



T.C.

ALTINBAŞ ÜNİVERSİTESİ

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Farmasötik Bilimler Ana Bilim Dalı

**TOPIKAL AKNE TEDAVİSİ İÇİN BENZOİL
PEROKSİT YÜKLÜ HPMC FİLMİNİN
GELİŞTİRİLMESİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Hasan Ali HUSSEIN

Doktora Tezi

Danışman

Prof. Dr. Neşe Buket AKSU

İstanbul, 2023

**TOPIKAL AKNE TEDAVİSİ İÇİN BENZOİL PEROKSİT YÜKLÜ HPMC
FİLMİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Hasan Ali HUSSEIN

Farmasötik Bilimler Ana Bilim Dalı

Doktora Tezi

ALTINBAŞ ÜNİVERSİTESİ

2023

Hasan Ali HUSSEIN tarafından hazırlanmış ve 28/12/2023 tarihinde sunulmuş “TOPIKAL AKNE TEDAVİSİ İÇİN BENZOİL PEROKSİT YÜKLÜ HPMC FİLMİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ” başlıklı Farmasötik Bilimler Ana Bilim Dalında Doktora Tezi olarak **oy birliği** ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Prof. Dr. Neşe Buket

AKSU

Danışman

Tez Savunma Sınavı Jüri Üyeleri:

Prof. Dr. Neşe Buket AKSU

Eczacılık Fakültesi,
Eczacılık Teknolojisi
Bilimleri Bölümü,
Altınbaş Üniversitesi

Prof. Dr. Yıldız ERGİNER

Eczacılık Fakültesi,
Eczacılık Teknolojisi
Bölümü,
İstanbul Üniversitesi

Prof. Dr. Sevgi GÜNGÖR

Eczacılık Fakültesi,
Eczacılık Teknolojisi
Bölümü,
İstanbul Üniversitesi

Prof. Dr. İsmail Tuncer DEĞİM

Eczacılık
Fakültesi Farmasötik
Teknoloji Bölümü,
Biruni Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Genada SİNANİ

Eczacılık Fakültesi,
Eczacılık Teknolojisi
Bilimleri Bölümü,
Altınbaş Üniversitesi

Bu tezin Doktora tezi olarak bütün şartları sağladığımı beyan ederim.

Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik davranışlara uygun olarak edinildiğini ve sunulduğunu beyan ederim. Ayrıca, bu kuralların ve davranışların gerektirdiği şekilde, bu çalışmada, orijinal olmayan tüm materyalleri ve sonuçları tamamen alıntı yaptığımı ve referans gösterdiğimi de beyan ederim.

Hasan Ali HUSSEIN

İmzası

İTHAF

Sevgili eşime ve çocuklarıma ithaf ediyorum



ÖZET

TOPIKAL AKNE TEDAVİSİ İÇİN BENZOİL PEROKSİT YÜKLÜ HPMC FİLMİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ

HUSSEIN, Hasan Ali

Doktora, Farmasötik Bilimler Anabilim Dalı, Altınbaş Üniversitesi

Danışman: Prof. Dr. Neşe Buket AKSU

Tarih: Aralık / 2023

Sayfa: 108

Bu çalışmanın amacı QbD yaklaşımı kapsamında, acne tedavisinde kullanılan benzoil peroksit (BPO) için yeni bir dozaj şekli geliştirmektir. Piyasada bulunan BPO'nun diğer dozaj şekilleri, solüsyon ve jel olarak bulunmaktadır. Bu dozaj şekillerin en belirgin olumsuz yönleri yüksek doz içermek, kesin dozun uygulamasının zor olması, uygulandıktan sonra istenmeyen bölgelere yayılması ve hastalar tarafından yanlış kullanılmasıdır. Geçen sebeplerden dolayı ilacın yan etkileri sık sık görülmektedir. Bölgesel hedef sağlayan polimerik filmler kolay kullanılmasının yanı sıra daha düşük dozla tedavi etmenin şansını sunmaktadır. Hidrofilik polimerler hızlı dağılılabilmek özelliğine sahip olmaları için hızlı ilaç salımı temin edebilmektedirler. BPO içeren polimerik filmler çözücü dökme yöntemiyle laboratuvar ölçekli olarak üretilmiştir. Polimer olarak HPMC E15, plastikleştirici olarak PEG ve PG, Sürfaktan olarak da Tween80 tercih edilmiştir. Tasarım alanı belirlemek için filmin hedef ürün kalitesi, kritik kalite özellikleri, kritik materyal nitelikleri ve kritik proses parametreleri tespit edilmiştir. MODDE 12 yazılım kullanarak alan tasarımı bulunup optimum formül hazırlanmıştır. Elde edilen optimum formüle başta olmak üzere DSC, FESEM, MTT ve diğer kaliteyi belirleyen analizler gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Akne, Benzoil Peroksit, Topikal Tedavi, Polimerik Film, HPMC.

ABSTRACT

DEVELOPMENT AND EVALUATION OF BENZOYL PEROXIDE LOADED HPMC FILM FOR TOPICAL ACNE TREATMENT

HUSSEIN, Hasan Ali

PhD, Department of Pharmaceutical Sciences, Altınbaş University,

Supervisor: Prof. Dr. Neşe Buket AKSU

Date: December / 2023

Pages: 108

The aim of this study is to develop a new dosage form for benzoyl peroxide (BPO) which is used in acne treatment, within the scope of the QbD approach. Other dosage forms of BPO on the market are available as solutions and gels. The most obvious negative aspects of the available dosage forms are they contain high doses, difficult to apply the exact dose, they may spread to the unwanted areas after application, and they may be misused by patients. For the above reasons, side effects of the drug are frequently observed between users of these dosage forms. Polymeric films that provide regional targeting offer the opportunity to treat acnes with lower doses as well as being easy to use. Hydrophilic polymers that intended to use can provide rapid drug release due to their rapid dispersibility. Polymeric films containing BPO were produced on a laboratory scale by using solvent casting method. As formulation ingredients HPMC E15 was preferred as polymer, PEG and PG as plasticizers, and Tween 80 as surfactant. To determine the design area, the film's target product quality, critical quality characteristics, critical material characteristics and critical process parameters were determined. Using MODDE 12 software, the area design was found, and the optimum formula prepared. Quality-determining analyzes like DSC, FESEM, MTT and others were carried out to the produced optimum formula.

Keywords: Acne, Benzoyl Peroxide, Topical Treatment, Polymeric Film, HPMC.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
TABLO LİSTESİ	xiv
ŞEKİL LİSTESİ	xvi
KISALTMALAR	xviii
SEMBOL LİSTESİ	xix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 DERİ HAKKINDA BİLGİLER	3
2.1.1 Epidermis	3
2.1.2 Dermis	4
2.1.3 Hipodermis.....	4
2.1.4 Cilt Geçirgenliği.....	5
2.1.5 Cilt Geçirme Yolları.....	5
2.1.5.1 Transselüler yol	6
2.1.5.2 Hücreler arası yol	6
2.1.5.3 Yan geçiş yolu.....	6
2.2 AKNE	7
2.2.1 Klinik Özellikler	7
2.2.2 Tedavi.....	8
2.2.3 Tedavi Sistemini Seçmek.....	9
2.2.4 Topikal Tedaviler	9

2.2.4.1 Topikal retinoidler.....	9
2.2.4.2 Topikal antibiyotikler	10
2.3 BENZOİL PEROKSİT HAKKINDA GENEL BİLGİLER	10
2.3.1 Benzoil Peroksit' in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	10
2.3.2 Benzoil Peroksit' in Farmakodinamik Özellikleri	11
2.3.3 Benzoil Peroksit' in Farmakokinetik Özellikleri	12
2.3.4 Benzoil Peroksit' in Akne Tedavisinde Kullanımı	12
2.3.5 Benzoil Peroksit' in Güvenliği ve Tolere Edilebilirliği.....	12
2.3.6 Piyasadaki Preparatları.....	13
2.4 TOPIKAL HİDROFİLİK POLİMER FİMLER.....	13
2.4.1 Topikal Film Formülasyonlarının Bileşenleri.....	13
2.4.1.1 Etkin madde	13
2.4.1.2 Polimerler.....	14
2.4.1.3 Çözücüler	15
2.4.1.4 Plastikleştiriciler (Plasticizers).....	15
2.4.1.5 Penetrasyon arttırıcılar (Enhancers).....	16
2.5 QBD HAKKINDA GENEL BİLGİLER	16
2.5.1 Tasarımla Kalite Basamakları.....	17
2.5.1.1 Hedef ürün kalite profili (QTPP)	17
2.5.1.2 Kritik kalite özellikleri	18
2.5.1.3 Risk değerlendirilmesi	18
2.5.1.4 Kritik materyal özellikleri (CMA) ve kritik proses parametreleri (CPP)	19
2.5.1.5 Deney tasarımı (DoE)	19
2.5.1.6 Tasarım alanının tanımlanması (DS).....	20
2.5.1.7 Kontrol stratejisinin belirlenmesi.....	20

2.5.1.8 Yaşam döngüsü yönetimi ve sürekli iyileştirme	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
3.1 KULLANILAN KİMYASAL MADDE, ARAÇ VE GEREÇLER.....	22
3.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	22
3.1.2 Kullanılan Araç ve Gereçler	23
3.1.3 Kullanılan Bilgisayar Programları	23
3.2 YÖNTEM VE DENEYLER	24
3.2.1 BPO'nun Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi	24
3.2.1.1 UV spektrum tayini	24
3.2.1.2 FT-IR spektrumu tayini.....	24
3.2.1.3 Erime derecesi tayini.....	24
3.2.1.4 BPO Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi.....	24
3.2.1.5 Çözünürlük tayini.....	25
3.2.2 HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) ile analitik yöntem geliştirme ve validasyon çalışmaları.....	25
3.2.2.1 Doğrusallık	26
3.2.2.2 Kesinlik	26
3.2.2.3 Doğruluk ve seçicilik	26
3.2.2.4 Teşhis ve tayin sınırları (LOD ve LOQ)	27
3.2.2.5 Dayanıklılık.....	28
3.3 ÖN FORMÜLASYON ÇALIŞMALARI.....	28
3.4 FORMÜLASYON GELİŞTİRME İÇİN TASARIMLA KALİTE (QBD) YAKLAŞIMI.....	29
3.4.1 Kalite Hedef Ürün Profili (QTPP)	29
3.4.2 Kritik Kalite Özellikleri (CQA)	30
3.4.3 Kritik Materyal Nitelikleri (CMA) Tanımlaması.....	31

