



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**ALERJİK RİNİT TEDAVİSİNE YÖNELİK  
KORTİKOSTEROİD İÇEREN NAZAL SPREY DOZAJ  
FORMLARININ KALİTE TASARIMI YAKLAŞIMI İLE  
FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ VE KALİTE  
ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Ünnügülsüm ERDOĞAN**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Nilüfer YÜKSEL**

ANKARA  
2022

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ALERJİK RİNİT TEDAVİSİNE YÖNELİK  
KORTİKOSTEROİD İÇEREN NAZAL SPREY DOZAJ  
FORMLARININ KALİTE TASARIMI YAKLAŞIMI İLE  
FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ VE KALİTE  
ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ünnügülsüm ERDOĞAN

FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Nilüfer YÜKSEL

ANKARA  
2022

## ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Alerjik Rinit Tedavisine Yönelik Kortikosteroid İçeren Nazal Sprey Dozaj Formlarının Kalite Tasarımı Yaklaşımı ile Formülasyonlarının Geliştirilmesi ve Kalite Özelliklerinin Değerlendirilmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı : Ünnügülsüm ERDOĞAN

Tarih :

İmza :

## KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalında

Ünnügülsüm ERDOĞAN tarafından hazırlanan “Alerjik Rinit Tedavisine Yönelik Kortikosteroid İçeren Nazal Sprey Dozaj Formlarının Kalite Tasarımı Yaklaşımı ile Formülasyonlarının Geliştirilmesi ve Kalite Özelliklerinin Değerlendirilmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/ OY ÇOKLUĞU ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 06.07.2022

İmza

Prof. Dr. Nilüfer YÜKSEL

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı (Danışman)

İmza

Prof. Dr. İpek EROĞLU

Hacettepe Üniversitesi

İmza

Doç. Dr. Zerrin SEZGİN BAYINDIR

Ankara Üniversitesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Prof. Dr. Fügen AKTAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

# İÇİNDEKİLER

|                                                                      |          |
|----------------------------------------------------------------------|----------|
| Etik Beyan                                                           | ii       |
| Kabul ve Onay                                                        | iii      |
| İçindekiler                                                          | İV       |
| Önsöz                                                                | x        |
| Simgeler ve Kısaltmalar                                              | XII      |
| Şekiller                                                             | XIV      |
| Çizelgeler                                                           | XVII     |
| <br>                                                                 |          |
| <b>1. GİRİŞ</b>                                                      | <b>1</b> |
| 1.1. Nazal Yol                                                       | 1        |
| 1.1.1. Nazal Yolla İlaç Uygulamalarının Avantajları                  | 2        |
| 1.1.2. Nazal Yolla İlaç Uygulamalarının Dezavantajları               | 4        |
| 1.1.3. Nazal Yolun Anatomi ve Fizyolojisi                            | 5        |
| 1.1.4. Nazal Mukozadan Absorpsiyon Mekanizmaları                     | 8        |
| 1.1.5. Nazal Mukozadan İlaç Absorpsiyonunu Etkileyen Parametreler    | 9        |
| 1.1.5.1. Etkin Maddeye Ait Fizikokimyasal Faktörler                  | 10       |
| 1.1.5.2. Formülasyona Ait Faktörler                                  | 14       |
| 1.1.5.3. Fizyolojik ve Anatomik Faktörler                            | 19       |
| 1.2. Nazal Yolla Veriliş İçin Dozaj Formları                         | 21       |
| 1.2.1. Burun Damlaları                                               | 22       |
| 1.2.2. Burun Spreyleri                                               | 22       |
| 1.2.3. Burun Jelleri                                                 | 22       |
| 1.2.4. Burun Tozları                                                 | 23       |
| 1.2.5. Yeni Yaklaşımlar                                              | 23       |
| 1.3. Nazal Sprey Formülasyonlarında Kullanılan Yardımcı Maddeler     | 25       |
| 1.3.1. Tamponlar                                                     | 26       |
| 1.3.2. Çözücüler                                                     | 27       |
| 1.3.3. Koruyucular                                                   | 27       |
| 1.3.4. Antioksidanlar                                                | 28       |
| 1.3.5. Nemlendiriciler                                               | 28       |
| 1.3.6. Yüzey Aktif Maddeler                                          | 28       |
| 1.3.7. Biyoadheziv Polimerler                                        | 29       |
| 1.3.8. Jelleştirici Ajanlar                                          | 29       |
| 1.3.9. Absorpsiyon Arttırıcılar                                      | 29       |
| 1.4. Nazal Dozaj Formları İçin Uygulama Cihazları                    | 32       |
| 1.5. Nazal Spreylerde İn Vitro Biyoeşdeğerlilik                      | 35       |
| 1.6. Allerjik Rinit                                                  | 41       |
| 1.7. Allerjik Rinit Tedavisinde Kortikosteroid Gruplarının Kullanımı | 42       |
| 1.8. Flutikazon Furoat                                               | 43       |

|                                                                                                            |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>                                                                                  | <b>48</b> |
| 2.1. Gereçler                                                                                              | 48        |
| 2.1.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler                                                             | 48        |
| 2.1.2. Deneylerde Kullanılan Araçlar                                                                       | 49        |
| 2.2. Etkin Madde Karakterizasyon Testleri                                                                  | 50        |
| 2.2.1. Görünüş                                                                                             | 50        |
| 2.2.2. Tanıma                                                                                              | 50        |
| 2.2.2.1. Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi (FT-IR) Spektrofotometrisi                                          | 50        |
| 2.2.2.2. X-Işını Toz Kırınım Difraktometrisi (XRPD)                                                        | 50        |
| 2.2.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)                                                             | 51        |
| 2.2.4. HPLC Analizi                                                                                        | 51        |
| 2.2.5. Yakma Kalıntısı                                                                                     | 51        |
| 2.2.6. Spesifik Optik Rotasyon                                                                             | 52        |
| 2.2.7. Kurutma Kaybı                                                                                       | 52        |
| 2.2.8. Miktar Tayini                                                                                       | 52        |
| 2.2.9. Partikül Boyutu Dağılımı                                                                            | 54        |
| 2.3. Etkin Madde Özelliklerinin Risk Değerlendirmesi                                                       | 54        |
| 2.4. Flutikazon Furoat ve Benzalkonyum Klorür 'ün HPLC Analizi ile Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesi | 55        |
| 2.4.1. Flutikazon Furoat ve Benzalkonyum Klorür'ün Miktar Tayini Yöntemlerinin Analitik Validasyonu        | 55        |
| 2.4.1.1. Sistem Uygunluğu                                                                                  | 56        |
| 2.4.1.2. Seçicilik                                                                                         | 57        |
| 2.4.1.3. Doğrusallık ve Aralık                                                                             | 58        |
| 2.4.1.4. Doğruluk                                                                                          | 59        |
| 2.4.1.5. Kesinlik                                                                                          | 61        |
| 2.4.1.6. Çözelti Stabilitesi                                                                               | 62        |
| 2.4.1.7. Sağlamlık                                                                                         | 63        |
| 2.5. Formülasyon Geliştirme Çalışmaları                                                                    | 64        |
| 2.5.1. Hedef Ürün Kalite Profilinin (QTPP) ve Kritik Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi                    | 65        |
| 2.5.2. Referans Ürün Karakterizasyonu                                                                      | 65        |
| 2.5.3. Kalite Tasarımı Çalışması                                                                           | 66        |
| 2.5.3.1. Üretim Metodu                                                                                     | 68        |
| 2.6. F03 Nihai Formülasyonu Üzerinde Yapılan Diğer Çalışmalar                                              | 69        |
| 2.6.1. Etkin Madde Salım Çalışmaları                                                                       | 69        |
| 2.6.2. Süspansiyonun Reolojik Davranışının İncelenmesi                                                     | 71        |
| 2.7. Ölçek Büyütme Çalışmaları                                                                             | 72        |
| 2.8. Nazal Ürünler İçin EMA Kılavuzunda Belirtilen Testler                                                 | 72        |
| 2.8.1. Nazal Ürünler İçin Uygulanan Test Metotları                                                         | 76        |
| 2.8.1.1. Görünüş                                                                                           | 76        |
| 2.8.1.2. Tanımlama                                                                                         | 76        |
| 2.8.1.3. Tanıma                                                                                            | 76        |
| 2.8.1.4. Minimum dolum ağırlığı                                                                            | 76        |

|                                                                                                          |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.8.1.5. Ortalama Püskürtme Dozu                                                                         | 77        |
| 2.8.1.6. İletilen Doz İçerik Tekdüzeliliği Ve Dozaj Üniteleri Tekdüzeliliği                              | 77        |
| 2.8.1.7. Her Bir Şişe İçin Püskürtme Sayısı                                                              | 78        |
| 2.8.1.8. Yoğunluk                                                                                        | 79        |
| 2.8.1.9. Damlacık Büyüklüğü Dağılımı                                                                     | 79        |
| 2.8.1.10. Ağırlık Kaybı                                                                                  | 80        |
| 2.8.1.11. Viskozite                                                                                      | 80        |
| 2.8.1.12. Ozmolalite                                                                                     | 81        |
| 2.8.1.13. pH                                                                                             | 81        |
| 2.8.1.14. Partikül Büyüklüğü Dağılımı                                                                    | 81        |
| 2.8.1.15. Flutikazon Furoat Ve Benzalkonyum Klorür Miktar Tayini                                         | 82        |
| 2.8.1.16. Gerekli Minimum Dolum Miktarı                                                                  | 82        |
| 2.8.1.17. Tek Doz (Püskürtmenin) Ağırlığı ve On Dozun Ağırlık Ortalaması                                 | 82        |
| 2.8.1.18. Minimum Dolum Gereksinimi                                                                      | 83        |
| 2.8.1.19. Ambalaj Ömrü Boyunca Sağlanan İletilen Doz Tekdüzeliliği                                       | 83        |
| 2.8.1.20. Aktivatör Birikme Testi                                                                        | 84        |
| 2.8.1.21. Çalkalama Gereksinimi                                                                          | 84        |
| 2.8.1.22. Şişeden İlk Püskürtme ve Yeniden Püskürtme                                                     | 85        |
| 2.8.1.23. Sıcaklık Döngüsü Sonrası Performans Testi                                                      | 85        |
| 2.8.1.24. Koruyucu Etkinlik Çalışması                                                                    | 86        |
| 2.8.1.25. Süspansiyonun Fiziksel Stabilitesi                                                             | 88        |
| 2.8.1.26. Zeta Potansiyel Analizi                                                                        | 88        |
| 2.8.1.27. Sağlamlık                                                                                      | 88        |
| 2.8.1.28. Dozlama Yönünün Etkisi                                                                         | 89        |
| 2.9. Nazal Sprey Ürünlerde İn Vitro Biyoeşdeğerliğin Değerlendirilmesi İçin Yapılan Testler ve Metodları | 89        |
| 2.9.1. Ürün Kabı Kullanım Süresince Tek Bir Aktivasyon İçeriği (SCU)                                     | 90        |
| 2.9.2. Lazer Kırınımı ile Damlacık Büyüklüğü Dağılımı (DSD)                                              | 90        |
| 2.9.3. Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı                                                                    | 91        |
| 2.9.3.1. Aerodinamik Partikül Boyut Dağılımı (Küçük Damlacıklar)                                         | 92        |
| 2.9.3.2. Raman Spektroskopisi ile PSD                                                                    | 94        |
| 2.9.4. Sprey İzi                                                                                         | 95        |
| 2.9.5. Bulut Geometrisi                                                                                  | 95        |
| 2.9.6. Şişeden İlk Püskürtme ve Tekrar Püskürtme                                                         | 96        |
| 2.9.7. Ambalaj Ömrü Sonunda Spreylerin Profillenmesi (Tail Off Özellikleri)                              | 96        |
| <b>3. BULGULAR</b>                                                                                       | <b>98</b> |
| 3.1. Flutikazon Furoat'ın Karakterizasyon Testlerine Ait Bulgular                                        | 98        |
| 3.1.1. Görünüş                                                                                           | 98        |
| 3.1.2. Tanıma                                                                                            | 99        |
| 3.1.2.1. Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometresi (FT-IR) Analizi                                    | 99        |
| 3.1.2.2. X-Işını Toz Difraktometri (XRPD) Analizi                                                        | 99        |
| 3.1.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi                                                   | 100       |
| 3.1.4. HPLC Analizi                                                                                      | 101       |

|                                                                                         |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.1.5. Yakma Kalıntısı                                                                  | 101 |
| 3.1.6. Spesifik Optik Rotasyon                                                          | 102 |
| 3.1.7. Kurutma Kaybı                                                                    | 102 |
| 3.1.8. Miktar Tayini                                                                    | 102 |
| 3.1.9. Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı                                                   | 102 |
| 3.2. Etkin Madde Özelliklerinin Risk Değerlendirmesi                                    | 103 |
| 3.3. Flutikazon Furoat ve Benzalkonyum Klorür Miktar Tayini                             | 104 |
| Yönteminin Geliştirilmesine Ait Bulgular                                                |     |
| 3.3.1. Analitik Validasyon Çalışmalarına Ait Bulgular                                   | 106 |
| 3.3.1.1. Sistem Uygunluğu                                                               | 106 |
| 3.3.1.2. Seçicilik                                                                      | 107 |
| 3.3.1.3. Doğrusallık ve Aralık                                                          | 109 |
| 3.3.1.4. Doğruluk                                                                       | 110 |
| 3.3.1.5. Kesinlik                                                                       | 112 |
| 3.3.1.6. Çözelti Stabilitesi                                                            | 114 |
| 3.3.1.7. Sağlamlık                                                                      | 115 |
| 3.4. Formülasyon Geliştirme Çalışmalarına Ait Bulgular                                  | 116 |
| 3.4.1. Hedef Ürün Kalite Profilinin (QTPP) ve Kritik Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi | 116 |
| 3.4.2. Referans Ürün Karakterizasyonu                                                   | 120 |
| 3.4.3. Kalite tasarımı Çalışması                                                        | 120 |
| 3.5. F03 Nihai Formülasyonu Üzerinde Yapılan Diğer Çalışmalar                           | 126 |
| 3.5.1. Etkin Madde Salım Testlerine Ait Bulgular                                        | 126 |
| 3.5.2. Tiksotropik Akış Çalışmalarına Ait Bulgular                                      | 127 |
| 3.6. Ölçek Büyütme Çalışmaları                                                          | 129 |
| 3.6.1. Bitmiş Ürün Kontrolleri                                                          | 129 |
| 3.6.2. Stabilité Sonuçları                                                              | 130 |
| 3.7. Nazal Ürünler için EMA Kılavuzunda Belirtilen Testler ve Metodları                 | 134 |
| 3.7.1. Nazal Ürünler İçin Uygulanan Test Metodlarına Ait Bulgular                       | 134 |
| 3.7.1.1. Görünüş                                                                        | 134 |
| 3.7.1.2. Tanımlama                                                                      | 134 |
| 3.7.1.3. Tanıma                                                                         | 134 |
| 3.7.1.4. Minimum Dolum Ağırlığı                                                         | 135 |
| 3.7.1.5. Ortalama Püskürtme Dozu                                                        | 135 |
| 3.7.1.6. İletilen Doz İçerik Tekdüzeliliği ve Dozaj Üniteleri Tekdüzeliliği             | 135 |
| 3.7.1.7. Her Bir Şişe İçin Püskürtme Sayısı                                             | 135 |
| 3.7.1.8. Yoğunluk                                                                       | 135 |
| 3.7.1.9. Damlacık Büyüklüğü Dağılımı                                                    | 136 |
| 3.7.1.10. Ağırlık Kaybı                                                                 | 136 |
| 3.7.1.11. Viskozite                                                                     | 136 |
| 3.7.1.12. Osmolalite                                                                    | 137 |
| 3.7.1.13. pH                                                                            | 137 |
| 3.7.1.14. Partikül büyüklüğü dağılımı                                                   | 137 |
| 3.7.1.15. Flutikazon Furoat Ve Benzalkonyum Klorür Miktar Tayini                        | 137 |
| 3.7.1.16. Gerekli Minimum Dolum Miktarı                                                 | 138 |

|                                                                                                            |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.7.1.17. Tek Doz (Püskürtmenin) Ağırlığı ve On Dozun Ağırlık Ortalaması                                   | 138 |
| 3.7.1.18. Minimum Dolum Gereksinimi                                                                        | 140 |
| 3.7.1.19. Ambalaj Ömrü boyunca Sağlanan İletilen Doz Tekdüzeliliği                                         | 140 |
| 3.7.1.20. Aktüvatör Birikme Testi                                                                          | 140 |
| 3.7.1.21. Çalkalama Gereksinimi                                                                            | 141 |
| 3.7.1.22. Şişeden İlk Püskürtme ve Yeniden Püskürtme                                                       | 141 |
| 3.7.1.23. Sıcaklık Döngüsü Sonrası Performans Testi                                                        | 142 |
| 3.7.1.24. Koruyucu Etkinlik Çalışması                                                                      | 142 |
| 3.7.1.25. Süspansiyonun Fiziksel Stabilitesi                                                               | 142 |
| 3.7.1.26. Zeta Potansiyel Analiz Sonuçları                                                                 | 143 |
| 3.7.1.27. Sprey Performans Testleri                                                                        | 144 |
| 3.7.1.28. Ekstre Edilebilir ve Sızabilir Maddeler                                                          | 144 |
| 3.7.1.29. Sağlamlık                                                                                        | 145 |
| 3.8. Nazal Sprey Ürünlerde İn Vitro Biyoeşdeğerliliğin Değerlendirilmesi İçin Yapılan Testler ve Sonuçları | 145 |
| 3.8.1. Ürün Kabı Kullanım Süresince Tek Bir Aktivasyon İçeriği (SCU)                                       | 145 |
| 3.8.2. Lazer kırınımı (DSD) ile Damlacık Büyüklüğü Dağılımı                                                | 147 |
| 3.8.3. Partikül Büyüklüğü Dağılımı                                                                         | 152 |
| 3.8.3.1. Aerodinamik partikül boyut dağılımı (Drug in small droplets)                                      | 153 |
| 3.8.3.2. Raman Spektroskopisi                                                                              | 154 |
| 3.8.4. Sprey İzi                                                                                           | 158 |
| 3.8.5. Bulut Geometrisi                                                                                    | 162 |
| 3.8.6. Şişeden İlk Püskürtme ve Yeniden Püskürtme                                                          | 164 |
| 3.8.7. Ambalaj Ömrü Sonunda Spreylerin Profillenmesi (Tail Off Özellikleri)                                | 169 |
| 3.8.8. Çalkalama Gereksinimi                                                                               | 171 |
| 3.8.9. Sıcaklık Döngüsü Sonrası Performans                                                                 | 171 |
| 3.8.10. Sağlamlık                                                                                          | 176 |
| 3.8.11. Dozlama Yönünün Etkisi                                                                             | 177 |
| 3.8.12. Yoğunluk 20 °C                                                                                     | 178 |
| 3.8.13. Viskozite                                                                                          | 180 |
| 3.8.14. Osmolalite                                                                                         | 181 |
| 3.8.15. pH                                                                                                 | 182 |

|                                                                                                                              |            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>4. TARTIŞMA</b>                                                                                                           | <b>184</b> |
| 4.1. Etkin Madde Karakterizasyonuna İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi                                                     | 184        |
| 4.2. Etkin Madde Özelliklerinin Risk Değerlendirmesine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi                                  | 187        |
| 4.3. Flutikazon Furoat ve Benzalkonyum Klorür Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi | 186        |
| 4.3.1. Miktar Tayini Metodunun Analitik Validasyonlarına İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi                                | 187        |
| 4.4. Formülasyon Geliştirme Çalışmalarına İlişkin Bulguların Değerlendirmesi                                                 | 189        |
| 4.4.1. Hedef Ürün Kalite Profilinin (QTPP) ve Kritik Kalite                                                                  | 189        |

|                                                                                                                                    |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Özelliklerinin (CQA) Belirlenmesine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi                                                           |     |
| 4.4.2. Referans Ürün Karakterizasyonuna İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi                                                       | 190 |
| 4.4.3. Kalite Tasarımı (QbD) Çalışmasına Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                                          | 190 |
| 4.5. F03 Nihai Formülasyonu Üzerinde Yapılan Diğer Çalışmalara Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                    | 192 |
| 4.5.1. Etkin Madde Salım Hızı Çalışmalarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                                       | 194 |
| 4.5.2. Tikotropik Akış Çalışmalarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                                              | 194 |
| 4.6. Ölçek Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                                                                        | 195 |
| 4.6.1. Bitmiş Ürün Kontrollerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                                                  | 195 |
| 4.6.2. Stabilite Sonuçlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                                                      | 196 |
| 4.7. Nazal Ürünler için EMA Kılavuzunda Belirtilen Testler ve Metotların Bulgularının Değerlendirilmesi                            | 198 |
| 4.7.1. Nazal Ürünler İçin Uygulanan Test Metodlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                              | 196 |
| 4.7.1.1. Gerekli Minimum Dolum Miktarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                                          | 200 |
| 4.7.1.2. Tek Doz (Püskürtmenin) Ağırlığı ve On Dozun Ağırlık Ortalamasına Ait Bulguların Değerlendirilmesi                         | 201 |
| 4.7.1.3. Minimum Dolum Gereksinimine Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                                              | 201 |
| 4.7.1.4. Ambalaj Ömrü boyunca Sağlanan İletilen Doz Tekdüzelğine Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                  | 203 |
| 4.7.1.5. Aktüvatör Birikme Testine Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                                                | 201 |
| 4.7.1.6. Çalkalama Gereksinimine Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                                                  | 202 |
| 4.7.1.7. Şişeden İlk Püskürtme ve Yeniden Püskürtme Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                               | 202 |
| 4.7.1.8. Sıcaklık Döngüsü Sonrası Performans Testine Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                              | 203 |
| 4.7.1.9. Koruyucu Etkinlik Çalışmasına Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                                            | 203 |
| 4.7.1.10. Süspansiyonun Fiziksel Stabilesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                                      | 203 |
| 4.7.1.11. Zeta Potansiyel Analiz Sonuçları Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                                        | 204 |
| 4.7.1.12. Sprey Performans Testlerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                                             | 204 |
| 4.7.1.13. Ekstre Edilebilir/Sızabilir Maddelerin Değerlendirmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                | 204 |
| 4.7.1.14. Sağlamlık Çalışmasına Ait Bulguların Değerlendirilmesi                                                                   | 205 |
| 4.8. Nazal Sprey Ürünlerde İn Vitro Biyoeşdeğerliğin (BE) Değerlendirilmesi İçin Yapılan Testler ve Sonuçlarının Değerlendirilmesi | 205 |
| <b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>                                                                                                        | 211 |
| <b>ÖZET</b>                                                                                                                        | 213 |
| <b>SUMMARY</b>                                                                                                                     | 214 |
| <b>KAYNAKLAR</b>                                                                                                                   | 215 |

## ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında alerjik rinit tedavisi için kortikosteroid bir etkin madde içeren nazal sprey formülasyonunun geliştirilmesi amaçlanmıştır. Formülasyon geliştirilmesinde kalite tasarımı (Quality by Design- QbD) kapsamında istatistiksel bir deneysel tasarım uygulanmıştır. Optimum üretim ve proses parametreleri belirlenmiş ve sonuç formülasyonun ölçek büyütme çalışmaları yürütülmüştür. Geliştirilen nihai formülasyonun tüm kalite özellikleri test edilmiştir.

Gerek yüksek lisans eğitimim boyunca gerekse tez çalışmam boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, ilgisini, yardımını, desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen, çalışma disiplini, üretkenliği ve etik düşünceleriyle bana yol gösteren danışman hocam Sn. Prof. Dr. Nilüfer YÜKSEL'e sevgi, minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans tez çalışmamı destekleyen Abdi İbrahim İlaç San.'a, çok değerli Ar-Ge direktörümüz Udaya KUMAR DUDE'ye, Ar-Ge Farmasötik Geliştirme müdürümüz Emre Erol ALDENİZ'e, Ar-Ge Farmasötik Geliştirme yöneticimiz Enis IŞIK'a ve tüm çalışma arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca gösterdikleri ilgi ve yardımlarından dolayı Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm saygıdeğer hocalarıma ve araştırma görevlilerine çok teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımda birlikte vakit geçirdiğim, desteklerini benden esirgemeyen sevgili arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında bana sonsuz güvenen, ilgi ve sevgileriyle her zaman yanımda olan, bugün olduğum kişi olmamı sağlayan, evlatları olmaktan gurur duyduğum sevgili annem Gülcan ERDOĞAN'a, sevgili babam Gencay ERDOĞAN'a, aldığım her kararda

arkamda duran, desteğini ve ilgisini hiç esirgemeyen, hayattaki motivasyonumu arttıran sevgili abim Gökhan ERDOĞAN’a, neşe ve mutluluk veren canım kardeşim Sedat ERDOĞAN ve sevgili kız kardeşim Yeşim ERDOĞAN’a çok teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ve en büyük destekçilerimden olan değerli arkadaşlarım Yeliz CEYLAN’a, Hilal ÇALLI’ya, Furkan ALBAYRAK’a ve Asilhan ŞAHİN’e çok teşekkür ederim.



## SİMGELER VE KISALTMALAR

|                |                                                  |
|----------------|--------------------------------------------------|
| AAT            | Amino Asit Taşıyıcıları                          |
| AB             | Avrupa Birliği                                   |
| ABD            | Amerika Birleşik Devletleri                      |
| ABE            | Ortalamaların Biyoeşdeğerliği                    |
| ANDA           | Kısaltılmış Yeni İlaç Uygulamasını               |
| A°             | Ångström                                         |
| AR             | Alerjik Rinit                                    |
| ATR            | Attenuated Total Reflectance                     |
| AUC            | Eğri Altında Kalan Alan                          |
| BA             | Biyoyararlanım                                   |
| BE             | Biyoeşdeğerlilik                                 |
| BN             | Bağıl Nem                                        |
| BOS            | Beyin Omurilik Sıvısı                            |
| CI             | Güven Aralığı                                    |
| CPP            | Kritik Proses Parametresi                        |
| CQA            | Kritik Kalite Özelliklerine                      |
| % CV           | Varyasyon Katsayısı                              |
| Da             | Dalton                                           |
| DDPC           | Dipalmitoilfosfatidilkolin                       |
| DSC            | Diferansiyel Taramalı Kalorimetri                |
| DSD            | Damlacık Büyüklüğü Ve Dağılımı                   |
| EMA            | Avrupa İlaç Ajansı                               |
| EP             | Avrupa Farmakopesi                               |
| FDA            | Amerika Gıda Ve İlaç Dairesi                     |
| FDA IIG        | FDA İnaktif Bileşen Kılavuzu                     |
| FT-IR          | Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrofotometrisi |
| FTS            | Fizyolojik Tuzlu Su                              |
| GI             | Gastrointestinal                                 |
| GW694301X      | 17 Beta-Karboksilik Metabolit                    |
| HPLC           | Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi             |
| H <sub>η</sub> | Benzerlik Sınırı                                 |
| i.n.           | İntranazal                                       |
| ICH            | Uluslararası Harmonizasyon Topluluğu             |
| IgE            | İmmünoglobulin E                                 |
| INCS           | İntranazal Kortikosteroidler                     |
| kDa            | Kilodalton                                       |
| LDOA           | Düşük Dansiteli Oleik Asit                       |
| LOQ            | Tayin Sınırı                                     |
| M              | Molar                                            |
| M.A.           | Molekül Ağırlığı                                 |

|            |                                     |
|------------|-------------------------------------|
| Max        | Maksimum                            |
| MCC        | Mikrokristalize Selüloz             |
| Min        | Minimum                             |
| Na-CMC     | Karmelloz Sodyum                    |
| NALT       | Nazal-İlişkili Lenfoid Doku         |
| NGI        | Yeni Nesil Impactor                 |
| OCT        | Organik Katyon Taşıyıcıları         |
| OINDP      | Ağızdan Solunan Nazal Dozaj Form    |
| ORT        | Ortalama                            |
| PBE        | Popülasyon Biyoeşdeğerliği          |
| PE         | Polietilen                          |
| PEG        | Polietilen Glikol                   |
| POM        | Polioksimetilen                     |
| PP         | Polipropilen                        |
| PSD        | Partikül Büyüklüğü Dağılımını       |
| PTFE       | Politetrafloroetilen                |
| Q1         | Kalitatif                           |
| Q2         | Kantitatif                          |
| QbD        | Quality By Design                   |
| QTc        | Kardiyak Tansiyon                   |
| QTPP       | Hedef Ürün Kalite Profili           |
| RSD        | Bağıl Standart Sapma                |
| SCU        | Tek Bir Aktivasyon İçeriği          |
| SD         | Standart Sapma                      |
| SLS        | Sodyum Lauril Sülfat                |
| T.E.       | Tespit Edilmedi                     |
| TAMC       | Toplam Aerobik Mikrobiyal Sayımı    |
| TGA        | Termogravimetrik Analizi            |
| TLC        | İnce Tabaka Kromatografisi          |
| TOST       | İki Tek Taraflı T-Testi             |
| TYMC       | Toplam Maya Ve Küf Sayısı           |
| USP        | Amerikan Farmakopesi                |
| XRPD       | X-Işını Toz Kırınım Difraktometrisi |
| YAM        | Yüzey Aktif Maddelerin              |
| $\theta$   | Eşdeğerlik Sınırı                   |
| $\sigma_R$ | Standard Sapma                      |

## ŞEKİLLER

|             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |     |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 1.1.  | Burun fizyolojisi ve anatomisi                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 6   |
| Şekil 1.2.  | Nazal epiteli oluşturan farklı hücre tiplerinin temsili                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 7   |
| Şekil 1.3.  | Nazal yolla ilaç verilmesini etkileyen faktörler                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 9   |
| Şekil 1.4.  | Fizikokimyasal özelliklerinin fonksiyonu olarak ksenobiyotiklerin solunum yolu epitelinin geçişlerinde yer alan mekanizmalar. OCT = organik katyon taşıyıcıları, AAT = amino asit taşıyıcıları                                                                                                                                               | 12  |
| Şekil 1.5.  | Siliyer hareket yönü                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 13  |
| Şekil 1.6.  | Farklı protokollerle hazırlanan örneklerin kayma gerilimine karşı kayma hızı eğrileri üzerindeki etkisi. A.5 s çalkalama sonrasında kap ağzından spatülle alınan örnekler. B.30 sn çalkalamayı takiben püskürtülen ve 1 saat bekletildikten sonra alınan örnekler. C.30 sn çalkalama sonrası püskürtülen ve bekletilmeksizin alınan örnekler | 18  |
| Şekil 1.7.  | Nazal sprey uygulamalarında burun içinde hedef alan                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 34  |
| Şekil 1.8.  | Nazal dozaj formlarında kullanılan ambalaj örnekleri                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 35  |
| Şekil 1.9.  | Nazal sprey/aerosol ürünleri için BE standart geliştirme tarihindeki kilometre taşları                                                                                                                                                                                                                                                       | 36  |
| Şekil 1.10. | Lokal etkili nazal sprey süspansiyonlarının biyoeşdeğerliğini desteklemek için ağırlıklı kanıt yaklaşımı                                                                                                                                                                                                                                     | 38  |
| Şekil 1.11. | Kanıt ağırlığı yaklaşımının bilimsel gerekçesi                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 39  |
| Şekil 1.12. | Allerjik rinit semptomları                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 41  |
| Şekil 2.1.  | Nazal pompa spreylelerinin karakterizasyonu için Malvern Spraytec sistemi                                                                                                                                                                                                                                                                    | 79  |
| Şekil 2.2.  | NGI cihazı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 92  |
| Şekil 3.1.  | Flutikazon furoat FT-IR spektrumu                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 99  |
| Şekil 3.2.  | Flutikazon furoat'ın XRPD kırınım deseni                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 100 |
| Şekil 3.3.  | Flutikazon furoat DSC analiz sonucu                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 101 |
| Şekil 3.4.  | Etkin madde ve koruyucu UV spektrumları                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 105 |
| Şekil 3.5.  | (a) Hareketli faz kromatogramı, (b) Seyreltme çözeltisi kromatogramı, (c) Benzalkonyum klorür içeren plasebo kromatogramı, (d) Flutikazon furoat içeren plasebo, (e) Standart çözelti kromatogramı, (f) Test çözeltisi kromatogram                                                                                                           | 108 |
| Şekil 3.6.  | Yapılan doğrusal regresyon analizi sonucunda flutikazon furoat pik alanları için elde edilen grafik                                                                                                                                                                                                                                          | 109 |
| Şekil 3.7.  | Yapılan doğrusal regresyon analizi sonucunda benzalkonyum klorür pik alanları için elde edilen grafik                                                                                                                                                                                                                                        | 110 |
| Şekil 3.8.  | Bağımsız değişkenlerin viskozite üzerine ana etkilerini gösteren pareto grafiği                                                                                                                                                                                                                                                              | 122 |
| Şekil 3.9.  | Bağımsız değişkenlerin damlacık büyüklüğü dağılımı (d50) üzerine ana etkilerini gösteren pareto grafiği                                                                                                                                                                                                                                      | 122 |

|                    |                                                                                                                                                                       |     |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Şekil 3.10.</b> | Bağımsız değişkenlerin partikül büyüklüğü dağılımı (d10) üzerine ana etkilerini gösteren pareto grafiği                                                               | 123 |
| <b>Şekil 3.11.</b> | Bağımsız değişkenlerin partikül büyüklüğü dağılımı (d50) üzerine ana etkilerini gösteren pareto grafiği                                                               | 124 |
| <b>Şekil 3.12.</b> | Seçilen ambalaj sistemi                                                                                                                                               | 125 |
| <b>Şekil 3.13.</b> | S63 mil ile ölçümlerden çizilen reogram                                                                                                                               | 128 |
| <b>Şekil 3.14.</b> | S62 mil ile ölçümlerden çizilen reogram                                                                                                                               | 129 |
| <b>Şekil 3.15.</b> | Zeta potansiyel analiz sonucu grafikleri                                                                                                                              | 143 |
| <b>Şekil 3.16.</b> | Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, Ürün kabı kullanım süresince tek bir aktivasyon içeriği (SCU)                                       | 147 |
| <b>Şekil 3.17.</b> | Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Damlacık büyüklüğü ve dağılımı-30 mm-Span                                                      | 149 |
| <b>Şekil 3.18.</b> | Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Damlacık büyüklüğü ve dağılımı-60 mm-Span                                                      | 150 |
| <b>Şekil 3.19.</b> | Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Damlacık büyüklüğü ve dağılımı-30 mm-D(50)                                                     | 151 |
| <b>Şekil 3.20.</b> | Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Damlacık büyüklüğü ve dağılımı-60 mm-D(50)                                                     | 152 |
| <b>Şekil 3.21.</b> | Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Küçük damlada etkin madde miktarı -Kafa                                                        | 154 |
| <b>Şekil 3.22.</b> | Kurutulmuş burun spreyi damlasının beyaz ışık montajı                                                                                                                 | 156 |
| <b>Şekil 3.23.</b> | Farklı etkin madde formlarını temsil eden kimyasal görüntüler beyaz ışık montajlarının üzerine bindirilmiştir, renkli alanlar etkin maddenin varlığını göstermektedir | 156 |
| <b>Şekil 3.24.</b> | Etkin madde partiküllerinin Raman görüntüleri, Renishaw'un parçacık istatistikleri uygulaması kullanılarak analiz edilmiştir                                          | 157 |
| <b>Şekil 3.25.</b> | Analiz uzaklıkları                                                                                                                                                    | 158 |
| <b>Şekil 3.26.</b> | Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Sprey izi-30mm (Ovallık oranı)                                                                  | 159 |
| <b>Şekil 3.27.</b> | Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Sprey İzi-30mm -Dmax                                                                            | 160 |
| <b>Şekil 3.28.</b> | Analiz Sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-sprey izi-60mm (Ovallık Oranı)                                                                  | 161 |
| <b>Şekil 3.29.</b> | Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Sprey izi-60mm- Dmax                                                                            | 162 |
| <b>Şekil 3.30.</b> | Bulut geometrisi örnek analizi                                                                                                                                        | 163 |
| <b>Şekil 3.31.</b> | Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Püskürtme- başlangıç-0.Gün (6.puf) (H&V)                                                        | 166 |
| <b>Şekil 3.32.</b> | Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Püskürtme -yeniden püskürtme 15.gün (H&V)                                                       | 167 |
| <b>Şekil 3.33.</b> | Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Püskürtme -yeniden püskürtme 30.gün (H&V)                                                       | 168 |

|                    |                                                                                                                             |     |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Şekil 3.34.</b> | Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Yoğunluk ölçümü analiz sonuçları                      | 179 |
| <b>Şekil 3.35.</b> | Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Viskozite (S62, 90 rpm, Tork: 50%±10%, oda sıcaklığı | 181 |
| <b>Şekil 3.36.</b> | Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Osmolalite                                           | 182 |
| <b>Şekil 3.37.</b> | Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-pH                                                    | 183 |



## ÇİZELGELER

|                      |                                                                                                                                              |    |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Çizelge 1.1.</b>  | Sistemik etki için intranazal olarak uygulanan ilaçlar                                                                                       | 1  |
| <b>Çizelge 1.2.</b>  | İlaç uygulama yollarının karşılaştırılması                                                                                                   | 2  |
| <b>Çizelge 1.3.</b>  | Piyasada bulunan ve klinik araştırma fazında olan i.n. aşı ürünleri                                                                          | 4  |
| <b>Çizelge 1.4.</b>  | Nazal sprey formülasyonlarında kullanılan yardımcı maddeler, kullanım amaçları ve FDA-IIG kullanım miktarları                                | 26 |
| <b>Çizelge 1.5.</b>  | Nazal sprey sistemleri için kullanılan tipik malzeme sınıfları                                                                               | 35 |
| <b>Çizelge 1.6.</b>  | Alerjik rinit için semptom bazlı tedaviler                                                                                                   | 42 |
| <b>Çizelge 1.7.</b>  | Flutikazon furoat molekülünün fizikokimyasal özellikleri                                                                                     | 44 |
| <b>Çizelge 2.1.</b>  | XRPD ölçüm yöntemi                                                                                                                           | 51 |
| <b>Çizelge 2.2.</b>  | Kromatografik şartlar                                                                                                                        | 53 |
| <b>Çizelge 2.3.</b>  | Analiz şartları                                                                                                                              | 54 |
| <b>Çizelge 2.4.</b>  | Risk değerlendirme sistemi                                                                                                                   | 55 |
| <b>Çizelge 2.5.</b>  | Kromatografik şartlarda yapılan değişiklikler                                                                                                | 64 |
| <b>Çizelge 2.6.</b>  | Plackett-Burman deney tasarımı kullanılarak hazırlanmış deney tasarımı matrisi                                                               | 64 |
| <b>Çizelge 2.7.</b>  | Kalitatif ve kantitatif kompozisyon                                                                                                          | 65 |
| <b>Çizelge 2.8.</b>  | Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon Plackett-Burman deney tasarımı matrisi ve bağımsız değişkenler-Formülasyon parametreleri | 66 |
| <b>Çizelge 2.9.</b>  | Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon Plackett-Burman deney tasarımı matrisi ve bağımsız değişkenler- işlem parametreleri      | 67 |
| <b>Çizelge 2.10.</b> | Bio-Diss iner-çıkart silindir yöntemi ile yapılan salım testleri koşulları                                                                   | 70 |
| <b>Çizelge 2.11.</b> | Franz difüzyon hücresi ile yapılan salım testleri koşulları                                                                                  | 71 |
| <b>Çizelge 2.12.</b> | Nazal ürünler için farmasötik gelişim çalışmaları                                                                                            | 74 |
| <b>Çizelge 2.13.</b> | Nazal ürünler için bitmiş ürün spesifikasyonları                                                                                             | 75 |
| <b>Çizelge 2.14.</b> | Kromatografik şartlar                                                                                                                        | 77 |
| <b>Çizelge 2.15.</b> | Damlacık büyüklüğü dağılımı ölçüm parametreleri                                                                                              | 80 |
| <b>Çizelge 2.16.</b> | Viskozite ölçüm parametreleri                                                                                                                | 81 |
| <b>Çizelge 2.17.</b> | Nonsteril nazal ürünler için değerlendirme                                                                                                   | 87 |
| <b>Çizelge 2.18.</b> | Damlacık büyüklüğü ve dağılımı analiz koşulları                                                                                              | 91 |
| <b>Çizelge 2.19.</b> | NGI koşulları                                                                                                                                | 93 |
| <b>Çizelge 2.20.</b> | Kromatografik koşullar                                                                                                                       | 93 |
| <b>Çizelge 2.21.</b> | Numune hazırlığı hacimleri                                                                                                                   | 94 |
| <b>Çizelge 2.22.</b> | Bitmiş ürün analiz detayları                                                                                                                 | 97 |
| <b>Çizelge 2.23.</b> | Referans ürün analiz detayları                                                                                                               | 97 |
| <b>Çizelge 3.1.</b>  | Etkin madde karakterizasyonu sonuçları özet çizelgesi                                                                                        | 98 |

|                      |                                                                                                                                                  |     |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Çizelge 3.2.</b>  | Risk değerlendirme çizelgesi                                                                                                                     | 103 |
| <b>Çizelge 3.3.</b>  | Etkin madde başlangıç risk değerlendirmesi gerekçelendirmesi                                                                                     | 104 |
| <b>Çizelge 3.4.</b>  | Kromatografik koşullar                                                                                                                           | 106 |
| <b>Çizelge 3.5.</b>  | Sistem uygunluğu verileri                                                                                                                        | 106 |
| <b>Çizelge 3.6.</b>  | Teorik plaka sayısı ve pik simetrisi verileri                                                                                                    | 107 |
| <b>Çizelge 3.7.</b>  | Flutikazon furoat ve benzalkonyum klorüre ait alıkonma zamanları                                                                                 | 107 |
| <b>Çizelge 3.8.</b>  | Seçicilik çalışması sonuçları                                                                                                                    | 108 |
| <b>Çizelge 3.9.</b>  | 8 farklı konsantrasyonda hazırlanan flutikazon furoat çözeltileri için pik alanları                                                              | 109 |
| <b>Çizelge 3.10.</b> | 8 farklı konsantrasyonda hazırlanan benzalkonyum klorür çözeltileri için pik alanları                                                            | 110 |
| <b>Çizelge 3.11.</b> | Flutikazon furoat geri kazanım sonuçları                                                                                                         | 111 |
| <b>Çizelge 3.12.</b> | Benzalkonyum klorür geri kazanım sonuçları                                                                                                       | 111 |
| <b>Çizelge 3.13.</b> | Doğruluk sonuçları                                                                                                                               | 111 |
| <b>Çizelge 3.14.</b> | Birinci gün elde edilen flutikazon furoat miktar tayini sonuçları                                                                                | 112 |
| <b>Çizelge 3.15.</b> | Birinci gün elde edilen benzalkonyum klorür miktar tayini sonuçları                                                                              | 112 |
| <b>Çizelge 3.16.</b> | İkinci gün elde edilen flutikazon furoat miktar tayini sonuçları                                                                                 | 112 |
| <b>Çizelge 3.17.</b> | İkinci gün elde edilen benzalkonyum klorür miktar tayini sonuçları                                                                               | 113 |
| <b>Çizelge 3.18.</b> | İki gün boyunca elde edilen kesinlik sonuçları                                                                                                   | 113 |
| <b>Çizelge 3.19.</b> | Tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik sonuçları                                                                                                     | 113 |
| <b>Çizelge 3.20.</b> | Standart çözelti için çözelti stabilitesi verileri                                                                                               | 114 |
| <b>Çizelge 3.21.</b> | Test çözeltisi için çözelti stabilitesi verileri                                                                                                 | 114 |
| <b>Çizelge 3.22.</b> | Plackett-Burman deney tasarımı kullanılarak hazırlanmış deney tasarımı matrisi                                                                   | 115 |
| <b>Çizelge 3.23.</b> | Plackett-Burman istatistiksel deney tasarım matrisiyle elde edilen parametrelerin ve modellerin p değerleri ile modellerin regresyon katsayıları | 115 |
| <b>Çizelge 3.24.</b> | Hedef ürün kalite profili (QTPP)                                                                                                                 | 117 |
| <b>Çizelge 3.25.</b> | Kritik kalite özellikleri                                                                                                                        | 118 |
| <b>Çizelge 3.26.</b> | Referans ürün detayları                                                                                                                          | 120 |
| <b>Çizelge 3.27.</b> | Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon Plackett-Burman deney tasarımı sonucunda elde edilen yanıt değişkenleri                      | 121 |
| <b>Çizelge 3.28.</b> | Bio-Diss iner-çıkart silindir yöntemi ile yapılan salım testlerinin sonuçları                                                                    | 126 |
| <b>Çizelge 3.29.</b> | Franz Difüzyon hücresi ile yapılan salım testlerinin sonuçları                                                                                   | 127 |
| <b>Çizelge 3.30.</b> | Referans ürün (R1-R3) ile karşılaştırmalı pilot seri (P2-P4) bitmiş ürün spesifikasyonları                                                       | 131 |
| <b>Çizelge 3.31.</b> | P2 serisi stabilite analiz sonuçları                                                                                                             | 133 |
| <b>Çizelge 3.32.</b> | Her şişe için süspansiyon püskürtme sayısı                                                                                                       | 138 |

|                      |                                                                                                                                         |     |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Çizelge 3.33.</b> | Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon tek püskürtme ağırlık analiz sonuçları                                              | 139 |
| <b>Çizelge 3.34.</b> | Referans ürün tek püskürtme ağırlık analiz sonuçları                                                                                    | 139 |
| <b>Çizelge 3.35.</b> | Aktüvator birikme testi analiz sonuçları                                                                                                | 140 |
| <b>Çizelge 3.36.</b> | Koruyucu etkinlik analiz sonuçları                                                                                                      | 142 |
| <b>Çizelge 3.37.</b> | Zeta potansiyeli analiz sonuçları                                                                                                       | 143 |
| <b>Çizelge 3.38.</b> | Ürün kabı kullanım süresince tek bir aktivasyon içeriği (SCU) (n=10, 3 seri Test, 3 seri referans ürün) sonuçları                       | 146 |
| <b>Çizelge 3.39.</b> | ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Ürün kabı kullanım süresince tek bir aktivasyon içeriği (SCU) | 147 |
| <b>Çizelge 3.40.</b> | 30 mm-Damlacık büyüklüğü ve dağılımı                                                                                                    | 148 |
| <b>Çizelge 3.41.</b> | 60 mm-Damlacık büyüklüğü ve dağılımı                                                                                                    | 148 |
| <b>Çizelge 3.42.</b> | ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Damlacık büyüklüğü ve dağılımı-30 mm-Span                     | 149 |
| <b>Çizelge 3.43.</b> | ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Damlacık büyüklüğü ve dağılımı-60 mm-Span                     | 150 |
| <b>Çizelge 3.44.</b> | ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Damlacık büyüklüğü ve dağılımı-30 mm-D(50)                    | 151 |
| <b>Çizelge 3.45.</b> | ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Damlacık Büyüklüğü ve Dağılımı-60 mm-D(50)                    | 152 |
| <b>Çizelge 3.46.</b> | Aerodinamik partikül boyut dağılımı analiz sonuçları                                                                                    | 153 |
| <b>Çizelge 3.47.</b> | ABE & PBE sonuçları (test Ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Küçük damlada etkin madde miktarı-Kafa                        | 153 |
| <b>Çizelge 3.48.</b> | Raman spektroskopisi sonuçları                                                                                                          | 155 |
| <b>Çizelge 3.49.</b> | Test için Püskürtme Modeli Örneği (P2) -30 mm                                                                                           | 158 |
| <b>Çizelge 3.50.</b> | Analiz sonuçları (n=10, 3 seri Test, 3 seri referans ürün)                                                                              | 159 |
| <b>Çizelge 3.51.</b> | ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Sprey izi-30mm (Ovallık oranı)                                 | 159 |
| <b>Çizelge 3.52.</b> | ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Sprey izi-30mm Dmax                                            | 160 |
| <b>Çizelge 3.53.</b> | ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Sprey izi-60mm (Ovallık oranı)                                 | 160 |
| <b>Çizelge 3.54.</b> | ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Sprey izi-60mm- Dmax                                           | 161 |
| <b>Çizelge 3.55.</b> | 30mm bulut geometrisi sonuçları (n=10, 3 seri test, 3 seri referans ürün)                                                               | 163 |
| <b>Çizelge 3.56.</b> | Analiz sonuçları (Test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Tüy geometrisi-30 mm                                              | 163 |
| <b>Çizelge 3.57.</b> | Şişeden ilk püskürtme ve yeniden püskürtme analiz sonuçları (n=10, 3 seri test, 3 seri referans ürün)                                   | 165 |

|                      |                                                                                                                                 |     |
|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Çizelge 3.58.</b> | ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Püskürtme- başlangıç-0.Gün (6.puf) (H&V)               | 166 |
| <b>Çizelge 3.59.</b> | ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Püskürtme -yeniden püskürtme 15.gün (H&V)              | 167 |
| <b>Çizelge 3.60.</b> | ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Püskürtme -yeniden püskürtme 30.Gün (H&V)              | 168 |
| <b>Çizelge 3.61.</b> | Konteyner tükenmesine yakın spreylerin profillenmesine yönelik test (P2, n=3 Ortalama) sonuçları (Tail off özellikleri)         | 169 |
| <b>Çizelge 3.62.</b> | Konteyner tükenmesine yakın spreylerin profillenmesi için referans (R1, n=3 Ortalama) sonuçları (Tail Off Özellikleri)          | 170 |
| <b>Çizelge 3.63.</b> | Çalkalama gereksinimi analiz sonuçları (n=10, 3 seri Test, 3 seri referans ürün)                                                | 171 |
| <b>Çizelge 3.64.</b> | Sıcaklık döngüsü sonrası performans -başlangıç analiz sonuçları                                                                 | 172 |
| <b>Çizelge 3.65.</b> | Sıcaklık döngüsü sonrası performans-6.gün analiz sonuçları                                                                      | 173 |
| <b>Çizelge 3.66.</b> | Sıcaklık döngüsü sonrası performans-12.gün analiz sonuçları                                                                     | 174 |
| <b>Çizelge 3.67.</b> | Sıcaklık döngüsü sonrası performans-dozaj tekdüzeliği ve iletilen doz tekdüzeliği- ilk, 6.gün, 12.gün                           | 175 |
| <b>Çizelge 3.68.</b> | Sağlamlık analiz sonuçları (n=10, 3 seri Test, 3 seri referans ürün)                                                            | 176 |
| <b>Çizelge 3.69.</b> | Sağlamlık analiz sonuçları-3000 km                                                                                              | 177 |
| <b>Çizelge 3.70.</b> | Sağlamlık analiz sonuçları-6000 km                                                                                              | 177 |
| <b>Çizelge 3.71.</b> | Dozlama yönünün etkisi 45° (n=10, 3 seri Test, 3 seri referans ürün)                                                            | 178 |
| <b>Çizelge 3.72.</b> | Dozlama yönünün etkisi-DSD sonuçları                                                                                            | 178 |
| <b>Çizelge 3.73.</b> | Yoğunluk analiz sonuçları 20 °C                                                                                                 | 179 |
| <b>Çizelge 3.74.</b> | ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Yoğunluk                                               | 179 |
| <b>Çizelge 3.75.</b> | Viskozite analiz sonuçları (cP)                                                                                                 | 180 |
| <b>Çizelge 3.76.</b> | ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Viskozite (S62, 90 rpm, Tork: 50%±10%, Oda sıcaklığı) | 180 |
| <b>Çizelge 3.77.</b> | Osmolalite analiz sonuçları (mOsmol/Kg)                                                                                         | 181 |
| <b>Çizelge 3.78.</b> | ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Osmolalite                                            | 182 |
| <b>Çizelge 3.79.</b> | pH analiz sonuçları                                                                                                             | 183 |
| <b>Çizelge 3.80.</b> | ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-pH                                                     | 183 |

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Nazal Yol

Nazal yolla ilaç uygulaması, seksenli yıllardan itibaren ilgi çeken bir araştırma konusu olmuştur. Kolay uygulama, invaziv olmama ve absorpsiyon için uygunluğu intranazal salım yolunun hem yeni etkin maddeler için hem de farklı bir kullanım için yeniden düşünülen etkin maddeler için ilaç formülasyonlarının geliştirilmesinde önemli bir role sahiptir. İntranazal (i.n.) etkin madde salımı genel olarak lokal bir etki sağlanması ile ilişkilidir. Tipik örneği, antihistaminikler, kortikoidler ve/veya vazokonstriktörlerle alerjik ve enfeksiyöz rinit tedavisidir. Bununla birlikte nazal mukozanın yüksek derecede vaskülarizasyonu ve permeabilitesi, burnun hem terapötik bir hedef ve hem de etkin madde salımı için bir giriş yolu olarak, sistemik etkin madde verilmesi için elverişli hale getirmektedir (Grassin et al., 2012). Bundan dolayı hormon replasman tedavisi, osteoporoz, migren, prostat kanseri ve hatta bir grip aşısı gibi geniş bir alanda endikasyona sahip i.n. ilaç formülasyonları geliştirilmektedir. Çizelge 1.1’de onay alan ve ticari olarak mevcut olan sistemik etkili i.n. ilaçlar verilmektedir (Pires ve ark., 2009).

**Çizelge 1.1.** Sistemik etki için intranazal olarak uygulanan ilaçlar (Pires ve ark., 2009)

| <b>Etken Madde</b> | <b>Müstahzar</b>    | <b>Endikasyon</b>                                                                           |
|--------------------|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| Buserelin          | Suprefact nasal®    | Prostat Kanseri                                                                             |
| Nafarelin          | Synarel®            | Endometriyosiz                                                                              |
| Desmopressin       | Minirin®            | Diabetes insipiduslu hastalarda polidipsi, poliüri ve dehidratasyonun önlenmesi ve kontrolü |
| Kalsitonin         | Miacalcin®          | Menopoz sonrası osteoporoz                                                                  |
| Dihidroergotamin   | Diergo-spray®       | Migren ve küme baş ağrısı                                                                   |
| Sumatriptan        | Imigran®            | Migren ve küme baş ağrısı                                                                   |
| Butofanol          | Stadol NS®          | Migren baş ağrısı dahil ağrı yönetimi                                                       |
| Fentanil           | Instanyl®, PecFent® | Kanserli hastalarda yüksek ağrı                                                             |
| Estradiol          | Aerodiol®           | Hormon replasman tedavisi                                                                   |
| Nikotin            | Nicotrol NS®        | Sigara bırakma                                                                              |
| Oksitosin          | Syntocinon®         | Doğum indüksiyonu ve emzirme stimülasyonu                                                   |
| Siyanokobalamin    | Nascobal®           | B12 vitamini eksikliği                                                                      |
| İnfluenza Aşısı    | FluMist®            | Mevsimsel veya H1N1 grip önleme                                                             |

Nazal yolla uygulanmak üzere, çözeltiler ve süspansiyonları içeren damla ve spreyler, tozlar ve yarı katılar gibi klasik dozaj şekillerinden başka çoğunluğu polimer yapılı yeni ilaç taşıyıcı sistemlerin de geliştirildiği görülmektedir. Nazal yolla uygulanan bir dozaj formundan etkin maddenin biyolojik yararlanımı etkin maddenin fizikokimyasal özelliklerine ve formülasyona ait faktörlere bağlıdır. Ayrıca anatomik, fizyolojik, patolojik ve çevreye ait faktörler de nazal mukozadan geçişi etkilemektedir (Jadhav ve ark., 2007).

#### 1.1.1. Nazal Yolla İlaç Uygulamalarının Avantajları

Diğer uygulama yolları ile mukayese edildiğinde nazal yol oldukça geniş bir absorpsiyon alanına sahiptir. Yaygın damar ağı ve kan akışının hızlı olması ile hızlı absorpsiyon ve çabuk etki sağlaması, hepatik ilk geçiş etkisinin olmaması, doz aşımı riskinin düşük olması, gastrointestinal (GI) sistemde kimyasal ve enzimatik olarak bozulan etkin maddeler için alternatif yol olması, hasta uyucunun iyi olması gibi avantajlara sahiptir. Nazal yolun diğer uygulama yolları ile karşılaştırılması Çizelge 1.2’de verilmiştir. Bu avantajları nedeni ile nazal yol hem parenteral hem de oral yola alternatif olarak düşünülmektedir.

**Çizelge 1.2.** İlaç uygulama yollarının karşılaştırılması (Ingemann ve ark., 2000, s:189)

| Uygulama Yolu | Absorpsiyon Alanı       | Proteolitik Enzim Seviyesi |
|---------------|-------------------------|----------------------------|
| Oral          | 200 m <sup>2</sup>      | +++++++                    |
| Rektal        | 200-400 cm <sup>2</sup> | +++                        |
| Bukkal        | 100 cm <sup>2</sup>     | ++                         |
| Nazal         | 150 cm <sup>2</sup>     | ++                         |
| Transdermal   | 2 m <sup>2</sup>        | +                          |
| Pulmonar      | 75 m <sup>2</sup>       | +                          |
| Vajinal       | 87 cm <sup>2</sup> *    | ++                         |
| Oküler        | 1 cm <sup>2</sup>       |                            |

\*: (Pendergras ve ark., 2003)

Nazal veriliş yolunun diğerk avantajları aşağıda verilmektedir (Krishnamoorthy ve ark., 1998; Mistry ve diğerkleri, 2009; Laffleur ve ark., 2021; Bitter ve ark., 2011; Jadhav ve ark., 2007; Xu ve ark., 2020; Grassin ve ark., 2012):

- Nazal mukoza, enzimatik aktivitenin dūřuk olması, nazal mukusun nōtr pH'sı nedeniyle GI kanala gōre daha fazla bileřiğe geēirgendir; bu nedenle daha hızlı ve daha yūksk dūzeyde etkin madde absorpsiyonu elde etmek iēin potansiyel bir uygulama yolu olarak kabul edilmektedir.
- Őzellikle lipofilik, dūřuk molekūler ağırlıklı etkin maddelerin penetrasyonu iyidir.
- Nispeten geniř absorpsiyon yūzeyi ve yūksk vaskūlarizasyon nedeniyle hızlı bir absorpsiyon ve hızlı bir etki bařlangıcı sōz konusudur.
- Nūkleotidler, peptitler, proteinler ve hatta kōk hūcreler dahil olmak ũzere ēeřitli etkin maddelerin i.n. olarak uygulanabilme potansiyeli vardır.
- Mukoza yūksk geēirgenliğē sahiptir.
- Dūřuk dozda etkinlik sağılanabilmektedir. Doğrudan etki yerine ilaē uygulaması, sistemik uygulamaya gōre daha dūřuk bir doz gerektirir ve hastalığın semptomları hızla iyileřir.
- Eğıtilmi personel gerektirmeden kolay erişilebilirlik ve iğnesiz ilaē uygulaması, kendi kendine ilaē tedavisini kolaylaştırması gibi nedenlerle yūksk hasta uyuncu sağılanmaktadır.
- i.n. ilaē uygulaması, girişimsel değıldir, esasen ağırsızdır ve Özellikle ēocuklar iēin uygundur.
- Etkin maddelerin koku alma bōlgesi yoluyla merkezi sinir sistemine doğırudan iletilme potansiyeli, bōylece kan beyin bariyerinin elimine edilmesi sağılanabilmektedir.
- Nazal-iliřkili lenfoid doku (NALT) nedeniyle, burun iēi ařılama daha geniř koruma sağılamaktadır. Antikor oluřumunun yanı sıra dolařımdaki bağıřıklık hūcrelerinin aktivasyonunu iēeren mukozal (enfeksiyon bōlgesinde koruma) ve sistemik bağıřıklığı indūklemektedir. Nazal yolla uygulamak ũzere piyasada bulunan aşı ũrūnleri ēizelge 1.3'te gōrūlmektedir.

**Çizelge 1.3.** Piyasada bulunan ve klinik araştırma fazında olan i.n. aşı ürünleri (Jadhav ve ark., 2007; Kumar ve ark., 2016)

| Ürün adı                                                          | Dozaj Form                  | Durum                  | Üretici                       |
|-------------------------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Human influenza vaccine (Nasalflu Berna)                          | Virozomlar (Sprey)          | Piyasadan geri çekildi | Berna Biotech                 |
| Human influenza vaccine (FluMist)                                 | Sprey                       | Piyasada               | MedImmune Inc.                |
| Feline trivalent vaccine against calici herpes 1 and parvovirus   | Damla                       | Piyasada               | Heska                         |
| Equine influenza vaccine (Flu Avert)                              | Damla                       | Piyasada               | Heska                         |
| Porcine Bordetella bronchiseptica vaccine (Maxi/ Guard Nasal Vac) | Damla                       | Piyasada               | Addison Biological Laboratory |
| Feline Bordetella bronchiseptica vaccine (Nobivac Bp)             | Süspansiyon Damla           | Piyasada               | Intervet                      |
| Human Streptococcus A vaccine (StrepAvax)                         | Proteozomlar (nanopartikül) | Faz 2                  | ID Biomedical                 |
| Human influenza vaccine (FluINsuru)                               | Proteozomlar (nanopartikül) | Faz 2                  | ID Biomedical                 |
| Human influenza vaccine                                           | Belirtilmemiş               | Faz1/2                 | West PS                       |

#### 1.1.2. Nazal Yolla İlaç Uygulamalarının Dezavantajları

Nazal yolla ilaç uygulamasının dezavantajları şunlardır (Munoz ve ark., 2013; İllum ve ark., 2002; Ozsoy ve ark., 2009; Hussein ve ark., 2020; Jadhav ve ark., 2007; Thorat ve ark., 2016):

- Burun boşluğundan verilebilecek ilaçların hacmi, anatomileri ve boyutları nedeniyle sınırlıdır. Optimum miktar, her bir burun deliğine uygulanabilecek yaklaşık 100-150 µL'dir. Fazlalık hızla nazofarenkse doğru boşaltılmakta ve GI sistem yoluyla atılmaktadır.
- Etkin maddenin absorbe edilebilmesi için <1 kDa moleküler ağırlığa sahip olması gerekir.
- Nazal boşlukta patolojik durumlar, nazal olarak uygulanan ilaçların mukozada tutulumunu etkileyebilmektedir.
- Nazal epitele ulaşan bileşikler, epitel hücrelerinin siliyaları tarafından sürekli olarak itilme ve mukozayı kaplayan mukusun varlığı nedeniyle hücre yüzeyi ile nadiren uzun süreli temas süreleri elde eder. Perisiliyer sıvı, hava akımı ile

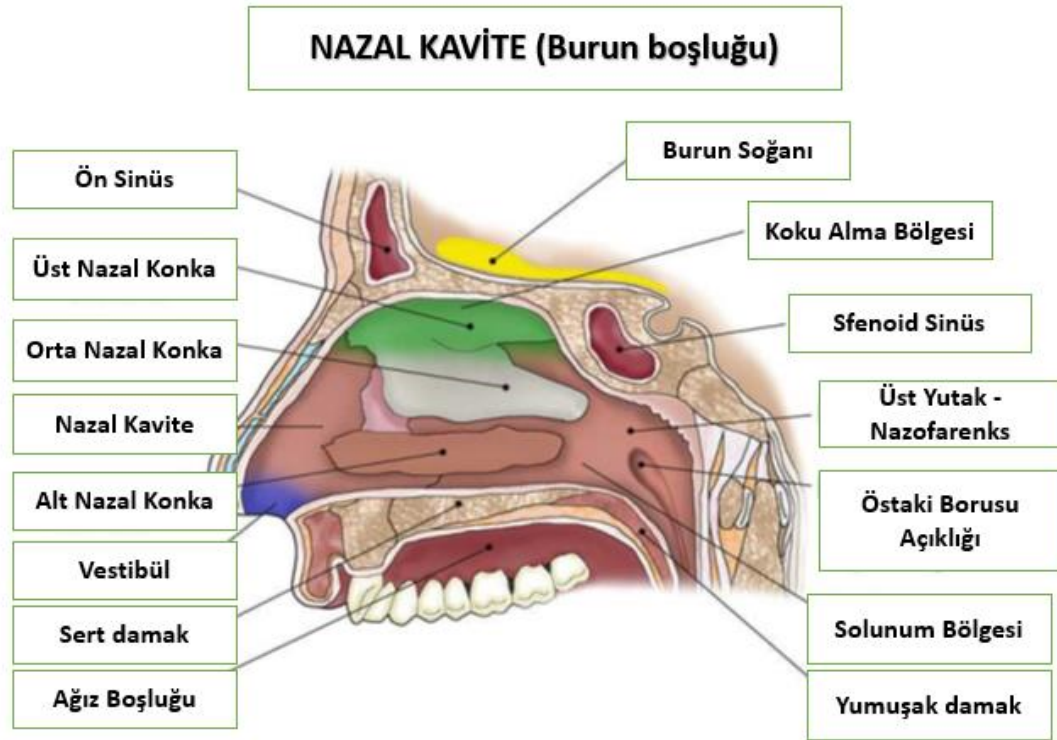
etkileşime girdiğinde, havadaki yabancı bileşikler, mukosiliyer temizleme adı verilen bir süreçte yutulana kadar nazofarenks içine girmeye zorlanır. İlaç formülasyonunun kalış süresi etkilenir.

- Burun boşluğunun lümeninde veya epitelyal bariyerden geçiş sırasında enzimatik degradasyon etkin madde absorpsiyonunu etkiler.
- Burun tahrişi etkin maddenin absorpsiyonunu etkiler.
- Nazal ilaç formülasyonlarında kullanılan absorpsiyon arttırıcılar, henüz net olarak belirlenmemiş olsa da histolojik toksisiteye sahip olabilir.
- Kimyasal stabilizerler olarak kullanılan belirli yüzey aktif maddeler, membran bütünlüğünü etkileyebilmektedir.

### **1.1.3. Nazal Yolun Anatomi ve Fizyolojisi**

Burun karmaşık, çok işlevli bir organdır. Burun boşluğu – nazal kavitenin temel işlevleri, solunan havanın temizlenmesi ve koku almadır. Ayrıca önemli koruyucu ve destekleyici fonksiyonları, solunan havanın alt solunum yollarına ulaşmadan önce filtre edilmesi, ısıtılması ve nemlendirilmesidir. Burun boşluğunun toplam hacmi 15 ml, uzunluğu 12-14 cm ve pH değeri 5.5-6.5 aralığındadır. Burundaki sıcaklık, insan vücut sıcaklığının biraz altındadır ve 33-35°C arasında değişmektedir (Salade ve ark., 2019). Burun kılları ve esas olarak yapışkan mukus örtüsü ile burun mukozası, alerjenler, patojenler veya yabancı partiküller gibi ksenobiyotiklerin akciğerlere ulaşmasını önlemeye yardımcı olmaktadır. Saatte akciğere filtrelenen 500 L'den fazla havayla başa çıktığı için vücudun hava yolu için en etkili ilk savunma hattını temsil etmektedir. Bu süre zarfında 25 milyondan fazla parçacığın bu epitel tarafından işlendiği düşünülmektedir (Rogers ve ark., 2007; Seaton ve ark. 1995). Nazofarenkse doğru mukusu uzaklaştıran mukosiliyer aktivite, çeşitli immünokompetan hücreleri içeren immünolojik aktiviteler ve endojen maddelerin metabolizması, nazal yapıların diğer temel işlevleridir. Frontal ve maksiller sinüs ve kulak gibi diğer boşluklara bağlı olan burun boşluğu aynı zamanda rezonant bir cisim görevi görmektedir.

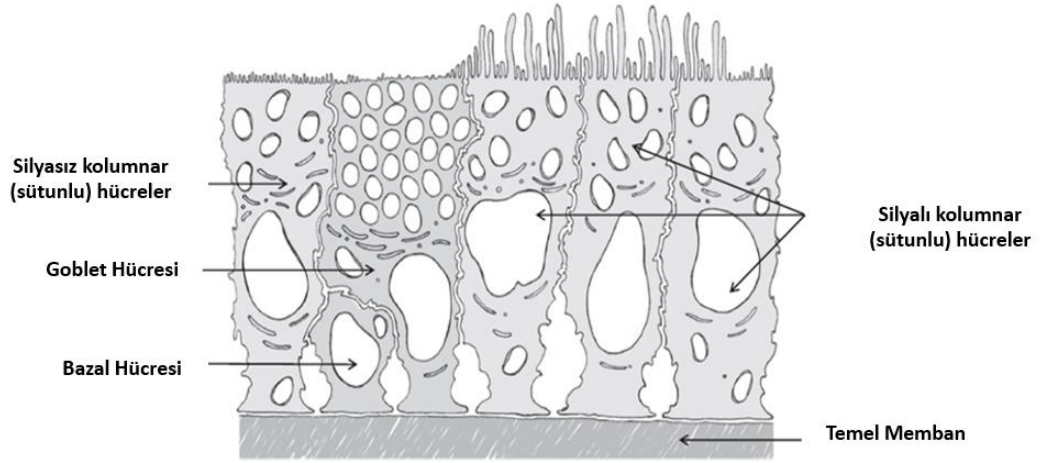
İnsan burun boşluğunun bir şeması Şekil 1.1'de gösterilmektedir. Burun boşluğu, nazal septum tarafından ikiye bölünür ve nazofarenksin arkasına kadar uzanırken, burun boşluğunun en ön kısmı olan nazal vestibül burun deliğinden yüze açılır. Burun boşluğu, burun deliği (vestibüler) bölge, koku alma (olfaktör) bölgesi ve solunum (respiratuvar) bölgesi olmak üzere üç ana bölgeden oluşur. Burun boşluğu, yan duvarları ve kıvrımlı yapısı sayesinde küçük hacmi ile karşılaştırıldığında, yaklaşık 150 cm<sup>2</sup> gibi yüksek bir yüzey alanına sahiptir. Bu kıvrımlı yapı Şekil 1.1'de gösterildiği üzere üç konkadan oluşur. Bunlar; üst nazal konka, orta nazal konka ve alt nazal konkadır (Ugwoke ve ark., 2005). Dar geçitlere sahip ana nazal hava yolu, genellikle 1-3 mm genişliğindedir ve bu daraltıcı yapılar, burnun ana işlevlerini yerine getirmesi için faydalıdır.



Şekil 1.1. Burun fizyolojisi ve anatomisi (Sabale ve ark., 2020)

Burun boşluğu, iki alana bölünebilen bir mukoza zarı ile kaplıdır. Bunlar; olfaktör olmayan ve olfaktör (koku alma) epiteldir. Olfaktör olmayan alan, skuamöz epitel hücreleri ile kaplı burun girişini içerir, burada solunum bölgesi olarak, çok sayıda mikrovilli ile kaplı tipik bir hava yolu epiteline sahiptir. Böylece etkin madde

absorpsiyonu ve taşınması için geniş bir yüzey alanı sağlanır (Sarkar ve ark., 1992). Solunum bölgesi (alt konka çevresinde), yüksek yüzey alanı (120 ila 150 cm<sup>2</sup>) ve yüksek derecede vaskülarize ve geçirgen özelliği nedeniyle etkin maddelerin sistemik girişi için ana bölgedir. Olfaktör bölge (koku alma bölgesi), nazal mukusun çoğunu salgılamaktan sorumlu birçok bez içermektedir. Nazal fossaları kaplayan epitel esas olarak bazal hücreler, siliyer hücreler ve mukus salgılayan goblet hücrelerinden oluşmaktadır (Şekil 1.2). Epitel hücreleri, hücreler arası sıkı bağlantılar ile bir arada tutulmaktadır. Siliyaların hareketi, mukusun yutulduğu orofaringeal bölgeye doğru taşınmasını sağlamaktadır.



**Şekil 1.2.** Nazal epiteli oluşturan farklı hücre tiplerinin temsili (Grassin ve ark., 2012)

i.n. uygulama esas olarak çeşitli etkin maddelerin verilişi için potansiyel olarak uygun bir alternatif sunar ve hem lokal hem de sistemik etki oluşturmak için uygun bir yoldur.

*Lokal Etki için Uygulama:* Nazal epitelden emilim, etkin maddenin lokal sprey şeklinde uygulanmasından sonra gerçekleşir. Epiteli gerçekten geçen etkin madde oranı bu nedenle çeşitli fizyolojik, moleküler ve farmasötik faktörlere bağlıdır. İlaçların i.n. uygulaması, nazal bozuklukların topikal tedavisi için doğal seçimdir. En

yaygın örnekler arasında rinosinüzit için antihistaminikler, kortikosteroidler ve soğuk algınlığı semptomları için nazal dekonjestanlar bulunur (Sabale ve ark., 2020).

*Sistemik Etki için Uygulama:* Sistemik etki için i.n. uygulamanın olumlu özellikleri arasında etkin madde absorpsiyonu için nispeten geniş bir yüzey alanı, hızlı etki başlangıcı, ilk geçiş metabolizması olmaması, hasta konforunu ve uyumunu en üst düzeye çıkarmak için invaziv olmaması yer almaktadır. i.n. uygulama, klasik olarak oral veya parenteral yolla verilen ilaçlar için alternatif bir yol sağlar (Costantino ve ark., 2007).

#### **1.1.4. Nazal Mukozadan Absorpsiyon Mekanizmaları**

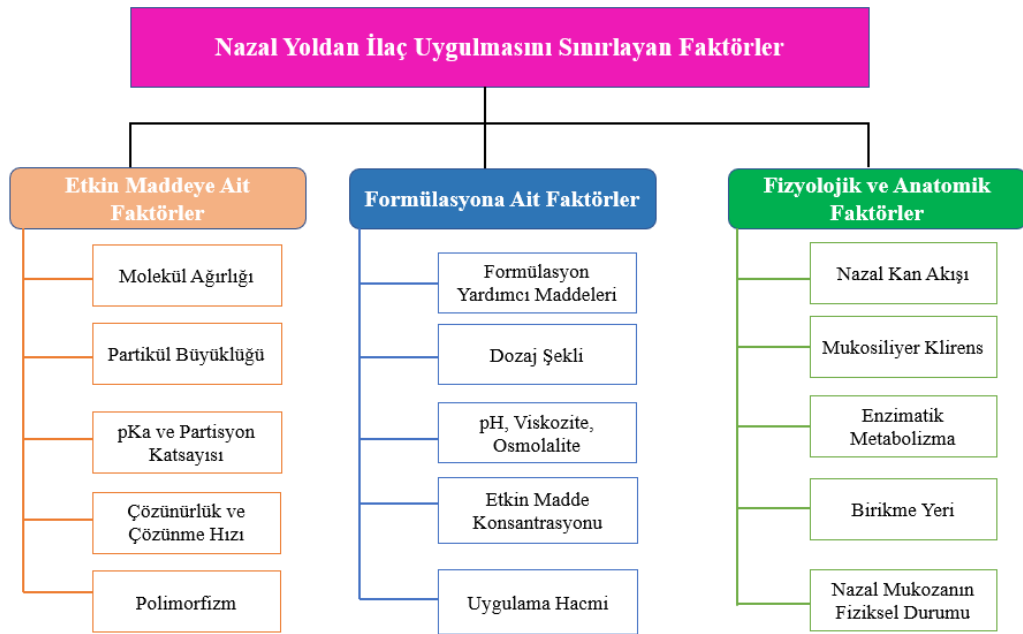
Nazal ilaç uygulamasından sonra nazal epitelyumdan absorpsiyon gerçekleşmektedir. Etkin maddenin epitelyumu geçebilen miktarını, etkin maddeye ait faktörler, formülasyona ait faktörler ve fizyolojik-anatomik faktörler belirlemektedir. Bir sprej formülasyonu için uygulanan hacim, etkin madde partikül büyüklüğü, çözelti viskozitesi, sprej uygulama açısı ve aerosol bulut açısı, solunum akışı gibi faktörler etkin madde absorpsiyonunun yeri ve yüzey alanı üzerinde etkiliyken, mukosilyer klirens, nazal kan akışı, transepitelyal yollar ve etkin maddenin fizikokimyasal özellikleri gibi faktörler, transepitelyal geçiş üzerinde etkilidir (Grassin-Delye et al., 2012).

Öncelikle uygulanan ilaçtan etkin maddenin mukus tabakasını geçerek epitelyal yüzeye ulaşması gerekmektedir. Mukosilyer klirens, efektif drenaj nedeniyle etkin maddenin mukoza ile temas süresini ve böylece absorpsiyonunu sınırlamaktadır. Drenaj sonrası kalan etkin madde intrinsik fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak epitelyumdan farklı mekanizmalarla geçmektedir. Etkin maddeler epitel hücrelerini basit konsantrasyon gradyanına dayanan transselüler yolla, reseptör aracılı veziküler taşıma mekanizmalarıyla ya da hücreler arasındaki sıkı bağlantılardan geçen paraselüler yolla geçebilmektedir. Molekül ağırlığı 1000 Da'nın altında olan polar

etkin maddeler genellikle son yolu kullanarak membrandan geçecektir. Sıkı bağlantılar dinamik yapılardır ve gerektiğinde belirli bir dereceye kadar açılıp kapanabilmelerine rağmen, bu kanalların ortalama boyutu 10 Å'den küçüktür ve daha büyük moleküllerin taşınması oldukça sınırlıdır. Peptitler ve proteinler gibi büyük moleküller, endositotik bir taşıma işlemi kullanarak ancak düşük miktarlarda nazal membrandan geçebilmektedir (Turker ve ark., 2004).

