

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

Tez Yöneticisi  
Dr. Öğr. Üyesi Gülşah GEDİK

**KURU GÖZ HASTALIĞI TEDAVİSİNE YÖNELİK İNSERT  
FORMÜLASYONUNUN GELİŞTİRİLMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Merve Gül BİNİCİ**

EDİRNE-2023

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

Tez Yöneticisi  
Dr. Öğr. Üyesi Gülşah GEDİK

**KURU GÖZ HASTALIĞI TEDAVİSİNE YÖNELİK İNSERT  
FORMÜLASYONUNUN GELİŞTİRİLMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Merve Gül BİNİCİ**

EDİRNE-2023



## TEŞEKKÜR

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

## İÇİNDEKİLER

|                                 |     |
|---------------------------------|-----|
| GİRİŞ VE AMAÇ                   | 1   |
| GENEL BİLGİLER                  | 3   |
| GÖZ VE GÖZÜN YAPISI             | 3   |
| OKÜLER SİSTEMLER                | 10  |
| OKÜLER İNSERTLER                | 17  |
| KORNEA HASTALIKLARI             | 25  |
| SİKLOSPORİN                     | 36  |
| QbD- TASARIMLA KALİTE YAKLAŞIMI | 40  |
| GEREÇ VE YÖNTEMLER              | 46  |
| BULGULAR                        | 75  |
| TARTIŞMA                        | 98  |
| SONUÇLAR                        | 105 |
| ÖZET                            | 107 |
| SUMMARY                         | 109 |
| KAYNAKLAR                       | 111 |
| ŞEKİLLER LİSTESİ                | 121 |
| ÖZGEÇMİŞ                        | 125 |

## SİMGE VE KISALTMALAR

|                                    |                                                                           |
|------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| <b>ANN</b>                         | : Artificial Neural Network                                               |
| <b>BUT</b>                         | : Tear Break up Time                                                      |
| <b>CPP</b>                         | : Critical Proses Parameter                                               |
| <b>CPP</b>                         | : Kritik Proses Parametresi                                               |
| <b>CQA</b>                         | : Kritik Kalite Özelliği                                                  |
| <b>CTD</b>                         | : Common Technical Document                                               |
| <b>DEWS</b>                        | : International Dry Eye Workshop                                          |
| <b>DoE</b>                         | : Design of Experiment                                                    |
| <b>DSC</b>                         | : Differential Scanning Calotimetry                                       |
| <b>EMA</b>                         | : Europoean Medicines Agency                                              |
| <b>FDA</b>                         | : Food and Drug Administration                                            |
| <b>FT-IR</b>                       | : Fourier Transform Infrared Spectroscopy                                 |
| <b>H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub></b> | : Phosphoric acid                                                         |
| <b>HEMA</b>                        | : Etillmetakrilat                                                         |
| <b>HPLC</b>                        | : High Performance Liquid Chromatography                                  |
| <b>HSA</b>                         | : Human Serum Albumin                                                     |
| <b>ICH</b>                         | : The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements |
| <b>NMR</b>                         | : Nuclear Magnetic Resonance                                              |
| <b>NMR</b>                         | : Nuclear Magnetic Resonance                                              |
| <b>PAT</b>                         | : Proses Analitik Teknolojisi                                             |
| <b>PMMA</b>                        | : Poli Metil Metakrilat                                                   |
| <b>PMMA</b>                        | : Poli Metil Metakrilat                                                   |

**QbD** : Quality by Design  
**QTPP** : Quality Target Product Profile  
**SODI** : Soluble Ocular Drug Insert)  
**TPP** : Target Product Profile



## GİRİŞ VE AMAÇ

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

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

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

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

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

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

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

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

## GENEL BİLGİLER

### GÖZ VE GÖZÜN YAPISI

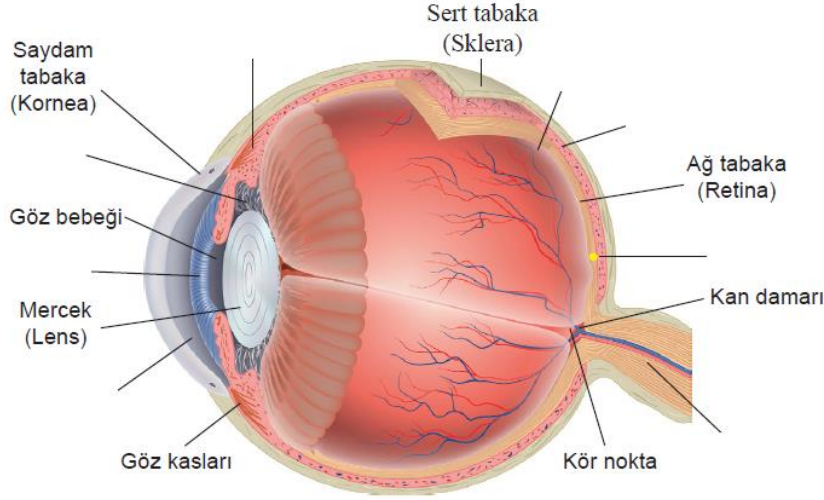
Göz, göz yuvarı (orbita) adı verilen kemikte koruyucu boşluk içerisinde bulunan ve birbirlerinin peşi sıra yerleştirilen farklı büyüklüklerdeki iki adet kürenin parçalarından meydana gelmiştir.

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

Göz anatomisi iki bölümden meydana gelir:

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

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



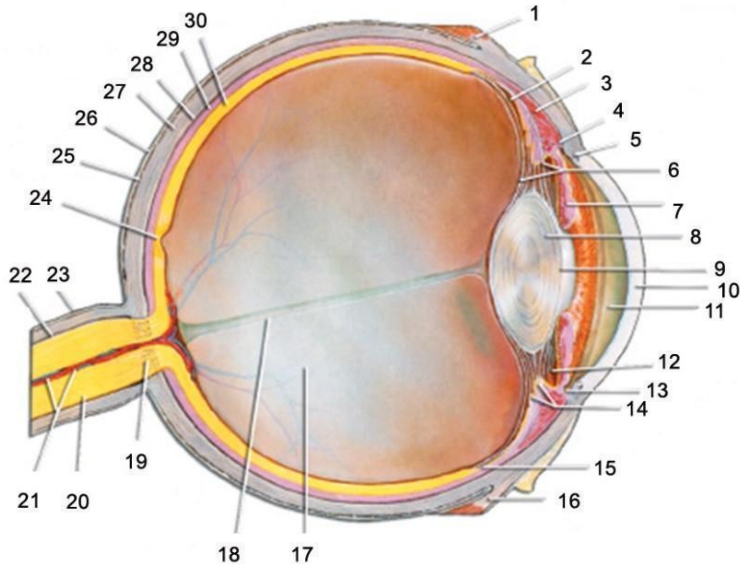
**Şekil 1. Gözün yapısı**

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

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

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

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



**Şekil 2. Gözün anatomik yapısı (6)**

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

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

### **Sklera**

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

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

### **Konjunktiva**

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

### **Aköz Hümör**

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

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

### **Pupil**

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

### **İris**

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

İris iki tabakadan oluşur.

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

### **Lens**

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

### **Vitröz Hümör**

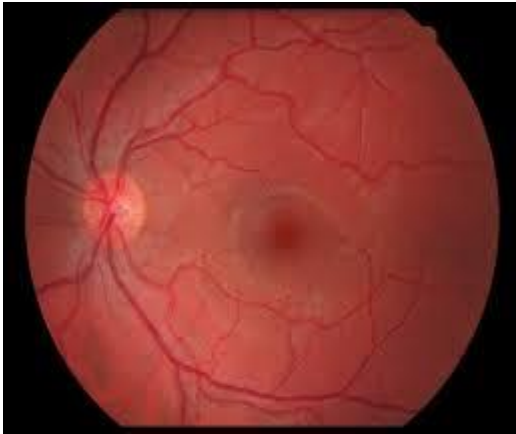
Gözyuvarının içinde bulunan sıvı 'vitröz humor' (vitreous humor) olarak bilinir. vitreous humor lens ile retinanın arasında bulunur. Vitreus sıvısı hiyaluronik asit ve kolajen ağı içerir, berrak ve saydam bir sıvıdır(1,3).Vitreus, lens ile retina arasında bulunan boşluğu doldurmaktadır(9).

### **Retina**

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

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

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



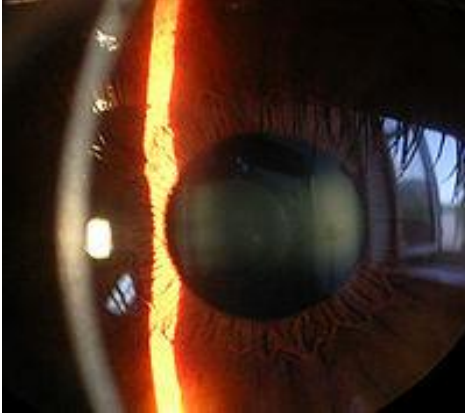
**Şekil 3. Retina (8)**

### **Kornea**

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

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

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



**Şekil 4. Kornea (10)**

### **Kornea Epiteli**

Çok katlı hücrelerden oluşan tabakadır. 50 - 90  $\mu\text{m}$  kalınlıklığında, beş katmandan meydana gelen çok katlı nonkeratinize membran hücreleri düz skuamöz epitel hücrelerinden meydana gelmektedir(9).

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

### **Dış Sınırlayıcı Tabaka (Bowman Zarı)**

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

### **Kornea Stroması**

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

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

### **İç Sınırlayıcı Tabaka**

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

### **Kornea Endoteli (Konjuktiva)**

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

### **OKÜLER SİSTEMLER**

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

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

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

**Tablo 1. Oküler geçirgenliği etkileyen faktörler (23)**

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

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

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

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

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

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

### **Oküler İlaç Uygulama Yolları ve Karşılaşılan Zorluklar**

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

**Tablo 2. Oküler ilaç uygulama yollarının zorlukları**

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

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

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

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

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

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

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

## **Topikal Uygulama**

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

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

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

## **Subkonjoktival Uygulama**

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

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

## **İntravitreal Uygulama**

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

## **Göze Uygulanan Dozaj Şekilleri**

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

### **1- Göz Damlaları**

- Çözeltiler
- Jeller
- Süspansiyonlar
- Kullanılacağı zaman sulandırılan tozlar

### **2- Yarı Katı Dozaj Şekilleri**

- Merhem ve jeller

### **3- Kolloidal Oküler Sistemler**

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

### **4- Katı Dozaj Şekilleri**

- Lensler
- İmplantlar
- Oküler insertler

## **Göz Damlaları**

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

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

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

### **Yarı Katı Dozaj Şekilleri**

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

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

### **Katı Dozaj Şekilleri**

**Lensler:** Oküler ve intraoküler olmak üzere iki tiptir;

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

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

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

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

## OKÜLER İNSERTLER

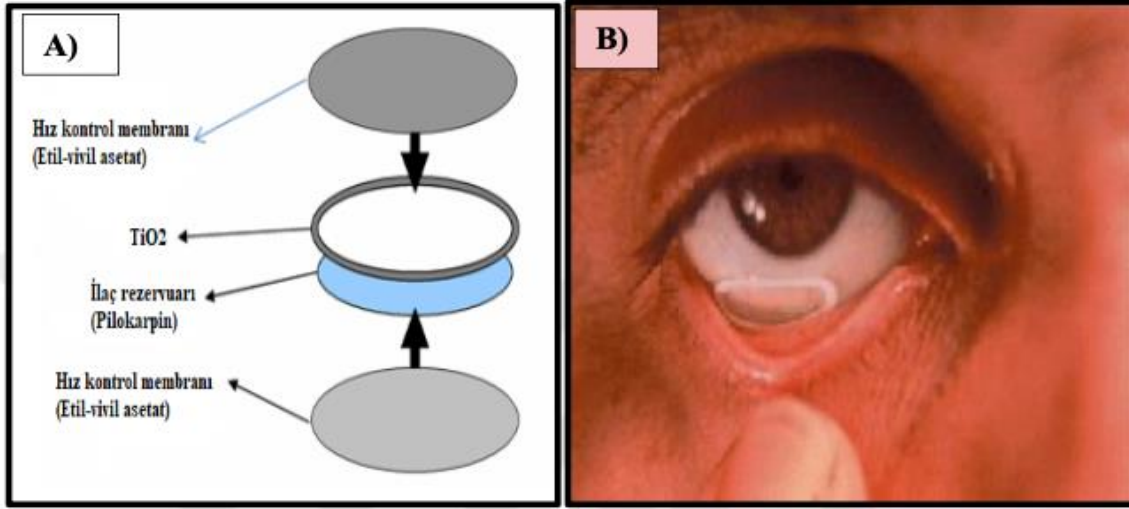
Oküler insertler çeşitli göz hastalıklarını tedavi etmek için kullanılmakta olan dozaj formları içerisindeki en önemli yenilikçi geliştirmelerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Oküler İnsert şekil ve büyüklüklüğü konjunktival keseye yerleştirilebilecek şekilde, lokal veya sistematik etki oluşturmak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

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

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

- İlacın sistemik absorpsiyonunun azaltır (34).

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



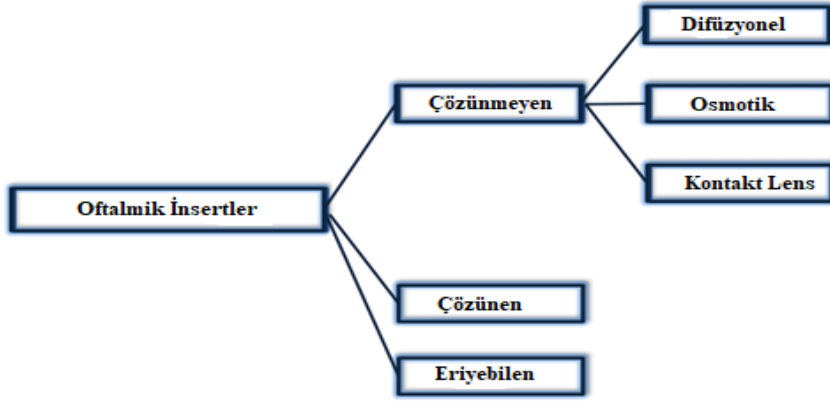
**A)** Ocusert® insertin gösterimi

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

### Şekil 5. İnsert uygulanması

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

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



**Şekil 6. Oftalmik insertlerin sınıflandırılması**

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

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

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

- Difüzyon
- Ozmos
- Biyoparçalanma

#### **Difüzyon**

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

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

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

### **Ozmaz**

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

### **Biyoparçalanma**

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

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

### **İnsert Formülasyon Bileşenleri**

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

## Polimerler

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

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

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

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

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

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

|                                        |                                                                                                                                                         |
|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Çözünebilen Sentetik Polimerler</b> | Poli(laktik asit) (PLA)<br>Poli(glikolik asit)(PGA)<br>PLGA) Polikaprolakton<br>Poli(alkil-siyanoakrilat)(PACA)<br>Poli(anhidrit)<br>Poli(aminoasitler) |
| <b>Çözünebilen Doğal Polimerler</b>    | Kitosan ve türevleri (karboksimetil kitosan)<br>Jelatin<br>Albumin<br>Kollajen<br>Aljinat                                                               |

### **Jelatin**

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

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

### **Sodyum Aljinat**

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

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

## **Plastifiyanlar**

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

## **Mikrobiyal Koruyucular**

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

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

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

## **İnsert Üretim Yöntemleri**

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

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

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

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

### **Kolloidal Oküler Sistemler**

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

Genellikle 10-1000 nm aralığında partikül boyutunda olan nanopartiküller, boyutlarının çok küçük olması sebebiyle su içerisinde hızlıca disperse olurlar (53,54).