3.4.4 Kritik Proses Parametreleri (CPP)	31
3.4.5 Risk Değerlendirme Çalışmaları	31
3.4.5.1 Başlangıç risk değerlendirilmesi	32
3.4.5.2 Hata türü ve etkileri Analizi (FMEA)	33
3.4.6 Deney Tasarımı Çalışmaları.....	34
3.5 FORMÜLASYON HAZIRLAMA	37
3.6 TASARIM ALANI VE OPTİMİZASYON ÖNCESİ KARAKTERİZASYON ÇALIŞMALARI	37
3.6.1 Ağırlık Tekdüzeligi	37
3.6.2 Kalınlık.....	37
3.6.3 Nem İçeriği	37
3.6.4 pH Tayini	38
3.6.5 Gerilme Direnci ve Esneklik.....	38
3.7 FORMÜLASYONUN OPTİMİZASYONU VE TASARIM ALANAI.....	40
3.7.1 Optimum Formülasyon Hazırlığı	40
3.7.2 Optimum Formülasyonun Karakterizasyonu	41
3.7.2.1 Görsel inceleme.....	41
3.7.2.2 Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskop (FESEM) incelemesi	41
3.7.2.3 Optimum filmin diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi	41
3.7.2.4 Ağırlık tekdüzeligi	41
3.7.2.5 Kalınlık.....	41
3.7.2.6 pH.....	41
3.7.2.7 Gerilme direnci ve esneklik	42
3.7.2.8 Nem içeriği.....	42
3.7.2.9 Dağılma testi	42

3.7.2.10 Katlama direnci	42
3.7.2.11 İçerik tekdüzeliği.....	42
3.7.2.12 Dissolüsyon testi çalışmaları.....	43
3.7.2.13 Sitotoksisite çalışmaları	43
3.7.2.14 Stabilite çalışmaları	44
4. BULGULAR.....	45
4.1 BPO'NUN FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ İLE İLGİLİ BULGULAR.....	45
4.1.1 UV Spektrum Bulguları	45
4.1.2 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektrumu Bulguları.....	45
4.1.3 Erime Derecesi Tayini Bulguları	46
4.1.4 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analiz Sonuçları.....	46
4.1.5 Çözünürlük Tayini Bulguları	47
4.2 BPO TAYİNİ İÇİN KULLANILAN ANALİTİK METOT VE VALİDASYONUNA AİT BULGULAR	47
4.2.1 Doğrusallık Bulguları.....	47
4.2.2 Kesinlik Bulguları	49
4.2.3 Doğruluk ve Seçicilik Bulguları	49
4.2.4 Teşhis ve Tayin Sınırları (LOD ve LOQ) Bulguları	50
4.2.5 Dayanıklılık Bulguları.....	50
4.3 ÖN FORMÜLASYON BULGULARI	51
4.4 TASARIM ALANI VE OPTİMİZASYON ÖNCESİ KARAKTERİZASYON ÇALIŞMALARI BULGULARI.....	51
4.4.1 Ağırlık Tekdüzeliği Bulguları	51
4.4.2 Kalınlık Bulguları	52
4.4.3 pH Bulguları.....	53

4.4.4 Nem Oranı Bulguları.....	54
4.4.5 Gerilme Direnci ve Esneklik Bulguları.....	55
4.5 TASARIM ARALIĞI VE FORMÜLASYON OPTİMİZASYON SONUÇLARI ..	56
4.5.1 Optimum Formülasyon Hazırlama Sonuçları	60
4.5.2 Optimum Formülasyonun Karakterizasyon Sonuçları.....	61
4.5.2.1 Fiziksel ve görsel inceleme sonuçları	61
4.5.2.2 Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskop (FESEM) sonuçları.....	61
4.5.2.3 Optimum filmin diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) Sonuçları.....	65
4.5.2.4 Ağırlık tekdüzeliği sonuçları.....	65
4.5.2.5 Kalınlık sonuçları	66
4.5.2.6 pH.....	66
4.5.2.7 Gerilme direnci ve esneklik sonuçları	66
4.5.2.8 Nem içeriği sonuçları	66
4.5.2.9 Dağılma testi sonuçları.....	67
4.5.2.10 Katlama direnci sonuçları	67
4.5.2.11 İçerik tekdüzeliği sonuçları	67
4.5.2.12 Dissolüsyon testi sonuçları.....	68
4.5.2.13 Sitotoksosite çalışmaları sonuçları	68
4.5.2.14 Stabilite çalışmaları sonuçları	69
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	71
REFERANSLAR	80

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1: BPO'nun Kimyasal Özellikleri.	11
Tablo 2.2: Topikal Sistemlerde Kullanılan Solventler	15
Tablo 3.1: Kullanılan Kimyasal Maddeler.	22
Tablo 3.2: Kullanılan Araç, ve Gereçler.....	23
Tablo 3.3: HPLC analiz yöntemi parametreleri.....	25
Tablo 3.4: Yardımcı Maddelerin Stok Miktarları.....	27
Tablo 3.5: Ön Formülasyon Çalışmalarında Kullanılan Konsantrasyonları.	28
Tablo 3.6: BPO film hedef ürün kalite profili (QTPP).....	29
Tablo 3.7: BPO Filmin Kritik Kalite Özellikleri (CQA).....	30
Tablo 3.8: Risk Sınıflandırması.....	33
Tablo 3.9: Risk Değerlendirme Göstergesi.	33
Tablo 3.10: Hata Türü ve Etkileri Analizi (FMEA)	34
Tablo 3.11: Girdi Değişkenlerinin Tanımlanması.....	35
Tablo 3.12: Tasarımdaki Yanıtlar.....	36
Tablo 3.13: Deney Tasarım Matrisi.....	36
Tablo 3.14: Tekstür Analiz Cihazının Test Parametreleri.....	39
Tablo 3.15: Optimum Formülasyon Değerleri.	40
Tablo 4.1: Alan Değerleri.....	48
Tablo 4.2: Kesinlik Bulguları.	49
Tablo 4.3: Doğruluk Bulguları.	49
Tablo 4.4: BPO'nun Dayanıklılık Bulguları.	51
Tablo 4.5: Minimum ve Maksimum Ön Formülasyon Değerleri.....	51
Tablo 4.6: Ağırlık Tekdüzeliliği Bulguları	52

Tablo 4.7: Kalınlık Tekdüzelıği Bulguları.	53
Tablo 4.8: pH Bulguları.....	54
Tablo 4.9: Nem Oranı Bulguları.....	55
Tablo 4.10: Gerilme Direnci ve esneklik Bulguları.	56
Tablo 4.11: Her Yanıt İçin İstatistiksel Değerler.	57
Tablo 4.12: Tasarım Alanı Değerleri (A/A Oranı Şeklinde Verilmiştir).	59
Tablo 4.13: Optimum Ağırlık Sonuçları.	65
Tablo 4.14: Optimum Kalınlık Sonuçları.	66
Tablo 4.15 Optimum Gerilme direnci ve esneklik Sonuçları.....	66
Tablo 4.16 Optimum Nem Oranları Sonuçları.	67
Tablo 4.17 Dağılma Testi Sonucu.	67
Tablo 4.18 Katlama Direnci Sonucu.	67
Tablo 4.19 İçerik Tekdüzelik Sonuçları.	67
Tablo 4.20: Dissolüsyon Testi Sonuçları.....	68
Tablo 4.21 Sitotoksisite Test Sonuçları.....	68
Tablo 4.22 Stabilite alıŐmalarına Ait Ağırlık, pH ve Kalınlık Bulguları.....	69
Tablo 4.23 Stabilite alıŐmalarına Ait Etkin Madde İçeriği Bulguları.....	69
Tablo 4.24 Stabilite alıŐmalarına Ait Gerilme direnci ve esneklik Sonuçları.....	70

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1: Deri Tabakaları.....	3
Şekil 2.2: Ciltten Geçiş Yolları [18].....	6
Şekil 2.3: Enflamatuvar Olmayan Akne.....	8
Şekil 2.4: BPO Molekül Yapısı.....	11
Şekil 2.5: HPMC Kimyasal Yapısı.....	15
Şekil 2.6: Tasarımla Kalitenin Unsurları.....	17
Şekil 3.1: Ishikawa Diyagramı.....	32
Şekil 3.2: Nem Ölçer Cihazı.....	38
Şekil 3.3: Tekstür Analiz Cihazı.....	39
Şekil 4.1: BPO UV Spektrumu.....	45
Şekil 4.2: BPO FTIR Spektrumu.....	46
Şekil 4.3: BPO'nun DSC Termogramı.....	47
Şekil 4.4: Kalibrasyon Grafiği.....	48
Şekil 4.5: Seçicilik Sonuçları.....	50
Şekil 4.6: BPO ve Mobil Faza Ait Kromatogram.....	50
Şekil 4.7: Tasarım Alanı.....	58
Şekil 4.8: Kalan Normal Olasılık.....	59
Şekil 4.9: Katsayı Grafiği.....	60
Şekil 4.10: BPO Yüklü Optimum Formülasyon.....	61
Şekil 4.11: Boş HPMC Filmin FESEM x10000 Görüntüsü.....	62
Şekil 4.12: Boş HPMC Filmin FESEM x25000 Görüntüsü.....	62
Şekil 4.13: Boş HPMC Filmin FESEM x100000 Görüntüsü.....	63
Şekil 4.14: BPO İçeren Filmin FESEM x10000 Görüntüsü.....	63

Şekil 4.15: BPO İçeren Filmin FESEM x25000 Görüntüsü.....	64
Şekil 4.16: BPO İçeren Filmin FESEM x100000 Görüntüsü.....	64
Şekil 4.17: Optimum Filmin DSC Termogramı.	65
Şekil 4.18: BPO Çözünme Hızı Grafiği.	68



KISALTMALAR

PBO	:	Benzoil Peroksit
P. acnes	:	Propionibacterium Acnes
THF	:	Topikal Hidrofilik Film
HPMC	:	Hidroksipropil Metil Selüloz
FDA	:	ABD Gıda ve İlaç İdaresi
ACN	:	Asetonitril
QTPP	:	Hedef Ürün Kalite Profili
QbD	:	Tasarımla kalite
CQA	:	Kritik Kalite Niteliklerinin
ICH	:	Uluslararası Harmonizasyon Topluluğu
DoE	:	Deney Tasarımı
FMEA	:	Başarısızlık Modu ve Etkileri Analizi
CMA	:	Kritik Materyal Özellikleri
CPP	:	Kritik Proses Parametreleri
HPLC	:	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

SEMBOL LİSTESİ

μ : Micro Gram

λ : Dalga Boyu



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Deri, genellikle insan vücudunun en büyük organı olarak bilinmektedir. Deri üç ana katmandan oluşmaktadır, bunlarda: epidermis, dermis ve hipodermis. Deri, birçok özelleşmiş hücre ve yapı içeren ve sürekli değişen bir organdır. Patojenlere karşı korunmada en önemli rolü oynamaktadır. Aynı zamanda cildin önemli görevlerinden biri çevreden duyuşal bilgileri toplamaktır. Ayrıca vücudu hastalıklardan koruyan ve bağışıklık sisteminde aktif rol oynayan organdır. Cildin diğere bir kritik önemi vücudun iyi çalışması için uygun sıcaklığını korumaktır.

Cilt ilaç vermek için önemli bir uygulama yolu olmaktadır. Topikal, bölgesel ve transdermal gibi, farklı şekillerde ilacı vermek için kullanılmaktadır. Cilde uygulamak için çeşitli dozaj formları kullanılabilir ve hastalar tarafından kabul görmektedir. Uygulama yolları arasından topikal uygulama ek avantaj sağladığı için genel olarak tercih edilmektedir. Avantajlara örnek verilirse, deriye koruyucu ya da yumuşatıcı etkiyi vermekle beraber tedavi edici ajanlarla lokal aktivite elde etmek mümkündür [1].