#### 1.1.5. Nazal Mukozadan İlaç Absorpsiyonunu Etkileyen Parametreler

İlaçların absorpsiyonunu etkileyen faktörler etkin maddeye ait faktörler, formülasyona ait faktörler ve fizyolojik ve anatomik faktörler olarak sınıflandırılmaktadır (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Nazal yolla ilaç verilmesini etkileyen faktörler (Hussein ve ark., 2020)

#### **1.1.5.1. Etkin Maddeye Ait Fizikokimyasal Faktörler**

##### **Molekül Ağırlığı**

Molekül ağırlığı <300 Da altında olan etkin maddelerin permeabilitesi, fizikokimyasal özelliklerinden önemli derecede etkilenmezken, molekül ağırlığı >300 Da olan bileşikler için permeabilite, molekül ağırlığına bağlıdır. Makromoleküllerin biyoyarlanımı üzerine molekül ağırlığının etkisi değerlendirildiğinde, molekül ağırlığı artışının biyoyarlanımı belirgin derecede azalttığı gözlenmiştir (Jadhav ve ark., 2007; Munoz ve ark., 2013; Turker ve ark., 2004).

##### **Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı**

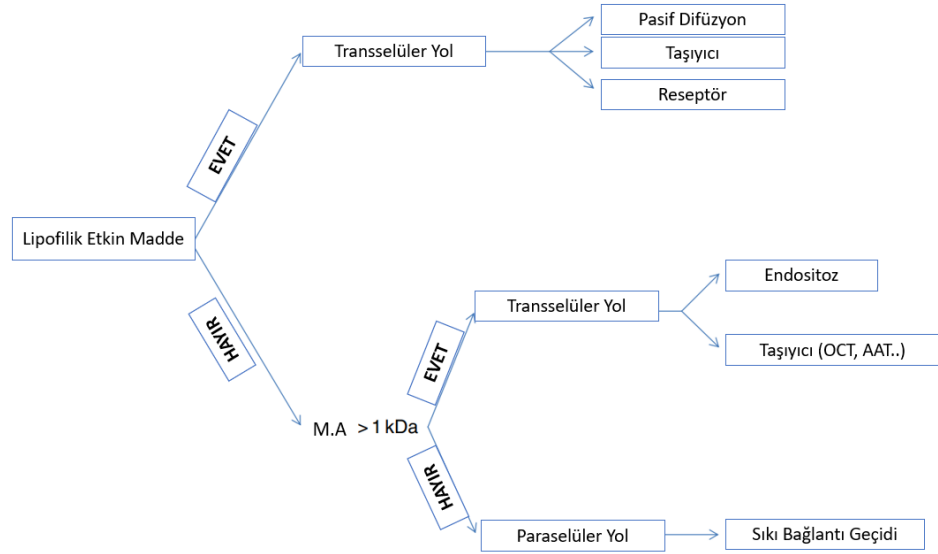
Ticari olarak mevcut pek çok nazal sprej, etkin maddenin partiküler halde sıvı bir taşıyıcı içinde disperse edildiği süspansiyonlar şeklinde formüle edilmektedir. Nazal bir sprejin uygulanmasını takiben partiküllerin çoğu doğrudan ön nazal boşluk bölgesine çarpmaktadır ve bu bölge vestibül arkası, asıl burun boşluğunun ön kısmı ve orta konkaların ön kısmını içermektedir. Sadece <20 µm partiküller ön nazal boşluk ötesine penetre olmakta ve nazofarenks gibi arka bölgelerde birirmektedir. Ortalama partikül büyüklüğü 78 µm (min 1 µm ve max 150 µm) olan partikülleri içeren bir nazal sprej formülasyonunun, Asyalı bir erkeğin CT-taramalı görüntülerinden kompüterize model ile yeniden yapılandırılan insan nazal kavitesinde birikim etkinliği incelendiğinde, partiküllerin %79,8'inin vestibül bölgede, %19'unun asıl geçiş yollarında ve %1,2'sinin ise nazofarenkste olduğu gözlenmiştir (Shang ve ark., 2021). Nazal sprej olarak uygulanan ilaçlar için, sprej cihazı tarafından yayılan partiküllerin nazal mukozaya çarpmasını sağlamak ve inspiratuvar akımla alt solunum yollarına çekilmesini önlemek için aerodinamik çaplarının 10 µm veya daha büyük olması gerekmektedir; <10 µm partiküller solunumla akciğerlere taşınmaktadır ve 10- 20 µm aralığında yer alan partiküller nazal boşlukta tutulmaktadır (Kundoor & Dalby, 2011).

## Partisyon Katsayısı ve pKa

Polar etkin maddelerin biyoyararlanımı genellikle düşüktür, düşük moleküler ağırlıklı olanlar için yaklaşık %10, kalsitonin ve insülin gibi peptitler için %1'in üzerinde değildir. Polar etkin maddelerin ve özellikle peptitler ve proteinler gibi büyük molekül ağırlıklı polar maddelerin nazal absorpsiyonunu sınırlayan en önemli faktör düşük membran geçirgenliğidir (Turker ve ark., 2004).

Yapılan bir çalışmada, farklı partisyon katsayılarına (0,012, 0,250, 0,261 ve 0,892) sahip fosfat tamponu içindeki hidrofilik sülfonamidlerin burun boşluğundan beyin omurilik sıvısına (BOS) taşınan miktarları arasındaki ilişki araştırılmıştır. BOS'daki etkin madde konsantrasyonu ile lipofilisitedeki artış arasında önemli bir korelasyon gözlemlenmiştir, böylece daha yüksek lipofilisite ile daha fazla bir absorpsiyon olduğu gözlenmiştir (Munoz ve ark., 2013). Artan lipofilisitede, bileşiğin nazal mukozadan permeasyonu normalde artmaktadır. Nazal mukozanın bir miktar hidrofilik karaktere sahip olduğu bulunsa da bu mukozaların yapısal olarak lipofilik olduğu ve lipid bölgesinin bu membranların bariyer fonksiyonunda önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Bir başka çalışmada hidrofilik etkin madde metoprololün aksine lipofilik alprenolol ve propranolol bileşiklerinin nazal mukozadan iyi absorbe edildiği bulunmuştur. Lipofilik bileşikler, hücre membranının lipid çift tabakalarında partisyon uğramakta ve difüzyonla hücre sitoplazmasına geçebilmektedir. Nalokson, buprenorfin, testosteron ve 17'a-etinilöstradiol gibi bir dizi lipofilik etkin maddenin, hayvan modellerinde nazal yolla tam olarak ya da tama yakın bir düzeyde absorbe edildikleri gözlenmiştir. Lipofilisite ve nazal absorpsiyon arasında bir korelasyon olduğu belirtilmektedir (Jadhav ve ark., 2007; Munoz ve ark., 2013).

Şekil 1.5'te görüldüğü gibi lipofilik moleküller molekül ağırlıklarına bağlı olarak transselüler yolu alırken, hidrofilik moleküller transselüler veya paraselüler yolları alabilir. Lipofilik moleküller serbestçe difüze olabilir, hidrofilik moleküller ise epiteli geçmek için hücre dışı yolu kullanmak zorundadır. Bu nedenle, domuz kültür hücrelerine ve insan epitel hücrelerine dayalı in vitro modellerde lipofiliklik ile transepitelyal taşıma hızı arasında güçlü, pozitif bir ilişki vardır (Lin ve ark., 2005).



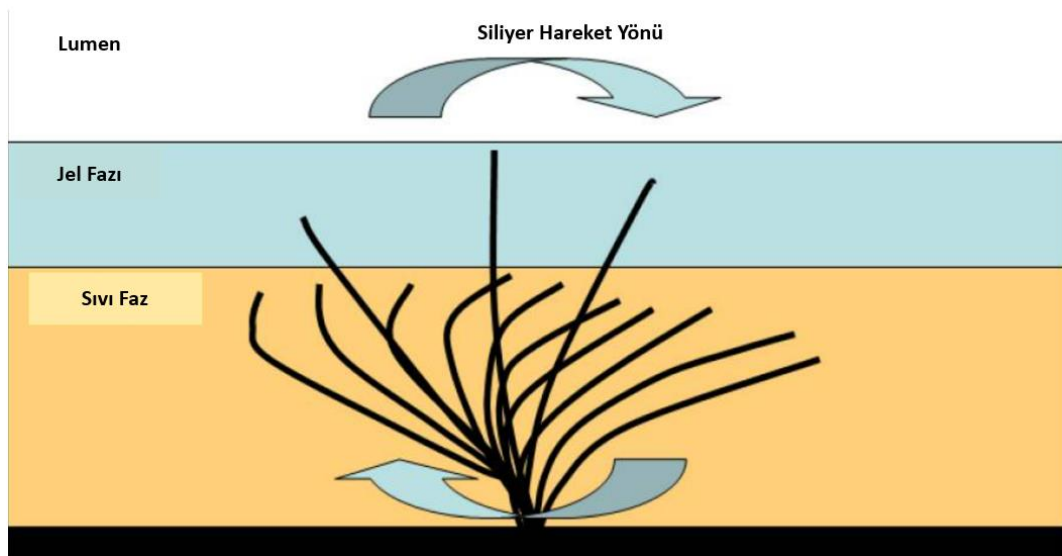
**Şekil 1.4.** Fizikokimyasal özelliklerinin fonksiyonu olarak ksenobiyotiklerin solunum yolu epitelinin geçişlerinde yer alan mekanizmalar. OCT = organik katyon taşıyıcıları, AAT = amino asit taşıyıcıları (Grassin ve ark., 2012)

pH partisyon teorisine göre, non-iyonize bir etkin madde, iyonize haline göre daha iyi absorbe edilir ve aynı durum nazal absorpsiyon için de geçerlidir. Salisilik asit ve aminopirin gibi zayıf elektrolitlerin nazal absorpsiyonunun büyük ölçüde iyonizasyon derecelerine bağlı olduğu bulunmuştur. Aminopirin için absorpsiyon hızının pH'daki artışla artmasına ve teorik profile iyi uyduğu bulunmasına rağmen, salisilik asit ile önemli sapmalar gözlenmiştir. Araştırmacılar, salisilik asit için lipoid yol ile birlikte belki de farklı bir taşıma yolunun var olduğu sonucuna varmışlardır. Benzer şekilde, benzoik asidin absorpsiyonu pH 7,19'da (%99,9 iyonize formda) çalışıldığında, %10'unun absorbe edildiği bulunmuş, bu da iyonize türlerin de nazal mukozadan absorbe edildiğini göstermiştir. Tüm bu gözlemlere dayanarak, nazal absorpsiyonu yöneten ana faktörün partisyon katsayıları olduğunu ve hidrofilik etkin maddeler için diğer transport yollarının önemli olabileceğini belirtmişlerdir (Jadhav ve ark., 2007).

## Çözünürlük ve Çözünme Hızı

Etkin maddenin biyolojik membranlardan emilimini belirleyen ana faktör, etkin maddenin çözünürlüğüdür (Thorat ve ark., 2016). Etkin maddelerin çözünürlüğü ve çözünme hızları, tozlardan ve süspansiyonlardan nazal absorpsiyonun belirlenmesinde önemli faktörlerdir. Burun boşluğunda biriken partiküllerin absorbe edilebilmesi için çözünmesi gerekir. Bir etkin madde partikül halinde kalırsa absorpsiyon gerçekleşmez (Jadhav ve ark., 2007).

Nazal mukus, çeşitli lipidler, glikokonjugatlar, hücreler, hücresel artıklar ve proteinlerden oluşur. Bununla birlikte sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, klorür gibi iyonları da içermektedir. Mukusun kendisi iki fazdan oluşur, üstte viskoz jel tabakası ve altta daha az viskoz sol tabaka, epitelin siliyaları ile yakın temas halindedir. Kirpiklerin eş zamanlı hareketi sayesinde, mukus, siliyaların sol-fazı içinde atacağı ve yönünü jel-fazına iletecek şekilde hareket ettirilir (Şekil 1.5). Patolojik koşullar altında, mukus kalınlaştığında, siliyer atım durdurulur ve mukosiliyer klirens engellenir. Sağlıklı bir durumda iki aşama arasında bir denge olması zorunludur, böylece hapsolmuş patojenler yutulma, öksürmek veya hapşırmak ile üst sindirim sistemine taşınır (Beule ve ark. 2010; Tomazic ve ark., 2020).



Şekil 1.5. Siliyer hareket yönü (Beule ve ark., 2010)

Nazal sekresyonlar doğal olarak daha sulu olduğundan, bir etkin maddenin artan çözünme için suda çözünürlüğü olmalıdır. Lipofilik etkin maddeler sulu sekresyonlarda daha az çözünürlüğe sahiptir. Etkin maddeler, çözünürlüklerine bağlı olarak pasif difüzyon ve aktif taşıma yoluyla absorbe edilmektedir. Bir etkin maddenin kimyasal formu çözünürlüğünü, dolayısıyla absorpsiyonunu etkiler. Örneğin, bir etkin maddenin tuz veya ester formuna dönüştürülmesi, absorpsiyonunu arttırabilir. Örneğin L-tirozin'in karboksilik asit esterlerinin in situ nazal absorpsiyonunun baz maddeden önemli ölçüde yüksek olduğu gözlenmiştir (Jadhav ve ark., 2007).

### **Polimorfizm**

Polimorfizmin etkin maddelerin çözünme hızını ve çözünürlüğünü ve dolayısıyla biyolojik membranlardan absorpsiyonunu etkilediği bilinmektedir. Bu nedenle, nazal toz ve/veya süspansiyonlar için etkin maddelerin polimorfik stabilitesi ve saflığının incelenmesi gerekmektedir (Kuswaha ve ark., 2011).

#### **1.1.5.2. Formülasyona Ait Faktörler**

##### **Formülasyon Yardımcı Maddeleri**

İlaç formülasyonu, bir etkin maddenin performansının ve terapötik etkinliğin kilit bir belirleyicisidir. Suda çözünmeyen ya da düşük geçirgenliğe sahip etkin maddelerin özel stratejiler ile geliştirilmesi gerekmektedir. Bir nazal sprej formülasyonu, çözücüler, muko-yapışkan maddeler, tamponlar, antioksidanlar, koruyucular ve penetrasyon arttırıcılar dahil olmak üzere çeşitli yardımcı maddeleri içerebilir. Özellikle, absorpsiyon arttırıcı yardımcı maddeler, terapötik etkin madde konsantrasyonlarına ulaşmak için önemli olabilmektedir (Rabinowicz ve ark., 2021).

Absorpsiyon arttırıcılar, biyolojik bariyerler boyunca etkin maddenin absorpsiyonunu iyileştirmek için formülasyonlara dahil edilen fonksiyonel yardımcı maddelerdir. Özellikle peptitlerin, proteinlerin ve zayıf bariyer geçirgenliğine sahip diğer farmakolojik olarak aktif bileşiklerin etkinliğini arttırmak için uzun yıllardır araştırılmaktadır. İdeal absorpsiyon arttırıcı, biyolojik ajanları enzimatik bozulmaya karşı koruyan ve absorpsiyonu geçici olarak arttırırken ilgili bariyerin hızlı bir şekilde açılmasına neden olan yardımcı maddeler olmalıdırlar. Nazal ve pulmoner ilaç uygulaması için araştırılan en yaygın permeasyon arttırıcılar; yüzey aktif maddeler, siklodekstrinler, proteaz inhibitörler, katyonik polimerler ve sıkı bağlantı modölatörleridir (Ghadiri ve ark., 2019).

Nazal formülasyonlarda kullanılan yardımcı maddelere ait detaylı bilgiler bölüm 1.3'te 'Nazal Sprey Formülasyonlarında Kullanılan Yardımcı Maddeler' başlığı altında verilmiştir.

### **Dozaj Şekli**

Nazal uygulamada kullanılan farmasötik dozaj formlarına ve yeni yaklaşımlara ait detaylı bilgiler bölüm 1.2'de 'Nazal Yolla Veriliş İçin Dozaj Formları' başlığı altında detaylı olarak verilmiştir.

### **pH**

Nazal tahriş ve enfeksiyonları önlemek için formülasyonun pH değerinin 4,5-6,5 arasında değişen değerlere ayarlanması gerekmektedir (Aurora ve ark., 2002). pH'nın 3 ila 10 arasında değişen değerlerinde siliyer hareketin sıklığı etkilenmesine rağmen mukozada morfolojik değişiklik olmamaktadır. Bu aralığın dışındaki pH değerleri, burun mukozasında geri dönüşü olmayan hasara neden olmaktadır. Normal durumda bakterileri yok eden nazal sekresyonların lizozimleri, alkali koşullar altında inaktive olmakta ve bu da nazal dokuyu mikrobiyal enfeksiyona daha duyarlı hale

getirmektedir. Etkin maddenin çözünürlüğünü ve stabilitesini, ancak en önemlisi nazal mukozanın bütünlüğünü garanti etmek için kullanılan tamponun tipi ve konsantrasyonunun da dikkate alınması gerekmektedir (Munoz ve ark., 2013). Van de Donk (1983) tarafından yapılan bir in vitro hücre kültürü çalışmasında, benzalkonyum klorürün siliyer atım frekansı üzerindeki olumsuz etkisi, pH'nın nazal ortama yaklaşan değere düşürülmesiyle belirgin şekilde azaltılmıştır. Nazal preparatlarda pH'nın önemi formülasyon bileşenleri açısından da önemlidir.

### **Osmolalite**

Hafif hipertonic ve izotonik solüsyonlar nazal mukozaya minimal hasar verirken, hipotonik solüsyonlar geri dönüşü olmayan hasara neden olur. Nazal yoldan ilaç temini için ozmolarite 290 ile 500 mOsmol/kg arasında kabul edilebilir. Nazal formülasyonların geliştirilmesi sırasında, genellikle parenteral formülasyonlar için tasarlananlarla aynı izotonisite eksipiyantları kullanılır (Munoz ve ark., 2013). Formülasyon ozmolaritesinin nazal absorpsiyon üzerindeki etkisi, sıçanlarda model etkin madde olarak sekretin kullanılarak incelenmiştir. Sonuçlar, ozmolaritenin nazal etkin madde emilimi üzerindeki önemli etkisini göstermiştir. Nazal etkin madde emilimi, formülasyondaki sodyum klorür konsantrasyonundan etkilenmiştir. 0,462 M sodyum klorür konsantrasyonu ile maksimum etkin madde emilimi gözlemlenmiştir. Yüksek sodyum klorür konsantrasyonu sadece daha yüksek biyoyararlanım sağlamakla kalmamakta, aynı zamanda nazal epitel hücrelerinde toksisiteye yol açmaktadır. Formülasyonun izotonisitesinin korunması, nazal epitel hücre hasarını azaltacak ve dolayısıyla nazal formülasyonun toksisitesini azaltacaktır (Satish ve ark., 2008).

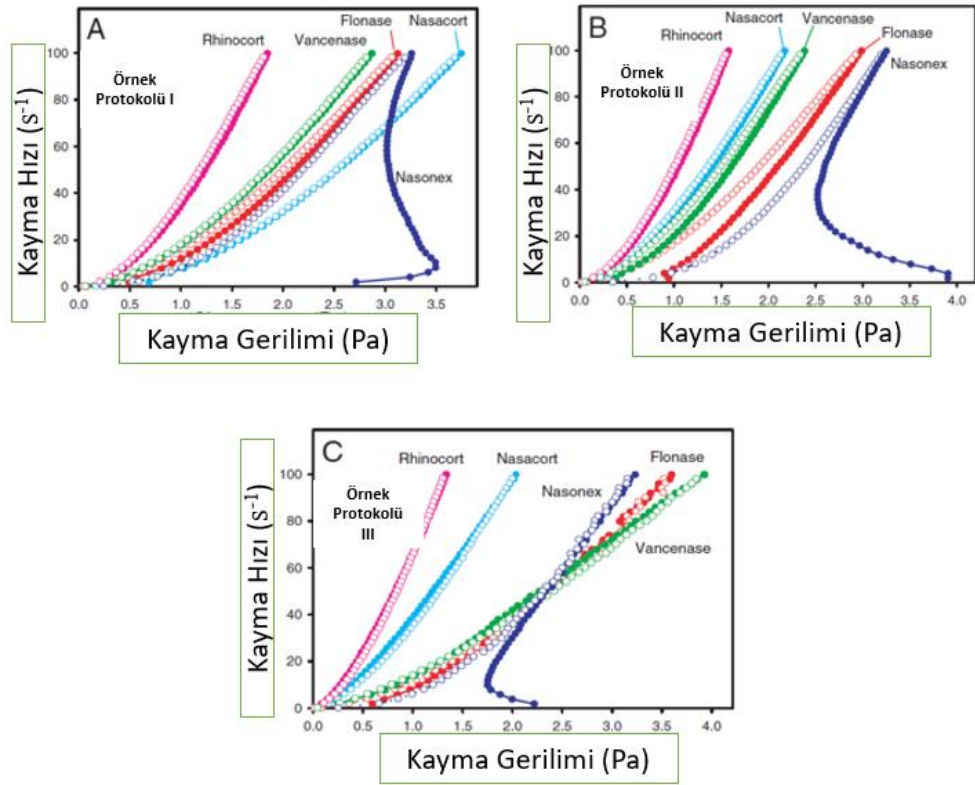
### **Viskozite**

Yüksek formülasyon viskozitesi, etkin madde ile burun mukozası arasındaki temas süresini ve dolayısıyla permeasyon süresini artırır. Aynı zamanda, yüksek

düzeyde viskoz formülasyonlar, siliyer hareket veya mukosiliyer klirens gibi normal fonksiyonları etkileyebilmekte ve böylece etkin maddelerin permeabilitesini değiştirebilmektedir (Jadhav ve ark., 2007). Furubayashi ve ark. (2007) asiklovir etkin maddesini farklı konsantrasyonlarda dekstran (M.A. 50 000-70 000) ile bir çözelti şeklinde formüle etmişler ve nazal yolla uygulamışlardır. Dekstran ilavesi, çözelti viskozitesinin artmasının bir sonucu olarak çözeltinin sıçan burun boşluğunda kalma süresini artırmıştır. Çözeltinin orta derecede viskozitesinin asiklovirin in vivo nazal absorpsiyonunu iyileştirdiği, daha yüksek viskozitesinin ise azalttığı gözlenmiştir (Furubayashive ark., 2007).

Tiksotropik akış: Tiksotropik akış, sabit bir kayma oranında zamana bağlı olarak kayma gerilimi ve viskozitede azalma oluşması durumudur. Uygulanan kayma etkisi (shearing) devam ettikçe ürün yapısında kırılmalar olur. Tiksotropik özellik gösteren sistemler çalkalandığında; sıvılaştıkları için şişeden akması, içilmesi veya cilde sürülmeleri kolaylaşır ve bekletildiklerinde yine eski şekillerine dönerler. Bu nedenle tiksotropi farmasötik sistemlerde istenen bir özellik olabilmektedir. Özellikle de partiküllerin çökmesini engellediği için süspansiyonlarda tercih edilir. Tiksotropik davranış geri dönüşlü, kısmen geri dönüşlü ya da geri dönüşsüz olabilir. Birçok sulu süspansiyon formunda kortikosteroid burun spreyi, çalkalandığında ve püskürtüldüğünde daha az viskoz hale gelir, ardından uygulamadan sonra daha viskoz bir duruma geri döner. Bu zamana bağlı, geri dönüşümlü viskozite kaybı, kayma etkisi altında (örneğin, çalkalama veya püskürtme), tiksotropinin reolojik özelliği olarak ölçülebilir. Bir çalışmada ticari olarak mevcut farklı kortikosteroid burun spreylerinin akış özellikleri koni-plaka reometresi ile değerlendirilmiştir. Test edilen nazal spreyler şunlardır: Nasonex, Vancenase AQ, Nasacort AQ, Rhinocort Aqua ve Flonase. Bu spreylerin reolojisi, hasta kullanımını da simüle edecek şekilde 30 sn ve 5 sn çalkalamadan sonra bir müddet bekletilerek ya da hemen ölçülerek belirlenmiştir. Tüm ürünler, tiksotropik, psödoplastik özellikte olup başlangıçta çalkalandıklarında daha serbest bir akış göstermişler, ardından süspansiyonların burun boşluğundan dışarı akmasını engelleyebilecek şekilde viskozitelerini geri kazanmışlardır. Test edilen her üç koşul altında, Nasonex en yüksek akma direncini, en büyük görünen başlangıç ve son viskoziteleri ve en yüksek görünür tiksotropiyi sergilemiştir. Hasta kullanım

koşullarını simüle ederek yapılan çalışmada ölçülen tiksotropi sırası: Nasonex>Flonase>Vancenase AQ>Rhinocort Aqua>Nasacort AQ şeklindedir. Nasonex'in tiksotropisi, test edilen diğer ürünlerin değerlerinden 3,4 ila 21,4 kat, nihai viskozite ise 3,2 ila 17,4 kat daha büyük bulunmuştur (Şekil 1.6, Sharpe ve ark., 2003).



**Şekil 1.6.** Farklı protokollerle hazırlanan örneklerin kayma gerilimine karşı kayma hızı eğrileri üzerindeki etkisi. A. 5 s çalkalama sonrasında kap ağzından spatülle alınan örnekler. B. 30 sn çalkalamayı takiben püskürtülen ve 1 saat bekletildikten sonra alınan örnekler. C. 30 sn çalkalama sonrası püskürtülen ve bekletilmeksizin alınan örnekler (Sharpe ve ark., 2003)

### Etkin Madde Konsantrasyonu

Etkin madde konsantrasyonu, dozu ve uygulama doz hacmi, nazal dozaj formlarının performansını etkileyen birbiriyle bağlantılı üç parametredir. İlaç uygulandığında formülasyon içindeki etkin madde konsantrasyonu uygulama birim miktarı (hacmi) ile artırıp absorpsiyonun artırılması planlanıyorsa ilacın burun

boşluğundan ne ölçüde dışarı akacağı konusunda bir sınır olabilir. Uygulama hacmi 0,05-0,15 ml arası ideal olmakla birlikte üst sınırı 0,20 ml'dir (Sabale ve ark., 2020).

### **Uygulanan Hacim**

Nazal mukozanın düşük yüzey alanı, ilacın ön veya arka akış yoluyla doğrudan kaybını önlemek için 200 µL'nin altındaki hacimlerle uygulanmasını sınırlar. Hacim olarak 80 ila 160 µL arasındaki insülin preparatları için, uygulanan dozun tamamı, akciğerlere geçiş olmaksızın burun boşluklarında biriktirilir (Newman ve ark., 1994). Uygulanan birim hacim önemlidir, çünkü 100 µL'lik tek bir hacmin uygulanmasının, iki 50 µL'lik hacmin uygulanmasıyla elde edilenden daha büyük bir yüzey alanı üzerinde birikime yol açtığı görülmektedir (Newman ve diğerleri, 1994; Kundoor & Dalby, 2011).

#### **1.1.5.3. Fizyolojik ve Anatomik Faktörler**

##### **Nazal Kan Akışı**

Nazal kan akışı, emilim bölgesinde bir konsantrasyon gradyanının korunmasında kilit faktördür ve bu da etkin maddenin difüzyonunu teşvik etmek için esastır. Vazokonstriktör veya vazodilatör etkin maddeler, nazal kan akışını etkilemekte ve bu nedenle bu bölgedeki bileşiklerin absorpsiyonunda değişkenliği indüklemektedir. Her durumda, i.n. uygulamaya yönelik bir molekül ideal olarak şu özelliklere sahip olmalıdır; düşük molekül ağırlığı, yüksek lipofiliklik ve fizyolojik pH'da sıfır net yük. Etkili dozun tamamının burun deliği başına 100 µL'lik bir hacimde (yani toplam 200 µL'lik bir hacim) verilmesini sağlayacak kadar da çözünür olmalıdır (Grassin-Delve, 2012).

## **Mukosiliyer Klirens**

Nazal kavitede biriken ilaç formülasyonlarının hızlı mukosiliyer klirensinin, intranazal yoldan verilen ilaçların düşük biyoyararlanımının altında yatan önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir (Turker ve ark., 2004). Mukosiliyer klirens, etkin drenaj sağlayarak ilaç-mukoza temas süresini sınırlar ve bu nedenle etkin maddelerin emiliminde sınırlayıcı bir faktör oluşturur. Nazal mukoza üzerinde biriken solunan partiküller bu mekanizma tarafından 15 ila 30 dakikada elimine edilir (Marttin ve diğerleri, 1998). İlaç formülasyonunun burun boşluğunda kalma süresinin arttırılması ve dolayısıyla burun mukozası ile temas süresinin uzatılması, ilaç emilimini iyileştirebilir.

## **Enzimatik Metabolizma**

Peptidlerin ve proteinlerin burun mukozası boyunca düşük biyoyararlanımına neden olan, ancak genellikle daha az düşünülen faktör, molekülün burun boşluğunun lümeninde veya epitelyal bariyerden geçiş sırasında enzimatik bozunma olasılığıdır. Bu bölgelerin her ikisi de peptitleri N ve C uçlarında parçalayabilen mono- ve diaminopeptidazlar gibi ekzopeptidazlar ve iç peptit bağlarına parçalayabilen serin ve sistein gibi endopeptidazlar içerir. Enzim inhibitörlerinin kullanımı ve/veya enzimlerin satürasyonu bu engeli aşmak için düşünülebilecek yaklaşımlardır. Ancak polar ve yüksek molekül ağırlıklı etkin maddeler için düşük permeabilite, taşıyıcı sistemin nazal kaviteden hızlı klirensi ve olası enzimatik bozunması ile karşılaşılabilir. Biyoadeziv sistemlerin kullanımı ve absorpsiyon arttırıcılar gibi çeşitli yaklaşımlarla bu zorlukların üstesinden gelinebilmektedir (Ozsoy ve ark., 2009).

## **Birikme Yeri**

Sprey uygulaması ve püskürtme açıları, optimal ilaç dağıtımının temel belirleyicileridir. 30°'lik bir uygulama açısı ve 30°'lik bir aerosol bulut açısının

kombinasyonu ile ilaç kombinasyonu, burnun ön bölgesine iletilir. Burada birikme verimliliği %90'a yakındır (Foo ve ark., 2007). İlacın uygulaması sırasında inspiratuar akıştaki değişiklikler, konka bölgesindeki birikmenin etkinliği üzerinde küçük bir etkiye sahiptir. Püskürtme sırasında yoğun soluma etkisinin olmadığı da yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Homer ve ark., 1998).

### **Nazal Mukozanın Fiziksel Durumu**

Burunla ilişkili en sık ve yaygın hastalık rinittir. Rinit, alerjik rinit ve soğuk algınlığı olarak sınıflandırılmaktadır. Alerjik rinitin neden olduğu epitel hasarı, eozinofillerin iltihaplanması ve infiltrasyonundan kaynaklanmaktadır. Alerjik rinitte makromoleküllerin i.n. absorpsiyonunun artmadığı gösterilmiştir. Soğuk algınlığı ise viral enfeksiyonun neden olduğu bir burun boşluğu hastalığı olup viral rinitte mukoza ödemlidir; nötrofiller ve mononükleer hücreler tarafından doldurulmuştur. Viral rinit ile ilişkili epitel hasarı, mukus salgısında bol artış ve yüksek vasküler geçirgenliğin nazal etkin madde absorpsiyonu için uygun olduğu varsayılmaktadır. Bununla birlikte nazal dozaj formunun harici bir uyarıcı olarak dahil edilmesi, nazal mukus sekresyonunu arttırmakta ve dozaj formlarının drenajına ve dolayısıyla biyoyararlanımın azalmasına yol açmaktadır (Hussein ve ark., 2020).

#### **1.2. Nazal Yolla Veriliş İçin Dozaj Formları**

Dozaj formunun seçimi, kullanılan etkin maddeye, önerilen endikasyona, hasta popülasyonuna ve pazarlama tercihlerine bağlıdır. Nazal uygulama için etkin madde salım sistemlerinden bazıları ve önemli özellikleri aşağıdaki başlıklarda özetlenmiştir.

### **1.2.1. Burun Damlaları**

Burun damlaları, burundan ilaç uygulama için geliştirilmiş en basit ve kullanışlı sistemlerden biridir. Bu sistemin başlıca dezavantajı doz hassasiyetinin olmamasıdır ve bu nedenle burun damlaları, reçeteli ürünler olarak uygun olmayabilmektedir. Nazal damlaların, burun spreylерinden daha etkili bir şekilde burun deliklerinde insan serum albümini biriktirdiği bildirilmiştir (Jadhav ve ark., 2007).

### **1.2.2. Burun Spreyleri**

Hem solüsyon hem de süspansiyon formülasyonları, nazal spreylер halinde formüle edilebilmektedir. Ölçülü doz pompalarının ve aktüvatörlerin mevcudiyeti nedeniyle, bir burun spreyi 25 ila 200 µL arasında kesin bir doz verebilir. Etkin maddenin partikül boyutu, morfolojisi (süspansiyonlar için) ve formülasyonun viskozitesi, pompa ve aktüvatör tertibatının seçimini belirlemektedir. Toz spreylere göre çözelti ve süspansiyon spreyleri tercih edilmektedir, çünkü tozlar mukozal tahrişe neden olmaktadır. Nazal sprej dozaj formunun maliyet etkin, kullanımı/taşıma kolaylığı ve kendi kendine uygulanabilmesi gibi avantajları, yüksek hasta uyumuna sahip olması, bu dozaj formunu nazal ilaç dağıtımı için büyüyen bir fırsat haline getirmektedir (Saxena ve ark., 2019). Tez çalışmamızda çalışmaları yapılacak dozaj formu süspansiyon şeklinde burun sprejdir.

### **1.2.3. Burun jelleri**

Nazal jeller, yüksek viskoziteli çözelti veya süspansiyon görünümünde polimer içeren preparatlardır. Hassas dozlama cihazlarının yakın zamanda geliştirilmesine kadar bu sisteme pek ilgi gösterilmemiştir. Bir nazal jelin avantajları arasında yüksek viskoziteye bağlı olarak post-nazal damlamayı azaltması, azaltılmış yutma nedeniyle tat etkisinin azalması, formülasyonun anterior sızıntısının azalması, emolijan

eksipiyenler kullanarak tahriş azaltması ve mukozaya hedeflendirilmiş iletimi sayılabilmektedir (Jadhav ve ark., 2007).

#### **1.2.4. Burun Tozları**

Bu dozaj formu, etkin madde stabilitesinin sağlanamaması nedeniyle çözelti ve süspansiyon dozaj formları geliştirilemiyorsa tercih edilebilmektedir. Nazal toz halinde dozaj formlarının avantajları, koruyucu madde içermemesi ve formülasyonun üstün stabilitesidir. Bununla birlikte, toz formülasyonun uygunluğu, etkin maddenin ve/veya yardımcı maddelerin çözünürlüğüne, partikül boyutuna, aerodinamik özelliklerine ve burun tahrişine bağlıdır. Etkin maddenin lokal olarak uygulanması, bu sistemin bir başka avantajıdır, ancak burun mukozasının tahriş olması ve ölçülü doz olarak verilisindeki zorluklar, bilim adamları ve cihaz üreticilerinin üstesinden gelmesi gereken bazı zorluklardır (Jadhav ve ark., 2007).

#### **1.2.5. Yeni Yaklaşımlar**

Yeni yaklaşımlar arasında bulunan lipozomlar, mikroküreler veya nanopartiküller içeren burun formülasyonları birçok araştırma çabasının konusu olmuştur. Bu sistemler, etkin madde yanı sıra, nazal kavitede stabilizeyi, membran geçirgenliğini ve/veya retansiyon süresini iyileştirmek için enzimatik inhibitörler, nazal absorpsiyon arttırıcılar ve/veya mukoadezif polimerler içerebilmektedir. Bununla birlikte, bu formülasyonların etkin maddenin absorpsiyonunu, enkapsüle etkin maddenin mukoz membrandan transportu vasıtasıyla mı yoksa sadece etkin maddenin nazal retansiyonu ve stabilitesini iyileştirdikleri için mi arttırdıkları tam olarak açıklanmamıştır (Bitter ve ark., 2011).

Bir diğer yeni yaklaşım ön ilaçlardır. i.n. uygulamada genellikle çözelti halinde veya absorpsiyondan önce bir çözünme sürecinden geçmesi gereken toz formülasyonlar halinde uygulanır. Lipofilik etkin maddeler biyolojik membranlardan

kolayca geçerler, ancak suda çok az çözünürler. Bu şekilde, uygun konsantrasyonda sulu bir nazal formülasyonun üretilmesini mümkün kılmak için daha yüksek hidrofilik karaktere sahip bir ön ilaç olarak uygulanmaları gerekebilir. Kan dolaşımına girdikten sonra, ön ilaç hızla ana etkin maddeye dönüştürülür. Kao ve ark. (2000), çeşitli L-Dopa ön ilaçları üretmiş ve bunların çözünürlüğünün ana etkin maddeye kıyasla önemli ölçüde arttığını ve dolayısıyla yeterli nazal formülasyonların geliştirilmesine izin verdiğini gözlemlemiştir. Buna karşılık çok hidrofilik polar etkin maddeler biyolojik membranları geçme yeteneğine sahip olmayabilir. Bu nedenle, daha yüksek lipofilik karaktere sahip ön ilaçlar olarak uygulanmaları halinde membrandan penetrasyon artırılabilir. Bazı araştırmacılar, etkin maddelerin enzimatik stabilitesini geliştirmek için ön ilaç yaklaşımını da kullanmışlardır. Örneğin, asiklovirin L-aspartat- $\beta$ -ester ön ilacının, ana etkin maddeden daha yüksek permeabiliteye sahip olduğu ve enzimatik hidrolize karşı duyarlılığının daha az olduğu belirtilmiştir (Kushwaha ve ark., 2011). Ana etkin maddelerin çözünürlüğünü artırmak için ön ilaçların kullanımına alternatif bir yaklaşım, yardımcı çözücülerin kullanılmasıdır. i.n. formülasyonlarda en çok kullanılan yardımcı çözücüler arasında gliserol, etanol, propilenglikol ve polietilen glikol bulunur ve toksik olmadıkları, farmasötik olarak kabul edilebilir oldukları ve burun mukozasını tahriş etmedikleri için tercih edilmektedirler (Kushwaha ve ark., 2011).

Nazal mukozada çeşitli enzimler bulunduğundan, nazal yolla etkin madde absorpsiyonunda bu enzimler enzimatik bariyerler olarak görev yapmaktadır. Proteazların ve peptidaz inhibitörlerinin kullanımı dahil olmak üzere enzimatik bozunmayı önlemek için çeşitli yaklaşımlar değerlendirilmiştir. Örneğin, aminopeptidaz inhibitörleri olarak bestatin ve amilaz ve muhtemelen kalsitoninin parçalanmasında rol oynayan tripsin inhibitörleri olarak löpeptin ve aprotinin kullanılmıştır (Kushwaha ve ark., 2011). Enzimatik inhibisyon, belirli absorpsiyon arttırıcılar kullanılarak da elde edilebilir. Bir absorpsiyon arttırıcı olan disodyum EDTA'nın, Alzheimer hastalığının tedavisi için kullanılan peptidin enzimatik bozunmasını azalttığı gösterilmiştir (Kushwaha ve ark., 2011). Küçük ve büyük hidrofilik etkin maddeler, nazal epitel boyunca zayıf permeabilite ve yetersiz biyoyararlanım gösterebilmektedir. Bu etkin maddelerin permeabiliteleri, epitelyal

bariyerin yapısında tersine çevrilebilir değişiklikleri indükleyen absorpsiyon arttırıcılarla kombinasyon halinde uygulanarak iyileştirilebilmektedir. Özellikle potansiyel nazal ve sistemik toksisite açısından kolayca emilmeyen nazal yolla verilen bir etkin madde için bir absorpsiyon arttırıcı seçiminin dikkatlice düşünülmesi büyük önem taşımaktadır (Illum ve ark., 2003).

Nazal yol, etkin maddelerin burundaki olfaktör nöroepitelyumdan emilimi yoluyla beyne iletilmesi için umut vericidir. Etkin maddenin burundan beyne transferinin olası yolları Illum (2000) tarafından açıklanmıştır. Bu strateji Alzheimer hastalığı, beyin tümörleri, epilepsi, ağrı ve uyku bozukluklarının tedavisi için önerilmektedir (Pires ve ark., 2009). Nazal mukoza aşılama yolu olarak son yıllarda ilgi görülen bir alan olmuştur. Ancak burun aşıları, iyi bir bağışıklık tepkisi elde etmek ve aynı zamanda lokal tahrişi ve diğer olası olumsuz etkileri önlemek için özel olarak formüle edilmeli ve optimize edilmelidir. Nazal aşıların potensini arttırmak için, Toll benzeri reseptör ligandları, toksin bazı adjuvanlar veya sitokinler gibi immünostimülatör moleküllerin formülasyona dahil edilmesi gerekir. Şu anda sadece çok az sayıda nazal aşı ürünü insan kullanımı için onaylanmıştır, bu da yeni etkili aşılarla yönelik ilerlemelerin hala yavaş olduğunu göstermektedir. Mukoadhezif polimerler, hücreye özgü hedefleme ligandları, adjuvanlar ve endozomal kaçış promotörleri gibi farklı işlevselliklerle donatılmış partiküllü antijen taşıyıcıların kullanımı dahil olmak üzere çeşitli hedefleme tekniklerini birleştiren uyumlu bir yaklaşım sonunda yeni nazal aşı ürünlerinin üretileceği düşünülmektedir (Bitter ve ark, 2011).

### **1.3. Nazal Sprey Formülasyonlarında Kullanılan Yardımcı Maddeler**

Nazal sprej formülasyonlarında çok sayıda yardımcı madde kullanılmaktadır. Bu yardımcı maddelerin seçiminde öncelikle bu formülasyonun sistemik mi yoksa lokal etki için mi geliştirileceği bilgisidir. Buna göre sistemik dolaşıma geçiş için nazal mukozadan absorpsiyon hızı ve nazal mukozada kalış zamanı gibi faktörler, formülasyonun geliştirilmesinde önemli olacaktır. Sprej tipinde çözelti ve süspansiyonlarda kullanılan yardımcı maddeler, formülasyonlarda kullanım amaçları

ve nazal uygulama için Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Gıda ve İlaç Dairesi İnaktif Bileşen Kılavuzu (FDA IIG) kullanım miktarları Çizelge 1.4'te verilmekte ve aşağıdaki başlıklar altında anlatılmaktadır.

**Çizelge 1.4.** Nazal sprey formülasyonlarında kullanılan yardımcı maddeler, kullanım amaçları ve FDA-IIG kullanım miktarları

| Formülasyonda Kullanım Amacı | Yardımcı Maddeler                      | Nazal yol için Yardımcı Madde Kılavuz (IIG) limiti (%a/a) |
|------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Tonisite Ajanı               | Dekstroz Anhidr                        | 0,5                                                       |
|                              | Sodium Klorür                          | 1,9                                                       |
| pH Ayarlama Ajanı            | Hidroklorik Asit                       | Raporlanmamıştır.                                         |
|                              | Sodyum Hidroksit                       | 0,004                                                     |
|                              | Sülfürik Asit                          | 0,4                                                       |
| Koruyucu                     | Benzil Alkol                           | 0,0366                                                    |
|                              | Benzalkonyum Klorür                    | 0,119                                                     |
|                              | Klorobütanol                           | 0,5                                                       |
|                              | Metil Paraben                          | 0,7                                                       |
|                              | Propil Paraben                         | 0,3                                                       |
| Tampon Ajanı                 | Trisodyum Sitrat Anhidr                | 0,0006                                                    |
| Yüzey Aktif Madde            | PEG 400                                | 20                                                        |
|                              | PEG 3500                               | 1,5                                                       |
|                              | Polioksil 400 Stearat                  | 15                                                        |
|                              | Polisorbat 20                          | 2,5                                                       |
|                              | Polisorbat 80                          | 10                                                        |
| Süspansiyon Ajanı            | Karboksi Metil Selüloz                 | 2                                                         |
|                              | Sodyum Karboksi Metil Selüloz          | 0,15                                                      |
|                              | Mikrokristal selüloz                   |                                                           |
| Antioksidan                  | Beta-hidroksi anisol                   | 0,0002                                                    |
|                              | Beta-hidroksi toluen                   | 0,01                                                      |
| Kasyon Şelasyon Ajanı        | Disodyum Etilendiamin tetraasetik asit | 0,5                                                       |
| Yardımcı-Çözücü              | Alkol                                  | 2                                                         |
|                              | Polietilen glikol 400                  | 20                                                        |
|                              | Propilen Glikol                        | 20                                                        |
| Nemlendirici                 | Gliserin                               | 0,233                                                     |
| Penetrasyon Arttırıcı        | Oleik Asit                             | 0,132                                                     |

### 1.3.1. Tamponlar

Nazal formülasyonlar genellikle 25 ila 200 µL arasında değişen küçük hacimlerde uygulanmaktadır ve 100 µL en yaygın doz hacmidir. Bu nedenle, nazal sekresyonlar uygulanan dozun pH'sını değiştirebilmektedir. Bu, absorpsiyon için mevcut olan noniyonize etkin maddenin konsantrasyonunu etkileyebilmektedir. Bu nedenle, pH değerini korumak için yeterli bir formülasyon tampon kapasitesi gerekebilmekte ve tampon ilavesi gerekebilmektedir (Chhajed ve ark., 2011).

### 1.3.2. Çözücüler

Etkin maddenin suda çözünürlüğü, çözelti içinde nazal etkin madde uygulaması için her zaman bir sınırlamadır. Glikoller, küçük miktarlarda alkol, transkutol (dietilen glikol monoetil eter), orta zincirli gliseritler ve labrasol (doymuş poliglikolize C8-C10 gliserit) gibi geleneksel çözücüler veya yardımcı çözücüler, etkin maddelerin çözünürlüğünü arttırmak için kullanılabilir. Diğer seçenekler, lipofilik absorpsiyon arttırıcılarla kombinasyon halinde biyolojik olarak uyumlu bir çözücü ve stabilizatör görevi gören hidroksipropil- $\beta$ -Siklodekstrin veya siklodekstrinlerin kullanımını içermektedir. Bu gibi durumlarda burun irritasyonu üzerindeki etkileri göz önünde bulundurulmalıdır (Chhajed ve ark., 2011).

### 1.3.3. Koruyucular

Nazal formülasyonların çoğu su bazlıdır ve mikrobiyal üremeyi önlemek için koruyuculara ihtiyaç duyulmaktadır. Parabenler, benzalkonyum klorür, fenil etil alkol, EDTA ve benzoil alkol, nazal formülasyonlarda yaygın olarak kullanılan koruyuculardan bazılarıdır. Koruyucular uzun süredir kullanılmaktadır fakat bazı sınırlamaları vardır. Bunlar, özellikle çocuklarda burun mukozası üzerindeki olumsuz etkileri ve koruyucuların uzun süreli kullanımdan sonra rahatsızlığa, tahrişe ve diğer yan etkilere neden olma potansiyelini içermektedir. Bazı durumlarda koruyucular, nazal mukusun eliminasyonunu değiştirerek (burun enfeksiyonu vakalarında) ve üst solunum yollarını korumak için temel bir doğal mekanizma olan mukosiliyer klirensi yavaşlatarak ve hatta durdurarak nazal kavitedeki kirpikleri etkilemektedir. Pek çok incelemede, koruyucuların kullanımıyla ilişkili advers olaylar araştırılmıştır. Avrupa, Latin Amerika ve daha yakın zamanda Japonya'daki üreticiler, koruyucu maddeleri elimine ederek nazal ürünlerini yeniden formüle etmeyi düşünmeye başlamışlardır. FDA hala koruyucuların kullanımına izin verse de üreticileri aktif olarak koruyucu içermeyen teknikleri kullanmaya teşvik etmeye başlamıştır (Ehrick ve ark., 2013).

#### **1.3.4. Antioksidanlar**

Etkin madde oksidasyonunu önlemek için antioksidan kullanımı gerekebilmektedir. Yaygın olarak kullanılan antioksidanlar, sodyum metabisülfite, sodyum bisülfite, bütill hidroksitoluen ve tokoferoldür. Genellikle, antioksidanlar etkin madde absorpsiyonunu etkilememekte veya burun tahrişine neden olmamaktadır. Antioksidanlar ve koruyucuların etkin maddeler, yardımcı maddeler, üretim ekipmanı ve ambalaj bileşenleri ile kimyasal/fiziksel etkileşimi, formülasyon geliştirme programının bir parçası olarak düşünölmelidir (Chhajed ve ark., 2011).

#### **1.3.5. Nemlendiriciler**

Birçok alerjik ve kronik hastalık genellikle kabuklanma ve mukoza zarının kuruması ile bağlantılıdır. Belirli koruyucular özellikle yüksek miktarlarda kullanıldığında burun tahrişine neden olabilmektedir. Dehidrasyonu önlemek için yeterli burun içi nem gereklidir. Bu nedenle özellikle jel bazlı nazal ürönlere nemlendiriciler eklenmektedir. Bu maddeler burun tahrişini önlemektedir ve absorpsiyon üzerinde etkileri bulunmamaktadır. Yaygın olarak kullanılan nemlendiriciler arasında gliserin, sorbitol ve mannitol sayılabilir (Chhajed ve ark., 2011).

#### **1.3.6. Yüzey Aktif Maddeler**

Yüzey aktif maddelerin (YAM) nazal dozaj formlarına dahil edilmesi, nazal membranların geçirgenliğini değıştirebilmekte ve etkin maddenin nazal absorpsiyonunu kolaylaştırabilmektedir (Chhajed ve ark., 2011; Chaudry ve ark., 2011). Salmon kalsitoninin i.n. olarak verilmesinin karşılaştırmalı farmakokinetiğı çeşitli YAM'ler varlığında çalışılmıştır. YAM'ler içeren formülasyonlarda YAM içermeyen kontrol grubuna göre serum kalsitonin seviyelerinde yaklaşık on kat artış gözlenmiştir

(Jassim ve ark., 2018). Ayrıca YAM'ler bir süspansiyon formülasyonunda katı maddelerin su ile ıslanabilirliğini ve böylece dispersiyonunun sağlamaktadır.

#### **1.3.7. Biyoadeziv Polimerler**

Bir polimer malzemenin biyoadeziv kuvveti, polimerin doğasına, çevreleyen ortama (pH), şişmeye ve fizyolojik faktörlere bağlıdır. Nazal formülasyonlarda kullanılan bazı biyoadeziv polimerlere; karbopol, sodyum karboksimetilselüloz, hidroksipropil selüloz, hidroksipropilmetil selüloz, hidroksipropil etil selüloz, metil selüloz, sodyum hyaluronat, guar zankı, sodyum aljinat, nişasta, dekstran, kitosan örnek verilebilir.

#### **1.3.8. Jelleştirici Ajanlar**

Pennington ve ark. (1988) tarafından yapılan bir araştırmaya göre çözelti viskozitesinin artırılması, nazal preparatların terapötik etkisini uzatmanın bir yolunu sağlayabilmektedir. Suzuki ve ark. (1999), hidroksipropil selüloz gibi bir jelleştirici ajanın, düşük moleküler ağırlıklı etkin maddelerin absorpsiyonunu geliştirmek için etkili olduğunu, ancak yüksek moleküler ağırlıklı peptitler için aynı etkiyi oluşturmadığını göstermiştir.

#### **1.3.9. Absorpsiyon Arttırıcılar**

Kimyasal penetrasyon arttırıcılar, nazal etkin madde absorpsiyonunun artırılması için yaygın olarak kullanılmaktadır. Penetrasyon arttırıcıların mekanizması aşağıdaki gibidir;

- Hücre zarı geçirgenliğini arttırmak,
- Sıkı bağlantıların açılması,

- Yüklü etkin maddelerin iyon çifti oluşturarak lipofilikliğini arttırmak,
- Proteolitik aktiviteyi inhibe etmek.

Kimyasal penetrasyon arttırıcıların sınıflandırılması şu şekildedir:

1. Çözücüler
2. Alkil metil sülfoksitler
3. Pirolidonlar
4. 1-Dodesil azasikloheptan-2-on
5. Yüzey aktif Maddeler

Etkin maddeler epitel hücrelerini basit konsantrasyon gradyanına dayanan transselüler yolla, reseptör aracılı veziküler taşıma mekanizmalarıyla ya da hücreler arasındaki sıkı bağlantılardan geçen paraselüler yolla geçebilmektedir. Sıkı bağlantılar dinamik yapılardır ve gerektiğinde belirli bir dereceye kadar açılıp kapanabilmelerine rağmen, bu kanalların ortalama boyutu 10 Å'den küçüktür ve daha büyük moleküllerin taşınması oldukça sınırlıdır. Peptitler ve proteinler gibi büyük polar etkin maddelerin nazal absorpsiyonu, absorpsiyon arttırıcı ajanların birlikte uygulanmasıyla büyük ölçüde iyileştirilebilmektedir. Genellikle İN absorpsiyonu arttırmak için YAM'ler (polidokanol -laureth-9-, sodyum laurilsülfat), safra tuzları ve safra tuzu türevleri (sodyum glikolat, sodyum deoksikolat, sodyum taurodihidrofusidat), yağ asitleri ve yağ asidi türevleri (linoleik asit), fosfolipidler (lizofosfatidilkolin, dipalmitoilfosfatidilkolin (DDPC)), çeşitli siklodekstrinler (dimetil-siklodekstrin, parenteral ve siklodekstrin) ve katyonik bileşikler (kitosan ve türevleri, poli-L-arginin, poli-L-lisin) kullanılan ajanlar arasındadır. Absorpsiyon arttırıcı bu maddeler, fosfolipid çift katmanları değiştirerek epitelyal hücre tabakasının geçirgenliğini modifiye etmektedir. Bu maddelerden bazıları ayrıca sıkı bağlantılar üzerinde bir etkiye de sahiptir ya da enzimatik degradasyon inhibitörleri olarak çalışmaktadır. Ancak potansiyel nazal ve sistemik toksisite açısından, absorpsiyon arttırıcı maddelerin seçiminin dikkatle değerlendirilmesi büyük önem taşımaktadır (Turker ve ark., 2004).

Çalışmamızda süspansiyon formunda lokal etkili nazal formülasyonların geliştirilmesinde aşağıdaki yardımcı maddeler kullanılmıştır:

Dekstroz: Tonisiteyi ayarlamak için kullanılmıştır.

Mikrokristalize Selüloz (MCC) ve Karmelloz Sodyum (Na-CMC) (Avicel® RC-591): Bu suda disperse olabilir organik hidrokolloid, MCC ve Na-CMC'nin püskürtülerek kurutulmuş bir karışımıdır. Kolloidal MCC yapılandırılmış bir dispersiyon oluşumu sağlarken Na-CMC dispersiyonu kolyaştırmakta ve koruyucu bir kolloid olarak rol oynamaktadır. Farmasötik ve kozmetik formülasyonlarda süspande edici olarak uygun tiksotropik jeller üretmek için kullanılmaktadır (Zhao ve ark., 2011). %1,0'dan az katı konsantrasyonları sıvı dispersiyonlar oluştururken %1,2'den fazla katı konsantrasyonları tiksotropik jeller oluşturmaktadır. Kortikosteroid içeren burun sprelerinin sulu süspansiyonlarında da viskoziteyi oluşturmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Sulu çözeltide, MCC'nin mikrokristalleri, suda çözünür CMC zincirleriyle zayıf bir şekilde çapraz bağlanmakta ve bu iki bileşen, uzun, ipliksi polimer moleküllerinin birbirine dolanması yoluyla daha yüksek görünür viskozite sağlamaktadır. Bu zayıf ve geçici çapraz bağların oluşturduğu yapısal ağ, kayma etkisi uygulandığında polimer zincirlerinin birbirinden ayrılmasına karşı bir miktar direnç oluşturmaktadır. Bu zayıf kafes yapısı, sulu ortamda çok çözünmeyen kortikosteroid partiküllerinin süspande halde tutulmasına yardımcı olmaktadır. Süspansiyon kayma gerilimine maruz kaldığında, polimer zincirleri birbirinden ayrılmakta, daha yüksek kayma hızlarında süspansiyonun görünür viskozitesini azaltmaktadır. Kayma hızı tekrar düşürüldüğünde, çapraz bağlar yeniden oluşarak görünür viskoziteyi tekrar arttırmaktadır. Sulu bir ortamdaki MCC ve CMC'nin polimerik yapısal ağı zamana bağlı geri kazanım (tikotropi) sergilemektedir (Sharpe ve ark., 2003). Eccleston ve ark. (2015), Avicel® RC-591 kullanılan dört i.n glukokortikosteroidin reolojik özelliklerini değerlendirmiş ve triamsinolon asetonid, flutikazon propiyonat, mometazon furoat ve beklometazon dipropionate formülasyonlarında tiksotropik davranışı gözlemlemiştir (Koźmiński ve ark., 2015).

Polisorbat 80: Noniyonik bir YAM'dir. Suda çözünmeyen etkin maddenin sulu taşıyıcı içinde dispersiyonunu sağlamak için kullanılmıştır.

Benzalkonyum Klorür: Antimikrobiyal koruyucu, çözünürlük artırıcı ve YAM olarak sıvı formülasyonlarda kullanılmaktadır. Göz preparatlarında %0,01-0,02 (a/h) konsantrasyonda yer alır (Kolling ve ark., 2004). Çok dozlu ilaç sistemlerinde mikrobiyolojik olarak uygun bir ortamın sürdürülmesi, hasta güvenliği için temel bir zorluk teşkil eder. Böyle bir ortamın sağlanamaması, hastanın yaşamı tehdit eden ve sağlığı tehdit eden sonuçlara yol açabilecek mantar, bakteri ve viral patojenlerle aşılması riskini taşır (Hodges ve ark., 1996). 1935'ten beri klinik kullanımda olan ve 1982'den beri FDA tarafından koruyucu olarak kullanımı onaylanan Benzalkonyum klorür, koruyucu olarak etkin bir şekilde kullanılmaktadır (Marple ve ark., 2004).

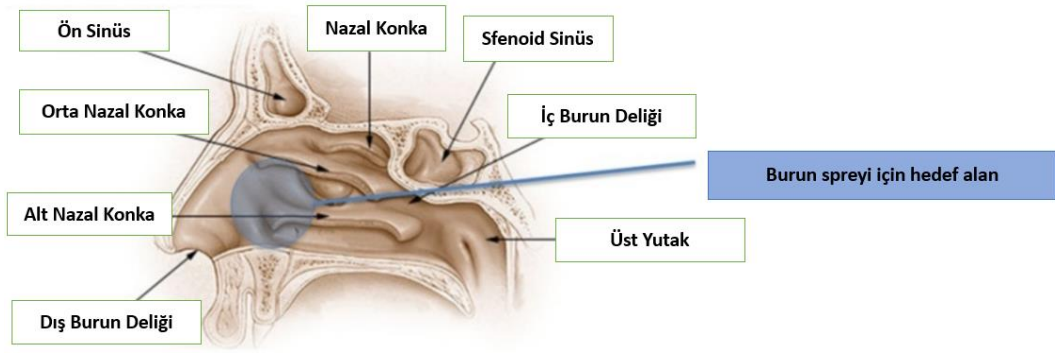
Disodyum EDTA: Edetik asit ve edetatlar çoğunlukla antioksidan sinerjisti olarak kullanılmaktadır. Ootooksidasyon reaksiyonlarını katalizleyen eser miktardaki metal iyonları (özellikle bakır, demir ve mangan) ile şelat oluştururlar. Bu özellikleri nedeniyle tek başlarına ya da gerçek antioksidanlarla kombine halde %0,005-0,1 (a/a) konsantrasyonda kullanılmaktadır. Edetik asit ve edetatlar çok zayıf antibakteriyel aktivite de gösterirler. Ancak sinerjist etkilerinden dolayı diğer antibakteriyel ajanlarla kombine halde kullanılırlar. Disodyum EDTA'nın başta benzalkonyum klorür olmak üzere pek çok antimikrobik koruyucunun aktivitesini artırdığı bildirilmiştir. Antimikrobik koruyucu sinerjisti olarak genel olarak %0,01-0,1 (a/a) konsantrasyonda kullanılırlar.

#### **1.4. Nazal Dozaj Formları İçin Uygulama Cihazları**

i.n. uygulama için çok sayıda cihaz mevcuttur. Cihazlar, iletim doğruluğu, doz tekrarlanabilirliği, maliyet ve kullanım kolaylığı açısından farklılık göstermektedir. Şu anda, en yüksek doz doğruluğu ve tekrarlanabilirliği sağlayan cihazlar ölçülü doz sistemleridir. Ayrıca uygulama, püskürtme modelleri ve yayılan damlacık boyutu

açısından da cihazlar arasında farklılıklar vardır. Bu zellikler, burun boşluğu içinde ilaç birikimi için son derece önemlidir. Buradaki zorluk, burnu atlayıp akciğerlere girebilen küçük partiküllerin fraksiyonunu sınırlarken birikmeyi optimize etmektir (Bitter ve ark., 2011).

i.n. uygulama için cihazlar oldukça karmaşıık olduğu kadar basit ve düşük maliyetli de olabilmekte ve çok sayıda seçenek sunmaktadır. Damlalıklardan, bir şıringaya takılacak pskrtclere, birim ve iki dozlu sistemler olarak adlandırılan sistemlerin yanı sıra sıvılar için çok dozlu çözümlere kadar uzanır. Bu geniş sistem yelpazesi, kişiye özel ambalajlamanın kapısını açmaktadır. Rekabet ortamında doğru çözümü bulmak için bazı hususlar vardır. Rahat ve güvenli kullanım ile ürün maliyetinin dengelenmesi gerekmektedir. Ayrıca seçilen cihaz için yüksek hızlı doldurma ve paketleme mevcudiyeti de değerlendirilmelidir. Sprey pompası performansı için verilen partikül boyutunun etkili nazal birikim için uygun olduğunu garanti etmelidir. Çoğu burun spreyi pompası için her bir aktivasyonda salıverilen hacim 50 ile 140  $\mu$ l arasında ayarlanmaktadır ve yetişkinlerde burun deliği başına 100  $\mu$ l uygulama hacmi optimumdur. Daha yüksek hacimler hemen dışarı akmaya eğilimlidir. Bu nedenle, her iki burun deliğine de püskürtüldüğünde, beklenen doz kabaca 100-200  $\mu$ l'lik bir hacme sığmalıdır. Standart spre pompaları, püskürtülen dozun çoğunu burun boşluğunun n bölgesine (şekil 1.7) bırakacaktır. Daha önce belirtildiği gibi, partikül boyutu en az 10 ila maksimum 150  $\mu$ m aralığında olmalıdır. 10  $\mu$ m'nin üzerindeki partikül boyutları, hiçbir ürünün akciğerlere geçmemesini ve burun boşluğuna çarpmasını sağlar. En iyi performansı sağlayabilmek için belirli bir dizi farklı pompa ile bu tür n uyumluluk testlerinin yapılması gerekmektedir (Chaudry ve ark., 2011; 48052).



Şekil 1.7. Nazal sprey uygulamalarında burun içinde hedef alan (Marx ve ark., 2015)

Nazal dozaj formları için, oldukça karmaşık olduğu kadar basit ve düşük maliyetli birçok ambalaj sistemi mevcuttur. Damlalıklardan, bir şırıngaya takılacak püskürtücülere, birim ve iki dozlu sistemler olarak adlandırılan sistemlerin yanı sıra sıvılar için çok dozlu çözümlere kadar geniş yelpazeye uzanır. Nazal dozaj formlarında kullanılan ambalaj materyalleri, uygun mekanik işlevi ve düşük kimyasal etkileşim olasılığını garanti etmek için üretici tarafından seçilir. Uygulamada, formülasyon ile sprey pompalarının parçaları arasındaki sorpsiyon veya şişmeye bağlı potansiyel etkileşimler engellenmeli veya önlenmelidir. Bu aşamada dikkate alınabilecek tipik testler, şişme veya renk bozulmasını tespit etmek için pompanın fonksiyonel parçalarının formülasyon içine daldırma testlerini içerir. Bu daldırma testinden elde edilen monte edilmiş pompalarla yapılan ilk testler, mekanik işlev üzerindeki potansiyel etkiler (örn. sürtünme, ölçüm) hakkında veri sağlayacaktır. Nazal dozaj formlarında kullanılan ambalajlara ait görseller Şekil 1.8’de ve ambalaj materyalleri ise Çizelge 1.5’te verilmektedir (Marx ve ark. 2015).



**Şekil 1.8.** Nazal dozaj formlarında kullanılan ambalaj örnekleri (Marx ve ark., 2015; Aptar Pharma)

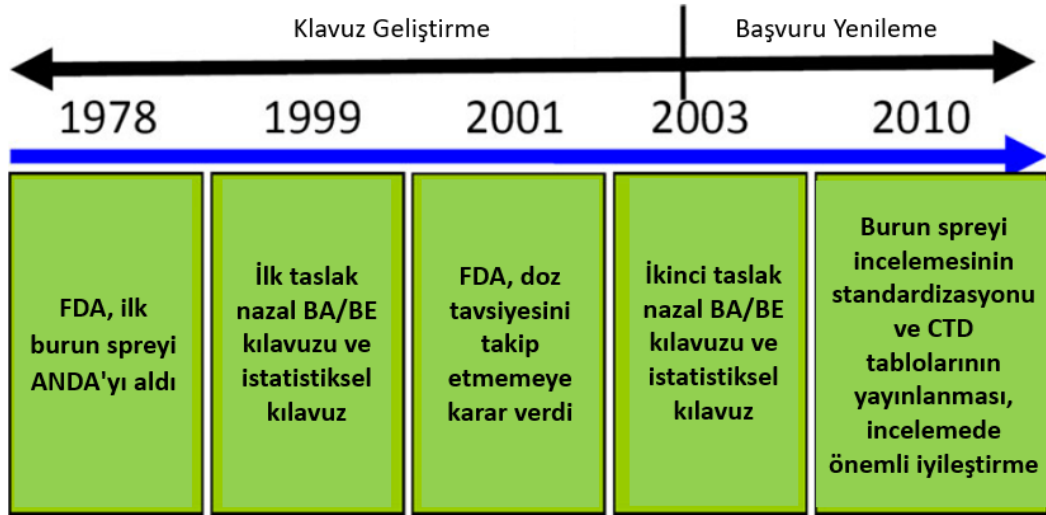
**Çizelge 1.5.** Nazal sprey sistemleri için kullanılan tipik malzeme sınıfları (Marx ve ark., 2015)

| Hammadde                 | Fonksiyonu                                                                       |
|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| Polietilen (PE)          | Pompanın fonksiyonel parçaları, aktüvatör ve parçaları, daldırma borusu, şişeler |
| Polipropilen (PP)        | Pompanın fonksiyonel parçaları, aktüvatör ve parçaları, daldırma borusu, şişeler |
| Polioksimetilen (POM)    | Fonksiyonel parçalar (formaldehit açığa çıkarabilir!)                            |
| Kauçuk veya elastomerler | Contalar, sızdırma önleyiciler, tıpa                                             |
| Paslanmaz çelik          | Valf mekanizması için yaylar, bilyeler                                           |
| Aluminyum                | Kıvrımlı bağlantılar için halkalar                                               |
| Cam                      | Valf mekanizmaları için şişeler, flakonlar, bilyeler                             |

### 1.5. Nazal Spreylerde İn Vitro Biyoeşdeğerlilik

Özellikle lokal olarak etkili nazal sprey ürünleri için biyoeşdeğerliliğin (BE) sağlanması, jenerik ilaç endüstrisi için uzun süredir devam eden bir zorluk olmuştur. 1978'de Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), jenerik tetrahidrozolin hidroklorür burun spreyi solüsyonu için ilk burun spreyi Kısaltılmış Yeni İlaç Uygulamasını (ANDA) almıştır. Şekil 1.9, burun spreyi/aerosol ürünleri BE standart geliştirme süreci ve uygulama inceleme geçmişi sırasındaki birkaç önemli kilometre taşını göstermektedir. Haziran 1999'da FDA tarafından Endüstri için ilk Taslak FDA Rehberi: Nazal Aerosoller ve Yerel Eylem için Nazal Spreyler için Biyoyararlanım ve Biyoeşdeğerlik Çalışmaları

(Kısaltılmış olarak Nazal BA/ BE Rehberi) FDA tarafından yayınlanmıştır. Bu taslak kılavuzla birlikte, Ocak 2001'de bir kardeş Kılavuz: Endüstri için FDA Kılavuzu: Biyoeşdeğerliliği Belirlemek için İstatistiksel Yaklaşımlar yayınlanmıştır. Taslak kılavuz, eşdeğer lokal salımı ispatlamak için doz-yanıt gösteren bir klinik BE çalışması önermiştir. Daha sonra lokal etki gösteren nazal sprej süspansiyon sprej için bu BE çalışmasının gerekli olup olmadığı konusu tartışılmıştır. Alerjik rinit için nazal sprej süspansiyon ürünlerinin farklı dozlarda hastalara uygulanmasından sonra elde edilen terapötik etkinlik verilerinden hareketle FDA mevcut teknoloji ve yöntemlerle birlikte, doz-yanıt ispatının alerjik rinit için lokal etkili ilaçlar için mümkün olmayabileceğini kabul etmiştir. Nisan 2003'te FDA, güncellenmiş Taslak Nazal BA/BE Rehberini yayınlanmıştır (Li ve ark., 2013).

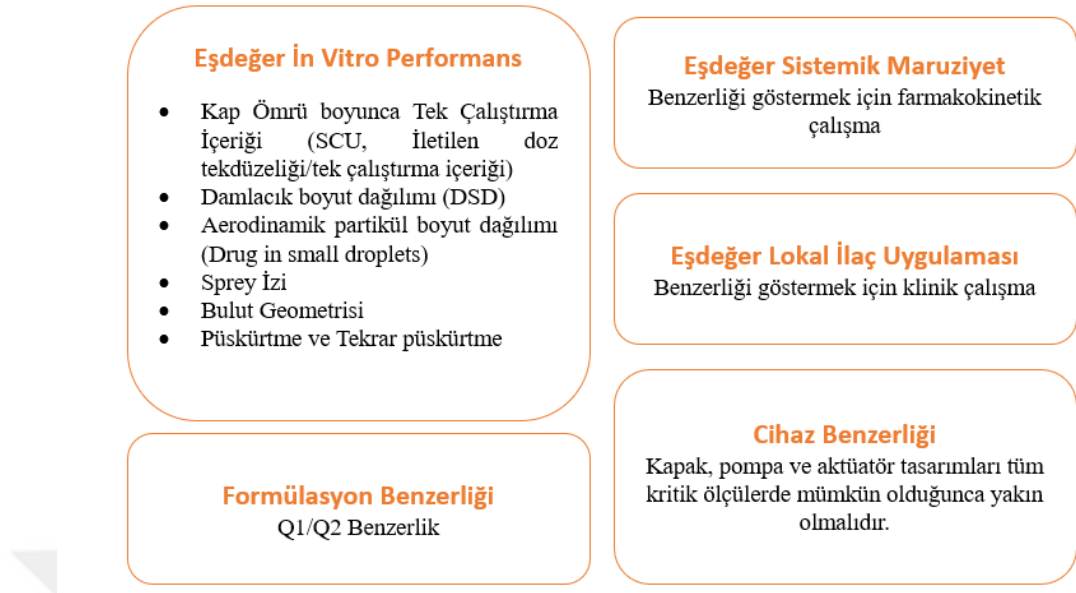


**Şekil 1.9.** Nazal sprej/aerosol ürünleri için BE standart geliştirme tarihindeki kilometre taşları (CTD “Ortak Teknik Belge”) (Li ve ark., 2013)

Lokal etkili nazal sprej/aerosol ürünleri için BE'nin gösterilmesi, sistemik dolaşımdaki etkin madde ile nazal etki bölgesine ulaşan etkin madde arasında iyi bir ilişki kurulamadığı için, çok zordur. Bu nedenle, ilaç/cihaz kombinasyon ürünleri için mevcut BE standardı, üç ana unsuru içeren bir ağırlıklı kanıt yaklaşımına dayanmaktadır: Eşdeğer in vitro performans, eşdeğer sistemik maruziyet ve eşdeğer lokal salım. Ayrıca formülasyon aynılığı ve cihaz benzerliği BE'yi destekleyen kanıtlardır. İn vitro karşılaştırmalı çalışmalar tek başına farklı bir yardımcı maddenin

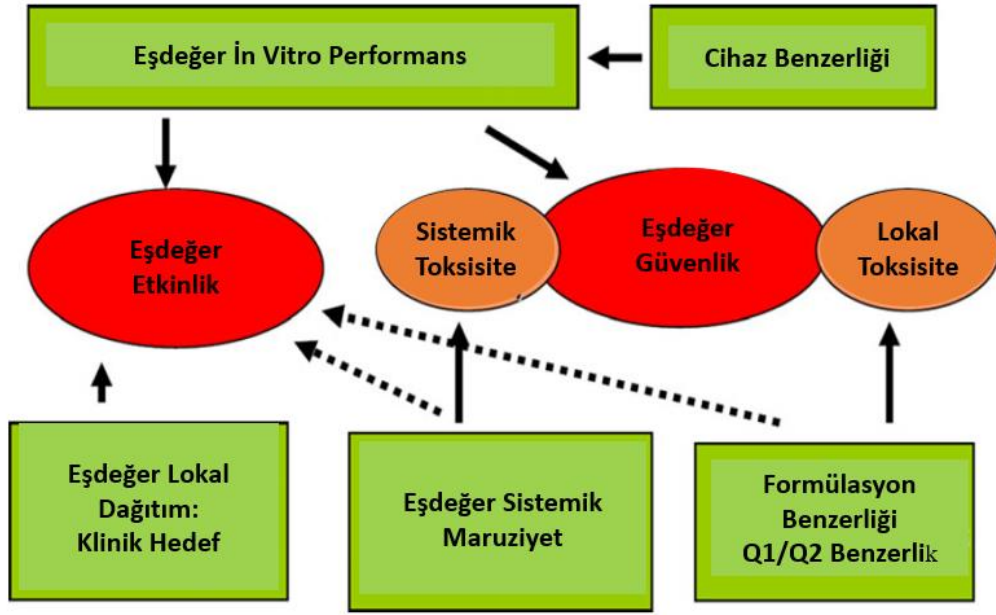
ilacın etkinliği üzerindeki etkisini değerlendiremediğinden, formülasyon aynılığı, yani test ürünü formülasyonundaki aktif olmayan bileşenlerin kalitatif (Q1) ve kantitatif (Q2) aynı olması gerekmektedir. (Li ve ark., 2013).

Geliştirme aşamasında nazal ilaç ürünlerinin in vitro karakterizasyonu ile birlikte kalite kontrol ve BA/BE çalışmaları için FDA yanısıra Avrupa İlaç Ajansı (EMA) da kılavuzlar yayınlamıştır: ‘Guidance, Draft. "Bioavailability and bioequivalence studies for nasal aerosols and nasal sprays for local action." Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD (2003); ‘Guideline On The Pharmaceutical Quality Of Inhalation And Nasal Products’. Bu kılavuzlarda mekanik sıvı sprej pompalarının ve basınçlı ölçülü doz inhalerlerinin in vitro tekrarlanabilirliği, aerosol bulut özelliklerinin doğruluğu ve doz homojenliği gibi fiziksel özelliklerin in vitro testleri ayrıntılı olarak açıklanmıştır (Djupesland ve ark., 2013). Nazal sprej süspansiyon ürünlerinin BE’si için mevcut FDA tavsiyeleri Şekil 1.10’da verilen unsurların bir bileşimi olan bir ağırlıklı kanıt yaklaşımına dayanmaktadır (Li ve ark., 2013). İn vitro çalışmalara dayalı eşdeğer in vitro performans, bir farmakokinetik çalışma ve eşdeğer sistemik maruziyetin gösterildiği farmakodinamik çalışma veya klinik çalışma ile desteklenebilir. Ek olarak, formülasyon aynılığı ve cihaz benzerliği, biyoeşdeğerliği desteklemek için ek kanıt işlevi görmektedir.



**Şekil 1.10.** Lokal etkili nazal sprey süspansiyonlarının biyoeşdeğerliğini desteklemek için ağırlıklı kanıt yaklaşımı (Li ve ark., 2013)

Kanıt ağırlıklı yaklaşımının bilimsel gerekçesi Şekil 1.11’de gösterilmektedir. Formülasyon ve ürünün takdim edildiği cihazın bileşimi burun spreyi ürünü için, iletilen doz, damlacık gibi kritik parametreler dahil olmak üzere in vitro performansının sağlanması önemlidir. Çünkü, bu tür bir in vitro performans, birikme konumu, birikme alanı ve etkin maddenin burunda kalma süresi dahil olmak üzere birikim profilini etkileyebilir, böylece etki bölgesinde emilen etkin madde miktarına ve sistemik dolaşıma etki edebilir. Bu nedenle, lokal olarak etkili bir nazal süspansiyon için etkinlik ve güvenlikteki eşdeğerliği desteklemek için eşdeğer in vitro performans esastır.



Şekil 1.11. Kanıt ağırlığı yaklaşımının bilimsel gerekçesi (Li ve ark., 2013)

Bununla birlikte, in vitro testlerin sınırlamaları vardır. Örneğin, bir süspansiyon formülasyonu birden fazla süspande halde olan madde içeriyorsa, mevcut partikül boyutlandırma teknolojileri etkin maddenin partiküllerini süspande haldeki diğer maddenin partiküllerinden yeterince ayırt edemez, dolayısıyla partikül büyüklüğü dağılımını (PSD) karakterize edemez. Süspansiyon formülasyonlarındaki etkin madde PSD'si, etkin maddenin nazal etki bölgelerine ve sistemik dolaşıma ulaşma hızı ve derecesini etkileme potansiyeline sahiptir (Li ve ark., 2013).

