Formulations: In Vitro and In Vivo Studies. Drug Development and Industrial Pharmacy, 2003;29(2):215–21.

50. Rowe RC, Forse SF. The effect of plasticizer type and concentration on the incidence of bridging of intagliations on film-coated tablets. J Pharm Pharmacol 1981;33:174-5.

51. Rajput G vd. A Review on ophthalmic inserts. International Journal of Pharma Professional Research 2013;4(3):912-20.

52. Varun R, Senthil V, Lavanya K, Ritu H. A brief review on oral film technology. Int J Res Ayur & Pharm 2011;2(4):1138-47.

53. Barratt GM Therapeutic applications of colloidal drug carriers. Pharmaceutical Science & Technology Today 2000;3(5):163-71.

54. Singh VK, Keservani RK. Application of nanoparticles as a drug delivery system. In Novel Approaches for Drug Delivery 2017:364-389.

55. Peppas NA, Reinhard LT. Solute diffusion in swollen membranes. I. A new theory. Journal of Membrane Science 15:275-287.

56. Türkyılmaz A, Çilek A, Çelebi N. Mikroemülsiyonlar: Genel özellikleri ve farmasötik amaçla kullanımları. FABAD J Pharm Sci 2002;27:27-41.

57. Zhang M, Chen J, Luo L, Xiao Q, Sun M, Liu Z. Altered corneal nerves in aqueous tear deficiency viewed by in vivo confocal microscopy. Cornea 2005;24:818-24.

58. https://www.igh.com.tr/tr/kornea (12.10.2022).

59. https://www.aoa.org/healthy-eyes/eye-and-vision-conditions/dry-eye?sso (12.10.2022).

60. Javadi MA, Feizi S. Dry eye syndrome. Journal of Ophthalmic & Vision Research 2011;6(3):192.

61. Erda N. Gözyaşı filmi, yapısı, fizyolojisi ve dinamiği. Balkan Medical Journal 1988;(2).

62. Akpek EK, Amescu, Farid M. Dry eye syndrome preferred practice pattern®. Ophthalmology 2019;126(1):P286-P334.

63. Öncel B, Kılıç İ, Akova Y. Ön segment cerrahileri ve kuru göz; tanı ve tedavi yaklaşımı. Türk Oftalmoloji Dergisi 42(3):227–34.

64. Utine CA. Kuru göz oluşum mekanizması ve sınıflandırılması. MN Oftalmoloji 2016;23(1):1-8.

65. Vereertbrugghen A, Galletti JG. Corneal nerves and their role in dry eye pathophysiology. Experimental Eye Research 2022;109191.

66. Schaumberg DA, Sullivan DA, Dana MR. Epidemiology of dry eye syndrome. Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes 2002;3:989-98.

67. Moss SE, Klein R, Klein BE. Prevalence of and risk factors for dry eye syndrome. Archives of Ophthalmology 2000;118(9):1264-8.

68. Gönder KY. İnsanda ağlamanin nöroanatomisi. International Researches in Health and Natural Sciences 2019.

69. Tsubota K. Tear dynamics and dry eye. Prog Retin Eye Res 1998;17(4):565–96.

70. Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry Workshop on clinical trials in dry eyes. CLAO J 1995;21(4):222–32.

71. Öter K. Sistemik İzotretionin Gözyaşı Fonksiyonları ve Kornea Endoteli Üzerindeki Kısa Dönem Etkileri (tez). Recep Tayyip Erdoğan Üni Tıp Fak; 2019.

72. Özkaya D. Kuru Göz Tedavisinde Topikal Siklosporinin Etkinliği (tez). Isparta: Süleyman Demirel Üni. Tıp Fakültesi; 2010.

73. McCarty C, Bansal A, Livingston P, Stanislavsky YL, Taylor HL. The epidemiology of dry eye in Melbourne, Australia. Ophthalmol 1998;105(6):1114–9.

74. Schaumberg DA, Sullivan DA, Dana MR. Epidemiology of dry eye syndrome. Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes 2002;3, 989-98.