Akne vulgaris, ergenlerin ve genç yetişkinlerin yaklaşık %70-80'ini etkileyen yaygın bir deri hastalığıdır. Aknenin patogenezi karmaşıktır, ancak bilimsel kanıtlar bunun sonucunun sebese hiperplazi, foliküler hiperkeratinizasyon, bakteriyel hiperkolonizasyonun yanı sıra bağışıklık reaksiyonları ve inflamasyonu içerdiğini göstermektedir [2]. *Propionibacterium acnes* (P. acnes) fırsatçı bir patojen olarak kabul edilmektedir. P. acnes bir dizi enfeksiyona neden olmanın yanı sıra bir dizi inflamatuvar durumla ilişkilidir. Birinci derecede, acne vulgaris'te role oynadığı ile tanılmaktadır ve hatta hastalığın inflamatuvar fazına katkıda bulunduğu düşünülmektedir [3].

Benzoil peroksit (BPO) kullanımı 1960'larda ortaya çıktı ve günümüzde akne için en yaygın kullanılan topikal ajanlardan biri haline gelmiştir. Hem reçetesiz hem de reçeteli formülasyonlarda %2.5 ile %10 arasındaki konsantrasyonlarda mevcuttur. BPO, lipofilik bir moleküle olarak stratum corneum'a nüfuz edebilmektedir ve geçiş yaptıktan sonra benzoik asit'e dönüşerek hızla parçalanıp ve pilosebese foliküle girebilmektedir. Folikülde bozulmadan önce BPO, bakteri hücre zarlarındaki proteinleri oksitleyen güçlü bir serbest radikal üreticisidir. BPO topikal uygulamasından sonra sebese folikülde P. acnes popülasyon sayılarında hızlı bir azalma yaratmaktadır [4].

İlaç geliştirmesine ve üretimine yönelik son gerçekleşen değişiklikler ve sınırlı olan kaynaklardan dolayı geleneksel farmasötik kalite güvencesi yaklaşımı yetersiz kalmıştır, bu da alanlarda yenilikçi yaklaşımlar ve araştırmalara yol açmıştır. Tasarımla Kalite (QbD) yaklaşımı, 2005'te ICH Q8'in onaylanmasından sonra son 10 yıl içerisinde ilaç endüstrisinde hızla önem kazanmıştır. QbD, hedef ürünün kalite profilinin (QTPP) anlaşılmasına ve sırasındaki risklerinin değerlendirilmesine dayanmıştır [5]. Farmasötik dozaj formlarının tasarımı ve geliştirilmesi ilacın aktif içeriği, yardımcı maddeleri ve Ar-Ge aşamasında kullanılan süreçler ve tasarım alanları dahil olmak üzere kritik kalite nitelikleri belirlenerek, ilacın yaşam döngüsü boyunca çok yönlü izleme gerçekleştirilebilmiştir. Bir farmasötik ürünün kalitesi, molekülün güvenliğine, etki mekanizmasına ve biyolojisinin anlaşılmasına bağlıdır. QbD yaklaşımı, farmasötik kaliteyi daha iyi bir şekilde yakalamanın anlamına gelmektedir, ayrıca formülasyon ve üretim değişkenlerinin anlaşılması ve kontrolü daha iyi bir şekilde sağlanmaktadır [6].

Topikal tedavinin etkinliği, ilacın fizikokimyasal özelliklerine, hastanın tedavi rejimine bağlılığı ve ayrıca sistemin deri bariyerinden başarılı bir şekilde geçmesine bağlanmıştır. İlaçların topikal ve dermatolojik uygulamasına yönelik geleneksel formülasyonlar, zayıf geçirgenlik ve riskli hasta uyumu gibi belirli sınırlamalara sahiptir. İlacın etkili yanıt vermesi için uygulanan maddeler yeterli süre boyunca tedavi bölgesinde tutulması gerekmektedir. Topikal hidrofilik polimer filmler, geleneksel topikal ve transdermal formülasyonlara alternatif olarak kullanılabilen yeni bir yaklaşımdır. Topikal filmlerin diğer dozaj formlarına kıyasla ana biyofarmasötik avantajları, artan ilaç kalış süresi, değiştirilmiş ve tek yönlü ilaç salımı, gelişmiş yerel biyoyararlanım ve güvenlik profilidir ayrıca ek ağrı reseptörü koruması ve hasta dostu gibi diğer avantajlar sağlamaktadır [7].

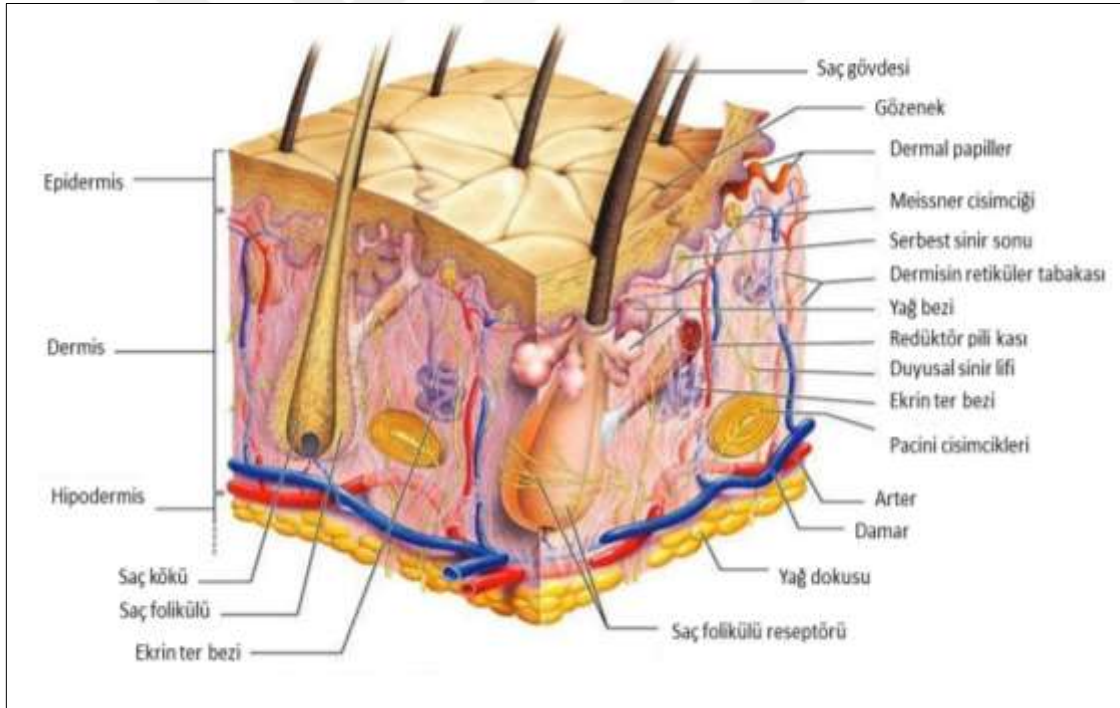
Bu çalışmada QbD yaklaşımı kullanarak, akne hastalığı için kullanılan BPO yüklü topikal hidrofilik film üretmek ve üzerinde in vitro, sitotoksikite ve stabilite gibi çalışmalar yapılması amaçlanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Akne, Benzoil Peroksit, Topikal Tedavi, Polimerik Film, HPMC.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 DERİ HAKKINDA BİLGİLER

Deri, vücudumuzun en büyük organı olarak 1.8-2 m²'lik alan kapsıyor ve 9 kg ağırlığa sahip. Kalınlığı yaklaşık 0,5-3 mm'dir [8]. Lokal veya sistemik etkiler söz konusu olduğunda etken maddelerin deriden geçişini sınırlayan en önemli faktör cildin kendine özgü yapısıdır ve bunun formülasyon geliştirme ile ilgili olarak iyi anlaşılması önemli ve gereklidir [9]. Tüm vücudu dış fiziksel, kimyasal ve mikrobiyal etkenlere karşı korumaktadır. Cilt vücut ısısının korunmasında, kan basıncının dengelenmesinde ve ultraviyole (UV) ışınlarından korunmada önemli bir rol oynamıştır. Derinin yüzeyi asit manto ile kaplıdır ve pH'ı 4-6 arasında bildirilmiştir [10]. Cilt genellikle 3 katmandan oluşur. Bunlar; epidermis, dermis ve hipodermis. Derinin tabakaları şekil 2.1 gösterilmiştir.



Şekil 2.1: Deri Tabakaları.

2.1.1 Epidermis

Epidermis, derinin en dış tabakasıdır, düzenli olarak güncellenen karmaşık, geçirimsiz bir katmandır ve vücut bölümlerine bağlı olarak yaklaşık 0,05-1 mm kalınlığında olarak bilinmiştir [11]. Epidermisin üst tabakası olan Stratum Kerneum derinin yüzeyinde yer alır

ve ölü hücrelerden oluşmaktadır. Hücrelerin cilt yüzeyinin alt katmanından (bazal katman) farklılaşarak üst katmana (stratum korneum) doğru ilerlemektedir. Bu, yaşlandıkça bazal katmanda oluşan genç hücrelerin üst katmanlara ve ardından cildin en dış katmanına göç ettiği anlamına gelmektedir. Bu duruma keratinizasyon süreci denir ve bu nedenle stratum korneum her 15 günde bir yenilenmektedir [12]. Epidermiste üç ana hücre popülasyonu bulunmaktadır bunlar keratinositler, melanositler ve Langerhans hücreleri [13]. Keratinositler, bazal laminada sürekli olarak üretilen ve olgunlaşma, farklılaşma ve yüzeye göç eden epidermisteki baskın hücrelerdir. Keratinositler farklılaştıkça, bazal tabakanın üzerinde stratum spinosum, stratum granulosum ve Stratum Korneum olarak bilinen üç tabaka oluşturmaktadır. Stratum Korneum, epiderminin dış tabakasıdır ve ana fonksiyonel bariyer görevi görmektedir. Stratum Korneum lipid membranlarının ana bileşenleri serbest yağ asitleri, seramidler ve esterollerdir[13].

2.1.2 Dermis

Dermis, sinir ve damar yapılarının yanı sıra epidermal olarak türetilmiş uzantıları barındıran lifli hücresel ve hücresiz matrislerin bütünleşmiş bir sistemidir. Dermis'te fibroblastlar, makrofajlar, Mast hücreleri ve dolaşımdaki bağışıklık hücreleri dahil birçok hücre tipi bulunur ve yoğun olarak fibröz yapıda bir protein olan kolajen içermektedir [14]. Dermis, cildin esnekliğinden, esnekliğinden ve gerilme mukavemetinden sorumludur. Mekanik yaralanmalara karşı koruma sağlar, suyu tutar ve termal düzenlemeye yardımcı olmaktadır. Ayrıca duyu uyaran reseptörlerini içerir ve destekler ve yara iyileşmesinde anahtar bir unsur olarak bilinmiştir [13].