Bu sistemlerin etkinliği ilgili oldukları hücreler tarafından içine alma ya da fagosite etme yeteneklerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir(54). Kolloidal ilaç taşıyıcı sistemlerin etkin maddeyi hedeflenen bölgesine taşıması amaçlanırken, ilacın kontrollü şekilde salınması da göz önünde tutulmalıdır(28,50,55).

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

Kolloidal ilaç taşıyıcı sistemler aşağıda sıralanmıştır (28).

- Lipozomlar
- Niozomlar

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

## **KORNEA HASTALIKLARI**

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

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

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

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

semptomları ile izlenmektedir (58).

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

### **Kuru Göz Sendromu**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### **Risk Faktörleri**

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

Diğer risk faktörleri (67):

- Ağırleştirici Çevresel Koşullar
- Topikal İlaç Kullanımı

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

### **Gözyaşı Sistemi**

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

### **Gözyaşı Filmi Tabakası**

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

Gözyaşı filminin, kalınlığı 2-5.5  $\mu\text{m}$  olup ultra ince bir yapıya sahiptir. Normal olan gözyaşı hacmi  $6.2\mu\text{l} \pm 2.0 \mu\text{l}$ 'dir. Gözün dış yüzeyindeki total gözyaşı hacmi 10  $\mu\text{l}$ 'dir. gözyaşı salgısının hızı 1.2 $\mu\text{l}/\text{dk}$  olup normal buharlaşma hızı 0.14 $\mu\text{l}/\text{dakika}$ dır (68,71).

### **Gözyaşı**

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

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

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

### **Kuru Göz Etiyolojisi ve Sınıflandırılması**

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

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

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

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

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

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

**Etyopatojenik sınıflama:**

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

Gözyaşı yetmezliğine bağlı kuru göz sendromu:

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

olarak iki alt grupta incelenir.

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

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

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

#### **Mekanizmaya dayanan sınıflama:**

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

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

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

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

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

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

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

- Çevresel Faktörler

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

- İç Çevresel Faktörler

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

**a) Göz kırpma sıklığının azalması**

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

**b)Düşük Androjen, Yüksek Östrojen Seviyesi:**

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

**b) Yaşlanma ile Oluşan Fizyolojik Değişimler:**

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

**c) Kontakt Lens Kullanımı**

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

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

#### **d) A Vitamini Eksikliği**

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

#### **e) Yetersiz Su Tüketimi ve Dehidrasyon**

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

#### **- Dış Çevresel Faktörler:**

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

#### **a) Ortamdaki Düşük Nem Oranı:**

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

#### **b) Rüzgarlı Hava:**

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

#### **c) Uzun Süre Bilgisayar Kullanımı**

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

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

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

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

En sık kullanılan anketler;

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

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

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

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

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

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

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

### **Oküler Yüzeyin Boyanması**

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

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

### **Kuru Göz Tedavisi**

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

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

Başlıca tedavi yöntemleri (100);

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

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

## SİKLOSPORİN

### Genel Bilgiler

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

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

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

### Siklosporin A'nın Kimyasal Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri

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

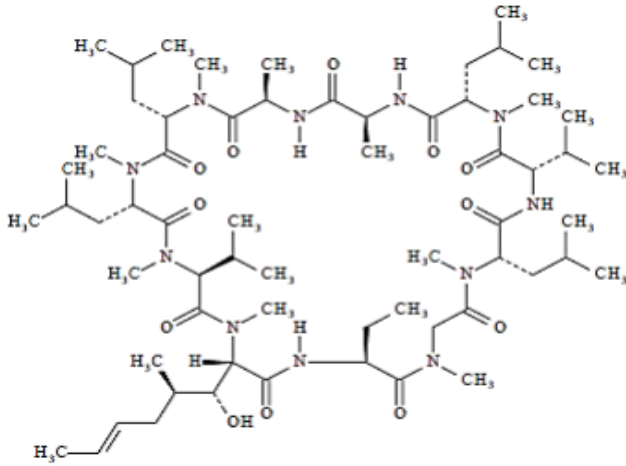
Molekül Ağırlığı, 1202.61 gr/mol'dür.

Kapalı Formülü  $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ 'dir.

Erime Noktası 148°C-151°C'dir

Kaynama noktası 1293°C'dir (103).

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



Şekil 7. Siklosporin'in kimyasal yapısı

### Siklosporin A'nın Terapötik Etkinliği

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

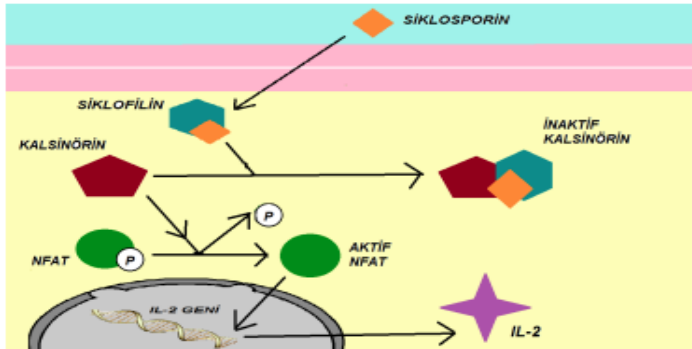
Kuru göz sendromunda siklosporin'in farmasötik etkisi ilk kez tesadüfi olarak kronik göz kuruluğu olan köpeklerde anlaşılmıştır(107). Siklosporin gözyaşı bezinde ve konjunktivadaki lenfositlerde apoptozisi sağladığı, gözyaşı bezi ve konjunktiva, epitel hücrelerinde de apoptozisi baskılayarak inflamasyonu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

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

### Siklosporin A'nın Etki Mekanizması

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

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



Şekil 8. Siklosporin'in etki mekanizması (101)

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

## Siklosporin'in Kullanıldığı Ticari Preparatlar

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

**Tablo 5. Siklosporin içeren preparatlar**

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

## Kuru Göz Tedavisinde Topikal Siklosporin Kullanımı ile Yapılan Klinik Çalışmalar

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

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

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

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

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

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

## **QbD- TASARIMLA KALİTE YAKLAŞIMI**

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

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

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

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

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

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

**Tablo 6. Mevcut geleneksel yaklaşım ile tasarımıla kalite yaklaşımının karşılaştırılması**

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

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

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

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

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

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

### **ICH Kalite Kılavuzları**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### **QbD'nin Adımları**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



Şekil 9. Tasarımla kalite genel şeması

### Yapay Sinir Ağları

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

### **Deney Tasarımı (DoE)**

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

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

### **Proses Analitik Teknolojisi (PAT)**

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

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### KULLANILAN ARAÇ ve GEREÇLER

#### Kimyasallar Malzemeler

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

#### Araç ve Gereçler

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

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

#### **Kullanılan Tampon Çözeltiler**

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

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

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

#### **Siklosporin'in Karakterizasyonu İçin Yapılan Testler**

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

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

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

**Siklosporin'in infrared spektroskopisi analizi:** Siklosporin'in FTIR cihazında 4000 – 600 cm<sup>-1</sup> aralığında taranıp pik verdiği dalga boyları belirlendi, IR spektrumu çizildi.

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

**Siklosporin'in nükleer manyetik rezonans analizi:** Siklosporin'in <sup>1</sup>H ve <sup>13</sup>C değerlendirmesi nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (NMR) ile yapıldı. Çözücü olarak dötero kloroform (CDCl<sub>3</sub>) kullanıldı.

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

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

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

**Tablo 7. Kromatografik şartlar**

|                         | <b>HPLC Analitik Metot Koşulları</b>                                                    |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Mobil faz</b>        | Su: Asetonitril: Metanol %85 H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , 300:650:50:0.5, (h/h/h/h) |
| <b>Cihaz</b>            | Değiştirilebilir dalga boylu UV dedektörlü HPLC sistemi                                 |
| <b>Kolon</b>            | Thermo Hypersil ODS 250mm x 4.0mm x 3.0µm                                               |
| <b>Kolon Sıcaklığı</b>  | 65°C                                                                                    |
| <b>Numune Sıcaklığı</b> | 20°C                                                                                    |
| <b>Akış Hızı</b>        | 1.0 mL/dk                                                                               |
| <b>Dalga Boyu</b>       | 210 nm                                                                                  |
| <b>Enjeksiyon Hacmi</b> | 50 µL                                                                                   |
| <b>Analiz Süresi</b>    | 15 dk                                                                                   |

#### **Mobil Fazın Hazırlanması**

Öncelikle, mezür ile su: Asetonitril: Metanol %85 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 300:650:50:0.5, (h/h/h/h) oranlarından; sırası ile asetonitril ve metanol belirtilen miktarda mobil faz şişesine alınıp, manyetik karıştırıcı kullanılarak karıştırıldıktan sonra 0.5 mL fosforik asit ilave edilmiştir ve 300 mL distile su eklenerek tamamlanmıştır. HPLC cihazında okutulmadan önce ultrasonik banyo kullanılarak 20 dakika boyunca degaze edilerek, gazların uzaklaştırılması sağlamıştır. Çözücü olarak kullanılacak olan çözelti; Su: Metanol, 50:50, (h/h) oranlarında karıştırılmış ve degaze edilmiştir.

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

#### **Standart ve Numune Hazırlıkları**

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

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

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

### Etkin Madde Miktar Tayini Yöntem Validasyonu

Analitik yöntem validasyonu için incelenen parametreler aşağıda sıralanmıştır

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

### Validasyon Çalışması Parametreleri

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

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

Siklosporin piki kapasite faktörü ( $k'$ ) en az 2.0 olmalıdır

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### **Doğruluk ve Geri Elde Edilebilirlik**

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

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

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

$$Doğruluk = \frac{A}{B} \times 100$$

A = Teorik numune konsantrasyonu (mg/mL)

B = Deneysel numune konsantrasyonu (mg/mL)

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

### **Sistem Kesinliği**

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

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

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

$\bar{x}$  : Ortalama değer

n : Hesaplanacak data sayısı

s : Standart sapma

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

n = 6

$t_{n-1} = 2.57$

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

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

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

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

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

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

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

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

### **Siklosporin İçeren Oftalmik Insert İçin Yapılan Ön Formülasyon Çalışmaları**

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

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

**Tablo 8. Hedef ürün kalite profili belirleme**

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

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

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

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

değerlendirmesi tablosunun sonuç risk değerlendirmesi tablosuna güncellenmesiyle sonuçlanır.

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

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

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

## Kritik Proses Parametrelerinin Değerlendirilmesi

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

**Tablo 10. Kritik proses parametrelerinin değerlendirilmesi**

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

## Oftalmik İntert Hazırlık Prosesinin Başlangıç Risk Değerlendirmesi

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

**Tablo 11. Proses adımlarının başlangıç risk değerlendirilmesi**

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

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

## Oftalmik insert kritik proses parametreleri başlangıç risk değerlendirmesi

**Tablo 12. Proses parametreleri başlangıç risk değerlendirilmesi**

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

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

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

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

### **Formülasyon Çalışmaları**

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

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

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

### **Emülsiyon Fazın İncelenmesi (%0.05 Siklosporin)**

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

**Tablo 13. Emülsiyon fazın incelenmesi**

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

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

**Tablo 14. Yardımcı maddelerin incelenmesi**

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

### **Polimer Faz Hazırlama Parametreleri**

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

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

Tüm formülasyon denemeleri Tablo 15'de gösterilmiştir.

**Tablo 15. Polimer faz formülasyon denemeler**

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

**Formülasyon Çalışmaları**

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

**Tablo 16. Polimer faz formülasyon denemeleri devamı**

| <b>Formülasyon</b> | <b>Sodyum Aljinat (%)</b> | <b>Jelatin (%)</b> | <b>Gliserin (%)</b> |
|--------------------|---------------------------|--------------------|---------------------|
| <b>F17</b>         | % 1.5                     | % 10 Jelatin       | % 3 Gliserin        |
| <b>F18</b>         | % 1.5                     | % 15 Jelatin       | % 3 Gliserin        |
| <b>F19</b>         | % 2.5                     | % 10 Jelatin       | % 5 Gliserin        |
| <b>F20</b>         | % 3.5                     | % 5 Jelatin        | % 10 Gliserin       |
| <b>F21</b>         | % 0.75                    | % 24 Jelatin       | % 5 Gliserin        |
| <b>F22</b>         | % 3.5                     | % 10 Jelatin       | % 3 Gliserin        |

## **Etkin Madde Eklenmesi**

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

## **Ürün Hazırlama Yöntemi**

Uygulanan yöntem kısaca şöyledir;

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

Emülsiyon faz, 1 mL'sinde 0.5 mg siklosporin içermektedir ve kullanılacak olan miktar öncesinde ısıtıcı manyetik karıştırıcıda karıştırılarak  $\sim 45^{\circ}\text{C}$ 'ye ısıtılmıştır.

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

Elde edilen bulk çözelti; 2 mm'lik petri kaplarına aktarılarak; nihai formunu alması için  $65^{\circ}\text{C}$  sıcaklıktaki etüve  $\sim 6$  saat kurumaya bırakılmıştır.