75. Baudouin C. The pathology of dry eye. Survey of Ophthalmology, 2001;45:S211-S20.

76. Cermak JM, Papas AS, Sullivan RM, vd. Nutrient intake in women with primary and secondary Sjogren's syndrome. Eur J Clin Nutr 2003;57:328-34.

77. Göz K, Epidemiyolojisi SS. Sjögren Sendromu ve İlişkili Kuru Göz Sendromunun İmmunopatolojisi-Derleme. Turk J Ophthalmol 2010;40:97-106.

78. Sullivan DA, Belanger A, Cermak JM, vd. Are women with Sjogren's syndrome androgen deficient? J Rheumatology 2003;30:2413-9.

79. Liu, H., Begley, C., Chen, M., Bradley, A., Bonanno, J., McNamara, N. A., … Simpson, T. (2009). *A Link between Tear Instability and Hyperosmolarity in Dry Eye. Investigative Opthalmology & Visual Science, 50(8), 3671.*

80. Perry HD. Dry eye disease: Pathophysiology, classification, and diagnosis. Am J Manag Care 2008;14(3):79–87.

81. Gayton JL. Etiology, prevalence, and treatment of dry eye disease. Clin Ophthalmol 2009;3:405–12.

82. https://www.bostonsight.org/dehydration-and-dry-eye/ (12.10.2022).

83. Muslubaş Sayman IB, Kahya A, Özertürk Y. Meibomius bezi disfonksiyonu olan hastalarda gözyaşı fonksiyonu test sonuçları, TR, J. K 2014.

84. https://eyewiki.org/Dry_Eye_Syndrome (12.10.2022).

85. Lemp MA. Basic principles and classification of dry eye disorders, in Lemp MA, Marquandt R (EDS). The dry eye: A comprehensive guide. New York: Springer; 1992:101-31.

86. https://eyewiki.org/Dry_Eye_Syndrome (12.10.2022).

87. Sullivan DA. Sex and sex steroid on the dry eye syndrome. Pflugfelder SC, Beuesman Ruo, Stern ME (Editörler). Dry eye and ocular surface disorders. New York: Marcel Dekker, 2004.

88. Altınel M, MA A. Yaşlılık ve göz. Okmeydanı Tıp Dergisi 2013;29(2):110-5.

89. Gündüz ÖU, Baş, ADZ. Kontakt lens kullanımı ile ilişkili kuru göz. MN Oftalmoloji, 2016;23(1):83-90.

90. Kocatürk T, Balıca F, Çakmak H. A vitamini tedavisinin kuru göz hastalığına olan etkisi. 2014.

91. Bostancı ODB. Dijital göz yorgunluğu sendromu ve kuru göz. MN Oftalmoloji 2016;23(1): 96-9.

92. Bayar SA, Akova YA. Kuru göz tedavisinde güncel tedavi yöntemleri. Journal of Experimental and Clinical Medicine 2012;29(2s):58-65.

93. Şimşek HC, Doğru M, Tsubota K. Güncel kuru göz tanı ve tedavisi. MN Oftalmoloji 2017;24(1):13-8.

94. Doğru M. Kuru göz tanısında yenilikler. MN Oftalmoloji 2016;24:1-5.

95. Cho P, Yap M. Schirmer test. I. a review. Optometry and Vision Science 1993;70(2):152–6.

96. JS, LG, Lozano G, Smaranda A, Martínez-Garchitorena J. BUT and Schirmer test comparative study in relation to dry eye etiology and severity. Archivos de la Sociedad Espanola de Oftalmologia 2005;80(5):289-95.

97. Altaş U, Karaceylan AF, Karagöz S, Karagözoğlu B. Göz kırpma hareketi ile göz Kuruluğunun algılanması, 2017.

98. Bayhan HA, Gürdal C, Takmaz T, Can İ. Kuru göz teşhisinde lissamin yeşili ve Bengal pembesinin karşılaştırılması ve hasta semptomları ile klinik test bulgularının ilişkisinin değerlendirilmesi. Türk Oftalmoloji Dergisi 2010;40(1):29-33.