2.1.3 Hipodermis

Hipodermis, birbirine bağlı kolajen ve elastin lifleri ile lobüller halinde düzenlenmiş bir yağ hücreleri tabakasından oluşmaktadır. Isı yalıtımı ve fiziksel darbelere karşı koruma sağlamanın yanı sıra istenildiğinde kullanılacak enerji depolaması da başlıca işlevleri arasında bulunmuştur. Kan damarları ve sinirler hipodermis yoluyla cilde bağlanmaktadır [15].

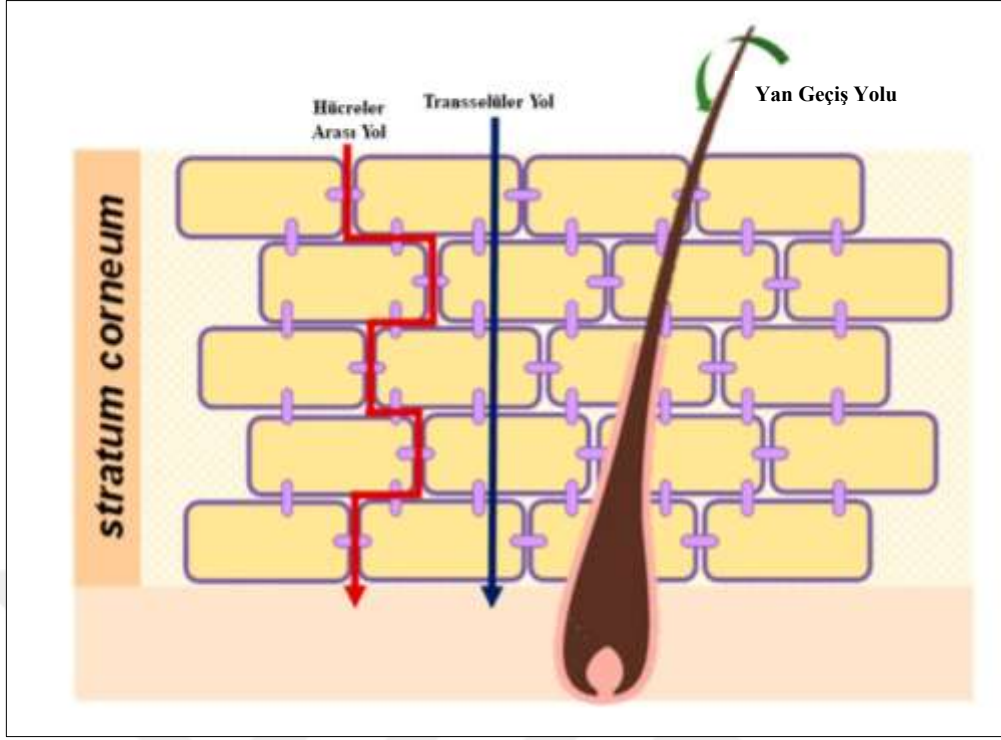
2.1.4 Cilt Geçirgenliği

Cildin en dış tabakası olan stratum korneum'un genellikle dışarıdan uygulanan kimyasalların nüfuz etmesine ve nem kaybına karşı ana engel olduğu kabul edilmiştir [9]. Bant sıyırma ile stratum korneumun çıkarılması ve küçültülmesi psoriatik deride stratum corneum bariyer bütünlüğünün önemli ölçüde artan geçirgenlik sağladığı gösterilmiştir [16]. Aktif bileşenler cilt yüzeyine yayıldıktan sonra epidermisten geçerek pasif difüzyonla dermis'e nüfuz ederler. Daha sonra deri altındaki damarlardan emilerek sistemik dolaşıma girer. Dolayısıyla bu bölge, vücudun dış kirleticilerden birincil korumasını sağlar ve topikal olarak uygulanan bileşiklerin potansiyel terapötik etkinliğini sınırlamaktadır [9].

2.1.5 Cilt Geçirme Yolları

Molekülün boyutu ve şekli, stratum corneum içinden yayılmayı etkileyecektir. Moleküler büyüklük ile deri geçirgenliği arasında ters bir ilişki olduğu gösterilmiştir [17].

Geçirgenliğin hücreler arası yoldaki çözünürlüğü, stratum corneum içindeki difüzyon katsayısını etkileyecektir. Lipofilik bileşikler, hücreler arası alanlarda artan çözünürlüğe ve dolayısıyla akıyı arttırır. Bununla birlikte, cilde nüfuz etme oranı, uygulanan araçtaki çözünür molekülün konsantrasyonuna da bağlıdır. Bu nedenle, bir lipofilik bileşik topikal bir araçta sınırlı çözünürlüğe sahipse, bileşik kolayca stratum corneum'a bölünebilir, bu da araçta tükenmeye neden olur ve böylece nüfuz akışını azaltır. Bu nedenle, ideal geçirgenlik, akıyı maksimize etmek için lipid çözünürlüğü (yüksek difüzyon katsayısı) ve aynı zamanda makul sulu çözünürlük (yüksek donör konsantrasyonu) gerektirir [16]. şekil 2.2'de ciltten geçiş yolları gösterilmektedir.



Şekil 2.2: Ciltten Geçiş Yolları [18].

2.1.5.1 Transselüler yol

Transselüler yol, bazıları tarafından stratum korneum'dan geçen polar maddelerin bir yolu olarak kabul edilmiştir [19].

2.1.5.2 Hücreler arası yol

Hücreler arası lipid çift katmanları, stratum korneum'un sadece küçük bir alanını işgal ederken, stratum corneum boyunca tek sürekli yolu sağlamaktadır [20]. Stratum corneum lipidlerinin yapısı, cildin bariyer özelliklerine katkıda bulunmaktadır. Hücreler arası lipid alanlarında taşıma, hem lipid (lipit çekirdeği yoluyla difüzyon) hem de polar (polar baş grupları aracılığıyla difüzyon) yollarıyla gerçekleşebilir [18].

2.1.5.3 Yan geçiş yolu

İlaçlar ayrıca deri uzantılarından da geçebilmektedir (Transappendageal yol). Saç folikülleri ve yağ ve ter kanalları gibi deri uzantıları, stratum korneum'u atlayarak ilaç nüfuzu için bir şant yolu oluşturmaktadır. Saç folikülleri cilt üzerinde daha fazla dağılım gösterdiğinden, bu yola ana katkı sağlayanlar olarak kabul edilmiştir [21].

2.2 AKNE

Akne, androjen kaynaklı artmış sebum üretimi, değişmiş keratinizasyon, enflamasyon ve *Propionibacterium acnes* (p. Acne) tarafından yüz, boyun, göğüs ve sırttaki kıl foliküllerinin bakteriyel kolonizasyonundan kaynaklanan pilosebase birimin kronik inflamatuvar bir hastalığı olarak tanılamaktadır [22]. Akne genellikle yara izi ve iltihap sonrası hiperpigmentasyon ile sonuçlanır, bu da yaşam kalitesi üzerinde müteakip bir etkiye sahiptir; bu nedenle, erken ve agresif tedavi çok önemlidir. Mevcut ilaçların yeni uygulama stratejileri ve modifikasyonları, bu yolların son ürünlerinin etkilerini bastırmak yerine akne patofizyolojisinde yer alan düzenleyici yolları hedefleyen yeni ilaçların geliştirilmesine ek olarak, akne tedavisindeki son değişikliklerdir [23].

Bir dereceye kadar akne, 15 ila 17 yaş arasındaki hemen hemen tüm insanları etkiler ve yaklaşık %15-20'si orta ila şiddetlidir. Yaygınlık tahminlerini karşılaştırmak zordur çünkü akne ve akne şiddeti tanımları çalışmalar arasında çok farklıdır ve akne tedavilerinin mevcudiyeti ve kullanımı tahminleri karıştırmaktadır [24]. Akne, dermatoloji için 2010 Ulusal Ayaktan Tıbbi Bakım Araştırması (NAMCS) bilgi sayfasına göre Amerika Birleşik Devletleri'nde en sık teşhis edilen cilt rahatsızlığıdır ve her yıl 5 milyondan fazla doktor ziyaretinden sorumlu olduğunu raporlanmıştır [25].

2.2.1 Klinik Özellikler

Klinik özellikler, hafif komedonlardan fulminan sistemik hastalığa kadar önemli ölçüde değişebilmektedir. Akne lezyonları enflamatuvar ve enflamatuvar olmayan tiplere ayrılmaktadır. Enflamatuvar olmayan lezyonlar komedonları içerir. Akne lezyonları havaya açıksa, sebumdaki lipitler oksitlenir ve siyah bir renk alır, siyah noktalar veya açık komedonlara dönüşmektedir (Şekil 2.3). Akne lezyonları üstü kapalı ve hava almıyorsa, kapalı komedonlar olarak tanılamakta ya da beyaz başlıklar olarak bilinir. Genel olarak enflamatuvar lezyonlar papülleri, püstülleri ve nodülleri içermektedir [26].

İltihapsiz lezyonlar, kıl folikülünün açık ve kapalı komedonlara neden olan tıkanmasından kaynaklanmaktadır. Açık komedonlar (siyah noktalar), lezyonlara siyah bir görünüm veren sebum ve melanin içermektedir. Siyah noktalar nadiren iltihaplanır ama kapalı komedonlar (beyaz noktalar) sıklıkla iltihaplanmaktadır [27].



Şekil 2.3: Enflamatuvar Olmayan Akne.

2.2.2 Tedavi

Akneli bireysel bir hastayı tedavi etmek için ilaç seçerken dikkate alınması gereken birkaç faktör vardır. Bunlardan,

- a. Klinik akne tipi (inflamatuvar, komedonal ve püstül kistik),
- b. Şiddeti (lezyonların sayısı ve boyutu ve inflamasyonun miktarı),
- c. Yağlı veya kuru cilt,
- d. Adet öyküsü ve kadınlarda hiperandrojenizm belirtileri,
- e. Geçmiş tedavileri denemiş veya başarısız olmuş,
- f. Akneye neden olabilen ilaç öyküsü,
- g. Yara izi varlığı.

Sonuçta, uygun tedavi rejiminin belirlenmesinde aknenin klinik tipini doğru tespit etmek büyük role almaktadır. Tedavinin hedefleri mevcut inflamasyonu ve bakteri yükünü (P. acnes) azaltmak ve retansiyon hiperkeratozunu ve sebum üretimini azaltmak başta gelmektedir [26].

2.2.3 Tedavi Sistemini Seçmek

Tedavi seçiminde hastanın beklentileri, aknenin klinik şiddeti, skarlaşma eğilimi, hastanın tıbbi geçmişi ve önceki tedavilere yanıtı dikkate alınarak yapılmıştır [28]. Sistemik ve topikal olmak üzere iki tip tedavi sistemi bulunmaktadır. Genel olarak, orta ila yüksek şiddetteki enflamatuvar akne, sistemik antibiyotiklerle tedavi edilebilir. P. acnes direncinin gelişimi, antibiyotik tedavisinin önemli bir hususudur. Hormonal tedavi, hiperandrojenizm belirti ve semptomları olan kadın hastalarda yararlı bir alternatiftir. Oral izotretinoin daha yüksek bir yanıt oranına ve uzun süreli remisyona sahiptir, ancak klinik ve metabolik yan etkiler için dikkatli izleme ve değerlendirme gerekli olduğu bildirilmiştir [29].