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

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

## **Hazırlanan Polimer Fazların Belirlenmesi**

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

## QbD Kapsamında Formülasyon Hazırlığı

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

**Tablo 17. Parametreleri değiştirilen formülasyonlar**

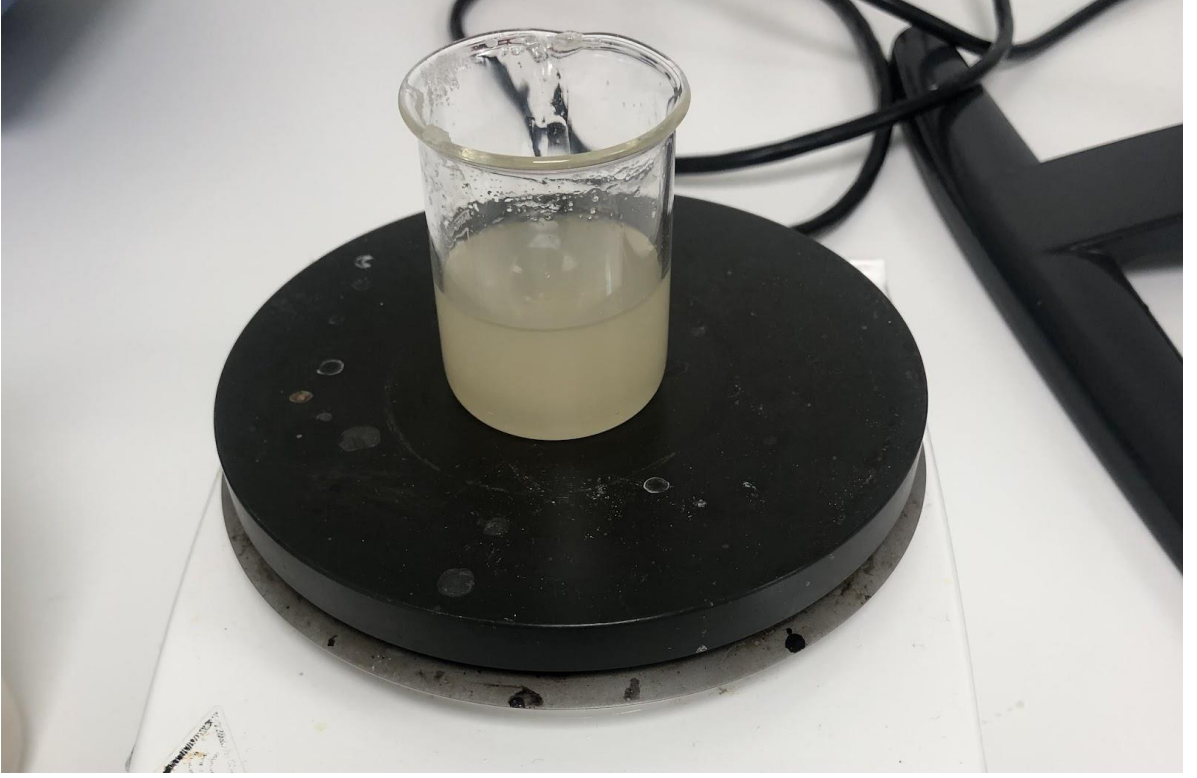
|                                                             |              |
|-------------------------------------------------------------|--------------|
| Sıcaklık ( $55^{\circ}\text{C}$ )                           | F21-A, F22-A |
| Sıcaklık ( $45^{\circ}\text{C}$ )                           | F21-B, F22-B |
| Karıştırma Devri ve Süresi(700 rpm, 15 dakika)              | F21-C, F22-C |
| Karıştırma Devri ve Süresi(1200 rpm, 45 dakika)             | F21-D, F22-D |
| Kurutma Sıcaklığı ve Süresi $45^{\circ}\text{C}$ , ~ 8 saat | F21-E, F22-E |
| Kurutma Sıcaklığı ve Süresi $85^{\circ}\text{C}$ , ~ 3 saat | F21-F, F22-F |

## F21 Formülasyon Hazırlığı

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

Emülsiyon faz, 1 mL'sinde 0.5 mg siklosporin içermektedir ve kullanılacak olan miktar öncesinde ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda karıştırılarak  $\sim 45^{\circ}\text{C}$ 'ye ısıtılmıştır.

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



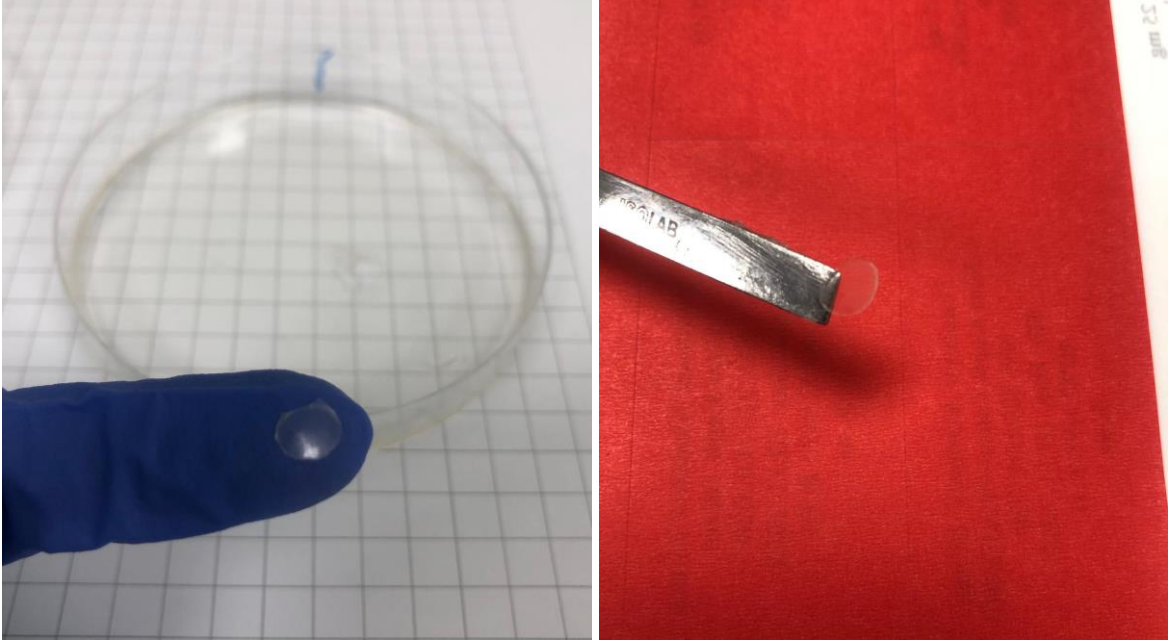
**Şekil 10. F21 Formülasyonu fazların eklenmesi ile 30 dakika karışmaya bırakılması**



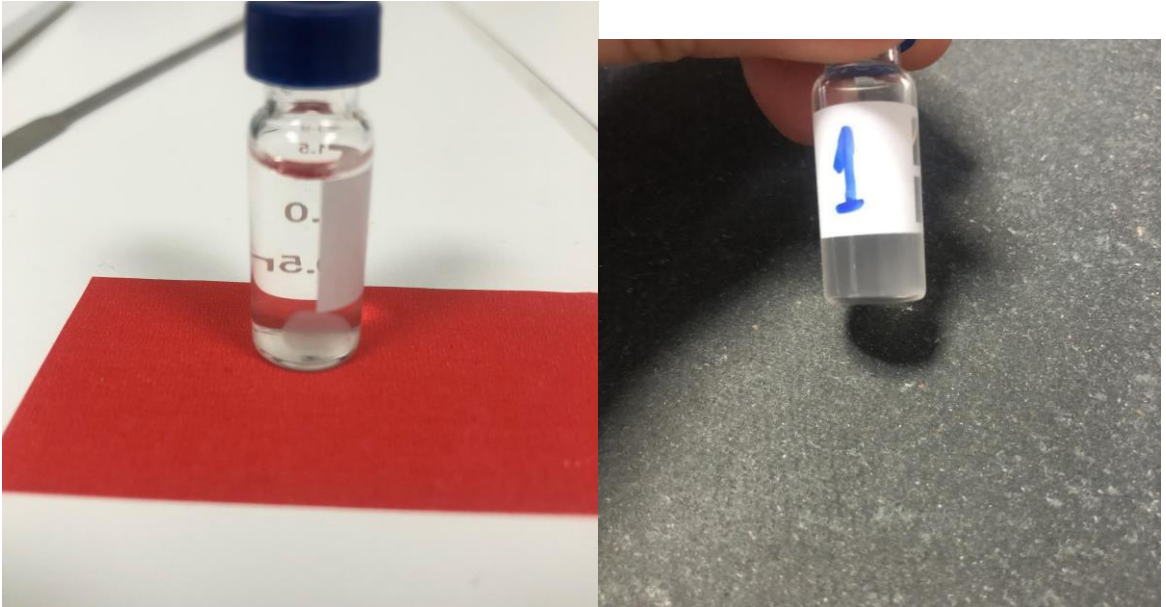
**Şekil 11. F21 İnsert formülasyonu petri kabına aktarılması**

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

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



**Şekil 12. F21 formülasyonu kuruması ve şekil verilmesi**



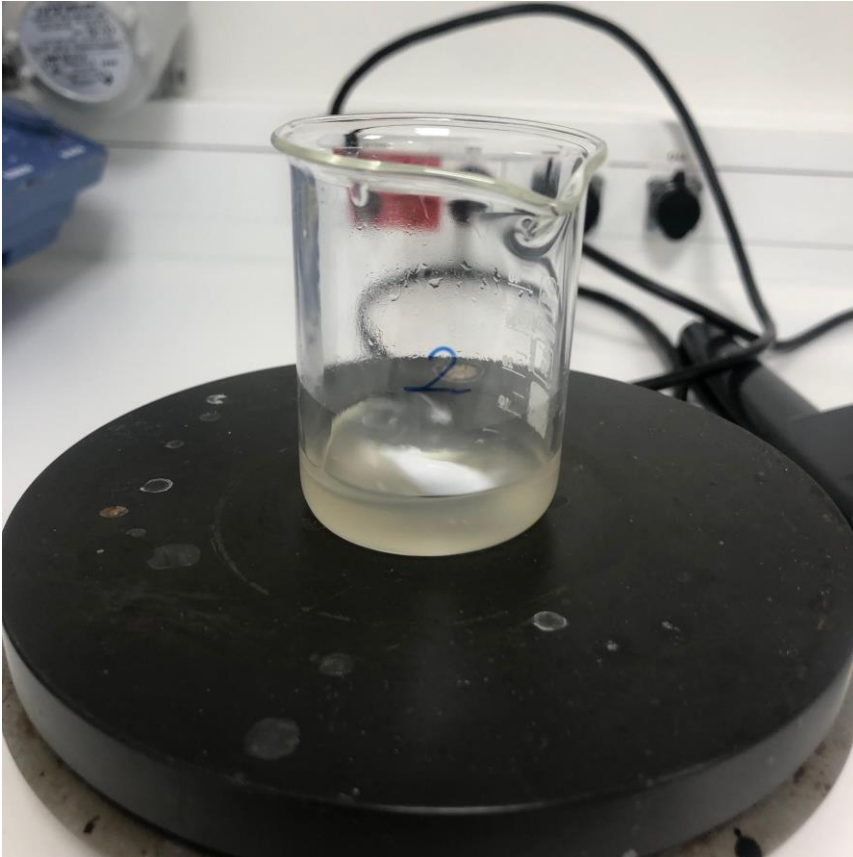
**Şekil 13. Hazırlanan insert formülasyonu gözyaşı çözeltisine bırakılması ve salımını tamamladıktan sonra görünüşü**

## F22 Formülasyon Hazırlığı

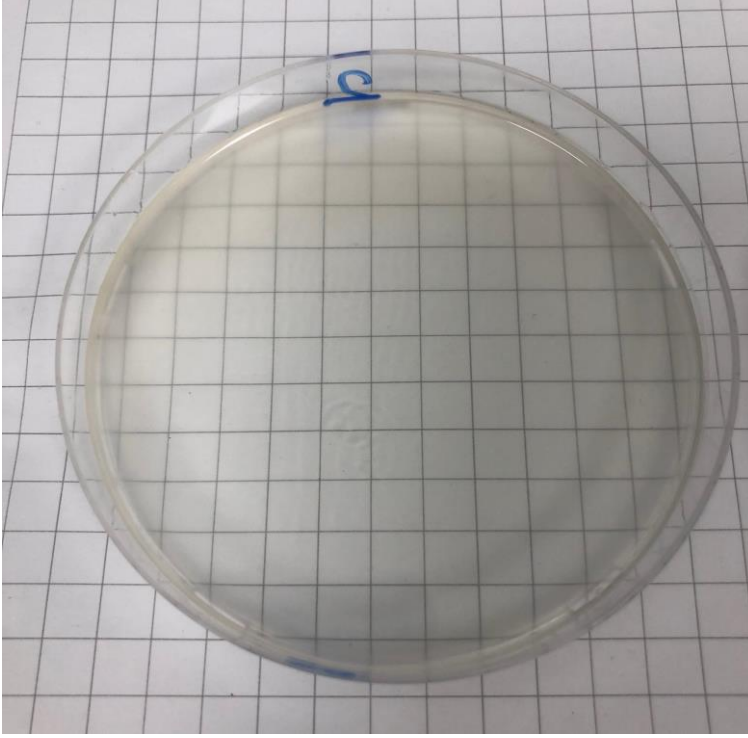
Polimer faz için belirlenen F22 formülasyon orana göre; yardımcı maddeler 50°C sıcaklıkta, 2 ml enjeksiyonluk su ilave edilerek, manyetik karıştırıcı (1200 devir/dk) ile, 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Homojen ve berrak görüntü elde edildikten sonra, pH kontrolü yapıp, hazırlanan 1N NaOH çözeltisi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

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

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



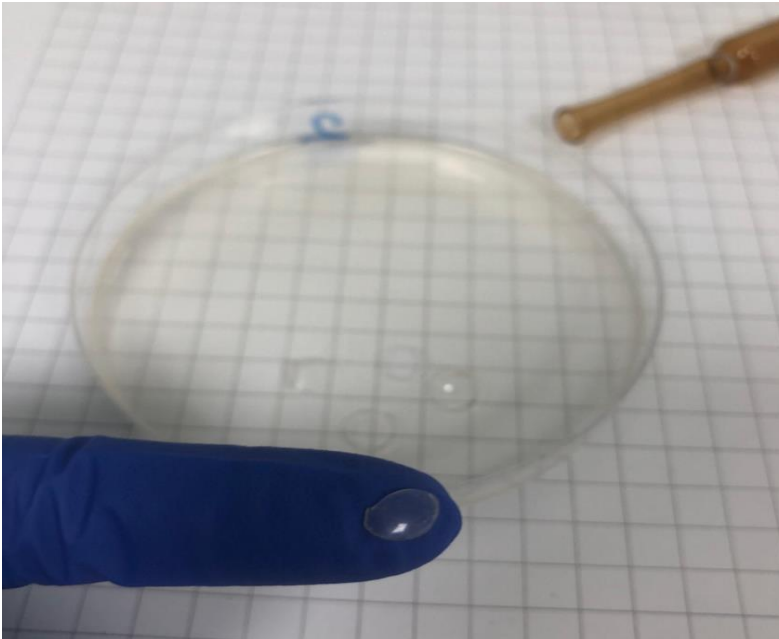
Şekil 14. F22 formülasyonu fazların son karışmaya bırakılması



**Şekil 15. F22 insert formülasyonu petri kabına aktarılması**

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

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



**Şekil 16. F22 formülasyonu petri kabından çıkarılması ve şekil verilmesi**



Şekil 17. Hazırlanan insert formülasyonu gözyaşı çözeltisine bırakılması

### Hazırlanan Oftalmik İnsertler İçin Karakterizasyon Çalışmaları

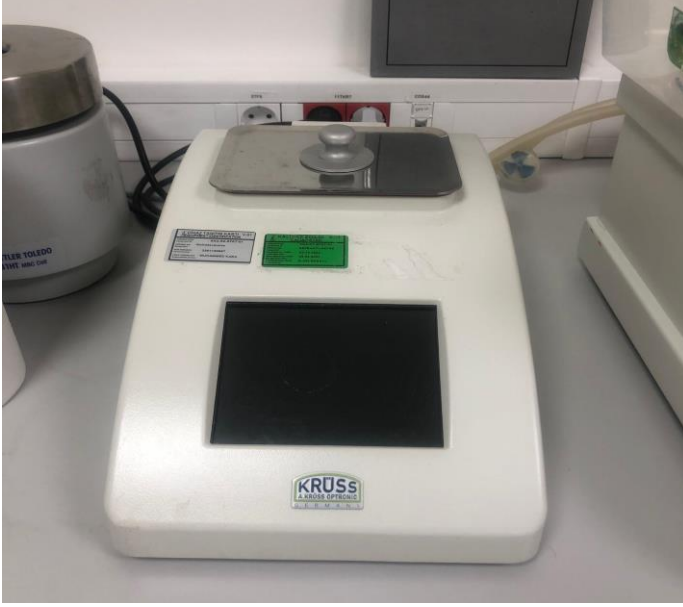
**Viskozite ölçümü:** Siklosporin içeren formülasyonlar petri kaplarına dökülmeden önce viskoziteleri ölçülmüştür. Her formülasyon denemesi için 5'er deneme yapılmıştır.