99. Turhan SA, Toker E. Kuru Göz Hastalarında Topikal Siklosporin Tedavisinin Gözyaşı Menisküs Parametreleri ve Oküler Yüzey Boyanması Üzerine Etkisi. *Turkiye Klinikleri J Ophthalmol*, 2020;*29*(3), 199-206.

100. Gürdal, C. Kuru göz tedavisinde girişimsel yöntemler. MN Oftalmol 2016;23:25-31.

101. Onsun, N. Siklosporin. Türkderm: Türk Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi= Turkderm: Turkish Archives of Dermatology and Venereology 2016;50:28.

102. Yorulmaz A, Metin A. Siklosporin. Turkiye Klinikleri J Dermatol-Special Topics. 2014;7(2):19-29.

103. Gülbağ S, Çelebi N. Siklosporin A ve Siklosporin A Formülasyonlarinda Yeni Yakla¸ simlar. FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences 2017;42(1):39.

104. Özkaya, D. Kuru göz tedavisinde topikal siklosporinin etkinliği. MN Oftalmol 2010;23:35-41.

105. Sinclair NR. Low-dose steroid therapy in cyclosporine-treated renal transplant recipients with well-functioning grafts. The Canadian Multicentre Transplant Study Group. CMAJ: Canadian Medical Association Journal 1992;147(5):645.

106. Şahin A. Kuru göz tedavisinde topikal siklosporin kullanımı. MN Oftalmoloji 2016;23(1):32-9.

107. Kaswan RL, Salisbury MA, Ward DA. Spontaneous canine keratoconjunctivitis sicca. A useful model for human keratoconjunctivitis sicca: Treatment with cyclosporine eye drops. Arch Ophthalmol 1989;107:1210-16.

108. Gunduz K, Ozdemir O. Topical cyclosporin treatment of keratoconjunctivitis sicca in secondary Sjogren.s syndrome. Acta Ophthalmol 1994;72:38-42.

109. Laibovitz RA, Solch S, Andrianao J. Pilot trial of cyclosporin 1% ophthalmic ointment in the treatment of keratoconjunctivitis sicca. Cornea 1993;12:315-23.

110. Şahinoğlu N. Kuru göz tedavisinde siklosporin A kullanımı (tez). İstanbul: İstanbul Üni. Tıp Fakültesi;2008.

111. Gedik H, Gedik G. Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS) Sınıf 2 Madde ile Kendiliğinden Emülsifiye Olabilen Sistemlerin Geliştirilmesi ve İn-vitro Değerlendirilmesi (tez). Sağlık Bilimleri; 2020.

112. Galloway NR, Amoaku WM, Galloway PH, Browning AC. Basic anatomy and physiology of the eye. Common Eye Diseases and their Management 2016;7-16.

113. Stevenson D, Tauber J, Reis BL. Efficacy and safety of cyclosporine ophthalmic emulsion in the treatment of moderate-to-severe dry eye disease: A dose-ranging, randomised trial. The cyclosporine A phase 2 study group. Ophthalmol 2000;107(5):967-74.

114. Sall K, Stevenson OD, Mundorf TK, Reis BL. Two multicenter, randomized studies of the efficacy and safety of cyclosporine ophthalmic emulsion in moderate to severe dry eye disease. CsA phase 3 study group. Ophthalmol 2000;107(4):631–9.

115. Çatak O, Çeliker FÜ. Posterior blefaritli hastalarda topikal siklosporin A tedavisinin gözyaşı film instabilitesine etkisi. Dicle Tıp Dergisi, 2013;40(3):446-8.

116. Özkaya D, Bardak Y. Kuru göz tedavisinde topikal siklosporinin etkinliği. MN Oftalmoloji 2019;26(3):116-22.

117. Tekcan H, Akagün N, Burcu A. Kuru göz tedavisinde % 0.05'lik topikal siklosporin A'nın etkinliği. Haydarpaşa Numune ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi 2014:161.