2.2.4 Topikal Tedaviler

Topikal akne ilaçları için uygulama yöntemi seçimi, hastanın cilt tipine (yağlıya karşı kuru) bağlıdır. Jeller bir miktar kuruluğa neden olabilir ve yağlı cilde sahip hastalar için değerli olabilmektedir [30]. Kremler ve losyonlar nemlendirici olma eğilimindedir. Solüsyonlar kurutur, ancak geniş alanları diğer preparatlara (örneğin sırtın üst kısmındaki sivilceler) göre daha kolay kapatırlar ve köpüklerle birlikte tüylü bölgelere kolayca uygulanırlar. Sadece birkaç enflamatuvar lezyon ile açık ve kapalı komedonlardan oluşan hafif akne genellikle topikal ajanlarla tedavi edilir. Bunlar tek başına veya kombinasyon halinde kullanılabilir. Aknenin topikal tedavisi, her biri hastalığın patogenezinde yer alan farklı bir faktöre saldırmak için kullanılan 4 ana ilaç türünü kapsar: retinoidler, antibiyotikler, benzoil peroksit ve asitlerdir [31]

2.2.4.1 Topikal retinoidler

Retinoidler, komedolitik olarak da bilinen A vitamininden elde edilen bir ilaç sınıfıdır. Tretinoin (Atralin ve Retin-A) bu sınıfın ön ilaçlarından biri olarak bilinmektedir. Etkinlikleri, foliküler keratinizasyonu normalleştirme yeteneklerinde yatmaktadır. Foliküler hücre döngüsünü arttırırlar; epitel hücrelerinin daha hızlı dökülmesine, komedonları dışarı çıkmasına ve yeni komedon oluşumunun engellenmesine neden olmuştur [32]. Ek olarak, retinoidlerin bazı antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğu bilinmektedir, bu da onları hem komedonal hem de hafif ila orta şiddette inflamatuvar akne için yararlı bulunmuştur [33].

2.2.4.2 Topikal antibiyotikler

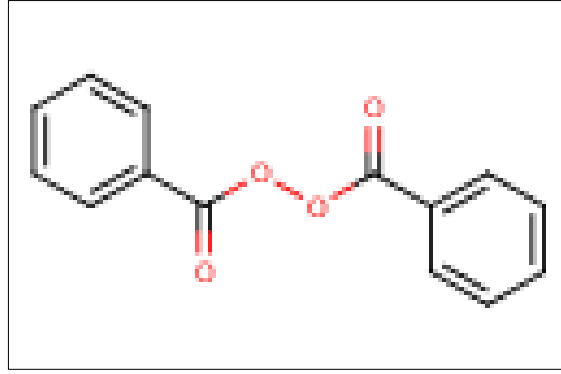
Topikal antibiyotikler genellikle hafif ila orta şiddette enflamatuvar akne için kullanılır. P. akneye karşı etkileri vardır ve bu nedenle lezyonların iltihaplanması azaltmaktadır [34]. Akne tedavisinde kullanılan en popüler topikal antibiyotikler Eritromisin ve Klindamisin olarak bildirilmiştir, ancak son yıllarda bu antibiyotiklerin sürekli kullanımı P. acnes suşlarına karşı direncin artmasına neden olmuştur [35].

2.3 BENZOİL PEROKSİT HAKKINDA GENEL BİLGİLER

Benzoil peroksit komedolitik, antiinflamatuvar ve bakterisit olarak bilinmektedir [36]. Etkilerinin çoğu antibakteriyeldir, Bakterilerin hücre zarındaki proteinleri okside etmesi sayesinde bakterilere karşı güçlü bir toksik etki gösterir bu da onu papül, püstül ve kistlerden oluşan iltihaplı akne tedavisi için ideal hale getirmiştir [36]. Ayrıca, artan hücre dönüşüm hızının neden olduğu keratolitik etkileri nedeniyle komedonal akne de fayda göstermiştir. Yağ bezlerinin boyutunu küçültür, bakteriyel proteinleri okside eder ve ciltteki yağ varlığını azaltmaktadır. Benzoil peroksit yağda çözünebilir ve pilosebace ünitesine çok daha iyi penetrasyon sağlamaktadır [37].

2.3.1 Benzoil Peroksit' in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Benzoil peroksit (BPO), bir peroksit köprüsü ile bağlanmış iki benzoil grubundan oluşan etkili bir oksidasyon ajanıdır. Benzoil peroksit, Benzaldehit kokusuna benzeyen hafif kokulu beyaz bir tozdur, organik peroksit ailesindeki organik bir bileşiktir. Isıya duyarlı bir malzemedir, Erime noktası 104°C ile 106°C arasındadır ve 107°C kaynama noktasına ulaştığında patlamaktadır [38]. Kimyasal Formülü $C_{14}H_{10}O_4$ 'tür, moleküler yapısıysa şekil 2.5'teki gösterilmiştir [39].



Şekil 2.4: BPO Molekül Yapısı.

BPO, polietilen glikol (PEG) ve izopropil miristat içinde çözünür, ancak bu çözücüler içinde stabilitesi düşük kalmaktadır. Ayrıca, pratik olarak suda çözünmez ve etanolde çok az çözünür, ancak bu solventlerin mevcudiyetinde çok kararlı olmadığı bildirilmiştir. Benzoil peroksitin PEG veya izopropil miristat içindeki stabilitesi, saf su veya etanol ilave edildiğinde artırılmaktadır [40]. BPO'nun diğer özellikleri tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1: BPO'nun Kimyasal Özellikleri.

Özellik	Değer
Kimyasal Formülü	C ₁₄ H ₁₀ O ₄
Erime noktası	106- 108 °C
Kaynama noktası	349,75 °C
Su çözünürlüğü	25 °C'de 0,0091 mg/ml
Molekül Ağırlığı	242.23

2.3.2 Benzoil Peroksit' in Farmakodinamik Özellikleri

Benzoil peroksit antibakteriyel, antiinflamatuvar, keratolitik ve yara iyileştirici aktivitelere sahiptir. BPO'nun antibakteriyel özelliği, bakteri hücre zarlarında proteinleri oksitleyen yüksek oranda reaktif oksijen türlerinin oluşumundan kaynaklanmaktadır [41]. BPO hem bakteriyel organizmalar hem de mayalar için toksik olan güçlü bir antimikrobiyal ajandır. BPO, insan polimorfonükleer lökositlerinden reaktif oksijen türlerinin salınmasını doza bağlı bir şekilde inhibe etmektedir [42]. Hegemann'a göre, inhibisyonun, polimorfonükleer lökositlerin BPO'dan ortaya gelen sitotoksitesinden kaynaklandığını göstermektedir [42]. Pilosebase foliküllerdeki nötrofiller üzerindeki bu toksik etki sayesinde BPO, inflamasyonu

artıran sinyallerin salınmasını engellemektedir. Bu bağlamda, BPO dolaylı olarak doku iltihaplanmasını önleyebilmiştir [43].

2.3.3 Benzoil Peroksit' in Farmakokinetik Özellikleri

Benzoil peroksit oldukça lipofiliktir ve pilosebase folikülün içine girmek için stratum korneum'a nüfuz etmektedir [44]. BPO hızla benzoik asit ve hidrojen perokside parçalanarak oksidatif serbest radikaller oluşturmaktadır. BPO'nun cilde nüfuz etme derecesi konsantrasyona bağlanmıştır [45]. Primatlar üzerinde yapılan çalışmalar, sistemik dolaşıma giren benzoik asidin hızlı böbrek temizliğine uğradığını ve karaciğer tarafından metabolize edilmediğine inanıldığını göstermiştir [46]. Benzoil peroksit stratum korneum'dan veya foliküllerin içine değişmeden nüfuz etmektedir. BPO'nun dönüştürüldüğü ve metabolize edildiği katman epidermise ve dermis olarak düşünülmektedir [47].

2.3.4 Benzoil Peroksit' in Akne Tedavisinde Kullanımı

Hafif ila orta derecede şiddetli aknesi olan 153 kayıtlı hastayla yapılan randomize, çift kör bir çalışmada, 8 hafta boyunca günde iki kez dozaj rejiminde %2.5, %5 ve %10 BPO jel formülasyonlarının ve bunların jel araçlarının etkililiğini karşılaştırmıştır [48]. Tüm formülasyonlar, papülleri ve püstülleri azaltmada benzer şekilde etkiliydi ve jel taşıyıcıdan önemli ölçüde daha etkiliydi. Bununla birlikte, %10'luk formülasyon, %2.5'lik formülasyona göre daha yüksek sıklıkta ve şiddette soyulma, eritem ve yanma ile ilişkilendirilmiştir. Bu, etkinliği tehlikeye atmadan yan etkilerin gelişimini en aza indirmek için akne vulgaris tedavisinde daha düşük BPO yüzdelerinin kullanılması gerektiğine dair kanıt görevi görmüştür. Kılavuzlar artık topikal BPO'nun hafif ila orta dereceli akne vakaları için kullanıldığını, oral antibiyotiklerin ise daha şiddetli vakalar için ayrıldığını göstermektedir [49].

2.3.5 Benzoil Peroksit' in Güvenliği ve Tolere Edilebilirliği

BPO'nun en yaygın yan etkileri ciltte tahriş ve giysilerin ağartılmasıdır. Benzoil peroksit, eritem, kabuklanma ve kaşıntı ile birlikte konsantrasyona bağlı tahriş edici dermatite neden olabilmektedir. Randomize, çift-kör bir çalışmada, yüzünde hafif ila orta derecede şiddetli akne vulgarisi olan 153 hasta, bir kontrol jeli, %2.5, 5 veya %10 BPO formülasyonu ile tedavi edilmiştir. %2,5 BPO, %10'luk formülasyondan önemli ölçüde daha iyi tolere

edildiğinin sonucuna varılmıştır, oda % 10'luk konsantrasyondaki hastalar yanma, eritem ve soyulma insidansını ve şiddetini daha yüksek olduğunu göstermiştir [50]. Bazı çalışmalar, bu olumsuz etkilerin birkaç gün sürekli kullanımdan sonra azaldığını bildirmektedir. 445 akne hastasıyla yapılan prospektif bir çalışma, 12 ay boyunca günde iki kez BPO tedavisinin yan etki profilini incelenmiştir. Hastalara ayrıca oral antibiyotik (Tetrasiklin, Eritromisin veya Ko-trimoksazol) verilmiştir. 2. ayda hastaların sırasıyla %14.2 ve %24.1'inde eritem ve pullanma bildirilmiştir. Tedaviye devam edildiğinde, bu yan etkilerin insidansı önemli ölçüde azalmıştır, 6 ay sonra eritem ve kabuklanma hastaların sırasıyla yalnızca %4,2 ve %6,1'i tarafından bildirilmiştir [51]. Oksitleyici özellikleri sayesinde BPO saç, giysi ve temas edebileceği diğer renkli kumaşları beyazlatabilmektedir [52].

2.3.6 Piyasadaki Preparatları

%2,5, %5 ve % 10'luk 3 farklı doz halinde bulunabilmektedir. Dozaj şekli olarak krem, jel, solüsyon, köpüklü yıkama solüsyonu veya sabun olarak mevcuttur.