Şekil 18. Viskozimetre cihazı

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

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



**Şekil 19. Refraktometre Cihazı**

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

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



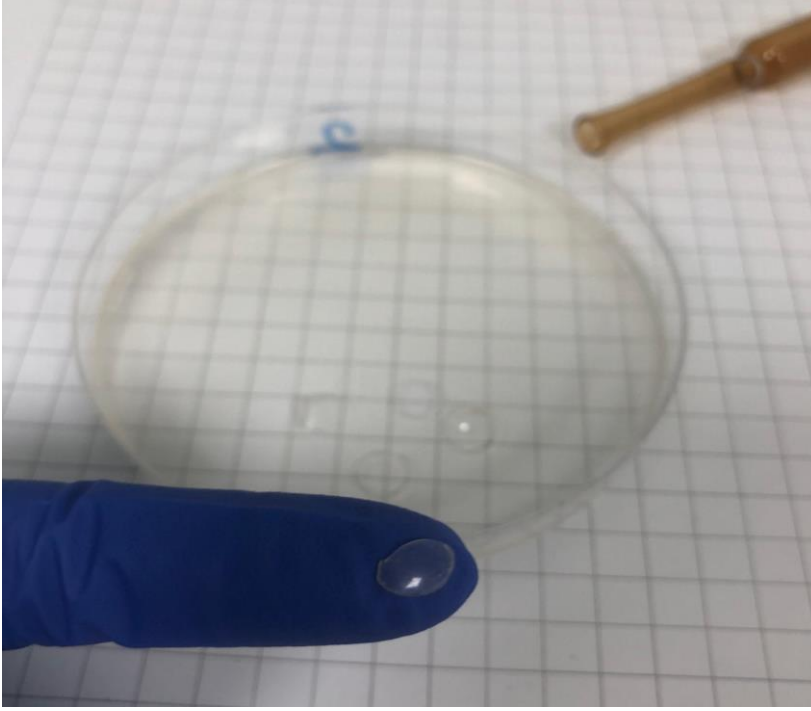
Şekil 20. Yoğunluk ölçer

### İnsert Formülasyonlarının Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

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

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

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



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



**Şekil 22. Elde edilen oftalmik insert şekilleri**

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

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



**Şekil 23. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)**

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

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

$$\text{Eşitlik 1} = \% \text{ Nem miktarı} = ((A_b - A_s) / A_b) \times 100$$

A<sub>s</sub>: Son insert ağırlığı

A<sub>b</sub>: Başlangıç insert ağırlığı

### ***In vitro* Salım Çalışmaları**

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

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

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

$$\% \text{ Şişme indeksi} = (V_t - V_0 / V_0) \times 100$$

V<sub>t</sub>: t zamandaki ağırlık

V<sub>0</sub>: başlangıçtaki ağırlık

### Hazırlama Prosesinin Sonuç Risk Değerlendirmesi

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

### Oftalmik İnsert Hazırlık Prosesinin Sonuç Risk Değerlendirmesi

**Tablo 18. Oftalmik insert hazırlık prosesinin sonuç risk değerlendirmesi**

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

### Kritik Proses Parametrelerinin Sonuç Risk Değerlendirmesi

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

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

### Oftalmik İnsert Kritik Proses Parametreleri Sonuç Risk Değerlendirmesi

Tablo 19. Oftalmik insert hazırlık prosesinin parametreleri sonuç risk değerlendirmesi

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

### Stabilite Çalışmaları

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



## Şekil 24. Oftalmik insert ürünlerinin stabiliteye kaldırılan final hali

### İstatiksel Değerlendirme

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

**Tablo 20. Tek yönlü varyans analizi değerlendirme tablosu**

| Karar Olasılığı | Karar                            |
|-----------------|----------------------------------|
| $p > 0,05$      | Önemli fark yoktur               |
| $p \leq 0,05$   | Önemli fark vardır               |
| $p \leq 0,01$   | Çok önemli fark vardır           |
| $p \leq 0,001$  | İleri düzeyde önemli fark vardır |

## **BULGULAR**

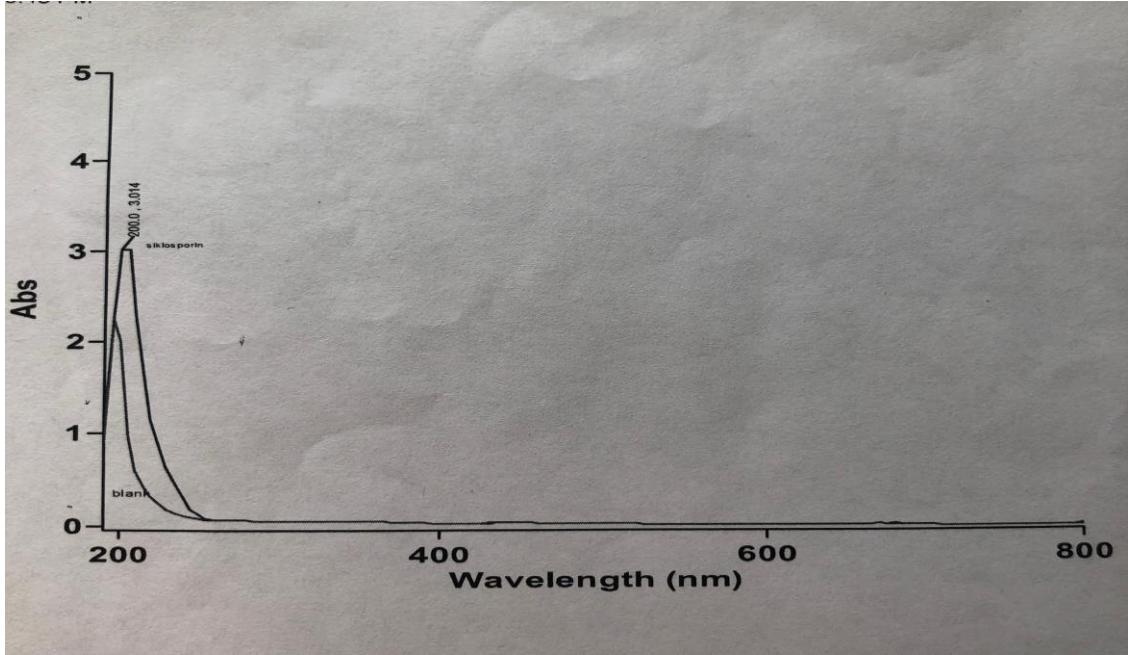
### **Siklosporin Görünüşü**

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



**Şekil 25. Siklosporin fiziksel görünüşü**

### Siklosporin'in Ultraviyole (UV) Analizi

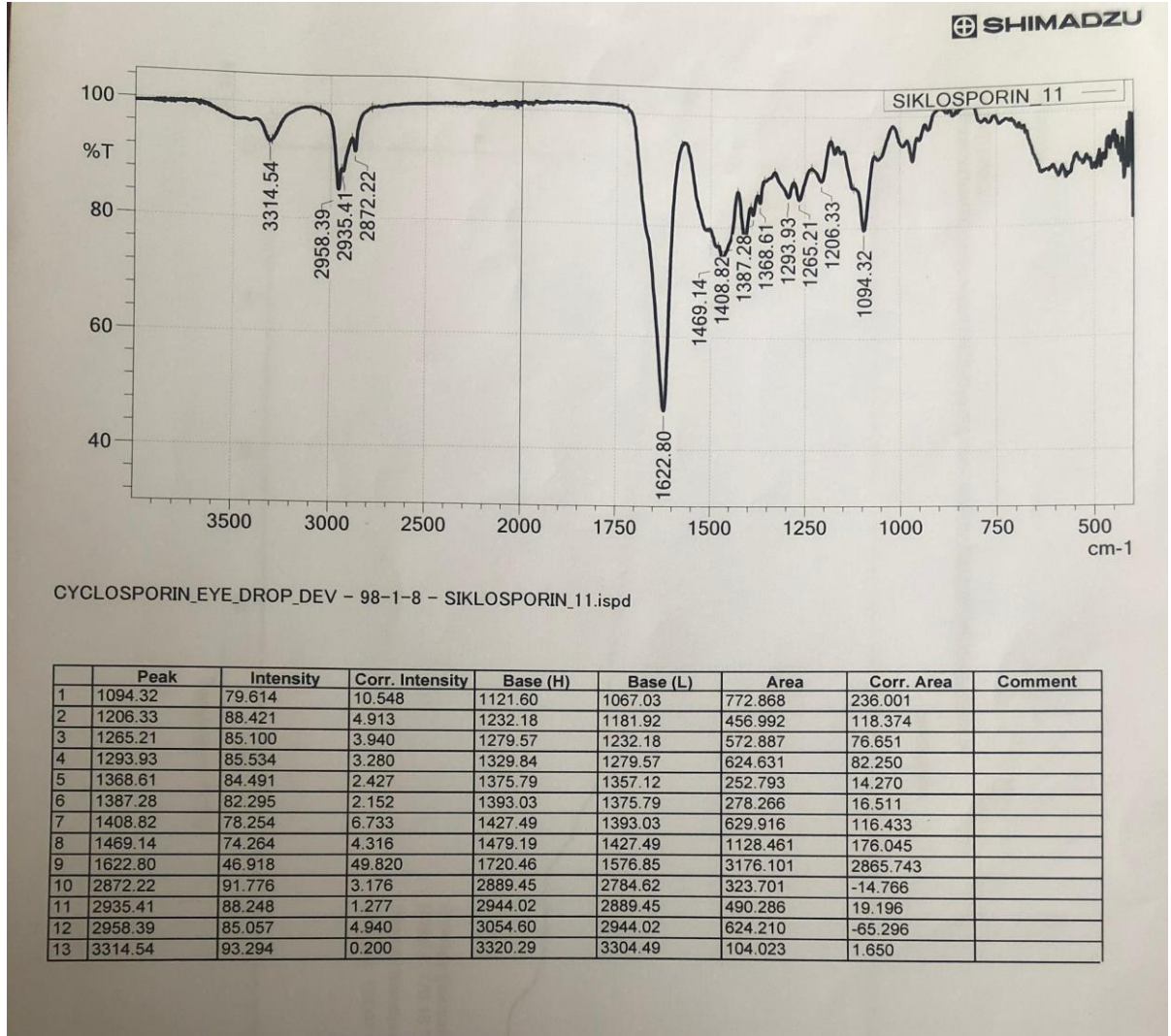


Şekil 26. Siklosporin ultraviyole (UV) kromatogramı

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

### Siklosporin'in Infrared Spektroskopisi Analizi Sonucu

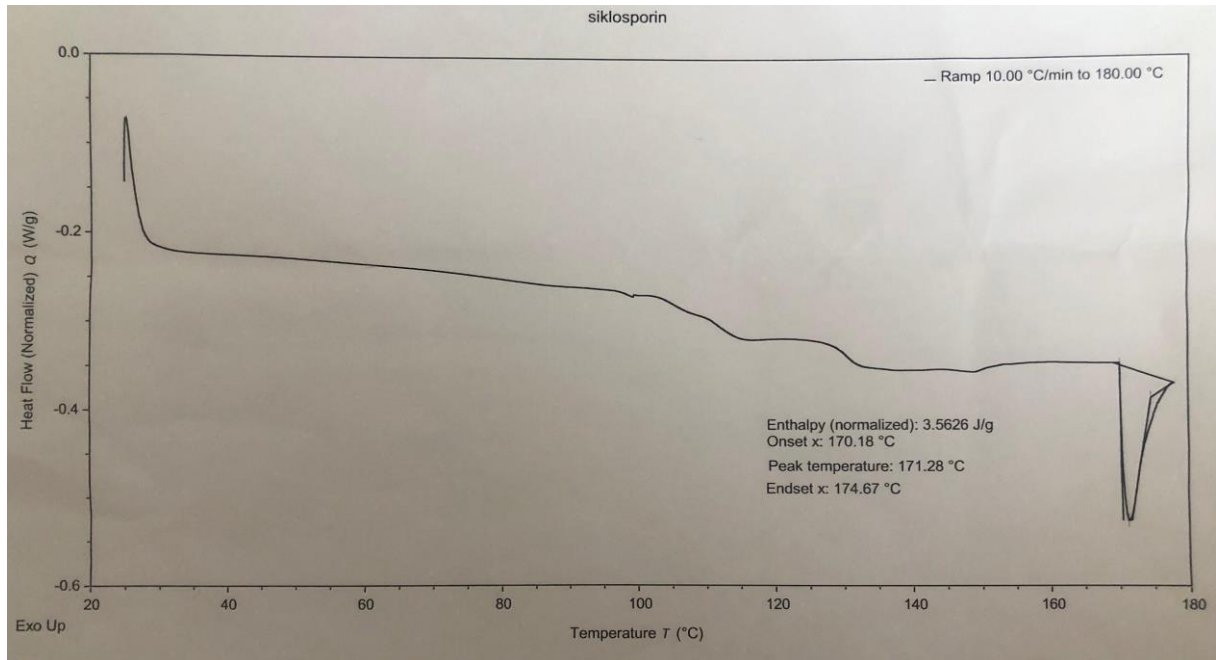
Siklosporin'in FT-IR spektrumu Şekil 26'da verilmiştir. 4000 – 600 cm<sup>-1</sup> aralığında okutulup pik yaptığı dalga boyları belirlendi, IR sonucunda görüntülenmesi ile siklosporin yapısındaki fonksiyonall gruplar ve bağlantı noktaları, aromatik veya alifatiklik durumu tespit edildi. Ke ve ark. (154)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