118. Şevik Ö, Evren Ö. Efficacy of cyclosporine a 0.05% in the treatment of patients with dry eye syndrome. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi 8(3):65-72.

119. Guzey M, Karaman SK, Satici A, Ozardali I, Sezer S, Bozkurt O. Efficacy of topical cyclosporine A in the treatment of severe trachomatous dry eye. Clin Şahin A. Kuru Göz Tedavisinde Topikal Siklosporin Kullanımı. MN Oftalmoloji 2016;23(1):32-9.

120. Demiryay E, Yaylalı V, Cetin EN, Yıldırım C. Effects of topical cyclosporine a plus artificial tears versus artificial tears treatment on conjunctival goblet cell density in dysfunctional tear syndrome. Eye Contact Lens 2011;37:312-5.

121. Mike F, Pehlivan SB, Öner L. Farmasötik Ürünlerde Tasarımla Kalite Yaklaşımı. Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy 2014;(2):203-30.

122. Lionberger RA, Lee SL, Lee L, Raw A, Yu LX. Quality by design: Concepts for ANDAs. AAPS J 2008;10(2):268-76.

123. Ozul F, Can KR, Bilgiç S, Şenel S. İlaç endüstrisinde proses validasyonu ve tasarımla kalite (QbD) yaklaşımı. Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences 2(47):242-65.

124. Aksu B İlaçta kalite tasarımı (QbD) ve ilgili yasal düzenlemeler. İstanbul: Neta Matbaacılık; 2013.

125. Aksu B. Tasarımla kalite (Quality by design: QbD) ve kalite risk yönetimi. Marmara Pharmaceutical Journal 2015;19:2-18.

126. Mesut B, Özsoy Y, Aksu B. The place of drug product critical quality parameters in quality by design (QBD). Turk J Pharm Sci 2015;12(1):75-92.

127. Melamud PA, A brief history of US FDA good manufacturing practices. New Jersey: ISPE NJ Chapter Day; 2009.

128. Aksu B, De Beer T, Folestad S vd. Strategic funding priorities in the pharmaceutical sciences allied to Quality by Design (QbD) and Process Analytical Technology (PAT). European Journal of Pharmaceutical Sciences 2012;47(2):402-5.

129. Yüce M, Çapan Y. Farmasötik tasarımla kalite: Tasarımla kalite yaklaşımı ve unsurları. Ankara Ecz Fak Derg 2010;39(4):369-90.

130. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Pharmaceutical Development Q8(R2), 2009.

131. https://database.ich.org/sites/default/files/Q9%20Guideline.pdf (10.12.2022).

132. https://database.ich.org/sites/default/files/Q9%20Guideline.pdf (10.12.2022).

133. Aksu BTasarımla kalite (Quality By Design: QbD) ve kalite risk yönetimi. Marmara Pharmaceutical Journal 2051;19(1):12-8.

134. Baber N. International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use (ICH). British Journal of Clinical Pharmacology 1994;37(5):401.

135. Cogdill RP, Drennen JK. Risk-based quality by design (QbD): A Taguchi perspective on the assessment of product quality, and the quantitative linkage of drug product parameters and clinical performance. Journal of Pharmaceutical Innovation 2008;3(1):23-29.

136. https://database.ich.org/sites/default/files/Q10%20Guideline.pdf (10.12.2022).

137. https://database.ich.org/sites/default/files/Q11%20Guideline.pdf (10.12.2022).

138. Aksu B, Mesut B. Quality by design (QbD) for pharmaceutical area. Journal of Faculty of Pharmacy of Istanbul University 2015;45(2):233-51.

139. Lionberger RA, Lee SL, Lee L, Raw A, Yu LX. Quality by design: Concepts for ANDAs. The AAPS Journal 2008;10(2):268-76.

140. Yüce M, Çapan, Y. Pharmaceutical quality by design: Quality by design approach and its elements Farmasötik tasarimla kalite: Tasarimla kalite yaklaşimi ve unsurlari. Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi 2010;39(4).