Formülasyon aynılığı, genel bir nazal sprey süspansiyon formülasyonunda kullanılan aktif olmayan bileşenlerden kaynaklanan beklenmedik lokal toksisite potansiyel olarak önleyecektir. Cihaz benzerliği, in vitro eşdeğerlik oluşturma olasılığını artırmanın yanı sıra hastaların ellerinde jenerik ürünlerinin değiştirilebilirliğini ele almak için önerilir. Her şeyden önce, kanıtın ağırlığı yaklaşımındaki unsurlar ya eşdeğer etkinliği ya da eşdeğer güvenliği destekler. Bu toplu kanıtlar birlikte, jenerik bir ürünün referans ürün kadar güvenli ve eşit derecede etkili olduğunu desteklemek için yeterli kanıt oluşturur.

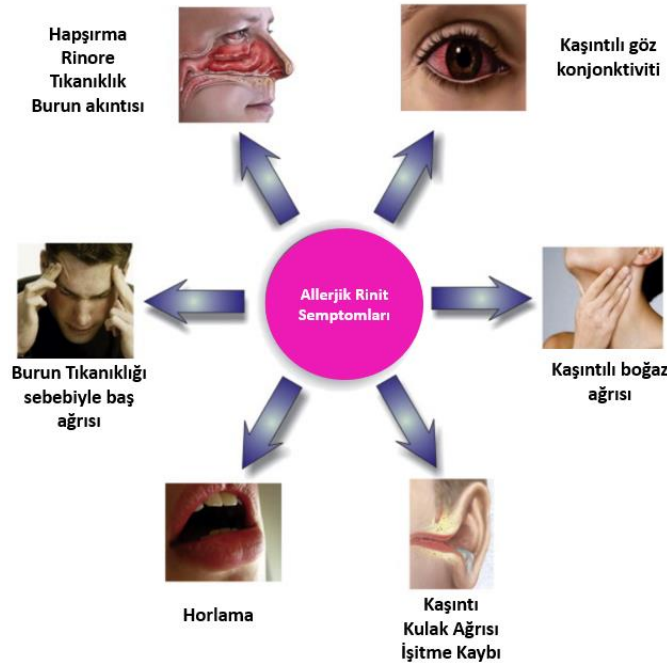
Nazal sprey ve aerosol ürünlerinin in vitro performansının eşdeğerliği, popülasyon biyoeşdeğerliği (PBE) analizi kullanılarak değerlendirilebilmektedir. PBE yaklaşımı, popülasyondaki ölçünün toplam değişkenliğini belirlemektedir. Yakın zamanda FDA, in vitro performans BE değerlendirmesinde kullanılan PBE için aşamalı bir hesaplama prosedürü geliştirmiş ve bunu kamuya açık internet sitesinde yayınlamıştır (FDA, 2013). Sistemik maruziyet için, biyoeşdeğerlik genel olarak ortalama biyoeşdeğerlik analizi kullanılarak değerlendirilebilmektedir.

Popülasyon Biyoeşdeğerliği (PBE), ağızdan solunan nazal dozaj form (OINDP)'ların birçok in vitro BE değerlendirmesi için anahtar istatistiksel yaklaşım olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Nazal ilaç ürünleri için, nazal BA/BE kılavuzu taslağı tarafından önerilen altı in vitro BE çalışmasından 4'ü PBE kullanılarak değerlendirilmektedir (Li ve ark., 2011). Coğrafi bölgeye bağlı olarak farklı metodolojiler uygulanmaktadır. Örneğin, Avrupa Birliği'nde (AB) EMA ortalama biyoeşdeğerlik testinin (ABE) kullanılmasını tavsiye ederken, ABD'de FDA PBE testinin kullanılmasını önermektedir (Bodin ve ark., 2020).

ABE, 1987 yılında Schuirmann tarafından geliştirilen iki tek taraflı t-testine (TOST) dayanmaktadır. Yöntem, ortalama farkın %90 güven aralığını hesaplayarak, referans ve test ortalamaları (aritmetik veya geometrik) arasındaki farkı önceden ayarlanmış bir eşdeğerlik sınırı,  $\theta$ , ABE ile karşılaştırmaktan oluşur. ABE uygulamasından önce veri dağılımına bağlı olarak (örneğin, AUC ile) bir günlük dönüşümü uygulanabilir. PBE sistematik olarak verilere bir log dönüşümü uygular ve iki geometrik ortalama arasındaki farkı referans ürün üzerindeki değişkenliğe göre ölçekler. Ayrıca, PBE,  $\sigma^2_T - \sigma^2_R$  varyans farkının hesaplanması yoluyla asimetric bir formüle neden olur. Bu nedenle, referans ürün değişkenliği düşükse PBE, ABE'den daha kısıtlayıcıdır. Tersine, referans değişkenliği yüksekse PBE, ABE'den daha az kısıtlayıcıdır, hatta test ürünü değişkenliği referans ürününden daha düşükse daha da kısıtlayıcıdır (Bodin ve ark., 2020).

## 1.6. Alerjik Rinit

Alerjik rinit (AR), hapşıırma, burun tıkanıklığı, burun kaşıntısı ve rinore (burun akıntısı) ile karakterizedir ve inhale alerjenlere karşı immünoglobulin E (IgE) aracılı reaksiyonlardan kaynaklanmaktadır (Bousquet ve ark.). Şekil 1.12’de alerjik rinit semptomları verilmiştir (Revapharma, 2022). Yaşam kalitesini ve üretkenliği etkileyebilen ve ayrıca astım gibi diğer durumları alevlendirebilen bir hastalıktır (Sur ve ark., 2010). Alerjik rinit hem ABD’de hem de Avrupa’da yetişkinlerin %20 ila %30’unu ve çocukların %40’ını etkilemektedir (Hoyte ve ark., 2018). Avrupa’da 100 milyon ve dünya çapında 400 milyon hastalık oranı ile en yaygın kronik hastalıklardan biridir (Struß ve ark., 2020). Genellikle uzun süre devam eden bir durumdur. Alerjik rinitin klasik semptomları burun tıkanıklığı, burun kaşıntısı, burun akıntısı ve hapşıırmadır. Alerjik rinit için tedavi hedefi semptomların giderilmesidir. Bu amaca ulaşmak için mevcut terapötik seçenekler, kaçınma önlemleri, oral antihistaminikler, intranazal kortikosteroidler, lökotrien reseptör antagonistleri ve alerjen immünoterapisini içermektedir (Small ve ark., 2011). İkinci nesil oral antihistaminikler ve intranazal kortikosteroidler tedavinin temelidir (Small ve ark., 2011; Waddell ve ark., 1999). Çizelge 1.6’da yaklaşık tercih sırasına göre tedavi listesi bulunmaktadır (Sur ve ark., 2010).



Şekil 1.12. Alerjik rinit semptomları (Revapharma, 2022)

**Çizelge 1.6.** Alerjik rinit için semptom bazlı tedaviler (Sur ve ark., 2010)

| SEMPTOMLAR                                               |        |                       |          |                |
|----------------------------------------------------------|--------|-----------------------|----------|----------------|
| Tedavi                                                   | Oküler | Nazofaringeal kaşıntı | Hapşurma | Burun akıntısı |
| İntranazal kortikosteroidler                             | √      | √                     | √        | √              |
| Oral ve intranazal antihistaminikler                     |        | √                     | √        | √              |
| İntranazal kortikosteroid ve antihistaminik Kombinasyonu | √      | √                     | √        | √              |
| Oral ve intranazal dekonjestanlar                        |        |                       |          | √              |
| i.n. kromolin                                            |        | √                     | √        | √              |
| i.n. Antikolinerjikler                                   |        |                       |          | √              |
| Lökotrien reseptör antagonistleri                        | √      |                       | √        | √              |
| İmmünoterapi                                             | √      | √                     | √        | √              |

### 1.7. Alerjik Rinit Tedavisinde Kortikosteroid Gruplarının Kullanımı

İntranazal kortikosteroidler hafif kalıcı veya orta/şiddetli semptomları olan hastalar için birinci basamak tedavi seçenekleridir ve tek başına veya oral antihistaminiklerle birlikte kullanılabilirler. Düzenli ve doğru kullanıldığında i.n. kortikosteroidler, nazal mukoza iltihabını etkili bir şekilde azaltmakta ve mukozal patolojiyi iyileştirmektedir. Çalışmalar ve meta-analizler, intranazal kortikosteroidlerin, burun tıkanıklığı ve rinore dahil olmak üzere alerjik rinit semptomlarının kontrolünde antihistaminikler ve lökotrien reseptör antagonistlerinden üstün olduğunu göstermiştir (Small ve ark., 2011). i.n. kortikosteroidlerin klinik etkisinin oral antihistaminiklere göre üstünlüğünü araştıran çalışmalar yürütülmüş ve üstünlükleri kanıtlanmıştır. Alerjik rinit tedavisinde i.n. kortikosteroidler ve oral antihistaminiklerin etkinliğini karşılaştıran 16 randomize kontrollü çalışmanın meta analizi, nazal semptomların giderilmesinde i.n. steroidlerin daha etkili olduğunu göstermiştir (Waddell ve ark., 2003). Bir gün boyunca burun, çok sayıda hareket ve zorlukla karşı karşıya kalmaktadır. Nazal mukusun reolojik ve immünolojik özellikleri, nazal homeostazın korunmasına katkıda bulunmakta ve lokal partikül saldırılarından hem koruma hem de temizleme görevi yapmaktadır (Verret ve ark., 2005). Dış epitelyal yüzeylerde topikal kortikosteroid preparatlarının kronik kullanımına yanıt olarak atrofik değişiklikler belgelenmiştir (Waddell ve ark., 2003). Steroid grubu etkin maddelerden kaynaklı mukozanın daralması endişesi, topikal i.n. steroid spreyleerin kullanıma sunulmasından sonra başlayan çalışmalarda (i.n. steroidlerin uzun vadeli güvenliği ile ilişkili) incelenmiş ve bu endişe ortadan

kalkmıştır. Yapılan çalışmalar, uzun süreli steroid maruziyetinden sonra nazal mukozanın yapısal bütünlüğünün histolojik olarak korunduğunu ve birçoğunun lokal iyileşme belirtilerinde olumlu sonuçlar alındığını göstermiştir (Verret ve ark., 2005).

Şu anda ABD’de beklometazon dipropionat, budesonid, flunisolid, flutikazon propiyonat, mometazon furoat ve triamsinolon asetonid dahil olmak üzere birçok i.n. kortikosteroid kullanılmaktadır (Benninger ve ark., 2003). Beklometazon, budesonid, siklesonid, flutikazon propiyonat, flutikazon furoat, mometazon furoat ve triamsinolon asetonid gibi i.n. kortikosteroidler, kalıcı veya orta ila şiddetli semptomları olan hastalar için birinci basamak tedavi seçenekleridir. i.n. kortikosteroidler (INCS) sistemik olarak emilmez; bu nedenle, sistemik yan etkiler yoktur. En yaygın INCS yan etkileri, nazal tahriş, batma ve burun kanaması gibi lokaldir ve genellikle spreyi nazal septumdan biraz uzağa yönelterek önlenebilir. Uzun süreli INCS kullanımı nazal mukozaya zarar vermez veya glokoma neden olmaz (Bousquet ve ark., 2020). Çalışmamızda alerjik rinit tedavisi için formülasyonların geliştirilmesinde flutikazon furoat etkin maddesi kullanılmıştır.

### **1.8. Flutikazon Furoat**

Alerjik rinit (AR), büyük morbiditesi olan, önemli toplumsal ve ekonomik yükleri olan yaygın bir hastalıktır. Özellikle burun tıkanıklığı semptomların ana bileşeni olduğunda, orta-şiddetli hastalığı olan hastalarda ilk seçenek tedavi olarak intranazal kortikosteroidler önerilir. Mevcut intranazal kortikosteroidler halihazırda oldukça etkili olmalarına rağmen, daha iyi etkinlik/güvenlik profiline sahip daha fazla geliştirilmiş formülasyonların sunulması her zaman arzu edilir. Flutikazon furoat, afinitesi artırılmış ve benzersiz yeni bir topikal kortikosteroiddir. Topikal gücü yüksek ve sistemik etki potansiyeli düşük olduğundan rinit tedavisi için iyi bir adaydır (Giavina-Bianchi ve ark., 2008). Flutikazon furoat glukokortikoid reseptör afinitesi ileri derecede yüksek, güçlü antienflamatuvar etkilere sahip, sentetik, florlu bir kortikosteroiddir. Topikal kortikosteroidlere yanıt veren dermatoz ve psöriyazisin enflamatuvar ve prüritik belirtilerine karşı, i.n. olarak alerjik rinit belirtilerinin

kontrolünde ve oral yoldan astım tedavisinde kullanılır. Astım tedavisi için piyasaya ilk çıktığında, o gün için pazarlanan inhale kortikosteroidlerden daha güvenli olduğu bildirilmiştir. Ancak bu gözlem günde maksimum 200 µg dozda verilmesi esas alınarak yapılmıştır ve klinikte inhalasyonla daha yüksek günlük dozlarda kullanıldığında adrenal kortizol yapımında anlamlı azalmaya neden olabileceği bildirilmiştir. "The Expert Panel of the National Asthma Education and Prevention Program" tarafından 2007 yılında yayınlanan kılavuzda değişik şiddette persistan astımın uzun süreli farmakolojik tedavisinde tercih edilmesi gereken ilaçların oral inhale kortikosteroidler olması gerektiği bildirilmiştir (Rx Media Pharma, 2022; Giavina-Bianchi ve ark., 2008).

Flutikazon furoat molekülünün fizikokimyasal özellikleri Çizelge 1.7’de verilmektedir (Drug master file, Wavelength, 2022).

**Çizelge 1.7.** Flutikazon furoat molekülünün fizikokimyasal özellikleri (Drug master file, Wavelength, 2022)

|                                                                      |   |                                                                                                                                                                                                                                      |
|----------------------------------------------------------------------|---|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tavsiye Edilen Uluslararası Mülkiyete Haiz Olmayan İsmi              | : | Flutikazon Furoat                                                                                                                                                                                                                    |
| Avrupa Farmakopesi Monograf İsmi                                     | : | -                                                                                                                                                                                                                                    |
| IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) IUPAC İsmi | : | [(6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17R)-6,9-difloro-17-(florometilsülfanilkarbonil)-11-hidroksi-10,13,16-timetil-3-okso-6,7,8,11,12,14,15,16-oktahidrosiklopenta[a]fenantren-17-il] furan-2-karboksilat                                  |
| (CAS) Chemical Abstracts Service Kayıt Numarası                      | : | 397864-44-7                                                                                                                                                                                                                          |
| Molekülün Kapalı Formülü                                             | : | C <sub>27</sub> H <sub>29</sub> F <sub>3</sub> O <sub>6</sub> S                                                                                                                                                                      |
| Molekül Ağırlığı                                                     | : | 538.58 g/mol                                                                                                                                                                                                                         |
| Tanım                                                                | : | Beyaz veya neredeyse beyaz toz.                                                                                                                                                                                                      |
| Çözünürlük                                                           | : | Asetonitril ve dimetil sülfoksitte çözünür, asetonda, metanol, tetrahidrofuran, asetik asit ve etanolde kısmen çözünür, metilen klorür, etil asetat ve N, N dimetilformamitte eser miktarda çözünür, suda ve 0,1 M NaOH’de çözünmez. |
| Erime Derecesi                                                       | : | 250-252 °C                                                                                                                                                                                                                           |
| Partikül Büyüklüğü Dağılımı                                          | : | D <sub>90</sub> : 8.70 µm                                                                                                                                                                                                            |
| Spesifik Optik Rotasyon                                              | : | (-4,0°) – (-12,0°)                                                                                                                                                                                                                   |
| Anatomical Therapeutic Chemical Classification SystemATC Kodu        | : | R01: Nazal preparatlar                                                                                                                                                                                                               |

Flutikazon Furoat’ın Farmakodinamik ve Farmakokinetik Özellikleri: Flutikazon furoat, topikal uygulamaya uygun farmakodinamik ve fizikokimyasal özelliklerin bir

kombinasyonuna sahip, yeni geliştirilmiş affinitesi yüksek bir glukokortikoiddir (Anolik ve ark., 2010). Klinik öncesi çalışmalar, glukokortikoid reseptörüne şu anda mevcut olan birkaç INCS'den daha fazla afiniteye sahip olduğunu göstermiştir (Fokkes ve ark., 2007). Glukokortikoidler antienflamatuvar, antipruritik ve vazokonstriktör etki gösterirler. Değişik alerji olgularında ve kronik bronşiyal astımın tedavisi için kullanıldıklarında, alerjik reaksiyonla ilgili mast hücreleri ve eozinofiller gibi bazı hücre tiplerinin verdikleri alerjik cevapların hafiflemesini sağlarlar. Moleküler düzeyde serbest glukokortikoid hücre membranını hızla aşarak sitoplazmada bulunan spesifik reseptörlerine yüksek afiniteyle bağlanır. Sonunda transkripsiyon ve protein sentezi etkilendir. Enflamasyonun azalması lökositik asid hidrolazların salıverilmesinin azalmasına, enflamasyon bölgesinde makrofaj birikiminin engellenmesine lökositlerin kapiller duvarına yapışmasının önlenmesine, kapiller membran geçirgenliği ile bunu izleyen ödemin hafifletilmesine, kompleman bileşenlerinin azaltılmasına, histamin ve kininlerin salıverilmesinin inhibasyonuna ve sikatriks oluşumunu engellenmesine bağlıdır. Glukokortikoidler fibroblastların proliferasyonunu ve kolajen birikimini de azaltırlar. Kortikosteroidlerin antienflamatuvar etkilerinin lipokortinler olarak adlandırılan fosfolipaz A2 inhibitör proteinleri ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Lipokortinlerin görevi bir öncü madde olan araşidonik asit'in salıverilmesini inhibe ederek prostaglandinler ve lökotrienler gibi güçlü enflamasyon mediyatörlerinin biyosentezini kontrol altında tutmaktır. i.n. uygulamada flutikazon furoat rinore, nazal konjestiyon, postnazal akıntı, aksırma ve farenks kaşıntısı gibi belirtilerin iyileşmesini sağlar. Flutikazon furoat, çeşitli hücre tiplerinin ve inflamasyon araçlarını etkilemek için bilinmeyen bir mekanizma aracılığıyla çalışır. İn vitro deneyler, flutikazon furoatın glukokortikoid reseptörlerini aktive ettiğini, nükleer faktör kappa b'yi inhibe ettiğini ve sıçanlarda akciğer eozinofilisini inhibe ettiğini göstermektedir (Drugbank,2022).

Alerjik rinit tedavisi için flutikazon furoat içeren ve ithal edilen bir müstahzar bulunmaktadır: Avamys Burun Spreyi 27,5 µg/püskürtme 120 doz şişe/kutu (Rx Mediapharma, 2022). Alerjik rinit tedavisi için flutikazon furoat kullanım dozu günde 1 kez her bir burun deliğine bir kere püskürtülen 27,5 µg'dır. Gerekirse uygulanan doz günde 110 µg'a yükseltilebilir.

Piyasaya sürülen intranazal glukokortikoid flutikazon furoat (FF; Veramyst®, GlaxoSmithKline/Avamys®, GlaxoSmith-Kline UK, Uxbridge, UK) ve önceki flutikazon propiyonat (FP; Flonase®/Flixonase®, GlaxoSmith-Kline) adlarındaki benzerlik birçok kişinin iki bileşiğin aynı aktif maddeye (flutikazon) sahip olduğunu varsayılmasına yol açmıştır. FF ve FP tamamen farklı etkin maddelerdir ve FF'nin farklı ve üstün özellikleri bulunmaktadır (Biggadike ve ark., 2011).

i.n. uygulanan flutikazon furoat tam olarak absorbe edilmesi; sistemik maruziyet, karaciğerde ve bağırsakta geçirdiği geniş kapsamlı ilk-geçiş metabolizması sonucu, ihmal edilebilir düzeydedir. Nazal biyoyararlanımı %0,50 ve oral biyoyararlanımı %1,26'dır (Drugbank, 2022).

Plazmada flutikazon furoatın %99'u proteinlere bağlanır. Flutikazon furoat vücutta yaygın olarak dağılır ve kararlı plazma düzeylerindeki ortalama dağılım hacmi 608 litredir. Flutikazon furoat sistemik dolaşımdan; öncelikle karaciğerde, sitokrom P450 izoenzimi CYP3A4 tarafından inaktif bir 17 beta-karboksilik metabolit (GW694301X) yönünde metabolize edilerek hızla temizlenir (total plazma klirensi: 58,7 L/s). S-florometil karbotiyoat fonksiyonunun 17 beta-karboksilik asit metaboliti oluşturmak üzere hidrolizi, başlıca metabolizma yoludur. İn vivo çalışmalarda furoatın, flutikazon oluşturmak üzere metabolize edildiğini gösteren hiçbir kanıt elde edilmemiştir.

Oral veya intravenöz flutikazon furoatın öncelikle feçes yoluyla eliminasyonu, bu kortikosteroidin ve metabolitlerinin safraya salgılandığını göstermektedir. i.n. kullanımı izleyen eliminasyon fazı yarı-ömrü 15.1 s'tir. Oral ve i.v. dozların sırasıyla %1'i ve %2'si, böbrekler yoluyla vücuttan atılmaktadır.

Flutikazon furoat doğrusal farmakokinetik sergilemektedir. Klirensi 57,8 L/s'tir.

Nazal yoldan uygulanan flutikazon furoat, adrenal supresyon veya kardiyak tansiyon (QTc) aralığında bir artış ile ilişkili olabilir, ancak bu ilişki çalışmalarda iyi gösterilmemiştir. Flutikazon furoat böbrek yetmezliğinde doz ayarlaması gerektirmez, ancak eliminasyon mekanizmaları nedeniyle karaciğer yetmezliğinde dikkatli kullanılmalıdır. Genel olarak, gebelikte flutikazon ile bildirilen herhangi bir yan etki yoktur. Pediyatrik hastalara mümkün olan en düşük doz verilmeli ve büyüme hızındaki azalma izlenmelidir. Geriatrik hastaların diğer hastalara farklı tepki verip vermediğini belirlemek için yeterli kanıt yoktur. Sistemik maruziyet, Japon, Koreli ve Çinli hastalarda Kafkas hastalarına kıyasla %27-49 daha yüksek olabilir. Bu hastalarda dikkatli olunmalı ve tedaviye karar vermeden önce fayda ve risk değerlendirilmelidir (Drugbank, 2022).

Bu tez çalışmasında alerjik rinit tedavisi için kortikosteroid bir etkin madde içeren nazal sprey formülasyonunun geliştirilmesi amaçlanmıştır. Formülasyon geliştirilmesinde kalite tasarımı (Quality by Design- QbD) kapsamında istatistiksel bir deneysel tasarım uygulanacaktır. Optimum üretim ve proses parametreleri belirlenecek ve sonuç formülasyonun ölçek büyütme çalışmaları yürütülecektir. Geliştirilen nihai formülasyonun tüm kalite özellikleri test edilecektir.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Gereçler

#### 2.1.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

|                                                  |                   |
|--------------------------------------------------|-------------------|
| Amonyum asetat                                   | Merck (Almanya)   |
| Amonyum dihidrojen fosfat                        | Merck (Almanya)   |
| Aseton                                           | Merck (Almanya)   |
| Asetonitril                                      | Merck (Almanya)   |
| Benzalkonyum Klorür                              | Merck (Almanya)   |
| Dietilamin                                       | Merck (Almanya)   |
| Diizopropilamin                                  | Merck (Almanya)   |
| Dimetilformamit                                  | Merck (Almanya)   |
| Etanol                                           | Merck (Almanya)   |
| Etil Asetat                                      | Merck (Almanya)   |
| Fenolftalein                                     | Merck (Almanya)   |
| Flutikazon Furoat                                | Perrigo (ABD)     |
| Fosforik asit                                    | Merck (Almanya)   |
| Glukoz Anhidrat                                  | Merck (Almanya)   |
| Hidroklorik asit %37                             | Merck (Almanya)   |
| Kloroform                                        | Merck (Almanya)   |
| Kurşun nitrat                                    | Merck (Almanya)   |
| Magnezyum sülfat                                 | Merck (Almanya)   |
| Metanol                                          | Merck (Almanya)   |
| Metilen Klorür                                   | Merck (Almanya)   |
| Mikrokristal Selüloz ve Karmeloz Sodyum Bileşimi | FMC (ABD)         |
| Perklorik asit                                   | Merck (Almanya)   |
| Polisorbat 80                                    | Croda (İngiltere) |
| Potasyum dihidrojen fosfat                       | Merck (Almanya)   |
| Referans ürün                                    | GSK (İngiltere)   |
| Sülfürik asit                                    | Merck (Almanya)   |
| Tetrahidrofuran                                  | Merck (Almanya)   |
| Tiyoasetamit                                     | Merck (Almanya)   |
| Trietilamin                                      | Merck (Almanya)   |

### 2.1.2. Deneylerde Kullanılan Araçlar

|                                                                 |                       |
|-----------------------------------------------------------------|-----------------------|
| 2L Glass Expansion Chamber                                      | Isolab (Almanya)      |
| Cam laboratuvar malzemeleri (Balon joje, beher, mezür, pipet)   | İsolab (Almanya)      |
| Copley Next Generation Impactor (NGI)                           | Copley (İngiltere)    |
| Damlacık Büyüklüğü Dağılımı Ölçer (Malvern Spraytec)            | Malvern (İngiltere)   |
| Dissolüsyon cihazı (708 DS)                                     | Agilent (ABD)         |
| Diyaliz membran (MW: 12-14 kd, 50 kd))                          | Sigma-Aldrich (ABD)   |
| Hassas terazi (XS105DU XS205DU)                                 | Mettler Toledo (ABD)  |
| Homojenizatör (Silverson L4RT)                                  | Silverson (İngiltere) |
| HPLC kolonu, CN; 125 x 4.6 mm, 5 µm (Merck, LiChrospher 100 CN) | Merck (Almanya)       |
| HPLC kolonu, C18, 4.6 x 250 mm, 5 µm (Zorbax XDB C18)           | Zorbax (Almanya)      |
| Karıştırıcı (IKA EUROSTAR 60)                                   | IKA (Almanya)         |
| Manyetik Karıştırıcı (C-MAG HS 7)                               | IKA (Almanya)         |
| Membran filtre (0,45 µm hidrofilik PTFE)                        | Merck (Almanya)       |
| Mikropipet                                                      | Mettler Toledo        |
| Ozmometre                                                       | Advanced (ABD)        |
| Partikül Büyüklüğü Dağılımı (Mastersizer 2000)                  | Malvern (İngiltere)   |
| pH Metre (Mettler Toledo SevenCompact)                          | Mettler Toledo (ABD)  |
| Polarimetre (POLARTRONIC NH8)                                   | Schmidt (Almanya)     |
| Renishaw's inVia™ Qontor Raman Microscope                       | Renishaw (İngiltere)  |
| Spektrofotometre küveti                                         | Agilent (ABD)         |
| SprayVIEW® Measurement Systems                                  | Proveris (ABD)        |
| Ultra Performans Sıvı Kromatografisi (UPLC)                     | Waters (ABD)          |
| Ultrasonik Banyo                                                | Retsch (Almanya)      |
| UV spektrofotometre                                             | Agilent (ABD)         |
| Viskozimetre (DV2T)                                             | Brookfield (ABD)      |
| Vorteks                                                         | IKA (Almanya)         |
| Waters 2695 Separations Module                                  | Waters (ABD)          |
| Yoğunluk Ölçme Cihazı (DE40)                                    | Mettler Toledo (ABD)  |

## **2.2. Etkin Madde Karakterizasyon Testleri**

Etkin maddenin tedarikçisinden sağlanan sertifikasında verilen spesifikasyonlara uygunluğu test edilmiştir. Etkin madde EP ve USP farmakopelerinde yer almamaktadır. Kullanılan test metodları farmakopelerde tanımlanan analiz yöntemleri ve tedarikçinin sağladığı test metodu bilgisiyle uyumlu olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları hammadde sertifikası ve literatürlerde yer alan sonuçlar ile karşılaştırılmıştır.

### **2.2.1. Görünüş**

Bir miktar örnek siyah bir zemin üzerine aktarılmıştır ve örneğin görünüşü incelenmiştir.

### **2.2.2. Tanıma**

#### **2.2.2.1. Fourier Dönüştümlü Kızıl Ötesi (FT-IR) Spektrofotometrisi**

IR, EP 2.2.24 monografına uygun analiz edilmiştir (EP, 2022). 1,0 – 2,0 mg flutikazon furoat hammadde numunesi, yaklaşık 300,0 – 400,0 mg kuru potasyum bromür ile karıştırılmıştır. Hazırlanan örneklerin yaklaşık  $4000\text{ cm}^{-1}$  ile  $650\text{ cm}^{-1}$  aralığında FT-IR cihazında spektrumu alınmıştır ve kaydedilmiştir.

#### **2.2.2.2. X-Işını Toz Kırınım Difraktometrisi (XRPD)**

XRPD, EP 2.9.33 monografına uygun analiz edilmiştir (EP, 2022). Numune haznesine yaklaşık 500 mg numune doldurulmuştur ve bir lamel yardımıyla düz bir yüzey oluşturulmuştur. Aşağıdaki cihaz parametreleri ayarlanarak numune analiz edilmiştir.

**Çizelge 2.1.** XRPD ölçüm yöntemi

|                    |                                          |
|--------------------|------------------------------------------|
| Kullanılan Ekipman | X-Ray Diffraktometre (Rigaku Ultimate 4) |
| Radyasyon          | Cu K alpha-1 (dalga boyu: 1.5406 Å)      |
| Voltaj (kV)        | 40                                       |
| Akım (mA)          | 40                                       |
| Tarama Modu        | Sürekli                                  |
| Dönme Hızı         | 120 rpm                                  |
| Tarama Aralığı     | 2.00-40,0 o 2-Theta                      |
| Basamak Boyu       | 0,05°                                    |
| Tarama Hızı        | 5°/dk                                    |

### 2.2.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)

Bu test hammadde sertifikasında bulunmamasına karşın etkin maddenin termal davranışını incelemek ve kristal formunu belirlemek için DSC cihazı kullanılmıştır. Yaklaşık olarak 5 mg ağırlığında etkin madde alüminyum kapsüller içine konmuş ve preslendikten sonra cihaza içine yerleştirilmiştir. Örneğin DSC termogramı, boş hazırlanan alüminyum kapsüller referans olmak üzere 10°C/dk tarama hızı ile 20-400°C aralığında, 1,5 bar azot gazı altında alınmıştır.

### 2.2.4. HPLC Analizi

HPLC miktar tayininde (Bölüm 2.2.8) belirtilen koşullar altında test çözeltisi kromatogramından elde edilen flutikazon pikinin alıkonma zamanı ile standart çözeltiden elde edilen flutikazon pikinin alıkonma zamanının uyumu değerlendirilmiştir.

### 2.2.5. Yakma Kalıntısı

Doğru bir şekilde tartılmış, yaklaşık 1-2g numune EP 2.4.14'e uygun olarak analiz edilmiştir (EP, 2022). Boş kroze 600 ± 50°C'deki kül fırınında sabit tartıma gelene kadar (yaklaşık 30 dk) bekletilmiştir. Sabit tartıma getirilmiş olan kroze oda

sıcaklığına gelmesi için desikatöre alınmıştır. Oda sıcaklığına gelen krozenin boşken tartımı alınmıştır, üzerine 1.0 g numune tartılmıştır. Numune 1.0 ml sülfürik asit ile ıslatıldıktan sonra  $600 \pm 50^{\circ}\text{C}$ 'deki kül fırınında yakılmıştır. Yakma işlemine kroze içerisinde karbon kalmayana kadar devam edilmiştir. Yakma işlemi tamamlandıktan sonra kroze soğuması için desikatöre alınmış ve oda sıcaklığına gelmesi beklenmiştir. Tartım alınmıştır.

#### **2.2.6. Spesifik Optik Rotasyon**

Numune Çözeltilisi: 500 mg numune 50,0 ml'lik balonjojeye tartılmıştır, bir miktar kloroform eklenerek çözülmüştür. Kloroform ile hacmine tamamlanmış ve karıştırılmıştır.

Prosedür: Kloroform ile polarimetre cihazı sıfırlanmıştır. Numune çözeltisinden bir adet hazırlanmıştır ve  $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'de optik rotasyon değeri ölçülmüştür.

#### **2.2.7. Kurutma Kaybı**

Kurutma kaybı, EP 2.2.32 monografına göre analiz edilmiştir (EP, 2022). 1.0 g numune sabit tartıma getirilmiş kroze içerisine tartılmış ve numune sabit tartıma gelene kadar  $105^{\circ}\text{C}$ 'de 3 saat kurutulmuştur. Analiz sonlandırılarak kurutma kaybı hesaplanmıştır.

#### **2.2.8. Miktar Tayini**

Etkin madde miktar tayini için HPLC kullanılmıştır. HPLC analizi için uygulana koşullar Çizelge 2.2'de verilmektedir.

**Çizelge 2.2.** Kromatografik şartlar

|                  |                                                            |
|------------------|------------------------------------------------------------|
| Cihaz            | HPLC                                                       |
| Kolon            | Thermo Scientific Hypersil ODS C18; 250 x 4,6 mm, 5 µm     |
| Dedeksiyon       | UV, 239 nm                                                 |
| Akış Hızı        | 1,5 mL/dk                                                  |
| Enjeksiyon Hacmi | 20 µL                                                      |
| Analiz Süresi    | 20 dk                                                      |
| Kolon Sıcaklığı  | 40°C                                                       |
| Hareketli Faz    | Asetonitril:Tampon Çözelti : Metanol (150:350:500) (h/h/h) |

Seyreltik fosforik asit çözeltisi için 2 mL orto-fosforik asit 20 mL’lik balonjojeye alınmıştır, su ile hacmine tamamlanmıştır ve karıştırılmıştır. Tampon çözelti için 1,15 g amonyum dihidrojen fosfat tartılmıştır, üzerine 950 mL su eklenerek çözündürülmüştür. Çözeltinin pH değeri seyreltik fosforik asit çözeltisi ile 3,5’e ayarlanmış ve su ile 1000 mL’ye tamamlanmıştır. Çözelti 0,45 µm membran filtreden süzölmüştür.

Seyreltmeler için hareketli faz kullanılmıştır (Tablo 2.2). Kör çözelti için çözücüye %10 oranında asetonitril eklenmiştir. Standart çözelti için 4 mg referans standart 100 mL’lik balonjojeye tartılmıştır, üzerine 10 mL asetonitril eklenerek çözülmüştür ve hareketli faz çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Test çözeltisi için 4 mg örnek 100 mL’lik balonjojeye tartılmıştır, üzerine 10 mL asetonitril eklenerek çözülmüştür ve hareketli faz çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Prosedür olarak seyreltme çözeltisinden bir adet, standart çözeltiden iki adet hazırlanmıştır. Hareketli faz çözeltisinden bir enjeksiyon, standart çözeltiden (1)’den ardışık altı enjeksiyon, standart çözelti (2)’den ardışık iki enjeksiyon yapılmıştır. Test çözeltisinden iki adet hazırlanmıştır ve her birinden ikişer enjeksiyon yapılmıştır. Sistem uygunluğu için flutikazon pikinin teorik plaka sayısı 10000’den küçük olmamalıdır.

### 2.2.9. Partikül Boyutu Dağılımı

Disperse edilmiş halde etkin madde içeren yaklaşık 10 mL örnek ile çalışılmıştır. Etkin madde partikül çap ve dağılımı lazer difraksiyon yöntemi ile belirlenmiştir. Dispersiyon ortamı olarak su kullanılmış ve obskürasyon (karatma) derecesi %10-20 arasında olacak şekilde ölçümler yapılmıştır. Analiz sonuçlarından hareketle eşitlik (1) ile span değerleri hesaplanmıştır. Span değerinin 0'a yakın olması, boyut tutarlılığının daha iyi olduğunu ve partikül boyut dağılımının dar olduğu anlamına gelmektedir. Span değeri için kesin sayı belirtilemez; numunenin özelliklerine bağlıdır. Span değeri analiz çıktısı üzerinde kontrol edilir ve sertifikada sunulmamaktadır.

$$\text{Span} = (D(90) - D(10)) / D(50) \quad (\text{Eşitlik 1})$$

**Çizelge 2.3.** Analiz şartları

|                              |                              |
|------------------------------|------------------------------|
| Cihaz                        | : Malvern Mastersizer (2000) |
| Analiz Tipi                  | : Yaş Analiz                 |
| Analiz Modeli                | : Genel Amaçlı               |
| Ünite                        | : Hydro EV                   |
| Karıştırıcı Hızı             | : 2000 rpm                   |
| Ultrason                     | : %50                        |
| Bekleme Süresi               | : 120 s                      |
| Dispersan                    | : Su                         |
| Dispersan Refraktif İndeksi  | : 1.33                       |
| Partikül Refraktif İndeksi / | : 1.584                      |
| Arka Plan Ölçüm Süresi       | : 10 s                       |
| Numune Ölçüm Süresi          | : 10 s                       |
| Karartma                     | : %10-%20                    |

### 2.3. Etkin Madde Özelliklerinin Risk Değerlendirmesi

Etkin maddenin hangi özelliklerinin bitmiş ürünün kritik kalite özelliklerine (CQA) etkisinin olduğunu belirlemek amacıyla bir risk değerlendirmesi çalışması yapılmıştır. Değerlendirmenin sonucunda görülen risk yüksek, orta veya düşük olarak sıralanmıştır. Yüksek risk özelliklerinin daha fazla araştırılması kabul edilirken, düşük riskli özellikler daha fazla araştırmaya ihtiyaç duymamaktadır. Orta risk mevcut

bilgilere dayanarak kabul edilebilir. Orta risk için daha fazla araştırma yapılması ve riski azaltmak gerekebilir.

**Çizelge 2.4.** Risk değerlendirme sistemi

|        |                                                                                        |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Düşük  | Çok düşük risk. Başka soruşturma yapılmasına gerek yoktur.                             |
| Orta   | Risk kabul edilebilir. Riski azaltmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulabilir. |
| Yüksek | Risk kabul edilemez. Bu riski azaltmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.     |

## **2.4. Flutikazon Furoat ve Benzalkonyum Klorür 'ün HPLC Analizi ile Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesi**

Fluticasone Propionate Nasal Spray USP NF 44 monografında belirtilen miktar tayini yönteminden hareketle flutikazon furoat'ın 50 µg/ml konsantrasyonda stok çözeltisi hazırlanmış ve bu çözeltinin 200 – 400 nm arasında spektrumu alınarak maksimum absorbans gösterdiği dalga boyu ( $\lambda_{max}$ ) HPLC cihazında belirlenmiştir (USP 44-NF 39; 2022). Maksimum absorbansın görüldüğü dalga boyu seçildikten sonra metod parametrelerinde değişiklikler yapılarak optimum miktar tayini geliştirme çalışmaları yapılmıştır. Analiz metodu etkin madde ve koruyucu miktar tayinini kapsayacak bir metod olarak geliştirilmiştir. Seçilen nihai analitik metodun validasyon çalışmaları yapılmıştır.

### **2.4.1. Flutikazon Furoat ve Benzalkonyum Klorür'ün Miktar Tayini Yöntemlerinin Analitik Validasyonu**

Analitik metod validasyonu çalışmalarında aşağıda belirtilen parametreler incelenmiştir:

- Sistem Uygunluğu
- Seçicilik
- Doğrusallık ve Aralık
- Doğruluk

- Kesinlik
- Çözelti Stabilitesi
- Sağlamlık

Tüm çalışmalarda seyreltme çözeltisi olarak su: asetonitril (400:600, h/h) karışımı kullanılmıştır.

#### 2.4.1.1. Sistem Uygunluğu

Sistem uygunluk testi, analiz edilecek ekipman, elektronik, analitik işlemler ve numunelerin, bu şekilde değerlendirilebilecek, bütünsel bir sistem oluşturduğu kavramına dayanmaktadır. Belirli bir prosedür için oluşturulacak sistem uygunluk testi parametreleri, valide edilen prosedürün tipine bağlıdır (ICH Q2, 1995).

Standart çözelti için 55.0 mg flutikazon furoat ve 33 mg benzalkonyum klorür çözeltisi (%50 a/h) standartları 50 mL'lik balonjojeye tartılmıştır, üzerine 40 mL seyreltme çözeltisi eklenmiştir. Ultrasonik banyoda 10 dk bekletilmiş ve seyreltme çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 4 mL alınmış, 20 mL'ye seyreltme çözeltisi ile tamamlanmıştır.

Prosedür olarak standart çözeltiden bir adet hazırlanmış, 0,45 µm hidrofilik PTFE filtreden süzülerek vialle aktarılmıştır. Standart çözeltiden ardışık altı enjeksiyon yapılmıştır. Standart çözeltilerin altı ardışık enjeksiyonundan elde edilen flutikazon furoat ve benzalkonyum klorür pik alanlarının bağıl standart sapması hesaplanmıştır, bağıl standart sapma (RSD)  $\leq$  %2.0 olmalıdır.

#### 2.4.1.2. Seçicilik

Analitik seçicilik “bir metodun, karışımlar veya matrisler içindeki belirli analitleri tanımlamak üzere, benzer özellik gösteren diğer bileşenlerin girişimleri olmaksızın kullanılabilme derecesini” ifade eder (Vessman ve ark., 2001).

Benzalkonyum klorür için flutikazon furoat içermeyen 3998 mg Flutikazon Furoat Burun Spreyi plasebosu 10 mL’lik balonjojeye alınmış ve üzerine 5 mL asetonitril ilave edilerek karıştırılmıştır. Hacmine asetonitril ile tamamlanmıştır. Çözelti 0,45 µm hidrofilik PTFE filtreden süzölmöştür ve viallenmiştir. Flutikazon furoat için benzalkonyum klorür içermeyen 3998 mg Flutikazon Furoat Burun Spreyi plasebosu 10 mL’lik balonjojeye alınmıştır, üzerine 5 mL asetonitril ilave edilerek karıştırılmıştır. Hacmine asetonitril ile tamamlanmıştır. Çözelti 0,45 µm hidrofilik PTFE filtreden süzölmöş ve viallenmiştir. Standart çözelti için 55,0 mg flutikazon furoat ve 33 mg benzalkonyum klorür çözeltisi (%50 a/h) standartları 50 mL’lik balonjojeye tartılmıştır, üzerine 40 mL seyreltme çözeltisi eklenmiştir. Ultrasonik banyoda 10 dk bekletilmiştir ve seyreltme çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 4 mL alınmıştır, 20 mL’ye seyreltme çözeltisi ile tamamlanmıştır. Çözelti 0,45 µm hidrofilik PTFE filtreden süzölmöştür. Test Çözeltisi için 4,0000 g Flutikazon Furoat Burun Spreyi örneğı 10 mL’lik balonjojeye transfer edilmiştir. 5 mL asetonitril ilave edilmiştir, çözölmöş ve hacmine asetonitril ile tamamlanmıştır. Vortekslenmiş ve 10 dk ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Çözelti 0,45 µm hidrofilik PTFE filtreden süzölmöştür.

Prosedür olarak hareketli faz, seyreltme çözeltisi, plasebo çözeltileri, standart çözelti ve test çözeltisi sırasıyla analiz edilmiştir. Değerlendirme için her bir çözelti için elde edilen kromatogramlar üst üste bindirilerek sonuçlar değerlendirilmiştir. Standart çözelti ve test çözeltisi kromatogramlarında flutikazon furoat ve benzalkonyum klorür piklerinin alıkonma zamanında hareketli faz, seyreltme çözeltisi ve plasebo çözeltiden gelen herhangi bir pik olmamalıdır. Standart çözelti ve test çözeltisi kromatogramlarında flutikazon furoat ve benzalkonyum klorür piklerinin

diğer pikler ile girişim yapmadığı gösterilmelidir. Standart çözelti ve test çözeltisi kromatogramlarında flutikazon furoat ve benzalkonyum klorür pikleri için pik saflığı eşik değerin üzerinde olmalıdır.

#### 2.4.1.3. Doğrusallık ve Aralık

Doğrusallık; analit derişime karşı dedektör cevabın doğru orantılı olarak artması ve çizilen grafikte noktaların doğru üzerinde veya yakın olarak yer almasıdır. Eğim, kesişim ve determinasyon katsayısı ( $R^2$ ) doğrusallığı veren parametrelerdir.

Çalışma aralığı; kalibrasyon eğrisinde tayin edilebilen en düşük derişimden, doğrusallıktan sapma gösterdiği derişime kadar olan derişim aralığını kapsar. Hedef miktarın %50, 75, 100, 125 ve 150 olacak şekilde aralık düzenlenebilir. Bitmiş ürün konsantrasyonunun %20'si ila %130'u aralığında, 8 farklı konsantrasyonda (%20, %40, %60, %70, %80, %100, %120 ve %130) hazırlanan çözeltilerin pik alanları ölçülmüştür.

Stok standart çözelti için 110,0 mg flutikazon furoat ve 66 mg benzalkonyum klorür çözeltisi (%50 a/h) standartları 50 mL'lik balonjojeye tartılmıştır, üzerine 40 mL seyreltme çözeltisi eklenerek çözündürülmüştür. Ultrasonik banyoda 10 dk bekletilmiştir ve seyreltme çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 10 mL alınmıştır, 50 mL'ye seyreltme çözeltisi ile tamamlanmıştır. Bu çözeltiden yapılan seyreltmelerle 8 farklı konsantrasyonda bir seri çözelti hazırlanmıştır.

Prosedür olarak hazırlanan tüm doğrusallık çözeltileri 0,45 µm hidrofilik PTFE filtrelerden süzülerek viallere aktarılmıştır ve her birinden ikişer enjeksiyon yapılmıştır. Değerlendirme için doğrusallık çözeltilerinin her birinden elde edilen kromatogramlardaki flutikazon furoat ve benzalkonyum klorür alanları hesaplanmıştır ve konsantrasyona (x) karşı alan (y) değerlerinin kullanıldığı bir grafik çizilmiştir. Grafikte yer alan veriler ile en küçük kareler yönteminin kullanıldığı basit, doğrusal

bir regresyon analizi yapılarak standart doğru denklemi oluşturulmuştur. Regresyon analizi sonucunda; grafik sunulmalı ve yöntemin doğrusallığı görsel olarak değerlendirilmelidir. Determinasyon katsayısı ( $R^2$ ) 0,999'dan büyük olmalıdır. Regresyon katsayısı (a) istatistiksel olarak sıfırdan farklı olmalıdır ( $p < 0,05$ ). Kesişim (b) istatistiksel olarak sıfırdan farklı olmamalıdır ( $p > 0,05$ ). Regresyon hesabında “x=0” değeri, b değerinin (ordinat kesim aralığı, intersept) güven aralığı (en düşük %95 ve en yüksek %95 değerleri) “0” değerini içermelidir.

#### 2.4.1.4. Doğruluk

Ölçülen değer in doğru ya da doğru kabul edilen değere yakınlığını gösterir. Mutlak hata ya da bağıl hata ile verilir. Uluslararası bağımsız laboratuvarlar tarafından tayin edilmiş değerleri doğru değer olarak kabul edilen standart referans maddelerin tayininden elde edilen sonuç ile aynı maddenin kullanılan yöntemle elde edilen sonuçları karşılaştırılır.

Geliştirme çalışmaları yapılan nazal spreyin nihai birim formülünde belirtilen etkin madde ve koruyucu miktarı üzerinden hesaplamalar yapılmıştır. Flutikazon Furoat Burun Spreyi plasebo çözeltisine (Flutikazon furoat ve benzalkonyum klorür %50 a/h içermeyen) flutikazon furoat ve %50 a/h benzalkonyum klorür çözeltisi ilave edilerek birim formüldeki miktarlarının %20, %70, %100 ve % 130 seviyeleri için gösterilmiştir. Her bir seviye için 3'er adet olmak üzere toplam 12 adet test çözeltisi hazırlanmıştır ve ikişer kez enjekte edilmiştir. Standart çözelti için 55,0 mg flutikazon furoat ve 33 mg benzalkonyum klorür çözeltisi (%50 a/h) standartları 50 mL'lik balonjojeye tartılmıştır, üzerine 40 mL seyreltme çözeltisi eklenerek çözülmüştür. Ultrasonik banyoda 10 dk bekletilmiştir ve seyreltme çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 4 mL alınmıştır, 20 mL'ye seyreltme çözeltisi ile tamamlanmıştır. Çözelti 0,45 µm PTFE filtreden süzölmüştür. Benzalkonyum klorür doğruluk çözeltisi (a) için 66 mg benzalkonyum klorür çözeltisi (%50 a/h ) 50 mL'lik balonjojeye tartılmıştır, seyreltme çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Doğruluk çözeltisi (a) (%20) için 17,6 mg flutikazon furoat 100 mL'lik balonjojeye tartılmıştır,

üzerine 50 mL seyreltme çözeltisi eklenerek çözündürülmüştür ve 8 mL benzalkonyum klorür doğruluk çözeltisi (a) eklenmiştir. Seyreltme çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 2,5 mL alınmıştır, üzerine 3996,4 mg flutikazon furoat ve benzalkonyum klorür %50 a/h içermeyen plasebo tartılmıştır ve 10 mL'ye asetonitril ile tamamlanmıştır. Benzalkonyum klorür doğruluk çözeltisi (b) için 66 mg benzalkonyum klorür %50 a/h çözeltisi 50 mL'lik balonjojeye tartılmıştır ve seyreltme çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Doğruluk çözeltisi (b) (%70) için 61,6 mg flutikazon furoat 100 mL'lik balonjojeye tartılmıştır, üzerine 50 mL seyreltme çözeltisi eklenerek çözülmüştür ve 28 mL benzalkonyum klorür doğruluk çözeltisi (b) eklenmiştir. Seyreltme çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 2,5 mL alınmıştır, üzerine 3996,4 mg flutikazon furoat ve benzalkonyum klorür %50 a/h içermeyen plasebo tartılmıştır ve 10 mL'ye asetonitril ile tamamlanmıştır. Benzalkonyum klorür doğruluk çözeltisi (c) için 66 mg benzalkonyum klorür %50 a/h çözeltisi 50 mL'lik balonjojeye tartılmıştır, seyreltme çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Doğruluk çözeltisi (c) (%100) için 44 mg flutikazon furoat 50 mL'lik balonjojeye tartılmıştır, üzerine 25 mL seyreltme çözeltisi eklenerek çözülmüştür ve 20 mL benzalkonyum klorür doğruluk çözeltisi (c) eklenmiştir. Seyreltme çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 2,5 mL alınmıştır, üzerine 3996,4 mg flutikazon furoat ve benzalkonyum klorür %50 a/h içermeyen plasebo tartılmıştır ve 10 mL'ye asetonitril ile tamamlanmıştır. Benzalkonyum klorür doğruluk çözeltisi (d) için 132 mg benzalkonyum klorür %50 a/h çözeltisi 50 mL'lik balonjojeye tartılmıştır, seyreltme çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Doğruluk çözeltisi (d) (%130) için 114,4 mg flutikazon furoat 100 mL'lik balonjojeye tartılmıştır, üzerine 50 mL seyreltme çözeltisi eklenerek çözülmüştür ve 26 mL benzalkonyum klorür doğruluk çözeltisi (d) eklenmiştir. Seyreltme çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 2,5 mL alınmıştır, üzerine 3996,4 mg flutikazon furoat ve benzalkonyum klorür %50 a/h içermeyen plasebo tartılmıştır ve 10 mL'ye asetonitril ile tamamlanmıştır.

Prosedür olarak; standart çözeltilerden iki adet hazırlanmıştır, 0,45 µm hidrofilik PTFE filtrelerden süzülerek viallere aktarılmıştır ve analiz edilmiştir. Standart çözelti (1)'den iki, standart çözelti (2)'den ise altı enjeksiyon yapılmıştır. Tüm doğruluk

çözeltilerinden üçer adet hazırlanmıştır, 0,45 µm hidrofilik PTFE filtrelerden süzülerek viallere aktarılmıştır ve ikişer kez enjeksiyon yapılmıştır. Yüzde geri kazanımlar, sonuçların % RSD'si ve ortalamanın % 95 güven aralığı hesaplanarak değerlendirilmiştir. Standart (2) çözeltisi kontrol standardı olarak 2 kez enjekte edilmiştir. Her bir konsantrasyon düzeyi için ortalama yüzde geri kazanım %98,0-102,0 aralığında olmalıdır. Geri kazanım değerleri arasındaki RSD %2,0'den büyük olmamalıdır.

#### 2.4.1.5. Kesinlik

Ölçüm sonuçlarının birbirlerine yakınlığını (tekrarlanabilirliği) gösterir. Standart sapma, bağıl standart sapma veya varyans ile verilir.

Kesinlik 3 gruba ayrılarak incelenmektedir

- a. Tekrarlanabilirlik (Gün içi tekrarlanabilirlik),
- b. Ara Kesinlik (Günler arası tekrarlanabilirlik)
- c. Tekrar Üretilirlik (Reproducibility)

Flutikazon Furoat Burun Spreyi plasebosundan 4 mL alınıp 10 mL'lik balonjojeye tartılmıştır, üzerine bir miktar asetonitril eklenmiştir ve karıştırılmıştır. Asetonitril ile hacmine tamamlanmıştır. 0,45 µm hidrofilik PTFE filtre ile süzölmüştür ve viallenmiştir. Standart çözelti için 55,0 mg flutikazon furoat ve 33 mg benzalkonyum klorür çözeltisi (%50 a/h) standartları 50 mL'lik balonjojeye tartılmıştır, üzerine 40 mL seyreltme çözeltisi eklenmiştir. Ultrasonik banyoda 10 dk bekletilmiştir ve seyreltme çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 4 mL alınmıştır, 20 mL'ye seyreltme çözeltisi ile tamamlanmıştır. Çözelti 0,45 µm hidrofilik PTFE filtreden süzölmüştür. Test çözeltisi için 4,0000 g Flutikazon Furoat Burun Spreyi örneği 10 mL'lik balonjojeye transfer edilmiştir. 5 mL asetonitril ilave edilmiştir, çözülmüştür ve hacmine asetonitril ile tamamlanmıştır. Vortekslenmiştir ve 10 dk ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Çözelti 0,45 µm hidrofilik PTFE filtreden süzölmüştür. Prosedür olarak, tekrarlanabilirlik çalışmasında standart çözeltiden iki

adet hazırlanmıştır. Standart çözelti (1)'den iki, standart çözelti (2)'den ise altı enjeksiyon yapılmıştır. Test çözeltisinden altı adet hazırlanmıştır, her birinden ikişer enjeksiyon yapılmıştır. Test çözeltisi enjeksiyonlarından sonra kontrol standart olarak standart çözelti (2)'den iki enjeksiyon yapılmıştır. Sonuçların SD, RSD ve güven aralığı (CI %95) hesaplanarak kaydedilmiştir. Ara kesinlik çalışmasında farklı bir günde, farklı bir kişi tarafından, farklı bir HPLC cihazı kullanılarak, farklı seri numaralı bir kolon ile iki adet standart çözelti, 6 adet test çözeltisi hazırlanmış ve aynı prosedür uygulanmıştır. Değerlendirme için tekrarlanabilirlik çalışmasında çalışılan örneklerin her birinin sonucu spesifikasyon limitleri içerisinde olmalıdır. Altı adet test çözeltisinden elde edilen miktar tayini sonuçlarının RSD değeri %2,0'den büyük olmamalıdır.

#### **2.4.1.6. Çözelti Stabilitesi**

Seyreltme çözeltisi olarak Su: Asetonitril (400:600, h/h) hazırlanmıştır. Flutikazon Furoat Burun Spreyi plasebo için Flutikazon Furoat Burun Spreyi plasebosundan 4 mL alınıp 10 mL'lik balonjojeye tartılmıştır, üzerine bir miktar asetonitril eklenmiştir ve karıştırılmıştır. Asetonitril ile hacmine tamamlanmıştır. 0,45 µm hidrofilik PTFE filtre ile süzölmüştür ve viallenmiştir. Standart çözelti için 55,0 mg flutikazon furoat ve 33 mg benzalkonyum klorür çözeltisi (%50'lik) standartları 50 mL'lik balonjojeye tartılmıştır, üzerine 40 mL seyreltme çözeltisi eklenerek çözöndürölmüştür. Ultrasonik banyoda 10 dk bekletilmiştir ve seyreltme çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 4 mL alınmıştır, 20 mL'ye seyreltme çözeltisi ile tamamlanmıştır. Çözelti 0,45 µm hidrofilik PTFE filtreden süzölmüştür. Test çözeltisi için 4.0000 g Flutikazon Furoat Burun Spreyi örneği 10 mL'lik balonjojeye transfer edilmiştir. 5 mL asetonitril ilave edilmiştir, çözöndürölmüştür ve hacmine asetonitril ile tamamlanmıştır. Vortekslenmiştir ve 10 dk ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Çözelti 0,45 µm hidrofilik PTFE filtreden süzölmüştür. Oda sıcaklığında bekletilen standart çözelti ve test çözeltilerinden belirli saatlerde ikişer enjeksiyon yapılarak analiz edilmiştir. Pik alanları kaydedilerek yüzde uyum hesaplanmıştır. Değerlendirme için standart çözelti ve test çözeltisinden elde edilen

flutikazon furoat ve benzalkonyum klorür piklerinin belirlenen zaman noktalarındaki alan değerleri başlangıç zamanda elde edilen alan ile kıyaslanmıştır. Alan değerleri arasındaki uyum %98,0-102,0 aralığında olmalıdır.

#### 2.4.1.7. Sağlamlık

Bir analitik prosedürün “sağlamlığı” (dayanıklılık) metod parametrelerinde yapılan küçük fakat planlı değişikliklerden etkilenmeden kalma kapasitesinin ölçüsüdür. Sağlamlık metodun normal kullanım sırasındaki güvenilebilirliğinin bir göstergesini sağlamaktadır (ICH, 2022).

Standart çözelti için 55,0 mg flutikazon furoat ve 33 mg benzalkonyum klorür çözeltisi (%50 a/h) standartları 50 mL’lik balonjojeye tartılmıştır, üzerine 40 mL seyreltme çözeltisi eklenmiştir. Ultrasonik banyoda 10 dk bekletilmiştir ve seyreltme çözeltisi ile hacmine tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 4 mL alınmıştır, 20 mL’ye seyreltme çözeltisi ile tamamlanmıştır. Çözelti 0,45 µm hidrofilik PTFE filtreden süzülmüştür. Test çözeltisi için 4,0000 g Flutikazon Furoat Burun Spreyi örneği 10 mL’lik balonjojeye transfer edilmiştir. 5 mL asetonitril ilave edilmiştir, çözölmüştür ve hacmine asetonitril ile tamamlanmıştır. Vortekslenmiştir ve 10 dk ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Çözelti 0,45 µm hidrofilik PTFE filtreden süzölmüştür. Prosedür olarak sağlamlık parametresi istatistiksel deney tasarımı kullanılarak incelenmiştir. Herhangi bir kromatografik şarttaki değışikliğin analit üzerindeki etkisinin anlamlı olup olmadığını değerdendirmek için Plackett-Burman deney tasarımı kullanılmıştır. Standart çözeltiden ve test çözeltisinden birer adet hazırlanmıştır, 0,45 µm hidrofilik PTFE filtreden süzölerek viallere aktarılmıştır. Çizelge 2.5’te kromatografik şartlarda yapılan değışiklikler, Çizelge 2.6’da ise uygulanacak deney tasarımı matrisi verilmiştir. Değerdendirme için tekrarlanabilirlik ve kromatografik şartlarda değışiklik yapılarak elde edilen sonuçlar ve pik performans parametreleri karşılaştırılmıştır.

**Çizelge 2.5.** Kromatografik şartlarda yapılan değişiklikler

| Parametre                               | Düzey |        |        |
|-----------------------------------------|-------|--------|--------|
|                                         | Düşük | Gerçek | Yüksek |
| Hareketli Fazdaki Asetonitril Oranı (%) | 34.5  | 35     | 35.5   |
| Dalgaboyu (nm)                          | 213   | 215    | 217    |
| Sıcaklık (°C)                           | 37    | 40     | 43     |
| Akış Hızı (mL/dk)                       | 1.95  | 2.00   | 2.05   |

**Çizelge 2.6.** Plackett-Burman deney tasarımı kullanılarak hazırlanmış deney tasarımı matrisi

| Enjeksiyon | Hareketli Fazdaki Asetonitril Oranı (%) | Dalgaboyu (nm) | Sıcaklık (°C) | Akış Hızı (mL/dk) |
|------------|-----------------------------------------|----------------|---------------|-------------------|
| 1          | 35.5                                    | 213            | 37            | 1.95              |
| 2          | 35.5                                    | 213            | 43            | 1.95              |
| 3          | 34.5                                    | 213            | 43            | 2.05              |
| 4          | 34.5                                    | 213            | 37            | 2.05              |
| 5          | 35.5                                    | 217            | 37            | 2.05              |
| 6          | 34.5                                    | 213            | 37            | 1.95              |
| 7          | 35.5                                    | 217            | 43            | 1.95              |
| 8          | 35.5                                    | 217            | 37            | 2.05              |
| 9          | 35.5                                    | 213            | 43            | 2.05              |
| 10         | 34.5                                    | 217            | 43            | 2.05              |
| 11         | 34.5                                    | 217            | 43            | 1.95              |
| 12         | 34.5                                    | 217            | 37            | 1.95              |

## 2.5. Formülasyon Geliştirme Çalışmaları

Ürün geliştirme çalışmalarında, öncelikle, etkin maddenin özellikleri, referans ürün karakterizasyonu, etiket değeri ve hedef popülasyonu dikkate alınarak kalite hedef ürün profili (QTPP) tanımlanmıştır. Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon, hedef ürün kalite profilinde verilen tüm özelliklerin elde edilmesi amacıyla uygun olarak tasarlanmıştır. Ayrıca, ürün geliştirme sırasında yapılan araştırmalar, müstahzar formülasyonu veya üretim sürecine bağlı olan değişiklikten etkilenebilecek kritik niteliklere (CQA) odaklanmıştır. Ürünü geliştirmek için kalite tasarımı (QbD – Quality by Design) yaklaşımı uygulanmıştır.

Bitmiş ürüne ait olan kritik kalite parametreleri ilacın kalitesi, etkinliği ve güvenliliği üzerindeki etkisine bağlı olarak seçilmektedir. Ürünün formülasyonundaki veya üretim prosesindeki değişikliklerden dolayı etkilenmesi muhtemel kritik kalite parametreleri belirlenmiştir.

### 2.5.1. Hedef Ürün Kalite Profiline (QTPP) ve Kritik Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi

Ürün geliştirmenin temelini oluşturan kalite hedef ürün profili öğeleri, hedefleri ve gerekçelendirmeleriyle özetlenmiştir. Tüm kalite özellikleri, iyi bir yönetim sistemi, uygun formülasyon, süreç tasarımı ve geliştirme yoluyla elde edilecek müstahzarın hedef unsurlarıdır. Farmasötik geliştirme perspektifinden, formülasyon ve/ veya işlem değişkenlerinden kritik etkisi olan müstahzarın kritik kalite nitelikleri değerlendirilmiştir.

### 2.5.2. Referans Ürün Karakterizasyonu

Referans ürün karakterizasyonu formülasyon geliştirme çalışmalarında kritik bir öneme sahiptir. Referans ürün karakterizasyonunda elde edilen veriler referans ürünün fiziksel ve kimyasal özelliklerini ortaya çıkardığından dolayı stabil ve biyoeşdeğer ürünün geliştirmesinde oldukça yararlı olmaktadır.

Referans ürün kalitatif formülü ve geliştirilmesi planlanan ürünün kalitatif formülü Çizelge 2.7’de verilmiştir.

**Çizelge 2.7.** Kalitatif ve kantitatif kompozisyon

| Referans Ürün                           |                                   | Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon |                                   |
|-----------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------|
| Kalitatif Kompozisyon                   | Kantitatif Kompozisyon (µg/50 µL) | Kalitatif Kompozisyon                               | Kantitatif Kompozisyon (µg/50 µL) |
| Flutikazon Furoat                       | 27,50                             | Flutikazon Furoat                                   | 27,50                             |
| Glukoz Anhidrat                         | √                                 | Glukoz Anhidrat                                     | √                                 |
| Mikrokristal Selüloz ve Karmeloz Sodyum | √                                 | Mikrokristal Selüloz ve Karmeloz Sodyum*            | √                                 |
| Polisorbat 80                           | √                                 | Polisorbat 80                                       | √                                 |
| Benzalkonyum Klorür (%50 a/h) çözeltisi | 16,5                              | Benzalkonyum Klorür                                 | 16,5                              |
| Disodyum EDTA                           | √                                 | Disodyum EDTA                                       | √                                 |
| Saf Su                                  | √                                 | Saf Su                                              | √                                 |

\*Ticari adı: Avicel RC 591; Bileşim oranları: Karmelloz sodyum: %8.3-%13.8 ve Mikrokristal Selüloz: >%80,0

Bilinen kalitatif ve kantitatif formülüne dayalı olarak üretim yöntemi ve proses parametrelerinin belirlenmesi için kalite tasarımı yaklaşımı kullanılarak formülasyon çalışmaları yapılmıştır.

### 2.5.3. Kalite Tasarımı Çalışması

Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon'un formülasyon gelişimi aşamasında QbD kapsamında istatistiksel deney tasarımı yaklaşımı kullanılmıştır. Bu amaçla 8 faktörlü, 2 düzeyli bir Plackett-Burman deney tasarımı tercih edilmiştir. Deney matrisi Çizelge 2.8 ve 2.9'da verilmiştir. Bu 8 faktör bağımsız değişkenleri oluşturmaktadır. Buna karşılık elde edilen bağımlı veya yanıt değişkenler, formülasyonun viskozitesi, püskürtmede damlacık büyüklüğü dağılımı ve süspansiyon içinde etkin maddenin partikül büyüklüğü ve dağılımı olmuştur. Referans ürün kalitatif ve kantitatif formülü kamuya açıktır. QbD çalışması ile bilinen kalitatif ve kantitatif formül uygunluğu araştırılmış ve üretim proses parametreleri değerlendirilmiştir. Formülasyonlarda etkin madde miktarı (27,5 µg/50 µL) , koruyucu miktarı (16,5µg/50 µL), glukoz anhidrat (2750 µg/50 µL) ve disodyum EDTA (8,25 µg/50 µL) miktarları sabit tutularak Avicel RC 591 ve polisorbata 80 miktarları değiştirilmiştir.

**Çizelge 2.8.** Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon Plackett-Burman deney tasarımı matrisi ve bağımsız değişkenler- Formülasyon parametreleri

| Formülasyon No. | Mikrokristal Selüloz ve Karmeloz Sodyum Oranı (% a/a) | Polisorbat 80 Oranı (% a/a) |
|-----------------|-------------------------------------------------------|-----------------------------|
| F01             | 2,25                                                  | 0,01375                     |
| F02             | 2,25                                                  | 0,0275                      |
| F03             | 1,65                                                  | 0,0275                      |
| F04             | 2,25                                                  | 0,01375                     |
| F05             | 2,25                                                  | 0,0275                      |
| F06             | 1,65                                                  | 0,01375                     |
| F07             | 1,65                                                  | 0,01375                     |
| F08             | 1,65                                                  | 0,0275                      |
| F09             | 2,25                                                  | 0,01375                     |
| F10             | 2,25                                                  | 0,0275                      |
| F11             | 1,65                                                  | 0,0275                      |
| F12             | 1,65                                                  | 0,01375                     |

**Çizelge 2.9.** Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon Plackett-Burman deney tasarımı matrisi ve bağımsız değişkenler- işlem parametreleri

| Formülasyon No. | Flutikazon<br>Homojenizasyon Süresi<br>(dk) | Mikrokristal<br>Selüloz ve Karmeloz<br>Sodyum Homojenizasyon<br>Süresi (dk) | Flutikazon<br>Hızı (rpm) | Final Homojenizasyon<br>Süresi (dk) | Final Homojenizasyon Hızı<br>(rpm) | Bekleme<br>Süresi<br>(gün) |
|-----------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|----------------------------|
| F01             | 5                                           | 10                                                                          | 4000                     | 35                                  | 4000                               | 1                          |
| F02             | 5                                           | 30                                                                          | 4000                     | 35                                  | 3000                               | 3                          |
| F03             | 10                                          | 30                                                                          | 3000                     | 35                                  | 4000                               | 1                          |
| F04             | 10                                          | 30                                                                          | 3000                     | 15                                  | 3000                               | 3                          |
| F05             | 10                                          | 10                                                                          | 3000                     | 35                                  | 3000                               | 1                          |
| F06             | 5                                           | 30                                                                          | 3000                     | 35                                  | 4000                               | 3                          |
| F07             | 5                                           | 10                                                                          | 3000                     | 15                                  | 3000                               | 1                          |
| F08             | 5                                           | 30                                                                          | 4000                     | 15                                  | 3000                               | 1                          |
| F09             | 10                                          | 30                                                                          | 4000                     | 15                                  | 4000                               | 1                          |
| F10             | 5                                           | 10                                                                          | 3000                     | 15                                  | 4000                               | 3                          |
| F11             | 10                                          | 10                                                                          | 4000                     | 15                                  | 4000                               | 3                          |
| F12             | 10                                          | 10                                                                          | 4000                     | 35                                  | 3000                               | 3                          |

Yukarıda detaylı bilgileri verilen 12 seri için genel üretim yöntemi aşağıdaki gibidir. Çizelge 2.9'da verilen üretim proses parametre değerleri her bir seri için belirtildiği şekli ile uygulanmıştır.

### 2.5.3.1. Üretim Metodu

#### I. Tartım

Tüm hammaddeler tartılmıştır.

#### II. Süspansiyonun Hazırlanması

1. Saf su imalat tankına alınmıştır.
2. Mikrokristal selüloz ve karmeloz sodyum bileşimi saf suya eklenmiş ve homojen bir dispersiyon elde edilmesi için karıştırılmıştır.
3. 2. Adımda elde edilen dispersiyon homojenizatör ile istenilen viskozite değerine ulaşmaya kadar homojenize edilmiştir.
4. Homojenize edilen dispersiyon ısıtılmış ve karıştırılmıştır.
5. Dispersiyon uygun sıcaklığa gelene kadar soğutulmuştur.
6. Glukoz anhidrat, dispersiyona eklenmiş ve karıştırılarak çözülmüştür.
7. Disodyum EDTA dispersiyona eklenmiş ve karıştırılarak çözülmüştür. A fazı elde edilmiştir.
8. Saf su paslanmaz çelik bir karıştırma kazanına aktarılmıştır.
9. Polisorbat 80 suya eklenmiş ve karıştırılarak çözülmüştür.
10. Flutikazon furoat çözeltiye eklenmiş ve karıştırılarak homojen bir dispersiyon elde edilmesi sağlanmıştır.
11. Elde edilen dispersiyon homojenizatör ile homojenize edilmiştir. B fazı elde edilmiştir.
12. B fazında elde edilen dispersiyon A fazı üzerine eklenmiş ve karıştırılmıştır.
13. Elde edilen dispersiyon homojenizatör ile homojenize edilmiştir.
14. Saf su paslanmaz çelik bir karıştırma kazanına aktarılmıştır.
15. Benzalkonyum klorür (%50 a/h) suya eklenir ve karıştırılarak çözündürülmüştür.
16. Benzalkonyum klorür (%50 a/h) çözeltisi A+B fazında elde edilen dispersiyona eklenmiş ve karıştırılmıştır.

17. Elde edilen dispersiyon gerekli miktara saf su ile tamamlanmış ve karıştırılmıştır. Elde edilen ürün ambalajlanmıştır.

Yapılan çalışma sonucu değerlendirilmiş ve 12 seri arasında optimum formül olarak F03 formülü ve üretim prosesi nihai formülasyon olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmalara ek olarak F03 formülasyonu üzerinde in vitro çözünme hızı çalışmaları, süspansiyonun reolojik özelliklerin değerlendirilmesi çalışmaları yapılmıştır.

## **2.6. F03 Nihai Formülasyonu Üzerinde Yapılan Diğer Çalışmalar**

### **2.6.1. Etkin Madde Salım Çalışmaları**

Bitmiş ürünün çözünme hızına ilişkin çalışmalar Çizelge 2.10 ve 2.11’de özetlenmiştir. Çözünme ortamı olarak pH 5,5 nazal ortam kullanılmıştır. pH 5,5 nazal ortamın hazırlığı için literatür bilgisinden yararlanılmıştır (Zaki ve ark., 2007; Saindane ve ark., 2013). Nazal ortam 7,45 mg/mL NaCl, 1,29 mg/mL KCl ve 0,32 mg/mL CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O içermektedir ve pH değeri 5.5’e ayarlanmıştır. Etkin madde nazal ortamda çözünmediği için ortama kosolvan olarak asetonitril (ACN), etanol, PEG 400, düşük dansiteli lipoik asit (LDOA) ve ayrıca yüzey aktif madde sodyum lauril sülfat (SLS) ilave edilerek çözünme testleri yürütülmüştür. Çözünme testleri iner-çıkarmak silindir (USP Apparatus III) ve Franz difüzyon hücreleri ile yürütülmüştür.

**Çizelge 2.10.** Bio-Diss iner-çıkır silindir yöntemi ile yapılan salım testleri koşulları

| Ortam                                                     | Membran                                   | Sıcaklık | Hız    | Numune Hazırlığı                                                                 |
|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------|----------|--------|----------------------------------------------------------------------------------|
| %0,5 SLS içeren<br>PH 5,5 nazal<br>ortamı: ACN<br>(70:30) | Diyaliz membran<br>(12-14 Kd)             | 35°C     | 20 DPM | 5ml flutikazon furoat nazal sprej numunesi diyaliz membrana doldurulmuştur.      |
|                                                           |                                           |          |        | 250 ml Bio-diss hücresi<br>(Cnum: 0,011 mg/ml)                                   |
|                                                           |                                           |          |        | Etiket Değeri: 1 ml numune 0,55 mg flutikazon furoat içermektedir.               |
| PH 5,5 nazal<br>ortamı: Etanol<br>(60:40)                 | Diyaliz membranı<br>(12-14 Kd)            | 35°C     | 20 DPM | 5ml flutikazon furoat nazal sprej numunesi diyaliz membrana doldurulmuştur.      |
|                                                           |                                           |          |        | 250 ml Bio-diss hücresi<br>(Cnum: 0,011 mg/ml)                                   |
|                                                           |                                           |          |        | Etiket Değeri: 1 ml numune 0,55 mg flutikazon furoat içermektedir.               |
| PH 5,5 nazal<br>ortamı: Etanol<br>(60:40)                 | Diyaliz membran<br>(50 Kd)                | 35°C     | 30 DPM | 5ml flutikazon furoat nazal sprej numunesi Dialysis bag membrana doldurulmuştur. |
|                                                           |                                           |          |        | 250 ml Bio-diss hücresi<br>(Cnum: 0,011 mg/ml)                                   |
|                                                           |                                           |          |        | Etiket Değeri: 1 ml numune 0,55 mg flutikazon furoat içermektedir.               |
| PH 5,5 nazal<br>ortamı: Etanol<br>(60:40)                 | Diyaliz membran<br>membranı<br>(12-14 Kd) | 35°C     | 30 DPM | 5ml flutikazon furoat nazal sprej numunesi diyaliz membrana doldurulmuştur.      |
|                                                           |                                           |          |        | 250 ml Bio-diss hücresi<br>(Cnum: 0,011 mg/ml)                                   |
|                                                           |                                           |          |        | Etiket Değeri: 1 ml numune 0,55 mg flutikazon furoat içermektedir.               |

**Çizelge 2.11.** Franz difüzyon hücresi ile yapılan salım testleri koşulları

| Ortam                                               | Membran                                                                                              | Sıcaklık | Hız     | Numune Hazırlığı                                                     |
|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|---------|----------------------------------------------------------------------|
| %0,5 SLS içeren pH 5,5 nazal ortamı                 | 1-0,45 steril membran filtre<br>2-karışık selüloz membran filtre                                     | 35°C     | 100 RPM | 1ml flutikazon furoat nazal sprey numunesi enjektöre doldurulmuştur. |
|                                                     |                                                                                                      |          |         | 7 ml franz cell hücresi (Cnum: 0,079 mg/ml)                          |
|                                                     |                                                                                                      |          |         | Etiket Değeri: 1 ml numune 0,55 mg flutikazon furoat içermektedir.   |
| %2,0 SLS içeren pH 5,5 nazal ortamı                 | 1-0,45 steril membran filtre<br>2-karışık selüloz membran filtre                                     | 35°C     | 100 RPM | 1ml flutikazon furoat nazal sprey numunesi enjektöre doldurulmuştur. |
|                                                     |                                                                                                      |          |         | 7 ml franz cell hücresi (Cnum: 0,079 mg/ml)                          |
|                                                     |                                                                                                      |          |         | Etiket Değeri: 1 ml numune 0,55 mg flutikazon furoat içermektedir.   |
| %20 Etanol içeren pH 5,5 nazal ortamı               | 1-0,45 steril membran filtre<br>2-karışık selüloz membran filtre                                     | 35°C     | 100 RPM | 1ml flutikazon furoat nazal sprey numunesi enjektöre doldurulmuştur. |
|                                                     |                                                                                                      |          |         | 7 ml franz cell hücresi (Cnum: 0,079 mg/ml)                          |
|                                                     |                                                                                                      |          |         | Etiket Değeri: 1 ml numune 0,55 mg flutikazon furoat içermektedir.   |
| %30 PEG 400 (co-solvent) içeren pH 5,5 nazal ortamı | 1-0,45 steril membran filtre<br>2-Whatman 0,45 Selüloz Asetat membran filtre                         | 35°C     | 100 RPM | 1ml flutikazon furoat nazal sprey numunesi enjektöre doldurulmuştur. |
|                                                     |                                                                                                      |          |         | 7 ml franz cell hücresi (Cnum: 0,079 mg/ml)                          |
|                                                     |                                                                                                      |          |         | Etiket Değeri: 1 ml numune 0,55 mg flutikazon furoat içermektedir.   |
| %0,5 LDOA içeren pH 5,5 nazal ortamı                | 1-0,45 steril membran filtre<br>2-MDI 0,45 membran filtre<br>3- 0,45 PTFE Disk filtre membran filtre | 35°C     | 100 RPM | 1ml flutikazon furoat nazal sprey numunesi enjektöre doldurulmuştur. |
|                                                     |                                                                                                      |          |         | 7 ml franz cell hücresi (Cnum: 0,079 mg/ml)                          |
|                                                     |                                                                                                      |          |         | Etiket Değeri: 1 ml numune 0,55 mg flutikazon furoat içermektedir.   |

### 2.6.2. Süspansiyonun Reolojik Davranışının İncelenmesi

F03 formülasyonu ile hazırlanan süspansiyonun reolojik davranışını belirlemek için Brookfield DV2T Rotasyon Viskozimetresi kullanılmıştır. Viskozite tayini oda sıcaklığında S62 ve S63 milleri kullanılarak 50'şer mL numune üzerinde yapılmıştır. Milin dönü hızı 10-200 rpm aralığında, her hızda 60 sn bekletilerek artırılmış ve sonra

aynı şekilde hız düşürülmüştür. Çalışma sırasında tork'un % 10 üzerinde olmasına dikkat edilmiştir. Hesaplanan viskozite değerlerine karşı hız değerleri ile reogramlar çizilmiştir.