Şekil 27. Siklosporin FT-IR spektrumu kromatogramı

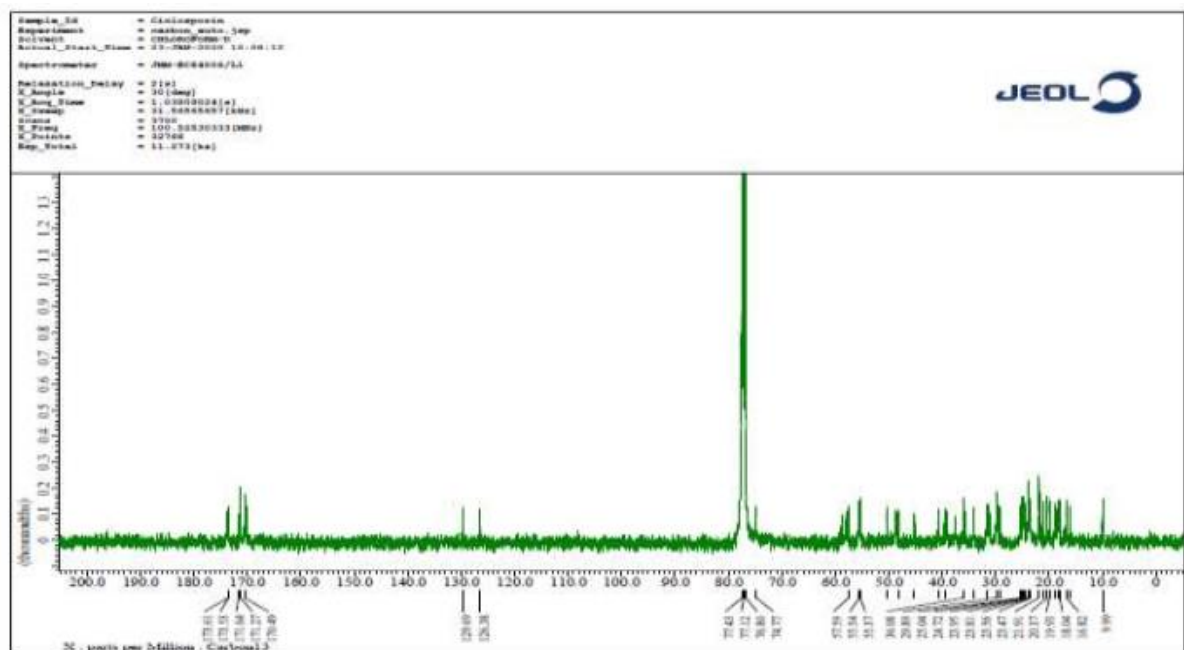
### Siklosporin Diferansiyel Tarama Kalorimetri Analizi Sonucu

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

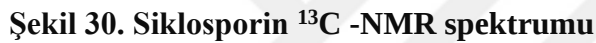


## Siklosporin Nükleer Manyetik Rezonans Analizi Sonucu

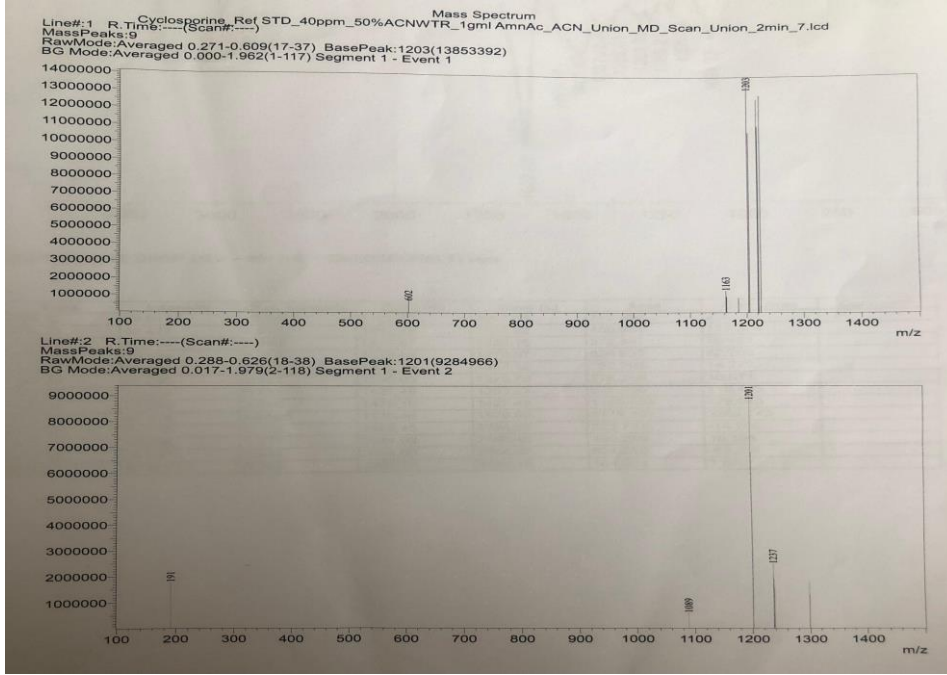
Siklosporin'in  $^1\text{H}$ -NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu Şekil 29 ve Şekil 30'de verilmiştir.  $^1\text{H}$ -NMR ile molekülleri dahilinde bulunan hidrojen atomlarımların sinyal grupları içerisindeki yarımla, bağ özelliklerini ve çevre gruplarımdaki bağ özelliklerini göstermektedir.



**Şekil 29. Siklosporin  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu**



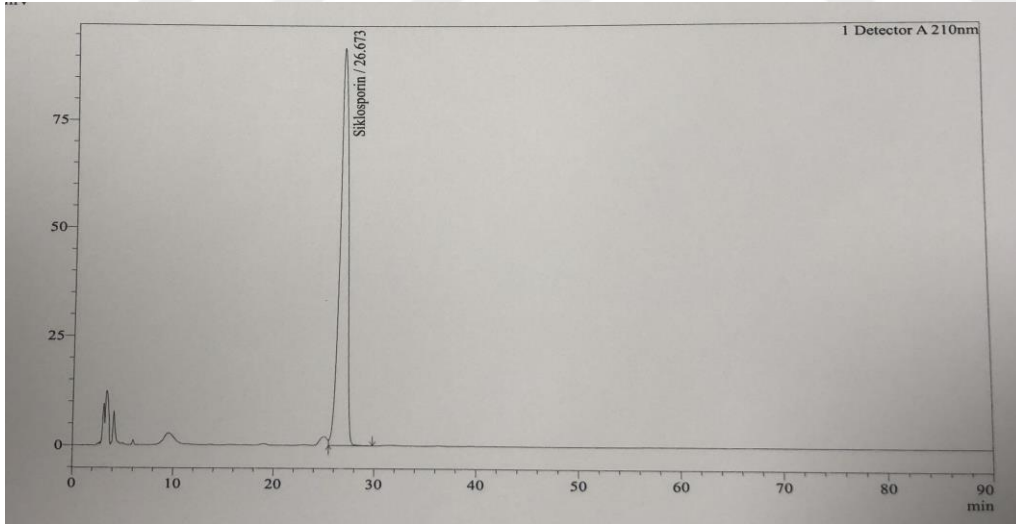
Siklosporin'in Mass Spektrometre Analizi Şekil 30 'da verilmiştir. Siklosporin'in kütle spektrum analizinde bulunan standart sonuçları; 1163,1263 m/z ve numune sonuçları 1089, 1201m/z olarak birbirine paralel veriler elde edilmiştir. Kütle/elektiriksel yük oranı değeri ile Salm ve ark. yaptığı çalışmalar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



Şekil 31. Siklosporin'in mass spektrometre analizi

### Siklosporin Miktar Tayini Sonuçları

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



Şekil 32. Siklosporin'in miktar tayini sonucu

### Lipit/Su Partisyon Katsayı Tayini Sonucu

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

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

### **Polimer Faz (Siklosporin İçermeyen İnsertlerin) Parçalanma Süresi Sonuçları**

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

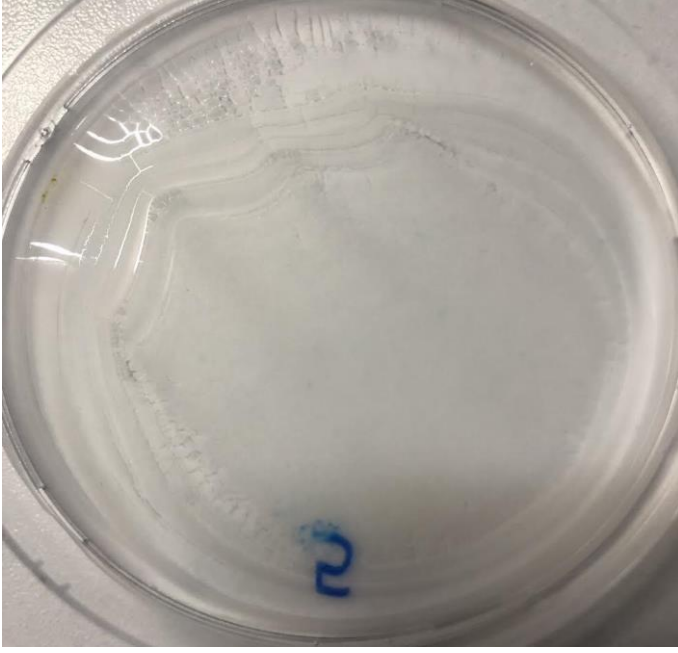
**Tablo 21. Polimer faz denemeleri için gözyaşı çözeltisi içerisinde tamamen parçalanma süreleri**

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

Yukarıda verilen polimer faz çalışmalarında elde edilen görseller aşağıda verilmiştir.



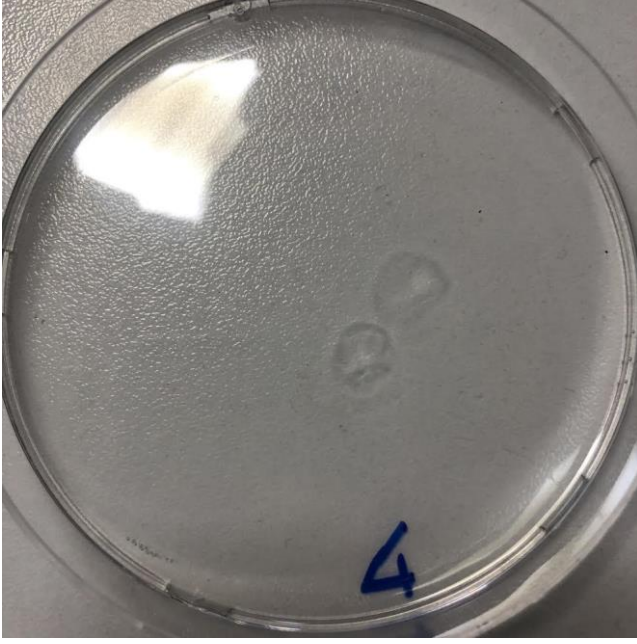
**Şekil 33. F4 polimer formülasyonu 6 saat etüvde bekledikten sonra görünüşü**



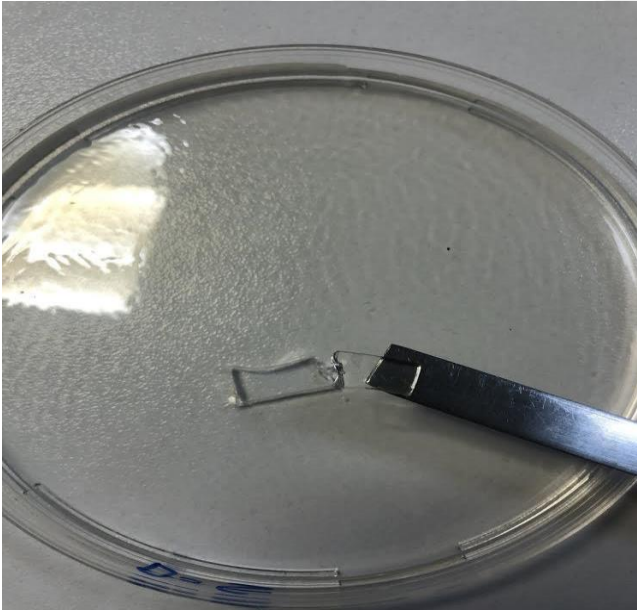
**Şekil 34. F5 polimer formülasyonu 2 saat etüvde bekledikten sonra görünüşü**



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

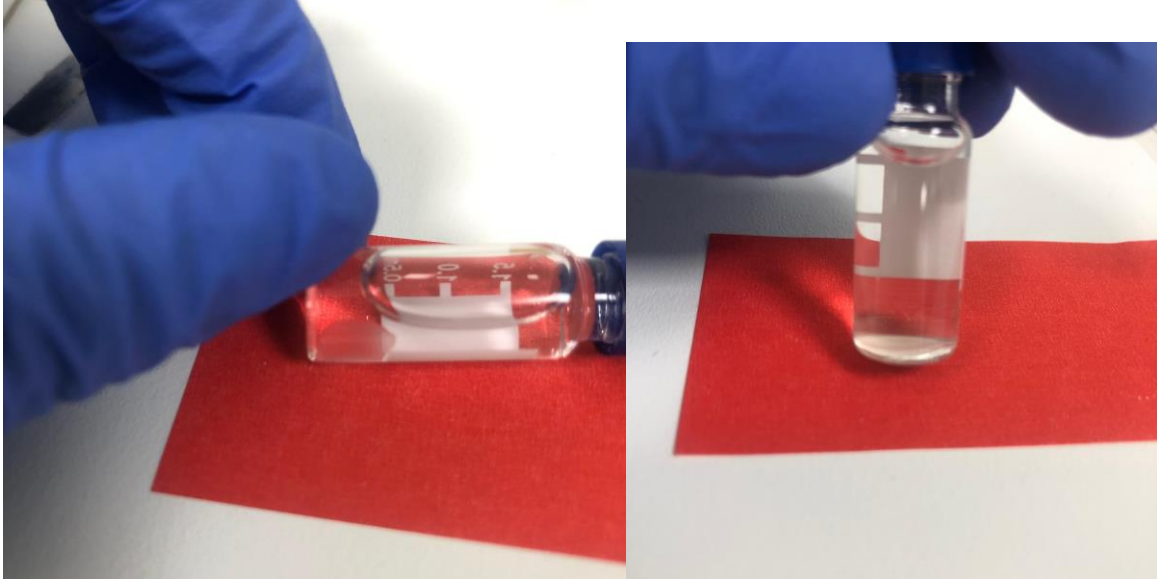


**Şekil 36. F13 polimer formülasyonu 5 saat etüvde bekledikten sonra görünüşü**



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

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



**Şekil 38. Plasebo insertlerin gözyaşı içerisine bırakılması**

## **SİKLOSPORİN İÇEREN OFTALMİK İNSERT DENEMELERİ İÇİN YAPILAN TESTLER VE SONUÇLARI**

### **Formülasyonların Viskozite Analizi Sonucu**

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

**Tablo 22. Hazırlanan formülasyon denemeleri için viskozite sonuçları**

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

### **Formülasyonların Zeta Potansiyel Değeri Ölçümü**

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

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

**Tablo 23. Hazırlanan formülasyon denemeleri için zeta potansiyel sonuçları**

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

#### **Formülasyonların Kırılma İndisi Analiz Sonuçları**

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

**Tablo 24. Kırılma indisi değerleri**

| Formülasyonlar | Kırılma İndisi (°) |
|----------------|--------------------|
| <b>F21</b>     | 1,3573± 0.015      |
| <b>F22</b>     | 1,3392± 0.019      |

#### **İnsert Formülasyonları pH Analizi Sonuçları**

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

**Tablo 25. Hazırlanan formülasyon denemeleri için pH sonuçları**

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

#### **Formülasyonların Bulk Yoğunluk Analizi Sonucu**

Hazırlanan insert formülasyonları için bulk yoğunluk analiz sonuçları tabloda 26’da verilmiştir.