141. Garcia T, Cook G, Nosal R. PQLI key topics – criticality, design space and control strategy. J Pharm Innov 2008;3:60-8.

142. Demir Ö, Aksu B, Özsoy, Y. Araştırma geliştirme çalışmalarında tasarımla kalite yaklaşımı ve yapay sinir ağı modellemesinin önemi. Türkiye Klinikleri J Pharm Sci, 2015;4(1):17-35.

143. Snee RD. Improvement alphabet: QbD, PAT, LSS, DOE, SPC—how do they fit together?. Analytical Method Validation, 3. Cilt.

144. Singh BN. Product development, manufacturing, and packaging of solid dosage forms under QbD and PAT paradigm: DOE case studies for industrial applications. AAPS PharmSciTech 2019;20(8):1-49.

145. Fukuda IM, Pinto CFF, Moreira CDS, Saviano AM, Lourenço FR. Design of experiments (DoE) applied to pharmaceutical and analytical quality by design (QbD). Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences 2018:54.

146. Pramod K, Tahir MA, Charoo NA, Ansari SH, Ali J. Pharmaceutical product development: A quality by design approach. International Journal of Pharmaceutical Investigation 2016;6(3):129.

147. Van Houwelingen JC, Le Cessie S. Predictive value of statistical models. Statistics in Medicine 1990;9(11):1303-25.

148. Lee KY, Mooney DJ. Alginate: Properties and biomedical applications. Prog Polym Sci 2012;37(1):106-26.

149. Pawar PK, Katara R, Majumdar DK. Design and evaluation of moxifloxacin hydrochloride ocular insert. Acta Pharmaceutica 2012;62(1):93-104.

150. Attia MA, Kassem MA, Safwat SM. In vivo performance of [3H] dexamethasone ophthalmic film delivery systems in the rabbit eye. International Journal of Pharmaceutics 1988;47(1-3):21-30.

151. Wu L, Ye Z, Zhang X, Cheng Y, Zheng L, Qiu H, Liu X. Comparison of sample preparation methods, validation of an UPLC–MS/MS procedure for the quantification of cyclosporine A in whole blood sample. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2021;193:113672.

152. Taylor PJ, vd. Microscale high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry assay for cyclosporin A in blood. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 1998;705(2):289-94.

153. Toole B, Gechtman C, Dreier J, Kuhn J, Gutierrez MR, Barrett A, Niederau C. Evaluation of the new cyclosporine and tacrolimus automated electrochemiluminescence immunoassays under field conditions. Clin Lab 2015;61(9):1303-15.

154. Ke W, Anu G, Richard G. A new hydrate of cyclosporine: Structural and physicochemical characterization. Journal of Pharmaceutical Sciences 2018;107(12):3070-9.

155. Patel S, Pathak D, Patel D. UV Spectroscopy Assay Method Development and Validation of Dimethyl Fumarate and Cyclosporine Drugs in Nano Dosage Forms, 2020.

156. Salm P, Taylor PJ, Lynch SV, Warnholtz CR, Pillans PI. A rapid HPLC-mass spectrometry cyclosporin method suitable for current monitoring practices. Clinical Biochemistry 2005;38(7):667-73.

157. El Tayar N, Mark AE, Vallat P, Brunne RM, Testa B, van Gunsteren WF. Solvent-dependent conformation and hydrogen-bonding capacity of cyclosporin A: evidence from partition coefficients and molecular dynamics simulations. Journal of Medicinal Chemistry 1993;36(24):3757-64.