2.4 TOPİKAL HİDROFİLİK POLİMER FİMLER

Topikal hidrofilik film sistemleri, vücuda yapışan, ince şeffaf ve aktif bileşenlerin vücut dokusuna iletilmesini sağlayan, cilde topikal uygulama amaçlı gelişen ilaç verme sistemleridir. Bunlar, yumuşatıcı veya koruyucu özelliklere sahip aynı zamanda sistemik etki veya lokal etki göstermek için ilaç yüklü ürünler şeklinde tasarlanmıştır [53]. Polimer filmler, az çözünen ilaçların dağıtımı için diğer dozaj formlarına göre büyük bir potansiyele sahiptir [54]. Topikal filmler çekici bir seçimdir; jeller, merhemler ve kremler gibi diğer farmasötik formlara göre önemli avantajlar sunar, çünkü sadece uygulanması kolay ve kullanışlı değildir, aynı zamanda daha doğru dozlama sağlar, aktif bileşenlerin salınımını kontrol eder ve günlük tekrarlamayı önlemiştir [55].

2.4.1 Topikal Film Formülasyonlarının Bileşenleri

2.4.1.1 Etkin madde

Film oluşturan sistemlerin transdermal uygulaması için ilaçların dozaj formundan bağımsız uygun özelliklere sahip olması gerekmektedir [56]. Genel olarak bu sistemlere uygulanabilen ilaçlar, cilde hızla nüfuz eden, cilt tahrişine neden olmayan ve epidermiste bulunan enzimlere karşı nispeten kararlı olan tercih edilmektedir. Bu sistemlere uygun etkin

madde seçmekte bir diğer faktör, İlacın bölme katsayısı gibi özelliklerdir, bir ilacın deride izleyeceği yolu belirleyici unsurlardan sayılmaktadır. Bir diğer önemli faktör ise, molekül büyüklüğüdür. Küçük moleküller büyük moleküllere göre insan derisini geçirgenliği daha fazladır, bu da ilacın nüfuzunda önemli bir röle oynamaktadır [53].

2.4.1.2 Polimerler

Polimerler, küçük tekrar eden birimlerden oluşan yüksek moleküler ağırlıklı (doğal veya sentetik) moleküllerdir, Polimerler, polimerizasyon adı verilen bir işlemle monomer adı verilen basit moleküllerden sentezlenmiştir. Monomerin ve tekrar eden birimin yapısı ve moleküler formülü çok benzerdir ancak tam olarak aynı değildir. Polimerler, farmasötik dozaj formlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Polimerlerin sudaki çözünürlüklerine göre suda çözünen polimerler, suda çözünmeyen polimerler ve hidrojeller olarak sınıflandırılmıştır [57].

Polimerler, topikal filmlerin temelidir ve bu sistemlerin hazırlanması için çeşitli polimerler mevcuttur. Arzu edilen film özelliklerini elde etmek için bu polimerler tek başına veya diğer film oluşturucu polimerlerle kombinasyon halinde kullanılmıştır. Bu polimerler cilt sıcaklığında berrak, esnek bir film oluşturmalıdır. Selüloz türevleri, akrilat polimerler veya kopolimerler, metakrilat polimerler veya kopolimerler, silikonlar ve vinil polimerler gibi çeşitli polimerler potansiyel film oluşturmaktadır. Polimerin doğası ve konsantrasyonu, oluşturulan filmin mekanik özelliklerini ve kozmetik özelliklerini ve ayrıca ilacı verme yeteneğini etkilemiştir [58].

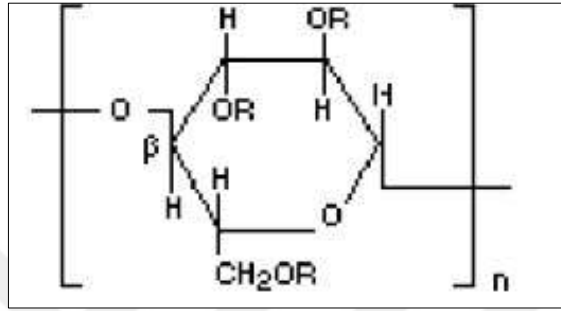
Hidroksipropil metil selüloz

Hidroksipropil metil selüloz (HPMC), doğal polimer olan selülozun sentetik bir modifikasyonu olan kokusuz ve tatsız, beyaz ila biraz kirli beyaz, lifli veya granüler, serbest akışlı bir tozudur.

HPMC, farmasötik ürünlerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan suda çözünür bir selüloz eterdir. HPMC, hidroksil gruplarının metil ve hidroksipropil grupları tarafından yer değiştirmesinden kaynaklanır, kimyasal yapısı şekil 2.5'te gösterilmiştir. Büyük kullanılabilirlik, üstün kalite film oluşturma kapasitesi, düşük toksisite ve iyi biyouyumluluk HPMC'nin tercih edilme sebebi olmuştur. Bunun dışında matris yamalarının

hazırlanmasında HPMC'nin hidrasyon ve jel oluşturma yetenekleri olduğu için, yüksek kümülatif ilaç salımı yüzdesi ve lipofilik ilaçların geçirgenliğini sağlamıştır [59].

ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), HPMC'nin insan tüketimine yönelik gıdalara dolaylı ve doğrudan eklenmesi ve "etkin olmayan bileşen" olarak ilaç formülasyonu için kullanılmasını onaylamıştır; her iki durumda da HPMC, emülgatör, film oluşturucu, koruyucu kolloid, stabilizatör veya koyulaştırıcı olarak kullanılmıştır [60].



Şekil 2.5: HPMC Kimyasal Yapısı.

2.4.1.3 Çözücüler

Çözücüler, film oluşumunda önemli bir bileşen oluşturur. Film oluşturma sistemlerinde kullanılan solvent, ilaçların çözünmesine yardımcı olduğu gibi ilaç geçirgenliği üzerinde de etkilidir. Suya ek olarak Topikal ve transdermal kullanım için yaygın olarak kullanılan çözücüler Tablo 2.3'te listelenmiştir [61]

Tablo 2.2: Topikal Sistemlerde Kullanılan Solventler

Kategori	Örnekler
Glikoller	Propilen glikoller, Polietilen glikoller
Alkoller	Etanol, Bütanol, İzopropanol, Benzoil alkol, Lanolin alkolleri, yağlı alkoller
Diğer solventler	Etil asetat, Oleik asit, İzopropil miristat

2.4.1.4 Plastikleştiriciler (Plasticizers)

Film oluşturma sistemlerinde, filme esneklik kazandırmak ve oluşturulan filmin gerilme mukavemetini geliştirmek için plastikleştiriciler kullanılmıştır. Kullanılan plastikleştiriciler

kullanılan polimerlerle uyumlu ve düşük yüzey geçirgenliğine sahip olmalıdır. Yaygın olarak kullanılan plastikleştiriciler Gliserin, Polietilen glikol, Sorbitol, Dibütil ftalat, Propilen glikol ve Trietil sitrat gibi maddeler bildirilmiştir. [62].

2.4.1.5 Penetrasyon arttırıcılar (Enhancers)

Penetrasyon arttırıcıların topikal filmlere dahil edilmesi, ilaç dağıtımını artırabilir ve stratum korneum'da daha büyük bir rezervuar oluşturabilmektedir. Geliştirmenin kapsamı, bir dizi faktöre (konsantrasyon dahil) bağlıdır ve arttırıcıların ikili karışımları, sinerjistik etkilere neden olabilmektedir [63]. Sülfoksitler (dimetilsülfoksit, DMSO gibi), alkoller, glikoller (örneğin propilen glikol, polietilen glikol), yüzey aktif maddeler (Tween20, Tween80 gibi) dahil olmak üzere çok sayıda bileşik penetrasyon arttırıcı aktivite açısından değerlendirilmiştir.

2.5 QBD HAKKINDA GENEL BİLGİLER

Tasarımla kalite (QbD), bir ürünün yaşam döngüsü boyunca kalitesini, verimliliğini ve güvenilirliğini sağlamak ve sürekli olarak iyileştirmek için risk yönetimi, matematiksel ve istatistiksel araçlar kullanılarak tasarlanmış sistematik bir yöntem olarak bilinmiştir [64]. Bu yaklaşım, ilaç geliştirme aşamasından hastaya ulaşıncaya kadar tüm ürün yaşam döngüsünü kapsadığı için kalite sorunlarının her aşamada proaktif olarak çözülmesine olanak tanımıştır. Proaktif çözümlerin üretilmesinde risk yönetimi önemli bir rol oynamıştır. İstatistiksel araçlarla yapılan çalışmalar, ürün özellikleri ve süreç parametrelerinin birbirleriyle olan etkileşimlerini ve bunların ürün kalitesi, etkinliği ve güvenilirliği üzerindeki etkilerinin değerlendirmesini sağlamıştır [65].

ICH (Uluslararası Harmonizasyon Topluluğu) Kılavuzu Q8 R2'nin [66] tanımına göre, "Tasarım Yoluyla Kalite (QbD), önceden tanımlanmış hedeflerle başlayan ve ürün ve süreç anlayışı ile süreç kontrolünü vurgulayan sağlam bilime ve kalite risk yönetimine dayalı sistematik bir geliştirme yaklaşımıdır." Geçtiğimiz birkaç yıl boyunca, çeşitli farmasötik ürün alanları için farmasötik kalite ve QbD uygulama stratejileri çok ilgi görmüştür. FDA'nın PAT Kılavuzu ve ICH Q8, Q8(R2), Q9 ve Q10 yönergeleri tarafından toplu olarak vurgulanan bu farmasötik kalite paradigması değişikliği, bilime dayalı ve riske dayalı düzenleyici süreçler için bir temel oluşturmuştur [67].

2.5.1 Tasarımla Kalite Basamakları

QbD, güvenliliği ve etkinliği ile ilgili olarak amaçlanan performansı tutarlı bir şekilde sunmak için kaliteli bir ürünün ve üretim sürecinin tasarlanmasına izin verecek farmasötik geliştirmenin tüm unsurlarını içermektedir. QbD yaklaşımını kullanarak farmasötik geliştirme, ürünün ve üretim sürecinin tam olarak anlaşılmasını sağlayacaktır [68]. Şekil 2.6 QbD unsurlarını gösterilmiştir.



Şekil 2.6: Tasarımla Kalitenin Unsurları.

2.5.1.1 Hedef ürün kalite profili (QTPP)

Kalite Hedef Ürün Profili (QTPP), farmasötik ürünün güvenlik ve etkinliği garanti etmek için elde edilmesi gereken kalite özelliklerinin bir özetidir. Başka bir deyişle QTPP, nihai farmasötik üründeki beklentilerin tanımlanmasından oluşmaktadır [69]. QTPP için göz önünde bulundurulması gereken hususlar, klinik ortamda amaçlanan kullanımı, uygulama yolunu, dozaj formunu, dağıtım sistemini, dozaj gücünü, Ambalaj, farmakokinetik

özellikleri etkileyen faktörleri ve ürün kalite kriterlerini (diğerlerinin yanı sıra sterilite, saflık, stabilite) içermiştir [65].