**Tablo 26. Bulk yoğunluk analiz sonuçları**

| Formülasyonlar | Yoğunluk Analizi (g/cm <sup>3</sup> ) |
|----------------|---------------------------------------|
| F21            | 1.044 g/cm <sup>3</sup>               |
| F22            | 1.027 g/cm <sup>3</sup>               |

#### **İnsert Formülasyonların Çap Tayini**

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

**Tablo 27. Bulk yoğunluk analiz sonuçları**

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

#### **İnsert Formülasyonların Kalınlık Tayini**

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

**Tablo 28. İnsert formülasyonlarının kalınlık ölçüm sonuçları**

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

### İnsert Formülasyonların Şişme Tayini

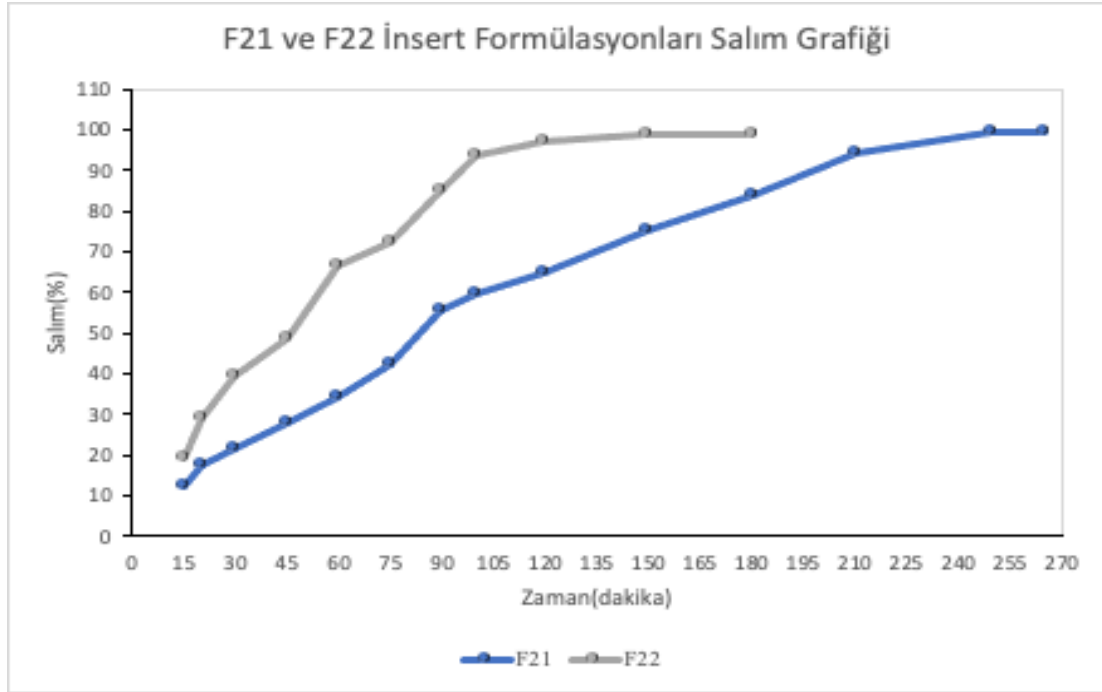
İnsertlerin 15., 30., 45. dakika, 1., 2., 3., 4., saatlerde PBS ortamından alınarak, tartılmış, çapı ve yüksekliği ölçülmüştür. Tablo 29’da verilen şişme yüzdelere göre hesaplanan istatistiksel değerlendirme sonucu p değeri: 0,3362 olarak tespit edilmiş ve karar olasılığına göre  $p>0,05$  olup formüller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

**Tablo 29. İnsert formülasyonlarının şişme tayini**

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

### İnsert Formülasyonların *In vitro* Salım Çalışması

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



**Şekil 39. F21 ve F22 insert formülasyonları salım grafiği**

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

**Tablo 30. İnsert formülasyonlarının zamana bağlı salım miktar yüzdeleri**

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

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

**Tablo 31. İnsert formülasyonlarının salım tamamlama süreleri**

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

#### **Formülasyonların Nem Miktar Tayini**

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

**Tablo 32. Formülasyonların nem miktar tayini**

| Formülasyonlar | Nem Miktar Tayini (mm) ± SS |
|----------------|-----------------------------|
| <b>F21</b>     | 2.046 ±0,281                |
| <b>F22</b>     | 3.102 ±0,398                |

#### **İnsert Formülasyonların Ağırlık Tayini**

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

**Tablo 33. Formülasyonların ağırlık tayini**

| Formülasyonlar | Ağırlık Tayini (mg) ± SS |
|----------------|--------------------------|
| <b>F21</b>     | 0.40±0,448               |
| <b>F22</b>     | 0.41±0,386               |

### İnsert Formülasyonlarının Siklosporin Miktar Tayini

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

**Tablo 34. İnsert formülasyonların siklosporin miktar tayini**

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

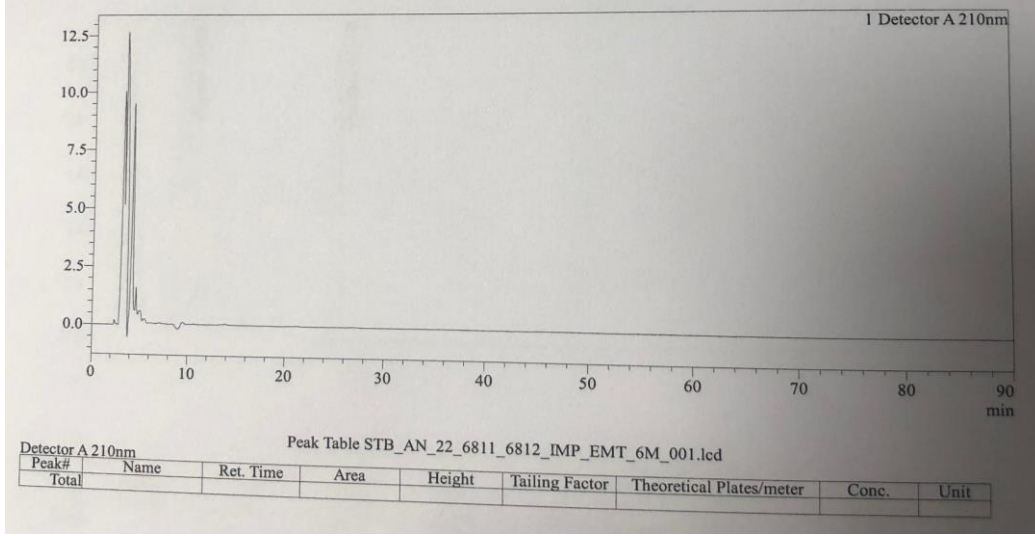
### Analitik Metot Validasyon Bulguları

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

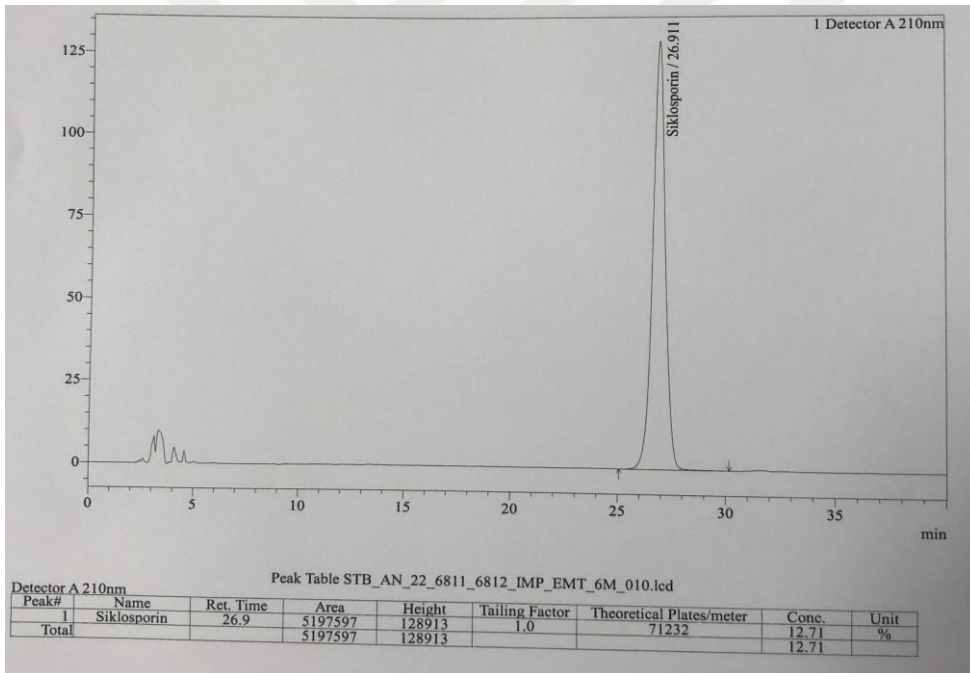
Siklosporin’in, çözücü, plasebo çözeltileri sonuçlarında pik görülmemiştir. Kapasite faktörü 3,7 kuyruklanma faktörü 0,9, teorik plaka sayısı ise 6065 olarak elde edilmiştir.

**Tablo 35. İnsert formülasyonların seçicilik parametresi sonuçları**

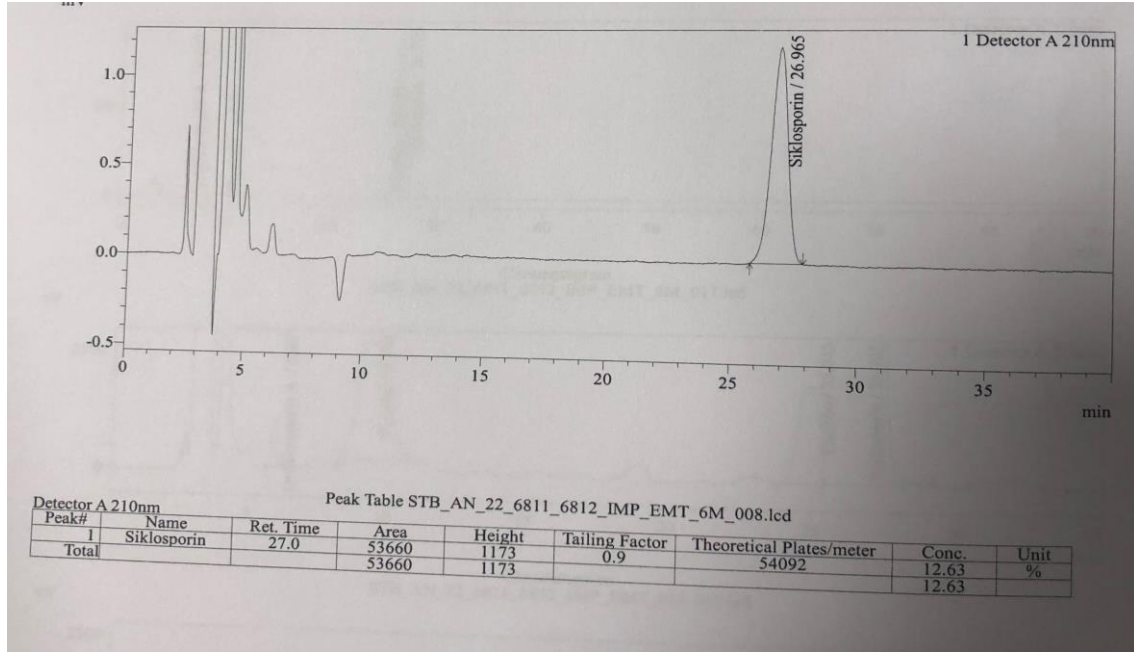
| Numune     | Alıkonma Zamanı (dk) | Kapasite Faktörü (k’) | Kuyruklanma Faktörü | Teorik Plaka Sayısı |
|------------|----------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|
| Çözücü     | -                    | -                     | -                   | -   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



Şekil 40. Siklosporin çözücü kromatogramı



Şekil 41. Siklosporin standart miktar tayini kromatogramı

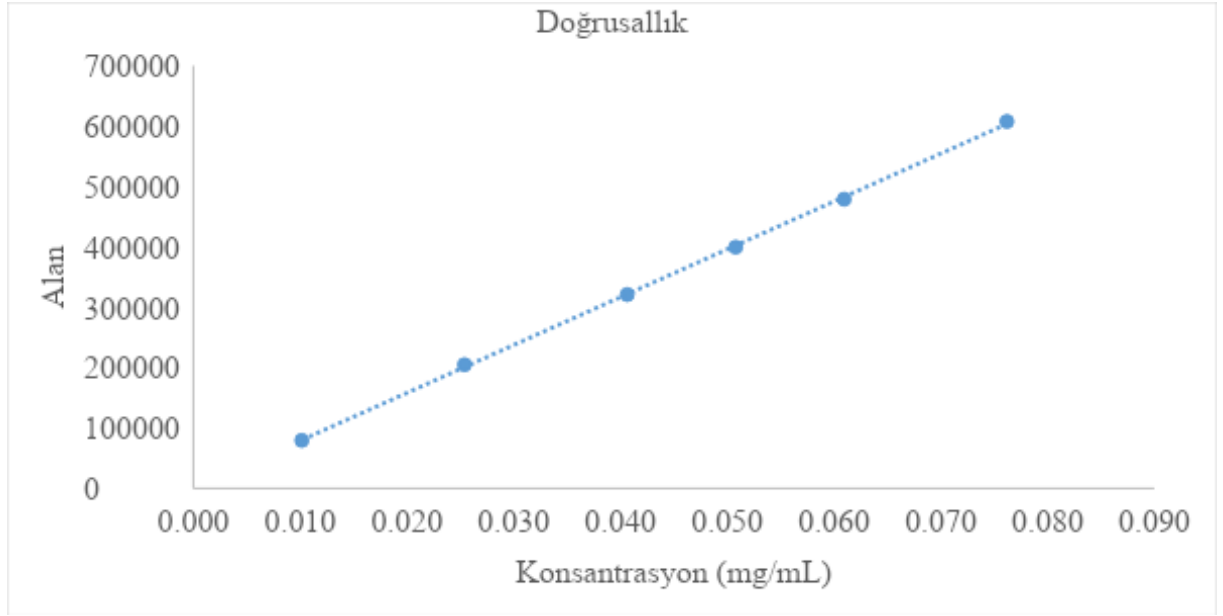


**Şekil 42. Siklosporin numune miktar tayini kromatogramı**

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

**Tablo 36. İnsert formülasyonların doğrusallık parametresi sonuçları**

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



**Şekil 43. Doğrusallık grafiği**

Korelasyon kat sayısı: 0,9997

Kesim Noktası: %0,18

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

**Tablo 37. Çalışma aralığı sonuçları**

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

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

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

**Tablo 38. İnsert formülasyonların doğruluk parametresi sonuçları**

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

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

**Tablo 39. İnsert formülasyonların sistem kesinliği parametresi sonuçları**

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

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

**Tablo 40. Kesinlik tekrarlanabilirlik sonuçları**

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

#### Teşhis ve Tayin Sınırları (LOD ve LOQ) Sonuçları

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

**Tablo 41. Elde edilen LOD ve LOQ değerleri**

|                    | RRT  | LOQ(%) | LOD(%) |
|--------------------|------|--------|--------|
| <b>Siklosporin</b> | 0.88 | 0.019  | 0.056  |