158. Pan H, vd. Postformulation peptide drug loading of nanostructures. Methods Enzymol 2012;508:17-39.

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİLLER

Şekil 1. Gözün yapısı 4
Şekil 2. Gözün anatomik yapısı 5
Şekil 3. Retina 8
Şekil 4. Kornea 9
Şekil 5. İnsert uygulanması 18
Şekil 6. Oftalmik insertlerin sınıflandırılması 19
Şekil 7. Siklosporin'in kimyasal yapısı 37
Şekil 8. Siklosporin'in etki mekanizması 38
Şekil 9. Tasarımla kalite genel şeması 44
Şekil 10. F21 Formülasyonu fazların eklenmesi ile 30 dakika karışmaya bırakılması 63
Şekil 11. F21 İnsert formülasyonu petri kabına aktarılması 63
Şekil 12. F21 formülasyonu kuruması ve şekil verilmesi 64
Şekil 13. Hazırlanan insert formülasyonu gözyaşı çözeltisine bırakılması ve salımını tamamladıktan sonra görünüşü 64
Şekil 14. F22 formülasyonu fazların son karışmaya bırakılması 65
Şekil 15. F22 insert formülasyonu petri kabına aktarılması 66
Şekil 16. F22 formülasyonu petri kabından çıkarılması ve şekil verilmesi 66
Şekil 17. Hazırlanan insert formülasyonu gözyaşı çözeltisine bırakılması 67
Şekil 18. Viskozimetre cihazı 67
Şekil 19. Refraktometre cihazı 68
Şekil 20. Yoğunluk ölçer 69

Şekil 21. Resimde gösterilen 4,6 mm çapındaki cam ampul ile şekil verilmesi 70
Şekil 22. Elde edilen oftalmik insert şekilleri 70
Şekil 23. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) 71
Şekil 24. Oftalmik insert ürünlerinin stabiliteye kaldırılan final hali 74
Şekil 25. Siklosporin fiziksel görünüşü 75
Şekil 26. Siklosporin ultraviyole (UV) kromatogramı 76
Şekil 27. Siklosporin FT-IR spektrumu kromatogramı 77
Şekil 28. Siklosporin'in DSC termogramı 78
Şekil 29. Siklosporin ^{1}H-NMR spektrumu 78
Şekil 30. Siklosporin ^{13}C -NMR spektrumu 79
Şekil 31. Siklosporin'in mass spektrometre analizi 80
Şekil 32. Siklosporin'in miktar tayini sonucu 81
Şekil 33. F4 polimer formülasyonu 6 saat etüvde bekledikten sonra görünüşü 82
Şekil 34. F5 polimer formülasyonu 2 saat etüvde bekledikten sonra görünüşü 82
Şekil 35. F7 polimer formülasyonu 2 saat etüvde bekledikten sonra görünüşü 83
Şekil 36. F13 polimer formülasyonu 5 saat etüvde bekledikten sonra görünüşü 83
Şekil 37. F15 polimer formülasyonu 5 saat etüvde bekledikten sonra görünüşü 84
Şekil 38. Plasebo insertlerin gözyaşı içerisine bırakılması 84
Şekil 39. F21 ve F22 insert formülasyonları salım grafiği 88
Şekil 40. Siklosporin çözücü kromatogramı 91
Şekil 41. Siklosporin standart miktar tayini kromatogramı 92
Şekil 42. Siklosporin numune miktar tayini kromatogramı 92
Şekil 43. Doğrusallık grafiği 93