## **2.7. Ölçek Büyütme Çalışmaları**

Doğrudan laboratuvar ölçeğinden gerçek üretime geçişte prosesi optimize etmek daha zor olacağı için, gerçek üretim serisindeki üretime ait riskleri elimine edebilmek, prosesteki üretime yönelik kritik parametreleri saptayabilmek, seri boyutu artışının prosese etkisini gözlemleyebilmek için ölçek büyütme çalışmaları yapılmaktadır. QbD çalışması ile belirlenen en uygun formülasyonun ölçek büyütme değerlendirmesi amacıyla Bölüm 2.5.3.1'de anlatıldığı şekilde 3 seri üretim çalışması yapılmıştır (P2, P3 ve P4).

Bu üç seri proses validasyonu açısından değerlendirilmiştir. Ölçek büyütme çalışmaları ile hazırlanan bu serilerin ve üç farklı seri olarak temin edilen referans ürünün Bölüm 2.8'de anlatılan testleri yapılmış ve karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

Ayrıca bu serilerin  $25 \pm 2$  °C, %60  $\pm$  %5 BN (bağıl nem);  $30 \pm 2$  °C, %65  $\pm$  %5 BN ve  $40 \pm 2$  °C, %75  $\pm$  %5 BN koşulları altında stabilite testleri yapılmış ve bunlardan P2 numaralı serinin stabilite test sonuçları bulgulara verilmiştir (ICH, 2003).

## **2.8. Nazal Ürünler İçin EMA Kılavuzunda Belirtilen Testler**

Bu çalışma kapsamında basınçsız çok kullanımlı ve doz ayarlı bir nazal sprey ürünü geliştirilmiştir. Tez çalışmamızda seçilen primer ambalaj malzemesi referans ürün ile aynıdır ve amber renkli cam şişedir. Pompa sistemleri karşılaştırıldığında referans ürün sekonder ambalajı yandan püskürtmeli dizayn edilmiştir, fakat cihazın

mekanizması incelendiğinde üstten püskürtme yaptığı gözlenmektedir. Seçtiğimiz ürün pompası da üstten püskürtme yapmaktadır. Pompa performansları ise aynıdır. Geliştirilen ürününde de her bir püskürtme ile cihaz dışına, yaklaşık 27,5 mikrogram, mikronize flutikazon furoat verilmesini sağlayan pompa kullanılmıştır ve bu valide analitik metodlar ile test edilmiştir.

Optimum formülasyonun benzerliğini ve seçilen pompanın uygulama sonrası performansının benzerliğini göstermek için, Solunum ve Burun Ürünlerinin Farmasötik Kalitesine İlişkin EMA Kılavuzunda "Basınçsız Çoklu Kullanım" referans ürün ile farmasötik geliştirme çalışmaları “Ölçülü Dozlu Spreyler” başlığı altında belirtilen farmasötik geliştirme çalışmaları ve FDA-Nazal Aerosoller için Biyoyararlanım ve Biyoeşdeğerlik Çalışmaları ve Lokal Etki için Nazal Spreyler kılavuzuna uygun biyoeşdeğerlik çalışmaları yapılmıştır. Püskürtme pompasından çıkan numune miktarı, damlacık boyutu ve dağılımı, bulut geometrisi, püskürtme şekli gibi ürünün burun mukozasına verilmesi ile ilgili tüm testlerde benzerlik sağlanmıştır (EMA, 2006 ; FDA,2003).

EMA’nın inhalasyon ve nazal ürünlerin farmasötik kalitesine ilişkin kılavuzunda formülasyon gelişimi ve karakterizasyonunda gözönüne alınması gereken genel prensipler ve kalite özellikleri verilmektedir. Çizelge 2.12’de farmasötik ürün gelişiminde yapılması gereken çalışmalar belirtilmektedir. Çizelge 2.13’te ise bitmiş ürün spesifikasyonları yer almaktadır (EMA, 2006).

**Çizelge 2.12.** Nazal ürünler için farmasötik gelişim çalışmaları (EMA, 2006)

| Farmasötik Geliştirme Çalışmaları                          | Basınçlı Ölçülü Doz Burun Spreyleri | İnhalasyon Tozları (Cihaz Ölçümlü) | Nazal Sıvılar            |                          |                          |                                              |
|------------------------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------------------------|
|                                                            |                                     |                                    | Tek Kullanımlık Damlalar | Çoklu Kullanım Damlaları | Tek Kullanımlık Spreyler | Basınçsız Çok Kullanımlı Doz ayarlı Spreyler |
| (a) Fiziksel karakterizasyon                               | Evet*                               | Evet                               | Evet *                   | Evet *                   | Evet *                   | Evet *                                       |
| (b) Minimum dolum gereksinimi                              | Evet                                | Evet                               | Evet                     | Evet                     | Evet                     | Evet                                         |
| (c) Ekstrakte edilebilen/ Ayrışabilen maddeler             | Evet                                | Hayır                              | Evet                     | Evet                     | Evet                     | Evet                                         |
| (d) Ambalaj ömrü boyunca sağlanan iletilen doz tekdüzeliği | Evet                                | Evet                               | Hayır                    | Hayır                    | Hayır                    | Evet                                         |
| (h) partikül / damlacık büyüklüğü dağılımı                 | Evet                                | Evet                               | Hayır                    | Hayır                    | Evet                     | Evet                                         |
| (i) Aktivatör birikme testi                                | Evet                                | Evet                               | Hayır                    | Hayır                    | Evet                     | Evet                                         |
| (k) Çalkalama gereksinimi                                  | Evet*                               | Hayır                              | Evet *                   | Evet *                   | Evet *                   | Evet *                                       |
| (l, m) Şişeden ilk püskürtme ve yeniden püskürtme          | Evet                                | Hayır                              | Hayır                    | Hayır                    | Evet                     | Evet                                         |
| (n) Temizleme gereksinimi                                  | Evet                                | Evet                               | Hayır                    | Evet                     | Hayır                    | Evet                                         |
| (o) Düşük sıcaklık performansı                             | Evet                                | Hayır                              | Hayır                    | Hayır                    | Hayır                    | Hayır                                        |
| (p) Sıcaklık döngüsü sonrası performans testi              | Evet                                | Hayır                              | Hayır                    | Hayır                    | Evet                     | Evet                                         |
| (q) Çevresel nemin etkisi                                  | Evet                                | Evet                               | Hayır                    | Hayır                    | Hayır                    | Hayır                                        |
| (r) Sağlamlık                                              | Evet                                | Evet                               | Evet                     | Evet                     | Evet                     | Evet                                         |
| (s) Sprey performans testleri                              | Evet                                | Evet                               | Evet                     | Evet                     | Evet                     | Evet                                         |
| (t) Koruyucu etkinlik çalışması                            | Hayır                               | Hayır                              | Evet **                  | Evet **                  | Evet **                  | Evet **                                      |

\* Süspansiyonlar için.

\*\* Bir prezervatif mevcut ise.

**Çizelge 2.13.** Nazal ürünler için bitmiş ürün spesifikasyonları (EMA 2006)

| Testler                                |           | Spesifikasyonlar                                                                                                                                           | Gerekçeler                          |
|----------------------------------------|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| Görünüş                                |           | Beyaz renkli, homojen süspansiyon.                                                                                                                         | Referans ürüne benzer               |
| Tanımlama                              |           | Ölçülü doz sprey pompası olan amber renkli cam şişe içerisinde beyaz renkli homojen süspansiyon.                                                           | Referans ürüne benzer               |
| Flutikazon Furoat Tanıma               | A- UV/DAD | Numune ve standart kromatogramlarından elde edilen flutikazon furoat piklerinin alıkonma zamanları benzer olmalıdır.                                       | Karşılaştırma                       |
|                                        | B- DAD    | Test çözeltisi ve standart çözeltisindeki flutikazon furoat piklerinin spektrumları benzer olmalıdır.                                                      |                                     |
| Benzalkonyum Klorür Tanıma             | A- UV/DAD | Numune ve standart kromatogramlarından elde edilen benzalkonyum klorür piklerinin alıkonma zamanları benzer olmalıdır.                                     | Karşılaştırma                       |
|                                        | B- DAD    | Test çözeltisi ve standart çözeltisindeki benzalkonyum klorür piklerinin spektrumları benzer olmalıdır.                                                    |                                     |
| pH                                     |           | 5.0 - 7.0                                                                                                                                                  | EP 2.2.3 (EP, 2022)                 |
| Yoğunluk                               |           | 0,90 g/mL - 1.10 g/mL                                                                                                                                      | EP 2.2.5 (EP, 2022)                 |
| Viskozite                              |           | 120 cP - 200 cP                                                                                                                                            | EP 2.2.10 (EP, 2022)                |
| Partikül Büyüklüğü Dağılımı            |           | d50: 3 µm - 10 µm                                                                                                                                          | EP 2.9.31 (EP, 2022)                |
| Osmolalite                             |           | 290 mOsm/kg - 400 mOsm/kg                                                                                                                                  | EP 2.2.35 (EP, 2022)                |
| Flutikazon Furoat Miktar Tayini        |           | %95.0 - %105.0                                                                                                                                             |                                     |
| Benzalkonyum Klorür Miktar Tayini      |           | %90,0 - %110,0                                                                                                                                             |                                     |
| İletilen Doz İçerik Tekdüzeliliği      |           | 10 püskürtme için; her bir püskürtmeden en fazla bir tanesi %75-%125 aralığı dışında olabilir ve hiçbir püskürtme %65-%135 aralığının dışında olmamalıdır. | EP 0676 (EP, 2022)                  |
| Dozaj Ünitelerinin Tekdüzeliliği       |           | Dozaj birimlerinin tekdüzeliliği testi, EP 2.9.40'ta belirtilen analiz yöntemi kullanılarak gerçekleştirilir.                                              | EP 2.9.40 (EP,2022)                 |
| Minimum Dolum Ağırlığı (120 püskürtme) |           | ≥10 g<br>Her bir ölçüm sonucu USP 755 monografına uygun olmalıdır.                                                                                         | USP 755 (USP, 2022)                 |
| Ortalama Püskürtme Dozu                |           | %85-%115                                                                                                                                                   | EMA/CHMP/QWP/49313/2005 (EMA, 2006) |
| Her Bir Şişe İçin Püskürtme Sayısı     |           | Min. 120 püskürtme                                                                                                                                         | EMA/CHMP/QWP/49313/2005 (EMA, 2006) |
| Damlacık Büyüklüğü Dağılımı            |           | Maksimum %5<10 µm<br>d50: 30 µm - 70 µm                                                                                                                    | EMA/CHMP/QWP/49313/2005 (EMA, 2006) |

## **2.8.1. Nazal Ürünler İçin Uygulanan Test Metotları**

### **2.8.1.1. Görünüş**

Bir miktar örnek şeffaf bir behere alınmıştır ve örneğin görünüşü incelenmiştir.

### **2.8.1.2. Tanımlama**

Bir adet şişe alınmıştır ve görünüşü incelenmiştir.

### **2.8.1.3. Tanıma**

Flutikazon Furoat Tanıma : Tanıma A için HPLC (UV, DAD) ile miktar tayini yöntemine göre analiz edilmiştir. Tanıma B için HPLC (DAD) ile miktar tayini yöntemine göre analiz edilmiştir.

Benzalkonyum Klorür Tanıma : Tanıma A için HPLC (UV, DAD) ile miktar tayini yöntemine göre analiz edilmiştir. Tanıma B için HPLC (DAD) ile miktar tayini yöntemine göre analiz edilmiştir.

### **2.8.1.4. Minimum Dolum Ağırlığı**

Minimum dolum ağırlığı, USP <755> monografına uygun analiz edilmiştir. 10 adet dolu şişe seçilmiş, tartımları kaydedilmiştir. Şişelerin içerisi boşaltılmıştır ve eğer gerekirse uygun bir çözücü ile şişelerin içi yıkanmıştır, kurutulmuştur. Boş şişelerin tartımları kaydedilmiştir. İki ağırlık arasındaki farkla, şişe içerisindeki net miktar belirlenmiştir (USP, 2021).

#### 2.8.1.5. Ortalama Püskürtme Dozu

Aşağıdaki bölümde detayları verilen “İletilen Doz İçerik Tekdüzeliliği” testine göre analiz edilmiştir. “İletilen Doz İçerik Tekdüzeliliği” analizinden elde edilen sonuçların ortalaması alınarak, her bir püskürtmedeki flutikazon furoat doz miktarı hesaplanmıştır.

#### 2.8.1.6. İletilen Doz İçerik Tekdüzeliliği Ve Dozaj Üniteleri Tekdüzeliliği

İletilen doz içerik tekdüzeliliği ve dozaj üniteleri tekdüzeliliği HPLC analizi ile gerçekleştirilmektedir. İletilen Doz İçerik Tekdüzeliliği” analizinden elde edilen sonuçların ortalaması alınarak, her bir püskürtmedeki flutikazon furoat doz miktarı hesaplanır.

**Çizelge 2.14.** Kromatografik şartlar

|                    |                                       |
|--------------------|---------------------------------------|
| Kullanılacak Cihaz | UPLC; Waters, UV ya da PDA Dedektörlü |
| Kolon              | Waters BEH C18, 50 × 2.1mm, 1.7µm     |
| Dalga Boyu         | 240 nm                                |
| Akış Hızı          | 0,4 mL/dk / 0,4 mL/min                |
| Enjeksiyon Hacmi   | 10 µL                                 |
| Kolon Sıcaklığı    | 45 °C                                 |
| Numune Sıcaklığı   | 25 °C                                 |
| Enjeksiyon Süresi  | 10 dk                                 |
| Çözücü             | Asetonitril: Distile su (60:40)       |
| Hareketli Faz      | Asetonitril: Tampon (55:45)           |

Tampon çözeltisi: 6,8 g susuz potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 1000 mL’lik mobil faz şişesine alınmıştır ve hacmine distile su ile tamamlanmıştır. 0,2 µm filtreden süzölmüştür.

Standart çözelti: 11,0 mg flutikazon furoat çalışma standardı 100 mL’lik balonjojeye alınmış ve bir miktar çözücü ilave edilmiştir, vorteks yardımıyla 1 dk karıştırılmıştır ve ultrasonik banyoda 10 dk bekletilerek çözünmesi sağlanmıştır. Çözücü ile hacmine tamamlanmıştır. Hazırlanan çözeltiden 1,0 mL alınarak 20 mL’lik

balonjojeye aktarılmıştır ve hacmine çözücü ile tamamlanmıştır. 0,45 µm PTFE filtreden süzülerek viallenmiştir.

Numune çözeltisi: Bir kez püskürtülen numune 5 ml'lik balonjoje içerisine aktarılmıştır. Üzerine bir miktar çözücü ilave edilmiştir ve vorteks yardımıyla 1 dk karıştırılmıştır ve ultrasonik banyoda 10 dk bekletilerek çözünmesi sağlanmıştır. Çözücü ile hacmine tamamlanmıştır. 0,45 µm PTFE filtreden süzülerek viallenmiştir.

Test Prosedürü: Sprey şişesi ilk olarak altı kez püskürtülmüştür. Ardından başlangıç, yarı, son ambalaj ömrü ve sonrası zamanlarında en az 10 kez olacak şekilde püskürtme yapılmıştır ve her bir püskürtme sonucu ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Dozaj ünitelerinin tekdüzeliği testi için ise 10 farklı şişeden, her şişeden bir adet olmak üzere 10 adet numune hazırlanmıştır.

İletilen doz içerik tekdüzeliği için EP 0676 kriterleri sağlanmalıdır. Dozaj ünitelerinin tekdüzeliği için EP 2.9.40 metoduna göre kabul değeri (AV) hesaplanmıştır. Sonuçlar kabul kriterlerini karşılamalıdır (EP, 2022).

#### **2.8.1.7. Her Bir Şişe İçin Püskürtme Sayısı**

Her bir şişedeki püskürtme sayısını belirlemek için şişe dik konuma getirilerek tartılmıştır (P1). Bir püskürtme yapılmıştır. Şişe tekrar dik konuma getirilerek tartılmıştır (P2). Tek bir dozun ağırlığı hesaplanmıştır ( P2-P1). Aktüvatör bir emici yardımıyla temizlenmiştir. Bu işlem kaydedilen dozaj ağırlığı sıfır olana kadar tekrarlanmıştır. Her bir şişedeki ürün tükenene kadar kaç adet püskürtme yapıldığı hesaplanmıştır (n=3).

#### 2.8.1.8. Yoğunluk

Test numunesinin yoğunluğu EP 2.2.5'e göre 20°C'de ölçülmüştür (EP, 2022). 5 mL numune enjektör yardımı ile dansitometre cihazına yüklenmiş ve analiz başlatılmıştır. Ölçüm yapılmadan önce numune şişesi kuvvetlice çalkalanmıştır.

#### 2.8.1.9. Damlacık Büyüklüğü Dağılımı

Süspansiyon dozaj formunda olan referans ürünü ve Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon test ürünü için partikül ve damlacık büyüklüğü dağılım testi yapılarak, burun spreynin püskürtülmesinden sonra burun mukozasının hedef bölgesinde adsorbe olacak partiküllerin ve damlacıkların partikül büyüklüğü dağılımının ve damlacıkların büyüklüğü dağılımının belirlenmesi amaçlanmıştır. Damlacık büyüklüğü dağılımı Şekil 2.1'de verilen Malvern Spraytec (İngiltere) sistemi ile ölçülmüştür.



Şekil 2.1. Nazal pompa spreylelerinin karakterizasyonu için Malvern Spraytec sistemi

Çizelge 2.15'te detayları verilmiş olan analitik metod kullanılarak, damlacık büyüklüğü dağılımı analizi yapılmıştır. Ölçüm yapılmadan önce spreyci şişesi kuvvetlice çalkalanmıştır. Ardından en az 6 kez püskürtme yapılmıştır ve şişecik ölçüm için hazırlanmıştır.

**Çizelge 2.15.** Damlacık büyüklüğü dağılımı ölçüm parametreleri

|                               |                      |
|-------------------------------|----------------------|
| Cihaz                         | Spraytech-Open Spray |
| Donanım                       | NSS Sistem           |
| Ölçüm Tipi                    | Hızlı                |
| Data Alım Oranı               | 2.5 kHz              |
| Lazere Dikey Uzaklık          | 45 mm                |
| Açı (°)                       | 0°                   |
| Püskürtme Sayısı              | 6                    |
| Püskürtme Süresi              | 400,0 ms             |
| Ölçüm Ortamı                  | Su                   |
| Ölçüm Ortamı Refraktif İndeks | 1.33                 |
| Ölçüm Ortamı Yoğunluğu (g/mL) | 1.00                 |
| Dispersant Adı                | Hava                 |
| Dispersant Refraktif İndeksi  | 1.00                 |

#### 2.8.1.10. Ağırlık Kaybı

Yatay, dikey ve ters şekilde konumlandırılmış, her bir pozisyon için 10'ar adet numune numaralandırılmıştır ve her bir numunenin başlangıç ağırlığı ( $W_0$ ) alınmış ve sonuçlar kaydedilmiştir. Raf ömrü süresinde, aynı numuneler teker teker tartılmıştır ( $W_t$ ) ve sonuçlar kaydedilmiştir. Eşitlik 2'de belirtilen formül ile hesaplama yapılmıştır.

$$\% \text{ K\u00fctle Kayb\u0131} = \frac{(W_0 - W_t)}{W_0} \times 100 \quad (\text{E\u015fitlik 2})$$

#### 2.8.1.11. Viskozite

50 mL analiz numunesi, viskozite ölçüm t\u00fcp\u00fcne çalkalamadan direkt aktarılmıştır. Rotasyon viskozimetre parametreleri ayarlanmıştır, S62 mili kullanılarak numune 90

rpm’de tork değeri  $\%50 \pm \%10$  olana kadar karıştırılmıştır. Hedef değere ulaşıldığında, viskozite değeri EP 2.2.10’a göre ölçülmüş ve sonuç kaydedilmiştir (EP, 2022).

**Çizelge 2.16.** Viskozite ölçüm parametreleri

|                  |                      |
|------------------|----------------------|
| Cihaz            | Brookfield DV II+Pro |
| Mil              | S62                  |
| Dönüş Hızı       | 90 rpm               |
| Numune Hacmi     | 50 mL                |
| Numune Sıcaklığı | Oda sıcaklığı        |
| Tork             | $\%50 \pm \%10$      |

Viskozite ölçümü, formülasyon üretildikten 24 saat sonrasında yapılmıştır.

#### 2.8.1.12. Osmolalite

Bir adet şişe iyice çalkalanmıştır ve açılmıştır. Numunenin osmolalite değeri EP 2.2.35’e uygun olarak ozmometrede ölçülmüştür (EP, 2022).

#### 2.8.1.13. pH

10 mL numune uygun bir kaba alınmıştır. Numunenin pH değeri, kalibrasyonu yapılmış pH metre ile EP 2.2.5’e uygun cihazda ölçülmüştür (EP, 2022).

#### 2.8.1.14. Partikül Büyüklüğü Dağılımı

Yaklaşık 10 mL örnek ile çalışılmıştır. Etkin madde partikül çap ve dağılımı lazer difraksiyon yöntemi ile belirlenmiştir. Dispersiyon ortamı olarak su kullanılmış ve obskürasyon (karatma) derecesi  $\%2-20$  arasında olacak şekilde Çizelge 2.3’te belirtilen koşullara uygun ölçümler yapılmıştır.

#### **2.8.1.15. Flutikazon Furoat Ve Benzalkonyum Klorür Miktar Tayini**

Bölüm 2.4 'de anlatıldığı şekilde analiz yapılmış ve yöntem valide edilmiştir.

#### **2.8.1.16. Gerekli Minimum Dolum Miktarı**

Referans ürün etiketinde belirtilen doz sayısını sağlamak için ambalaj materyaline doldurulması gereken ürün miktarını belirlemek amacıyla gereken minimum dolum miktarı tespit edilmiştir. Referans ürün etiketinde bir ambalajda 120 dozluk kullanım olduğu belirtilmektedir. Referans ürün etiketinde verilen bu bilginin tespiti için; ilk olarak tek dozun (tek püskürtmenin) ağırlığı ve ardışık on dozun ortalama ağırlık tekdüzeliği tespit edilmiştir. Referans ürün ambalajındaki ürünün tamamı tükenene kadar püskürtme yapılmış ve bir şişe içerisinde yer alan ürün ile kaç dozlama yapılabildiği hesaplanmıştır.

#### **2.8.1.17. Tek Doz (Püskürtmenin) Ağırlığı ve On Dozun Ağırlık Ortalaması**

Oda sıcaklığında muhafaza edilen 6 farklı şişe için belirtilen test prosedürü uygulanarak test ve referans ürüne ait tek dozun ağırlığı tespit edilmiştir. Sprey şişesinden ilk tam doz alınana kadar şişe, her püskürtmeden sonra tartılarak hazır hale getirilmiştir. Şişe dik konuma getirilerek tartılmıştır ve tartım sonucu kaydedilmiştir (P1). Bir püskürtme yapılmıştır. Şişe tekrar dik konuma getirilerek tartılmıştır ve tartım sonucu kaydedilmiştir (P2). P1-P2 formülü ile tek bir dozun ağırlığı hesaplanmıştır. Aktüvatör bir emici yardımıyla temizlenmiştir. İlk 6 adım her bir şişe için on kez gerçekleştirilmiştir. On dozun ortalama ağırlığı için ardışık on püskürtme yapılarak on dozun ağırlığı hesaplanmıştır. Bu işlem her bir şişe için üç kez tekrar edilmiştir.

#### **2.8.1.18. Minimum Dolum Gereksinimi**

Oda sıcaklığında muhafaza edilen 3 farklı şişe için belirtilen test prosedürü uygulanarak test ve referans ürüne ait şişelerden kaç dozlama yapılabildiği tespit edilmiştir. Tartım sıfırlanmıştır. Şişe dik konuma getirilerek tartılmıştır ve tartım sonucu kaydedilmiştir (P1). Bir püskürtme yapılmıştır. Şişe tekrar dik konuma getirilerek tartılmıştır ve tartım sonucu kaydedilmiştir (P2). P1-P2 formülü ile tek bir dozun ağırlığı hesaplanmıştır. Aktüvatör bir emici yardımıyla temizlenmiştir. Bu işlem kaydedilen doz ağırlığı sıfıra eşit olana kadar tekrarlanmıştır. Ürün tükenene kadar spesifikasyon dahilinde kaç adet dozlama yapıldığı hesaplanmıştır.

#### **2.8.1.19. Ambalaj Ömrü Boyunca Sağlanan İletilen Doz Tekdüzeliliği**

Bu test, referans ürününün ve Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon test ürünün primer ambalajı içerisinde yer alan toplam dozlama sayısı boyunca sağlanan iletilen doz tekdüzeliğinin tespit edilmesi için yapılmıştır. Etiketinde belirtilen saklama koşulunda muhafaza edilen ürünlerden 3 farklı şişe aşağıda belirtilen test prosedürüne göre test edilmiştir. Referans ürünün ardından aynı testler 3 farklı seri numaralı test ürün için de yapılmıştır.

Test Prosedürü: Sprey şişesi ilk olarak altı kez püskürtülmüştür. Ardından başlangıç, yarı, son ambalaj ömrü ve sonrası zamanlarında en az 10 kez olacak şekilde püskürtme yapılmıştır ve her bir püskürtme sonucu ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Her bir zaman noktası için 10 ayrı püskürtmeden elde edilen sonuçlar ambalaj ömrü boyunca iletilen doz tekdüzeliğinin hesaplanmasında kullanılmıştır.

#### **2.8.1.20. Aktüvatör Birikme Testi**

Bu test, Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon ürünü sprej aktüvatöründe biriken ürün miktarını belirlemek ve orijinal ürün ile karşılaştırmak için yapılmıştır.

Test Prodesürü: 5 şişe ürün alınmıştır. İlk olarak her bir aktüvatör, şişe ile birleştirilmeden tartılmıştır (t0). Aktüvatör yerleştirilmiştir ve 6 kez püskürtme uygulanarak pompa, daldırma borusu, gövde ve aktüvatör ürün ile doldurulmuştur. Bütün aktüvatörler şişelerden çıkartılarak ılık su ile yıkanmıştır ardından iyice kurutularak tartılmıştır (t1). Aktüvatörler tekrar şişelere takılarak 1 kez püskürtme yapılarak ürünün sadece aktüvatörde birikmesi sağlanmıştır. Aktüvatörler tekrar çıkarılarak tartılmıştır (t2). Daha sonra aktüvatörler ılık su ile yıkanarak iyice kurutulmuştur ve tartılmıştır (t3). t2-t0 sonucu aktüvatörde kalan ürün miktarını vermektedir. t3-t0 ve t1-t0 işlemlerinin sonuçları arasındaki fark ise aktüvatöre uygulanan yıkama ve kurutma işlemlerinin uygunluğunu göstermektedir. Bu işlemler her bir şişe için 3 kez uygulanmıştır.

#### **2.8.1.21. Çalkalama Gereksinimi**

Referans ürünü ve Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon test ürünü, süspansiyon formunda bir formülasyona sahip olduğu ve tiksotropik özellikte olduğu için her kullanım öncesi çalkalanması gereklidir. Ek olarak referans ürün etiketinde belirtilen “Burun spreyni çalkalayınız.” uyarısının yeterli olduğunu göstermek amacıyla çalkalama gereksinimi testi yapılmıştır. Köpürme veya yetersiz sallama ile gerçekleşebilecek yanlış dozlama ihtimali yapılan doz tekdüzeliği testleri ile test edilerek uygun çalkalama süresi tespit edilmiştir.

Test Prosedürü: Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon test ürüne ait 5 farklı şişe sırasıyla 3 saniye, 5 saniye ve 10 saniye boyunca alt üst ederek yavaşça (saniyede bir kez çalkalama hızı ile) çalkalanmıştır. Her bir çalkalama süresi sonunda

her şişeden püskürtülen doz için tek doz ağırlığı ve doz tekdüzeliği kapsamında miktar tayini analizi yapılmıştır.

#### **2.8.1.22. Şişeden İlk Püskürtme ve Yeniden Püskürtme**

Bu çalışma yatay ve dikey gibi farklı konumda depolanan ürünün ilk defa kullanımında atık olarak değerlendirilmesi gereken püskürtme sayısını belirlemek için yapılmıştır. Aynı zamanda şişenin kullanılmadığı süre sonunda yeniden püskürtüldüğünde atık olarak değerlendirilmesi gereken püskürtme sayısını belirlemek için yeniden püskürtme çalışması yapılmıştır. Test Prosedürü: 20 adet püskürtme yapılmamış spreyl şişesi alınmıştır. 10 adet spreyl şişesi dikey konumda, 10 adet spreyl şişesi yatay konumda test edilmiştir. Her bir spreyl şişesi 6 kez püskürtme yapılarak her bir püskürtme sonucu elde edilen örnekteki flutikazon furoat miktar tayini tespit edilmiştir. Test tamamlandıktan sonra şişeler 25°C %60 BN koşulundaki kabinlere kaldırılmıştır. İlk püskürtme ve yeniden püskürtme testi 15. gün ve 30. günde tekrarlanmıştır.

#### **2.8.1.23. Sıcaklık Döngüsü Sonrası Performans Testi**

Bu çalışma sıcaklık döngüsünün Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon test ürününün iletilen doz homojenliğe etkisinin değerlendirilmesi için yapılmıştır. 10 adet Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon dikey konumda, 10 adet Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon yatay konumda depolanarak test edilmiştir. Test parametreleri ambalaj materyalinin görsel değişikliği, şişelerin ortalama ağırlık değişimi, ortalama püskürtme dozu, partikül boyutu dağılımı, iletilen doz tekdüzeliği ve bozunma ürünleri miktar tayinidir.

Test prosedürü: Burun spreyl şişeleri stabilite kabinlerinde 12 gün depolanmıştır. Sıcaklık döngüsü koşulları 25°C %60 BN ve 40°C %75 BN'dir. Burun spreyl şişeleri her bir sıcaklık koşulunda 6 tekrarlı olacak şekilde depolanmıştır. Her bir sıcaklık

döngüsü süresi 24 saat olarak uygulanmıştır. Şişeler başlangıç değerlerini belirlemek için analiz edilmiştir. Sıcaklık döngüsü prosedürü 25°C %60 BN koşulunda başlatılmış ve her 24 saate bir 40°C %75 BN ve 25°C %60 BN arasında değiştirilerek bu döngü 12 gün boyunca devam ettirilmiştir. 6. günde ara koşul analizleri ve 12. günün sonunda ise final analizler yapılmıştır.

#### **2.8.1.24. Koruyucu Etkinlik Çalışması**

Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon önerilen saklama koşulunda, kullanımı süresince olası mikrobiyal üremeyi sınırlandırmak için ürün bileşiminde yer alan antimikrobiyal koruyucunun etkinliğini ölçmek ve kanıtlamak için yapılan bir çalışmadır. Analiz sonuçları Avrupa Farmakopesi'nin "5.3.1. Efficacy of Antimicrobial Preservation" monografında verilen kabul limitleri dikkate alarak değerlendirilmiştir (EP, 2022). Çalışmalar mikrobiyoloji departmanı ile yürütülmüştür.

#### **Besiyerleri ve Çözeltiler**

Besiyerleri ve çözeltiler prosedürüne göre hazırlanmıştır. Prosedür etkin madde karakterizasyon testlerinde belirtilmektedir.

#### **Test Organizmalarının Hazırlanması**

Test organizmaları olarak liyofilize kültürlerden elde edilen mikroorganizmalar kullanılmıştır. Bu mikroorganizmalardan bakteriler Casein Soya Bean Agar yüzeyine ve funguslar antibiyotik içermeyen Sabouraud Glucose Agar yüzeyine sürülerek inoküle edilmiştir. Bakteri kültürleri 30-35°C'de 18-24 saat, C.albicans kültürleri 20-25°C'de 48 saat, A.brasiliensis kültürleri ise 20-25°C'de 1 hafta veya iyi bir sporulasyon elde edilinceye kadar inkübe edilmiştir. Bakteri ve C.albicans kültürlerini toplamak için

FTS kullanılmıştır, yüzey yıkanmış ve uygun bir kapta toplanmıştır. Yeterli miktarda FTS eklenerek mikroorganizma sayısı  $1 \times 10^8$  cfu/ml'e getirilmiştir. A.brasiliensis kültürlerini toplamak içinse %0,05 polysorbate 80 içeren FTS kullanılmıştır ve  $1 \times 10^8$  cfu/ml elde etmek için yeterli miktarda FTS eklenmiştir. Ürüne eklenecek dilasyonun spektrofotometrede 580 nm'de absorbansı ölçülerek kaydedilmiştir. Başlangıç mikroorganizma sayısını bulmak için eklenen her süspansiyonda mL'deki mikroorganizma sayısı, besiyeri ve inkübasyon süresi koşulları uygulanarak tayin edilmiştir. Inkübasyon sonunda iki petrideki sonucun ortalaması alınmıştır ve dilasyon katsayısıyla çarpılıp ürüne eklenen dilüsyondaki mikroorganizma sayısı bulunmuştur. Bu değer, testte kullanılan inokulum miktarını hesaplamaya yarar. Geçilen pasajlar ve sayım için inokulum olarak kullanılan mikroorganizma süspansiyonundan yapılan dilasyonların kayıtları ve sonuçları ilgili prosedürün eklerine kaydedilmiştir.

### Ürün Analizi

Mikroorganizma süspansiyonu, ürüne mililitresinde veya gramında  $10^5 - 10^6$  mikroorganizma olacak şekilde eklenmiştir. İnokulum süspansiyonu ürün hacminin %1'ini aşmamalıdır. Homojen bir süspansiyon elde etmek için ürünün bulunduğu kap karıştırılmıştır. Çizelge 2.17 'de belirtilen periyotlarda ürün mikrobiyal limit test analizine alınmıştır . Belirlenen aralıklardaki mikroorganizma sayım sonuçlarını bulmak için iki petri çalışılmıştır, ortalama sonuç hesaplanmış ve dilasyon katsayısıyla çarpılıp üründe bulunan mikroorganizma sayısı hesaplanmıştır. Nötrale edici inaktivatör kullanıldığında mikroorganizmaların üreyebilirliğini gösteren uygun kontroller yapılmalıdır.

**Çizelge 2.17.** Nonsteril nazal ürünler için değerlendirme

| <b><u>Başlangıç Mikroorganizma Sayısına Göre Logaritmik Azalma</u></b> |                                               |                                                         |
|------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
|                                                                        | <b>14. gün</b>                                | <b>28. gün</b>                                          |
| <b>Bakteriler</b>                                                      | 2                                             | 14. güne göre m.o. sayısında artış olmamalı             |
| <b>Küf - Maya</b>                                                      | Başlangıca göre m.o. sayısında artış olmamalı | Başlangıca göre mikroorganizma sayısında artış olmamalı |

#### **2.8.1.25. Süspansiyonun Fiziksel Stabilitesi**

Bu çalışma süspansiyonun fiziksel olarak stabilite durumunun tespit edilmesi ve disperse olan partiküllerin çökme durumlarının değerlendirilmesi için yapılmıştır. Test Prosedürü: Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon test ürünü bir mezüre aktarılmıştır ve hacmi tespit edilmiştir. Mezüre alınan numune 40°C %75 BN koşulunda stabilite kabini içinde iki hafta bekletilmiştir. Stabilite süresinin sonunda mezür içindeki ürünün hacim değişikliği ve çökme hacmi görsel olarak izlenmiştir.

#### **2.8.1.26. Zeta Potansiyel Analizi**

Bu test kılavuz kapsamında değildir. 3 seri validasyon serisi ve referans ürün için zeta potansiyel analizi yapılarak süspansiyon stabilitesine katkısı incelenmiştir. Zeta potansiyeli için yaklaşık 1 mL ürün zeta kuvetlere alınarak cihazda ölçümü alınmıştır.

#### **2.8.1.28. Ekstre Edilebilir ve Sızabilir Maddeler**

Ekstre edilebilir ve sızabilir maddeler kapsamında risk değerlendirilmesi yapılmıştır. Risk değerlendirmesi sonucunda herhangi bir test çalışması yapılmamıştır.

#### **2.8.1.27. Sağlamlık**

Ürün performansı, hastalar tarafından kullanımı simüle etmek için gerekli şartlar altında araştırılmıştır. Bu, uygulama cihazının kullanım talimatlarında belirtilen sıklıkta aktifleştirilmesini gerektirmektedir.

Bu çalışma, nakliyenin ilgili ürünler üzerinde; referans ürün ve test ürününde; kap ömrü (SCU) boyunca iletilen doz tekdüzeliği, partikül boyutu dağılımı, damlacık üzerindeki etkisini değerlendirmek için gerçekleştirilmiştir.

Nazal sprey şişeleri birkaç kez İstanbul ve İzmir olmak üzere iki şehir arasında (yaklaşık 500 km) taşınmıştır. Başlangıç noktasına 3. gelişte (yaklaşık 3000 km) ve 6. gelişte (yaklaşık 6000 km) test ve referans ürün için görünüm, partikül boyutu dağılımı, damlacık boyutu dağılımı ve kap ömrü boyunca iletilen doz tekdüzeliği (SCU) analizleri yapılmıştır.

#### **2.8.1.28. Dozlama Yönünün Etkisi**

Nazal sprey ilaç ürünleri için, çeşitli dozlama yönelimlerinde iletilen doz tekdüzeliği ve damlacık boyutu dağılımı açısından cihazların karşılaştırmalı performansını belirlemek için çalışmalar yapılmalıdır. Dikey, yatay ve ters yönde çalışmalar yapılmıştır. Yapılan analizlerin test metotları Bölüm 2.8’de bölümünde verilmiştir.

### **2.9. Nazal Sprey Ürünlerde İn Vitro Biyoeşdeğerliğin Değerlendirilmesi İçin Yapılan Testler ve Metotları**

Test ve referans ürün arasındaki terapötik eşdeğerliği göstermek için FDA kılavuzunda belirtilen aşağıdaki in vitro performans çalışmaları yapılmıştır (FDA, 2003).

- Ürün Kabı Kullanım Süresince Tek Bir Aktivasyon İçeriği (SCU)
- Damlacık boyut dağılımı (DSD)
- Aerodinamik partikül boyut dağılımı
- Aglomere partikül boyut dağılımı
  - PSD (Parçacık boyutu dağılımı lazer difraksiyon metodu ile)
  - PSD (Raman spektroskopisi)
- Sprey İzi
- Bulut Geometrisi
- Püskürtme ve Tekrar püskürtme

Yukarıdaki testlere ek olarak EMA kılavuzunda belirtilen ve açıklamaları daha önce verilen testler için de ABE ve PBE hesaplamaları yapılarak benzerlik gösterilmiştir. Bu testler aşağıdaki gibidir;

- Çalkalama gereksinimi (Bölüm 2.8.1.21)
- Sıcaklık Döngüsü Sonrası Performans (Bölüm 2.8.1.22)
- Yoğunluk (Bölüm 2.8.1.8)
- Viskozite (Bölüm 2.8.1.11)
- Osmolalite (Bölüm 2.8.1.12)
- pH (Bölüm 2.8.1.13)
- Dozlama Yönünün Etkisi (2.8.1.28)

#### **2.9.1. Ürün Kabı Kullanım Süresince Tek Bir Aktivasyon İçeriği (SCU)**

Bu test, etikette belirtilen etkin madde miktarının aktüvatör ile salımının test edilmesi amacıyla uygulanmaktadır. Referans ürünün 3 serinin her birinden seçilen 10 şişe ve test ürününün 3 serinin her birinden seçilen 10 şişe üzerinde analiz yapılmıştır. Şişe çalkalanmış ve sprey pompası ile 6 kez dışarı püskürtme yapılarak numune hazır hale getirilmiştir. Test, kullanım ömrü aşamasının başında, yani 7. pufda, (+1 olarak anılır), kullanım ömrünün ortasında, yani 66. Puff'da (+60 olarak adlandırılır) ve şişe ömrünün sonunda, yani 126. pufda (+120 olarak adlandırılır) gerçekleştirilmiştir. Her çalışma, Bölüm 2.8.1.6'da verilen iletilen doz içerik tekdüzeliği yöntemi ile analizlenmiştir.

#### **2.9.2. Lazer Kırınımı ile Damlacık Büyüklüğü Dağılımı (DSD)**

Kılavuzda belirtilen şartlar doğrultusunda damlacık büyüklüğü dağılımı lazere kaynağına dikey uzaklık 2 -7 cm'lik bir aralık içinde, iki mesafe arası 3 cm veya daha fazla olacak şekilde gerçekleştirilmelidir. Analizler 3 cm ve 6 cm olmak üzere iki farklı mesafede yapılmıştır, Çalışma 3 seri referans ürün ve 3 seri test ürün ile yapılmıştır.

Her bir seriden 10'ar şişe analizlenmiştir. Çizelge 2.18'de detayları verilmiş olan analitik metod kullanılarak, damlacık büyüklüğü dağılımı analizi yapılmıştır. Ölçüm yapılmadan önce spreyl şişesi kuvvetlice çalkalanmıştır. Ardından en az 6 kez püskürtme yapılmıştır ve şişe ölçüm için hazır hale getirilmiştir. Test, her bir nazal spreyl için kullanım ömrünün başlangıcında, 7. püskürtme'de (#1 olarak anılır) ve şişe ömrünün sonunda 126. püskürtme'de (#120 olarak anılır) gerçekleştirilmiştir.

**Çizelge 2.18.** Damlacık büyüklüğü ve dağılımı analiz koşulları

|                                        |                      |
|----------------------------------------|----------------------|
| Cihaz                                  | Spraytech-Open Spray |
| Donanım                                | NSS Sistem           |
| Ölçüm Tipi                             | Hızlı                |
| Data Alım Oranı                        | 2.5 kHz              |
| Lazere Dikey Uzaklık                   | 30 mm & 60 mm        |
| Açı (°)                                | 0°                   |
| Püskürtme Sayısı                       | 6                    |
| Püskürtme Süresi                       | 400,0 ms             |
| Ölçüm Ortamı adı                       | Su                   |
| Ölçüm Ortamı Refraktif İndeks (gerçek) | 1.33                 |
| Ölçüm Ortamı Yoğunluğu (g/mL)          | 1.00                 |
| Dispersant Adı                         | Hava                 |
| Dispersant Refraktif İndeksi           | 1.00                 |

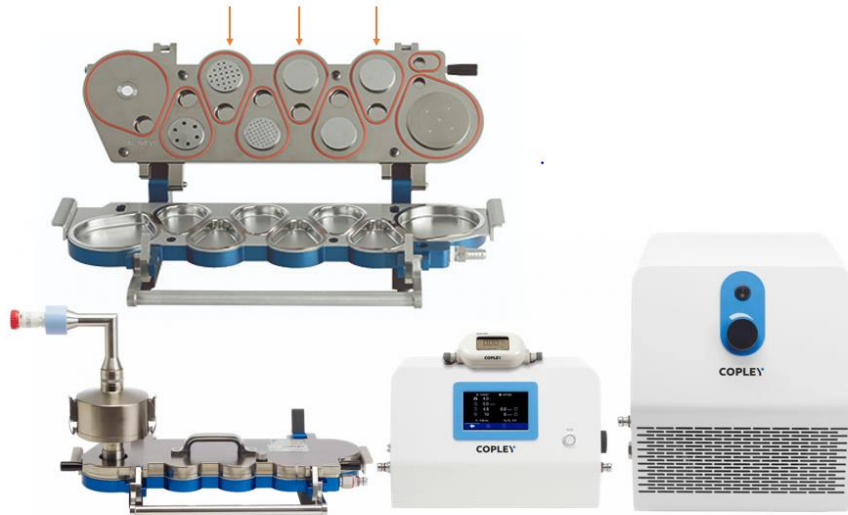
### 2.9.3. Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı

Süspansiyon formülasyonlarında etkin madde partikül büyüklüğü dağılımı, etkin maddenin nazal etki bölgelerine ve sistemik dolaşıma ulaşma oranını ve kapsamını etkileme potansiyeline sahiptir.

Bu test, Copley Yeni Nesil Impactor (NGI) kullanılarak ve morfolojiye yönelik Raman spektroskopisi veya başka herhangi bir gelişmiş metodoloji gibi bir analitik yöntem kullanılarak doğru bir şekilde ölçülebilmekte ve karşılaştırmalı partikül verileri sunabilmektedir. Tez çalışmamız kapsamında NGI analizi ve Raman spektroskopisi analizleri yapılmıştır.

### 2.9.3.1. Aerodinamik partikül boyut dağılımı (Küçük Damlacıklar)

Şekil 2.2’de görseli verilen NGI ile test ve referans ürünlerdeki küçük damlacıkların ( $< 9 \mu\text{m}$ , üst aşamanın altında) nispi miktarını belirlemek için burun spreyleri üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. En üst aşamanın altına bırakılan etkin madde miktarı birincil ilgi alanı olduğundan, etkin madde biriktirme iki gruba ayrılmalıdır. Grup 1, boyutu  $< 9 \mu\text{m}$  olan üst aşamanın altına bırakılan tüm etkin maddeleri içermelidir. Grup 2, tüm aşamalarda ve aksesuarlarda toplanan ilacın toplam kütlesini içermelidir. Ölçüm yapılmadan önce spreylere şişesi kuvvetlice çalkalanmıştır. Ardından en az 6 kez püskürtme yapılmıştır ve şişe ölçüm için hazır hale getirilmiştir. Test, her bir nazal spreylere için kullanım ömrünün başlangıcında, 7. püskürtme’de (#1 olarak anılır) ve şişe ömrünün sonunda 126. püskürtme’de (#120 olarak anılır) gerçekleştirilmiştir. Burunluk adaptörüne yerleştirilen numune bir kez cam genişletme odasına püskürtülmüştür. Çizelge 2.19’da gösterilen koşullarda 10 püskürtme yapılmış, her bir aşamada toplanan numune çözücü ile yıkanarak 50 mL’lik ölçülü balonlara alınmıştır ve Flutikazon Furoat 27,5  $\mu\text{g}$  Burun Spreyi, Süspansiyon için UPLC yöntemi ile küçük damlacıklarda flutikazon furoat miktar tayini testi uygulanmıştır (Çizelge 2.21).



Şekil 2.2. NGI cihazı

**Çizelge 2.19.** NGI koşulları

|                    |                         |
|--------------------|-------------------------|
| Kullanılan Cihaz   | Copley NGI Cihazı       |
| Kullanılan Ekipman | 2L Cam Genleşme Haznesi |
| Vakum Akış Oranı   | 28.3 L/dk               |
| Püskürtme Sayısı   | 10                      |

**Çizelge 2.20.** Kromatografik koşullar

|                   |                                        |
|-------------------|----------------------------------------|
| Kullanılan Cihaz  | UPLC; Waters (UV ya da PDA Dedektörlü) |
| Kolon             | Waters BEH C18, 50 × 2.1mm, 1.7µm      |
| Dalga Boyu        | 240 nm                                 |
| Akış Hızı         | 0,4 mL/dk                              |
| Enjeksiyon Hacmi  | 10 µL                                  |
| Kolon Sıcaklığı   | 45 °C                                  |
| Numune Sıcaklığı  | 25 °C                                  |
| Enjeksiyon Süresi | 10 dakika                              |
| Çözücü            | Asetonitril : Distile su (60:40)       |
| Mobil Faz         | Asetonitril : Tampon (55:45)           |

Tampon çözelti hazırlığı için, 6.8 g susuz Potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 1000 mL’lik mobil faz şişesine alınmıştır ve hacmine distile su ile tamamlanmıştır. 0,2 µm filtreden süzölmüştür. Standart çözelti hazırlığı için 11,0 mg flutikazon furoat çalışma standardı 100 mL’lik balonjojeye tartılmıştır. Üzerine bir miktar çözücü ilave edilmiştir, vorteks yardımıyla 1 dk karıştırılmıştır ve ultrasonik banyoda 10 dakika bekletilerek çözünmesi sağlanmıştır. Çözücü ile hacmine tamamlanmıştır. Hazırlanan çözeltiden 1,0 mL alınarak 20 mL’lik balonjojeye aktarılmıştır ve hacmine çözücü ile tamamlanmıştır. 0,45 µm PTFE filtreden süzülerek viallenmiştir. Ekipman Hazırlığı için; NGI cihazının kısımları belirli boyutta açıklığa sahip plakalar (stage) yerleştirilerek kilitleme kulpundan kapatılmıştır ve kaçak testi yapılarak kaçak olup olmadığı kontrol edilmiştir. 2L cam genleşme haznesi, metal bağlantı aparatı yardımıyla NGI cihazının giriş kısmına yerleştirilmiş ve klips ile sabitlenmiştir. İlk olarak akış ölçer açılmış, sonrasında cihaz açılmıştır. Akış ölçer, ucuna takılan adaptör yardımıyla cam genleşme haznesine hassas bir şekilde bağlanmıştır. Vakum pompaları aynı anda açılmıştır. Cihaz menüsünden akış değeri yaklaşık 28,3 L/dk seviyesine cihaz üzerinden ayarlanmıştır. Sonrasında akış ayarı tamamlanmış ve akış ölçer cihazdan çıkarılmıştır. Burunluk adaptörü cam genleşme haznesine hassas bir şekilde yerleştirilmiştir. Cihaz menüsünden ölçüm parametreleri girilmiştir. Numune

çözeltisinin hazırlanışı için; burunluk adaptörüne yerleştirilen numune, RUN tuşuyla eş zamanlı olarak cam genleşme haznesi içerisine bir kez püskürtülmüştür ve 2,4 sn boyunca işlemin bitmesi beklenmiştir. Bir numune hazırlığı için, aynı işlem 10 kez tekrar edilmiştir. Çizelge 2.21’de gösterilen kısımlardan toplanan numune, belirtilen hacimdeki balonjojelere çözücü ile yıkama yapılarak alınmıştır.

**Çizelge 2.21.** Numune hazırlığı hacimleri

| Kısım | Numune                                                                        | Balonjoje Hacmi (mL) |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| Kafa  | Cam Genişletme Odası + Giriş Kısım + Burunluk adaptörü                        | 50                   |
| Kısım | Kısım 1 + Kısım 2 + Kısım 3 + Kısım 4 + Kısım 5 + Kısım 6 + Kısım 7 + Kısım 8 | 50                   |

**Kafa Numune:** Cam Genleşme Haznesi + Giriş kısmı + Burunluk, çözücü ile dikkatlice yıkanarak 50 mL’lik tek bir balonjojede toplanmıştır. Balonjoje çözücü ile hacmine tamamlanmış ve ultrasonik banyoda 10 dk bekletilerek çözünmesi sağlanmıştır; 0,45 µm PTFE filtreden süzülerek viallenmiştir.

**Kısım Numune:** Tüm kısımlar bir miktar çözücü ile dikkatlice yıkanarak 50 mL’lik tek bir balonjojede toplanmıştır. Balonjoje çözücü ile hacmine tamamlanmış ve ultrasonik banyoda 10 dk bekletilerek çözünmesi sağlanmıştır. 0,45 µm PTFE filtreden süzülerek viallenmiştir.

### 2.9.3.2. Raman Spektroskopisi ile PSD

Raman spektroskopisi analizinde hizmet alımı yapılmıştır. Renishaw'un 532 nm lazer uyarım ve Stream HR Raman haritalama ile donatılmış inVia™ Qontor Raman mikroskobu (ABD), saf etkin madde ve burun spreyi numunelerini analiz etmek için kullanılmıştır. Renishaw'un partikül istatistikleri uygulaması ile etkin maddenin şekil ve partikül boyutu dağılımı belirlenmiştir.

#### **2.9.4. Sprey İzi**

Sprey izi çalışmaları, püskürtmeyi ya çarpmadan önce püskürtme sırasında ya da ince tabaka kromatografisi (TLC) plakası gibi uygun bir hedef üzerinde çarpmayı takiben karakterize edilmesini içermektedir. Belirli nazal sprej ürünleri için sprej desenleri telli veya başka şekillerde düzensiz olabilir. Püskürtme desenleri, manuel veya otomatik görüntü analizi ile karakterize edilebilir ve nicelendirilebilir. Her iki analiz de şekil ve boyutun belirlenmesine izin verecektir.

Analiz manuel yöntem kullanılarak yapılmıştır. Referans ürünün 3 serisinden seçilen 10'ar şişe ve test ürünün 3 serisinden 10'ar şişe olmak üzere 30 mm ve 60 mm olmak üzere iki farklı mesafeden çalışmada numuneler test edilmiştir. Ölçüm yapılmadan önce sprej şişesi kuvvetlice çalkalanmıştır. Ardından en az 6 kez püskürtme yapılmıştır ve şişe ölçüm için hazır hale getirilmiştir. Test, kullanım ömrünün başlangıcında, çalıştırma 7. püskürtmede (#1 olarak anılır) gerçekleştirilmiştir. Her seferinde doğru ve tekrarlanabilir püskürtme sağlanabilmesi için Spraytech-Open Spray cihazının sprej başlığı kullanılmıştır. Ölçülecek mesafe, puf başlığından ölçülerek klipsler yardımıyla istenilen mesafede tutulan filtre kağıdına dikey olarak püskürtülmüştür.

#### **2.9.5. Bulut Geometrisi**

Bulut geometrisi analizinde hizmet alımı yapılmıştır. Pompa tedarikçisi aracılığıyla analizle yapılmıştır. Bulut geometrisi, püskürtme eksenine paralel aerosol bulutunun yandan görünümünü tanımlar ve bunun yüksek hızlı fotoğrafçılık, bir lazer ışık levhası ve yüksek hızlı dijital kamera veya diğer uygun yöntemlere dayalı olması önerilir. Görüntü, zaman ortalamalı değil, anlık görüntü olmaktadır. Ölçüm, manuel analiz veya otomatik görüntü analizi ile yapılabilir. Bulut geometrisi analizi; yalnızca yaşam evresinin başlangıcında gerçekleştirilir, sadece yandan görünümü ve tek bir gecikme süresi değerlendirilir. Analiz otomatik yöntem kullanılarak yapılmıştır. Referans ürünün 3 serisinden seçilen 10'ar şişe ve test ürünün 3 serisinden her

birinden 10'ar şişe olmak üzere 30 mm mesafeden çalışmada numuneler test edilmiştir. Ölçüm yapılmadan önce sprej şişesi kuvvetlice çalkalanmıştır. Ardından en az 6 kez püskürtme yapılmıştır ve şişe ölçüm için hazır hale getirilmiştir. Test, kullanım ömrünün başlangıcında, çalıştırma 7. püskürtmede (#1 olarak anılır) gerçekleştirilmiştir.

#### **2.9.6. Şişeden İlk Püskürtme ve Tekrar Püskürtme**

Bu çalışma yatay ve dikey gibi farklı konumda depolanan ürünün ilk defa kullanımında atık olarak değerlendirilmesi gereken püskürtme sayısını belirlemek için yapılmıştır. Aynı zamanda şişenin kullanılmadığı süre sonunda yeniden püskürtüldüğünde atık olarak değerlendirilmesi gereken püskürtme sayısını belirlemek için yeniden püskürtme çalışması yapılmıştır. 20 adet kullanılmamış sprej şişesi üzerinden, 10 adet sprej şişesi dikey konumda ve 10 adet sprej şişesi yatay konumda test edilmiştir. Her sprej şişesi 6 kez püskürtülmüştür ve her püskürtme ile elde edilen numunedeki flutikazon furoat tayini belirlenmiştir. Test tamamlandıktan sonra şişeler 25 °C %60 BN koşulunda dikey ve yatay olmak üzere iki pozisyonda dolaplara çıkarılmıştır. İlk püskürtme ve yeniden püskürtme testi 15. gün ve 30. günde tekrarlanmıştır. Analiz metodu 'Nazal Ürünler İçin Uygulanan Test Metotları' bölümünde verilmiştir.

#### **2.9.7. Ambalaj Ömrü Sonunda Spreylerin Profillenmesi (Tail Off Özellikleri)**

Nazal speyler için, etiketli püskürtme sayısının verildiği noktadan sonra, daha fazla püskürtmenin mümkün olmayana kadar her bir püskürtmede SCU profillerini belirlemek için bir çalışma yapılmalıdır. Referans ürünün 1 serisinden seçilen 10 şişe ve test ürünün 1 serisinden 10 şişe olmak üzere 30 mm mesafeden çalışmada numuneler test edilmiştir.

Kap başına aktivasyon sayısı testinden elde ettiğimiz bilgilere dayanarak, zamandan ve tüketimden tasarruf etmek ve analitik verimliliği artırmak için, şişe ömrü sonunda aktivasyon 126. (120 olarak anılır) püskürtmeden sonraki tüm püskürtmeler için uygulanacaktır. Analiz metodu Bölüm 2.8.1.6.'da verilmiştir.

**Çizelge 2.22.** Bitmiş ürün analiz detayları

| Püskürtme Sayısı   | Açıklama                       |
|--------------------|--------------------------------|
| 120- 170 püskürtme | Her 10. püskürtme analizlendi. |
| 170-180 püskürtme  | Her 5. püskürtme analizlendi.  |
| >180 püskürtme     | Her bir püskürtme analizlendi. |

**Çizelge 2.23.** Referans ürün analiz detayları

| Püskürtme Sayısı   | Açıklama                       |
|--------------------|--------------------------------|
| 120- 140 püskürtme | Her 10. püskürtme analizlendi. |
| 140-150 püskürtme  | Her 5. püskürtme analizlendi.  |
| >150 püskürtme     | Her bir püskürtme analizlendi. |

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Flutikazon Furoat'ın Karakterizasyon Testlerine Ait Bulgular

Etkin madde karakterizasyon testlerinin sonuçları Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Etkin madde karakterizasyonu sonuçları özet çizelgesi

| Testler                                                 | Spesifikasyonlar                                                                                                                                                         | Sonuçlar         |
|---------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| Görünüş                                                 | Beyaz veya neredeyse beyaz toz.                                                                                                                                          | Uygun            |
| Tanıma                                                  |                                                                                                                                                                          |                  |
| A) HPLC                                                 | Test çözeltisinden elde edilen flutikazon furoat pikinin alıkonma zamanı ile standart çözeltiden elde edilen Flutikazon Furoat pikinin alıkonma zamanı uyumlu olmalıdır. | Uygun            |
| B) IR                                                   | Numuneden elde edilen spektrum ile standarttan elde edilen spektrum uyumlu olmalıdır.                                                                                    | Uygun            |
| Yakma Kalıntısı                                         | En fazla % 0,1                                                                                                                                                           | 0,09%            |
| Spesifik Optik Rotasyon (Kuru Baz üzerinden hesaplanır) | (-4,0°) – (-12,0°)                                                                                                                                                       | -6,0°            |
| Miktar Tayini (Kuru Baz üzerinden)                      | % 98,0 – % 102,0                                                                                                                                                         | %99,8            |
| Kurutma Kaybı                                           | ≤ 1.0%                                                                                                                                                                   | % 0,3            |
| Partikül Boyut Dağılımı                                 | D10 ≥ 0,5 µm<br>D90 < 10 µm                                                                                                                                              | 0,7 µm<br>3,7 µm |

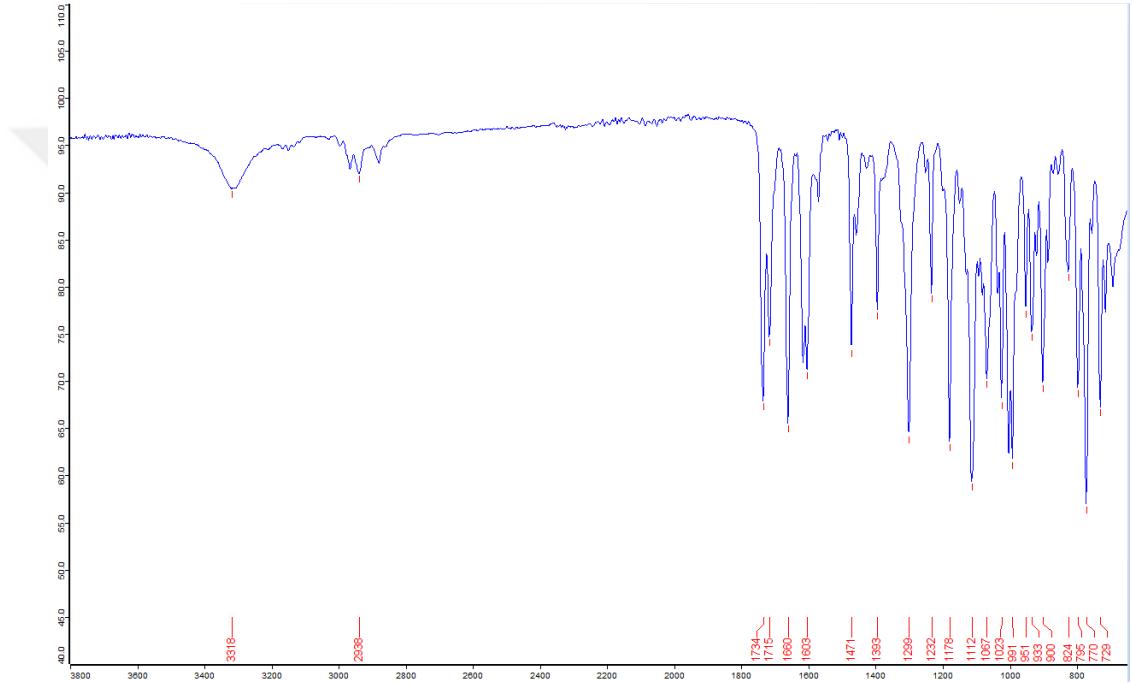
##### 3.1.1. Görünüş

Flutikazon furoat hammaddesi beyaz renkli tozdur. Görünüş spesifikasyonlarına uygundur.

### 3.1.2. Tanıma

#### 3.1.2.1. Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometresi (FT-IR) Analizi

Etkin maddenin IR analiz sonuçları Şekil 3.1’de verilmiştir. Test edilen Flutikazon furoattan elde edilen spektrum ile flutikazon furoat standarttan (EDQM) elde edilen spektrum uyumludur ve %98-%102 benzerlik limitleri içerisinde.

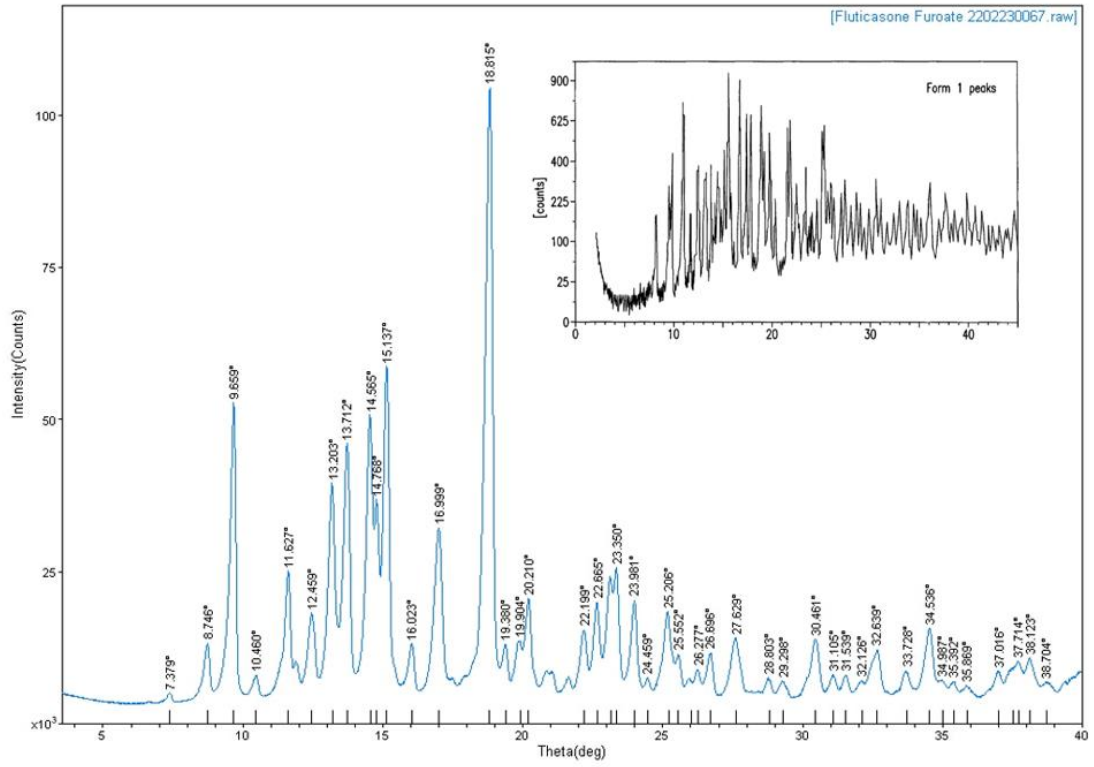


Şekil 3.1. Flutikazon furoat FT-IR spektrumu

Etkin maddenin IR analiz sonuçları flutikazon furoat standardı sonuçları ile benzerdir.

#### 3.1.2.2. X-Işını Toz Difraktometri (XRPD) Analizi

Etkin maddenin XRPD analiz sonuçları Şekil 3.2’de verilmiştir.

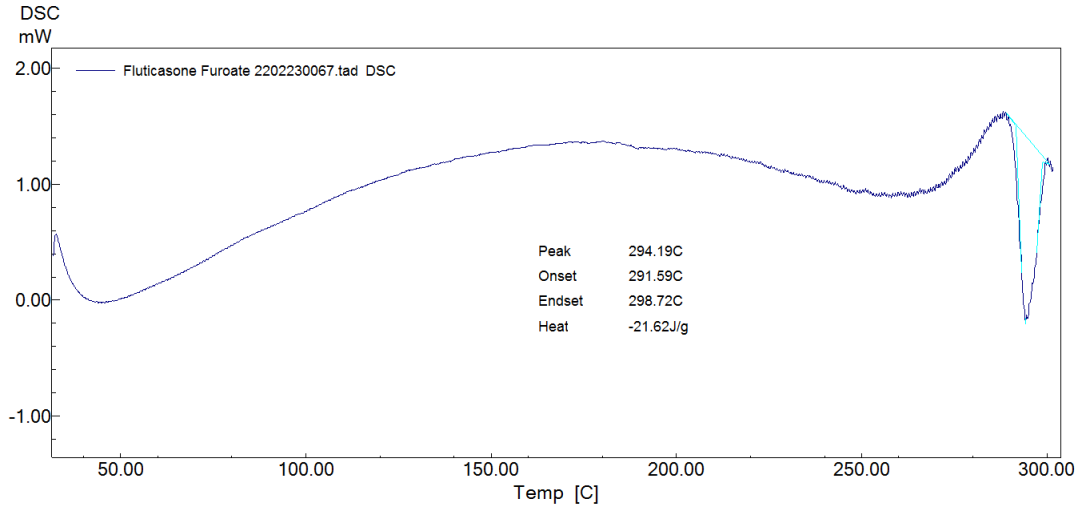


Şekil 3.2. Flutikazon furoat'ın XRPD kırınım deseni

Etkin maddenin XRPD analiz sonuçları kristalen yapısını göstermektedir, Sonuçlar literatür ile uyumludur (Macdonald ve ark, 2012).

### 3.1.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi

Etkin maddenin DSC analiz sonuçları Şekil 3.3'te verilmiştir.



**Şekil 3.3.** Flutikazon furoat DSC analiz sonucu

Etkin madde ısıtıldığında erime noktası öncesinde bozunma göstermektedir, bu nedenle erime noktası analizi bu malzemenin tanımlanması için uygun değildir. Test etkin madde sertifikasında yer almamakla birlikte literatürde bu konu ile ilgili kanıtlayıcı bilgi bulunmamaktadır.

#### **3.1.4. HPLC Analizi**

Test çözeltisinden elde edilen flutikazon furoat pikinin alıkonma zamanı ile standart çözeltisinden elde edilen Flutikazon Furoat pikinin alıkonma zamanı birbiri ile çakışmaktadır ve uyumludur.

#### **3.1.5. Yakma Kalıntısı**

Yakma kalıntısı testi için test spesifikasyon limiti maksimum % 0,1'dır. Analiz sonucu spesifikasyon limitlerine uygun ve sertifika değerine benzer bulunmuştur.

### **3.1.6. Spesifik Optik Rotasyon**

Spesifik optik rotasyon testi spesifikasyon limiti  $(-4,0^{\circ}) - (-12,0^{\circ})$ 'dır. Analiz sonucu spesifikasyon limitlerine uygun ve sertifika değerine benzer bulunmuştur.

### **3.1.7. Kurutma Kaybı**

Kurutma kaybı testi spesifikasyon limiti  $\leq 1.0\%$ 'dir. Analiz sonucu spesifikasyon limitlerine uygun ve sertifika değerine benzer bulunmuştur. Kurutma kaybı analizi etkin madde potens değerini belirlemektedir ve önemlidir.

### **3.1.8. Miktar Tayini**

Etkin madde miktar tayini kuru baz üzerinden hesaplanmaktadır. Test spesifikasyon limiti  $\%98,0 - \% 102,0$ 'dir ve analiz sonucu spesifikasyon limitlerine uygun ve sertifika değerine benzer bulunmuştur.

### **3.1.9. Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı**

Etkin madde partikül büyüklüğü ve dağılımı süspansiyon formda lokal uygulanan nazal formülasyon ürünleri için oldukça önemlidir. Etkin madde temini belirli limitler dahilinde tedarik edilmelidir. Referans ürün etkin maddesinin partikül büyüklüğü ve dağılımına benzer olacak şekilde bir tedarik hedeflenmiştir. Partikül büyüklüğü ve dağılımı test limitleri  $D_{10} \geq 0,5 \mu\text{m}$  ve  $D_{90} < 10 \mu\text{m}$ 'dur. Analiz sonuçları spesifikasyon limitleri dahilindedir.

### 3.2. Etkin Madde Özelliklerinin Risk Değerlendirmesi

Etkin madde risk değerlendirme sonuçları Çizelge 3.2 ‘de verilmiştir.

**Çizelge 3.2.** Risk değerlendirme çizelgesi

| Bitmiş Ürün Özellikleri | Etkin Madde Özellikleri  |            |                   |                   |             |
|-------------------------|--------------------------|------------|-------------------|-------------------|-------------|
|                         | Partikül Boyutu Dağılımı | Çözünürlük | Kalıntı Çözücüler | İlgili Bileşikler | Polimorfizm |
| Miktar Tayini           | Orta                     | Yüksek     | Düşük             | Düşük             | Yüksek      |
| Dozaj Tekdüzeligi       | Orta                     | Yüksek     | Düşük             | Düşük             | Yüksek      |
| İlgili Bileşikler       | Düşük                    | Yüksek     | Orta              | Orta              | Yüksek      |

Etkin madde başlangıç risk değerlendirmesi gerekçelendirmesi Çizelge 3.3’te verilmiştir, Buna göre bu tez kapsamında maddenin partikül büyüklüğü dağılımı tespit edilmiştir. Süspansiyon ortamı içinde etkin maddenin çözünürlüğü incelenmiş ve çözünmediği bulunmuştur. Etkin maddeye ilişkin diğer özellikler sağlandığı kaynaktan elde edilen bilgiye dayanmaktadır. Polimorfik formu Form 1’tür, bu form FT-IR, XRPD analizleri ile doğrulanmıştır.

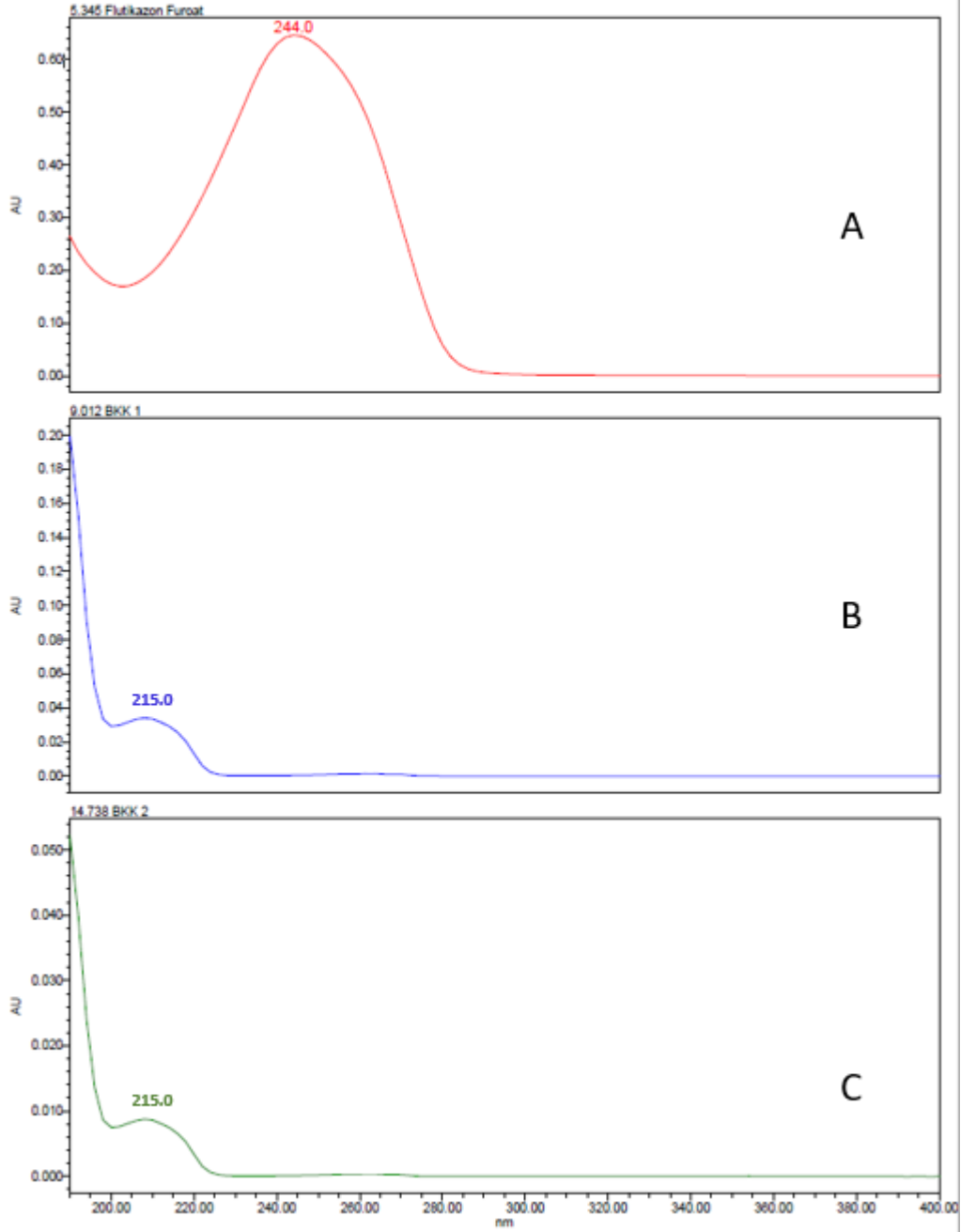
**Çizelge 3.3.** Etkin madde başlangıç risk değerlendirmesi gerekçelendirmesi

| Etkin Madde Özellikleri        | Ürün Kritik Kalite Özellikleri | Gerekçe                                                                                                                                                                                                                                               |
|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Partikül Boyutu Dağılımı (PSD) | Miktar Tayini                  | Etkin maddenin suda çözünürlüğü çok düşüktür, Ürün süspansiyon formunda hazırlanmaktadır. Bu nedenle, orta düşük seviyededir.                                                                                                                         |
|                                | Dozaj Tekdüzeligi              | Ürün içerisinde etkin maddenin homojen bir şekilde bulunmasında partikül boyut dağılımı etkilidir. Bu etki spesifikasyon ile limitlendirilmiş etkin madde tedarik ederek kontrol edilebilir, Bu nedenle, risk orta seviyededir.                       |
|                                | İlgili Bileşikler              | Etkin maddenin partikül boyut dağılımının ilgili bileşikler üzerinde etkisi yoktur. Bu nedenle, risk düşük seviyesindedir.                                                                                                                            |
| Çözünürlük                     | Miktar Tayini                  | Etkin madde suda çözünmemektedir. Süspansiyon formunda hazırlanan üründe çözünürlüğün belirlenmesi miktar tayini, dozaj tekdüzeliği ve ilgili bileşikler üzerinde etkili olabileceği için önemlidir. Bu nedenle risk yüksek olarak tespit edilmiştir. |
|                                | Dozaj Tekdüzeligi              |                                                                                                                                                                                                                                                       |
|                                | İlgili Bileşikler              |                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Kalıntı Çözücüler              | Miktar Tayini                  | Kalıntı çözücüler; miktar tayini ve dozaj tekdüzeliğini direkt olarak etkilemez. Bu yüzden risk düşük seviyededir.                                                                                                                                    |
|                                | Dozaj Tekdüzeligi              |                                                                                                                                                                                                                                                       |
|                                | İlgili Bileşikler              | Etkin madde kalıntı solvent içeriği ilgili bileşiklerin miktarı üzerinde etkili olabilir. Bu sebeple bu ilişkinin incelenmesi ve takip edilmesi gerekmektedir. Bu yüzden risk orta seviyededir.                                                       |
| İlgili Bileşikler              | Miktar Tayini                  | Miktar tayini, dozaj tekdüzeliğini direkt olarak etkilemez. Bu yüzden risk düşük seviyededir.                                                                                                                                                         |
|                                | Dozaj Tekdüzeligi              |                                                                                                                                                                                                                                                       |
|                                | İlgili Bileşikler              | Etkin maddeye ait ilgili bileşikler, bitmiş ürün ilgili bileşiklerinin miktarı üzerinde etkili olabilir. Bu sebeple bu ilişkinin incelenmesi ve takip edilmesi gerekmektedir. Bu yüzden risk orta seviyededir.                                        |
| Polimorfizm                    | Miktar Tayini                  | Etkin maddenin farklı polimorfik formunun kullanılmasının miktar tayini, dozaj tekdüzeliği ve ilgili bileşikler üzerine etkisi yüksektir.                                                                                                             |

### 3.3. Flutikazon Furoat ve Benzalkonyum Klorür Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesine Ait Bulgular

Miktar tayini metod geliştirme çalışmaları HPCL yöntemi ile yapılmıştır. Metod geliştirme çalışmalarında analiz süresinin tasarrufu amaçlanarak hem etkin madde miktar tayini hem de koruyucu miktar tayinini belirleyen bir metod geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu doğrultuda ayrı ayrı flutikazon furoat ve benzalkonyum klorürün standart çözeltilerinin spektrumları alınmıştır. Maksimum absorbans verdikleri dalga boyları bulunmuştur. Şekil 3.4-A etken maddeye ait UV spektrumudur. Buna göre etkin madde için belirlenen  $\lambda_{\max}$  244 nm'dir.