2.5.1.2 Kritik kalite özellikleri

Kritik Kalite Niteliklerinin (CQA) tanımlanması farmasötik QbD'de bir sonraki adım olarak kabul edilmiştir. CQA, kaliteyi sağlamak için uygun spesifikasyonlar dahilinde olması gereken farmasötik ürünün (proses içi veya bitmiş) kimyasal, fiziksel, biyolojik veya mikrobiyolojik özellikleri içermiştir [70]. CQA, (kimlik, tahlil, içerik, tekdüzelik, bozulmak, ürünler, ilaç salımı veya çözünmesi, nem içeriği, mikrobiyal limitler, renk, şekil, boyut ve ufalanabilirlik) gibi fiziksel özellikleri kapsamıştır [68]. Çoğunlukla CQA'lar, kalite hedef ürün profilinden türetilir ve/veya ürün ve süreç geliştirmeyi yönlendirmek için önceki bilgiler kullanılır ve akabinde risk yönetimi için CQA'lara erişilmektedir. ICH Q9'da potansiyel etkin madde olması durumunda CQA'ların süreç geliştirmeyi yönlendirmek için kullanıldığı belirtilmektedir. Potansiyel CQA'lar listesine dahil etme ve hariç tutma, bilgi ilaç maddesi ve süreç anlayışı arttıkça yapılabilmektedir. Biyoteknolojik/biyolojik ürünler söz konusu olduğunda, ilaç ürününün CQA'larının çoğu etkin madde ile ilişkilidir ve dolayısıyla etkin maddenin tasarımının veya üretim sürecinin doğrudan bir sonucu olmaktadır. Safsızlıklar, potansiyel ilaç maddesi CQA'larının önemli bir sınıfı sayılmaktadır. Ürünün amaçlanan güvenlik, etkinlik, kararlılık ve performansını karşılamasını sağlamak için önceden tanımlanmış sınırlar içinde kontrol edilmesi gereken bir kalite özelliği olmaktadır. Nihai kalite ve güvenliği etkileyen tüm faktörlerin kontrol edilmesi gerektiği anlamına gelmiştir [68].

2.5.1.3 Risk değerlendirilmesi

Risk değerlendirmesi, kararı desteklemek için bilgileri organize etmenin sistematik bir süreç olarak bildirilmiştir. Risk değerlendirmesinde üç temel unsur vardır:

- a. Risk tanımlama: tarihsel verilerden, teorik analizden ve paydaşların endişelerinden potansiyel tehlike kaynaklarını belirlemek için bilginin sistematik kullanımı;
- b. Risk analizi: tanımlanmış tehlikelerle ilişkili risk tahmini ve
- c. Risk değerlendirmesi: Önemlerini belirlemek için niceliksel veya niteliksel ölçek kullanılarak tahmin edilen risklerin karşılaştırılması [71].

Genel olarak riskin, zararın meydana gelme olasılığı ile bu zararın ciddiyetinin bileşkesi olarak tanımlandığı anlaşılmaktadır. Risk değerlendirmesi, yöntem veya sürecin kalitesini artırmaya yardımcı olmuştur. Ayrıca girdi değişkeninin yöntem veya süreçler üzerindeki etkisinde belirleyicidir. Risk değerlendirmesinden, ürünün nihai kalitesini etkileyecek olan kritik nitelikler belirlemektedir. Bir risk değerlendirmesi, FDA ile endüstri, araştırma/geliştirme ve üretim arasında ayrıca şirket içindeki birden çok üretim tesisi arasında etkin iletişim için faydalı olmaktadır [72].

Ishikawa (balık kılıçığı) diyagramı ve başarısızlık modu ve etkileri analizi (FMEA), yaygın olarak kullanılan risk değerlendirme aracıdır. Ishikawa diyagramı, ana tehlike kaynaklarının tanımlanmasına ve geniş kategoriler halinde sınıflandırılmasına olanak tanıyan niteliksel bir risk değerlendirme aracı olarak bilinmiştir [73].

2.5.1.4 Kritik materyal özellikleri (CMA) ve kritik proses parametreleri (CPP)

Üretim sürecinde hangi değişkenlerin önemli olduğunun ve bu değişkenlerdeki değişimin derecesinin ürünün kalitesini ne kadar etkilediğinin belirlenmesi açısından önem taşımaktadır. Kritik materyal özellikleri (CMA'lar) veya kritik proses parametreleri (CPP'ler), nihai ürünün etkinliği, kalitesi ve güvenilirlik özellikleri (CQA'lar) üzerinde "önemli etkiye" sahip olan özelliklerdir. CMA ve CPP farklı risk analizi yöntemleriyle belirlenir [6].

2.5.1.5 Deney tasarımı (DoE)

DoE, matematiksel modellerin kurulması yoluyla bir veya daha fazla çıktı yanıtını etkileyen girdi faktörleri arasındaki ilişkileri belirlemek için yapılandırılmış ve organize bir yöntemdir [74]. DoE yaklaşımında, kontrollü girdi faktörleri, çıktı yanıtları üzerindeki etkilerini belirlemek için sistematik olarak değiştirilir; bu, en önemli girdi faktörlerinin belirlenmesine, optimize edilmiş çıktı yanıtlarına yol açan girdi faktörleri ayarının tanımlanmasına ve girdiler arasındaki etkileşimlerin açıklanmasına olanak tanımıştır [75].

En iyi deneysel tasarımın seçimi, tanımlanmış hedefler, çalışılacak girdi faktörleri ve etkileşimlerin sayısı ve her tasarımın istatistiksel geçerliliği ve etkinliği gibi çeşitli yönleri dikkate alınması gerekmektedir. DoE uygulamasının daha iyi anlaşılmasını sağlamak için deneysel tasarımlar iki türe ayrılmıştır tarama tasarımları ve optimizasyon tasarımları [74].

Tarama tasarımları

İki seviyeli tam faktöriyel tasarımlar, kesirli faktöriyel tasarımlar ve Placket-Burman tasarımlar, maliyet avantajları nedeniyle en çok kullanılan tarama tasarımı olarak bilinmiştir. Bu deneysel tasarımlar, daha az sayıda deneyle çok sayıda girdi faktörünün çalışılmasına olanak tanımıştır [74]. İki seviyeli tam faktöriyel tasarımlar, girdi faktörlerinin ana etkilerini ve bunların çıktı yanıtları üzerindeki etkileşimlerini tahmin etmeye izin verdiğinde, en güçlü tarama tasarımları olarak raporlanmıştır [74]. İki seviyeli tam faktöriyel tasarımların temel sınırlamaları, kesirli faktöriyel tasarımlar ve Placket-Burman tasarımlarıyla karşılaştırıldığında, gereken çok sayıda deneye dayanmıştır.

Optimizasyon tasarımları

Üç seviyeli tam faktöriyel tasarımlar, merkezi bileşik tasarımlar ve Box-Behnken tasarımları, karmaşık yanıt yüzeyinin modellenmesine izin verdiği için en çok kullanılan optimizasyon tasarımı olmaktadır. Tarama tasarımlarının en önemli sınırlamalarından biri, her girdi faktörü için yalnızca iki seviyeye sahip olduklarından, yalnızca 1. dereceden (doğrusal) yanıt yüzeyinin modellenmesine izin vermektedir [75].

2.5.1.6 Tasarım alanının tanımlanması (DS)

Tasarım Alanı (DS), kalite güvencesi ve sonuç olarak güvenlik ve etkinlik sağladığı kanıtlanmış girdi faktörlerinin (genellikle CMA ve CPP) çok boyutlu bir kombinasyonu ve etkileşimi olarak bilinmiştir. Girdi faktörlerinin tasarım alanı bölgeleri içine taşınması, düzenleme esnekliği sağlayan bildirim tabi bir değişiklik olarak kabul edilmemiştir [69].

2.5.1.7 Kontrol stratejisinin belirlenmesi

Kontrol stratejisi, ürün kalitesinin sürekli olarak sağlanmasını ve kritik kalite göstergelerinin hedef değerler içerisinde kalmasını sağlayacak şekilde belirlenmelidir. Kontrol stratejisi, ham maddelerin (aktif maddeler ve ekşiyanlar) kontrolünü, ambalaj malzemelerinin kontrolünü, üretim yöntemi proseslerinin operasyonel parametrelerinin izlenmesini ve kontrolünü, ara ürünlerin ve spesifikasyonların kontrolünü içerebilmelidir. Süreç içi kontrol, bitmiş ürün kontrolü ve spesifikasyonlar olarak adlandırılan süreçler olarak bildirilmiştir [71].

2.5.1.8 Yaşam döngüsü yönetimi ve sürekli iyileştirme

Ürün kalitesi, ürün yaşam döngüsü boyunca iyileştirilebilir; şirketlerin kaliteyi geliştirmek için yaratıcı yaklaşımları tercih etme fırsatları bulunmuştur. Kalitede tutarlılığı sağlamak için süreç performansı izlemeye devam edilmektedir. Yöntem/süreç geliştirmeye katkıda bulunan rutin üretim sırasında ek deneyim ve bilgi kazanılmaktadır. Periyodik bakımlar bir şirketin kendi iç kalite sistemi içerisinde yapılabilir; ancak tasarım alanı değiştirilmemektedir. QbD yaklaşımı, ürünlerin yaşam döngüsü boyunca sürekli iyileştirme sağlamıştır; bu da , çok donmuş bir süreç olan geleneksel yöntemden ayırt edici bir nokta olarak bilinmiştir [68].



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 KULLANILAN KİMYASAL MADDE, ARAÇ VE GEREÇLER

3.1.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tablo 3.1: Kullanılan Kimyasal Maddeler.

Malzeme	Üretici
Asetonitril (ACN)	Merck, Almanya
Etanol	Sigma Aldrich, ABD
Fosfat Tamponu Tuzu (PBS)	Sigma Aldrich, Almanya
Hidroksipropil metilselüloz (HPMC)	Sigma Aldrich, Almanya
Metanol	Merck, Almanya
pH standart tampon çözeltileri	Tıp Kim San, Türkiye
Propilen Glikol	Sigma Aldrich, Almanya
Tween 80	Sigma Aldrich, Almanya
Benzoil Peroksit	Sigma Aldrich, Almanya
Poli Etilen Glikol	Sigma Aldrich, Almanya

3.1.2 Kullanılan Araç ve Gereçler

Tablo 3.2: Kullanılan Araç, ve Gereçler.