#### Stabilite Analiz Sonuçları

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

**Tablo 42. F21 ve F22 formülasyonları görünüş sonuçları**

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

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

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

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

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

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

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

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

| Formülasyonlar ve Periyotlar                                          | p Değeri | Karar Olasılığı |
|-----------------------------------------------------------------------|----------|-----------------|
| F21-Başlangıç/<br>F21- 3.Ay $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ %60 $\pm 5$ RH | 0,4447   | $p > 0,05$      |
| F21-Başlangıç /<br>F21 3.Ay $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ %75 $\pm 5$ RH | 0,0179   | $p \leq 0,05$   |
| F22-Başlangıç /<br>F22-3.Ay $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ %60 $\pm 5$ RH | 0,0147   | $p \leq 0,05$   |
| F22-Başlangıç /<br>F22 3.Ay $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ %75 $\pm 5$ RH | 0,0006   | $p \leq 0,001$  |
| F21-Başlangıç /F22- Başlangıç                                         | 0,9547   | $p > 0,05$      |
| F21 / F22-3.Ay $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ %60 $\pm 5$ RH              | 0,1596   | $p > 0,05$      |
| F21/ F22 3.Ay $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ %75 $\pm 5$ RH               | 0,3033   | $p > 0,05$      |

#### Stabilite Kırılma İndisi Değerleri

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

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

| Kırılma İndisi ( $^{\circ}$ ) (3.Ay) |                                           |                                           |
|--------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Formülasyonlar                       | $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ %60 $\pm 5$ RH | $40^{\circ}\text{C} \pm 2$ %75 $\pm 5$ RH |
| <b>F21</b>                           | 1,3371 $\pm$ 0.035                        | 1,3298 $\pm$ 0.016                        |
| <b>F22</b>                           | 1,3145 $\pm$ 0.023                        | 1,3143 $\pm$ 0.021                        |

## TARTIŞMA

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

DSC ile yapılan erime derecesi tayininde, literature uygun şekilde siklosporin'in erime başlangıcı  $177^{\circ}\text{C}$  olarak bulunmuştur. Literature Ke ve ark. tarafından yapılan çalışma ile karşılaştırıldığında form 3 ile benzer olduğu görülmüştür (154).

FT-IR spektrumu (Şekil ) Ke ve ark. (154) tarafından yapılan çalışma ile karşılaştırıldığında elde edilen piklerin dalga boylarının form 3 ile benzer olduğu görülmüştür. H-NMR ve  $^{13}\text{C}$ -NMR spekturumları (Şekil Şekil ) verilmiştir.

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

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

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

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

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

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



## SONUÇLAR

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## ÖZET

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

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

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

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

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

Siklosporin Oftalmik insert için  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  ve  $\%60 \pm 5$  ve  $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$  ve  $\%75 \pm 5$ 'de 3 ay stabilite takibi yapılmıştır. Stabilite periyodunda sıcaklığın salım süresine etkisi olduğu tespit edilmiştir.

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



## **DEVELOPMENT OF INSERT FORMULATION FOR THE TREATMENT OF DRY EYE DISEASE**

### **SUMMARY**

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

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

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

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

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

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

For the Cyclosporine Ophthalmic insert, 3 months stability was monitored at  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  and  $60\% \pm 5\%$  and  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  and  $75 \pm 5\%$ . It has been determined that the temperature has an effect on the release time during the stability period.

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

## KAYNAKLAR

1. Willoughby CE, Ponzin D, Ferrari S, Lobo A, Landau K, Omid Y. Anatomy and physiology of the human eye: Effects of mucopolysaccharidoses disease on structure and function—a review. *Clinical & Experimental Ophthalmology* (2010);38:2-11.
2. Üstündağ Okur N. Antibiyotik İçeren Çeşitli Oküler Nanotaşıyıcı Sistemlerin İn-vitro-İn-Vivo Değerlendirilmesi Üzerine Çalışmalar, Farmasötik Teknoloji (tez). İzmir; 2012.
3. Malkoç I. Layers of the bulbus oculi: An anatomic and histological review. *The Eur J Med* (2006);38:124-9.
4. Boyd K, Turbert D. Eye anatomy: Parts of the eye and how we see. 2021. <https://www.aao.org/eye-health/anatomy/parts-of-eye>
5. Land, M. F. The human eye: Structure and function. *Nature Medicine*, 1999, 5(11), 1229-1229.
6. <http://gozunaydin.net/goz-anatomisi> (12.10.2022)
7. Dhanapal R, Ratna JV. Ocular drug delivery system: A Review. *Int J Innov Drug Dis* (2012):4-15.
8. <https://www.ceenta.com/patient-resources/the-retina> (12.10.2022)
9. Eghrari AO, Riazuddin SA, Gottsch JD. Overview of the cornea: structure, function, and development. *Progress in Molecular Biology and Translational Science* 2015;134:7-23.
10. <https://tr.wikipedia.org/wiki/Kornea> (12.10.2022)
11. Cornea JS. External diseases, in ophthalmology. Y. M, D. JS (Editörler). Mosby: St. Louis; 2004. s.395-545.
12. P A. Oftalmolojinin esas ve ilkeleri. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2009:74.

13. Kanski JJ, Bowling B. Klinik oftalmoloji sistematik yaklaşım. Güneş Tıp Kitabevleri; 2011:7.
14. Recep OF. Göz anatomisi. Ankara: Dünya Tıp Kitabevi; 2016:2-42.
15. Can B. Göz histolojisi. Ankara: Göz Histolojisi Notları; 2019:5-56.
16. Behar Cohen F. Vectorisation intra-oculaire. Médecine/Sciences 2004;20(6-7):701-6.
17. Eldem T, Eldem, B. Ocular drug, gene and cellular. Delivery Systems and Advanced Therapy Medicinal Products 2018;48(3):132-41.
18. Gaudana R, Ananthula HK, Parenky A, Mitra AK. Ocular drug delivery. AAPS J 2010;12(3):348-60.
19. Gooch N, Molokhia SA, Condie R, Burr RM, Archer B, Ambati BK, vd. Ocular drug delivery for glaucoma management. Pharmaceutics 2012;4(1):197-211.
20. Elgin KU. Oküler enfeksiyonlarda antibiyotik kullanım prensipleri: Subkonjonktival-intravitreal uygulamalar. Türkiye Klinikleri J Ophthalmol-Special Topics 2012;5(2):120-4.
21. Çapan Y. Kontrollü salım sağlayan oral katı dozaj şekilleri. Posyon Derg 4:1-3.
22. Ummadi S, Shravani B, Rao NR, Reddy MS, Sanjeev B. Overview on controlled release dosage form. System 2013;7(8):51-60.
23. <https://acikders.ankara.edu.tr/gozpreparatları/2.Hafta.pdf> (12.10.2022)
24. Özdemir N. Kontrollü salım mekanizmaları notları 2. hafta, Ankara;2018:2-9.
25. Doğanay T. Oftalmik preparatlar. Ankara: Eczacı Odası Yayınları; 2010:1-12.
26. Çapan Y. Kontrollü salım sağlayan oral katı dozaj şekilleri. Posyon Derg 4:1-3.
27. Güngör A, Karataş A, Oküler ilaç taşıyıcı sistemlerde güncel yaklaşımlar. J Lit Pharm Sci 2019;8(2):108-18.
28. Gürsoy AZ. Oküler sistemler. GürsoyAZ (Ed). Kontrollü salım sistemleri. İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını; 2002:197-215.
29. Patel HA, Patel JK, Patel KN, Patel RR. Ophthalmic drug delivery system a review. Der Pharm Let 2010;2(4):100-15.
30. Gürsoy AZ. Göz, kulak ve buruna uygulanan dozaj şekilleri. İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını; 2002:233-44.
31. Tatham A, Sarodia U, Gatrad F. vd. Eye drop instillation technique in patients with glaucoma. Eye 2013;27:1293-8.
32. İnal Ö, Yüksel A. Kontakt lensler ve lens çözeltileri. Ankara Ecz. Fak. Derg J- Fac Pharm 1998;27(1):31-49.

33. Lallemand F, Felt-Baeyens O, Besseghir K, Behar-Cohen F, Gurny R. Cyclosporine a delivery to the eye: A pharmaceutical challenge. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2003;56(3):307-18.
34. Devhadrao NV, Siddhaia M, Review on ocular Insert drug delivery system. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 2018;8(5-s):115-21.
35. Saettone MF, Salminen L. Ocular inserts for topical delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 1995;16(1):95–106.
36. Bawa R. Ocular inserts. Mitra AK (Ed.). *Ophthalmic drug delivery systems*. New York: Marcel Dekker, Inc; 1993; 223.
37. Polat HK. Bakteriyel Keratit Tedavisine Yönelik Besifloksasin Yüklü Oküler İnsertlerin Elektro-Eğirme Yöntemi İle Geliştirilmesi ve Değerlendirilmesi (tez). Ankara: Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2020.
38. Katz IM. Shaped ophthalmic inserts for treating dry eyes syndrome. aUS Patent 4, 343-787.1982.
39. Tangri vd. Basics of ocular drug delivery systems. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences* 2011;2(4):1541-52.
40. Rajput G vd. A review on ophthalmic inserts. *International Journal of Pharma Professional Research* 2013;4(3):912-20.
41. Saettone MF, Salminen L. Ocular inserts for topical delivery. *Adv Drug Del Rev* 1995; 16:95-106.
42. <http://www.rxlist.com/lacrisert-drug.htm> (12.10.2022).
43. Güler A. Yeni ilaç taşıyıcı sistemlerde oküler insertler. *Bezelye Dergi* 2019;1-2.
44. Bourges JL, Bloquel C, Thomas A, Froussart F, Bochot A, Azan F, Gurny R, Benezra D, Behar-Choen F. Intraocular implants for extended drug delivery: Therapeutic applications. *Adv Drug Deliv Rev* 2006;58:1182-202.
45. Tunçay M, Çalış S. İlaç taşıyıcı sistemlerde kullanılan biyoparçalanabilir sentetik ve doğal polimerler. *FABAD J Pharm Sci* 1999;24:109-23.
46. <http://bilsenbesergil.blogspot.com/p/biyoparcalanabilir-polimerler.html> (12.10.2022).
47. Müderrisoğlu E, Çomoğlu T. İlaç taşıyıcı polimerik partiküler sistem formülasyonlarına genel bakış. *Ankara Ecz. Fak. Derg* 2010;39(4):343-368.
48. Gürkan H, HS, Yalabık Kaş M, AA. Streptomycin sulphate microspheres: Dissolution rate studies and release kinetics. *I Microencapsulation* 1987;4(1):39-46.
49. Charoo NA, Kohli K, Ali A, Anwer A. Ophthalmic Delivery of Ciprofloxacin Hydrochloride from Different Polymer Formulations: In Vitro and In Vivo Studies. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2003;29(2):215–21.

50. Rowe RC, Forse SF. The effect of plasticizer type and concentration on the incidence of bridging of intagliations on film-coated tablets. *J Pharm Pharmacol* 1981;33:174-5.
51. Rajput G vd. A Review on ophthalmic inserts. *International Journal of Pharma Professional Research* 2013;4(3):912-20.
52. Varun R, Senthil V, Lavanya K, Ritu H. A brief review on oral film technology. *Int J Res Ayur & Pharm* 2011;2(4):1138-47.
53. Barratt GM Therapeutic applications of colloidal drug carriers. *Pharmaceutical Science & Technology Today* 2000;3(5):163-71.
54. Singh VK, Keservani RK. Application of nanoparticles as a drug delivery system. In *Novel Approaches for Drug Delivery* 2017:364-389.
55. Peppas NA, Reinhard LT. Solute diffusion in swollen membranes. I. A new theory. *Journal of Membrane Science* 15:275-287.
56. Türkyılmaz A, Çilek A, Çelebi N. Mikroemülsiyonlar: Genel özellikleri ve farmasötik amaçla kullanımları. *FABAD J Pharm Sci* 2002;27:27-41.
57. Zhang M, Chen J, Luo L, Xiao Q, Sun M, Liu Z. Altered corneal nerves in aqueous tear deficiency viewed by in vivo confocal microscopy. *Cornea* 2005;24:818-24.
58. <https://www.igh.com.tr/tr/kornea> (12.10.2022).
59. <https://www.aoa.org/healthy-eyes/eye-and-vision-conditions/dry-eye?sso> (12.10.2022).
60. Javadi MA, Feizi S. Dry eye syndrome. *Journal of Ophthalmic & Vision Research* 2011;6(3):192.
61. Erda N. Gözyaşı filmi, yapısı, fizyolojisi ve dinamiği. *Balkan Medical Journal* 1988;(2).
62. Akpek EK, Amescu, Farid M. Dry eye syndrome preferred practice pattern®. *Ophthalmology* 2019;126(1):P286-P334.
63. Öncel B, Kılıç İ, Akova Y. Ön segment cerrahileri ve kuru göz; tanı ve tedavi yaklaşımı. *Türk Oftalmoloji Dergisi* 42(3):227–34.
64. Utine CA. Kuru göz oluşum mekanizması ve sınıflandırılması. *MN Oftalmoloji* 2016;23(1):1-8.
65. Vereertbrugghen A, Galletti JG. Corneal nerves and their role in dry eye pathophysiology. *Experimental Eye Research* 2022;109191.
66. Schaumberg DA, Sullivan DA, Dana MR. Epidemiology of dry eye syndrome. *Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes* 2002;3:989-98.
67. Moss SE, Klein R, Klein BE. Prevalence of and risk factors for dry eye syndrome. *Archives of Ophthalmology* 2000;118(9):1264-8.
68. Gönder KY. İnsanda ağlamanın nöroanatomi. *International Researches in Health and Natural Sciences* 2019.