Şekil 3.4-B ve C koruyucuya ait UV spektrumlarıdır, Koruyucu için belirlenen  $\lambda_{\max}$  215 nm'dir.



Şekil 3.4. Etkin madde ve koruyucu UV spektrumları

Benzakonyum klorür,  $n\text{-C}_8\text{H}_{17}$  ile başlayan ve daha yüksek homologlar boyunca uzanan grubun tamamını veya bir kısmını içeren, ana kısmı  $n\text{-C}_{12}\text{H}_{25}$  ve  $n\text{-C}_{14}\text{H}_{29}$  içeren bir alkil karışımıdır. İki homologunun UV spektroskopisi gösterilmiştir ve HPLC sistemlerinde kromatogram üzerinde 2 pik halinde sonuç vermektedir. Bu bilgiler literatür ile benzerdir (Trivedi ve ark, 2013).

Etkin madde ve koruyucunun HPCL ile yapılan metot geliştirme çalışmaları sonucunda Çizelge 3.4’te koşulları verilen final metot elde edilmiştir.

**Çizelge 3.4.** Kromatografik koşullar

|                        |                                                                                                           |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Cihaz                  | : HPLC (Agilent 1260)                                                                                     |
| Kolon                  | : Merck, LiChrosphere 100 CN, 125mm x 4,6 mm, 5 µm                                                        |
| Dedektör               | : PDA/UV, 215 nm                                                                                          |
| Akış Hızı              | : 2,0 mL/dk                                                                                               |
| Enjeksiyon Hacmi       | : 30 µL                                                                                                   |
| Kolon Fırını Sıcaklığı | : 40 °C                                                                                                   |
| Örnekleme Sıcaklığı    | : 25 °C                                                                                                   |
| Analiz Süresi          | : 18 dk                                                                                                   |
| Hareketli Faz          | : Tampon Çözelti : Asetonitril (650:350, h/h)                                                             |
| Seyreltme Çözeltisi    | : Su: Asetonitril (400:600, h/h)                                                                          |
| Alıkonma Zamanı (dk)   | : Flutikazon Furoat ~ 5,5 dk<br>: Benzalkonyum Klorür (1) ~ 9,0 dk<br>: Benzalkonyum Klorür (2) ~ 14,6 dk |

(1):Benzalkonyum klorür 1. homoloğu

(2):Benzalkonyum Klorür 2. homoloğu

### 3.3.1. Analitik Validasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

#### 3.3.1.1. Sistem Uygunluğu

Yapılan sistem uygunluğu çalışmasına ait sonuçlar Çizelge 3.5-3.7’de verilmiştir. Çalışma sonucunda metodun sistem uygunluğu kanıtlanmıştır. Pik alanları RSD değerleri %2,0 ‘den düşük bulunmuştur.

**Çizelge 3.5.** Sistem uygunluğu verileri

| Enjeksiyon    | Flutikazon Furoat<br>Pik Alanı | Benzalkonyum Klorür (1)<br>Pik Alanı | Benzalkonyum Klorür (2)<br>Pik Alanı |
|---------------|--------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 1             | 4028                           | 650                                  | 313                                  |
| 2             | 4024                           | 649                                  | 313                                  |
| 3             | 4027                           | 650                                  | 313                                  |
| 4             | 4024                           | 650                                  | 313                                  |
| 5             | 4028                           | 650                                  | 313                                  |
| 6             | 4029                           | 651                                  | 314                                  |
| Ortalama      | 4027                           | 650                                  | 313                                  |
| RSD (%)       | 0,05                           | 0,10                                 | 0,13                                 |
| SD            | 2,16                           | 0,63                                 | 0,41                                 |
| Güven Aralığı | 4027±1,73                      | 650 ±0,51                            | 313 ±0,33                            |

**Çizelge 3.6.** Teorik plaka sayısı ve pik simetrisi verileri

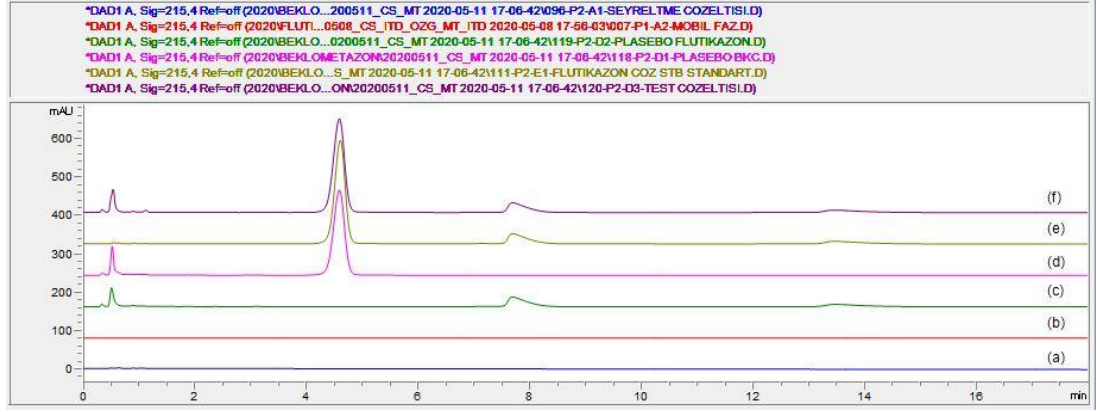
| Enjeksiyon | Flutikazon Furoat |                     | Benzalkonyum Klorür (1) |                     | Benzalkonyum Klorür (2) |                     |
|------------|-------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|
|            | Pik Simetrisi     | Teorik Plaka Sayısı | Pik Simetrisi           | Teorik Plaka Sayısı | Pik Simetrisi           | Teorik Plaka Sayısı |
| 1          | 0,98              | 3313                | 1,49                    | 3971                | 1,39                    | 4185                |
| 2          | 0,98              | 3315                | 1,49                    | 3976                | 1,39                    | 4188                |
| 3          | 0,98              | 3314                | 1,49                    | 3988                | 1,38                    | 4133                |
| 4          | 0,98              | 3317                | 1,50                    | 3972                | 1,39                    | 4188                |
| 5          | 0,98              | 3317                | 1,49                    | 3969                | 1,39                    | 4133                |
| 6          | 0,98              | 3319                | 1,50                    | 3975                | 1,39                    | 4131                |
| Ortalama   | 0,98              | 3316                | 1,49                    | 3975                | 1,39                    | 4160                |
| SD         | 0,00              | 2,23                | 0,01                    | 6,79                | 0,00                    | 30,0                |
| RSD (%)    | 0,00              | 0,07                | 0,35                    | 0,17                | 0,29                    | 0,72                |

**Çizelge 3.7.** Flutikazon furoat ve benzalkonyum klorüre ait alıkonma zamanları

| Enjeksiyon    | Flutikazon Furoat Alıkonma Zamanı (dk) | Benzalkonyum Klorür (1) Alıkonma Zamanı | Benzalkonyum Klorür (2) Alıkonma Zamanı |
|---------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1             | 4,854                                  | 8,46                                    | 13,194                                  |
| 2             | 4,856                                  | 8,464                                   | 13,198                                  |
| 3             | 4,858                                  | 8,466                                   | 13,201                                  |
| 4             | 4,855                                  | 8,462                                   | 13,198                                  |
| 5             | 4,857                                  | 8,465                                   | 13,201                                  |
| 6             | 4,855                                  | 8,464                                   | 13,2                                    |
| Ortalama      | 4,856                                  | 8,464                                   | 13,199                                  |
| SD            | 0,00                                   | 0,00                                    | 0,00                                    |
| RSD (%)       | 0,03                                   | 0,03                                    | 0,02                                    |
| Güven Aralığı | 4,856 ± 0,00                           | 8,464 ± 0,00                            | 13,199 ± 0,00                           |

### 3.3.1.2. Seçicilik

Yapılan seçicilik çalışmasına ait sonuçlar Şekil 3.5'te ve Çizelge 3.8'de verilmiştir.



**Şekil 3.5.** (a) Hareketli faz kromatogramı, (b) Seyreltme çözeltisi kromatogramı, (c) Benzalkonyum klorür içeren plasebo kromatogramı, (d) Flutikazon furoat içeren plasebo, (e) Standart çözelti kromatogramı, (f) Test çözeltisi kromatogramı

**Çizelge 3.8.** Seçicilik çalışması sonuçları

| Çözelti                                | Ahkonma Zamanı (dk) | Pik Alanı | Pik Simetrisi | Teorik Plaka Sayısı | Pik Saflığı | Rezölüsyon |
|----------------------------------------|---------------------|-----------|---------------|---------------------|-------------|------------|
| Hareketli Faz                          |                     |           |               |                     |             |            |
| Seyreltme Çözeltisi                    |                     |           |               |                     |             |            |
| Çözücü-1                               | 0,522               | 5         | 1,492         | 199                 | -           | -          |
| Çözücü-2                               | 0,622               | 7         | 0,845         | 361                 | -           | -          |
| Çözücü-3                               | 0,767               | 0,5       | 0,985         | 600                 | -           | -          |
| Çözücü-4                               | 0,882               | 3         | 0,884         | 348                 | -           | -          |
| Çözücü-5                               | 1,021               | 5         | 0,348         | 151                 | -           | -          |
| Plasebo Çözeltisi                      |                     |           |               |                     |             |            |
| Plasebo-1                              | 0,328               | 23        | 0,702         | 230                 | -           | -          |
| Plasebo-2                              | 0,499               | 233       | 0,561         | 288                 | -           | -          |
| Plasebo-3                              | 0,894               | 7         | 0,964         | 1226                | -           | -          |
| Plasebo-4                              | 1,543               | 2         | 0,847         | 2214                | -           | -          |
| Plasebo-5                              | 1,870               | 4         | 0,905         | 1543                | -           | -          |
| Benzalkonyum Klorür-1                  | 7,676               | 578       | 0,314         | 2545                | 999,997     | -          |
| Benzalkonyum Klorür-2                  | 13,452              | 269       | 0,359         | 2302                | 999,974     | -          |
| Standart Çözelti Flutikazon Furoat     | 4,588               | 3676      | 1,175         | 2751                | 999,991     | -          |
| Standart Çözelti Benzalkonyum Klorür-1 | 7,665               | 632       | 0,300         | 2536                | 999,995     | 6,41       |
| Standart Çözelti Benzalkonyum Klorür-2 | 13,434              | 297       | 0,346         | 2249                | 999,992     | 6,61       |
| Test Çözeltisi Flutikazon Furoat       | 4,574               | 3598      | 1,176         | 2402                | 999,993     | -          |
| Test Çözeltisi Benzalkonyum Klorür-1   | 7,675               | 593       | 0,309         | 2565                | 999,995     | 6,32       |
| Test Çözeltisi Benzalkonyum Klorür-2   | 13,433              | 281       | 0,346         | 2288                | 999,991     | 6,65       |

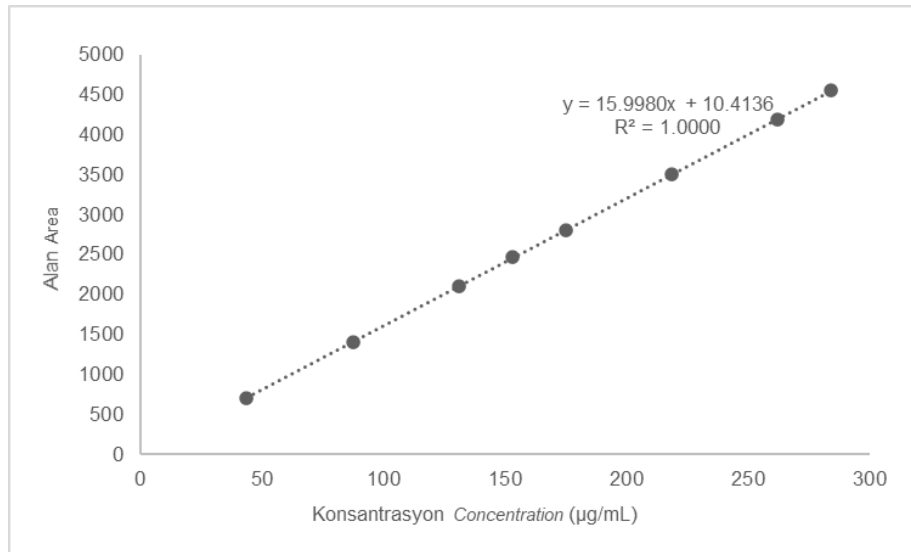
Yapılan seçicilik çalışması sonucunda incelenen çözeltiler arasında hem pikler hem de alıkonma zamanları olarak bir girişim bulunmamaktadır. Hareketli faz ve seyreltme çözeltisinde bir pik mevcut değildir. Plasebo çözeltiler, standart çözelti ve test çözeltisinde etkin madde ve benzalkonyum piklerinin saflığı eşik değerin üzerindedir.

### 3.3.1.3. Doğrusallık ve Aralık

Yapılan doğrusallık çalışmasına ait sonuçlar Çizelge 3.9 ve 3.10'da ve Şekil 3.6 ve 3.7'de verilmiştir.

**Çizelge 3.9.** 8 farklı konsantrasyonda hazırlanan flutikazon furoat çözeltileri için pik alanları

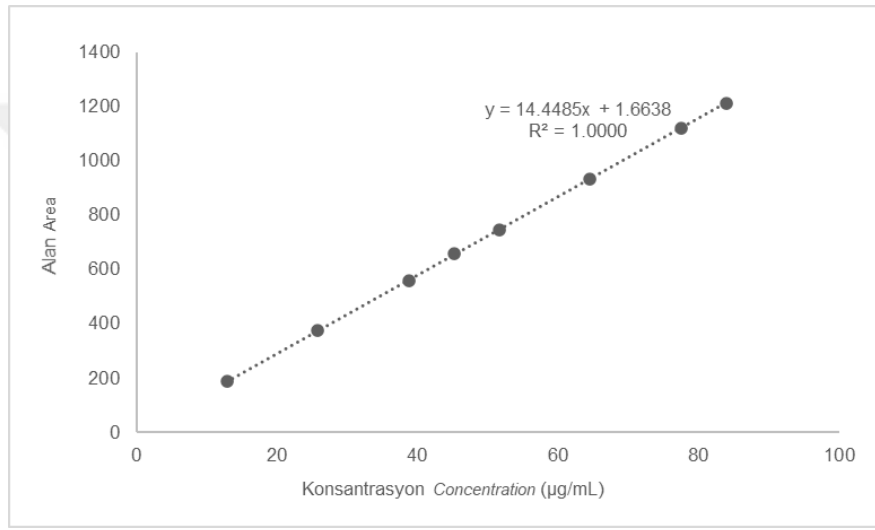
| Konsantrasyon (%) | Konsantrasyon (µg/mL) | Pik Alanı (1) | Pik Alanı (2) | Ortalama Pik Alanı |
|-------------------|-----------------------|---------------|---------------|--------------------|
| 20                | 43,69                 | 703           | 706           | 705                |
| 40                | 87,38                 | 1410          | 1408          | 1409               |
| 60                | 131,07                | 2105          | 2105          | 2105               |
| 70                | 152,91                | 2468          | 2468          | 2468               |
| 80                | 174,75                | 2804          | 2803          | 2804               |
| 100               | 218,44                | 3507          | 3507          | 3507               |
| 120               | 262,13                | 4197          | 4198          | 4198               |
| 130               | 283,97                | 4554          | 4553          | 4554               |



**Şekil 3.6.** Yapılan doğrusal regresyon analizi sonucunda flutikazon furoat pik alanları için elde edilen grafik

**Çizelge 3.10.** 8 farklı konsantrasyonda hazırlanan benzalkonyum klorür çözeltileri için pik alanları

| Konsantrasyon (%) | Konsantrasyon (µg/mL) | Ortalama Pik Alanı (1) | Ortalama Pik Alanı (2) | Ortalama Pik Alanı |
|-------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|--------------------|
| 20                | 12,91                 | 126                    | 61                     | 187                |
| 40                | 25,81                 | 253                    | 122                    | 375                |
| 60                | 38,72                 | 377                    | 182                    | 559                |
| 70                | 45,17                 | 444                    | 214                    | 658                |
| 80                | 51,62                 | 504                    | 244                    | 748                |
| 100               | 64,53                 | 629                    | 305                    | 934                |
| 120               | 77,44                 | 754                    | 366                    | 1120               |
| 130               | 83,89                 | 817                    | 396                    | 1213               |



**Şekil 3.7.** Yapılan doğrusal regresyon analizi sonucunda benzalkonyum klorür pik alanları için elde edilen grafik

Yapılan doğrusallık analizleri sonucunda konsantrasyona karşılık alan değerlerinden elde edilen regresyon eğrisinin tanımlayıcılık katsayısının ( $R^2$ ) 0,999'dan büyük olduğu, regresyon katsayısı (a) için p değerinin 0,05'ten küçük olduğu, intersept (b) için p değerinin 0,05'ten büyük olduğu bulunmuştur.

#### 3.3.1.4. Doğruluk

Yapılan doğruluk çalışmasına ait sonuçlar Çizelge 3.11, 3.12 ve 3.12'te verilmiştir.

**Çizelge 3.11.** Flutikazon furoat geri kazanım sonuçları

| Doğruluk Çözeltileri | Tartılan Miktar (mg) | Konsantrasyon (µg/mL) | Pik Ortalama Alanı | Hesaplanan Miktar (mg) | Geri Kazanım (%) | Ortalama Geri Kazanım (%) | SD   | % RSD | Güven Aralığı |
|----------------------|----------------------|-----------------------|--------------------|------------------------|------------------|---------------------------|------|-------|---------------|
| %20-1                | 17,48                | 43,7                  | 813                | 17,70                  | 101,3            | 100,3                     | 0,48 | 0,48  | 100,3±0,27    |
| %20 -2               | 17,49                | 43,7                  | 804                | 17,52                  | 100,2            |                           |      |       |               |
| %20 -3               | 17,47                | 43,7                  | 806                | 17,55                  | 100,5            |                           |      |       |               |
| %70 -1               | 61,46                | 153,7                 | 2830               | 61,66                  | 100,3            |                           |      |       |               |
| %70 -2               | 61,57                | 153,9                 | 2826               | 61,56                  | 100,0            |                           |      |       |               |
| %70 -3               | 61,52                | 153,8                 | 2828               | 61,60                  | 100,1            |                           |      |       |               |
| %100 -1              | 44,08                | 220,4                 | 4041               | 44,02                  | 99,9             |                           |      |       |               |
| %100 -2              | 44,20                | 221,0                 | 4056               | 44,19                  | 100,0            |                           |      |       |               |
| %100 -3              | 44,01                | 220,0                 | 4064               | 44,27                  | 100,6            |                           |      |       |               |
| %130 -1              | 114,46               | 286,2                 | 5271               | 114,84                 | 100,3            |                           |      |       |               |
| %130 -2              | 114,29               | 285,7                 | 5239               | 114,13                 | 99,9             |                           |      |       |               |
| %130 -3              | 114,28               | 285,7                 | 5310               | 115,59                 | 101,2            |                           |      |       |               |

**Çizelge 3.12.** Benzalkonyum klorür geri kazanım sonuçları

| Doğruluk Çözeltileri | Tartılan Miktar (mg) | Konsantrasyon (µg/mL) | Pik Ortalama Alanı | Hesaplanan Miktar (mg) | Geri Kazanım (%) | Ortalama Geri Kazanım (%) | SD   | RSD  | Güven Aralığı |
|----------------------|----------------------|-----------------------|--------------------|------------------------|------------------|---------------------------|------|------|---------------|
| %20-1                | 66,66                | 13,3                  | 201                | 67,80                  | 101,7            | 100,7                     | 0,91 | 0,91 | 100,7±0,52    |
| %20 -2               | 66,02                | 13,2                  | 198                | 66,95                  | 101,4            |                           |      |      |               |
| %20 -3               | 66,83                | 13,4                  | 198                | 66,95                  | 100,2            |                           |      |      |               |
| %70 -1               | 66,05                | 46,2                  | 694                | 67,05                  | 101,5            |                           |      |      |               |
| %70 -2               | 66,45                | 46,5                  | 694                | 67,00                  | 100,8            |                           |      |      |               |
| %70 -3               | 66,00                | 46,2                  | 692                | 66,85                  | 101,3            |                           |      |      |               |
| %100 -1              | 66,09                | 66,1                  | 981                | 66,34                  | 100,4            |                           |      |      |               |
| %100 -2              | 66,03                | 66,0                  | 988                | 66,78                  | 101,1            |                           |      |      |               |
| %100 -3              | 66,98                | 66,0                  | 989                | 66,88                  | 101,4            |                           |      |      |               |
| %130 -1              | 132,55               | 86,2                  | 1261               | 131,14                 | 98,9             |                           |      |      |               |
| %130 -2              | 132,49               | 86,1                  | 1264               | 131,46                 | 99,2             |                           |      |      |               |
| %130 -3              | 132,50               | 86,1                  | 1278               | 131,91                 | 100,3            |                           |      |      |               |

**Çizelge 3.13.** Doğruluk sonuçları

| Konsantrasyon Düzeyi          | Limitler (%) | Flutikazon Furoate Sonuçları (%) | Benzalkonyum Klorür Sonuçları (%) |
|-------------------------------|--------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| Doğruluk Çözeltisi (a) (%20)  | %98,0-%102,0 | 100,6                            | 101,1                             |
| Doğruluk Çözeltisi (b) (%70)  | %98,0-%102,0 | 100,1                            | 101,2                             |
| Doğruluk Çözeltisi (c) (%100) | %98,0-%102,0 | 100,1                            | 101,0                             |
| Doğruluk Çözeltisi (d) (%130) | %98,0-%102,0 | 100,5                            | 99,5                              |

Yapılan doğruluk analizleri sonucunda her bir konsantrasyon düzeyi için elde edilen yüzde geri kazanım sonuçlarının %98,0-102,0 aralığında bulunmuştur.

### 3.3.1.5. Kesinlik

Yapılan kesinlik çalışmasına ait sonuçlar Çizelge 3.14, Çizelge 3.15, Çizelge 3.16, Çizelge 3.17, Çizelge 3.18 ve Çizelge 3.19’da verilmiştir.

**Çizelge 3.14.** Birinci gün elde edilen flutikazon furoat miktar tayini sonuçları

| Test Çözeltilisi | Tartım (g) | Konsantrasyon (µg/mL) | Ortalama Pik Alanı | Miktar Tayini (%) | Ortalama (%) | SD   | RSD (%) | Güven Aralığı |
|------------------|------------|-----------------------|--------------------|-------------------|--------------|------|---------|---------------|
| 1                | 4,0315     | 217,38                | 3743               | 99,0              | 99,1         | 0,32 | 0,32    | 99,1 ± 0,26   |
| 2                | 3,9950     | 215,42                | 3702               | 98,8              |              |      |         |               |
| 3                | 4,0441     | 218,06                | 3752               | 98,9              |              |      |         |               |
| 4                | 4,0109     | 216,27                | 3744               | 99,5              |              |      |         |               |
| 5                | 4,0064     | 216,03                | 3718               | 98,9              |              |      |         |               |
| 6                | 4,0629     | 219,08                | 3792               | 99,5              |              |      |         |               |

**Çizelge 3.15.** Birinci gün elde edilen benzalkonyum klorür miktar tayini sonuçları

| Test Çözeltilisi | Tartım (g) | Konsantrasyon (µg/mL) | Ortalama Pik Alanı | Miktar Tayini (%) | Ortalama (%) | SD   | RSD (%) | Güven Aralığı |
|------------------|------------|-----------------------|--------------------|-------------------|--------------|------|---------|---------------|
| 1                | 4,0315     | 65,22                 | 953                | 99,8              | 100,1        | 1,83 | 1,83    | 100,1 ± 1,46  |
| 2                | 3,9950     | 64,63                 | 928                | 98,1              |              |      |         |               |
| 3                | 4,0441     | 65,42                 | 945                | 98,7              |              |      |         |               |
| 4                | 4,0109     | 64,88                 | 969                | 102,0             |              |      |         |               |
| 5                | 4,0064     | 64,81                 | 973                | 102,6             |              |      |         |               |
| 6                | 4,0629     | 65,72                 | 955                | 99,2              |              |      |         |               |

**Çizelge 3.16.** İkinci gün elde edilen flutikazon furoat miktar tayini sonuçları

| Test Çözeltilisi | Tartım (g) | Konsantrasyon (µg/mL) | Ortalama Pik Alanı | Miktar Tayini (%) | Ortalama (%) | SD   | RSD (%) | Güven Aralığı |
|------------------|------------|-----------------------|--------------------|-------------------|--------------|------|---------|---------------|
| 1                | 4,0364     | 217,65                | 3377               | 96,9              | 98,9         | 1,07 | 1,08    | 98,9 ± 0,86   |
| 2                | 4,0185     | 216,68                | 3469               | 100,0             |              |      |         |               |
| 3                | 4,0175     | 216,63                | 3442               | 99,2              |              |      |         |               |
| 4                | 4,0182     | 216,67                | 3439               | 99,2              |              |      |         |               |
| 5                | 4,0193     | 216,73                | 3446               | 99,3              |              |      |         |               |
| 6                | 4,0702     | 219,47                | 3460               | 98,5              |              |      |         |               |

**Çizelge 3.17.** İkinci gün elde edilen benzalkonyum klorür miktar tayini sonuçları

| Test Çözeltilisi | Tartım (g) | Konsantrasyon (µg/mL) | Ortalama Pik Alanı | Miktar Tayini (%) | Ortalama (%) | SD   | RSD (%) | Güven Aralığı |
|------------------|------------|-----------------------|--------------------|-------------------|--------------|------|---------|---------------|
| 1                | 4,0364     | 65,29                 | 880                | 100,6             | 102,0        | 1,33 | 1,30    | 102,0 ± 1,06  |
| 2                | 4,0185     | 65,01                 | 905                | 104,0             |              |      |         |               |
| 3                | 4,0175     | 64,99                 | 877                | 100,7             |              |      |         |               |
| 4                | 4,0182     | 65,00                 | 892                | 102,4             |              |      |         |               |
| 5                | 4,0193     | 65,02                 | 895                | 102,8             |              |      |         |               |
| 6                | 4,0702     | 65,84                 | 894                | 101,4             |              |      |         |               |

**Çizelge 3.18.** İki gün boyunca elde edilen kesinlik sonuçları

| Kesinlik Çözeltileri | Birinci Güne Ait Sonuçlar (%) | İkinci Güne Ait Sonuçlar (%) | Günler Arası Ortalama Sonuçlar (%) | Günler Arası RSD (%) |
|----------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------------|----------------------|
| Flutikazon furoat    | 99,1                          | 98,9                         | 99,0                               | 0,14                 |
| Benzalkonyum Klorür  | 100,1                         | 102,0                        | 101,1                              | 1,33                 |

**Çizelge 3.19.** Tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik sonuçları

| Test Çözeltilisi | Flutikazon Furoat Miktar Tayini (%) | Benzalkonyum Klorür Miktar Tayini (%) |
|------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|
| 1                | 99,0                                | 99,8                                  |
| 2                | 98,8                                | 98,1                                  |
| 3                | 98,9                                | 98,7                                  |
| 4                | 99,5                                | 102,0                                 |
| 5                | 98,9                                | 102,6                                 |
| 6                | 99,5                                | 99,2                                  |
| 7                | 96,9                                | 100,6                                 |
| 8                | 100,0                               | 104,0                                 |
| 9                | 99,2                                | 100,7                                 |
| 10               | 99,2                                | 102,4                                 |
| 11               | 99,3                                | 102,8                                 |
| 12               | 98,5                                | 101,4                                 |
| Ortalama (%)     | 99,0                                | 101,0                                 |
| SD               | 0,76                                | 1,82                                  |
| RSD (%)          | 0,77                                | 1,80                                  |
| Güven Aralığı    | 99,0 ±0,43                          | 101,0 ±1,03                           |

Yapılan tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik analizleri sonucunda test çözeltilisi için elde edilen sonuçların bağıl standart sapmasının %2,0'den küçük olduğu bulunmuş olup elde edilen sonuçlar protokolde belirtilen kriterlere uygundur. Çalışma sonucunda metodun kesinliği kanıtlanmıştır.

### 3.3.1.6. Çözelti Stabilitesi

Çözelti stabilitesinin değerlendirilmesine ait sonuçlar Çizelge 3.20 ve Çizelge 3.21’de verilmiştir.

**Çizelge 3.20.** Standart çözelti için çözelti stabilitesi verileri

| Zaman (saat) | Benzalkonyum Klorür Toplam Alan | Uyum (%), | Flutikazon Furoat Pik Alanı | Uyum (%) |
|--------------|---------------------------------|-----------|-----------------------------|----------|
| 0            | 910                             | -         | 3600                        | -        |
| 4            | 910                             | 100,0     | 3607                        | 100,2    |
| 10           | 917                             | 100,8     | 3625                        | 100,7    |
| 17           | 921                             | 101,2     | 3641                        | 101,1    |
| 25           | 925                             | 101,6     | 3664                        | 101,8    |
| 32           | 924                             | 101,5     | 3666                        | 101,8    |
| 38           | 918                             | 100,9     | 3622                        | 100,6    |
| 44           | 916                             | 100,7     | 3623                        | 100,6    |
| 50           | 918                             | 100,9     | 3626                        | 100,7    |
| 56           | 923                             | 101,4     | 3644                        | 101,2    |
| 62           | 923                             | 101,4     | 3649                        | 101,4    |

**Çizelge 3.21.** Test çözeltisi için çözelti stabilitesi verileri

| Zaman (saat) | Benzalkonyum Klorür Toplam Alan | Uyum (%) | Flutikazon Furoat Pik Alanı | Uyum (%) |
|--------------|---------------------------------|----------|-----------------------------|----------|
| 0            | 871                             | -        | 3509                        | -        |
| 4            | 875                             | 100,5    | 3515                        | 100,2    |
| 10           | 882                             | 101,3    | 3543                        | 101,0    |
| 17           | 885                             | 101,6    | 3554                        | 101,3    |
| 25           | 880                             | 101,0    | 3531                        | 100,6    |
| 32           | 887                             | 101,8    | 3560                        | 101,5    |
| 38           | 879                             | 100,9    | 3531                        | 100,6    |
| 44           | 877                             | 100,7    | 3532                        | 100,7    |
| 50           | 878                             | 100,8    | 3544                        | 101,0    |
| 56           | 886                             | 101,7    | 3566                        | 101,6    |
| 62           | 887                             | 101,8    | 3569                        | 101,7    |

Yapılan çözelti stabilitesi çalışması sonucunda standart çözelti ve test çözeltisinin 25°C sıcaklıkta en az 62 saat stabil olduğu belirlenmiştir.

### 3.3.1.7. Sağlamlık

Yapılan sağlamlık çalışmasına ait veriler Çizelge 3.22 ve 3.23'te verilmiştir.

**Çizelge 3.22.** Plackett-Burman deney tasarımı kullanılarak hazırlanmış deney tasarımı matrisi

| Enjeksiyon | Standart Çözeltideki Flutikazon Furoat Pik Simetrisi | Standart Çözeltideki Benzalkonyum Klorür (1) Pik Simetrisi | Standart Çözeltideki Benzalkonyum Klorür (2) Pik Simetrisi | Flutikazon Furoat Miktarı (%) | Benzalkonyum Klorür Miktarı (%) |
|------------|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| 1          | 0,98                                                 | 1,53                                                       | 1,50                                                       | 102,75                        | 99,28                           |
| 2          | 0,99                                                 | 1,51                                                       | 1,48                                                       | 103,11                        | 99,74                           |
| 3          | 0,98                                                 | 1,51                                                       | 1,46                                                       | 100,72                        | 97,19                           |
| 4          | 0,99                                                 | 1,48                                                       | 1,45                                                       | 100,53                        | 98,36                           |
| 5          | 0,98                                                 | 1,53                                                       | 1,47                                                       | 104,62                        | 102,23                          |
| 6          | 0,98                                                 | 1,54                                                       | 1,52                                                       | 101,97                        | 98,68                           |
| 7          | 0,99                                                 | 1,51                                                       | 1,49                                                       | 101,94                        | 102,44                          |
| 8          | 0,99                                                 | 1,51                                                       | 1,48                                                       | 101,87                        | 102,12                          |
| 9          | 0,99                                                 | 1,51                                                       | 1,56                                                       | 101,33                        | 101,46                          |
| 10         | 0,99                                                 | 1,52                                                       | 1,50                                                       | 101,81                        | 98,34                           |
| 11         | 0,99                                                 | 1,53                                                       | 1,52                                                       | 102,01                        | 98,58                           |
| 12         | 0,98                                                 | 1,55                                                       | 1,49                                                       | 101,84                        | 98,85                           |

**Çizelge 3.23.** Plackett-Burman istatistiksel deney tasarım matrisiyle elde edilen parametrelerin ve modellerin p değerleri ile modellerin regresyon katsayıları

| Sonuçlar                              | Elde Edilen <i>p</i> Değerleri          |                |               |                   |        | <i>R</i> <sup>2</sup> değeri |
|---------------------------------------|-----------------------------------------|----------------|---------------|-------------------|--------|------------------------------|
|                                       | Hareketli Fazdaki Asetonitril Oranı (%) | Dalgaboyu (nm) | Sıcaklık (°C) | Akış Hızı (mL/dk) | Model  | Model                        |
| Kesişim                               | 0,598                                   | 0,598          | 0,142         | 0,598             | 0,506  | 0,3429                       |
| Benzalkonyum Klorür (1) Pik Simetrisi | 0,351                                   | 0,351          | 0,351         | 0,351             | 0,467  | 0,3636                       |
| Benzalkonyum Klorür (2) Pik Simetrisi | 0,227                                   | 1,000          | 0,227         | 1,000             | 0,524  | 0,3333                       |
| Flutikazon Furoat Miktarı (%)         | 0,121                                   | 0,314          | 0,419         | 0,740             | 0,360  | 0,4240                       |
| Benzalkonyum Klorür Miktarı (%)       | 0,001*                                  | 0,035*         | 0,576         | 0,503             | 0,005* | 0,8522                       |

Plackett-Burman istatistiksel deney tasarımı ile elde edilen, kromatografik parametrelerin ana etkisinin sonuçlar üzerindeki etkisi incelendiğinde benzalkonyum klorür miktar tayini için kurulan modelin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ve yüksek bir korelasyon katsayısına sahip olduğu gözlenmiştir. Kurulan bu modele göre

hareketli fazdaki asetonitril oranının ve dalga boyundaki değişikliğin benzalkonyum klorür miktar tayini üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0,05$ ) ve diğer sonuçlar üzerindeki etkisinin ise anlamlı olmadığı sonucuna varılmıştır. Geliştirilen analitik metodun yapılan minör değişikliklere karşı sağlam olduğu gösterilmekle birlikte metodun kullanıldığı analizler sırasında hazırlanan hareketli fazdaki asetonitril oranına ve dalga boyunun ayarlanmasına dikkat edilmesi gerektiği belirlenmiştir.

### **3.4. Formülasyon Geliştirme Çalışmalarına Ait Bulgular**

Formülasyon geliştirme çalışmaları kapsamında etkin maddenin fizikokimyasal karakterizasyonu ilk bölümde anlatılmıştır. Referans ürün karakterizasyonu bölüm 3.4.2’de verilmektedir. QTPP kapsamında pazarlama gereklilikleri, hedeflenen hasta popülasyonu ve patent sınırlamalarına ilişkin araştırmalar yapılmıştır.

#### **3.4.1. Hedef Ürün Kalite Profiline (QTPP) ve Kritik Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi**

Hedef ürün kalite profiline ilişkin yapılan gerekçelendirme çalışması Çizelge 3.24’te verilmiştir.

**Çizelge 3.24.** Hedef ürün kalite profili (QTPP)

| Özellik                      | Hedef                                              | Gerekçe                                                                                                                                                          |
|------------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Dozaj Formu                  | Süspansiyon                                        | Farmasötik eşdeğerlik gereksinimi, aynı dozaj formu.                                                                                                             |
| Uygulama Yolu                | Nazal                                              | Farmasötik eşdeğerlik gereksinimi, aynı uygulama yolu.                                                                                                           |
| Doz                          | 27,5 µg/püskürtme                                  | Farmasötik eşdeğerlik gereksinimi, aynı doz.                                                                                                                     |
| Stabilite                    | 25°C'de en az 24 aylık raf ömrü                    | Referans ürün raf ömrüne eşdeğer veya daha iyi.                                                                                                                  |
| Müstahzar Kalite Özellikleri | Fiziksel Özellikler                                | Farmasötik eşdeğerlik gereksinimi: Aynı farmakope veya diğer uygulanabilir (kalite) standartları karşılamalıdır (i.e, tanıma, miktar tayini, çözünme ve kalite). |
|                              | Tanıma                                             |                                                                                                                                                                  |
|                              | Viskozite                                          |                                                                                                                                                                  |
|                              | pH                                                 |                                                                                                                                                                  |
|                              | Yoğunluk                                           |                                                                                                                                                                  |
|                              | Miktar Tayini                                      |                                                                                                                                                                  |
|                              | Dozaj Tekdüzeligi                                  |                                                                                                                                                                  |
|                              | Safsızlık                                          |                                                                                                                                                                  |
|                              | Mikrobiyolojik Kontrol                             |                                                                                                                                                                  |
| Kap-Kapak Sistemi            | Müstahzara uygun olarak kalifiye kap-kapak sistemi | Hedef raf ömrüne ulaşmak için gereklidir.                                                                                                                        |
| Uygulama / Etiket            | -                                                  | Referans ürün etiketinde bilgi verilmemektedir.                                                                                                                  |
| Alternatif uygulama yolu     | -                                                  | Referans ürün etiketinde bilgi bulunmamaktadır.                                                                                                                  |

Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon için viskozite, pH, yoğunluk, miktar tayini, dozaj tekdüzeliği ve safsızlık formülasyon ve proses değişikliklerinden etkilenme potansiyeline sahip kritik kalite özellikleri olarak belirlenmiştir. Bu nedenle daha sonra incelenecek ve detaylı olarak tartışılacaktır. Öte yandan formülasyon ve proses değişikliklerinden etkilenme riski düşük olan tanıma, mikrobiyal limit gibi kritik kalite özellikleri farmasötik gelişim raporunda detaylı olarak tartışılmayacaktır. Ancak kalite hedef ürün profilinin öğeleri olduklarından iyi bir farmasötik kalite sistemi ve kontrol metoduyla limitler içinde tutulmaları sağlanır.

Hedef ürün kritik kalite özellikleri Çizelge 3.25'te verilmiştir. Bu özelliklerden bozunma ürünleri tespiti ve mikrobiyal kalite incelemesine bu tez çalışması kapsamında yer verilmemiştir.

**Çizelge 3.25. Kritik kalite özellikleri**

| Müstahzar Kalite Özellikleri           |                     | Hedef                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Kritik Kalite Vastı mı? | Gerekçe                                                                                                                                                                                                                                                            |
|----------------------------------------|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Görünüş                                |                     | Beyaz renkli homojen Süspansiyon.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Evet                    | Ürünün homojen bir görünümüne sahip olması, ürünün etkinliği ve güvenliği açısından önemlidir.                                                                                                                                                                     |
| Tanımlama                              |                     | Ölçülü doz sprey pompası olan amber renkli cam şişe içerisinde beyaz renkli homojen süspansiyon.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Evet                    | Tanımlama, güvenlik ve etkinlikle doğrudan bağlantılı değildir. Hedef, hasta tarafındakabul edilebilirliğini sağlamak için belirlenir.                                                                                                                             |
| Tanıma                                 | Flutikazon Furoat   | A: UV/DAD: Test çözeltisi ve standart çözeltisindeki ana piklerin alıkonma zamanları benzer olmalıdır.<br>B: DAD: Test çözeltisi ve standart çözeltisindeki ana piklerin alıkonma zamanları benzer olmalıdır.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Evet                    | Tanıma, güvenlik ve etkinlik için kritik olmasına rağmen, bu CQA, kalite yönetim sistemi tarafından etkin bir şekilde kontrol edilmekte ve ilacın piyasaya sürülmesinde izlenmektedir. Formülasyon ve proses değişkenleri aktif maddenin tanımlanmasını etkilemez. |
|                                        | Benzalkonyum Klorür | A: UV/DAD: Test çözeltisi ve standart çözeltisindeki ana piklerin alıkonma zamanları benzer olmalıdır.<br>B: DAD: Test çözeltisi ve standart çözeltisindeki ana piklerin alıkonma zamanları benzer olmalıdır.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                         |                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Minimum Dolum Ağırlığı (120 püskürtme) |                     | ≥10 g<br>Her bir ölçüm sonucu USP<755> monografına uygun olmalıdır.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Evet                    | Minimum dolum uygulanan ürünün dozunu ve etkinliğini etkiler. Bu nedenle serbest bırakma ve stabilitesinde kritik öneme sahiptir, Serbest bırakma ve stabilite süreçleri sırasında izlenir.                                                                        |
| Ortalama Püskürtme Dozu                |                     | %85-%115 (23,375 µg/püskürtme-31,625 µg/püskürtme)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Evet                    | Ortalama püskürtme dozu, uygulanan ürünün dozunu ve etkinliğini etkiler. Bu nedenle serbest bırakma ve stabilitesinde kritik öneme sahiptir, takibi yapılır.                                                                                                       |
| İletilen Doz İçerik Tekdüzeliliği      |                     | 10 püskürtme için;<br>Her bir püskürtmeden en fazla bir tanesi %75-%125 aralığı dışında olmalı ve hiçbir püskürtme %65-135 aralığının dışında olmamalıdır.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Evet                    | Doz homojenliği uygulanan ürünün dozunu ve etkinliğini etkiler. Bu nedenle serbest bırakma ve stabilitesinde kritik öneme sahiptir, Serbest bırakma ve stabilite süreçleri sırasında izlenir.                                                                      |
| Dozaj Ünitelerinin Tekdüzeliliği       |                     | Eğer ilk 10 dozaj biriminin kabul değeri L1 yüzdesinden küçük veya eşit ise dozaj birimlerinin gerekliliklerini karşılamış olur. Eğer kabul değeri L1 yüzdesinden daha büyük ise sonraki 20 dozaj test edilir ve kabul değeri hesaplanır. Eğer 30 dozaj biriminin son kabul değeri L1 yüzdesinden az veya eşit ise ve kütle değişimi veya içerik tekdüzeliliği altındaki kabul değeri hesabında, dozaj birimlerinden ayrı ayrı hiçbir (1 – L2 × 0,01) M den küçük veya (1 + L2 × 0,01) M den fazla değil ise dozaj birimlerinin gerekliliklerini karşılamış olur, Aksi belirtilmedikçe, L1 değeri 15,0 ve L2 değeri 25,0 olarak belirtilir. | Evet                    | Dozaj ünitelerinin tekdüzeliliği, uygulanan ürünün dozunu ve etkinliğini etkiler. Bu nedenle serbest bırakma ve stabilitesinde kritik öneme sahiptir, takibi yapılır.                                                                                              |
| Her bir Şişe için Püskürtme Sayısı     |                     | MIN. 120 püskürtme                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Evet                    | Her bir şişe için püskürtme sayısı, uygulanan ürünün dozunu ve etkinliğini etkiler. Bu nedenle serbest bırakma ve stabilitesinde kritik öneme sahiptir, takibi yapılır.                                                                                            |

**Çizelge 3.25. Devam.**

|                                |                                                                                                                 |                |      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Damlacık Büyüklüklüğü Dağılımı | Referans ürün ile benzerlik sağlanmalıdır.                                                                      |                | Evet | Nazal sprey, süspansiyonlar için, spesifikasyonlar, belirtilen deneysel ve enstrümantal koşullar altında püskürtmeden sonra verilen dumanın damlacık boyutu dağılımı için uygun bir kontrolü içermelidir. Bu nedenle ürün serbest bırakma ve stabilitesinde kritik öneme sahiptir, takibi yapılır.   |
| pH                             | Referans ürün ile benzerlik sağlanmalıdır.                                                                      |                | Evet | Üretim prosesinde pH kontrolü vardır, Bununla birlikte pH, ilaç ürününün stabilitesi ile ilişkilidir, Bu nedenle formülasyon geliştirme çalışmaları için kritik öneme sahiptir, geliştirme çalışmaları sırasında izlenir,                                                                            |
| Yoğunluk 20 °C                 | Referans ürün ile benzerlik sağlanmalıdır.                                                                      |                | Evet | Yoğunluk değeri, dolum hacminin doğru hesaplanması için önemlidir. Ağırlık ve hacim arasındaki dengeyi sağladığı için belirlemede etkilidir ve formülasyon geliştirme çalışmaları için kritik öneme sahiptir.                                                                                        |
| Viskozite                      | Referans ürün ile benzerlik sağlanmalıdır.                                                                      |                | Evet | Üretim sürecinde viskozite kontrolü vardır. Bununla birlikte, viskozite, ilaç ürününün damlacık boyutu dağılımı ile ilişkilidir. Bu nedenle formülasyon geliştirme çalışmaları için kritik öneme sahiptir, geliştirme çalışmaları sırasında izlenir.                                                 |
| Osmolalite                     | Referans ürün ile benzerlik sağlanmalıdır.                                                                      |                | Evet | Referans ürün benzerliği ve hasta uyumu için önemlidir,                                                                                                                                                                                                                                              |
| Partikül Büyüklüğü Dağılımı    | Referans ürün ile benzerlik sağlanmalıdır.                                                                      |                | Evet | Nazal Sprey, süspansiyon için spesifikasyonlar, partikül boyutu dağılımı için uygun bir kontrol içermelidir. Bu nedenle ilaç salımı ve stabilitesinde kritik öneme sahiptir. İlaç salım ve stabilize süreçleri sırasında izlenir.                                                                    |
| Miktar Tayini                  | Flutikazon Furoat                                                                                               | %95,0-105,0    | Evet | Miktar tayini, güvenliği ve verimliliği etkiler. Proses değişkenleri ayrıca ürünün miktarını da etkiler. Bu nedenle, nicelme, ürün ve süreç geliştirme boyunca değerlendirilmelidir.                                                                                                                 |
|                                | Benzalkonyum Klorür                                                                                             | %90,0 - %110,0 |      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Bozunma Ürünleri               | İmpürite D: Max 1,0%<br>Tanımlı Olmayan Her Bir İmpürite: Max 1,0%<br>Toplam İmpürite: Max 1,5%                 |                | Evet | Etkin madde spesifikasyonlarında toplam safsızlık kontrol altında tutulur ve safsızlık limitleri ICH Q3A yönergelerine uygun olmalıdır.                                                                                                                                                              |
| Mikrobiyal Kalite              | TAMC $\leq 10^2$ CFU/mL<br>TYMC $\leq 10$ CFU/mL<br>Pseudomonas aeruginosa 0/ mL<br>Staphylococcus aureus 0/ mL |                | Evet | Mikrobiyolojik sınırlara uyulmaması hasta sağlığını tehlikeye atabilir. Kullanılan hammadde ve yardımcı malzemelerin seçimine, kalitesine ve üretim aşamasına dikkat edilerek mikrobiyolojik kontrol sağlanmalıdır. Bu nedenle formülasyon ve süreç geliştirme aşaması için değerlendirilmeyecektir. |

### 3.4.2. Referans Ürün Karakterizasyonu

Referans ürün karakterizasyon analiz sonuçları Çizelge 3.26’da verilmiştir.

**Çizelge 3.26.** Referans ürün detayları

|                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|--------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Etiket Değeri</b>     | <ul style="list-style-type: none"><li>• 27,5 mikrogram/püskürtme</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Yardımcı Maddeler</b> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Glukoz (susuz)</li><li>• Süspande olabilen selüloz</li><li>• Polisorbat 80</li><li>• Benzalkonyum klorür</li><li>• Disodyum edetat</li><li>• Saf su</li></ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>Endikasyon</b>        | Yetişkinler ve 12 yaşından büyük adolesanlarda:<br>Mevsimsel alerjik rinitin nazal ve oküler belirtilerinin tedavisinde endikedir.<br>Yıl boyu devam eden alerjik rinitin nazal belirtilerinin tedavisinde endikedir.<br>Çocuklar (2 - 11 yaş):<br>Mevsimsel ve yıl boyu devam eden alerjik rinitin nazal belirtilerinin tedavisinde endikedir.                                                                                                                                                              |
| <b>Raf Ömrü</b>          | Raf ömrü 36 aydır.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Saklama Koşulları</b> | 30°C'nin altındaki oda sıcaklığında saklayınız. Buzdolabında saklamayınız veya dondurmayınız.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <b>Ambalaj İçeriği</b>   | Ölçülü bir atomizör sprey pompası takılı, amber rengi cam bir şişe içerisinde yer alan, beyaz renkte, homojen dağılımlı bir süspansiyondur. Bu şişe daha çok kırık-beyaz renkte olan, bir doz gösterge penceresi bulunan, yan tarafındaki aktive edilme kolu açık mavi renk olan ve tıpalı kapağı olan, plastik bir cihaz içerisinde. Her bir püskürtme cihaz dışına, yaklaşık 27,5 mikrogram, mikronize flutikazon furoat verilmesini sağlar. Bir şişe burun spreyinde 120 püskürtmelik ürün bulunmaktadır. |
| <b>Ruhsat Durumu</b>     | İlk ruhsat tarihi: 1 Ocak 2008                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>Üretici</b>           | GlaxoSmithKline Limited                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Ruhsat Sahibi</b>     | GlaxoSmithKline Limited                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

### 3.4.3. Kalite tasarımı Çalışması

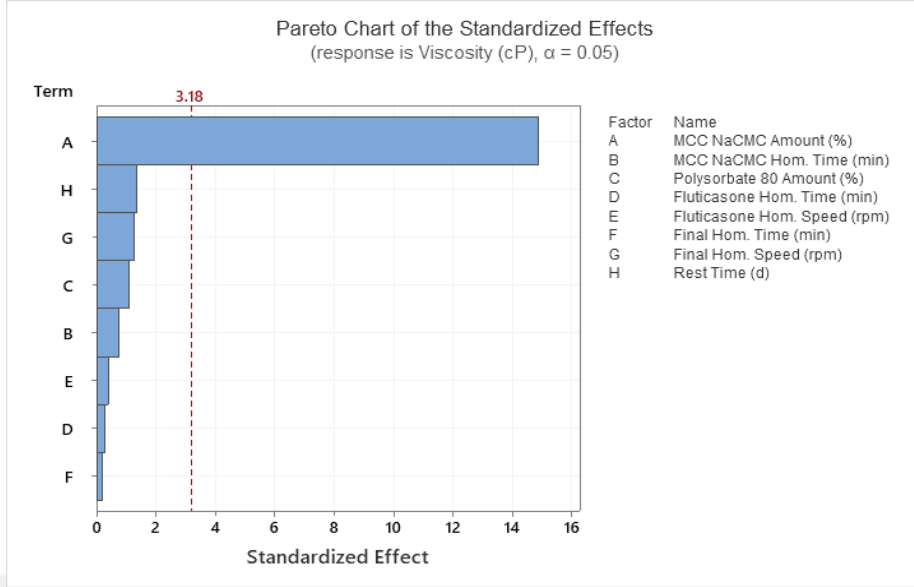
Flutikazon furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon’un formülasyon gelişimi aşamasında uygulanan Plackett-Burman deney tasarımı ile oluşturulan deney matrisine ilişkin analiz sonuçları Çizelge 3.27’de verilmiştir.

**Çizelge 3.27.** Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon Plackett-Burman deney tasarımı sonucunda elde edilen yanıt değişkenleri

| Formülasyon No, | Viskozite (cP) | Damlacık Büyüklüğü Dağılımı (d50) (µm) | *%V<10 µm (%) | Partikül Büyüklüğü Dağılımı (d10) (µm) | Partikül Büyüklüğü Dağılımı (d50) (µm) | Partikül Büyüklüğü Dağılımı (d90) (µm) |
|-----------------|----------------|----------------------------------------|---------------|----------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|
| F01             | 406,9          | 63,8                                   | 0,14          | 3,2                                    | 9,8                                    | 52,5                                   |
| F02             | 550,9          | 63,5                                   | 0,52          | 3,2                                    | 9,9                                    | 52,8                                   |
| F03*            | 162,5          | 65,1                                   | 0,001         | 3,1                                    | 9,5                                    | 49,1                                   |
| F04             | 496,9          | 76,9                                   | 0,11          | 3,1                                    | 9,8                                    | 51,7                                   |
| F05             | 503,9          | 65,5                                   | 0,12          | 3,1                                    | 10,0                                   | 54,2                                   |
| F06             | 178,5          | 57,6                                   | 0,07          | 3,1                                    | 9,5                                    | 50,3                                   |
| F07             | 181,0          | 77,0                                   | 0,06          | 3,1                                    | 9,6                                    | 52,0                                   |
| F08             | 163,0          | 49,0                                   | 0,001         | 3,1                                    | 9,5                                    | 49,4                                   |
| F09             | 483,9          | 49,0                                   | 0,04          | 3,1                                    | 9,8                                    | 52,0                                   |
| F10             | 489,9          | 72,7                                   | 0,02          | 3,1                                    | 9,9                                    | 53,6                                   |
| F11             | 186,5          | 42,2                                   | 0,0004        | 3,1                                    | 9,6                                    | 50,5                                   |
| F12             | 172,0          | 69,9                                   | 0,07          | 3,1                                    | 9,5                                    | 49,6                                   |

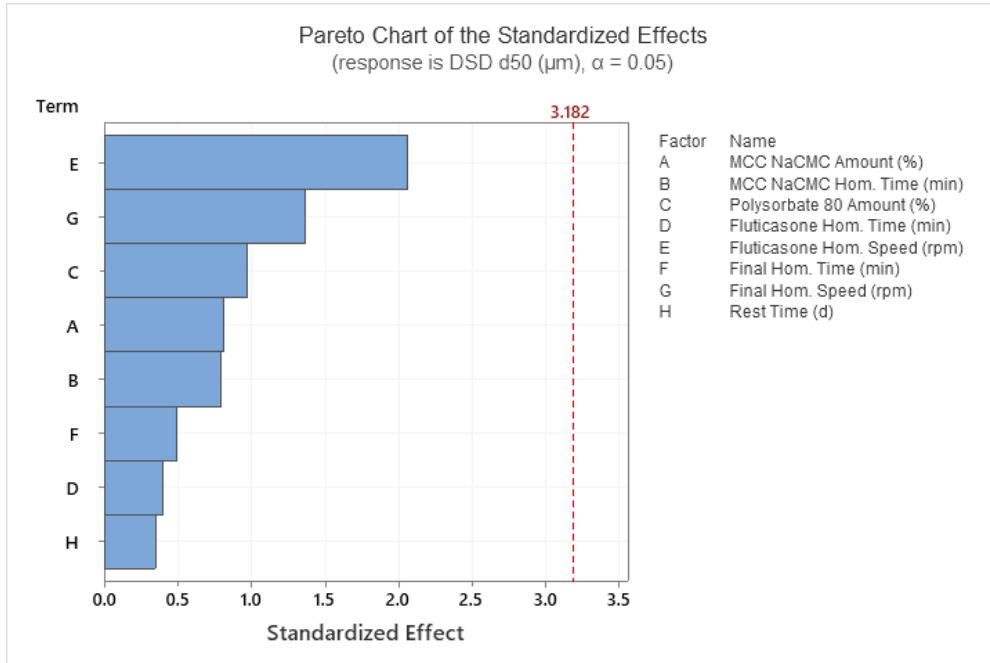
\*Nihai olarak seçilen formülasyondur.

Şekil 3.8’de verilen ve bağımsız değişkenlerin viskozite üzerine birinci dereceden etkilerini gösteren Pareto grafiği incelendiğinde, bağımsız değişkenler arasında mikrokristal selüloz ve karmeloz sodyum oranının viskoziteyi istatistiksel olarak anlamlı olarak etkilediği görülmektedir. Diğer bağımsız değişkenlerin viskozite üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi gözlenmemiştir. Elde edilen birinci dereceden matematiksel model anlamlı bulunmuş olup ( $p < 0,05$ ) modelin tanımlayıcılık katsayısı ( $R^2$ ) 0,9869 olarak hesaplanmış ve uygun bulunmuştur.



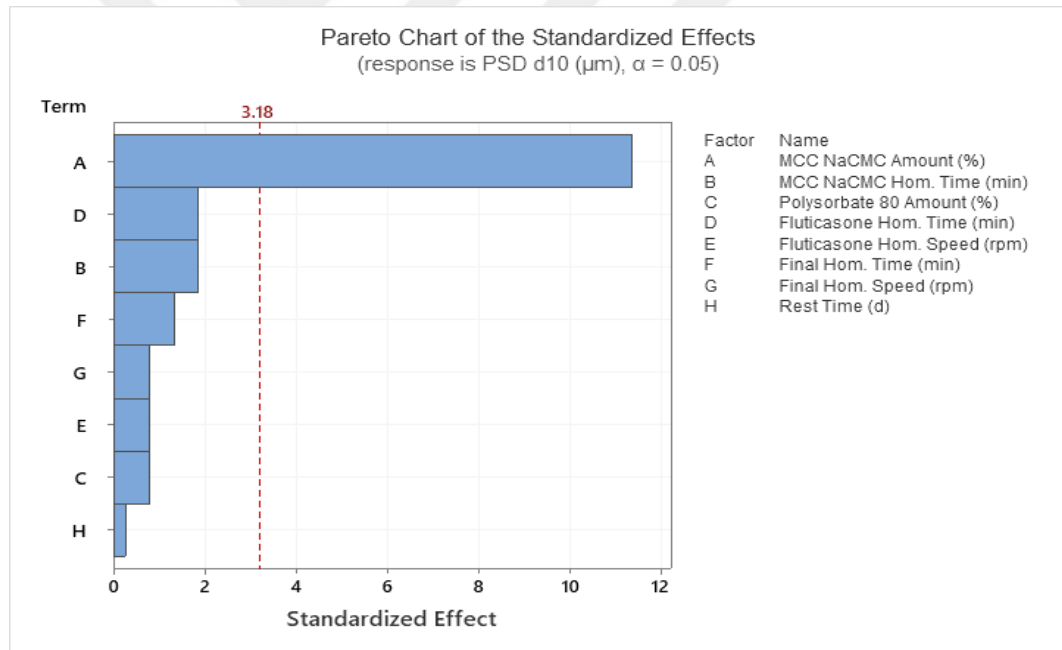
Şekil 3.8. Bağımsız değişkenlerin viskozite üzerine ana etkilerini gösteren pareto grafiği

Şekil 3.9’da verilen ve bağımsız değişkenlerin damlacık büyüklüğü dağılımı (d50) üzerine birinci dereceden etkilerini gösteren pareto grafiği incelendiğinde, bağımsız değişkenlerin damlacık büyüklüğü dağılımı (d50) üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmadığı gözlenmiştir.

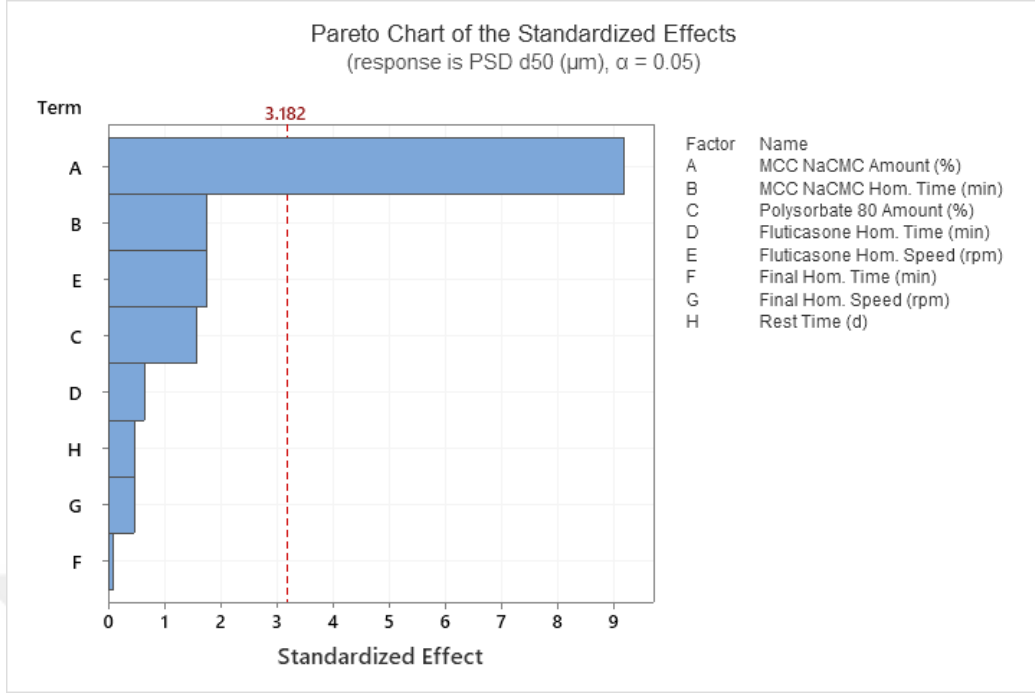


Şekil 3.9. Bağımsız değişkenlerin damlacık büyüklüğü dağılımı (d50) üzerine ana etkilerini gösteren pareto grafiği

Şekil 3.10 ve Şekil 3.11’de verilen ve bağımsız değişkenlerin partikül büyüklüğü dağılımı (d10 ve d50) üzerine birinci dereceden etkilerini gösteren pareto grafiği incelendiğinde, bağımsız değişkenler arasından mikrokristal selüloz ve karmeloz sodyum oranının partikül büyüklüğü dağılımını istatistiksel olarak anlamlı olarak etkilediği görülmektedir. Diğer bağımsız değişkenlerin partikül büyüklüğü dağılımı üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi gözlenmemiştir, Partikül büyüklüğü dağılımı (d10 ve d50) değerleri için elde edilen birinci dereceden matematiksel model anlamlı bulunmuş olup ( $p < 0,05$ ) d10 için modelin tanımlayıcılık katsayısı ( $R^2$ ) 0,9790 ve d50 için modelin tanımlayıcılık katsayısı ( $R^2$ ) 0,9689 olarak hesaplanmış ve uygun bulunmuştur. Mikrokristal selüloz ve karmeloz sodyum oranı, partikül büyüklüğü dağılımını (d90) istatistiksel olarak anlamlı olarak etkilemesine rağmen elde edilen birinci dereceden matematiksel model anlamlı bulunmamıştır.



**Şekil 3.10.** Bağımsız değişkenlerin partikül büyüklüğü dağılımı (d10) üzerine ana etkilerini gösteren pareto grafiği



**Şekil 3.11.** Bağımsız değişkenlerin partikül büyüklüğü dağılımı (d50) üzerine ana etkilerini gösteren pareto grafiği

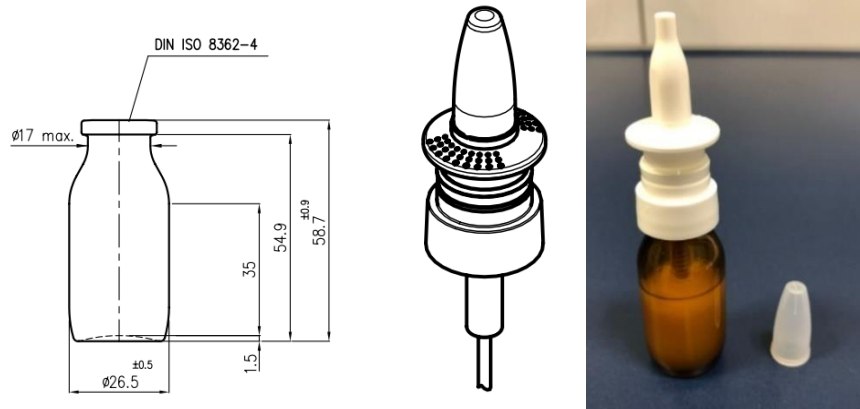
Deney tasarımıyla elde edilen bu bilgi kapsamında geliştirme çalışmalarında mikrokristal selüloz ve karmeloz sodyum oranına dikkat edilmiş ve optimum düzeyi kullanılarak Flutikazon Furoat 27,5  $\mu\text{g}$  Burun Spreyi, Süspansiyon formülasyonu geliştirilmiştir. Hazırlanan formülasyonlar içinde en uygun formülasyon F03 olmuştur.

Tez çalışmamız kapsamında kullanılacak pompa sistemi için pompa tedarikçisinden hizmet alımı yapılmıştır. Nihai olarak seçilen F03 formülasyonu ve referans ürün pompa tedarikçisine gönderilmiş ve sprej performans testleri kıyaslanarak optimum pompa sistemi seçilmiştir. Seçilen ambalaj malzemeleri ve bileşenleri burun sprejleri için sıklıkla kullanılan hammaddelerdir. Hem referans hem de test ürününü karşılaştırmalı fiziko-kimyasal değerlendirmelerine dayanan yaklaşımla pompa performansı ve ürün püskürtme prensibi kalite, güvenlik ve etkinlik açısından referans ilaç ürünü ile aynı olacak şekilde seçilmiştir.

Tez çalışmamızda geliştirilen ilaç formülasyonu için seçilen primer ambalaj malzemesi referans ürün ile aynıdır ve amber renkli cam şişedir. Pompa sistemleri karşılaştırıldığında referans ürün sekonder ambalajı yandan püskürtmeli dizayn edilmiştir fakat cihazın mekanizması incelendiğinde üstten püskürtme yaptığı gözlenmektedir. Seçtiğimiz ürün pompası da üstten püskürtme yapmaktadır. Pompa performansları ise aynıdır. Geliştirdiğimiz üründe de her bir püskürtme ile cihaz dışına, yaklaşık 27,5 mikrogram, mikronize flutikazon furoat verilmesini sağlayan pompa kullanılmıştır ve bu valide analitik metodlar ile test edilmektedir.

Optimum formülasyonun benzerliğini ve seçilen pompanın uygulama sonrası performansının benzerliğini göstermek için, Solunum ve Burun Ürünlerinin Farmasötik Kalitesine İlişkin EMA Kılavuzunda (EMA/CHMP/QWP/49313/2005 Corr) "Basıncsız Çoklu Kullanım" referans ürün ile farmasötik geliştirme çalışmaları, "Ölçülü Dozlu Spreyler" başlığı altında belirtilen farmasötik geliştirme çalışmaları ve FDA-Nazal Aerosoller için Biyoyararlanım ve Biyoeşdeğerlik Çalışmaları ve Lokal Eylem için Nazal Spreyler kılavuzuna uygun biyoeşdeğerlik çalışmaları yapılmıştır. Püskürtme pompasından çıkan numune miktarı, damlacık boyutu ve dağılımı, bulut geometrisi, püskürtme şekli gibi ürünün burun mukozasına verilmesi ile ilgili tüm testlerde benzerlik sağlanmıştır (EMA, 2005).

Seçilen ambalajın püskürtme sistemi şematik olarak Şekil 3.12'de gösterilmektedir.



Şekil 3.12. Seçilen ambalaj sistemi

### 3.5. F03 Nihai Formülasyonu Üzerinde Yapılan Diğer Çalışmalar

#### 3.5.1. Etkin Madde Salım Testlerine Ait Bulgular

Etkin maddenin %100 çözündüğü bir organik solvan olan asetonitril ile hazırlanan referans standarda karşı çözünen madde miktarı hesaplaması yapılmıştır. Salım testlerinin sonuçları Çizelge 3.28 ve 3.29’da verilmiştir.

**Çizelge 3.28.** Bio-Diss iner-çıkâr silindir yöntemi ile yapılan salım testlerinin sonuçları

| ORTAM                                            | MEMBRAN                    | SICAKLIK | HIZ    | SONUÇ        |                               |
|--------------------------------------------------|----------------------------|----------|--------|--------------|-------------------------------|
|                                                  |                            |          |        | Zaman (saat) | % Salınan etkin madde Miktarı |
| %0,5 SLS içeren PH 5,5 NAZAL ORTAMI: ACN (70:30) | Diyaliz membran (12-14 Kd) | 35°C     | 20 DPM | 1            | 3,4                           |
|                                                  |                            |          |        | 16           | 15,4                          |
|                                                  |                            |          |        | 22           | 17,2                          |
| PH 5,5 NAZAL ORTAMI: Etanol (60:40)              | Diyaliz membran (12-14 Kd) | 35°C     | 20 DPM | 2            | 2,5                           |
|                                                  |                            |          |        | 16           | 15,1                          |
|                                                  |                            |          |        | 22           | 16,9                          |
| PH 5,5 NAZAL ORTAMI: Etanol (60:40)              | Diyaliz membran (50 Kd)    | 35°C     | 30 DPM | 1            | 1,3                           |
|                                                  |                            |          |        | 3            | 3,6                           |
|                                                  |                            |          |        | 7            | 7,4                           |
|                                                  |                            |          |        | 12           | % 10,1                        |
| PH 5,5 NAZAL ORTAMI: Etanol (60:40)              | Diyaliz membran (12-14 Kd) | 35°C     | 30 DPM | 1            | 1,0                           |
|                                                  |                            |          |        | 3            | 2,7                           |
|                                                  |                            |          |        | 7            | 7,4                           |
|                                                  |                            |          |        | 9            | 10,5                          |
|                                                  |                            |          |        | 12           | 11,0                          |

**Çizelge 3.29.** Franz Difüzyon hücresi ile yapılan salım testlerinin sonuçları

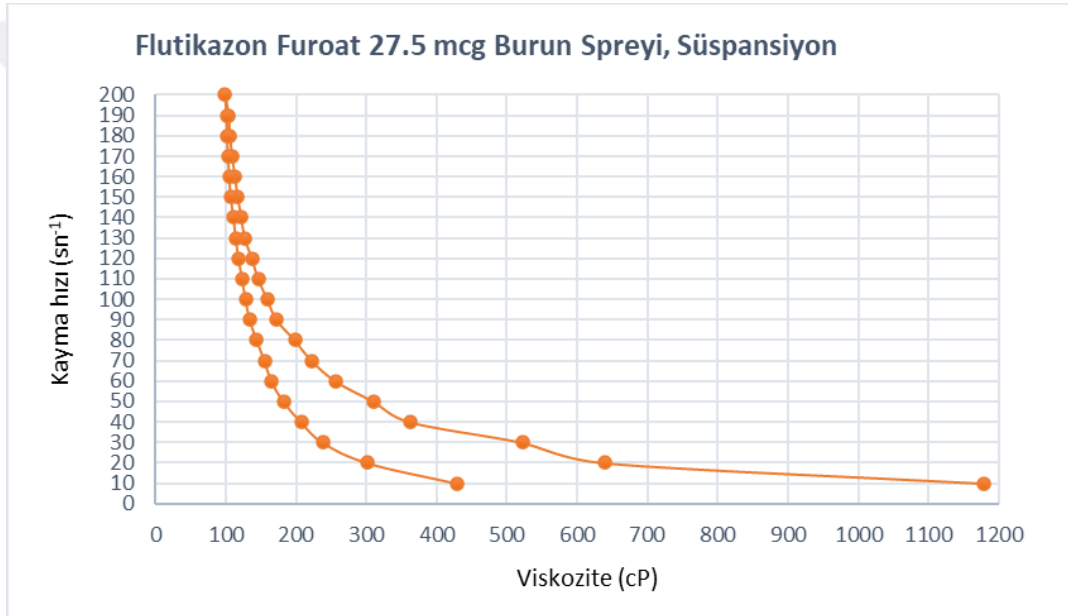
| ORTAM                                                         | MEMBRAN                                                                                                          | SICAKLIK | HIZ     | SONUÇ                                           |                                                 |                                                 |
|---------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|---------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| %0,5 SLS içeren<br>PH 5,5 NAZAL<br>ORTAMI                     | 1-0,45 steril<br>membran filtresi<br>2-Karışık selüloz<br>membran filtre                                         | 35°C     | 100 RPM | 18. saat                                        |                                                 |                                                 |
|                                                               |                                                                                                                  |          |         | 1.Filtre %<br>Salınan etkin<br>madde<br>Miktarı | 2.Filtre %<br>Salınan etkin<br>madde<br>Miktarı |                                                 |
|                                                               |                                                                                                                  |          |         | 2,4                                             | 2,9                                             |                                                 |
| %2,0 SLS içeren<br>PH 5,5 NAZAL<br>ORTAMI                     | 1-0,45 steril<br>membran filtre<br>2-Karışık selüloz<br>membran filtre                                           | 35°C     | 100 RPM | 12. saat                                        |                                                 |                                                 |
|                                                               |                                                                                                                  |          |         | 1.Filtre %<br>Salınan etkin<br>madde<br>Miktarı | 2.Filtre %<br>Salınan etkin<br>madde Miktarı    |                                                 |
|                                                               |                                                                                                                  |          |         | 1,6                                             | 1,7                                             |                                                 |
| %20 Etanol içeren<br>PH 5,5 NAZAL<br>ORTAMI                   | 1-0,45 steril<br>membran filtre<br>2-Karışık selüloz<br>membran filtre                                           | 35°C     | 100 RPM | 24. saat                                        |                                                 |                                                 |
|                                                               |                                                                                                                  |          |         | 1.Filtre %<br>Salınan etkin<br>madde<br>Miktarı | 2.Filtre %<br>Salınan etkin<br>madde Miktarı    |                                                 |
|                                                               |                                                                                                                  |          |         | 0,2                                             | 0,2                                             |                                                 |
| %30 PEG 400 (co-<br>solvent) içeren PH<br>5,5 NAZAL<br>ORTAMI | 1-0,45 steril<br>membran filtre<br>2-Whatman 0,45<br>Selüloz Asetat<br>membran filtre                            | 35°C     | 100 RPM | Tüm çekim saatlerinde pik<br>görünmemektedir,   |                                                 |                                                 |
| %0,5 LDOA içeren<br>PH 5,5 NAZAL<br>ORTAMI                    | 1-0,45 steril<br>membran filtre<br>2-MDI 0,45<br>membran filtre<br>3- 0,45 PTFE Disk<br>filtre membran<br>filtre | 35°C     | 100 RPM | 18. saat                                        |                                                 |                                                 |
|                                                               |                                                                                                                  |          |         | 1.Filtre %<br>Salınan etkin<br>madde<br>Miktarı | 2.Filtre %<br>Salınan etkin<br>madde<br>Miktarı | 3.Filtre %<br>Salınan etkin<br>madde<br>Miktarı |
|                                                               |                                                                                                                  |          |         | 1,9                                             | 2,1                                             | 1,9                                             |

### 3.5.2. Tiksotropik Akış Çalışmalarına Ait Bulgular

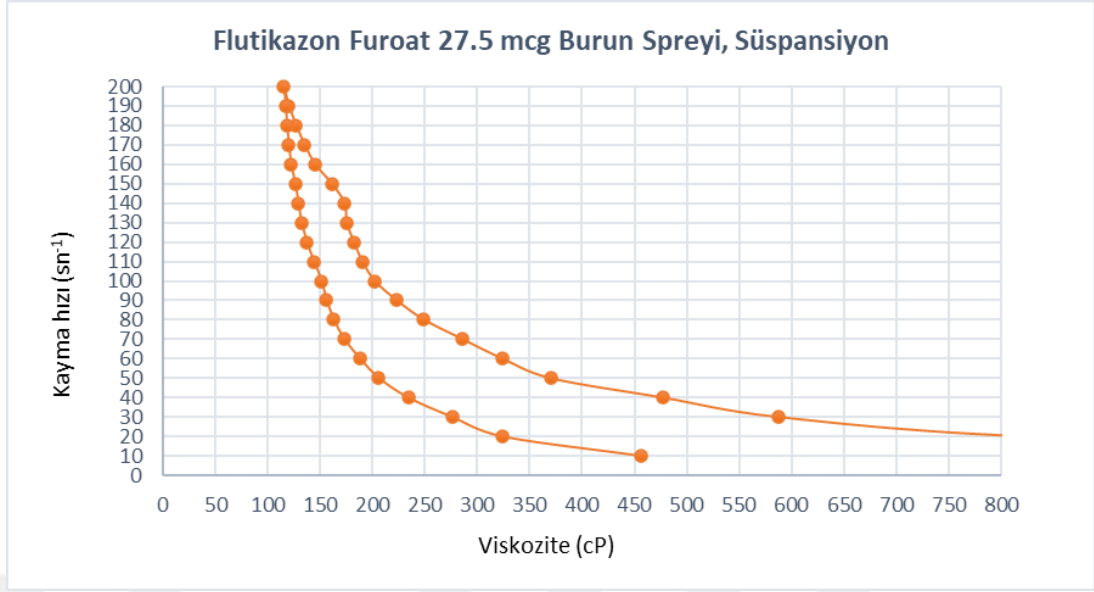
Tez çalışması kapsamında geliştirdiğimiz nazal sprey formülasyonu tiksotropik akış özelliği göstermektedir. Tiksotropi, zamana bağlı bir davranış biçimidir, Tiksotropi; geri dönüşümlü olan izotermal jel-sol-jel oluşumudur. Tiksotropi

partiküllerin çökmesini engellediği için süspansiyonlarda tercih edilen bir özelliktir ve geliştirme çalışması yapılan formülasyonumuzda yer alan Avicel RC 591 tiksotropik özellik gösteren bir yardımcı madde olup, sisteme bu özelliği kazandırmaktadır.