TABLOLAR

Tablo 1. Oküler geçirgenliği etkileyen faktörler 11
Tablo 2. Oküler ilaç uygulama yollarının zorlukları 12
Tablo 3. Çözünür insert preparatları için kullanılan sentetik ve doğal polimerler. 22
Tablo 4. Kuru göz etiyolojisinin sınıflaması 30
Tablo 5. Siklosporin içeren preparatlar 39
Tablo 6. Mevcut geleneksel yaklaşım ile tasarımla kalite yaklaşımının karşılaştırılması 41
Tablo 7. Kromatografik şartlar 49
Tablo 8. Hedef ürün kalite profili belirleme 53
Tablo 9. Kritik kalite özelliklerinin değerlendirilmesi (Critical quality attribute) 54
Tablo 10. Kritik proses parametrelerinin değerlendirilmesi 55
Tablo 11. Proses adımlarının başlangıç risk değerlendirilmesi 56
Tablo 12. Proses parametreleri başlangıç risk değerlendirilmesi 57
Tablo 13. Emülsiyon fazın incelenmesi 58
Tablo 14. Yardımcı maddelerin incelenmesi 59
Tablo 15. Polimer faz formülasyon denemeler 59
Tablo 16. Polimer faz formülasyon denemeleri devamı 60
Tablo 17. Parametreleri değiştirilen formülasyonlar 62
Tablo 18. Oftalmik insert hazırlık prosesinin sonuç risk değerlendirmesi 72
Tablo 19. Oftalmik insert hazırlık prosesinin parametreleri sonuç risk değerlendirmesi 73
Tablo 20. Tek yönlü varyans analizi değerlendirme tablosu 74
Tablo 21. Polimer faz denemeleri için gözyaşı çözeltisi içerisinde tamamen parçalanma süreleri 81
Tablo 22. Hazırlanan formülasyon denemeleri için viskozite sonuçları 85
Tablo 23. Hazırlanan formülasyon denemeleri için zeta potansiyel sonuçları 86
Tablo 24. Kırılma indisi değerleri 86
Tablo 25. Hazırlanan formülasyon denemeleri için pH sonuçları 86
Tablo 26. Bulk yoğunluk analiz sonuçları 87
Tablo 27. Bulk yoğunluk analiz sonuçları 87
Tablo 28. İnsert formülasyonlarının kalınlık ölçüm sonuçları 87
Tablo 29. İnsert formülasyonlarının şişme tayini 88
Tablo 30. İnsert formülasyonlarının zamana bağlı salım miktar yüzdeleri 89
Tablo 31. İnsert formülasyonlarının salım tamamlama süreleri 89

Tablo 32. Formülasyonların nem miktar tayini 90
Tablo 33. Formülasyonların ağırlık tayini 90
Tablo 34. İnsert formülasyonların siklosporin miktar tayini 90
Tablo 35. İnsert formülasyonların seçicilik parametresi sonuçları 91
Tablo 36. İnsert formülasyonların doğrusallık parametresi sonuçları 93
Tablo 37. Çalışma aralığı sonuçları 94
Tablo 38. İnsert formülasyonların doğruluk parametresi sonuçları 94
Tablo 39. İnsert formülasyonların sistem kesinliği parametresi sonuçları 95
Tablo 40. Kesinlik tekrarlanabilirlk sonuçları 95
Tablo 41. Elde edilen LOD ve LOQ değerleri 96
Tablo 42. F21 ve F22 formülasyonları görünüş sonuçları 96
Tablo 43. F21 ve F22 formülasyonları için stabilite salım süresi sonuçları 96
Tablo 44. F21 ve F22 formülasyonlarının 3. ay stabilite miktar tayini sonuçları 97
Tablo 45. F21 ve F22 formülasyonlarının 3. ay stabilite miktar tayini sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi 97
Tablo 46. F21 ve F22 formülasyonlarının 3. Ay stabilite kırılma indisi analiz sonuçları 98

ÖZGEÇMİŞ

28 Nisan 1993 tarihinde Amasya'da doğdum. Lise öğrenimimi Tokat Mehmet Akif Ersoy Lise'sinden mezun olduktan sonra 2013 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünü kazandım. Aynı yıl Rice University'de Dil okulu eğitimi aldım. Aynı zamanda University of Texas at MD Anderson Cancer Center,da staj yaptım. Sonraki lisans yıllarımın yaz dönemlerini UTHealth Graduate School, Baylor College of Medicine, Texas A&M University'de staj yaparak geçirdim. 2017 yılında lisans eğitimimi tamamladım. 2017-2019 yılları arasında UTHealth Graduate School'da 2018'de Nobel Ödülü kazanmış olan araştırma projesinde yer aldım. 2021 yılından itibaren Deva Holding A.Ş. ARGE / farmasötik geliştirme bölümünde çalışmaya devam etmekteyim.