69. Tsubota K. Tear dynamics and dry eye. *Prog Retin Eye Res* 1998;17(4):565–96.
70. Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry Workshop on clinical trials in dry eyes. *CLAO J* 1995;21(4):222–32.
71. Öter K. Sistemik İzotretonin Gözyaşı Fonksiyonları ve Kornea Endoteli Üzerindeki Kısa Dönem Etkileri (tez). Recep Tayyip Erdoğan Üni Tıp Fak; 2019.
72. Özkaya D. Kuru Göz Tedavisinde Topikal Siklosporinin Etkinliği (tez). Isparta: Süleyman Demirel Üni. Tıp Fakültesi; 2010.
73. McCarty C, Bansal A, Livingston P, Stanislavsky YL, Taylor HL. The epidemiology of dry eye in Melbourne, Australia. *Ophthalmol* 1998;105(6):1114–9.
74. Schaumberg DA, Sullivan DA, Dana MR. Epidemiology of dry eye syndrome. *Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes* 2002;3, 989-98.
75. Baudouin C. The pathology of dry eye. *Survey of Ophthalmology*, 2001;45:S211-S20.
76. Cermak JM, Papas AS, Sullivan RM, vd. Nutrient intake in women with primary and secondary Sjogren’s syndrome. *Eur J Clin Nutr* 2003;57:328-34.
77. Göz K, Epidemiyolojisi SS. Sjögren Sendromu ve İlişkili Kuru Göz Sendromunun İmmunopatolojisi-Derleme. *Türk J Ophthalmol* 2010;40:97-106.
78. Sullivan DA, Belanger A, Cermak JM, vd. Are women with Sjogren’s syndrome androgen deficient? *J Rheumatology* 2003;30:2413-9.
79. Liu, H., Begley, C., Chen, M., Bradley, A., Bonanno, J., McNamara, N. A., ... Simpson, T. (2009). *A Link between Tear Instability and Hyperosmolarity in Dry Eye. Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 50(8), 3671.
80. Perry HD. Dry eye disease: Pathophysiology, classification, and diagnosis. *Am J Manag Care* 2008;14(3):79–87.
81. Gayton JL. Etiology, prevalence, and treatment of dry eye disease. *Clin Ophthalmol* 2009;3:405–12.
82. <https://www.bostonsight.org/dehydration-and-dry-eye/> (12.10.2022).
83. Muslubaş Sayman IB, Kahya A, Özertürk Y. Meibomius bezi disfonksiyonu olan hastalarda gözyaşı fonksiyonu test sonuçları, TR, J. K 2014.
84. [https://eyewiki.org/Dry\\_Eye\\_Syndrome](https://eyewiki.org/Dry_Eye_Syndrome) (12.10.2022).
85. Lemp MA. Basic principles and classification of dry eye disorders, in Lemp MA, Marquandt R (EDS). *The dry eye: A comprehensive guide*. New York: Springer; 1992:101-31.
86. [https://eyewiki.org/Dry\\_Eye\\_Syndrome](https://eyewiki.org/Dry_Eye_Syndrome) (12.10.2022).

87. Sullivan DA. Sex and sex steroid on the dry eye syndrome. Pflugfelder SC, Beuerman Ruo, Stern ME (Editörler). Dry eye and ocular surface disorders. New York: Marcel Dekker, 2004.
88. Altınel M, MA A. Yaşlılık ve göz. Okmeydanı Tıp Dergisi 2013;29(2):110-5.
89. Gündüz ÖU, Baş, ADZ. Kontakt lens kullanımı ile ilişkili kuru göz. MN Oftalmoloji, 2016;23(1):83-90.
90. Kocatürk T, Balıca F, Çakmak H. A vitamini tedavisinin kuru göz hastalığına olan etkisi. 2014.
91. Bostancı ODB. Dijital göz yorgunluğu sendromu ve kuru göz. MN Oftalmoloji 2016;23(1): 96-9.
92. Bayar SA, Akova YA. Kuru göz tedavisinde güncel tedavi yöntemleri. Journal of Experimental and Clinical Medicine 2012;29(2s):58-65.
93. Şimşek HC, Doğru M, Tsubota K. Güncel kuru göz tanısı ve tedavisi. MN Oftalmoloji 2017;24(1):13-8.
94. Doğru M. Kuru göz tanısında yenilikler. MN Oftalmoloji 2016;24:1-5.
95. Cho P, Yap M. Schirmer test. I. a review. Optometry and Vision Science 1993;70(2):152–6.
96. JS, LG, Lozano G, Smaranda A, Martínez-Garchitorena J. BUT and Schirmer test comparative study in relation to dry eye etiology and severity. Archivos de la Sociedad Espanola de Oftalmologia 2005;80(5):289-95.
97. Altaş U, Karaceylan AF, Karagöz S, Karagözoğlu B. Göz kırpma hareketi ile göz Kuruluğunun algılanması, 2017.
98. Bayhan HA, Gürdal C, Takmaz T, Can İ. Kuru göz teşhisinde lissamin yeşili ve Bengal pembesinin karşılaştırılması ve hasta semptomları ile klinik test bulgularının ilişkisinin değerlendirilmesi. Türk Oftalmoloji Dergisi 2010;40(1):29-33.
99. Turhan SA, Toker E. Kuru Göz Hastalarında Topikal Siklosporin Tedavisinin Gözyaşı Menisküs Parametreleri ve Oküler Yüzey Boyanması Üzerine Etkisi. *Türkiye Klinikleri J Ophthalmol*, 2020;29(3), 199-206.
100. Gürdal, C. Kuru göz tedavisinde girişimsel yöntemler. MN Oftalmol 2016;23:25-31.
101. Onsun, N. Siklosporin. *Türkderm: Türk Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi= Turkderm: Turkish Archives of Dermatology and Venereology* 2016;50:28.
102. Yorulmaz A, Metin A. Siklosporin. *Türkiye Klinikleri J Dermatol-Special Topics*. 2014;7(2):19-29.
103. Gülbağ S, Çelebi N. Siklosporin A ve Siklosporin A Formülasyonlarında Yeni Yakla, simlar. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences* 2017;42(1):39.

104. Özkaya, D. Kuru göz tedavisinde topikal siklosporinin etkinliği. MN Oftalmol 2010;23:35-41.
105. Sinclair NR. Low-dose steroid therapy in cyclosporine-treated renal transplant recipients with well-functioning grafts. The Canadian Multicentre Transplant Study Group. CMAJ: Canadian Medical Association Journal 1992;147(5):645.
106. Şahin A. Kuru göz tedavisinde topikal siklosporin kullanımı. MN Oftalmoloji 2016;23(1):32-9.
107. Kaswan RL, Salisbury MA, Ward DA. Spontaneous canine keratoconjunctivitis sicca. A useful model for human keratoconjunctivitis sicca: Treatment with cyclosporine eye drops. Arch Ophthalmol 1989;107:1210-16.
108. Gunduz K, Ozdemir O. Topical cyclosporin treatment of keratoconjunctivitis sicca in secondary Sjogren.s syndrome. Acta Ophthalmol 1994;72:38-42.
109. Laibovitz RA, Solch S, Andrianao J. Pilot trial of cyclosporin 1% ophthalmic ointment in the treatment of keratoconjunctivitis sicca. Cornea 1993;12:315-23.
110. Şahinoğlu N. Kuru göz tedavisinde siklosporin A kullanımı (tez). İstanbul: İstanbul Üni. Tıp Fakültesi;2008.
111. Gedik H, Gedik G. Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS) Sınıf 2 Madde ile Kendiliğinden Emülsifiye Olabilen Sistemlerin Geliştirilmesi ve İn-vitro Değerlendirilmesi (tez). Sağlık Bilimleri; 2020.
112. Galloway NR, Amoaku WM, Galloway PH, Browning AC. Basic anatomy and physiology of the eye. Common Eye Diseases and their Management 2016;7-16.
113. Stevenson D, Tauber J, Reis BL. Efficacy and safety of cyclosporine ophthalmic emulsion in the treatment of moderate-to-severe dry eye disease: A dose-ranging, randomised trial. The cyclosporine A phase 2 study group. Ophthalmol 2000;107(5):967-74.
114. Sall K, Stevenson OD, Mundorf TK, Reis BL. Two multicenter, randomized studies of the efficacy and safety of cyclosporine ophthalmic emulsion in moderate to severe dry eye disease. CsA phase 3 study group. Ophthalmol 2000;107(4):631-9.
115. Çatak O, Çeliker FÜ. Posterior blefaritli hastalarda topikal siklosporin A tedavisinin gözyaşı film instabilitesine etkisi. Dicle Tıp Dergisi, 2013;40(3):446-8.
116. Özkaya D, Bardak Y. Kuru göz tedavisinde topikal siklosporinin etkinliği. MN Oftalmoloji 2019;26(3):116-22.
117. Tekcan H, Akagün N, Burcu A. Kuru göz tedavisinde % 0.05'lik topikal siklosporin A'nın etkinliği. Haydarpaşa Numune ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi 2014:161.
118. Şevik Ö, Evren Ö. Efficacy of cyclosporine a 0.05% in the treatment of patients with dry eye syndrome. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi 8(3):65-72.

119. Guzey M, Karaman SK, Satıcı A, Ozardalı I, Sezer S, Bozkurt O. Efficacy of topical cyclosporine A in the treatment of severe trachomatous dry eye. Clin Şahin A. Kuru Göz Tedavisinde Topikal Siklosporin Kullanımı. MN Oftalmoloji 2016;23(1):32-9.
120. Demiryay E, Yaylalı V, Cetin EN, Yıldırım C. Effects of topical cyclosporine a plus artificial tears versus artificial tears treatment on conjunctival goblet cell density in dysfunctional tear syndrome. Eye Contact Lens 2011;37:312-5.
121. Mike F, Pehlivan SB, Öner L. Farmasötik Ürünlerde Tasarımla Kalite Yaklaşımı. Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy 2014;(2):203-30.
122. Lionberger RA, Lee SL, Lee L, Raw A, Yu LX. Quality by design: Concepts for ANDAs. AAPS J 2008;10(2):268-76.
123. Ozul F, Can KR, Bilgiç S, Şenel S. İlaç endüstrisinde proses validasyonu ve tasarımla kalite (QbD) yaklaşımı. Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences 2(47):242-65.
124. Aksu B İlaçta kalite tasarımı (QbD) ve ilgili yasal düzenlemeler. İstanbul: Neta Matbaacılık; 2013.
125. Aksu B. Tasarımla kalite (Quality by design: QbD) ve kalite risk yönetimi. Marmara Pharmaceutical Journal 2015;19:2-18.
126. Mesut B, Özsoy Y, Aksu B. The place of drug product critical quality parameters in quality by design (QBD). Turk J Pharm Sci 2015;12(1):75-92.
127. Melamud PA, A brief history of US FDA good manufacturing practices. New Jersey: ISPE NJ Chapter Day; 2009.
128. Aksu B, De Beer T, Folestad S vd. Strategic funding priorities in the pharmaceutical sciences allied to Quality by Design (QbD) and Process Analytical Technology (PAT). European Journal of Pharmaceutical Sciences 2012;47(2):402-5.
129. Yüce M, Çapan Y. Farmasötik tasarımla kalite: Tasarımla kalite yaklaşımı ve unsurları. Ankara Ecz Fak Derg 2010;39(4):369-90.
130. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Pharmaceutical Development Q8(R2), 2009.
131. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q9%20Guideline.pdf> (10.12.2022).
132. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q9%20Guideline.pdf> (10.12.2022).
133. Aksu B Tasarımla kalite (Quality By Design: QbD) ve kalite risk yönetimi. Marmara Pharmaceutical Journal 2051;19(1):12-8.
134. Baber N. International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use (ICH). British Journal of Clinical Pharmacology 1994;37(5):401.

135. Cogdill RP, Drennen JK. Risk-based quality by design (QbD): A Taguchi perspective on the assessment of product quality, and the quantitative linkage of drug product parameters and clinical performance. *Journal of Pharmaceutical Innovation* 2008;3(1):23-29.
136. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q10%20Guideline.pdf> (10.12.2022).
137. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q11%20Guideline.pdf> (10.12.2022).
138. Aksu B, Mesut B. Quality by design (QbD) for pharmaceutical area. *Journal of Faculty of Pharmacy of Istanbul University* 2015;45(2):233-51.
139. Lionberger RA, Lee SL, Lee L, Raw A, Yu LX. Quality by design: Concepts for ANDAs. *The AAPS Journal* 2008;10(2):268-76.
140. Yüce M, Çapan, Y. Pharmaceutical quality by design: Quality by design approach and its elements *Farmasötik tasarımıyla kalite: Tasarımla kalite yaklaşımı ve unsurları*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi 2010;39(4).
141. Garcia T, Cook G, Nosal R. PQLI key topics – criticality, design space and control strategy. *J Pharm Innov* 2008;3:60-8.
142. Demir Ö, Aksu B, Özsoy, Y. Araştırma geliştirme çalışmalarında tasarımıyla kalite yaklaşımı ve yapay sınır ağı modellemesinin önemi. *Türkiye Klinikleri J Pharm Sci*, 2015;4(1):17-35.
143. Snee RD. Improvement alphabet: QbD, PAT, LSS, DOE, SPC—how do they fit together?. *Analytical Method Validation*, 3. Cilt.
144. Singh BN. Product development, manufacturing, and packaging of solid dosage forms under QbD and PAT paradigm: DOE case studies for industrial applications. *AAPS PharmSciTech* 2019;20(8):1-49.
145. Fukuda IM, Pinto CFF, Moreira CDS, Saviano AM, Lourenço FR. Design of experiments (DoE) applied to pharmaceutical and analytical quality by design (QbD). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2018;54.
146. Pramod K, Tahir MA, Charoo NA, Ansari SH, Ali J. Pharmaceutical product development: A quality by design approach. *International Journal of Pharmaceutical Investigation* 2016;6(3):129.
147. Van Houwelingen JC, Le Cessie S. Predictive value of statistical models. *Statistics in Medicine* 1990;9(11):1303-25.
148. Lee KY, Mooney DJ. Alginate: Properties and biomedical applications. *Prog Polym Sci* 2012;37(1):106-26.
149. Pawar PK, Katara R, Majumdar DK. Design and evaluation of moxifloxacin hydrochloride ocular insert. *Acta Pharmaceutica* 2012;62(1):93-104.
150. Attia MA, Kassem MA, Safwat SM. In vivo performance of [3H] dexamethasone ophthalmic film delivery systems in the rabbit eye. *International Journal of Pharmaceutics* 1988;47(1-3):21-30.

151. Wu L, Ye Z, Zhang X, Cheng Y, Zheng L, Qiu H, Liu X. Comparison of sample preparation methods, validation of an UPLC–MS/MS procedure for the quantification of cyclosporine A in whole blood sample. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2021;193:113672.
152. Taylor PJ, vd. Microscale high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry assay for cyclosporin A in blood. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1998;705(2):289-94.
153. Toole B, Gechtman C, Dreier J, Kuhn J, Gutierrez MR, Barrett A, Niederau C. Evaluation of the new cyclosporine and tacrolimus automated electrochemiluminescence immunoassays under field conditions. *Clin Lab* 2015;61(9):1303-15.
154. Ke W, Anu G, Richard G. A new hydrate of cyclosporine: Structural and physicochemical characterization. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2018;107(12):3070-9.
155. Patel S, Pathak D, Patel D. UV Spectroscopy Assay Method Development and Validation of Dimethyl Fumarate and Cyclosporine Drugs in Nano Dosage Forms, 2020.
156. Salm P, Taylor PJ, Lynch SV, Warnholtz CR, Pillans PI. A rapid HPLC-mass spectrometry cyclosporin method suitable for current monitoring practices. *Clinical Biochemistry* 2005;38(7):667-73.
157. El Tayar N, Mark AE, Vallat P, Brunne RM, Testa B, van Gunsteren WF. Solvent-dependent conformation and hydrogen-bonding capacity of cyclosporin A: evidence from partition coefficients and molecular dynamics simulations. *Journal of Medicinal Chemistry* 1993;36(24):3757-64.
158. Pan H, vd. Postformulation peptide drug loading of nanostructures. *Methods Enzymol* 2012;508:17-39.

## ŞEKİLLER LİSTESİ

### ŞEKİLLER

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

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

## TABLÖLAR

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

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

## ÖZGEÇMİŞ

Lise öğrenimimi Tokat Mehmet Akif Ersoy

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