Tiksotropinin ölçülmesi için farklı 2 mil ile ölçüm yapılmıştır. Bunun nedeni bitmiş ürünün viskoz halinin en iyi ölçen ve de kuvvet uygulandığında viskozitesi azalmış bitmiş ürünü daha iyi ölçen iki mil ile çalışmayı gözlemlemektir. Tüm ölçümler 22 °C’de yapılmıştır. Ölçüm mil dönmeye başladıktan sonra 1. dakikanın sonunda alınmıştır.



Şekil 3.13. S63 mil ile ölçümlerden çizilen reogram



Şekil 3.14. S62 mil ile ölçümlerden çizilen reogram

### 3.6. Ölçek Büyütme Çalışmaları

QbD çalışması ile nihai formülasyonu F03 seçilen Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon için formülasyon geliştirme çalışmaları devam etmiş ve pilot üretim değerlendirmesi amacıyla P2, P3 ve P4 seri numaralı 3 seri pilot üretim çalışması yapılmıştır.

#### 3.6.1. Bitmiş Ürün Kontrolleri

Bitmiş ürün kontrolleri Çizelge 3.30'da referans ürün ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. 3 seri validasyon üretimi ile elde edilen P2, P3, P4 ile 3 seri referans ürün R1, R2, R3 analiz sonuçları spesifikasyon limitleri dahilinde olup birbiri ile benzerdir.

### 3.6.2. Stabilite Sonuçları

Validasyon serilerinden P2 serisine ait stabilite sonuçları Çizelge 2.31’de sunulmuştur. Stabilite süresince etkin madde ve koruyucu miktarlarında majör bir düşüş gözlenmemiştir. Üründe herhangi bir flokülasyon, kekleşme gibi fiziksel problemler gözlenmemiştir. Ürün fiziksel test sonuçlarından kritik öneme sahip viskozitede majör değişiklik gözlenmemiştir.



**Çizelge 3.30.** Referans ürün (R1-R3) ile karşılaştırmalı pilot seri (P2-P4) bitmiş ürün spesifikasyonları

| Testler                                               | Spesifikasyon Limitleri                                                                          |                                                                                                                        | Sonuçlar                         |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
|                                                       |                                                                                                  |                                                                                                                        | P2                               | P3                               | P4                               | R1                               | R2                               | R3                               |
| Görünüş                                               | Beyaz renkli homojen süspansiyon                                                                 |                                                                                                                        | Beyaz renkli homojen süspansiyon | Beyaz renkli homojen süspansiyon | Beyaz renkli homojen süspansiyon | Beyaz renkli homojen süspansiyon | Beyaz renkli homojen süspansiyon | Beyaz renkli homojen süspansiyon |
| Tanımlama                                             | Ölçülü doz sprey pompası olan amber renkli cam şişe içerisinde beyaz renkli homojen süspansiyon. |                                                                                                                        | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            |
| Flutikazon Furoat Tanıma                              | A- UV/DAD                                                                                        | Numune ve standart kromatogramlarından elde edilen Flutikazon Furoat piklerinin alıkonma zamanları benzer olmalıdır.   | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            |
|                                                       | B- DAD                                                                                           | Test çözeltisi ve standart çözeltisindeki Flutikazon Furoat piklerin spektrumları benzer olmalıdır.                    | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            |
| Benzalkonyum Klorür Tanıma                            | A- UV/DAD                                                                                        | Numune ve standart kromatogramlarından elde edilen Benzalkonyum Klorür piklerinin alıkonma zamanları benzer olmalıdır. | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            |
|                                                       | B- DAD                                                                                           | Test çözeltisi ve standart çözeltisindeki Benzalkonyum Klorür piklerin spektrumları benzer olmalıdır.                  | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            | Uygun                            |
| pH                                                    | 5,0 – 7,0                                                                                        |                                                                                                                        | 6,1                              | 6,2                              | 6,2                              | 6,2                              | 6,0                              | 6,2                              |
| Yoğunluk 20 °C                                        | 0,90-1,10 g/mL                                                                                   |                                                                                                                        | 1,03 g/mL                        | 1,02 g/mL                        | 1,03 g/mL                        | 1,02 g/mL                        | 1,02 g/mL                        | 1,02 g/mL                        |
| Viskozite (S62, 90 rpm, Tork: %50±%10, Oda Sıcaklığı) | 120 cP- 200 cP                                                                                   |                                                                                                                        | 158 cp                           | 160 cp                           | 160 cp                           | 175 cp                           | 170 cp                           | 172 cp                           |
| Partikül Büyüklüğü Dağılımı                           | d50: 3-10 µm                                                                                     |                                                                                                                        | 8 µm                             | 8 µm                             | 8 µm                             | 6 µm                             | 6 µm                             | 6 µm                             |

**Çizelge 3.30. Devam.**

| Osmolalite                             | 290-400 mOsm/kg                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 347 mOsm/kg                      | 347 mOsm/kg                      | 346 mOsm/kg                      | 327 mOsm/kg                   | 341 mOsm/kg                      | 338 mOsm/kg                   |
|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| Flutikazon Furoat Miktar Tayini        | %95,0 - %105,0<br>95,0% - 105,0%<br>(26,1 µg/50 µL – 28,9µg/50 µL)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | % 101,8                          | % 101,6                          | % 101,5                          | %93,9                         | % 95,7                           | % 95,7                        |
| Benzalkonyum Klorür Miktar Tayini      | %90,0 - %110,0<br>90,0% - 110,0%<br>(7,43 µg/50 µL- 9,075 µg/50 µL)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | % 104,4                          | % 104,0                          | % 104,0                          | % 93,9                        | % 90,8                           | % 90,8                        |
| İletilen Doz İçerik Tekdüzeligi        | 10 püskürtme için;<br>Her bir püskürtmeden en fazla bir tanesi %75-<br>%125 aralığı olabilir ve hiçbir püskürtme<br>%65-135 aralığının dışında olmamalıdır.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 27,9 µg                          | 26,9 µg                          | 27,1 µg                          | 27,0 µg                       | 25,8 µg                          | 26,1 µg                       |
| Dozaj Ünitelerinin Tekdüzeligi         | Eğer ilk 10 dozaj biriminin kabul değeri L1 yüzdesinden küçük veya eşit ise dozaj birimlerinin gerekliliklerini karşılamış olur. Eğer kabul değeri L1 yüzdesinden daha büyük ise sonraki 20 dozaj test edilir ve kabul değeri hesaplanır. Eğer 30 dozaj biriminin son kabul değeri L1 yüzdesinden az veya eşit ise ve kütle değişimi veya içerik tekdüzeliği altındaki kabul değeri hesabında, dozaj birimlerinden ayrı ayrı hiçbirisi (1 – L2 × 0,01) M den küçük veya (1 + L2 × 0,01)M den fazla değil ise dozaj birimlerinin gerekliliklerini karşılamış olur. Aksi belirtilmedikçe, L1 değeri 15,0 ve L2 değeri 25,0 olarak belirtilir. | AV: 5,4                          | AV: 8,8                          | AV: 10,3                         | AV: 12,8                      | AV: 9,2                          | AV: 9,2                       |
| Minimum Dolum Ağırlığı (120 püskürtme) | ≥10 g<br>Her bir ölçüm sonucu USP 755 monografına uygun olmalıdır.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 11,4                             | 11,2                             | 11,6                             | 10,8                          | 10,5                             | 10,4                          |
| Ortalama Püskürtme Dozu                | %85-%115 (23,375 µg/püskürtme-31,625 µg/püskürtme)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | % 101,5                          | % 97,7                           | % 98,4                           | % 92,1                        | % 90,4                           | % 90,4                        |
| Her bir Şişe için Püskürtme Sayısı     | MIN. 120 püskürtme                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 187                              | 189                              | 187                              | 167                           | 162                              | 162                           |
| Damlacık Büyüklüğü Dağılımı            | Maksimum %5<10 µm<br>d50: 30-70 µm                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | %5 < 10 µm:<br>0,9<br>d50: 46 µm | %5 < 10 µm:<br>0,4<br>d50: 45 µm | %5 < 10 µm:<br>0,8<br>d50: 46 µm | %5 < 10 µm: 0,5<br>d50: 46 µm | %5 < 10 µm:<br>0,4<br>d50: 45 µm | %5 < 10 µm: 0,7<br>d50: 45 µm |

**Çizelge 3.31.** P2 serisi stabilite analiz sonuçları

| TESTLER                               | 25 ±2 °C %60 ± %5 BN              |                                   |                                   | 30 ±2 °C %65 ± %5 BN              |                                   | 40 ±2 °C %75 ± %5 BN              |                                   |                                   |
|---------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                                       | BAŞLANGIÇ                         | 3,Ay                              | 6,Ay                              | 3,Ay                              | 6,Ay                              | 1,Ay                              | 3,Ay                              | 6,Ay                              |
| Görünüş                               | Beyaz renkli, homojen süspansiyon | Beyaz renkli, homojen süspansiyon | Beyaz renkli, homojen süspansiyon | Beyaz renkli, homojen süspansiyon | Beyaz renkli, homojen süspansiyon | Beyaz renkli, homojen süspansiyon | Beyaz renkli, homojen süspansiyon | Beyaz renkli, homojen süspansiyon |
| Tanımlama                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             |
| Flutikazon Furoat Tanıma (UV/DAD)     | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             |
| Benzalkonyum Klorür Tanıma (UV/DAD)   | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             |
| Ortalama Püskürtme Dozu (%)           | 101,5                             | 96,3                              | 102,2                             | 92,5                              | 96,2                              | 98,6                              | 95,7                              | 102,8                             |
| pH                                    | 6,1                               | 6,2                               | 6,1                               | 6,2                               | 6,2                               | 6,3                               | 6,0                               | 5,8                               |
| Yoğunluk 20 °C (g/mL)                 | 1,03                              | 1,02                              | 1,03                              | 1,02                              | 1,03                              | 1,02                              | 1,02                              | 1,03                              |
| Damlacık Büyüklüğü Dağılımı           | %5 <10 µm: 0,9<br>d50: 45 µm      | %5 <10 µm: 0,02<br>d50: 65 µm     | %5 <10 µm: 0,1<br>d50: 43 µm      | %5 <10 µm: 0,03<br>d50: 67 µm     | %5 <10 µm: 0,4<br>d50: 41 µm      | %5 <10 µm: 0,02<br>d50: 60 µm     | %5 <10 µm: 0,44<br>d50: 65 µm     | %5 <10 µm: 0,1<br>d50: 42 µm      |
| Partikül Büyüklüğü Dağılımı (µm)      | 8                                 | 7                                 | 8                                 | 8                                 | 8                                 | 7                                 | 7                                 | 8                                 |
| Viskozite (cP)                        | 158                               | 165                               | 176                               | 163                               | 173                               | 167                               | 174                               | 170                               |
| Osmolalite (mOsm/kg)                  | 347                               | 347                               | 333                               | 348                               | 335                               | 347                               | 347                               | 333                               |
| Flutikazon Furoat Miktar Tayini (%)   | 101,8                             | 101,0                             | 102,2                             | 101,4                             | 102,0                             | 101,9                             | 101,8                             | 101,9                             |
| Benzalkonyum Klorür Miktar Tayini (%) | 104,4                             | 102,4                             | 102,7                             | 102,1                             | 101,2                             | 102,8                             | 102,3                             | 102,1                             |
| İletilen Doz İçerik Tekdüzeliliği     | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             | Uygun                             |
| Dozaj Ünitelerinin Tekdüzeliliği      | AV:5,4<br>Uygun                   | AV:12,8<br>Uygun                  | AV: 11,7<br>Uygun                 | AV:13,1<br>Uygun                  | AV: 7,9<br>Uygun                  | AV:11,8<br>Uygun                  | AV:13,9<br>Uygun                  | AV: 14,3<br>Uygun                 |

### **3.7. Nazal Ürünler için EMA Kılavuzunda Belirtilen Testler ve Metotları**

Basıncsız çok kullanımlı ve doz ayarlı bir nazal sprey ürünü için EMA kılavuzunda belirtilen ve bitmiş üründe yapılması gereken aşağıdaki testler yapılmıştır.

#### **3.7.1. Nazal Ürünler İçin Uygulanan Test Metotlarına Ait Bulgular**

##### **3.7.1.1. Görünüş**

Analiz sonucu Çizelge 3.30'da verilmiştir. Numuneler beyaz renkli, homojen süspansiyondur.

##### **3.7.1.2. Tanımlama**

Analiz sonucu Çizelge 3.30'da verilmiştir. Numuneler ölçülü doz sprey pompası olan amber renkli cam şişe içerisinde beyaz renkli homojen süspansiyondur.

##### **3.7.1.3. Tanıma**

*Flutikazon Furoat Tanıma UV / DAD*; numune ve standart kromatogramlarından elde edilen flutikazon furoat piklerinin alıkonma zamanları benzerdir.

*Benzalkonyum Klorür UV / DAD*; numune ve standart kromatogramlarından elde edilen benzalkonyum klorür piklerinin alıkonma zamanları benzerdir.

#### **3.7.1.4. Minimum Dolum Ağırlığı**

Analiz sonuçları Çizelge 3.30'da verilmiştir. Analiz sonuçları spesifikasyon limitleri dahilinde gelmiş olup, uygundur.

#### **3.7.1.5. Ortalama Püskürtme Dozu**

Analiz sonuçları Çizelge 3.30'da verilmiştir. Analiz sonuçları spesifikasyon limitleri dahilindedir.

#### **3.7.1.6. İletilen Doz İçerik Tekdüzeliliği ve Dozaj Üniteleri Tekdüzeliliği**

Analiz sonuçları Çizelge 3.30'da verilmiştir. Analiz sonuçları spesifikasyon limitleri dahilinde bulunmuştur.

#### **3.7.1.7. Her Bir Şişe İçin Püskürtme Sayısı**

Analiz sonuçları Çizelge 3.30'da verilmiştir. Her bir şişe minimum 120 püskürtme yapmalıdır. Analiz sonuçları spesifikasyon limitleri dahilinde bulunmuştur.

#### **3.7.1.8. Yoğunluk**

Analiz sonuçları Çizelge 3.30'da verilmiştir. Analiz sonuçları spesifikasyon limitleri içinde kalmaktadır. Yoğunluk testi aynı zamanda in vitro biyoeşdeğerliliğin istatistiksel olarak kanıtlanmasında her bir seri için  $n=10$  numuneden tekrar değerlendirilmiştir.

#### **3.7.1.9. Damlacık Büyüklüğü Dağılımı**

Süspansiyon dozaj formunda olan referans ürünü ve Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon test ürünü için partikül ve damlacık büyüklüğü dağılım testi yapılarak, burun spreynin spreyleneşmesinden sonra burun mukozasının hedef bölgesinde adsorbe olacak partiküllerin ve damlacıkların partikül büyüklüğü dağılımının ve damlacıkların büyüklüğü dağılımının belirlenmesi amaçlanmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 3.30'da verilmiştir. Analiz sonuçları spesifikasyon limitleri dahilinde gelmiş olup, uygundur. Damlacık büyüklüğü dağılımı testi aynı zamanda in vitro biyoeşdeğerliliğin istatistiksel olarak kanıtlanmasında her bir seri için n=10 numuneden ve farklı ölçüm uzaklıklarından tekrar değerlendirilecektir.

#### **3.7.1.10. Ağırlık Kaybı**

Bitmiş ürün ambalaj malzemesi cam şişe ve plastik pompa sisteminden oluşmaktadır. Pompa sistemi çakma kapaklıdır. Bu kısımda herhangi bir sızma olup olmadığını kontrol etmek amacıyla ağırlık kaybı testi takip edilmektedir. İlk 6 ay uzun süreli, hızlandırılmış ve ara koşul şartlarında limit dışı bir sonuç görünmemektedir. Sonuçlar uygun gelmiştir.

#### **3.7.1.11. Viskozite**

Analiz sonuçları Çizelge 3.30'da verilmiştir. Analiz sonuçları spesifikasyon limitleri dahilinde gelmiş olup, uygundur. Viskozite testi aynı zamanda in vitro biyoeşdeğerliliğin istatistiksel olarak kanıtlanmasında her bir seri için n=10 numuneden tekrar değerlendirilecektir.

#### **3.7.1.12. Osmolalite**

Analiz sonuçları Çizelge 3.30'da verilmiştir. Analiz sonuçları spesifikasyon limitleri dahilinde gelmiş olup, uygundur. Osmolalite testi aynı zamanda in vitro biyoeşdeğerliliğin istatistiksel olarak kanıtlanmasında her bir seri için n=10 numuneden tekrar değerlendirilecektir.

#### **3.7.1.13. pH**

Analiz sonuçları Çizelge 3.30'da verilmiştir. Analiz sonuçları spesifikasyon limitleri dahilinde gelmiş olup, uygundur. pH testi aynı zamanda in vitro biyoeşdeğerliliğin istatistiksel olarak kanıtlanmasında her bir seri için n=10 numuneden tekrar değerlendirilecektir.

#### **3.7.1.14. Partikül büyüklüğü dağılımı**

Analiz sonuçları Çizelge 3.30'da verilmiştir. Analiz sonuçları spesifikasyon limitleri dahilinde gelmiş olup, uygundur. Partikül büyüklüğü dağılımı testi aynı zamanda in vitro biyoeşdeğerliliğin istatistiksel olarak kanıtlanmasında farklı analiz yöntemleri kullanılarak her bir seri için n=10 numuneden tekrar değerlendirilecektir.

#### **3.7.1.15. Flutikazon Furoat Ve Benzalkonyum Klorür Miktar Tayini**

Analiz sonuçları Çizelge 3.30'da verilmiştir. Analiz sonuçları spesifikasyon limitleri dahilinde gelmiş olup, uygundur.

### 3.7.1.16. Gerekli Minimum Dolum Miktarı

Referans ürün etiketinde belirtilen doz sayısını sağlamak için ambalaj materyaline doldurulması gereken ürün miktarını belirlemek amacıyla gereken minimum dolum miktarı tespit edilmiştir. Referans ürün etiketinde bir ambalajda 120 dozluk kullanım olduğu belirtilmektedir. Referans ürün etiketinde verilen bu bilginin tespiti için; ilk olarak tek dozun (tek püskürtmenin) ağırlığı ve ardışık on dozun ortalama ağırlık tekdüzeliği tespit edilmiştir. Referans ürün ambalajındaki ürünün tamamı tükenene kadar püskürtme yapılmış ve bir şişe içerisinde yer alan ürün ile kaç dozlama yapılabildiği hesaplanmıştır. Test ve referans ürün sonuçları Çizelge 3.32’de verilmiştir.

**Çizelge 3.32.** Her şişe için süspansiyon püskürtme sayısı

| Seri No  | Doz Sayısı | Seri No  | Doz Sayısı |
|----------|------------|----------|------------|
| R1       | 157        | P2       | 187        |
| R3       | 162        | P3       | 189        |
| R3       | 167        | P4       | 187        |
| Ortalama | 162        | Ortalama | 187        |

### 3.7.1.17. Tek Doz (Püskürtmenin) Ağırlığı ve On Dozun Ağırlık Ortalaması

Bölüm 3.7.2.16 ‘da yapılan gerekli minimum dolum ağırlığı testi ile ortak yapılmıştır . Referans ürün etiketinde verilen bu bilginin tespiti için; ilk olarak tek dozun (tek püskürtmenin) ağırlığı ve ardışık on dozun ortalama ağırlık tekdüzeliği tespit edilmiştir. Referans ürün ambalajındaki ürünün tamamı tükenene kadar püskürtme yapılmış ve bir şişe içerisinde yer alan ürün ile kaç dozlama yapılabildiği hesaplanmıştır. Aynı test uygulaması validasyon serileri için de uygulanmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 3.33 ve Çizelge 3.34’te verilmiştir.

**Çizelge 3.33.** Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon tek püskürtme ağırlık analiz sonuçları

|          | P2           |         |              |         | P3           |         |              |         | P4           |         |              |         |
|----------|--------------|---------|--------------|---------|--------------|---------|--------------|---------|--------------|---------|--------------|---------|
| Puff No  | Ağırlık (mg) | RSD (%) | Ağırlık (mg) | RSD (%) | Ağırlık (mg) | RSD (%) | Ağırlık (mg) | RSD (%) | Ağırlık (mg) | RSD (%) | Ağırlık (mg) | RSD (%) |
| 1        | 49,9         | 1,28    | 50,6         | 1,10    | 49,6         | 1,82    | 50,5         | 1,43    | 52,0         | 0,49    | 51,1         | 1,17    |
| 2        | 51,3         |         | 50,7         |         | 50,4         |         | 49,7         |         | 52,2         |         | 50,2         |         |
| 3        | 52,5         |         | 50,6         |         | 51,0         |         | 51,5         |         | 52,9         |         | 50,8         |         |
| 4        | 51,2         |         | 50,3         |         | 51,6         |         | 51,9         |         | 52,4         |         | 50,2         |         |
| 5        | 51,3         |         | 50,6         |         | 49,5         |         | 51,0         |         | 52,3         |         | 50,8         |         |
| 6        | 51,9         |         | 49,8         |         | 51,5         |         | 50,0         |         | 52,6         |         | 51,5         |         |
| 7        | 51,6         |         | 52,1         |         | 49,3         |         | 49,9         |         | 52,1         |         | 51,6         |         |
| 8        | 51,9         |         | 51,0         |         | 50,1         |         | 51,1         |         | 52,2         |         | 50,8         |         |
| 9        | 51,3         |         | 50,6         |         | 49,4         |         | 51,4         |         | 52,1         |         | 50,3         |         |
| 10       | 50,9         |         | 50,5         |         | 51,7         |         | 50,2         |         | 52,3         |         | 49,6         |         |
| Ortalama | 51,4         |         | 50,7         |         | 50,4         |         | 50,7         |         | 52,3         |         | 50,7         |         |

**Çizelge 3.34.** Referans ürün tek püskürtme ağırlık analiz sonuçları

|          | R1           |         |              |         | R3           |         |              |         | R2           |         |              |         |
|----------|--------------|---------|--------------|---------|--------------|---------|--------------|---------|--------------|---------|--------------|---------|
| Puff No  | Ağırlık (mg) | RSD (%) | Ağırlık (mg) | RSD (%) | Ağırlık (mg) | RSD (%) | Ağırlık (mg) | RSD (%) | Ağırlık (mg) | RSD (%) | Ağırlık (mg) | RSD (%) |
| 1        | 53,4         | 1,12    | 52,8         | 1,55    | 52,2         | 0,85    | 50,2         | 1,66    | 51,5         | 0,87    | 53,6         | 1,30    |
| 2        | 54,1         |         | 53,5         |         | 53,7         |         | 52,2         |         | 51,6         |         | 52,5         |         |
| 3        | 54,3         |         | 53,4         |         | 53,0         |         | 51,2         |         | 51,9         |         | 51,9         |         |
| 4        | 54,2         |         | 53,8         |         | 52,3         |         | 51,7         |         | 52,1         |         | 53,0         |         |
| 5        | 54,1         |         | 52,0         |         | 52,6         |         | 53,3         |         | 51,1         |         | 53,7         |         |
| 6        | 54,9         |         | 53,3         |         | 52,5         |         | 50,9         |         | 52,0         |         | 53,3         |         |
| 7        | 54,3         |         | 53,6         |         | 52,9         |         | 51,3         |         | 51,5         |         | 52,7         |         |
| 8        | 53,3         |         | 51,5         |         | 52,9         |         | 52,7         |         | 52,8         |         | 51,4         |         |
| 9        | 54,5         |         | 54,1         |         | 52,3         |         | 52,2         |         | 52,1         |         | 52,6         |         |
| 10       | 55,5         |         | 54,1         |         | 52,2         |         | 51,8         |         | 51,5         |         | 52,4         |         |
| Ortalama | 54,3         |         | 53,2         |         | 52,7         |         | 51,8         |         | 51,8         |         | 52,7         |         |

### 3.7.1.18. Minimum Dolum Gereksinimi

Bu test Bölüm 3.7.2.16 'da yapılan gerekli minimum dolum ağırlığı testini kapsamaktadır. Analiz sonuçları Bölüm 3.1.7.16'da verilmiştir.

### 3.7.1.19. Ambalaj Ömrü boyunca Sağlanan İletilen Doz Tekdüzeliliği

Bu test, referans ürününün ve Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon test ürünün primer ambalajı içerisinde yer alan toplam dozlama sayısı boyunca sağlanan iletilen doz tekdüzeliğinin tespit edilmesi için yapılmıştır. Analiz sonuçları spesifikasyon limitleri dahilinde gelmiş olup, uygundur. İn vitro biyoeşdeğerliliğin istatistiksel olarak kanıtlanmasında her bir seri için n=10 numuneden tekrar değerlendirilmiştir.

### 3.7.1.20. Aktüvatör Birikme Testi

Bu test, Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon ürünü sprey aktüvatöründe biriken ürün miktarını belirlemek için yapılmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 3.35'te verilmiştir.

**Çizelge 3.35.** Aktüvatör birikme testi analiz sonuçları

| Tekrar Sayısı  | Tartımlar | P2       | P3        | P4       |
|----------------|-----------|----------|-----------|----------|
| 1              | t0        | 6493,6   | 6482,1    | 6481,9   |
|                | t1        | 7106,2   | 7071,8    | 7074,1   |
|                | t1-t0     | 612,6 mg | 589,7 mg  | 592,2 mg |
| 2              | t0        | 6476,1   | 6490,4    | 6489,6   |
|                | t1        | 7086,8   | 7093,9    | 7073,8   |
|                | t1-t0     | 610,7 mg | 603,5 mg  | 584,2 mg |
| 3              | t0        | 6491,5   | 6474,3    | 6457,7   |
|                | t1        | 7083,2   | 7062,7    | 7053,3   |
|                | T1-t0     | 591,7 mg | 588, 4 mg | 595,6 mg |
| Ortalama       |           | 605 mg   | 596,6 mg  | 590,7 mg |
| Standard Sapma |           | 1,91     | 1,64      | 0,99     |

Referans ürün ambalajı kapalı bir sistem olduğundan ve aktüvatör çıkarılamadığı için bu test gerçekleştirilememiştir.

#### **3.7.1.21. Çalkalama Gereksinimi**

Referans ürünü ve Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon test ürünü, süspansiyon formunda bir formülasyona sahip olduğu için her kullanım öncesi çalkalanması gereklidir. Ek olarak referans ürün etiketinde belirtilen “Burun spreyini çalkalayınız,” uyarısının yeterli olduğunu göstermek amacıyla çalkalama gereksinimi testi yapılmıştır. Köpürme veya yetersiz sallama ile gerçekleştirilecek yanlış dozlama ihtimali yapılan doz tekdüzeliği testleri ile test edilerek uygun çalkalama süresi tespit edilmiştir. Analiz sonuçları ‘3.8 Nazal Sprey Ürünlerde İn Vitro Biyoeşdeğerliliğin Değerlendirilmesi İçin Yapılan Testler ve Sonuçları’ bölümünde verilmiştir.

#### **3.7.1.22. Şişeden İlk Püskürtme ve Yeniden Püskürtme**

Bu çalışma yatay ve dikey gibi farklı konumda depolanan ürünün ilk defa kullanımında atık olarak değerlendirilmesi gereken püskürtme sayısını belirlemek için yapılmıştır. Aynı zamanda şişenin kullanılmadığı süre sonunda yeniden püskürtüldüğünde atık olarak değerlendirilmesi gereken püskürtme sayısını belirlemek için yeniden püskürtme çalışması yapılmıştır. Analiz sonuçları ‘3.8. Nazal Sprey Ürünlerde İn Vitro Biyoeşdeğerliliğin Değerlendirilmesi İçin Yapılan Testler ve Sonuçları’ bölümünde Çizelge 3.57’de verilmiştir.

### 3.7.1.23. Sıcaklık Döngüsü Sonrası Performans Testi

Bu çalışma, sıcaklık döngüsünün Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon ile verilen doz homojenliği üzerindeki etkisini değerlendirmek için yapılmıştır. Analiz sonuçları ‘3.8. Nazal Sprey Ürünlerde İn Vitro Biyoeşdeğerliliğin Değerlendirilmesi İçin Yapılan Testler ve Sonuçları’ bölümünde verilmiştir.

### 3.7.1.24. Koruyucu Etkinlik Çalışması

Bu çalışma, Avrupa farmakopesine göre yürütülmüş olup analiz sonuçları uygun bulunmuştur. Çalışma sonuçları Çizelge 3.36’da verilmiştir.

**Çizelge 3.36.** Koruyucu etkinlik analiz sonuçları

| Benzalkonyum klorür % Miktarı | Sonuç |
|-------------------------------|-------|
| %100                          | Uygun |
| %90                           | Uygun |
| %80                           | Uygun |
| %60                           | Uygun |

### 3.7.1.25. Süspansiyonun Fiziksel Stabilitesi

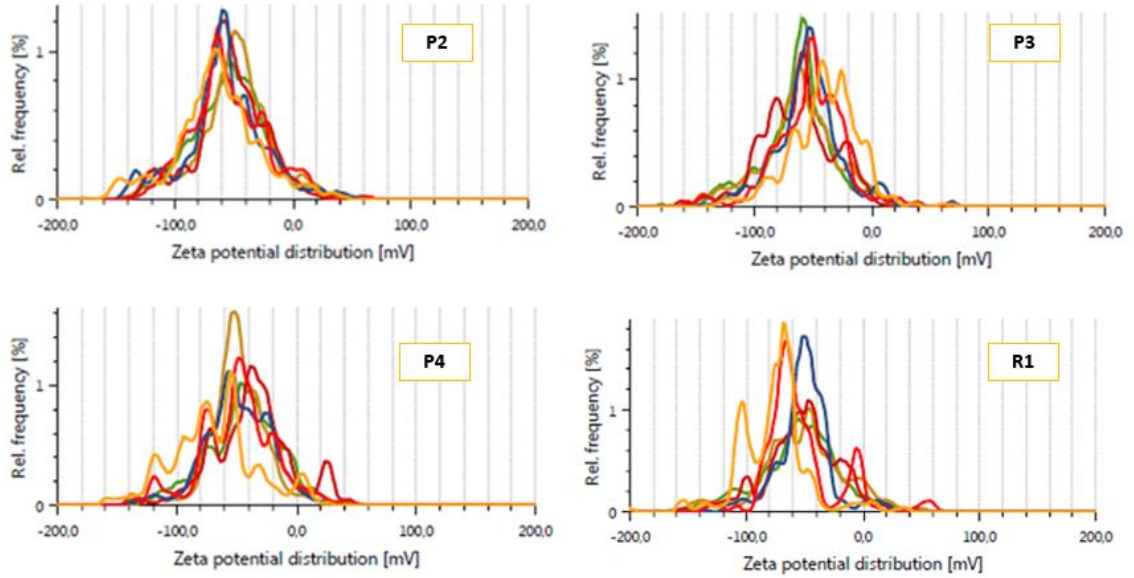
Disperse olan partiküllerin çökme durumlarının değerlendirilmesi için yapılan bu test, 40°C %75 BN koşulunda stabilite kabininde iki hafta bekletilerek yapılmıştır. Süspansiyonda herhangi bir çökme gözlenmemiştir.

### 3.7.1.26. Zeta Potansiyel Analiz Sonuçları

Koloidal partiküller dispersiyon ortamında iyonları absorbe etme özelliğindedirler. Dispersiyon ortamındaki partikül başlangıçta partikül kendi yüzeyindeki elektrik yükü ile ortama temas etmekte ve sahip olduğu yükün karşıtı olan yükleri üzerine çekip yüzeyine yapışık bir elektriksel tabaka oluştururlar. Bu elektriksel tabaka ile nötr sıvı bölgesi arasındaki potansiyel farkına zeta potansiyel denir. Zeta potansiyel, koloidal sistemlerin stabilitesinin değerlendirilmesinde önemli bir parametredir. Zeta potansiyeli analiz sonuçları Çizelge 3.37 ve Şekil 3.15'te verilmiştir.

Çizelge 3.37. Zeta potansiyeli analiz sonuçları

| Seri No | N=6 Ortalama Sonuç (mV) |
|---------|-------------------------|
| P2      | -57,5 ±10,1             |
| P3      | -55,2 ± 14.7            |
| P4      | -50,8 ± 5.9             |
| R1      | -57,9 ± 6.2             |



Şekil 3.15. Zeta potansiyel analiz sonucu grafikleri

Test ve referans ürün zeta potansiyeli değerleri süspansiyon stabilitesi için ideal bulunmuştur.

#### **3.7.1.27. Sprey Performans Testleri**

Formülasyon geliştirme aşamasında QbD kullanılarak geliştirilen optimum formülasyon, referans ürün ile benzer kalite özelliklerine sahiptir. Daha sonra referans ürünün sprej şişesi ve pompası ile benzer özelliklere sahip sprej şişesi ve sprej pompası seçimi için dağıtım cihazı geliştirme çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar kapsamında 30mm ve 60mm olmak üzere iki farklı mesafe ile tek doz ağırlık/hacim, damlacık boyutu dağılımı, sprej izi ve tüy geometrisi testleri yapılmıştır. Analiz sonuçları ‘3.8 Nazal Sprej Ürünlerde İn Vitro Biyoeşdeğerliliğin Değerlendirilmesi İçin Yapılan Testler ve Sonuçları’ bölümünde verilmiştir.

#### **3.7.1.28. Ekstre Edilebilir ve Sızabilir Maddeler**

Kabul kriterlerinin belirlendiğini ve ayrıca toksikolojik inceleme ile desteklendiğini doğrulamak için, öncelikle tedarikçinin ekstre edilebilir ve sızabilir maddeler çalışmasına dayanarak taşınabilecek maddeler ve bunların sınırları ve sonuçları gözlemlendi. Daha sonra bu maddelerin toksikolojik değerlendirmesi yapıldı. Sonuç olarak, tedarikçi tarafından sağlanan ekstre edilebilir ve sızabilir maddeler için çalışmalarda pompa sistemindeki olası bileşenler belirlenmiştir. Bu bileşenler toksikolojik olarak değerlendirildiğinde herhangi bir risk oluşturmazlar. Ekstre edilebilir ve sızabilir maddeler için çalışmalar %95 etanol ve diklorometan ile gerçekleştirilmiştir ve bunlar en kötü durum koşullarındadır. En kötü durumda bile ekstre edilebilir ve sızabilir maddelerin miktarlarının limitin altında olduğu görülmektedir. Flutikazon furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon etanol içermemektedir. Bu nedenle üründe migrasyon oranının daha düşük olması

beklenmektedir. Sonuç olarak ürünün migrasyon açısından güvenli olduğunu ortaya çıkmaktadır.

#### **3.7.1.29. Sağlamlık**

Bu çalışma, nazal sprey ilaç ürünlerinde cihaz sağlamlığının incelenmesi ve cihazın performans özelliklerinin, farklı kullanım durumlarındaki (örneğin düşürme, sallama, titretme) performansının incelenmesi için yapılmıştır. Analiz sonuçları '3.8 Nazal Sprey Ürünlerde İn Vitro Biyoeşdeğerliliğin Değerlendirilmesi İçin Yapılan Testler ve Sonuçları' bölümünde verilmiştir.

### **3.8. Nazal Sprey Ürünlerde İn Vitro Biyoeşdeğerliliğin Değerlendirilmesi İçin Yapılan Testler ve Sonuçları**

Nazal sprey ürünlerde in vitro biyoeşdeğerliliğin değerlendirilmesi için kullanılan ABE ve PBE istatistiksel değerlendirmeleri SAS dili kullanılarak Excel'de yapılmıştır. Analiz sonuçları ABE ve PBE kabul kriterlerine göre değerlendirilmiştir.

#### **3.8.1. Ürün Kabı Kullanım Süresince Tek Bir Aktivasyon İçeriği (SCU) (n=10, 3 seri Test, 3 seri referans ürün)**

Analiz sonuçları Çizelge 3.38'de verilmiştir. Yapılan ABE ve PBE hesaplamaları sonucunda Flutikazon furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon içerik tekdüzeliği açısından referans ürün ile in vitro biyoeşdeğer bulunmuştur.

**Çizelge 3.38.** Ürün kabı kullanım süresince tek bir aktivasyon içeriği (SCU) (n=10, 3 seri test, 3 seri referans ürün) sonuçları

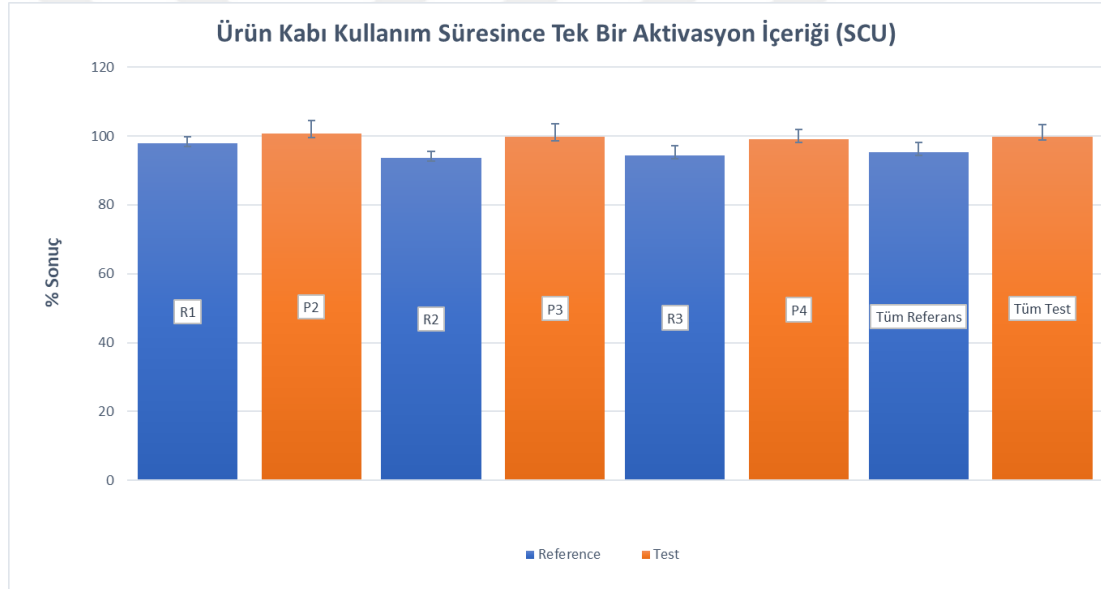
|       | P2                  | P3     | P4     | R1     | R2    | R3    |
|-------|---------------------|--------|--------|--------|-------|-------|
|       | BAŞLANGIÇ PÜSKÜRTME |        |        |        |       |       |
| ORT.  | 98,68               | 100,85 | 99,47  | 97,39  | 94,13 | 94,45 |
| SD    | 3,97                | 4,47   | 3,34   | 1,52   | 1,31  | 2,89  |
| RSD % | 4,02                | 4,43   | 3,36   | 1,56   | 1,39  | 3,06  |
| MIN.  | 92,80               | 94,20  | 93,90  | 95,70  | 92,30 | 90,40 |
| MAKS. | 104,20              | 109,60 | 103,80 | 100,90 | 95,90 | 98,30 |

|       | P2             | P3     | P4     | R1     | R2    | R3    |
|-------|----------------|--------|--------|--------|-------|-------|
|       | ORTA PÜSKÜRTME |        |        |        |       |       |
| ORT.  | 102,86         | 98,95  | 99,20  | 98,93  | 93,95 | 95,56 |
| SD    | 4,14           | 4,24   | 2,90   | 4,94   | 1,72  | 1,69  |
| RSD % | 4,02           | 4,28   | 2,93   | 5,00   | 1,83  | 1,77  |
| MIN.  | 96,60          | 94,20  | 95,90  | 96,30  | 91,60 | 93,80 |
| MAKS. | 107,40         | 108,80 | 105,70 | 112,60 | 96,60 | 98,80 |

|       | P2            | P3     | P4     | R1     | R2    | R3    |
|-------|---------------|--------|--------|--------|-------|-------|
|       | SON PÜSKÜRTME |        |        |        |       |       |
| ORT.  | 102,57        | 98,47  | 98,78  | 98,34  | 93,34 | 94,37 |
| SD    | 2,95          | 2,80   | 1,99   | 2,41   | 1,99  | 2,88  |
| RSD % | 2,87          | 2,85   | 2,01   | 2,45   | 2,13  | 3,05  |
| MIN.  | 96,20         | 95,40  | 95,50  | 95,30  | 89,10 | 89,40 |
| MAKS. | 107,10        | 104,60 | 101,40 | 103,80 | 95,10 | 99,60 |

**Çizelge 3.39.** ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Ürün kabı kullanım süresince tek bir aktivasyon içeriği (SCU)

| Tanımlayıcı istatistikler |                    |                    |             |
|---------------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 97,49325013        |                    |             |
| % CV                      | 3,265745873        | CV ref %           | 2,993343941 |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL                 | UL          |
|                           | 1,046666827        | 1,036374331        | 1,05706154  |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9                | 1,1111      |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9                | 1,1111      |
| Sonuç                     | BİYOEŞDEĞER        |                    |             |
| PBE sonuçları             |                    |                    |             |
| σR                        | 0,029926737        | SABİT ÖLÇEKLİ      |             |
| Ratio                     | 1,046666827        |                    |             |
| Hη                        | -0,017324298       | As <0: BİYOEŞDEĞER |             |



**Şekil 3.16.** Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Ürün kabı kullanım süresince tek bir aktivasyon içeriği (SCU)

### 3.8.1. Lazer kırınımı ile damlacık büyüklüğü dağılımı-DSD (n=10, 3 seri test, 3 seri referans ürün)

Analiz sonuçları Çizelge 3.40 ve Çizelge 3.41’de verilmiştir. Yapılan ABE ve PBE hesaplamaları sonucunda Flutikazon furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon referans ürün ile in vitro biyoeşdeğer bulunmuştur.

**Çizelge 3.40.** 30 mm-Damlacık büyüklüğü ve dağılımı

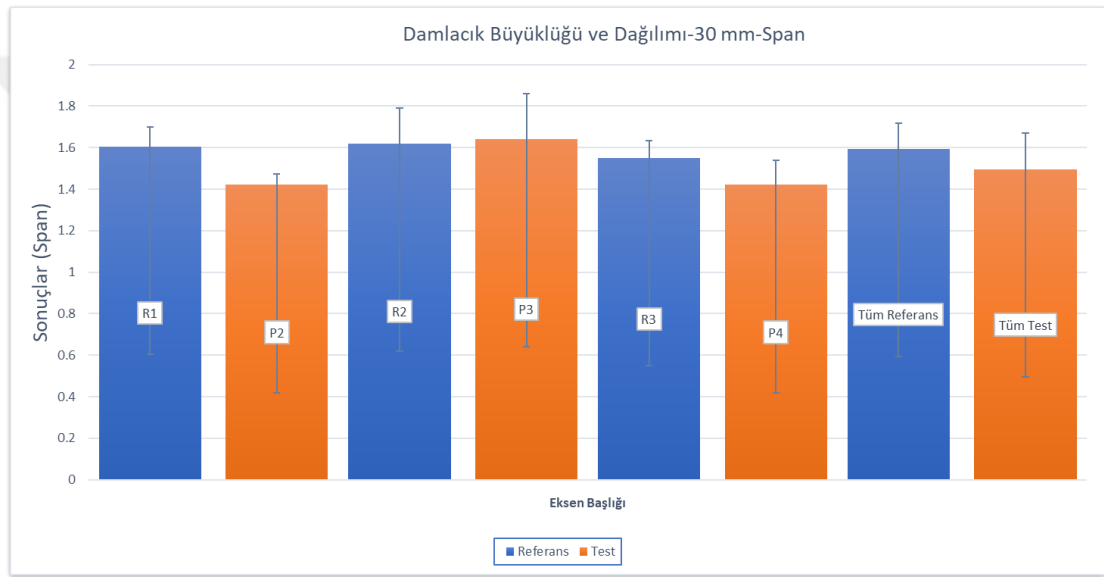
|          | (30 mm)             |       |             |               |       |             |
|----------|---------------------|-------|-------------|---------------|-------|-------------|
|          | Başlangıç Püskürtme |       |             | Son Püskürtme |       |             |
| Seriler  | D50 (µm)            | SPAN  | %5< 10 (µm) | D50 (µm)      | SPAN  | %5< 10 (µm) |
| P2_n=10  | 45,608              | 1,44  | 0,054       | 46,14         | 1,394 | 0,026       |
| P3_n=10  | 44,824              | 1,647 | 0,291       | 43,761        | 1,685 | 0,237       |
| P4_n=10  | 45,126              | 1,453 | 0,021       | 44,716        | 1,387 | 0,019       |
| R1-n=10  | 46,723              | 1,609 | 0,719       | 47,154        | 1,581 | 0,618       |
| R2-n=10  | 45,2                | 1,689 | 0,687       | 46,125        | 1,529 | 0,609       |
| R3- n=10 | 44,414              | 1,52  | 0,645       | 45,432        | 1,558 | 0,755       |

**Çizelge 3.41.** 60 mm-Damlacık büyüklüğü ve dağılımı

|          | (60 mm)             |       |             |               |       |             |
|----------|---------------------|-------|-------------|---------------|-------|-------------|
|          | Başlangıç Püskürtme |       |             | Son Püskürtme |       |             |
| Seriler  | D50 (µm)            | SPAN  | %5< 10 (µm) | D50 (µm)      | SPAN  | %5< 10 (µm) |
| P2_n=10  | 44,475              | 1,22  | 0,324       | 46,459        | 1,793 | 0,524       |
| P3_n=10  | 41,476              | 1,377 | 0,645       | 45,634        | 1,705 | 0,82        |
| P4_n=10  | 46,096              | 1,293 | 1,168       | 44,566        | 1,366 | 0,653       |
| R1-n=10  | 46,363              | 1,32  | 0,634       | 46,39         | 1,288 | 0,491       |
| R2-n=10  | 46,252              | 1,25  | 0,599       | 46,36         | 1,223 | 0,691       |
| R3- n=10 | 46,479              | 1,294 | 1,057       | 46,144        | 1,287 | 0,809       |

**Çizelge 3.42.** ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Damlacık büyüklüğü ve dağılımı-30 mm-Span

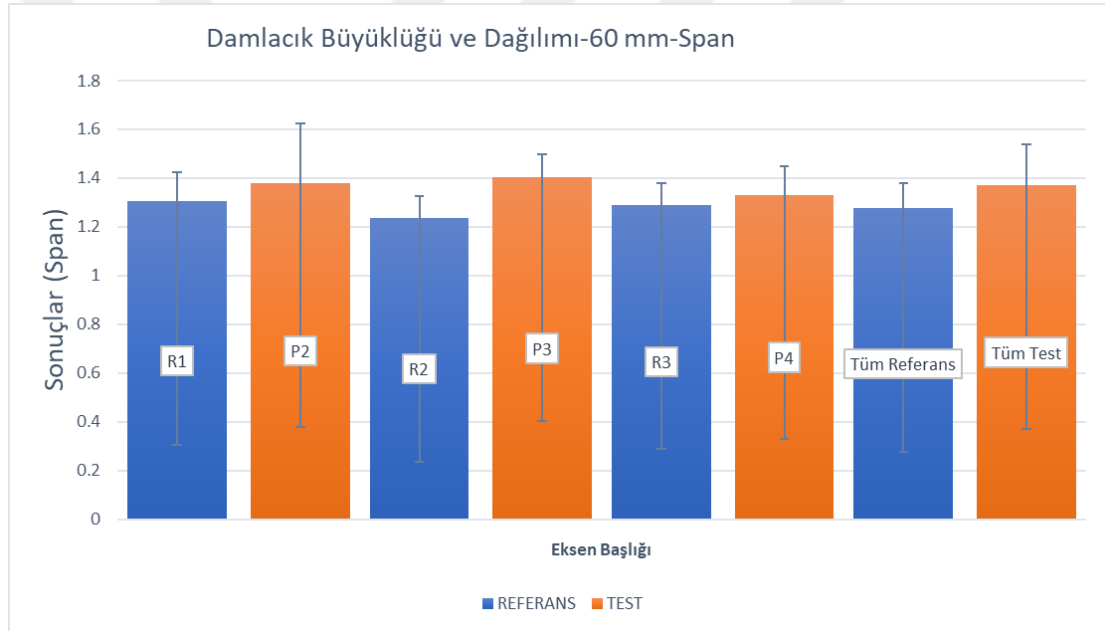
| Tanımlayıcı istatistikler |                    |                    |             |
|---------------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 9,428534824        |                    |             |
| % CV                      | 9,428534824        | CV ref %           | 7,133102086 |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL                 | UL          |
|                           | 0,935935594        | 0,909660181        | 0,962969968 |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9                | 1,11        |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9                | 1,11        |
| Sonuç                     | BİYOEŞDEĞER        |                    |             |
| PBE sonuçları             |                    |                    |             |
| σR                        | 0,071240535        | SABİT ÖLÇEKLİ      |             |
| Ratio                     | 0,935935594        |                    |             |
| Hη                        | -0,000487707       | As <0: BİYOEŞDEĞER |             |



**Şekil 3.17.** Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Damlacık büyüklüğü ve dağılımı-30 mm-Span

**Çizelge 3.43.** ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Damlacık büyüklüğü ve dağılımı-60 mm-Span

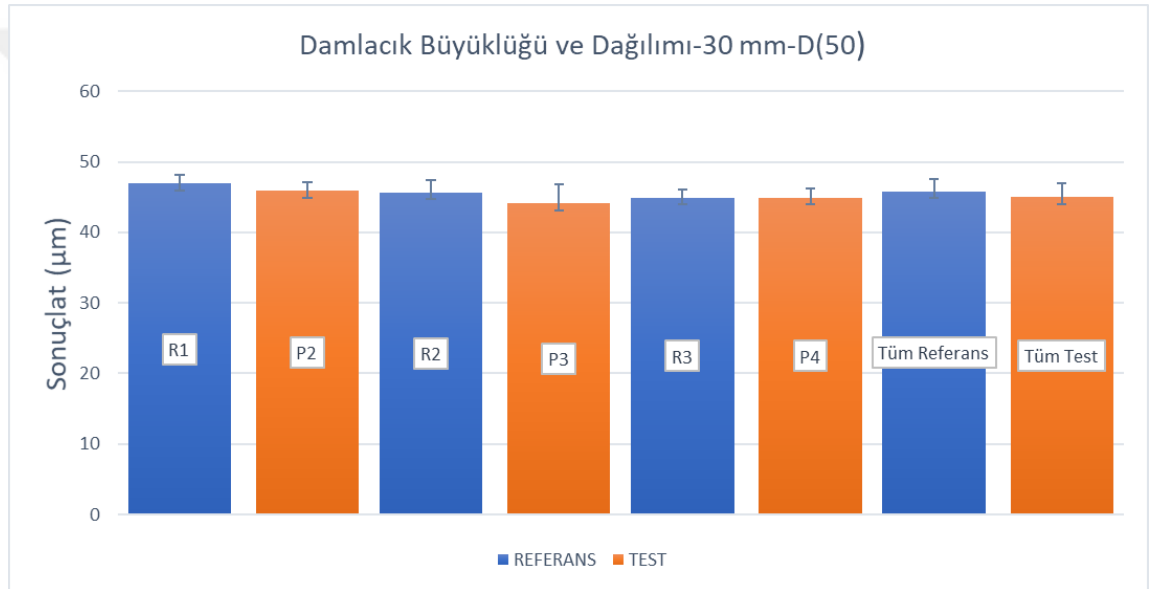
| Tanımlayıcı istatistikler |                    |                    |             |
|---------------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 1,316538212        |                    |             |
| % CV                      | 10,0383078         | CV ref %           | 7,894485478 |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL                 | UL          |
|                           | 1,069491177        | 1,037563067        | 1,102401785 |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9                | 1,11        |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9                | 1,11        |
| Sonuç                     | BİYOEŞDEĞER        |                    |             |
| PBE sonuçları             |                    |                    |             |
| σR                        | 0,078822266        | SABİT ÖLÇEKLİ      |             |
| Ratio                     | 1,069491177        |                    |             |
| Hη                        | -0,000716345       | As <0: BİYOEŞDEĞER |             |



**Şekil 3.18.** Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Damlacık büyüklüğü ve dağılımı-60 mm-Span

**Çizelge 3.44.** ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Damlacık büyüklüğü ve dağılımı-30 mm-D(50)

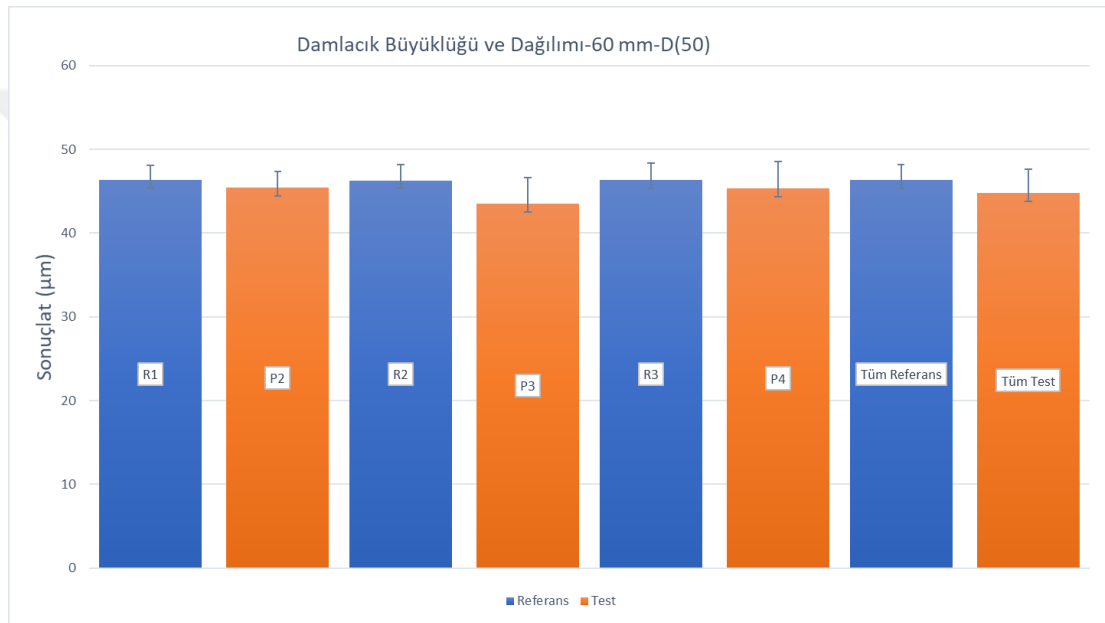
| Tanımlayıcı istatistikler |                    |                    |             |
|---------------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 45,35845514        |                    |             |
| % CV                      | 4,123030831        | CV ref %           | 3,581642398 |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL                 | UL          |
|                           | 0,980275326        | 0,968122873        | 0,992580324 |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9                | 1,11        |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9                | 1,11        |
| Sonuç                     | BİYOEŞDEĞER        |                    |             |
| PBE sonuçları             |                    |                    |             |
| σR                        | 0,035804945        | SABİT ÖLÇEKLİ      |             |
| Ratio                     | 0,980275326        |                    |             |
| Hη                        | -0,018364321       | As <0: BİYOEŞDEĞER |             |



**Şekil 3.19.** Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Damlacık büyüklüğü ve dağılımı-30 mm-D(50)

**Çizelge 3.45.** ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Damlacık Büyüklüğü ve Dağılımı-60 mm-D(50)

| Tanımlayıcı istatistikler |                    |                    |             |
|---------------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 45,48689426        |                    |             |
| % CV                      | 5,372928202        | CV ref %           | 4,020069666 |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL                 | UL          |
|                           | 0,965402353        | 0,94984012         | 0,981219558 |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9                | 1,11        |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9                | 1,11        |
| Sonuç                     | BİYOEŞDEĞER        |                    |             |
| PBE sonuçları             |                    |                    |             |
| σR                        | 0,040184469        | SABİT ÖLÇEKLİ      |             |
| Ratio                     | 0,965402353        |                    |             |
| Hη                        | -0,014794429       | As <0: BİYOEŞDEĞER |             |



**Şekil 3.20.** Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Damlacık büyüklüğü ve dağılımı-60 mm-D(50)

### 3.8.2. Partikül Büyüklüğü Dağılımı

Bu test, Copley Yeni Nesil Impactor (NGI) ve Raman spektroskopisi kullanılarak yapılmıştır.

**3.8.2.1. Aerodinamik partikül boyut dağılımı (Drug in small droplets)  
(n=10, 3 seri Test, 3 seri referans ürün)**

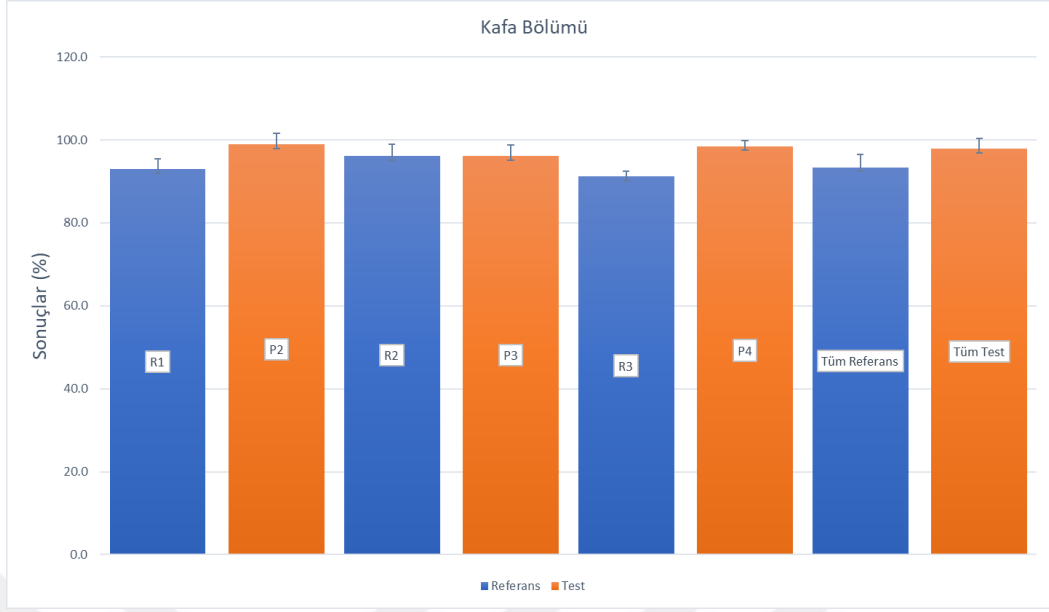
Analiz sonuçları Çizelge 3.46'da verilmiştir. Yapılan ABE ve PBE hesaplamaları sonucunda Flutikazon furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon referans ürün ile in vitro biyoeşdeğer bulunmuştur.

**Çizelge 3.46.** Aerodinamik partikül boyut dağılımı analiz sonuçları

| Seriler  | % Küçük damlada etkin madde miktarı Kafa (%85,0-%115,0) | % Küçük damlada etkin madde miktarı Akciğer ( $5\mu < \%5$ ) | Toplam |
|----------|---------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------|
| P2-n=10  | 98,91                                                   | 0,27                                                         | 99,18  |
| P3-n=10  | 96,11                                                   | 0,23                                                         | 96,34  |
| P4-n=10  | 98,5                                                    | 0,35                                                         | 98,85  |
| R1-n=10  | 93                                                      | 0,15                                                         | 93,15  |
| R2- n=10 | 96,08                                                   | 0,17                                                         | 96,25  |
| R3- n=10 | 91,14                                                   | 0,18                                                         | 91,32  |

**Çizelge 3.47.** ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Küçük damlada etkin madde miktarı-Kafa

| Tanımlayıcı istatistikler |                    |                    |             |
|---------------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 95,55761379        |                    |             |
| % CV                      | 2,94714878         | CV ref %           | 3,23038008  |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL                 | UL          |
|                           | 1,047643601        | 1,034405147        | 1,061051484 |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9                | 1,1111      |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9                | 1,1111      |
| Sonuç                     | BİYOEŞDEĞER        |                    |             |
| PBE sonuçları             |                    |                    |             |
| σR                        | 0,032295378        | SABİT ÖLÇEKLİ      |             |
| Ratio                     | 1,047643601        |                    |             |
| Hη                        | -0,017827304       | As <0: BİYOEŞDEĞER |             |



**Şekil 3.21.** Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Küçük damlada etkin madde miktarı -Kafa

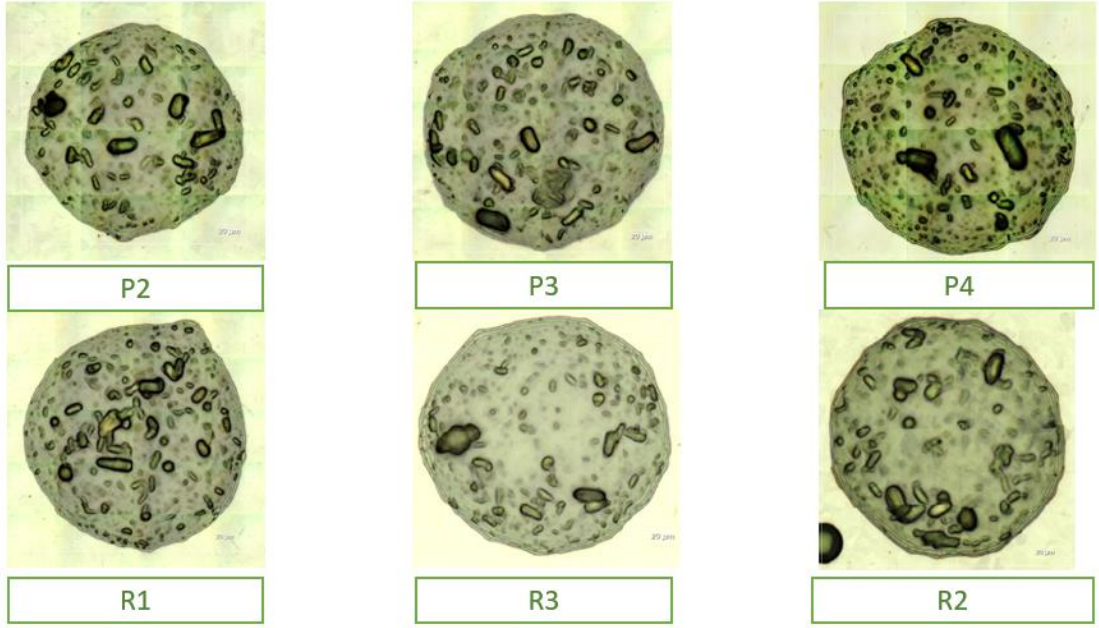
Analiz sonuçları <LOQ olduğundan NGI kısmı için hesaplama yapılmamıştır.

### 3.8.2.2. Raman Spektroskopisi

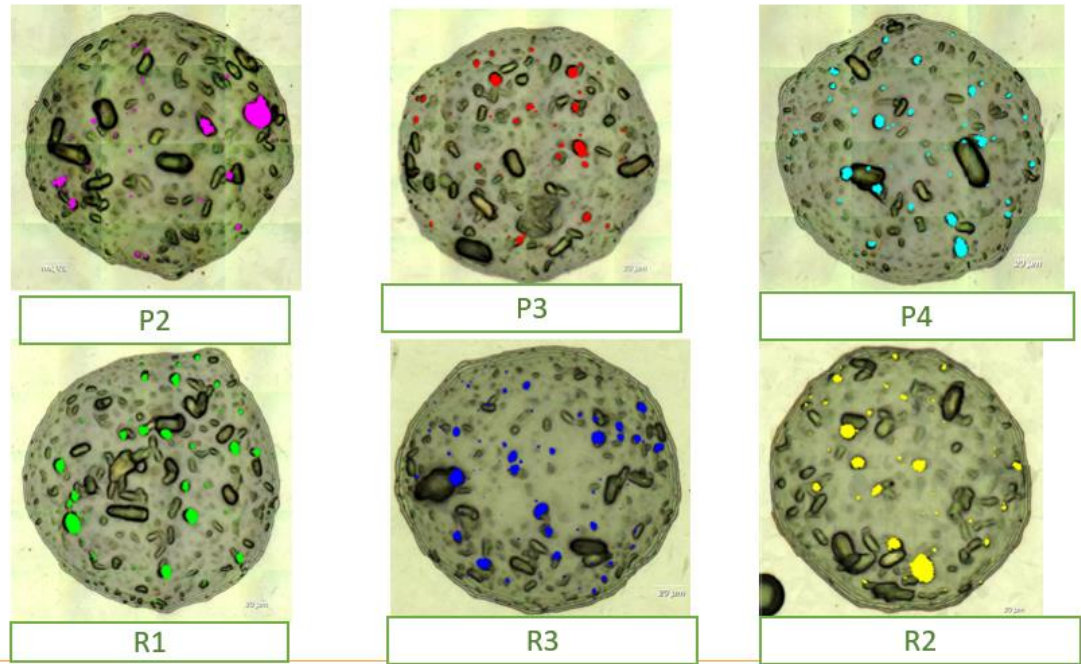
Süspansiyondaki etkin madde partiküllerini yardımcı maddelerden gelen diğer partiküllerden ayırt etmek için Raman spektroskopisi kullanılmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 3.48, Şekil 3.22, Şekil 3.23 ve Şekil 3.24'te verilmiştir.

**Çizelge 3.48.** Raman spektroskopisi sonuçları

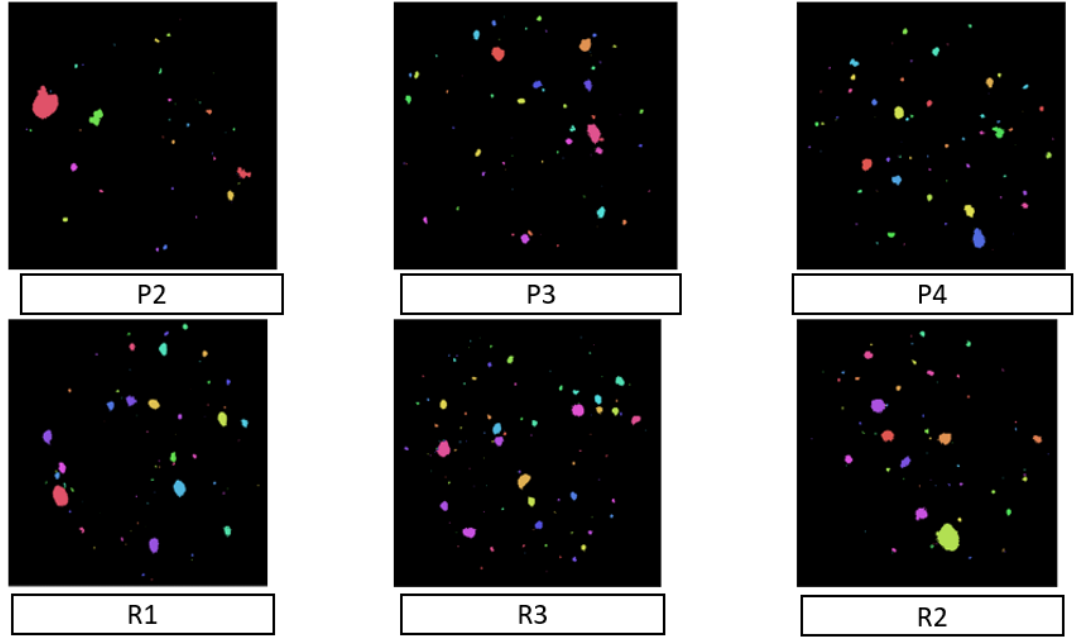
|                                     | <b>P2</b> | <b>P3</b> | <b>P4</b> | <b>R1</b> | <b>R2</b> | <b>R3</b> |
|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Partikül Sayısı                     | 40        | 66        | 74        | 65        | 64        | 101       |
| Ortalama eşdeğer daire<br>çapı (µm) | 2,52      | 2,49      | 2,65      | 2,82      | 1,98      | 1,88      |
| Ortalama Alan (µm <sup>2</sup> )    | 7,84      | 8,53      | 9,57      | 12,2      | 6,46      | 5,23      |
| D90                                 | 18,7      | 10,4      | 11,4      | 13,1      | 12,6      | 8,27      |
| D50                                 | 18,7      | 8,35      | 8,06      | 8,46      | 12,6      | 5,70      |
| D10                                 | 7,14      | 3,78      | 3,87      | 5,70      | 4,11      | 3,91      |
| Span                                | 0,618     | 0,793     | 0,933     | 0,874     | 0,674     | 0,765     |



Şekil 3.22. Kurutulmuş burun spreyi damlasının beyaz ışık montajı



Şekil 3.23. Farklı etkin madde formlarını temsil eden kimyasal görüntüler beyaz ışık montajlarının üzerine bindirilmiştir, renkli alanlar etkin maddenin varlığını göstermektedir

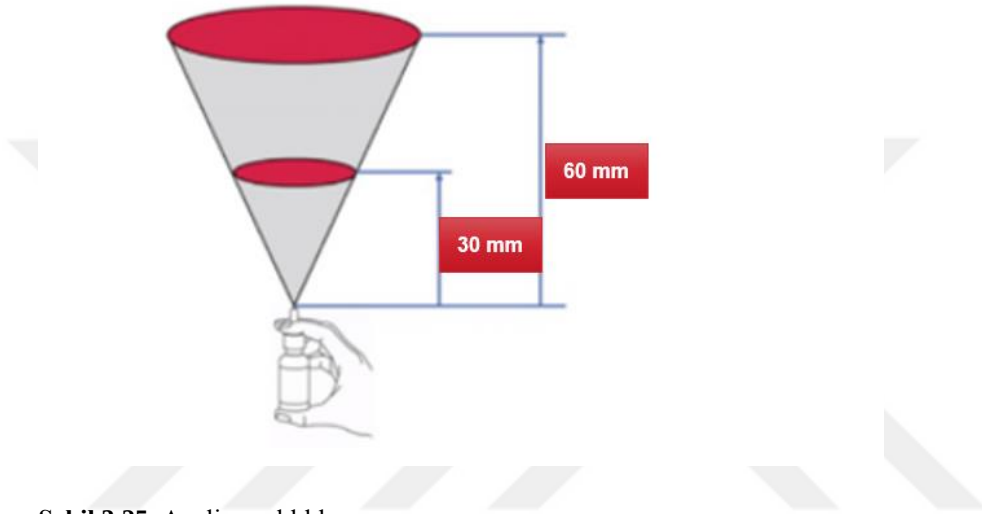


**Şekil 3.24.** Etkin madde partiküllerinin Raman görüntüleri, Renishaw'un parçacık istatistikleri uygulaması kullanılarak analiz edilmiştir

0,5  $\mu\text{m}$  adım boyutlarıyla StreamHR Raman eşlemesi kullanılarak 0,25  $\mu\text{m}^2$ 'ye kadar küçük etkin madde partikülleri tespit edilmiştir.

### 3.8.3. Sprey İzi

Çalışmalar, aktüvator ağzından 2 ila 7 cm'lik bir aralık içinde, iki mesafe 3 cm veya daha fazla olacak şekilde manuel olarak yapılmıştır. 30 mm ve 60 mm uzaklıklar test edilmiştir. Yapılan ABE ve PBE hesaplamaları sonucunda Flutikazon furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon referans ürün ile in vitro biyoeşdeğer bulunmuştur.



Şekil 3.25. Analiz uzaklıkları

Çizelge 3.49. Test için Püskürtme Modeli Örneği (P2) -30 mm

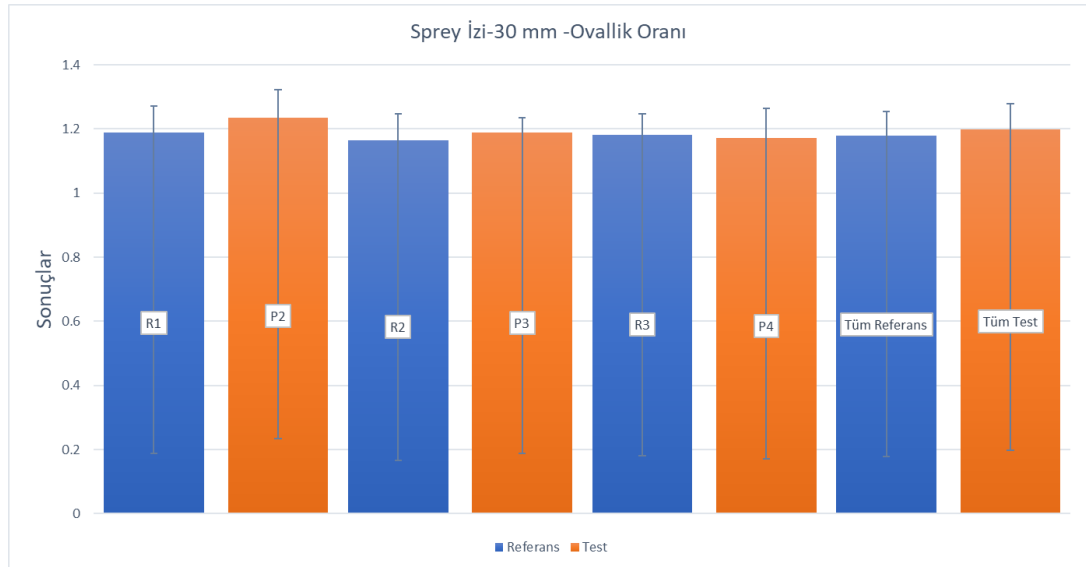
| No | Dmax (cm) | Dmin (cm) | ORT. | Dmax/Dmin | Açı (°) | Resim |
|----|-----------|-----------|------|-----------|---------|-------|
| P2 | 32        | 27        | 29,5 | 1,19      | 52,36   |       |

**Çizelge 3.50.** Analiz sonuçları (n=10, 3 seri test, 3 seri referans ürün)

| Seriler  | 30 mm |               | 60 mm |               |
|----------|-------|---------------|-------|---------------|
|          | Dmax  | Spray Pattern | Dmax  | Spray Pattern |
| P2-n=10  | 33,2  | 1,235         | 46,7  | 1,24          |
| P3-n=10  | 32    | 1,189         | 44,4  | 1,30          |
| P4-n=10  | 30,1  | 1,172         | 44,2  | 1,17          |
| R1-n=10  | 31,7  | 1,188         | 44,2  | 1,17          |
| R2- n=10 | 30,40 | 1,18          | 44,70 | 1,19          |
| R3- n=10 | 30,2  | 1,165         | 42,1  | 1,22          |

**Çizelge 3.51.** ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Sprey izi-30mm (Ovallık oranı)

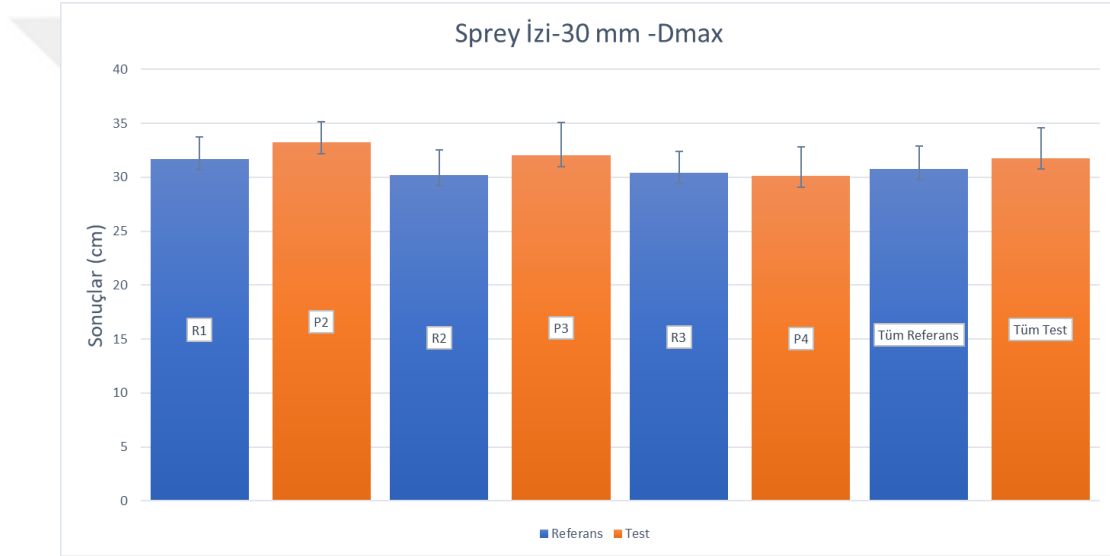
| Tanımlayıcı istatistikler |                    |                    |             |
|---------------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 1,185849361        |                    |             |
| % CV                      | 6,523326379        | CV ref %           | 6,432711701 |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL                 | UL          |
|                           | 1,017405818        | 0,989190577        | 1,046425859 |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9                | 1,1111      |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9                | 1,1111      |
| Sonuç                     | BİYOEŞDEĞER        |                    |             |
| PBE sonuçları             |                    |                    |             |
| σR                        | 0,06426072         | SABİT ÖLÇEKLİ      |             |
| Ratio                     | 1,017405818        |                    |             |
| Hη                        | -0,017021096       | As <0: BİYOEŞDEĞER |             |



**Şekil 3.26.** Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Sprey izi-30mm (Ovallık oranı)

**Çizelge 3.52.** ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Sprey izi-30mm Dmax

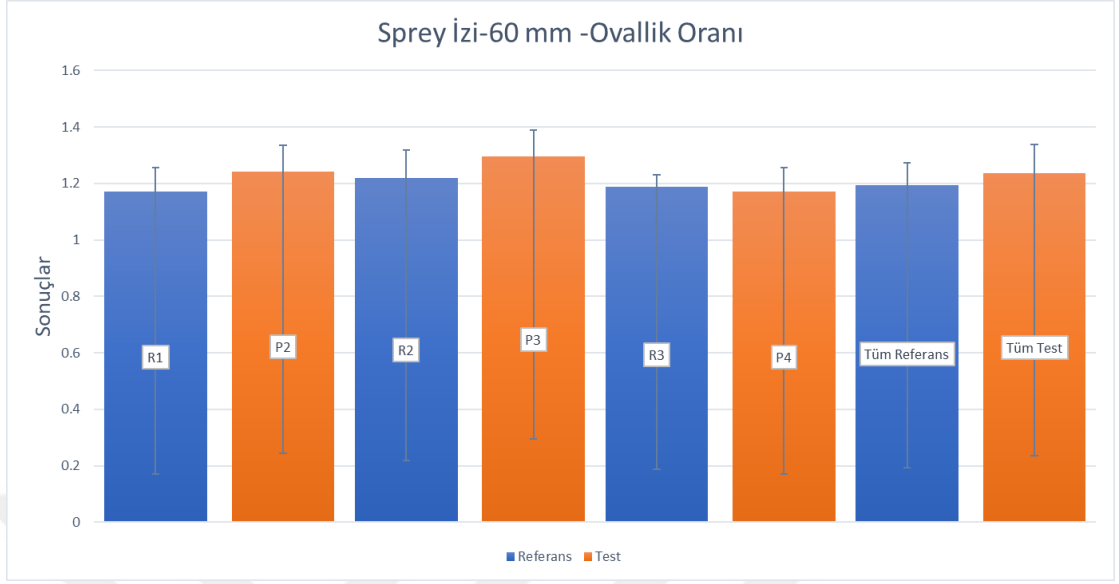
| Tanımlayıcı istatistikler |                    |                    |             |
|---------------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 31,16554614        |                    |             |
| % CV                      | 8,046301948        | CV ref %           | 6,888335116 |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL                 | UL          |
|                           | 1,030842997        | 0,99571485         | 1,067210442 |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9                | 1,1111      |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9                | 1,1111      |
| Sonuç                     | BİYOESDEĞER        |                    |             |
| PBE sonuçları             |                    |                    |             |
| σR                        | 0,068801849        | SABİT ÖLÇEKLİ      |             |
| Ratio                     | 1,030842997        |                    |             |
| Hη                        | -0,010381927       | As <0: BİYOESDEĞER |             |



**Şekil 3.27.** Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Sprey İzi-30mm -Dmax

**Çizelge 3.53.** ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Sprey izi-60mm (Ovallık oranı)

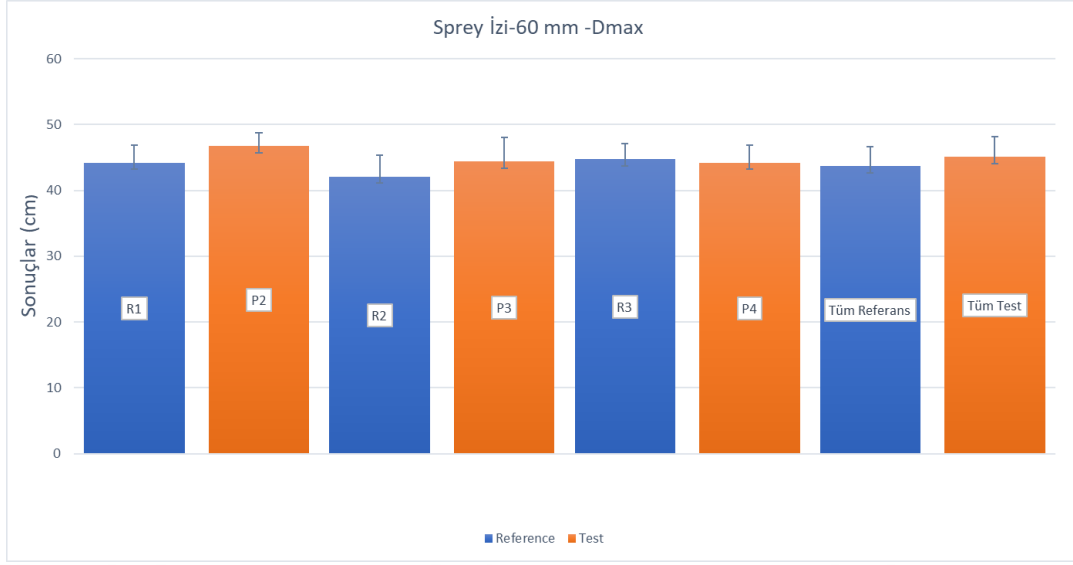
| Tanımlayıcı istatistikler |                    |                    |             |
|---------------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 1,210698549        |                    |             |
| % CV                      | 7,467609726        | CV ref %           | 6,567085513 |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL                 | UL          |
|                           | 1,03538839         | 1,002595085        | 1,069254312 |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9                | 1,1111      |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9                | 1,1111      |
| Sonuç                     | BİYOEŞDEĞER        |                    |             |
| PBE sonuçları             |                    |                    |             |
| σR                        | 0,065600216        | SABİT ÖLÇEKLİ      |             |
| Ratio                     | 1,03538839         |                    |             |
| Hη                        | -0,011761079       | As <0: BİYOEŞDEĞER |             |



**Şekil 3.28.** Analiz Sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-sprey izi-60mm (Ovallık Oranı)

**Çizelge 3.54.** ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Sprey izi-60mm- Dmax

| Tanımlayıcı istatistikler |                    |                    |             |
|---------------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 44,27881408        |                    |             |
| % CV                      | 6,842628269        | CV ref %           | 6,850310052 |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL                 | UL          |
|                           | 1,032845771        | 1,002824029        | 1,06376628  |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9                | 1,1111      |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9                | 1,1111      |
| Sonuç                     | BİYOEŞDEĞER        |                    |             |
| PBE sonuçları             |                    |                    |             |
| σR                        | 0,068422938        | SABİT ÖLÇEKLİ      |             |
| Ratio                     | 1,032845771        |                    |             |
| Hη                        | -0,015743162       | As <0: BİYOEŞDEĞER |             |



**Şekil 3.29.** Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Sprey izi-60mm- Dmax

#### 3.8.4. Bulut Geometrisi

Analizler otomatik cihazda gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları Çizelge 3.55 ve Çizelge 3.56’da verilmiştir. Yapılan ABE ve PBE hesaplamaları sonucunda Flutikazon furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon referans ürün ile in vitro biyoeşdeğer bulunmuştur.

**Çizelge 3.55.** 30mm bulut geometrisi sonuçları (n=10, 3 seri test, 3 seri referans ürün)

| Seriler  | Açı   | Açı Logaritması | Genişlik | Genişlik Logaritması |
|----------|-------|-----------------|----------|----------------------|
| P2-n=10  | 43,00 | 1,63            | 23,99    | 1,373580             |
| P3-n=10  | 42,19 | 1,62            | 23,46    | 1,367445             |
| P4-n=10  | 42,34 | 1,60            | 23,60    | 1,347320             |
| R1-n=10  | 44,59 | 1,65            | 24,63    | 1,390599             |
| R2- n=10 | 43,51 | 1,64            | 24,00    | 1,377263             |
| R3- n=10 | 43,11 | 1,63            | 23,76    | 1,372482             |

**Çizelge 3.56.** Analiz sonuçları (Test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Tüy geometrisi-30 mm

|                                    | 30 mm (Açı Logaritması) | 30 mm (Genişlik Logaritması) |
|------------------------------------|-------------------------|------------------------------|
| Referans ürün geometrik ortalaması | 1,638314417             | 1,379340654                  |
| Test ürün geometrik ortalaması     | 1,61379833              | 1,357497966                  |
| <b>Benzerlik</b>                   | <b>98,5</b>             | <b>98,4</b>                  |

**Customer**      **Abdi Ibrahim (Alfa Pak)**      **SIR 17491**

**pump**      MK™  
**sample-no**      customer samples  
**testmethod**      LAB-TM-069      v. 2.0  
**test distance**      30 mm  
**actuation**      automatically      **lot formulation**      P2  
**actuation parameters**      actuation / return velocity: 100 mm/s  
                                          actuation / return acceleration: 5700 mm/s<sup>2</sup>  
                                          initial delay: 0 ms  
                                          hold time: 100 ms  
                                          final delay: 0 ms

**head / NA**      nose, 2 pce, round  
**orifice**      --  
**formulation**      Fluticasone Furoate 27,5mg

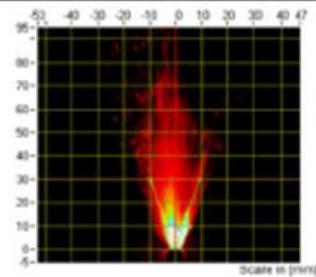
| No. | Plume Angle<br>[°] | Plume Width<br>[mm] | Plume Orientation<br>[°] | Figure |
|-----|--------------------|---------------------|--------------------------|--------|
|-----|--------------------|---------------------|--------------------------|--------|

4

36,1

19,58

-



**Şekil 3.30.** Bulut geometrisi örnek analizi

### 3.8.5. Şişeden İlk Püskürtme ve Yeniden Püskürtme

Yatay ve dikey gibi farklı konumlarda depolanan üründe atık sprey sayısını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Aynı zamanda, kullanılmadığı süre sonunda şişe tekrar püskürtüldüğünde, atık olarak değerlendirilmesi gereken püskürtme sayısını belirlemek için yapılmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 3.57’de verilmiştir. Yapılan ABE ve PBE hesaplamaları sonucunda Flutikazon furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon referans ürün ile in vitro biyoeşdeğer bulunmuştur.

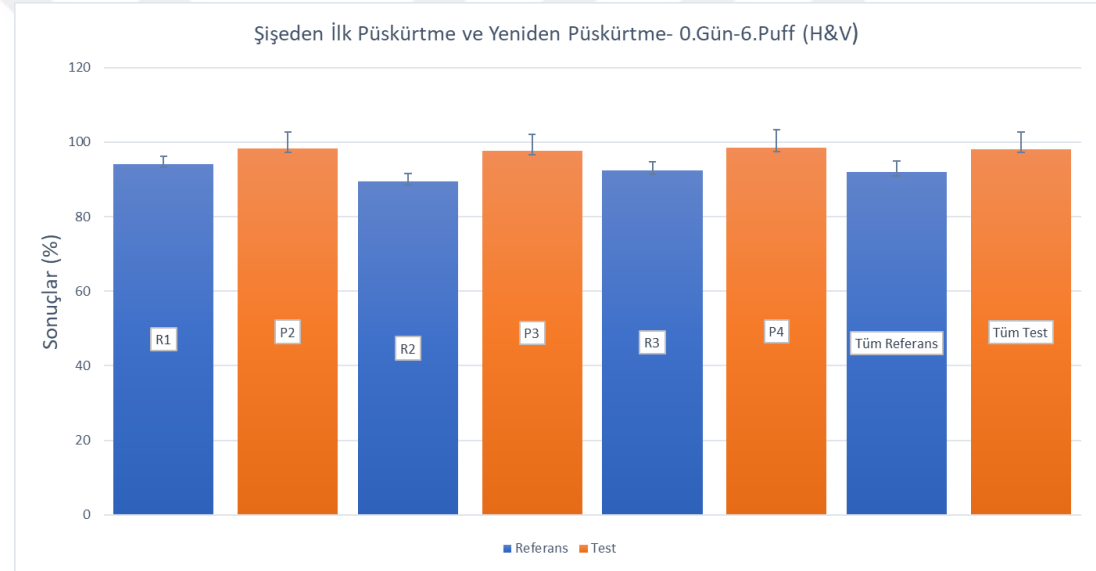


**Çizelge 3.57.** Şişeden ilk püskürtme ve yeniden püskürtme analiz sonuçları (n=10, 3 seri test, 3 seri referans ürün)

|                 |            | Başlangıç |        |        |        |        |        | 15.Gün | 30.Gün |
|-----------------|------------|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Seriler         | Durum      | 1. Puf    | 2. Puf | 3. Puf | 4. Puf | 5. Puf | 6. Puf |        |        |
| <b>P2-n=10</b>  | Dikey Test | T.E       | 16,3   | 49,2   | 80,4   | 99,3   | 98,0   | 103,5  | 100,9  |
| <b>P2- n=10</b> | Yatay Test | T.E       | 16,3   | 49,7   | 81,2   | 100,2  | 98,5   | 105,0  | 104,5  |
| <b>P3- n=10</b> | Dikey Test | T.E       | 17,3   | 60,0   | 80,4   | 90,7   | 97,2   | 101,8  | 99,9   |
| <b>P3- n=10</b> | Yatay Test | T.E       | 35,0   | 65,8   | 84,6   | 95,6   | 98,1   | 102,0  | 99,9   |
| <b>P4- n=10</b> | Dikey Test | T.E       | 28,5   | 67,8   | 85,6   | 97,7   | 99,7   | 103,2  | 102,2  |
| <b>P4- n=10</b> | Yatay Test | T.E       | 19,9   | 59,8   | 80,3   | 94,6   | 97,3   | 100,6  | 100,1  |
| <b>R1- n=10</b> | Dikey Test | T.E       | T.E    | 41,1   | 86,1   | 92,7   | 95,0   | 96,8   | 96,4   |
| <b>R1- n=10</b> | Yatay Test | T.E       | T.E    | 33,6   | 85,9   | 91,4   | 93,4   | 96,2   | 94,9   |
| <b>R2- n=10</b> | Dikey Test | T.E       | T.E    | 35,2   | 78,4   | 88,3   | 89,2   | 94,1   | 93,1   |
| <b>R2- n=10</b> | Yatay Test | T.E       | T.E    | 45,3   | 78,4   | 87,5   | 89,6   | 94,8   | 92,0   |
| <b>R3- n=10</b> | Dikey Test | T.E       | T.E    | 36,9   | 83,5   | 88,6   | 92,1   | 98,9   | 95,9   |
| <b>R3- n=10</b> | Yatay Test | T.E       | T.E    | 29,4   | 81,3   | 88,6   | 92,8   | 96,8   | 95,4   |

**Çizelge 3.58.** ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Püskürtme- başlangıç-0.Gün (6.puf) (H&V)

| Tanımlayıcı istatistikler |                    |                    |             |
|---------------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 94,94899632        |                    |             |
| % CV                      | 3,970353532        | CV ref %           | 3,193735733 |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL                 | UL          |
|                           | 1,066079064        | 1,053348978        | 1,078962996 |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9                | 1,1111      |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9                | 1,1111      |
| Sonuç                     | BİYOEŞDEĞER        |                    |             |
| PBE sonuçları             |                    |                    |             |
| σR                        | 0,031929218        | SABİT ÖLÇEKLİ      |             |
| Ratio                     | 1,066079064        |                    |             |
| Hη                        | -0,013594857       | As <0: BİYOEŞDEĞER |             |

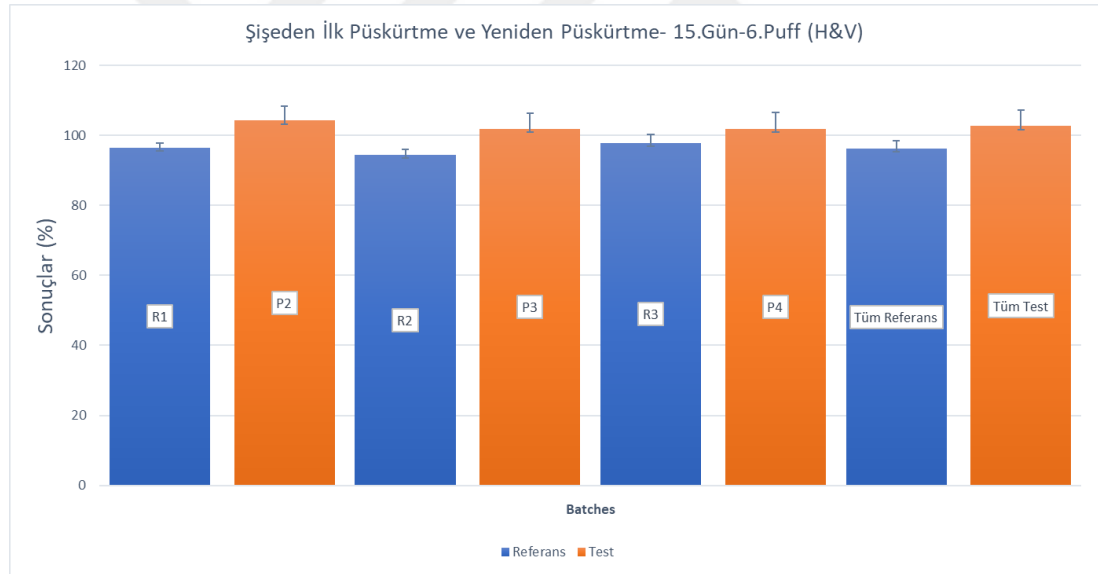


**Şekil 3.31.** Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Püskürtme- başlangıç-0.Gün (6.puf) (H&V)

**Çizelge 3.59.** ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Püskürtme -yeniden püskürtme 15.gün (H&V)

| Tanımlayıcı istatistikler |                    |             |             |
|---------------------------|--------------------|-------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 99,35547169        |             |             |
| % CV                      | 3,484041716        | CV ref %    | 2,300581492 |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL          | UL          |
|                           | 1,06594345         | 1,054764828 | 1,077240545 |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9         | 1,1111      |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9         | 1,1111      |
| Sonuç                     | BİYOESDEĞER        |             |             |

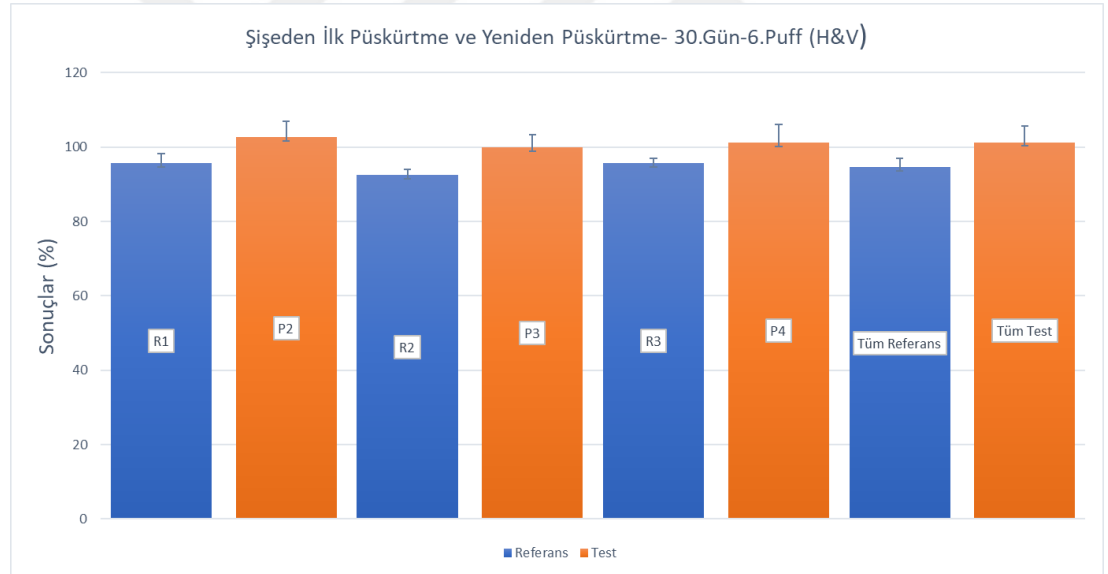
| PBE sonuçları  |              |                    |
|----------------|--------------|--------------------|
| $\sigma_R$     | 0,023002772  | SABİT ÖLÇEKLİ      |
| Ratio          | 1,06594345   |                    |
| H <sub>q</sub> | -0,013798257 | As <0: BİYOESDEĞER |



**Şekil 3.32.** Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Püskürtme -yeniden püskürtme 15.gün (H&V)

**Çizelge 3.60.** ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Püskürtme -yeniden püskürtme 30.Gün (H&V)

| Tanımlayıcı istatistikler |                    |                    |             |
|---------------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 97,81603262        |                    |             |
| % CV                      | 3,459420847        | CV ref %           | 2,463196772 |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL                 | UL          |
|                           | 1,069524935        | 1,058387555        | 1,080779514 |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9                | 1,1111      |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9                | 1,1111      |
| Sonuç                     | BİYOEŞDEĞER        |                    |             |
| PBE sonuçları             |                    |                    |             |
| σR                        | 0,024628233        | SABİT ÖLÇEKLİ      |             |
| Ratio                     | 1,069524935        |                    |             |
| Hη                        | -0,013542774       | As <0: BİYOEŞDEĞER |             |
|                           |                    |                    |             |



**Şekil 3.33.** Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Püskürtme -yeniden püskürtme 30.gün (H&V)

### 3.8.6. Ambalaj Ömrü Sonunda Spreylerin Profillenmesi (Tail Off Özellikleri)

Nazal speyler için, etiketli sprej sayısının verildiği noktadan sonra, daha fazla sprej mümkün olmayana kadar her bir sprej için SCU profillerini belirlemek için yapılan bu çalışmanın analiz sonuçlar Çizelge 3.61 ve Çizelge 3.62’de verilmiştir.

**Çizelge 3.61.** Konteyner tükenmesine yakın sprejlerin profillenmesine yönelik test (P2, n=3 Ortalama) sonuçları (Tail off özellikleri)

| Sonuç & Aşama         | %Etkin madde<br>Miktarı/ Püskürtme |
|-----------------------|------------------------------------|
| ORT. (130, Püskürtme) | 103,0                              |
| RSD %                 | 6,77                               |
| ORT. (140, Püskürtme) | 103,8                              |
| RSD %                 | 5,59                               |
| ORT. (150, Püskürtme) | 97,3                               |
| RSD %                 | 2,79                               |
| ORT. (160, Püskürtme) | 97,9                               |
| RSD %                 | 4,87                               |
| ORT. (170, Püskürtme) | 99,4                               |
| RSD %                 | 6,80                               |
| ORT. (175, Püskürtme) | 96,3                               |
| RSD %                 | 2.56                               |
| ORT. (180, Püskürtme) | 94,9                               |
| RSD %                 | 2,35                               |

| Sonuç & Aşama         | %Etkin madde<br>Miktarı/ Püskürtme |
|-----------------------|------------------------------------|
| ORT. (181, Püskürtme) | 93,8                               |
| RSD %                 | 1,21                               |
| ORT. (182, Püskürtme) | 95,3                               |
| RSD %                 | 2,49                               |
| ORT. (183, Püskürtme) | 93,9                               |
| RSD %                 | 15,92                              |
| ORT. (184, Püskürtme) | 84,4                               |
| RSD %                 | 6,47                               |
| ORT. (185, Püskürtme) | 66,4                               |
| RSD %                 | 7,48                               |
| ORT. (186, Püskürtme) | 60,3                               |
| MAX                   | 62,7                               |
| ORT. (187, Püskürtme) | T.E                                |
| RSD %                 | T.E                                |

**Çizelge 3.62.** Konteyner tükenmesine yakın spreylerin profillemesi için referans (R1, n=3 Ortalama) sonuçları (Tail Off Özellikleri)

| Sonuç & Aşama         | %Etkin madde Miktarı/<br>Püskürtme & RSD |
|-----------------------|------------------------------------------|
| ORT. (130, Püskürtme) | 100,6                                    |
| RSD %                 | 3,16                                     |
| ORT. (140, Püskürtme) | 97,1                                     |
| RSD %                 | 2,54                                     |
| ORT. (145, Püskürtme) | 98,2                                     |
| RSD %                 | 0,62                                     |
| ORT. (150, Püskürtme) | 95,3                                     |
| RSD %                 | 4,59                                     |
| ORT. (151, Püskürtme) | 94,9                                     |
| RSD %                 | 2,67                                     |
| ORT. (152, Püskürtme) | 95,8                                     |
| RSD %                 | 2,65                                     |
| ORT. (153, Püskürtme) | 95,9                                     |
| RSD %                 | 3,71                                     |

| Sonuç & Aşama         | %Etkin madde Miktarı/<br>Püskürtme & RSD |
|-----------------------|------------------------------------------|
| ORT. (154, Püskürtme) | 96,7                                     |
| RSD %                 | 5,01                                     |
| ORT. (155, Püskürtme) | 95,4                                     |
| RSD %                 | 1,17                                     |
| ORT. (156, Püskürtme) | 91,7                                     |
| RSD %                 | 6,23                                     |
| ORT. (157, Püskürtme) | 62,2                                     |
| RSD %                 | 15,10                                    |
| ORT. (158, Püskürtme) | 58,1                                     |
| RSD %                 | 27,21                                    |
| ORT. (159, Püskürtme) | 54,4                                     |
| RSD %                 | 28,02                                    |
| ORT. (160, Püskürtme) | T.E                                      |
| RSD %                 | T.E                                      |

### 3.8.7. Çalkalama Gereksinimi

Analiz sonuçları Çizelge 3.63'te verilmiştir. 3s, 5s ve 10s çalkalama ile elde edilen analiz sonuçları spesifikasyon limitleri (85% to 115%) dahilindedir.

**Çizelge 3.63.** Çalkalama gereksinimi analiz sonuçları (n=10, 3 seri Test, 3 seri referans ürün)

| Seri    | Durum | Çalkalama Gereksinimi & In Vitro Doz Orantılılık (%) |
|---------|-------|------------------------------------------------------|
| P2 n=10 | 3s    | 94,2                                                 |
| P2 n=10 | 5s    | 97,2                                                 |
| P2 n=10 | 10s   | 97,6                                                 |
| P3 n=10 | 3s    | 97,9                                                 |
| P3 n=10 | 5s    | 95,0                                                 |
| P3 n=10 | 10s   | 97,6                                                 |
| P4 n=10 | 3s    | 95,6                                                 |
| n=10    | 5s    | 97,4                                                 |
| n=10    | 10s   | 96,0                                                 |
| R1 n=10 | 3s    | 94,8                                                 |
| R1 n=10 | 5s    | 95,7                                                 |
| R1 n=10 | 10s   | 96,8                                                 |
| R2 n=10 | 3s    | 93,6                                                 |
| R2 n=10 | 5s    | 92,7                                                 |
| R2 n=10 | 10s   | 94,2                                                 |
| R3 n=10 | 3s    | 95,5                                                 |
| R3 n=10 | 5s    | 95,9                                                 |
| R3 n=10 | 10s   | 95,9                                                 |

### 3.8.8. Sıcaklık Döngüsü Sonrası Performans

Nazal sprey süspansiyon ilaç ürünleri için, nakliye ve kullanım sırasında karşılaşılabilecek yüksek ve düşük sıcaklık değişimlerinin ilaç ürününün kalitesi ve performansı üzerindeki etkilerini değerlendirmek için bir stres sıcaklığı döngüsel çalışması yapılmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 3.64, Çizelge 3.65 ve Çizelge 3.66, Çizelge 3.67'de verilmiştir.

**Çizelge 3.64.** Sıcaklık döngüsü sonrası performans -başlangıç analiz sonuçları

|           | Başlangıç |                                                         |                                         |                                                  |               |                                               |                                              |
|-----------|-----------|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------|
|           | Görünüş   | Yoğunluk<br>20 °C<br>Limit: 0,90<br>g/mL - 1.10<br>g/mL | PSD<br>(Limit:<br>D50: 3 µm -<br>10 µm) | DSD<br>D50: 30 µm - 70 µm)<br>(Maksimum 5%<10 µm | Ağırlık Kaybı | Flutikazon<br>Furoat %<br>(95.0% -<br>105.0%) | Benzalkonyum<br>Klorür %<br>(90,0% - 110,0%) |
| <b>P2</b> | Uygun     | 1,03                                                    | 8                                       | %5 < 10 µm: 0,9<br>d50: 46                       |               | 100,9                                         | 103,0                                        |
| <b>P3</b> | Uygun     | 1,02                                                    | 8                                       | %5 < 10 µm: 0,4<br>d50: 45                       |               | 100,8                                         | 103,4                                        |
| <b>P4</b> | Uygun     | 1,02                                                    | 7                                       | %5 < 10 µm: 0,8<br>d50: 46                       |               | 99,0                                          | 103,8                                        |
| <b>R1</b> | Uygun     | 1,02                                                    | 6                                       | %5 < 10 µm: 0,6<br>d50: 47                       |               | 92,3                                          | 90,5                                         |
| <b>R2</b> | Uygun     | 1,02                                                    | 6                                       | %5 < 10 µm: 0,2<br>d50: 45                       |               | 93                                            | 91,8                                         |
| <b>R3</b> | Uygun     | 1,02                                                    | 6                                       | %5 < 10 µm: 1,0<br>d50: 45                       |               | 94,2                                          | 93,2                                         |

**Çizelge 3.65.** Sıcaklık döngüsü sonrası performans-6.gün analiz sonuçları

|           | 6.Gün   |                                                   |                                      |                                                  |               |                                               |                                              |
|-----------|---------|---------------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------|
|           | Görünüş | Yoğunluk 20 °C<br>Limit: 0,90 g/mL -<br>1.10 g/mL | PSD<br>(Limit: D50: 3<br>µm - 10 µm) | DSD<br>D50: 30 µm - 70 µm)<br>(Maksimum 5%<10 µm | Ağırlık Kaybı | Flutikazon<br>Furoat %<br>(95.0% -<br>105.0%) | Benzalkonyum<br>Klorür %<br>(90,0% - 110,0%) |
| P2- Yatay | Uygun   | 1,03                                              | 7                                    | 44<br>%5< 10µm : 0,7                             | -0,002        | 100,7                                         | 103,9                                        |
| P2- Dikey | Uygun   | 1,02                                              | 7                                    | 43<br>%5< 10µm : 0,3                             | -0,004        | 101                                           | 104,5                                        |
| P3- Yatay | Uygun   | 1,02                                              | 7                                    | 44<br>%5< 10µm : 0,6                             | -0,002        | 100,7                                         | 103,9                                        |
| P3- Dikey | Uygun   | 1,02                                              | 7                                    | 44<br>%5< 10µm : 0,0                             | -0,0002       | 99,8                                          | 104,4                                        |
| P4- Yatay | Uygun   | 1,02                                              | 7                                    | 43<br>%5< 10µm : 0,2                             | -0,002        | 100,8                                         | 104,4                                        |
| P4- Dikey | Uygun   | 1,02                                              | 7                                    | 43<br>%5< 10µm : 0,1                             | -0,0005       | 100,8                                         | 104,4                                        |
| R1- Yatay | Uygun   | 1,02                                              | 6                                    | 44<br>%5< 10µm : 0,5                             | -0,06         | 94,2                                          | 91,6                                         |
| R1- Dikey | Uygun   | 1,02                                              | 6                                    | 44<br>%5< 10µm : 1,2                             | -0,03         | 93,8                                          | 91,2                                         |
| R3- Yatay | Uygun   | 1,02                                              | 6                                    | 43<br>%5< 10µm : 0,0                             | -0,06         | 94,5                                          | 91,9                                         |
| R3- Dikey | Uygun   | 1,02                                              | 6                                    | 44<br>%5< 10µm : 0,6                             | -0,03         | 93,7                                          | 91,9                                         |
| R2- Yatay | Uygun   | 1,02                                              | 6                                    | 44<br>%5< 10µm : 0,0                             | -0,06         | 94,4                                          | 91,9                                         |
| R2- Dikey | Uygun   | 1,02                                              | 6                                    | 43<br>%5< 10µm : 0,4                             | -0,03         | 93,5                                          | 90,9                                         |

**Çizelge 3.66.** Sıcaklık döngüsü sonrası performans-12. gün analiz sonuçları

|           | Sıcaklık Döngüsü Sonrası Performans 12.Gün |                                                   |                                      |                                                     |               |                                               |                                              |
|-----------|--------------------------------------------|---------------------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------|
|           | Görünüş                                    | Yoğunluk 20 °C<br>Limit: 0,90 g/mL<br>- 1.10 g/mL | PSD<br>(Limit: D50: 3<br>µm - 10 µm) | DSD<br>D50: 30 µm - 70 µm)<br>(Maksimum 5%<10<br>µm | Ağırlık Kaybı | Flutikazon<br>Furoat %<br>(95.0% -<br>105.0%) | Benzalkonyum<br>Klorür %<br>(90,0% - 110,0%) |
| P2- Yatay | Uygun                                      | 1,02                                              | 8                                    | 44<br>%5< 10µm : 0,5                                | -0,006        | 102,4                                         | 104                                          |
| P2- Dikey | Uygun                                      | 1,03                                              | 8                                    | 44<br>%5< 10µm : 0,8                                | -0,005        | 102,1                                         | 104,2                                        |
| P3- Yatay | Uygun                                      | 1,02                                              | 8                                    | 44<br>%5< 10µm : 0,0                                | -0,004        | 101,6                                         | 104,2                                        |
| P3- Dikey | Uygun                                      | 1,02                                              | 8                                    | 45<br>%5< 10µm : 0,8                                | -0,004        | 100,8                                         | 104,2                                        |
| P4- Yatay | Uygun                                      | 1,03                                              | 8                                    | 45<br>%5< 10µm : 0,6                                | -0,003        | 100,9                                         | 103,8                                        |
| P4- Dikey | Uygun                                      | 1,02                                              | 7                                    | 45<br>%5< 10µm : 0,0                                | -0,005        | 101,9                                         | 103,8                                        |
| R1- Yatay | Uygun                                      | 1,02                                              | 7                                    | 44<br>%5< 10µm : 1,1                                | -0,05         | 94,4                                          | 91,3                                         |
| R1- Dikey | Uygun                                      | 1,02                                              | 6                                    | 44<br>%5< 10µm : 1,2                                | -0,03         | 94,4                                          | 91,1                                         |
| R3- Yatay | Uygun                                      | 1,02                                              | 6                                    | 44<br>%5< 10µm : 0,9                                | -0,04         | 94,6                                          | 91,2                                         |
| R3- Dikey | Uygun                                      | 1,02                                              | 6                                    | 44<br>%5< 10µm : 0,9                                | -0,03         | 94,1                                          | 91,7                                         |
| R2- Yatay | Uygun                                      | 1,03                                              | 6                                    | 44<br>%5< 10µm : 0,9                                | -0,04         | 94,4                                          | 91,1                                         |
| R2- Dikey | Uygun                                      | 1,02                                              | 6                                    | 44<br>%5< 10µm : 0,7                                | -0,03         | 94,2                                          | 91,3                                         |

**Çizelge 3.67.** Sıcaklık döngüsü sonrası performans-dozaı tekdüzeliği ve iletilen doz tekdüzeliği- ilk, 6.gün, 12.gün

| Seriler | Şişı | Durum      | Dozaı Tekdüzeliği |       |        | İletilen Doz Tekdüzeliği |       |        |
|---------|------|------------|-------------------|-------|--------|--------------------------|-------|--------|
|         |      |            | Başlangıç         | 6.gün | 12.gün | Başlangıç                | 6.gün | 12.gün |
| P2      | N=10 | Dikey Test | 104,4             | 99,3  | 98,1   | 103,1                    | 99,1  | 101,2  |
| P2      | N=10 | Yatay Test |                   | 99,6  | 99,5   |                          | 99,9  | 101,0  |
| P3      | N=10 | Dikey Test | 105,3             | 99,1  | 100,3  | 103,6                    | 99,8  | 100,6  |
| P3      | N=10 | Yatay Test |                   | 98,9  | 100,4  |                          | 98,4  | 99,7   |
| P4      | N=10 | Dikey Test | 100,7             | 97,8  | 101,2  | 100,0                    | 99,5  | 100,8  |
| P4      | N=10 | Yatay Test |                   | 96,6  | 98,0   |                          | 98,2  | 99,5   |
| R1      | N=10 | Dikey Test | 96,2              | 96,4  | 95,2   | 95,7                     | 96,1  | 93,4   |
| R1      | N=10 | Yatay Test |                   | 97,5  | 92,3   |                          | 98,6  | 93,2   |
| R3      | N=10 | Dikey Test | 98,2              | 98,8  | 93,7   | 97,6                     | 97,8  | 93,7   |
| R3      | N=10 | Yatay Test |                   | 99,3  | 93,7   |                          | 96,9  | 94,9   |
| R2      | N=10 | Dikey Test | 94,5              | 93,9  | 95,2   | 94,0                     | 93,0  | 90,4   |
| R2      | N=10 | Yatay Test |                   | 93,1  | 91,9   |                          | 92,6  | 90,6   |

Tüm sonuçlar ilk değerlerle karşılaştırılmıştır. İlk sonuçların serbest bırakma spesifikasyonlarına ve 6. ve 12. gün sonuçlarının raf ömrü spesifikasyonlarına uyması beklenmektedir. Tüm sonuçlar uygundur.

### 3.8.9. Sağlamlık

Ürün performansı, hastalar tarafından kullanımı simüle etmek için yapılan testin sonuçları Çizelge 3.68, Çizelge 3.69 ve Çizelge 3.70’te verilmiştir. Tüm sonuçlar başlangıç değerleriyle karşılaştırılmıştır. İlk sonuçların serbest bırakma spesifikasyonlarına ve 3000 km ve 6000 km sonuçlarının raf ömrü spesifikasyonlarına uyması beklenmektedir ve tüm sonuçlar limitlere uygundur.

**Çizelge 3.68.** Sağlamlık analiz sonuçları (n=10, 3 seri Test, 3 seri referans ürün)

| Seriler | Durum     | 3000 km | 6000 km |
|---------|-----------|---------|---------|
| P2 n=10 | Başlangıç | 99,1    | 100,93  |
| P2 n=10 | Son       | 96,8    | 100,83  |
| P3 n=10 | Başlangıç | 99,79   | 102,63  |
| P3 n=10 | Son       | 99,4    | 98,59   |
| P4 n=10 | Başlangıç | 100,72  | 101,53  |
| P4 n=10 | Son       | 98,67   | 100,37  |
| R1 n=10 | Başlangıç | 95,07   | 99,04   |
| R1 n=10 | Son       | 93,97   | 99,25   |
| R3 n=10 | Başlangıç | 95,43   | 96,89   |
| R3 n=10 | Son       | 95,2    | 97,3    |
| R2 n=10 | Başlangıç | 89,98   | 92,69   |
| R2 n=10 | Son       | 92,47   | 94,14   |

**Çizelge 3.69.** Sağlamlık analiz sonuçları-3000 km

|    | 3000 km |                                   |                                                   |
|----|---------|-----------------------------------|---------------------------------------------------|
|    | Görünüş | PSD<br>(Limit: D50: 3 µm - 10 µm) | DSD<br>D50: 30 µm - 70 µm)<br>(Maksimum 5% <10 µm |
| P2 | Uygun   | 8                                 | 43<br>%5 < 10µm : 0,3                             |
| P3 | Uygun   | 8                                 | 42<br>%5 < 10µm : 0,0                             |
| P4 | Uygun   | 8                                 | 43<br>%5 < 10µm : 0,2                             |
| R1 | Uygun   | 6                                 | 44<br>%5 < 10µm : 0,4                             |
| R3 | Uygun   | 6                                 | 43<br>%5 < 10µm : 0,8                             |
| R2 | Uygun   | 6                                 | 44<br>%5 < 10µm : 1,3                             |

**Çizelge 3.70.** Sağlamlık analiz sonuçları-6000 km

|    | 6000 km |                                   |                                                   |
|----|---------|-----------------------------------|---------------------------------------------------|
|    | Görünüş | PSD<br>(Limit: D50: 3 µm - 10 µm) | DSD<br>D50: 30 µm - 70 µm)<br>(Maksimum 5% <10 µm |
| P2 | Uygun   | 8                                 | 42<br>%5 < 10µm : 0,3                             |
| P3 | Uygun   | 8                                 | 43<br>%5 < 10µm : 0,1                             |
| P4 | Uygun   | 8                                 | 42<br>%5 < 10µm : 0,9                             |
| R1 | Uygun   | 6                                 | 43<br>%5 < 10µm : 0,9                             |
| R3 | Uygun   | 6                                 | 43<br>%5 < 10µm : 1,1                             |
| R2 | Uygun   | 6                                 | 43<br>%5 < 10µm : 1,3                             |

### 3.8.10. Dozlama Yönünün Etkisi (n=10, 3 seri Test, 3 seri referans ürün)

Nazal sprey ilaç ürünleri için, çeşitli dozlama yönelimlerinde iletilen doz içerik tekdüzeliği ve damlacık boyutu dağılımı açısından cihazların karşılaştırmalı performansını belirlemek için bu çalışma yapılmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 3.71 ve Çizelge 3.72’de verilmiştir. Tüm sonuçlar başlangıç değerleriyle uyumludur, analiz sonuçları uygundur.

**Çizelge 3.71.** Dozlama yönünün etkisi 45° (n=10, 3 seri Test, 3 seri referans ürün)

| Seri    | Durum     | ITD   |
|---------|-----------|-------|
| P2 n=10 | Başlangıç | 98,7  |
| P2 n=10 | Son       | 101,9 |
| P3 n=10 | Başlangıç | 100,2 |
| P3 n=10 | Son       | 99,6  |
| P4 n=10 | Başlangıç | 97,3  |
| P4 n=10 | Son       | 100,4 |
| R1 n=10 | Başlangıç | 93,6  |
| R1 n=10 | Son       | 94,2  |
| R3 n=10 | Başlangıç | 93,8  |
| R3 n=10 | Son       | 92,6  |
| R2 n=10 | Başlangıç | 93,2  |
| R2 n=10 | Son       | 93,4  |

**Çizelge 3.72.** Dozlama yönünün etkisi-DSD sonuçları

| 45°<br>DSD<br>D50: 30 µm - 70 µm)<br>(Maksimum 5%<10 µm |                       |
|---------------------------------------------------------|-----------------------|
| P2                                                      | 44<br>%V< 10µm : 1,1  |
| P3                                                      | 43<br>%V< 10µm : 0,02 |
| P4                                                      | 44<br>%V< 10µm : 0,0  |
| R1                                                      | 43<br>%V< 10µm : 0,2  |
| R3                                                      | 43<br>%V< 10µm: 0,7   |
| R2                                                      | 44<br>%V< 10µm : 0,2  |

### 3.8.11. Yoğunluk 20 °C

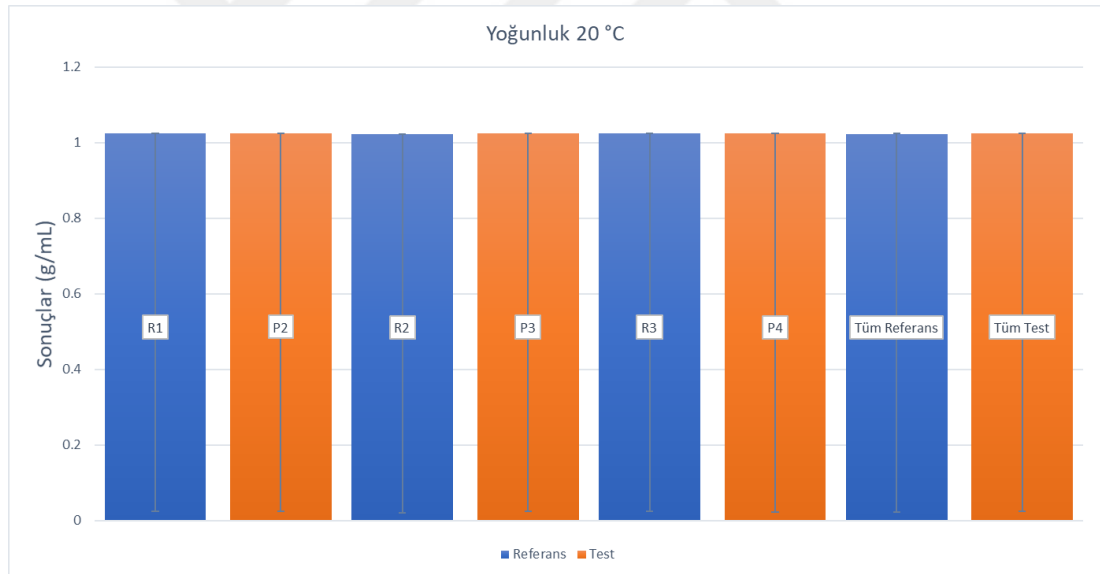
N=10, 3 seri Test, 3 seri referans ürün analiz edilmiştir. Analiz sonuçları Çizelge 3.73'te verilmiştir. Yapılan ABE ve PBE hesaplamaları sonucunda Flutikazon furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon referans ürün ile in vitro biyoeşdeğer bulunmuştur.

**Çizelge 3.73.** Yoğunluk analiz sonuçları 20 °C

|        | Yoğunluk 20 °C |           |           |           |           |           |
|--------|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Numune | P2             | P3        | P4        | R1        | R2        | R3        |
| n=10   | 1,02 g/mL      | 1,02 g/mL | 1,02 g/mL | 1,02 g/mL | 1,02 g/mL | 1,02 g/mL |

**Çizelge 3.74.** ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Yoğunluk

| Tanımlayıcı istatistikler |                    |                     |             |
|---------------------------|--------------------|---------------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 1,023272876        |                     |             |
| % CV                      | 0,089686841        | CV ref %            | 0,109284827 |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL                  | UL          |
|                           | 1,00068469         | 1,000297418         | 1,001072112 |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9                 | 1,1111      |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9                 | 1,1111      |
| Sonuç                     | BİYO EŞDEĞER       |                     |             |
| PBE sonuçları             |                    |                     |             |
| σR                        | 0,001092848        | SABİT ÖLÇEKLİ       |             |
| Ratio                     | 1,00068469         |                     |             |
| Hη                        | -0,02109822        | As <0: BİYO EŞDEĞER |             |



**Şekil 3.34.** Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-Yoğunluk ölçümü analiz sonuçları

### 3.8.12. Viskozite (S62, 90 rpm, Tork: 50%±10%, Oda Sıcaklığı)

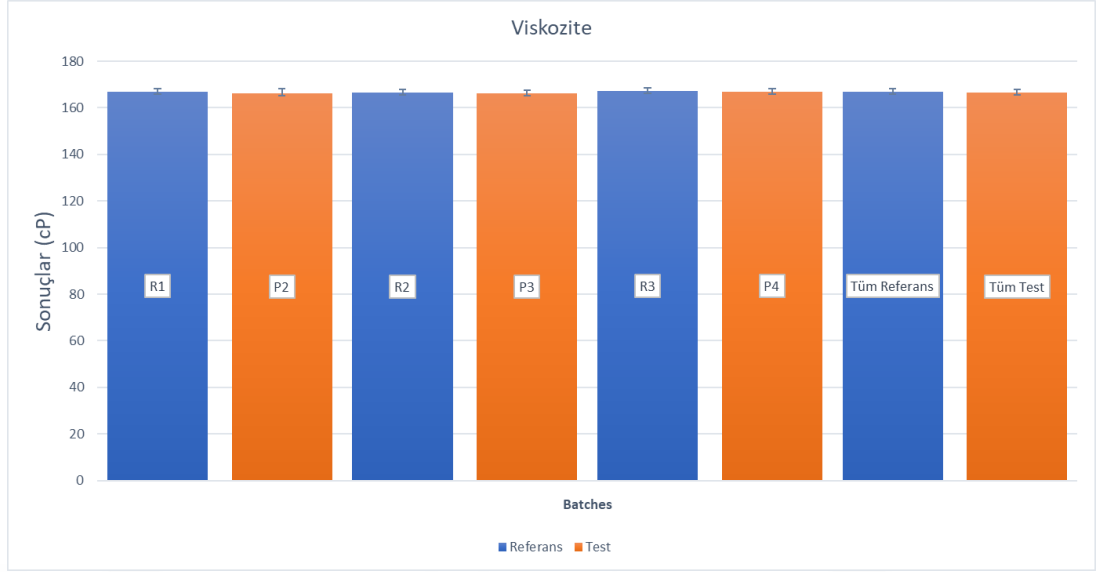
Üç seri test, 3 seri referans ürün n=10 kez analiz edilmiştir. Analiz sonuçları Çizelge 3.75'te verilmiştir. Yapılan ABE ve PBE hesaplamaları sonucunda Flutikazon furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon referans ürün ile in vitro biyoeşdeğer bulunmuştur.

Çizelge 3.75. Viskozite analiz sonuçları (cP)

|        | Viskozite (S62, 90 rpm, Tork: 50%±10%, Oda Sıcaklığı) |        |        |        |        |        |
|--------|-------------------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Numune | P2                                                    | P3     | P4     | R1     | R2     | R3     |
| n=10   | 166 cP                                                | 166 cP | 167 cP | 167 cP | 167 cP | 167 cP |

Çizelge 3.76. ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Viskozite (S62, 90 rpm, Tork: 50%±10%, Oda sıcaklığı)

| Tanımlayıcı istatistikler |                    |                    |             |
|---------------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 166,6772751        |                    |             |
| % CV                      | 0,860272734        | CV ref %           | 0,829660388 |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL                 | UL          |
|                           | 0,997797656        | 0,994099892        | 1,001509173 |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9                | 1,1111      |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9                | 1,1111      |
| Sonuç                     | BİYOEŞDEĞER        |                    |             |
| PBE sonuçları             |                    |                    |             |
| σR                        | 0,008296461        | SABİT ÖLÇEKLİ      |             |
| Ratio                     | 0,997797656        |                    |             |
| Hη                        | -0,021020762       | As <0: BİYOEŞDEĞER |             |



**Şekil 3.35.** Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Viskozite (S62, 90 rpm, Tork: 50%±10%, oda sıcaklığı)

### 3.8.13. Ozmolalite

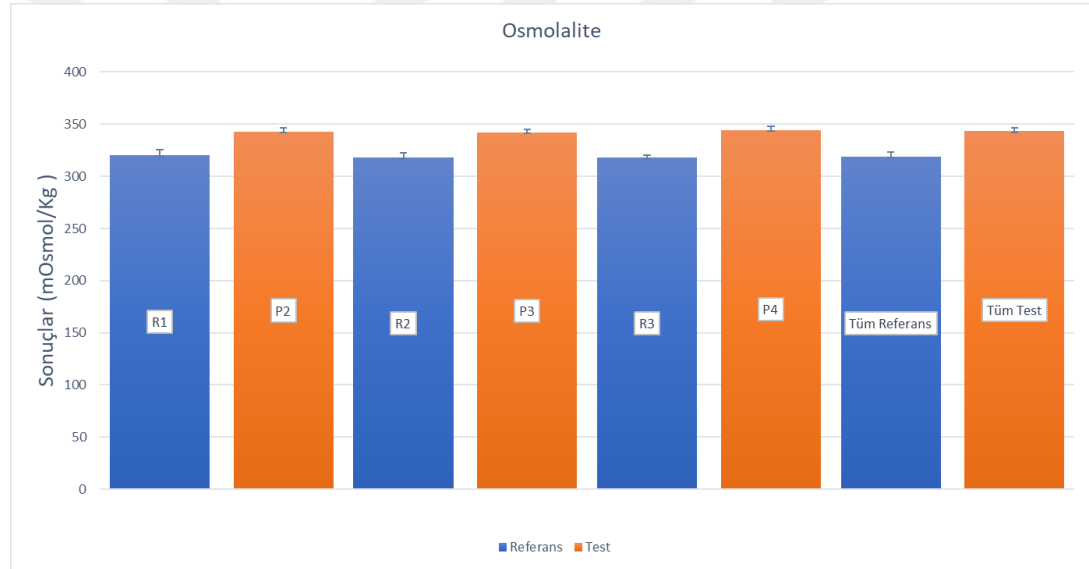
Üç seri test, 3 seri referans ürün n=10 kez analiz edilmiştir. Analiz sonuçları Çizelge 3.77’de verilmiştir. Yapılan ABE ve PBE hesaplamaları sonucunda Flutikazon furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon referans ürün ile in vitro biyoeşdeğer bulunmuştur.

**Çizelge 3.77.** Osmolalite analiz sonuçları (mOsmol/Kg)

| Numune | Osmolalite       |                  |                  |                  |                  |                  |
|--------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|        | P2               | P3               | P4               | R1               | R2               | R3               |
| n=10   | 343<br>mOsmol/Kg | 342<br>mOsmol/Kg | 345<br>mOsmol/Kg | 321<br>mOsmol/Kg | 318<br>mOsmol/Kg | 318<br>mOsmol/Kg |

**Çizelge 3.78.** ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Osmolalite

| Tanımlayıcı istatistikler |                    |                    |             |
|---------------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 330,7368486        |                    |             |
| % CV                      | 1,17757007         | CV ref %           | 1,334531768 |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL                 | UL          |
|                           | 1,076473629        | 1,071016723        | 1,081958338 |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9                | 1,1111      |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9                | 1,1111      |
| Sonuç                     | BİYOEŞDEĞER        |                    |             |
| PBE sonuçları             |                    |                    |             |
| σR                        | 0,013344724        | SABİT ÖLÇEKLİ      |             |
| Ratio                     | 1,076473629        |                    |             |
| Hη                        | -0,014967799       | As <0: BİYOEŞDEĞER |             |



**Şekil 3.36.** Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)- Osmolalite

#### 3.8.14. pH

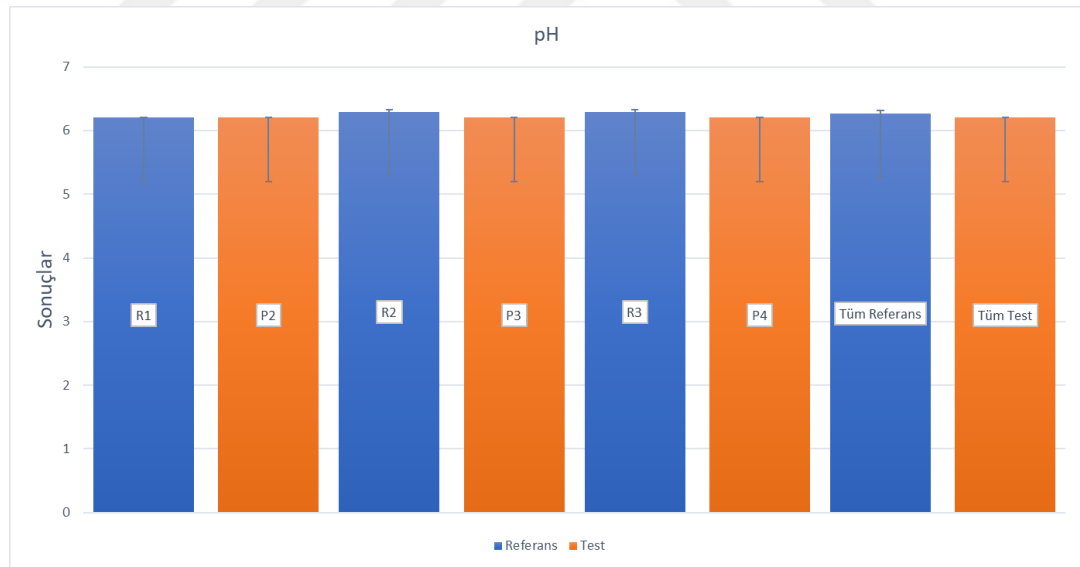
Üç seri test, 3 seri referans ürün n=10 kez analiz edilmiştir. Analiz sonuçları Çizelge 3.79’de verilmiştir. Yapılan ABE ve PBE hesaplamaları sonucunda Flutikazon furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon referans ürün ile in vitro biyoeşdeğer bulunmuştur.

Çizelge 3.79. pH analiz sonuçları

| Numune | pH   |      |      |      |      |      |
|--------|------|------|------|------|------|------|
|        | P2   | P3   | P4   | R1   | R2   | R3   |
| n=10   | 6,23 | 6,19 | 6,21 | 6,23 | 6,33 | 6,28 |

Çizelge 3.80. ABE & PBE sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-pH

| Tanımlayıcı istatistikler |                    |                     |             |
|---------------------------|--------------------|---------------------|-------------|
| Tüm ortalama              | 6,229832176        |                     |             |
| % CV                      | 0,563747917        | CV ref %            | 0,797266284 |
| ABE                       | Ratio=theta        | LL                  | UL          |
|                           | 0,99044573         | 0,988038828         | 0,992858495 |
| LİMİTLER                  | Ölçeklendirilmemiş | 0,9                 | 1,1111      |
|                           | ABE Ölçeği         | 0,9                 | 1,1111      |
| Sonuç                     | BİYO EŞDEĞER       |                     |             |
| PBE sonuçları             |                    |                     |             |
| σR                        | 0,007972536        | SABİT ÖLÇEKLİ       |             |
| Ratio                     | 0,99044573         |                     |             |
| Hη                        | -0,021013732       | As <0: BİYO EŞDEĞER |             |



Şekil 3.37. Analiz sonuçları (test ürün; P2, P3, P4 ve referans ürün; R1, R2, R3)-pH

## 4. TARTIŞMA

Alerjik rinit burun tıkanıklığı, burun kaşıntısı, burun akıntısı ve hapşırma gibi semptomlar oluşturan, uzun süre devam eden ve bu nedenle yaşam kalitesini ve üretkenliği etkileyebilen ve ayrıca astım gibi diğer durumları alevlendirebilen bir hastalıktır. Alerjik rinitin tedavisinde antihistaminikler ve intranazal (i.n.) kortikosteroidler tedavinin temelidir. Bununla birlikte karşılaştırmalı olarak yürütülen çalışmalar i.n. kortikosteroidlerin klinik etkisinin oral antihistaminiklere göre üstünlüğünü göstermiştir. Bu tez çalışmasında topikal etkinliği yüksek ve sistemik etki potansiyeli düşük bir kortikosteroid flutikazon furoatın;

- süspansiyon formunda, mevsimsel alerjik rinitin nazal ve oküler belirtilerinin tedavisinde endike ve yıl boyu devam eden semptomlarının tedavisinde kullanılabilecek ve belirlenen referans ürünü ile eşdeğer bir burun spreyi formülasyonunun kalite tasarımı(QbD) yaklaşımı ile geliştirilmesi,
- ölçek büyütme çalışmalarını yapılması,
- üretim metodunun valide edilmesi,
- geliştirilen formülasyonun uygun bir püskürtme cihazı ile birlikte EMA&FDA gereksinimlerine uygun olarak performans testlerinin gerçekleştirilerek in vitro benzerliğinin kanıtlanması, ve
- nihai olarak bir bitmiş ürün olarak sunulması, amaçlanmıştır.

### 4.1.Etkin Madde Karakterizasyonuna İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

Hammadde spesifikasyonları dahilinde etkin maddenin karakterizasyon testleri yapılmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 3.1’de verilmiştir. Bu testler EP ve USP farmakope yöntem bilgileri dahilinde tedarikçinin sunduğu analiz sertifikasında yer alan analiz sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Formülasyon geliştirme çalışmalarında

kullanılacak etkin maddenin uygunluğu, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin tayin edilmesiyle kanıtlanmıştır. Karakterizasyon testleri ışığında etkin maddenin doğası aydınlatılmış ve formülasyon çalışmalarına bu bilgiler ışık tutmuştur. Karakterizasyon testleri kapsamında önemli bir nokta etkin maddenin polimorfik formudur. Çünkü bir bileşiğin farklı polimorfları, erime noktası, çözünürlük, dansite, optik ve elektriksel özellikler, buhar basıncı ve katı hal stabiliteleri açısından farklı özelliklere sahiptir (Censi ve ark., 2015) Referans ürünün teknik dosyasında şu bilgiler yer almaktadır; flutikazon furoat, tetrasiklik steroidal bir moleküldür. 9 sterojenik merkez içerir ve 6S, 8S, 9R, 10S, 11S, 13S, 14S, 16R, 17R konfigürasyonlu izomerdir. Nötr bir moleküldür ve asidik veya bazik merkezleri yoktur. 3 polimorfik formda bulunur; Form 1, oda sıcaklığında termodinamik olarak karardır. Bu form asiküler veya tetragonal piramit kristal formunda bulunabilen kristal bir tozdur, akış özellikleri nedeniyle tercih edilir. Farmasötik açıdan metastabil formlar daha çok tercih edilir. Hammadde karakterizasyon testlerinde XRPD ile etkin maddenin referans ürünündeki gibi Form 1 formunda olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.2). Etkin maddenin tanınmasına ilişkin FT-IR spektrumu referans standart ile benzerdir. (Şekil 3.1). DSC analizi flutikazon furoat etkin maddesi için uygun değildir. Literatürde flutikazon furoat için termogravimetrik analizi (TGA) yapıldığı çalışmalar bulunmaktadır (Macdonald ve ark., 2012).

#### **4.2.Etkin Madde Özelliklerinin Risk Değerlendirmesine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi**

Kritik kalite niteliklerine etkisi yüksek olan hammadde özellikleri, etkisi az olan özelliklere göre daha detaylı incelemeye tabi tutulmuştur. Kalite özelliklerinin değerlendirilmesi, farmasötik ürüne etki eden farklı hammadde özelliklerini kapsamaktadır. Bu koşullar, ürünün yaşam döngüsü boyunca gerçekleşen geliştirme, üretim, dağıtım, kontrol ve gözden geçirme işlemlerini içermektedir. Etkin maddenin özelliklerinin ürünün kritik kalite özelliklerine (CQA; critical quality attributes) etkisinin olduğunu belirlemek amacıyla bir risk değerlendirme çalışması yapılmıştır. Değerlendirme sonucu Çizelge 3.2’de ve gerekçelendirmesi Çizelge 3.3’te verilmiştir. Kalite risk yönetimi konusunda uluslararası rehber olan ICH Q9 kılavuzu, farmasötik

kalitenin farklı alanlarına uygulanabilen kalite risk yönetimi araçları için örnekler ve prensipler sağlamaktadır. Bu yaklaşım formülasyon geliştirme çalışmalarına öncü olmuştur (ICH, 2005).

#### **4.3. Flutikazon Furoat ve Benzalkonyum Klorür Miktar Tayini Yönteminin Geliştirilmesine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi**

Flutikazon furoat ve benzalkonyum klorürün çözeltilerinin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyları ( $\lambda_{\max}$ ) belirlenerek en uygun dalga boyuna karar verilmiştir (Şekil 3.4). HPLC cihazında  $\lambda_{\max}=215$  nm kullanılmış olup veriler literatür verileriyle uyum göstermektedir (Trivedi ve ark., 2013). Bitmiş ürün serbest bırakma spesifikasyonlarının formülasyonda bulunan her bir antimikrobiyal koruyucu için kabul kriterleri ve limitleri ile bir tanımlama testi ve içerik belirleme testini içermesi gerekmektedir. Benzalkonyum klorür,  $n\text{-C}_8\text{H}_{17}$  ile başlayan ve daha yüksek homologlar boyunca uzanan grubun tamamını veya bir kısmını içeren, ana kısmı  $n\text{-C}_{12}\text{H}_{25}$  ve  $n\text{-C}_{14}\text{H}_{29}$  içeren bir alkil karışımıdır. Flutikazon furoat için ise ayrıntılı bir literatür araştırması, farmasötik formülasyon ve biyolojik sıvılardan tayini için spektrofotometri, HPTLC, LCMS/MS, HPLC ve görünür spektroskopi kullanılarak birkaç analitik yöntemin mevcut olduğunu ortaya koymuştur. Literatür araştırması, benzalkonyum klorürün bireysel olarak ve diğer etkin maddelerle kombinasyon halinde belirlenmesi için birkaç HPLC yöntemi, LC-MS yöntemi, elektroforez yöntemi rapor edildiğini ortaya koymuştur (Trivedi ve ark., 2013). HPLC’de flutikazon furoat ve benzalkonyum klorürün miktar tayini yöntemi geliştirilirken iki ürünün ayırt edilebilmesi hedeflenmiştir. Flutikazon furoat ve benzalkonyum klorürün ayrılması izokratik elüsyon ile sağlanmıştır. Araştırmacıların kullandığı analitik yöntem bu tez çalışmasında referans olarak alınmıştır (Trivedi ve ark., 2013). Geliştirme çalışmaları sonucunda elde edilen nihai analiz metodu Çizelge 3.4’te verilmiştir.

#### 4.3.1. Miktar Tayini Metodunun Analitik Validasyonlarına İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

Geliştirilen analitik yöntemlerin validasyonu için sistem uygunluğu, seçicilik, doğrusallık ve aralığı, doğruluk ve geri elde, kesinlik (tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik), çözelti stabilitesi incelenmiştir. Bu parametrelerin değerlendirilmesinde kullanılan kabul kriterleri resmi kılavuzlar, kitaplar ve bilimsel çalışmalar referans alınarak belirlenmiştir (Özkan ve ark., 2011; FDA, 2019; EMA, 2018; Shabir, 2004; CDER, 2019; ICH, 2022). FDA ve USP tarafından kromatografik analizlerde önerilen sistem uygunluk testleri HPLC analizlerinin doğruluğunu ispatlamak amacıyla yapılmıştır. Yapılan sistem uygunluğu çalışmasına ait sonuçlar Çizelge 3.5, Çizelge 3.6 ve Çizelge 3.7’de verilmiştir. Çalışma sonucunda metodun sistem kesinliği kanıtlanmıştır. Yapılan seçicilik çalışması sonuçları Çizelge 3.8’de verilmiştir. Flutikazon furoat ve benzalkonyum klorürün piklerinin alıkonma zamanında hareketli faz, seyreltme çözeltisi, plasebo çözeltisi ve impüritelerden gelen herhangi bir pik bulunmadığı belirlenmiştir (Şekil 3.5). Flutikazon furoat ve benzalkonyum klorürün piklerinin diğer pikler ile girişim yapmadığını gözlenmiştir. Standart çözelti, test çözeltisi ve impürite eklenmiş test çözeltisindeki flutikazon furoat pik saflığı eşik değerin üzerindedir. Elde edilen sonuçlar uygundur.

Doğrusallık ve aralığı çalışmalarında ICH kılavuzuna göre minimum 5 noktada ölçüm yapılması gerektiği belirtilmiştir. Analiz sonuçlarında, determinasyon katsayısı ( $R_2$ ) 0,99’dan büyük olmalıdır, regresyon katsayısı (a) istatistiksel olarak sıfırdan farklı olmalıdır ( $p < 0,05$ ), intersept (b) istatistiksel olarak sıfırdan farklı olmamalıdır ( $p > 0,05$ ) ve regresyon hesabında “x=0” değeri, b değerinin (ordinat kesim aralığı, intersept) güven aralığı (en düşük %95 ve en yüksek %95 değerleri) “0” değerini içermelidir. Yapılan doğrusallık analizleri sonuçları Çizelge 3.9 ve Çizelge 3.10’da verilmiştir. Konsantrasyona karşılık alan değerlerinden elde edilen regresyon eğrisinin tanımlayıcılık katsayısının ( $R_2$ ) 0,99’dan büyük olduğu, regresyon katsayısı (a) için p değerinin 0,05’ten küçük olduğu, intersept (b) için p değerinin 0,05’ten büyük olduğu bulunmuş olup elde edilen sonuçlar uygundur. HPLC’de yapılan doğruluk ve geri elde işlemlerinin sonuçları Çizelge 3.11, Çizelge 3.12 ve Çizelge 3.13’te verilmiştir. İlgili

ICH kılavuzunda, bu testler için en az 3 farklı derişimden 3 tekrarlı okuma yapılmasını önermektedir. Seçilen konsantrasyonlar yüksek, orta ve düşük olmak üzere belirlenmiştir. Eğer doğrusallık ve aralığının belirlenmesi sırasında yapılıyorsa 5 farklı derişimden yapılması önerilmektedir. Her bir konsantrasyon düzeyi için ortalama yüzde geri kazanım %98,0-102,0 aralığında olmalıdır. Geri kazanım değerleri arasındaki bağıl standart sapma (RSD) %2,0'den büyük olmamalıdır. Yapılan doğruluk analizleri sonucunda her bir konsantrasyon düzeyi için elde edilen yüzde geri kazanım sonuçlarının %98,0-102,0 aralığında bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar uygundur. Tekrarlanabilirlik çalışmalarında otoritelere göre analizi yapılacak konsantrasyonda çözelti hazırlanır. En az 10 ölçüm alınır. Çalışılan örneklerin her birinin sonucu spesifikasyon limitleri içerisinde olmalıdır. 6 adet test çözeltisinden elde edilen miktar tayini sonuçlarının bağıl standart sapması (RSD) %2,0'den büyük olmamalıdır. Ara kesinlik çalışmaları farklı gün ve farklı analistler tarafından yapılmıştır. Ara kesinlik çalışmasında çalışılan örneklerin her birinin sonucu spesifikasyon limitleri içerisinde olmalıdır. Tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik analizlerine ait 12 adet test çözeltisinden elde edilen miktar tayini sonuçlarının bağıl standart sapması (RSD) %2,0'den büyük olmamalıdır. Analiz sonuçları Çizelge 3.14, Çizelge 3.15, Çizelge 3.16, Çizelge 3.17, Çizelge 3.18 ve Çizelge 3.19'da verilmiştir. Yapılan tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik analizleri sonucunda test çözeltisi için elde edilen sonuçların bağıl standart sapmasının %2,0'den küçük olduğu bulunmuş olup elde edilen sonuçlar kriterlere uygundur. Çalışma sonucunda metodun kesinliği kanıtlanmıştır. Yapılan çözelti stabilitesi çalışmasına ait analiz sonuçları Çizelge 3.20 ve Çizelge 3.21'de yer almaktadır. Yapılan çözelti stabilitesi çalışması sonucunda standart çözelti ve test çözeltisinin 25°C sıcaklıkta en az 62 saat stabil olduğu belirlenmiştir. Sağlamlık parametresi istatistiksel deney tasarımı kullanılarak incelenmiştir. Herhangi bir kromatografik şarttaki değişikliğin analiz üzerindeki etkisinin anlamlı olup olmadığını değerlendirmek için Plackett-Burman deney tasarımı kullanılmıştır. Değerlendirme için, tekrarlanabilirlik ve kromatografik şartlarda değişiklik yapılarak elde edilen sonuçlar ve pik performans parametreleri karşılaştırılır. Yapılan değişiklikler Çizelge 3.22'de verilmiştir. Plackett-Burman istatistiksel deney tasarımı ile elde edilen, kromatografik parametrelerin ana etkisinin sonuçlar üzerindeki etkisi Çizelge 3.23'te istatistiksel olarak sunulmuştur. Sonuçlar

incelendiğinde benzalkonyum klorür miktar tayini için kurulan modelin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ve yüksek bir korelasyon katsayısına sahip olduğu gözlenmiştir. Kurulan bu modele göre hareketli fazdaki asetonitril oranının ve dalga boyundaki değişikliğin benzalkonyum klorür miktar tayini üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak anlamlı ve diğer sonuçlar üzerindeki etkisinin ise anlamlı olmadığı sonucuna varılmıştır. Geliştirilen analitik metodun yapılan minör değişikliklere karşı sağlam olduğu gösterilmekle birlikte metodun kullanıldığı analizler sırasında hazırlanan hareketli fazdaki asetonitril oranına ve dalga boyunun ayarlanmasına dikkat edilmesi gerektiği belirlenmiştir.

#### **4.4. Formülasyon Geliştirme Çalışmalarına İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi**

##### **4.4.1. Hedef Ürün Kalite Profilinin (QTPP) ve Kritik Kalite Özelliklerinin (CQA) Belirlenmesine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi**

Hedef ürün kalite profiline ilişkin yapılan gerekçelendirme çalışması Çizelge 2.24'te sunulmuştur. Hedef Ürün Kalite Profili (QTPP), ilacın prospektüsünde belirtilen terapötik faydasını verebilmek için bitmiş ürünün sahip olması gereken kalite özellikleridir. Formülasyon geliştirme çalışmaları öncesi, ürün spesifikasyonlarını belirli ölçüde tanımlayabilmek için kullanılmaktadır. QTPP bir tasarımdır, hedeflenen bitmiş ürünün güvenlik ve etkinliğini sağlayan veya sağlaması için geliştirilmesi planlanan üretim prosesi ve formülasyonunun optimizasyonunda kullanılmaktadır. Bu çalışma ile Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon için viskozite, pH, yoğunluk, miktar tayini, dozaj tekdüzeliği ve safsızlık, formülasyon ve proses değişikliklerinden etkilenme potansiyeline sahip kritik kalite özellikleri olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.25). Bununla birlikte bu parametreler kalite hedef ürün profilinin öğeleri olduklarından iyi bir farmasötik kalite sistemi ve kontrol metoduyla limitler içinde tutulmaları sağlanmıştır.

#### **4.4.2. Referans Ürün Karakterizasyonuna İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi**

Jenerik ilaç ürünleri, dozaj formu, etki gücü, uygulama yolu, kalite ve performans özellikleri ve kullanım amacı açısından yenilikçi/referans olarak belirtilen ürün ile karşılaştırılabilir ilaç ürünleri olarak tanımlanır. Referans ürüne benzerlik terapötik eşdeğerlik, farmasötik eşdeğerlik ve biyoeşdeğerlikten oluşur. Formülasyon geliştirme çalışmaları kapsamında referans ürün karakterizasyonu gerçekleştirilerek jenerik ürünlerin geliştirilmesi hızlandırılabilir. Kritik yardımcı maddelerin miktar tayini ve etkin maddenin katı hal karakterizasyonu ile ilgili bu çalışmalar, jenerik ürünlerin formülasyon geliştirmesi için kritik girdiler sağlayabilir. Kapsamlı referans ürün karakterizasyonu, yüksek biyoeşdeğerlik olasılığı olan jenerik ürünler geliştirmek için kullanışlı bir araçtır (Munjali ve ark., 2015). Tez çalışması kapsamında referans ürün karakterizasyon çalışmaları ile hedef ürün özellikleri belirlenmiştir. Sonuçlar Çizelge 2.26'da sunulmuştur ve formülasyon geliştirme çalışmalarına ışık tutmuştur.

#### **4.4.3. Kalite Tasarımı (QbD) Çalışmasına Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon'un formülasyon gelişimi aşamasında QbD kapsamında istatistiksel deney tasarımı yaklaşımı kullanılmıştır. Bu amaçla 8 faktörlü, 2 düzeyli bir Plackett-Burman deney tasarımı tercih edilmiştir.

Farmasötik geliştirme çalışmalarında, ürünün kalitesini her defasında aynı kalitede sağlayabilecek ve ekipman ile ham madde değişkenliklerine karşı sağlam bir üretim prosesi ve formülasyonu bulmak için QbD'den yararlanılır. QbD çalışması, üretim işleminin sonunda elde edilen bitmiş ürünün, önceden belirlenmiş spesifikasyonlarının devamlı ve benzer olarak sağlanması için geliştirme süreci boyunca kullanılacak üretim prosesi ile ürün formülasyonunun tasarlanması ve geliştirilmesi anlamına gelmektedir. Deneme-yanılma gibi geleneksel çalışmalarla karşılaştırıldığında QbD, öncelikle formülasyon ve üretim prosesi temel

parametrelerinin daha iyi anlaşılmasına, aralarındaki ilişkinin ürünün kritik kalite özelliklerine ve dolayısıyla bitmiş ürünün kalitesi, etkinliği ve güvenilirliğine olan etkisini daha iyi anlamaya odaklanmaktadır. Bu istatistiksel yaklaşımda, herhangi bir formülasyon ya da proses değişkeninin final ürünün kalitesine ne oranda etki edebileceğinin de belirlenmesi, tüm kritik formülasyon özellikleri ile kritik işlem parametrelerinin tanımlanması gerekir. QbD yaklaşımında CQA'lar ve Kritik Proses Parametreleri (CPP) risk değerlendirme yöntemleriyle belirlenmektedir (ICH, 2005; Demir ve ark., 2015). Plackett-Burman deney tasarımı sonucunda elde edilen yanıt değişkenleri Çizelge 3.27'de sunulmuştur. Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon projesinde yapılan QbD çalışması ile formülasyon bileşenlerinin etkileri tespit edilmiş ve optimum konsantrasyonda kullanılması sağlanmıştır. Çünkü bir burun spreyi formülasyonu tipik olarak etkin madde, polimerler, yüzey aktif maddeler ve yardımcı maddeleri içermektedir. Polimerik jel yapıcı ajanlar normalde burunda kalma sürelerini artırarak ve etkin madde absorpsiyon oranını kontrol ederek burunda biyoyararlanımını iyileştirmek için kullanılır. Yüzey aktif maddeler esas olarak aktif formülasyon bileşenlerini stabilize etmek veya çözmek için kullanılır. Nazal ürün formülasyonu tasarımı sırasında, dispersiyonların reolojik ve fizikokimyasal özelliklerini etkileyen bu bileşenler arasındaki moleküler etkileşimleri göz önünde bulundurmak önemlidir, bu da sırasıyla formülasyonun uygun boyutta damlacıklar halinde aerosol haline getirilme kabiliyetini etkiler (Guo ve ark., 2008). Ürün içeriğinde bulunan yardımcı madde, mikrokristal selüloz ve karmeloz sodyum bileşimi (Avicel RC-591) sebebiyle tiksotropik akışa sahip olan bitmiş ürünün eldesinde kritik proses parametreleri yine QbD çalışması ile elde edilmiştir. Şekil 3.10 ve Şekil 3.11'de verilen Pareto grafiği incelendiğinde, bağımsız değişkenler arasından mikrokristalize selüloz ve karmeloz sodyumun formülasyonda kullanım oranının partikül büyüklüğü dağılımını istatistiksel olarak anlamlı şekilde etkilediği görülmektedir. Partikül büyüklüğü ve dağılımı ürünün reolojik özelliklerini etkilemektedir. Burada tiksotropinin sağlanmasında yardımcı madde olan mikrokristalize selüloz ve karmeloz sodyumun karmeloz içeriği, zincir uzunlukları ve bileşimin partikül büyüklük dağılımı önemli faktörlerdir. Farklı tedarikçilerden temin edilen bu yardımcı madde ile yapılan ön çalışmalarda partikül büyüklük dağılımındaki farklılıkların püskürtme sonrası

oluşan jellerin viskozitesinde farklılıklara neden olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle referans ürün viskozitesine benzer sonuçlar gösteren yardımcı madde seçilmiştir.

Nihai formül seçiminin ardından pompa tedarikçisi ile ortak bir çalışma yürütülerek optimum pompa seçimi yapılmıştır. Seçilen ambalaj malzemeleri ve bileşenleri burun spreyleri için sıklıkla kullanılan hammaddeden oluşmaktadır. Tez çalışmamızda seçilen primer ambalaj malzemesi referans ürün ile aynıdır ve amber renkli cam şişedir. Pompa sistemleri karşılaştırıldığında referans ürün sekonder ambalajı yandan püskürtmeli dizayn edilmiştir fakat cihazın mekanizması incelendiğinde üstten püskürtme yaptığı gözlenmektedir. Seçtiğimiz ürün pompası da üstten püskürtme yapmaktadır. Seçilen ambalaj malzemesine ait bilgiler Şekil 3.12’de sunulmuştur.

#### **4.5. F03 Nihai Formülasyon Üzerinde Yapılan Diğer Çalışmalara Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

##### **4.5.1. Etkin Madde Salım Hızı Çalışmalarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Etkin madde çözünme hızı veya salım hızı incelemesi nazal ilaçların in vitro biyoeşdeğerlilik testleri içerisinde yer almamaktadır (FDA, 2003). Tez çalışması kapsamında geliştirme çalışmaları yapılan süspansiyon formülasyonundan etkin maddenin salımı test edilmiştir. Bunun için literatürden elde edilen pH 5,5 nazal ortam kullanılmıştır (Zaki ve ark., 2007; Saindane ve ark., 2013).

İlaçların farmakokinetik davranışı, terapötik hedef bölgedeki varlıklarını yönetmektedir. Bauman ve ark.ları tarafından 2009 yılında yapılan bir çalışmada, triamsinolon asetonid (TCA), budesonid (Bud), flutikazon propiyonat (FP) ve mometazon furoat (MF) ile flutikazon furoatın (FF) in vitro özellikleri karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada FP, MF ve FF'nin pH 5,5 nazal ortamda çözünürlüğü önemli ölçüde arttırılmış ve FF, müsin ve albümün gibi proteinlerin mevcudiyetinde

en belirgin çözünürlük artışını sergilemiştir. Bu sonuçla uyumlu olarak, nazal dokuda en yüksek retansiyon FF için gözlenmiş, bunu FP>MF>Bud>TCA izlemiştir (Bauman ve ark., 2009).

Literatür çalışmalarından hareketle etkin madde flutikazon furoat pH5.5 nazal sıvıda çözünme göstermediğinden çalışmalara organik solvan ve yüzey aktif maddeler dahil edilmiş, organik solvan ilavesi ve yüzey aktif madde ilavesi değerlendirilmiştir. Çözünme testi yöntemleri olarak Franz Difüzyon hücresi ve İnen-çıkan silindir, USP Aparat 3 (Bio-Diss) kullanılmıştır. Bu yöntemlerde farklı hızlar kullanılarak çözünme miktarına etki edip etmedikleri incelenmiştir. Çalışmalarda sıcaklık sabit tutulmuştur ve burun mukozasını taklit eden 35°C kullanılmıştır. Analiz sonuçları Çizelge 3.28 ve Çizelge 3.29'da verilmiştir. Çalışmalarda kullanılan sodyum lauril sülfat yüzey etken maddesi çözünürlüğü arttırmamıştır. Çözünürlüğü artırmak amaçlı kullanılan organik solventler asetonitril ve etanol sonuçları arasında majör bir farklılık bulunmamaktadır. Çözünme hızı çalışmalarında hızın artırılması çözünen miktarı arttırmamıştır. Numune hazırlığında kullanılan farklı filtreler arasında majör bir farklılık bulunmamaktadır.

Yapılan çalışmalarda 22 saat sonunda %0,5 SLS içeren PH 5,5 nazal ortamı: Asetonitril (70:30) ortamında %17,2, PH 5,5 nazal ortamı: Etanol (60:40) ortamında %16,9 salım gözlenmiştir. Bu değerler düşük olmakla birlikte bu şekilde bir çözünme in vivo nazal ortamda uzun süreli bir çözünme durumu ile etkin maddenin uzun süreli nazal temas süresi ile sonuçlanacaktır. Flutikozan furoat gibi lipofilitesi yüksek glukokortikoidlerin hastalara i.n. uygulamasından sonra nazal doku ve nazal sekresyonlarda uzun bir süre periyodunda mevcut bulunduğu gösterilmiştir (Bauman ve ark., 2009). Tez çalışması kapsamında çözünme hızı çalışmalarına devam edilmemiştir.

#### 4.5.2. Tiksotropik Akış Çalışmalarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi

Mevsimsel alerjik veya çok yıllık rinit semptomlarını hafifletmek için yaygın olarak kullanılan kortikosteroid burun spreyi süspansiyonlarının reolojik özellikleri, genel performanslarını önemli ölçüde etkilemektedir. Bu tür süspansiyonlar genellikle "tikotropik" olacak şekilde formüle edilmektedir, çünkü bunlar bekleme halindeyken partiküllerin çökmesini engellemek için yüksek bir görünür viskozite ile hareketsiz hale gelirken kullanımdan önce çalkalama uygulandığında yeniden akışkan hale geçmektedir. Böylece doz kolayca burna püskürtüldükten sonra yeniden orijinal yüksek kıvama geri dönmekte ve bunun sonucunda nazal mukozaya uzun süreli olarak yapışmaktadır. Eccleston ve ark.'nın 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada dört ticari kortikosteroid burun spreyi süspansiyonunun reolojik profilleri karşılaştırılmıştır. Beconase® (Glaxo Wellcome, Middlesex, UK), Nasacort® (Rhone-Poulenc Rorer, Kent, UK), Flixonase® (Glaxo Wellcome) ve Nasonex® (Schering- Plough, Herts, Birleşik Krallık). Çalışmanın amaçları; ilk olarak kayma incelmesi, tiksotropi ve kaymadaki geri döndürülemez deformasyonun boyutunu değerlendirmek ve ikinci olarak da reolojinin bir ön değerlendirmesini yapmak olmuştur. Tüm nazal spreyler, farklı derecelerde tiksotropiklik göstermiştir (Eccleston ve ark., 2000). Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon ürünün, kayma hızı artışına karşılık viskozitesi ~1000 cP değerinden ~100 cP'a düşen bir çıkış eğrisi oluşturmuş, dönüş eğrisi sonunda ~400 cP değerine ulaşılmıştır (Şekil 3.13 ve Şekil 3.14).

#### **4.6. Ölçek Büyütme Çalışmalarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Ölçek büyütme, genellikle seri boyutunu artırma süreci olarak tanımlanır. Bir işlemin ölçeğinin büyütülmesi, aynı işlemin farklı çıktı hacimlerine uygulanması için bir prosedür olarak da görülebilir. Bu iki tanım arasında ince bir fark vardır: seri boyutunun büyütülmesi, her zaman işlem hacminin bir boyut artışına dönüşmesi anlamına gelmemektedir (Levin ve ark., 2001). Bu nedenle seri boyutu artışında proses parametreleri dikkatlice değerlendirilmelidir. Ölçek büyütme çalışmaları, ilaç endüstrisi için önemli bir konudur. Ölçek büyütme çalışmaları, laboratuvar ölçeğinde elde edilen Ar-Ge sonuçlarının pilot üretim boyutuna ve daha sonra üretim ölçeğine aktarılması prosedürlerini kapsamaktadır.

Tez çalışması kapsamında, hedef seri boyu üretim ekipmanlarının kapasiteleri baz alınarak seçilmiştir. Yapılan ölçek büyütme çalışmalarında üretim hacminin üretim işlem parametrelerini değiştirdiği gözlenmiştir. Hedef viskozite, damlacık büyüklüğü ve dağılımı gibi kritik kalite özelliklerinin spesifikasyonları limitleri dahiline gelmesi için çeşitli hız parametreleri değiştirilmiş ve bunlar 3 seri üretim ile valide edilmiştir.

##### **4.6.1. Bitmiş Ürün Kontrollerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Validasyon üretimleri sonucu elde edilen bitmiş ürün kontrollerine ait sonuçlar Çizelge 3.30'da referans ürünler ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Tüm sonuçlar hedef değerinde ve spesifikasyon limitlerine uygun gelmiştir. Üretim prosesinin en önemli göstergesi olan bu kontrollerin 3 seri üründe birbirine benzer olması ölçek büyütme çalışmaları ile valide edilen şarj boyunda kullanılan işlem parametrelerinin sağlam ve tekrarlanabilir olduğunu göstermektedir.

#### **4.6.2. Stabilit e Sonuçlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Stabilit e  alışmaları, formülasyonun cihazın bileşenleri ile uyumluluğunun yanı sıra nazal ve inhalasyon sprey ilaç ürünlerinin performansı da dahil olmak üzere, çeşitli saklama koşullarında ilaç ürününün fiziksel ve kimyasal stabilit esini kontrol etmek için veri sağlamaktadır ve otoriteler tarafından talep edilmektedir. Çizelge 3.31’de P2 serisi için sunulan ve 6 aylık süreyi kapsayan stabilit e analiz sonuçları incelendiğinde tüm sonuçların spesifikasyonları dahilinde olduğu görülmüştür. Fiziksel ve kimyasal olarak stabil bir ürün elde edildiği gözlenmiştir.

#### **4.7. Nazal  r nler için EMA Kılavuzunda Belirtilen Testler ve Metotların Bulgularının Değerlendirilmesi**

##### **4.7.1. Nazal  r nler için Uygulanan Test Metotlarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Flutikazon Furoat 27,5  g Burun Spreyi, Süspansiyon ’un referans ürüne benzer olması amaçlanmaktadır. Çizelge 3.30’ da verilen karşılaştırmalı analiz sonuçları, referans ürün ve Flutikazon Furoat 27,5  g Burun Spreyi referans ürününün benzer fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Fiziksel karakterizasyon testleri kapsamında:

Görünüş testi ürünün fizikokimyasal durumu ile ilgili bilgi verirken aynı zamanda hasta uyuncu açısından da referans ürüne benzer olmalıdır.

Nazal mukozanın pH’ı hafif asidiktir ( $\approx 5-6,5$ ), dolayısıyla nötr ila hafif asidik pH iyi tolere edilmektedir (Pires ve ark., 2022). Flutikazon Furoat 27,5  g Burun Spreyi, Süspansiyon’un referans ürün ile benzer olarak pH analiz sonuçları bu aralık dahilindedir.

Üretim prosesi boyunca hedef ürün yoğunluğu 1,02 g/mL 'dır ve tamamlamalar bunun üzerinden yapılmaktadır. 3 seri validasyon ürünü için analiz sonuçları uygun gelmiştir (Çizelge 3.30)

Nazal spreylerin viskozitesi, damlacık büyüklüğü, bulut geometrisi ve nazal mukozada birikim gibi spreynin özellikleri üzerinde bir etkiye sahiptir. Düşük viskoziteli nazal formülasyonların, viskoz formülasyonlara kıyasla burun deliklerinin distalinde birikme eğiliminde olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, daha yüksek viskozitenin daha büyük damlacık boyutu ve daha dar bulut açısı ile ilişkili olduğu ve bunun da daha küçük püskürtme alanına yol açtığı bulunmuştur (Gao ve ark., 2020). Validasyon serilerinin viskozite analiz sonuçları referans ürün ile benzerlik göstermektedir (Çizelge 3.30). Datalar in vitro benzerlik hesaplamalarında değerlendirilmiştir.

Lazer kırınım yöntemi ile ölçülen bitmiş ürün partikül büyüklüğü ve dağılımı yönteminde büyük parçacıklar ışığı küçük açılarla saçarken, küçük parçacıklar geniş açı saçılım desenleri üretir. Büyük parçacıklar, tanımlanan açılarda belirgin maksimum ve minimumlarla oldukça keskin bir yoğunluk dağılımı üretirken, küçük parçacıkların ışık saçılım örüntüsü gittikçe dağınık ve genel yoğunluk azalır. Parçacıkların tek tek ışık saçan sinyallerinin birbirine uyması nedeniyle çok boyutlu partiküllerin farklı dağılımlı partiküller içinde ölçülmesi özellikle zordur. Bitmiş ürün etkin maddenin ve mikrokristal selüloz ve kroscarmeloz sodyumun homojen bir şekilde disperse edildiği süspansiyon dozaj formuna sahiptir. İçeriğindeki diğer yardımcı maddeler ürün içerisinde çözünmüş halde bulunmaktadır. Analizlerde, disperse halde bulunan etkin madde küçük partikül grubunu temsil ederken, partikülleri daha büyüktür ve daha yoğundur ve bu ölçüm sonucuna yansımaktadır. Analiz sonuçlarına bakıldığında sonuçlar referans ürün ile benzerlik göstermektedir (Çizelge 3.30).

Nazal dozaj formlarında formülasyon tonisitesi genel olarak nazal mukozayı büyük ölçüde etkiler ve genellikle izotonik bir formülasyon tercih edilir. Bununla birlikte hayvan deneylerinden elde edilen veriler, izotonik formülasyonlara kıyasla

100 veya 600 mOsmol/Kg ozmolaliteye sahip burun spreyi formülasyonlarından somon kalsitonin için artan biyoyararlanım göstermiştir. Diğer çalışmalar, hipotonik burun spreyi formülasyonlarının, burun mukozasından ilaç geçirgenliğini iyileştirdiğini göstermiştir. Pazarlanan bazı mevcut ürünler, 300-700 mOsmol/Kg aralığında ozmolalite bildirmiştir (That ve ark., 2016). Analiz sonuçları incelendiğinde tüm seriler için değerlerin 290-400 mOsmol/Kg sınırları içinde olduğu ve referans ürün ve literatür çalışmalarında elde edilen sonuçlara benzer olduğu görülmektedir (Çizelge 3.30).

İletilen doz içerik tekdüzeliğinde, nazal dozaj formlarında ürünün başlangıç kullanımından sonuna kadar kullanımında her bir spreylemede pompadan püskürtülen numunenin etkin madde içeriğinin kapsamlı bir şekilde analiz edilmesi gerekmektedir. Bu test, formülasyonu, üretim sürecini ve pompayı değerlendirerek bir serinin genel performans değerlendirmesini sağlamaktadır (That ve ark., 2016). Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon için tüm iletilen doz içerik tekdüzeliği sonuçları uygun bulunmuştur (Çizelge 3.30).

Dozaj ünitelerinin tekdüzeliği testinde ayrı ayrı şişelerin ürün homojenliği ve pompa sistemi test edilmektedir. Flutikazon furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon tüm dozaj ünitelerinin tekdüzeliği sonuçları uygun bulunmuştur (Çizelge 3.30).

Minimum dolum ağırlığı testinde referans ürün etiket değerinde belirtilen min. 120 püskürtme miktarını karşılamalıdır.  $\geq 10$  g spesifikasyonu kapsamında flutikazon furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon tüm sonuçları uygun bulunmuştur (Çizelge 3.30).

Ortalama püskürtme dozu bir püskürtme içeriğindeki etkin madde miktarını incelemektedir. Bu analiz iletilen doz içerik tekdüzeliği testi ile paralel yapılmış olup tüm analiz sonuçları belirtilen limitlere uygundur. Her bir şişe için püskürtme sayısının hesaplanması ürün etiket değerinde belirtilen min.120 püskürtme miktarının kontrolü için yapılmaktadır. Test ve referans ürünün her bir püskürtmesinden elde edilen

ağırlıklar benzerdir ve her bir şişe için püskürtme sayısı minimum 120 püskürtme limitine uygundur (Çizelge 3.30).

İlaçların burundan verilmesi sırasında, çok dozlu dozaj şekilleri olarak nazal sprey pompa sistemleri kullanılır. Bu pompa sistemleri püskürtme sonrası, ince dağılmış aerosol olarak tanımlanmış bir sıvı hacmi sağlar. Hava yollarına nüfuz etme derinliği ve atomize sıvıların birikmesi, amaçlanan etki için esastır. Hava yolları içindeki birikim, üretilen damlacıkların boyutuna göre belirlenir; 20 µm ila 30 µm üzerindeki damlacıklar ve partiküller, burun odasının ilk üçte birlik kısmındaki mukoza zarı üzerinde hedeflenen absorpsiyon konumunda biriktirilir. Burada kalma süresi ve emilim koşulları idealdir. Daha küçük partiküller nefes yoluyla akciğere taşınır ve orada yerleşir. 1 µm'nin altındaki partiküllerin solunması muhtemeldir. Geliştirme çalışmalarında, damlacık boyutu dağılımının araştırılması, jenerik ilaçların biyoyararlanımının yanı sıra biyoeşdeğerliğini de doğrulamaktadır. Sprey aplikatörleri, istenen bir dozlama hacminde optimal bir damlacık boyutu dağılımı (20 µm ila 80 µm) hedeflenecek şekilde tasarlanmalıdır. Bu, istenen dozajdaki etkin maddenin amaçlanan absorpsiyon yerine yerleştirilmesini sağlayacaktır. Atomizasyon için gereken enerji, bir pompa mekanizmasının etkinleştirilmesiyle veya bir sıkma şişesinin sıkıştırılmasıyla üretilir. Nazal sprey olarak uygulanan bir formülasyonun terapötik etkisini garanti etmek için, aerosolün geliştirilmesi sırasında ve ayrıca kalite kontrol sırasında kontrollü koşullar altında damlacık boyutu dağılımının ölçülmesi önerilmektedir. Tez çalışmamızda nazal formülasyonların fiziksel özellikleri ile sprey özellikleri arasındaki ilişkinin gösterilmesinde ve burun spreylelerinden damlacık boyutu dağılımını karakterize etmek için lazer kırınımı ölçüm metodolojisine sahip Sprey-Tech cihazı ve analiz yöntemi kullanılmıştır.

FDA, DSD analizinde 2 ila 7 cm arasında değişen iki mesafede, iki mesafe 3 cm veya daha fazla olacak şekilde tek spreyin tüm ömrü boyunca damlacık boyutlarının belirlenmesini önerir. FDA'nın aksine, EMA, "inhalasyon ve nazal ürünlerin farmasötik kalitesine ilişkin kılavuzlarında", örneğin verilerin nasıl analiz edileceği gibi, burun spreylelerinin damlacık boyutu dağılımının ölçümü hakkında daha az bilgi vermektedir. Ancak kurum ayrıca medyan damlacık boyutu ve <10 µm fraksiyon için

sınırların verilmesini talep etmektedir. DSD ölçümleri yapılırken dikkate alınması gereken çeşitli parametreler bulunmaktadır. Bunlar, viskozite ve yüzey gerilimi gibi formülasyonla ilgili özellikleri, cihazın tasarımını, çalışma parametrelerini, örneğin çalışma kuvveti, güç uygulama uzaklığı, çalışma hızı ve ayrıca püskürtme açısı veya mesafe gibi yöntemle bağlı değişkenleri içermektedir. Dayal ve ark.larının 2004 yılında yaptıkları çalışmada ölçüm metodunu etkileyen parametreler ve sonuçları değerlendirilmiştir (Dayal ve ark., 2004). Araştırmacılar, kısa bir mesafede ölçüm almanın DSD'nin daha iyi bir temsilini sağlayabileceğini öne sürmüşlerdir. Bununla birlikte spreyleme açısı, uygulanan kuvvet gibi parametreleri değerlendirmişlerdir. Literatür bilgileri kapsamında geliştirilen uygun ve valide bir ölçüm metodu ile yapılan testlerde analiz sonuçlarının referans ürün ile benzer olduğu gözlenmiştir (Çizelge 3.30). Fiziksel karakterizasyon testleri ayrıca in vitro biyoeşdeğerlilik çalışmalarında değerlendirilmiştir.

#### **4.7.1.1. Gerekli Minimum Dolum Miktarına Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Referans ürün etiketinde belirtilen doz sayısını sağlamak için ambalaj materyaline doldurulması gereken ürün miktarını belirlemek amacıyla yapılan bu test ile hasta kullanımında belirtilen talimatlar doğrultusunda gerekli olan ürün miktarının saptanması sağlanmış ve dolum miktarı spesifikasyonları belirlenmiştir. Analiz sonuçları Çizelge 3.32'de verilmiştir. Dolum spesifikasyonu minimum 10 g olarak belirlenmiştir. Dolum sapması olarak  $\pm\%5$  kullanılmaktadır.

#### **4.7.1.2. Tek Doz (Püskürtmenin) Ağırlığı ve On Dozun Ağırlık Ortalamasına Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Referans ürün etiketinde verilen bilginin tespiti için; ilk olarak tek dozun (tek püskürtmenin) ağırlığı ve ardışık on dozun ortalama ağırlık tekdüzeliği tespit edilmiştir. Referans ürün ambalajındaki ürünün tamamı tükenene kadar püskürtme yapılmış ve bir şişe içerisinde yer alan ürün ile kaç dozlama yapılabildiği hesaplanmıştır. Test sonuçları Çizelge 3.33 ve Çizelge 3.34’te verilmiştir. Analiz sonuçları test ürün için dolum miktarının belirlenmesine katkıda bulunmuştur.

#### **4.7.1.3. Minimum Dolum Gereksinimine Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Bu test Bölüm 3.7.2.16 ‘da yapılan gerekli minimum dolum ağırlığı testini kapsamaktadır. Analiz sonuçları Bölüm 3.1.7.16’da verilmiştir. Analiz sonuçları test ürün için dolum miktarının belirlenmesine katkıda bulunmuştur.

#### **4.7.1.4. Ambalaj Ömrü boyunca Sağlanan İletilen Doz Tekdüzeliği**

Nazal dozaj formlarında aktivasyon sebebiyle püskürtülen ilk 6 sprej haricinde şişeden her püskürtme belirli limit aralığında etkin maddeyi içermelidir. Bu şişenin kullanıma başladığı andan itibaren ürün üzerinde belirtilen dozlama sayısının son dozuna kadar sağlanmalıdır. Bu test kapsamında validasyon serilerimizin referans ürün ile karşılaştırmalı analizleri yapılmıştır. Tüm sonuçlar limitler dahilinde gelmektedir.

#### **4.7.1.5. Aktüvatör Birikme Testine Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Nazal sprej aktüvatöründe biriken ürün miktarını belirlemek için yapılan bu test referans ürünün ambalajı kapalı bir sistem olduğundan ve aktüvatör çıkarılamadığı için

yapılamamıştır. Test ürün sonuçları Çizelge 3.35'te sunulmuştur. Buna göre aktüvatörde biriken ürün miktarı ortalama 597 mg olup çok küçük miktarda birikim yapmaktadır.

#### **4.7.1.6. Çalkalama Gereksinimine Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Süspansiyon formda nazal sprey ürünleri için kullanılmadan önce çalkalama gereklidir. Bu test ile köpürme veya yetersiz sallama ile gerçekleşebilecek yanlış dozlama ihtimali yapılan doz tekdüzeliği testleri ile test edilerek uygun çalkalama süresi tespit edilmiş ve hasta kullanımı için yol gösterici olmuştur. Buna göre ürün kullanılmadan önce minimum 3 saniye olacak şekilde çalkalanmalıdır. Çalışma sonuçları Çizelge 3.63'te verilmiştir. 3 s, 5s ve 10 s çalkalama sonuçları uygundur.

#### **4.7.1.7. Şişeden İlk Püskürtme ve Yeniden Püskürtme Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Bu çalışma yatay ve dikey gibi farklı konumda depolanan ürünün ilk defa kullanımında atık olarak değerlendirilmesi gereken püskürtme sayısını belirlemek için yapılan bir testtir. Depolama sırasında bekleyen ürünlerin hasta kullanımına sunulduğu anı temsil etmektedir. Aynı zamanda şişenin kullanılmadığı süre sonunda yeniden püskürtüldüğünde atık olarak değerlendirilmesi gereken püskürtme sayısını belirlemek için de yapılmaktadır. Tüm sonuçlar nihayetinde ürün hayat ağacında hasta kullanımında gerekli bilgiler oluşturulmuştur. Analiz sonuçları nihayetinde 6 püskürtme atım sağlanması gerektiği gösterilmiştir. Analiz sonuçları in vitro biyoeşdeğerliliğin değerlendirilmesi kısmında Çizelge 3.57'de verilmiştir.

#### **4.7.1.8. Sıcaklık Döngüsü Sonrası Performans Testine Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Ürün depolama, nakliyat ve hasta kullanımı sırasında doğabilecek sıcaklık farklılıklarında ve bu döngüde ürünün doz homojenliği değerlendirilmiştir. Analiz sonuçları uygun bulunmuştur. Analiz sonuçları in vitro biyoeşdeğerliliğin değerlendirilmesi kısmında verilmiştir (Bölüm 3.8.9).

#### **4.7.1.9. Koruyucu Etkinlik Çalışmasına Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Avrupa farmakopesine göre yürütülen çalışma sonucunda farklı konsantrasyonda koruyucu içeren ürünler teste tabi tutulmuş ve koruyuculukları test edilmiştir. Çalışma sonunda koruyucunun raf ömrü boyunca olması gerektiği limitler belirlenmiştir. Çalışılan koruyucu % konsantrasyonları Çizelge 3.36'da verilmiştir. Diğer tüm hammadde ve etkin maddenin miktarının sabit tutulduğu ve sadece koruyucu % konsantrasyonun değiştirildiği üretimler yapılmış ve mikrobiyolojik koruyucu etkinlik testine tabi tutulmuştur. İnilen en düşük konsantrasyon %60 oranıdır. Koruyucu etkinlik çalışması bu konsantrasyonda uygun gelmiştir.

#### **4.7.1.10. Süspansiyonun Fiziksel Stabilitesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Süspansiyon formunda ve tiksotropik akış gösteren ürünümüzde herhangi bir çökmenin gözlenmemesi ürün stabilitesini etkileyen önemli bir fiziksel olaydır. İçeriğindeki Avicel RC-591 nedeniyle jel-sol-jel özelliği gösteren ürünümüzde herhangi bir çökmenin gözlenmemesi beklenen bir durumdur.

#### **4.7.1.11. Zeta Potansiyel Analiz Sonuçları Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Zeta potansiyel, partiküllerin üzerindeki elektriksel gerilimdir. Zeta potansiyel değeri arttıkça partiküller birbirini iterken agregasyon eğilimi azalmaktadır. Süspansiyonların, emülsiyonların ve protein çözeltilerinin formülasyonlarını optimize etmek, yüzeylerle etkileşimleri tahmin etmek ve film ve kaplama oluşumunu optimize etmek için kullanılmaktadır. Zeta potansiyel kolloidal dispersiyonların stabilitesini değerlendirmek için önemli bir parametredir. Genel olarak  $\pm 30$  mV altındaki değerler, kararsızlık, agregasyon, pıhtılaşma veya flokülasyon eğilimi gösterir (Far ve ark., 2020). Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon ürünü için analiz sonuçları Çizelge 3.37 ve Şekil 3.15'te verilmiştir. -46 ile 67 mV arasında, referans ürünün ise -54 ile -62 mV aralığında ve benzer olarak yüksek zeta potansiyel göstermiştir. Yüksek zeta potansiyeli iyi bir stabilite profilini temsil etmektedir.

#### **4.7.1.12. Sprey Performans Testlerine Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Literatür araştırmalarındaki bulgular farklı cihaz tasarımlarının ve kurulumlarının DSD, bulut geometrisi ve püskürtme modelinde farklı sonuçlara yol açtığını ve dolayısıyla sırasıyla cihaz geliştirme ve seçiminin formülasyon geliştirmeden önce veya hatta aynı anda yapılması gerektiğini göstermektedir (Trows ve ark., 2014). Analiz sonuçları in vitro biyoeşdeğerliliğin değerlendirilmesi kısmında verilmiştir (Bölüm 3.8)

#### **4.7.1.13. Ekstre Edilebilir/Sızabilir Maddelerin Değerlendirmesine Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Ekstre edilebilir safsızlıklar ambalaj ve cihazlardan kontrollü laboratuvar ortamlarında uygun çözücüler kullanılarak elde edilen organik veya inorganik safsızlıklar olarak bilinmektedir. Sızabilir safsızlıklar ise ilaç formülasyonun direk

temas halinde bulunduğu ambalajından veya birlikte kullanıldığı medikal cihazdan ilaca geçen ve hastaya etki edebilen eser seviyedeki safsızlıklar olarak tanımlanır (Norwood ve ark., 2008). Nazal sprey formülasyonları migrasyon açısından güvenli olmalıdır. Flutikazon furoat 27,5 µg Burun spreyi, Süspansiyon için yapılan risk değerlendirmesi çalışmasında ürünümüzün migrasyon açısından güvenli olduğu bulunmuştur. Bu nedenle çalışma yapılmamıştır.

#### **4.7.1.14. Sağlık Çalışmasına Ait Bulguların Değerlendirilmesi**

Bu çalışma, nazal sprey ilaç ürünlerinde cihaz sağlamlığının incelenmesi ve cihazın performans özelliklerinin, farklı kullanım durumlarındaki (örneğin düşürme, sallama, titretme) performansının incelenmesi için yapılmıştır. Bitmiş ürünler farklı uzaklıklarda taşınmaya maruz bırakılmış, taşınma sırasında karşılaşılabilecekleri durumlar simüle edilmiştir. Bu çalışma ile, nakliyenin ilgili ürünler üzerinde (test ve referans) ; kap ömrü (SCU) boyunca iletilen doz tekdüzeliği, partikül boyutu dağılımı, damlacık üzerindeki etkisini değerlendirilmiştir. Analiz sonuçları Bölüm 3.8’de in vitro biyoeşdeğerliğin değerlendirilmesi kısmında Çizelge 3.68, Çizelge 3.69 ve Çizelge 3.70’te verilmiştir. Tüm sonuçlar başlangıç değerleriyle karşılaştırılmıştır. İlk sonuçların serbest bırakma spesifikasyonlarına; 3000 km ve 6000 km sonuçlarının ise raf ömrü spesifikasyonlarına uyması beklenmektedir. Tüm sonuçlar limitlere uygundur.

#### **4.8. Nazal Sprey Ürünlerde İn Vitro Biyoeşdeğerliğin (BE) Değerlendirilmesi İçin Yapılan Testler ve Sonuçlarının Değerlendirilmesi**

Lokal olarak etkili bir burun spreyi formülasyonu için etkin maddenin amaçlanan etki bölgesine verilmesi ile sistemik dolaşımdaki etkin madde arasındaki ilişki tam olarak kurulmamıştır. Bu nedenle, test ve referans olarak listelenen ürün arasında kan veya plazmadaki ilaç absorpsiyonunu basitçe karşılaştırarak lokal etki için nazal sprey

ürünlerinin BE'sini belirlemek şu anda yeterli değildir. Nazal Aerosoller ve Lokal Etkili için Nazal Spreyler için Biyoyararlanım ve Biyoeşdeğerlik Çalışmalarına ilişkin 2003 FDA Taslak Kılavuzuna göre bir nazal sprej solüsyon ürününün biyoeşdeğerliği, bir dizi in vitro test ile belirlenebilmektedir (Norwood ve ark., 2008).

Biyoeşdeğerlik testi, jenerik ilaçların geliştirilmesi sırasında önemli bir adımdır. Resmî kurumlar, bu adımı çerçevelemek için öneriler ve yönergeler hazırlamışlar, ancak bir fikir birliğine ulaşamamışlardır. Coğrafi bölgeye bağlı olarak farklı metodolojiler uygulanmaktadır. Avrupa Birliği'nde EMA ortalama biyoeşdeğerlik testinin (ABE) kullanılmasını tavsiye ederken, ABD'de FDA popülasyon biyoeşdeğerliği (PBE) testinin kullanılmasını önermektedir. Tez çalışmamızda tüm testler için iki istatistiksel yöntem hesabı kullanılarak in-vitro biyoeşdeğerlilik kabul kriterleri sağlanmıştır. Bu iki yöntem için;

PBE metodolojisi, FDA budesonid bireysel biyoeşdeğerlik kılavuzunda açıklanan hesaplamadır. Temel olarak, hesaplama, kabul limitlerini ölçeklendirmek için referans formülasyonun değişkenliğini hesaba katar. 0'ın altındaki bir  $H_n$  değeri sınırı, benzerlik göstermektedir (Nandakumar ve ark., 2009).

ABE hesaplama metodolojisi EMA kılavuzuna dayanmaktadır, faktör olarak ürün tipi (test veya referans) ile bir ANOVA'ya dayanmaktadır ve artık varyansa dayalı olarak %90 CI hesaplanmaktadır. Limitler sabit olup 0,9000-1,1111 şeklindedir göstermektedir (Nandakumar ve ark., 2009).

Test ve referans ürün arasındaki eşdeğerliği göstermek için aşağıdaki in vitro testler yapılmıştır. Test sonuçları istatistiksel olarak ABE ve PBE yöntemleri ile hesaplanmıştır. Hesaplamalar bulgular kısmında bir test için ayrı ayrı sunulmuştur.

Bölüm 3.8.1'de verilen ürün kabı kullanım süresince tek bir aktivasyon içeriğinin değerlendirildiği çalışmada ABE ve PBE istatistiksel hesaplamaları Çizelge 3.38'de verilmiştir.

PBE metodolojisi, FDA budesonid bireysel biyoeşdeğerlik kılavuzunda açıklanmıştır. Süspansiyon formunda inhalasyon ürünün klavuzu PBE hesaplamalarına ışık tutmuştur. Temel olarak, hesaplama, kabul limitlerini ölçeklendirmek için referans formülasyonun değişkenliğini hesaba katar. Hn değeri 0'ın altında bulunduğu takdirde test ve referansın benzer olduğu kanıtlanmış olur. PBE hesaplaması, başlangıç ve bitiş sprey sonuçlarıyla hesaplanır. ABE metodolojisi %90 CI temel alır, limitler sabit olup 0,9000-1,1111 şeklindedir. Her iki metodoloji için sonuçlar biyoeşdeğer bulunmuştur.

Bölüm 3.8.2'de verilen lazer kırınımı (DSD) ile damlacık büyüklüğü dağılımının değerlendirildiği çalışmada ABE ve PBE istatistiksel hesaplamaları Çizelge 3.42, Çizelge 3.43, Çizelge 3.44 ve Çizelge 3.45'te verilmiştir. ABE ve PBE metodolojileri için yapılan hesaplamalarda test ve referans ürün biyoeşdeğer bulunmuştur.

Bölüm 3.8.3'te verilen partikül büyüklüğü dağılımı değerlendirildiği çalışmada, aerodinamik partikül boyut dağılımı ABE ve PBE istatistiksel hesaplamaları Çizelge 3.47'de verilmiştir. Her iki metodoloji için sonuçlar biyoeşdeğer çıkmıştır. Kullanılan bir başka yöntem Raman spektroskopisi için istatistiksel hesaplama yapılmamıştır.

Bölüm 3.8.4'te verilen sprey izi çalışmasında ABE ve PBE istatistiksel hesaplamaları Çizelge 3.50, Çizelge 3.51, Çizelge 3.52 ve Çizelge 3.53'te verilmiştir. ABE ve PBE metodolojileri için yapılan hesaplamalarda test ve referans ürün biyoeşdeğer bulunmuştur.

Bulut geometrisi analizi için FDA kılavuzu istatistiksel hesaplama talep etmemektedir (FDA 2003). Bu nedenle analiz sonuçları referans ürünle karşılaştırmalı olarak Çizelge 3.55'te verilmiştir. Kılavuz tek bir uzaklık sonucunu talep etmektedir (FDA, 2003). Tüm test ve referans ürünlerin 30 mm uzaklıkta analiz sonuçları benzerdir.

Bölüm 3.8.6’da verilen şişeden ilk püskürtme ve yeniden püskürtme değerlendirildiği çalışmada, ABE ve PBE istatistiksel hesaplamaları Çizelge 3.58, Çizelge 3.59 ve Çizelge 3.60’ta verilmiştir. ABE ve PBE metodolojileri için yapılan hesaplamalarda test ve referans ürün biyoeşdeğer bulunmuştur.

Bölüm 3.8.7’de verilen ambalaj ömrü sonunda spreylarin profillenmesi (tail off özellikleri) değerlendirildiği çalışma nazal speyler için, etiketli sprej sayısının verildiği noktadan sonra, daha fazla sprej mümkün olmayana kadar her bir sprej için SCU profillerinin belirlenmesini kapsamaktadır. Analiz sonuçları Çizelge 3.61 ve Çizelge 3.62’de verilmiştir. Tüm sonuçlar limitlere uygundur. Ambalaj ömrünün belirli noktalarında iletilen flutikazon furoat etkin madde miktarı hesaplanmıştır.

Bölüm 3.8.8’de verilen çalkalama gereksinimine ait analiz sonuçları Çizelge 3.63’te verilmiştir. Flutikazon furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon için hasta kullanımından hemen önce çalkalama yapılması gerekmektedir. Süre tespiti için 3s, 5s ve 10 sn çalkalama yapılan numuneler analizlenmiş ve her 3 koşulda da sonuçlar uygun gelmiştir. Hasta ilacı kullanmadan önce minimum 3 saniye çalkalamalıdır.

Bölüm 3.8.9’da verilen sıcaklık döngüsü sonrası performans testi nazal sprej süspansiyon ilaç ürünleri için, nakliye ve kullanım sırasında karşılaşılabilecek yüksek ve düşük sıcaklık değişimlerinin ilaç ürününün kalitesi ve performansı üzerindeki etkilerini değerlendirmek için bir stres sıcaklığı döngüsel çalışması yapılmıştır. Yapılan sıcaklık değişimlerine karşı ürün performansı sağlamıştır. Tüm sonuçlar uygun bulunmuştur. Depolama ve nakliye işlemlerinde dikkat edilecek hususlar konusunda bu bilgiden faydalanılacaktır.

Bölüm 3.8.10’da verilen sağlamlık çalışması ürünün hasta kullanımına ulaşmasındaki depolama ve nakliye sürelerini simüle etmektedir. Nakliye sırasında oluşabilecek stres koşullarına bağlı olarak iletilen doz tekdüzeliği, damlacık büyüklüğü gibi önemli test parametrelerinin etkilenip etkilenmediği kontrol edilmiştir. Farklı kilometrelere taşınan ürünlerimizde limit dışı bir sonuç elde edilmemiştir.

Başlangıç sonuçları serbest bırakma spesifikasyon limitlerine, 3000 km ve 6000 km sonuçları raf ömrü spesifikasyonlarına uygun bulunmuştur. Depolama ve nakliye işlemlerinde dikkat edilecek hususlar konusunda bu bilgiden faydalanılacaktır.

Bölüm 3.8.11’de verilen dozlama yönünün etkisi çalışmasında çeşitli dozlama yönelimlerinde iletilen doz içerik tekdüzeliği ve damlacık boyutu dağılımı açısından cihazların karşılaştırmalı performansını belirlemek için yapılmıştır. Hasta kullanımında 45°’lik açı uygun bulunmuştur.

Bölüm 3.8.12’de verilen yoğunluk sonuçlarının değerlendirildiği çalışmada, ABE ve PBE istatistiksel hesaplamaları Çizelge 3.74’te verilmiştir. Fizikokimyasal özellikleri dahilinde yoğunluğun referans ürün ile benzerliği kritiktir. Yoğunluk viskozite, damlacık büyüklüğü gibi diğer analizlerin sonuçlarını etkilemektedir. Bununla birlikte nazal kavitede kalış süresinde etkilidir. Yapılan testlerde 3 seri test ürün ile 3 seri referans ürün analiz sonucu tüm serilerde 1.02 g/mL gelmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde ABE ve PBE metodolojileri için test ve referans ürün biyoeşdeğer bulunmuştur.

Bölüm 3.8.13’te verilen viskozite sonuçlarının değerlendirildiği çalışmada, ABE ve PBE istatistiksel hesaplamaları Çizelge 3.75’te verilmiştir. Fizikokimyasal özellikleri dahilinde viskozite de yoğunluk gibi referans ürün ile benzerliği için kritiktir. Viskozite, damlacık büyüklüğü, partikül büyüklüğü gibi diğer analizlerin sonuçlarını etkilemektedir. Bununla birlikte nazal kavitede kalış süresinde temel özelliktir. Referans ürün tiksotropik akış göstermektedir. Geliştirme çalışmaları yapılan test üründe de bu özellik sağlanmıştır ve viskozite benzerliği hedeflenmiştir. ABE ve PBE metodolojileri için yapılan hesaplamalarda test ve referans ürün biyoeşdeğer bulunmuştur.

Bölüm 3.8.14’te verilen osmolalite sonuçlarının değerlendirildiği çalışmada, ABE ve PBE istatistiksel hesaplamaları Çizelge 3.78’de verilmiştir ABE ve PBE

metodolojileri için yapılan hesaplamalarda test ve referans ürün biyoeşdeğer bulunmuştur.

Bölüm 3.8.15'te verilen pH sonuçlarının değerlendirildiği çalışmada, ABE ve PBE istatistiksel hesaplamaları Çizelge 3.80'de verilmiştir. Nazal pH'ya uygun olacak ve referans ürün ile benzer pH özelliği gösterecek şekilde geliştirme çalışmaları yapılmıştır. Nazal pH 5.5-6.5 aralığında; geliştirilen test ürün ortalama sonuçları 6.2 bulunarak bu aralıktadır. Bununla birlikte ABE ve PBE metodolojileri için yapılan hesaplamalarda test ve referans ürün biyoeşdeğer bulunmuştur.

Test ve referans ürün analiz sonuçlarının ABE ve PBE istatistiksel hesaplamaları sonucu referans ürün ile in vitro biyoeşdeğer olduğu sonucu elde edilmiştir. Li ve ark.larının 2013 yılında yayınladıkları bir derlemede lokal etkili nazal sprey süspansiyonlarının biyoeşdeğerliliğini desteklemek için kanıt ağırlığı yaklaşımı sunmuşlardır. Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon bu kanıt ağırlığı yaklaşımına uygun geliştirilmiştir ve talep edilen tüm test parametrelerinde in vitro biyoeşdeğer çıkmıştır (Li ve ark., 2013)

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mevsimsel alerjik rinitin nazal ve oküler belirtilerinin tedavisinde endike ve yıl boyu devam eden semptomlarının tedavisinde kullanılmak üzere flutikazon furoat içeren burun spreyi ürünü kalite tasarımı yaklaşımı ile geliştirilmiş, geliştirilen üretim prosesi valide edilmiş ve geliştirilen formülasyonun kalite özellikleri değerlendirilmiştir. Tez çalışmamızda, yüksek topikal potansiyele ve düşük sistemik etki potansiyeline sahip olan flutikazon furoat etkin maddesinin Türk hekim ve hastalarının kullanımına sunulması amaçlanmıştır. İlacın kullanıma sunulması ile alerjik rinit hastalarımızın ihtiyaçlarının karşılanması hedeflenmektedir. Ürünün kendi imkanlarımız ile geliştirilip piyasa sunulması da ekonomik ve lojistik olarak hastaların ilaca ulaşımını kolaylaştıracaktır. Tez çalışması kapsamında;

Süspansiyon formunda nazal sprey formülasyonun geliştirme çalışmalarında kullanılan istatistiksel yöntem QbD, temel formülasyon birleşenlerinin etkilerini ve üretim proses parametrelerinin etkilerini oldukça detaylı bir şekilde ortaya çıkarmaktadır. Edinilen bilgiler ışığında sağlam ve tekrarlanabilir bir üretim yöntemi elde edilmiş olup, ölçek büyütme çalışmalarında edinilen bilgilerle başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Yeni ilaç formülasyon geliştirme çalışmalarında kalite tasarımlarının kullanılması önem arz etmektedir.

Formülasyon geliştirme çalışmalarında kullanılan formülasyon bileşenlerinin yapılarının aydınlatılması önemlidir. Flutikazon Furoat 27,5 µg Burun Spreyi, Süspansiyon ürününde bulunan Avicel RC-591 bileşimi formülasyonun tiksotropik yapısını oluşturmuştur. Avicel RC-591 bileşiminin kullanım oranı ürün viskozitesini etkilemektedir. Bu yardımcı maddenin partikül büyüklüğü kritik materyal özelliği olarak belirlenmiştir.

Bitmiş üründe görünen tiksotropinin yapısının aydınlatılması, ölçüm metodunun geliştirilmesi ve metodun validasyonu geliştirme çalışmalarında kritik nokta olmuştur.

İn vitro benzerlik sağlanmasında viskozite benzerliği de istenmekte ve bu noktada doğru ölçüm metodunun kullanıldığından emin olunmalıdır.

Formülasyonda kullanılan işlem parametreleri üretim seri boyuna göre değişmektedir. Laboratuvar ölçekli yapılan deneme çalışmaları ve ölçek büyütme üretimlerinde kullanılan parametreler farklılık göstermektedir. Yapılan çalışmalarda üretim seri boyutuna göre belirlenen parametrelerin tekrarlı üretimlerle güvenilirliği sağlanmıştır.

Nazal sprey formülasyonlarında ürün bileşiminin formülasyonu yanısıra kullanılan primer ambalajın ve pompa sisteminin önemi çok büyüktür. Sprey davranışın belirleyicisi pompanın ve pompa özelliklerinin seçimi için prototip formüller pompa tedarikçisi iş birliği ile denenmiş ve referans alınan ürün ile benzer sprey özellikleri (atım miktarı, sprey izi, tüy geometrisi, damlacık büyüklüğü vs.) gösteren pompa seçilmiştir. Daha sonra bu pompa ile 3 seri validasyon ürünü farmasötik geliştirme testlerine tabi tutulmuş ve kontrol edilmiştir. Tüm sonuçlar uygun ve referans ürüne benzer gelmiştir.

Nazal formülasyonların geliştirilmesinde uluslararası geçerlilik sağlayan kılavuzlar kullanılmıştır. EMA ve FDA kılavuzlarında belirtilen tüm gereklilikler yerine getirilmiştir.

Bu çalışmanın sonucunda hemen hasta kullanımına hazır olan ve ruhsatlandırmaya uygun, orijinal ürüne eşdeğer i.n. uygulama için süspansiyon formunda bir ilaç formülasyonu başarıyla gerçekleştirilmiştir.

## ÖZET

### **Alerjik Rinit Tedavisine Yönelik Kortikosteroid İçeren Nazal Sprey Dozaj Formlarının Kalite Tasarımı Yaklaşımı İle Formülasyonlarının Geliştirilmesi Ve Kalite Özelliklerinin Değerlendirilmesi**

Nazal yol, genellikle gastrointestinal kanalda metabolize olan veya karaciğerde ilk geçiş etkisine uğradığı için oral yolla kullanılamayan sistemik etkili ilaçların organizmaya verilebilmesi için alternatif bir yol olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda pek çok etkin maddenin nazal yol ile verilmesi için yapılan geliştirme çalışmaları artmıştır.

Nazal yolla kullanılan dozaj formları için ürünü karakterize etmek formülasyon geliştirme açısından oldukça zordur. Nazal dozaj formlarının karakterizasyon testleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Avrupa İlaç Ajansı (EMA) gibi çeşitli düzenleyici kurumlar tarafından değerlendirilmiştir. Nazal formda ürünlerin karakterizasyonu için in vitro test yöntemleri öneren bir dizi kılavuz ve yönetmelik yayınlamıştır. Bu nedenle karakterizasyon çalışmalarının yapılması gereklidir.

İlacın nazal mukoza zarında kalma süresi artırılarak, etkin maddenin emiliminin de etkinliği artırılabilir. Yaygın bir yaklaşım, viskozite artırıcı maddelerin ilavesiyle formülasyonun viskozitesini artırmak ve bu şekilde nazal kavitede kalış süresini uzatmaktır. Öte yandan, viskozitenin artırılması, damlacık boyutu dağılımını etkilemekte ve burun boşluğunda değişen miktarlarda birikim ile sonuçlanmaktadır. Bu nedenle, özel uygulama için doğru viskozite ve damlacık boyutu dağılımını bulmak ve ayarlamak çok önemlidir. Bu çalışmada alerjik rinit tedavisi için kortikosteroid bir etkin madde içeren nazal sprej formülasyonunun geliştirilmesi amaçlanmıştır. Formülasyon geliştirilmesinde kalite tasarımı (Quality by Design - QbD) kapsamında istatistiksel bir deneysel tasarım uygulanmıştır. Optimum üretim ve proses parametreleri belirlenecek ve sonuç formülasyonun ölçek büyütme çalışmaları yürütülmüştür. Geliştirilen nihai formülasyonun tüm kalite özellikleri test edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda hemen hasta kullanımına hazır olan ve ruhsatlandırmaya uygun, orijinal ürüne eşdeğer i.n. uygulama için süspansiyon formunda bir ilaç formülasyonu başarıyla gerçekleştirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Avicel RC 591, Damlacık Boyutu Dağılımı, Kalite Tasarımı, Nazal Sprej , Optimizasyon, Viskozite

## SUMMARY

### **Developing Formulations and Evaluation of Quality Characteristics of Nasal Spray Dosage Forms Containing Corticosteroids for Allergic Rhinitis Treatment with Quality Design Approach**

The nasal route is used as an alternative route to administer systemic drugs to the organism, which are generally metabolized in the gastrointestinal tract or cannot be administered orally because they have a first-pass effect in the liver. Recently, development studies for nasal delivery of many active substances have increased.

For nasal dosage forms, it is very difficult to characterize the product in terms of formulation development. Characterization tests of nasal dosage forms have been evaluated by various regulatory agencies such as the Food and Drug Administration (FDA) and the European Medicines Agency (EMA). It has published a series of guidelines and regulations recommending in vitro test methods for the characterization of products in nasal form. Therefore, characterization studies are required.

By increasing the residence time of the drug on the nasal mucous membrane, the efficiency of absorption of the active substance can also be increased. A common approach is to increase the viscosity of the formulation by adding viscosity-increasing agents, thereby prolonging the residence time in the nasal cavity. On the other hand, increasing the viscosity affects the droplet size distribution and results in varying amounts of deposition in the nasal cavity. Therefore, it is very important to find and adjust the correct viscosity and droplet size distribution for the specific application. In this study, it was aimed to develop a nasal spray formulation containing a corticosteroid active ingredient for the treatment of allergic rhinitis. In the formulation development, a statistical experimental design was applied within the scope of Quality by Design (QbD). Optimum production and process parameters were determined and scale-up studies of the final formulation was carried out. All quality characteristics of the final formulation developed was tested. As a result of this study, i.n. product equivalent to the original product, ready for immediate patient use and suitable for registration. A drug formulation in suspension form for administration has been successfully carried out.

**Keywords:** Avicel RC 591, Droplet Size Distribution, Nasal Spray, Optimization, Quality by Design, Viscosity

## KAYNAKLAR

- APPASAHEB, P. S., MANOHAR, S. D., BHANUDAS, S. R., & ANJANERI, N. (2013). A review on intranasal drug delivery system. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research Oct-Dec*, 3(4).
- AURORA, J. (2002). Development of nasal delivery systems: a review. *Drug Deliv Technol*, 2(7), 1-8.
- ANOLIK, R. (2010). Fluticasone furoate nasal spray: Profile of an enhanced-affinity corticosteroid in treatment of seasonal allergic rhinitis. *Journal of Asthma and Allergy*, 3, 87.
- BENNINGER, M. S., AHMAD, N., & MARPLE, B. F. (2003). The safety of intranasal steroids. *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*, 129(6), 739-750.
- BEULE, A. G. (2010). Physiology and pathophysiology of respiratory mucosa of the nose and the paranasal sinuses. *GMS Current Topics in Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery*, 9.
- BHISE, S. B., YADAV, A. V., AVACHAT, A. M., & MALAYANDI, R. (2008). Bioavailability of intranasal drug delivery system. *Asian Journal of Pharmaceutics (AJP)*, 2(4).
- BIGGADIKE, K. (2011). Fluticasone furoate/fluticasone propionate—different drugs with different properties. *The Clinical Respiratory Journal*, 5(3), 183.
- BITTER, C., SUTER-ZIMMERMANN, K., & SURBER, C. (2011). Nasal drug delivery in humans. *Topical Applications and the Mucosa*, 40, 20-35.
- BODIN, J., LIANDRAT, S., KOCEVAR, G., & PETITCOLAS, C. (2020). Between-Batch Bioequivalence (BBE): a Statistical Test to Evaluate In Vitro Bioequivalence Considering the Between-Batch Variability. *The AAPS Journal*, 22(5), 1-19.
- BOUSQUET, J., ANTO, J. M., BACHERT, C., BAIARDINI, I., BOSNIC-ANTICEVICH, S., WALTER CANONICA, G., ... & TOPPILA-SALMI, S. (2020). Allergic rhinitis. *Nature Reviews Disease Primers*, 6(1), 1-17.
- CENSI, R., & DI MARTINO, P. (2015). Polymorph impact on the bioavailability and stability of poorly soluble drugs. *Molecules*, 20(10), 18759-18776.
- CHAUDRY, I. (2011). *U.S. Patent No. 7,972,626*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- CHHAJED, S., SANGALE, S., & BARHATE, S. D. (2011). Advantageous nasal drug delivery system: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(6), 1322.

- CHRISTEN, A. G., SWANSON, B. Z., GLOVER, E. D., & HENDERSON, A. H. (1982). Smokeless tobacco: the folklore and social history of snuffing, sneezing, dipping, and chewing. *The Journal of the American Dental Association*, **105**(5), 821-829.
- DJUPESLAND, P. G. (2013). Nasal drug delivery devices: characteristics and performance in a clinical perspective—a review. *Drug Delivery and Translational Research*, **3**(1), 42-62.
- EHRICK, J. D., SHAH, S. A., SHAW, C., KULKARNI, V. S., COOWANITWONG, I., DE, S., & SUMAN, J. D. (2013). Considerations for the development of nasal dosage forms. In *Sterile Product Development* (pp. 99-144). Springer, New York, NY.
- EMA-EUROPEAN MEDICINES AGENCY (2006). Guideline On the Pharmaceutical Quality of Inhalation and Nasal Products. Erişim adresi: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-pharmaceutical-quality-inhalation-nasal-products\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-pharmaceutical-quality-inhalation-nasal-products_en.pdf). Son erişim tarihi:30/06/2022
- EP-EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2022). Absorption Spectrophotometry, Infrared. *European Pharmacopoeia 10.7th edition, Strasbourg*, 2.2.24, 4753-4757.
- EP-EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2022). Characterisation of Crystalline and Partially Crystalline Solids by X-Ray Powder Diffraction (XRPD). *European Pharmacopoeia 10.7th Edition, Strasbourg*, 2.9.33, 5998-6002.
- EP-EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2022). Loss on Drying. *European Pharmacopoeia 10.7th Edition, Strasbourg*, 2.2.3, 24-25.
- EP-EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2022). Loss on Drying. *European Pharmacopoeia 10.7th Edition, Strasbourg*, 2.2.32, 57.
- EP-EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2022). Nasal Preparations. *European Pharmacopoeia 10.7th Edition, Strasbourg*, 0676, 4823-4825.
- EP-EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2022). Osmolality. *European Pharmacopoeia 10.7th Edition, Strasbourg*, 2.2.35, 63-64.
- EP-EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2022). Particle Size Analysis by Laser Light Diffraction. *European Pharmacopoeia 10.7th Edition, Strasbourg*, 2.9.31, 373-377.
- EP-EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2022). Relative Density. *European Pharmacopoeia 10.7th Edition, Strasbourg*, 2.2.5, 25-26.
- EP-EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2022). Sulfated Ash. *European Pharmacopoeia 10.7th Edition, Strasbourg*, 2.4.14, 142.
- EP-EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2022). Uniformity of Dosage Units. *European Pharmacopoeia 10.7th Edition, Strasbourg*, 2.9.40, 398-400.
- EP-EUROPEAN PHARMACOPOEIA (2022). Viscosity - Rotating Viscometer Method. *European Pharmacopoeia 10.7th Edition, Strasbourg*, 2.2.10, 28-30.
- FDA-FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (2013) Draft guidance on budesonide inhalation suspension. Erişim Adresi:

[<http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm081288.htm>]. Erişim Tarihi: 26/042013

- FDA-FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (2003). *Guidance for Industry Bioavailability and Bioequivalence Studies for Nasal Aerosols and Nasal Sprays for Local Action*. Erişim adresi: [<https://www.fda.gov/media/70867/download>]. Erişim Tarihi:30/06/2022.
- FOKKENS, W. J., JOGI, R., REINARTZ, S., SIDORENKO, I., SITKAUSKIENE, B., VAN OENE, C., & CALDWELL, M. F. (2007). Once daily fluticasone furoate nasal spray is effective in seasonal allergic rhinitis caused by grass pollen. *Allergy*, **62**(9), 1078-1084.
- FOO, M. Y., CHENG, Y. S., SU, W. C., & DONOVAN, M. D. (2007). The influence of spray properties on intranasal deposition. *Journal of Aerosol Medicine*, **20**(4), 495-508.
- FURUBAYASHI, T., INOUE, D., KAMAGUCHI, A., HIGASHI, Y., & SAKANE, T. (2007). Influence of formulation viscosity on drug absorption following nasal application in rats. *Drug metabolism and pharmacokinetics*, **22**(3), 206-211.
- GHADIRI, M., YOUNG, P. M., & TRAINI, D. (2019). Strategies to enhance drug absorption via nasal and pulmonary routes. *Pharmaceutics*, **11**(3), 113.
- GIAVINA-BIANCHI, P., AGONDI, R., STELMACH, R., CUKIER, A., & KALIL, J. (2008). Fluticasone furoate nasal spray in the treatment of allergic rhinitis. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, **4**(2), 465.
- GRASSIN-DELYLE, S., BUENESTADO, A., NALINE, E., FAISY, C., BLOUQUIT-LAYE, S., COUDERC, L. J., ... & DEVILLIER, P. (2012). Intranasal drug delivery: an efficient and non-invasive route for systemic administration: focus on opioids. *Pharmacology & therapeutics*, **134**(3), 366-379.
- HODGES, N. A., DENYER, S. P., HANLON, G. W., & REYNOLDS, J. P. (1996). Preservative efficacy tests in formulated nasal products: reproducibility and factors affecting preservative activity. *Journal of pharmacy and pharmacology*, **48**(12), 1237-1242.
- HOMER, J. J., & RAINE, C. H. (1998). An endoscopic photographic comparison of nasal drug delivery by aqueous spray. *Clinical Otolaryngology & Allied Sciences*, **23**(6), 560-563.
- HOYTE, F. C., & NELSON, H. S. (2018). Recent advances in allergic rhinitis [version 1; referees: 2].
- HUSSEIN, N. R., OMER, H. K., ELHISSI, A. M., & AHMED, W. (2020). Advances in nasal drug delivery systems. In *Advances in Medical and Surgical Engineering* (pp. 279-311). Academic Press.
- ILLUM, L. (2002). Nasal drug delivery: new developments and strategies. *Drug discovery today*, **7**(23), 1184-1189.

- ILLUM, L. (2000). Transport of drugs from the nasal cavity to the central nervous system. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **11**(1), 1-18.
- ILLUM, L. (2003). Nasal drug delivery—possibilities, problems and solutions. *Journal of Controlled Release*, **87**(1-3), 187-198.
- INGEMANN, M. E. T. T. E., FROKJAER, S. V. E. N., HOVGAARD, L. A. R. S., & BRØNDSTED, H. E. L. L. E. (2000). Peptide and protein drug delivery systems for non-parenteral routes of administration. *Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins*, 189.
- INTERNATIONAL CENTER OF HARMONIZATION. "Guidance for Industry Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology". 188 Erişim adresi: [[https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b_en.pdf)]. Erişim Tarihi:30/06/2022.
- INTERNATIONAL CENTER OF HARMONIZATION. Topic Q 2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, NOTE FOR GUIDANCE ON VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: TEXT AND METHODOLOGY (CPMP/ICH/381/95), (June/ 1995).
- INTERNATIONAL CENTER OF HARMONIZATION. ICH Topic Q 3 A (R2) Impurities in new Drug Substances: NOTE FOR GUIDANCE ON IMPURITIES TESTING: IMPURITIES IN NEW DRUG SUBSTANCES (CPMP/ICH/2737/99), (October 2006).
- INTERNATIONAL CENTER OF HARMONIZATION. ICH guideline Q9 on quality risk management". Erişim adresi: [[https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use\\_en-3.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use_en-3.pdf)]. Son erişim tarihi:30/06/2022.
- INTERNATIONAL CENTER OF HARMONIZATION. "Guidance for Industry Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology". 188 Erişim adresi: [[https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b_en.pdf)]. Erişim Tarihi: 30/06/2022.
- INTERNATIONAL CENTER OF HARMONIZATION. 'Note For Guidance on Stability Testing: Stability Testing of New Drug Substances and Products". Erişim adresi: [[https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-1-r2-stability-testing-new-drug-substances-products-step-5\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-1-r2-stability-testing-new-drug-substances-products-step-5_en.pdf)]. Erişim Tarihi:30/06/2022.
- JADHAV, K. R., GAMBHIRE, M. N., SHAIKH, I. M., KADAM, V. J., & PISAL, S. S. (2007). Nasal drug delivery system-factors affecting and applications. *Current Drug Therapy*, **2**(1), 27-38.
- JASSIM, Z. E., & AL-AKKAM, E. J. (2018). A review on strategies for improving nasal drug delivery systems. *Drug Invention Today*, 10.
- KAO, H. D., TRABOULSI, A., ITOH, S., DITTERT, L., & HUSSAIN, A. (2000). Enhancement of the systemic and CNS specific delivery of L-dopa by the nasal administration of its water-soluble prodrugs. *Pharmaceutical Research*, **17**(8), 978-984.

- KEITH. (2011) "Fluticasone furoate/fluticasone propionate—different drugs with different properties." *The Clinical Respiratory Journal* 5.3: 183.
- KOLLING, WILLIAM M. (2004) "Handbook of pharmaceutical excipients." *American Journal of Pharmaceutical Education* **68**.1-5 BF1.
- KOZMINSKI, M., & KUPCZYK, M. (2015). Thixotropy of nasal medications—its role in clinical practice. *Advances in Respiratory Medicine*, **83**(2), 157-163.
- KRISHNAMOORTHY R, ASHIM K. MITRA. (1998) Prodrugs for nasal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*; **29**: 135–146.
- KUMAR, A., PANDEY, A. N., & JAIN, S. K. (2016). Nasal-nanotechnology: revolution for efficient therapeutics delivery. *Drug Delivery*, **23**(3), 671-683.
- KUNDOOR, V., & DALBY, R. N. (2011). Effect of formulation-and administration-related variables on deposition pattern of nasal spray pumps evaluated using a nasal cast. *Pharmaceutical Research*, **28**(8), 1895-1904.
- KUSHWAHA, S. K., KESHARI, R. K., & RAI, A. K. (2011). Advances in nasal trans-mucosal drug delivery. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, (Issue), 21-28.
- LAFFLEUR, F., & BAUER, B. (2021). Progress in nasal drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*, **607**, 120994.
- LAFORCE, C. (1999). Use of nasal steroids in managing allergic rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **103**(3), S388-S394.
- LEVIN, M. (ED.). (2001). *Pharmaceutical Process Scale-Up*. CRC Press.
- LI, B., & REN, K. A Stepwise Procedure for Population Bioequivalence (PBE) Analysis of Orally Inhaled and Nasal Drug Product (OINDP) Bioequivalence Studies. 04 Oct 2011. GPhA. In *FDA 2011 Fall Technical Conference*.
- LI, B. V., JIN, F., LEE, S. L., BAI, T., CHOWDHURY, B., CARAMENICO, H. T., & CONNER, D. P. (2013). Bioequivalence for locally acting nasal spray and nasal aerosol products: standard development and generic approval. *The AAPS journal*, **15**(3), 875-883.
- MACDONALD, P. L., ROSSETTO, P., KOVACSNE-MEZEI, A., GABRIEL, R., JEGOROV, A., & FAUSTMANN, J. (2012). *U.S. Patent No. 8,148,353*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- MARPLE, B., ROLAND, P., & BENNINGER, M. (2004). Safety review of benzalkonium chloride used as a preservative in intranasal solutions: an overview of conflicting data and opinions. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, **130**(1), 131-141.
- MARTTIN, E., SCHIPPER, N. G., VERHOEF, J. C., & MERKUS, F. W. (1998). Nasal mucociliary clearance as a factor in nasal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **29**(1-2), 13-38.

- MARX, D., WILLIAMS, G., & BIRKHOFF, M. (2015). Intranasal drug administration—an attractive delivery route for some drugs. *Drug Discov Dev*, 299-320.
- MISTRY, A., STOLNIK, S., & ILLUM, L. (2009). Nanoparticles for direct nose-to-brain delivery of drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, **379**(1), 146-157.
- MUNOZ-CERNADA, A., FERNANDEZ-CERVERA, M., & GARCIA-RODRIGUEZ, J. C. (2013). Factors involved in the design of nasal delivery systems for peptides and proteins. *Biotecnología Aplicada*, **30**(2), 79-96.
- NANDAKUMAR, S. P. (2009). *Statistical procedures for bioequivalence analysis*. Western Michigan University.
- National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 9854489, Fluticasone furoate. Retrieved June 25, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fluticasone-furoate>.
- NEWMAN, S. P., STEED, K. P., HARDY, J. G., WILDING, I. R., HOOPER, G., & SPARROW, R. A. (1994). The distribution of an intranasal insulin formulation in healthy volunteers: effect of different administration techniques. *Journal of pharmacy and pharmacology*, **46**(8), 657-660.
- OHWAKI, T., ANDO, H., WATANABE, S., & MIYAKE, Y. (1985). Effects of dose, pH, and osmolarity on nasal absorption of secretin in rats. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **74**(5), 550-552.
- OLSON, J., (2008). Nose to brain is a promising path in Alzheimer's fight. Erişim Adresi: [[http://www.twincities.com/health/ci\\_8160098](http://www.twincities.com/health/ci_8160098)]. Erişim Tarihi: 03/03/14.
- OZKAN Y., TAS C., OZKAN C.K., BAYRAK Z., ESİM O., OZKAN S. (03/2011). İlaçların Analiz ve Kalite Kontrollerinde Kullanılan Analitik Yöntemlerin Geçerliliği (Validasyon). Gülhane Askeri Tıp Akademisi, 87.
- OZSOY, Y., GUNGOR, S., & CEVHER, E. (2009). Nasal delivery of high molecular weight drugs. *Molecules*, **14**(9), 3754-3779.
- PENDERGRASS, P. B., BELOVICZ, M. W., & REEVES, C. A. (2003). Surface area of the human vagina as measured from vinyl polysiloxane casts. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, **55**(2), 110-113.
- PENNINGTON, A. K., RATCLIFFE, J. H., WILSON, C. G., & HARDY, J. G. (1988). The influence of solution viscosity on nasal spray deposition and clearance. *International Journal of Pharmaceutics*, **43**(3), 221-224.
- PIRES, A., FORTUNA, A., ALVES, G., & FALCÃO, A. (2009). Intranasal drug delivery: how, why and what for? *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, **12**(3), 288-311.
- RABINOWICZ, A. L., CARRAZANA, E., & MAGGIO, E. T. (2021). Improvement of Intranasal Drug Delivery with Intravail® Alkylsaccharide Excipient as a Mucosal

- Absorption Enhancer Aiding in the Treatment of Conditions of the Central Nervous System. *Drugs in R&D*, **21**(4), 361-369.
- ROGERS, D. F. (2007). Physiology of airway mucus secretion and pathophysiology of hypersecretion. *Respiratory Care*, **52**(9), 1134-1149.
- ROTH, Y., CHAPNIK, J. S., & COLE, P. (2003). Feasibility of aerosol vaccination in humans. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*, **112**(3), 264-270.
- SABALE, A. S., KULKARNI, A. D., & SABALE, A. S. (2020). Nasal in situ gel: Novel approach for nasal drug delivery. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, **10**(2), 183-197.
- SAINDANE, N. S., PAGAR, K. P., & VAVIA, P. R. (2013). Nanosuspension based in situ gelling nasal spray of carvedilol: development, in vitro and in vivo characterization. *Aaps Pharmscitech*, **14**(1), 189-199.
- SALADE, L., WAUTHOZ, N., GOOLE, J., & AMIGHI, K. (2019). How to characterize a nasal product. The state of the art of in vitro and ex vivo specific methods. *International Journal of Pharmaceutics*, **561**, 47-65.
- SAXENA, C., ARORA, K., & CHAURASIA, L. (2019). Importance of different novel nasal drug delivery system—A review. *Int. J. Pharm. Clin. Res*, **11**, 13-19.
- SEATON, A., GODDEN, D., MACNEE, W., & DONALDSON, K. (1995). Particulate air pollution and acute health effects. *The Lancet*, **345**(8943), 176-178.
- SHABIR, G. A. (2004). A practical approach to validation of HPLC methods under current good manufacturing practices. *Journal of Validation Technology*, **10**, 210-218.
- SHARPE, S. A., SANDWEISS, V., TUAZON, J., GIORDANO, M., WITCHEY-LAKSHMANAN, L., HART, J., & SEQUEIRA, J. (2003). Comparison of the flow properties of aqueous suspension corticosteroid nasal sprays under differing sampling conditions. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **29**(9), 1005-1012.
- SCHUIRMANN, D. J. (1987). A comparison of the two one-sided tests procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability. *Journal Of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, **15**(6), 657-680.
- SMALL, P., & KIM, H. (2011). Allergic rhinitis. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, **7**(1), 1-8.
- SOBOTTA, J., PAULSEN, F., WASCHKE, J., KLONISCH, T., & HOMBACH-KLONISCH, S. (2011). *Sobotta Atlas of Human Anatomy: Head, Neck, and Neuroanatomy*. Elsevier/Urban & Fischer.
- STRUß, N., BADORREK, P., MATTERN, C., MATTERN, U., & HOHLFELD, J. M. (2020). The Effect of a Thixotropic Nasal Gel on Nasal Symptoms and Inflammatory Biomarkers in Seasonal Allergic Rhinitis. *International Archives of Allergy and Immunology*, **181**(5), 385-394.

- SUR, D. K., & SCANDALE, S. (2010). Treatment of allergic rhinitis. *American Family Physician*, **81**(12), 1440-1446.
- SUZUKI, Y., & MAKINO, Y. (1999). Mucosal drug delivery using cellulose derivatives as a functional polymer. *Journal of Controlled Release*, **62**(1-2), 101-107.
- THORAT, S. (2016). Formulation and product development of nasal spray: an overview. *Scholar's journal of applied medical sciences*, **4**(8D), 2976-2985.
- TOMAZIC, P. V., DARNHOFER, B., & BIRNER-GRUENBERGER, R. (2020). Nasal mucus proteome and its involvement in allergic rhinitis. *Expert Review of Proteomics*, **17**(3), 191-199.
- TROWS, S., WUCHNER, K., SPYCHER, R., & STECKEL, H. (2014). Analytical challenges and regulatory requirements for nasal drug products in Europe and the US. *Pharmaceutics*, **6**(2), 195-219.
- TURKER, SELCAN, ERTEN ONUR, AND YEKTA ÖZER. (2004) "Nasal route and drug delivery systems." *Pharmacy World and Science* **26**.3: 137-142.
- UGWOKE, M. I., AGU, R. U., VERBEKE, N., & KINGET, R. (2005). Nasal mucoadhesive drug delivery: background, applications, trends and future perspectives. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **57**(11), 1640-1665.
- UPADHYAY, S., PARIKH, A., JOSHI, P., UPADHYAY, U. M., & CHOTAI, N. P. (2011). Intranasal drug delivery system-A glimpse to become maestro. *Journal of applied pharmaceutical science*, (Issue), 34-44.
- USP-THE UNITED STATES PHARMACOPEIA (2022). Minimum Fill. The United States Pharmacopeia *USPNF 2022 Issue 1 United States Pharmacopeial Convention*. Rockville 2022.
- VANDEDONK, H. J. M. (1983). Nasal medication and ciliary movement. *Pharmaceutisch Weekblad-Scientific Edition*, **5**(1), 32-33.
- VERRET, D. J., & MARPLE, B. F. (2005). Effect of topical nasal steroid sprays on nasal mucosa and ciliary function. *Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery*, **13**(1), 14-18.
- VESSMAN, J., STEFAN, R. I., VAN STADEN, J. F., DANZER, K., LINDNER, W., BURNS, D. T., ... & MULLER, H. (2001). Selectivity in analytical chemistry (IUPAC Recommendations 2001). *Pure and Applied Chemistry*, **73**(8), 1381-1386.
- WADDELL, A. N., PATEL, S. K., TOMA, A. G., & MAW, A. R. (2003). Intranasal steroid sprays in the treatment of rhinitis: is one better than another? *The Journal of Laryngology & Otology*, **117**(11), 843-845.
- WEINER, J. M., ABRAMSON, M. J., & PUY, R. M. (1998). Intranasal corticosteroids versus oral H1 receptor antagonists in allergic rhinitis: systematic review of randomised controlled trials. *Bmj*, **317**(7173), 1624-1629.
- XU, J., TAO, J., & WANG, J. (2020). Design and application in delivery system of intranasal antidepressants. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **8**, 626882.

- ZAKI, N. M., AWAD, G. A., MORTADA, N. D., & ABD ELHADY, S. S. (2007). Enhanced bioavailability of metoclopramide HCl by intranasal administration of a mucoadhesive in situ gel with modulated rheological and mucociliary transport properties. *European journal of pharmaceutical sciences*, **32**(4-5), 296-307.
- ZHAO, G. H., KAPUR, N., CARLIN, B., SELINGER, E., & GUTHRIE, J. T. (2011). Characterisation of the interactive properties of microcrystalline cellulose–carboxymethyl cellulose hydrogels. *International Journal of Pharmaceutics*, **415**(1-2), 95-101.