Alet ve Malzeme	Firma, Ülke
Analitik terazi	Sartorius, Almanya
Glass Buchner hunisi Por 4 ve diğer cam eşyalar	İdam, Türkiye
HPLC	HPLC-PDA / PERKIN ELMER - FLEXAR PDA Plus Dedector, ABD
İnkübatör	Memmert Incubator, Almanya
Mikropipette	Sartorius, Almanya
Nem Tayin Cihazı	Shimadzu Unibloc Moisture Analyzer MOC63u, Japonya
Parafilm	Parafilm M Bemis, ABD
pH ölçer	Table top pH meter, ISOLAB, Almanya
Sıcak plaka karıştırıcı	Benchmark, ABD
Su arıtma sistemleri	Sartorius Arium Pro, Almanya
Tekstür analizör	TA-XT plus C Texture analyser, Birleşik Krallık
UV-Vis Spektrofotometre	UV-1800, SHIMADZU, Japonya
FTIR spektroskopisi	IRAffinity-1S, Shimadzu, Japonya
Erime derecesi cihazı	Stuart SMP 30- İngiltere
Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) cihazı	NETZSCH - Gerätebau GmbH, Almanya
Fe-SEM Yüksek Çözünürlüklü Analitik Elektron Mikroskobu	Thermo Scientific Apreo 2 S LoVac, ABD

3.1.3 Kullanılan Bilgisayar Programları

MODDE® Pro, versiyon 12.1.0.5491. Sartorius Stedim Biotech Data Analytics AB, Almanya.

Microsoft Office Excel 2018 Microsoft Corporation, ABD

3.2 YÖNTEM VE DENEYLER

3.2.1 BPO'nun Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Sıradaki çalışmalar, BPO'nun Standardizasyonunu ve saflığını belirlemek için gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.1 UV spektrum tayini

30 µg/mL konsantrasyondaki BPO çözeltisi ACN: Su (80:20) ile hazırlanmıştır. Aktif maddenin spektrumu, UV-1800, SHIMADZU Spektrofotometre cihazı kullanılarak saptanmıştır. Kuvartz küvette konularak 200-500 nm aralığında kör test ölçümü sırasında belirlenmiştir ve en yüksek absorbansın dalga boyu (λ_{max}) kaydedilmiştir. Deneyler, beş kez tekrar edilmiştir.

3.2.1.2 FT-IR spektrumu tayini

Aktif maddenin IR spektrumlarını ve aktif madde ile polimerlerin fiziksel kombinasyonlarını incelemek için FTIR spektroskopisi kullanılmıştır. Bunun için 1:1 w/w oranında ilaç ve polimerlerin fiziksel karışımları hazırlandı ve taranmıştır. Tarama aralığı, IRAffinity Shimadzu makinesi kullanılarak 400 - 4000 cm^{-1} spektral bölgede ölçümler yapılmıştır.

3.2.1.3 Erime derecesi tayini

Erime noktasını belirlemek için, Stuart SMP 30 erime noktası aparatının kılcal borusuna BPO yerleştirilmiştir. İç çapı 1 mm olan 1,3 ila 1,5 mm kalınlığındaki cam kılcal tüplerde gerçekleştirilmiştir. Kılcal tüp, ince toz haline getirilmiş bir numune ile 2 ila 3 mm seviyesine kadar doldurulmuştur. Yüksek derecede hassasiyetli termometreye sahip olan erime noktası aparatına kılcal tüpler eklenmiştir. Sıcaklık 2°C/dakika oranında artırılmıştır. Daha sonra erimenin başlangıç noktası olan ilk damlanın ortaya çıkmasıyla erimenin sonu olan tüm malzeme eriyinceye kadar göz izleyici aracılığıyla erime gözlenip tespit edilmiştir.

3.2.1.4 BPO Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi

BPO'nun termal özelliklerini incelemek amacıyla diferansiyel taramalı kalorimetreden (DSC) yararlanılmıştır. Kalorimetrik testler için alüminyum tavada 10 mg malzeme tartılmıştır. Numune sabit bir şekilde 20 C⁰ dereceden 200 C⁰ dereceye kadar, sıcaklık

10°C/dk hızda artırılmıştır. Bu süre zarfında numuneler tarafından emilen veya salınan ısı enerjisinin miktarı ölçülmüştür. Veriler (ısı emilimi) analizler boyunca elde edilmiştir.

3.2.1.5 Çözünürlük tayini

Toz halindeki aktif bileşenin etanoldeki çözünürlüğü, yaklaşık 500 mg kadar aktif bileşenin fazla miktarının 10.00 mL solvent solüsyonu içeren kapaklı bir test tüpünde 24 saat boyunca 34 °C’de yatay çalkalayıcıda 200 rpm devirde bekletilmiştir, Süre sonunda, katı partikülleri çöktürmek için 15 dakika boyunca santrifüjlenen numunelerden 25 µL çözelti alınarak 10 mL’lik balon jöjede hacmine seyreltilmiştir. 0,45 µm membran filtreden geçirdikten sonra HPLC kullanarak BPO’nun miktarı hesaplanmıştır.

3.2.2 HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) ile analitik yöntem geliştirme ve validasyon çalışmaları

Tüm in vitro çalışmalarda, BPO miktarının belirlenmesi için HPLC cihazı kullanılmıştır. HPLC sistemi bir gradyan pompası, sıcaklık ayarlı kolon ve UV detektöründen oluşmaktadır. GL Sciences Intersil ODS-3 C18 (5 µm, 4.6 x 150 mm) kolon kullanılmıştır. Enjeksiyon hacmi 20 µL ve UV detektörünün dalga boyu 235 nm olarak ayarlanmıştır [76]. Mobil faz olarak HPLC derecesinde yüksek saflıkta ACN:Saf su (80:20) kullanılmıştır. Bu metotlara ait, metot validasyonu çalışmalarında ICH Q2’de belirtilen doğrusallık (linearity), kesinlik (precision), doğruluk (accuracy), seçicilik (specificity), teşhis sınırı (limit of detection), tayin sınırı (limit of quantitation) ve dayanıklılık (stability) parametreleri aşağıda gösterilmiştir.

Tablo 3.3: HPLC Analiz Yöntemi Parametreleri.

Kolon	GL Sciences Intersil ODS-3 C18 (5 µm, 4.6 x 150 mm)
Mobil faz	ACN:Saf su (80:20)
Akış debisi	1 mL/dakika
Enjeksiyon hacmi	20 µL
Dalga boyu	235 nm
Kolon sıcaklığı	25°C
Alıkonma zamanı	5,2 dakika
Süre	10 dakika

3.2.2.1 Doğrusallık

Doğrusallık kriteri, elde edilen tepkinin, formülasyondaki aktif maddenin konsantrasyonu ile belirli sınırlar dahilinde orantılı olduğunu belirtirmiştir. Yani maddelere özgü düşük ve yüksek konsantrasyon bölgelerini kapsayan bir yöntemdir. Standart bir eğri oluşturmak için, 10 mg BPO 60 mL etanol içinde çözülerek bir stok solüsyon yapıldı. 5, 10, 25, 50, 75, 100, 200, 250, ve 500 µg/mL konsantrasyonlarda etil alkol içinde seyreltilmiş stok solüsyonunun sekiz tekrarlı numunesi analiz edilmiştir. Her enjeksiyondan sonra elde edilen alan değerleri, standart bir eğri oluşturmak için konsantrasyona karşı çizilmiştir. Hat eşdeğerliği ve r² değerleri hesaplanmıştır. Standart çözeltinin HPLC'ye enjekte edilmesi sonucunda alıkonma süresinde her konsantrasyonda pik alanı ve maksimum absorpsiyon hesaplanmıştır. Pik alanlar, standart bir eğri belirlemek için BPO konsantrasyonuna karşı çizildi. Her ölçüm 5 kez tekrarlanmıştır.

3.2.2.2 Kesinlik

Bir analitik yöntemin kesinliği, aynı homojen örneğin ardışık örneklerinden elde edilen bir dizi ölçüm arasındaki yakınlığı ifade etmiştir. Kesinlik çalışması tekrar edilebilirlik, tekrar elde edilebilirlik ve tekrar üretilebilirlik olmak üzere farklı parametreler içermektedir. Bu, aynı konsantrasyona sahip istatistiksel olarak yeterli sayıda numune ölçülerek ve aritmetik ortalama, standart sapma (SD) ve varyasyon katsayısı (VK) hesaplanarak yapılmaktadır. %2'den düşük bir CV, yöntemin doğruluğunun garanti edildiği anlamına gelmektedir. Bu nedenle, aynı konsantrasyondaki (50, 70, 90 µg/ml) standart çözelti sürekli olarak 6 kez ölçüldü ve ortalama değer, standart sapma ve varyasyon katsayısı hesaplanmıştır.

Tekrar edilebilirlik

Kalibrasyon denklemini oluşturmak için hazırlanan stok solüsyondan bir konsantrasyon (50 µg/ml) seçildi ve bu konsantrasyon solüsyonunun iki farklı günde hazırlanan ardışık 6 enjeksiyonu HPLC'de yapılmıştır. Alan değerlerine karşılık gelen konsantrasyonların ortalama değerleri, standart sapmaları ve değişim katsayıları hesaplanmıştır. %2'den daha düşük bir varyasyon katsayısı, yöntemin tekrarlanabilir olduğunu göstermiştir.

3.2.2.3 Doğruluk ve seçicilik

Doğruluk, elde edilen deneysel değerlerin gerçek değere ne kadar yakın olduğunu belirlemektedir. Bu yöntemin doğruluğu geri alma oranına bağlanmaktadır. Bu hesaplama,

ortalama geri kazanımı hesaplayarak yöntemin doğruluğunu kontrol etmektedir. Standart sapma (SS) veya varyasyon katsayısı (CV) olarak ifade etmektedir. Dört paralel numunenin alan değerleri üç farklı konsantrasyonda (50, 100 ve 150 µg/ml) belirlenmiştir. Alan değerine karşılık gelen konsantrasyon miktarının kalibrasyon eğrisine ikame edilmesiyle elde edilmiştir. Bulunan değerlerin geri kazanımı, eşitlik (3.1)'i kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Geri Kazanım} = (K_{\text{pratik}} / K_{\text{teorik}}) \times 100 \quad (3.1)$$

K pratik: Etkin maddelerin kalibrasyon eşitliğinden elde edilen konsantrasyon değeri.

K teorik: Etkin maddenin konsantrasyon değeri.

Analitik bir yöntemin seçiciliği, beklenen katkı maddesinin varlığında seçiciliğinin açıkça belirlenmiş olmasıdır. 10 ml beherde yardımcı maddelerin stokları Tablo: 3.4'teki gibi hazırlanmıştır, 0.45 membran filtreden geçirildikten sonra absorbanslar ölçülmüştür.

Tablo 3.4: Yardımcı Maddelerin Stok Miktarları.

Birim formül	Plasebo (µg)
HPMC	60
PG	25
PEG 400	25
Tween 80	20

3.2.2.4 Teşhis ve tayin sınırları (LOD ve LOQ)

Tespit sınırı (LOD), bir analitin kabul edilebilir hassasiyet ve tekrarlanabilirlik ile ölçülebildiği en düşük konsantrasyondur. Sinyal-gürültü oranı tipik olarak 3:1'dir. Tayin sınırı (LOQ), analiz edilen bir maddenin tespit edilebileceği en düşük konsantrasyondur. Bu limitler, düşük konsantrasyonlu numune partilerinin analiz edilmesiyle belirlenmiştir. Kalibrasyon denkleminde en düşük değere karşılık gelen alan için standart sapma değeri hesaplanır ve bu değerlerin ortalaması seçilen kalibrasyon eğrisinin eğimine bölünmektedir. Bu değer 3,3 ile çarpılarak tespit limiti, 10 ile çarpılarak tespit limiti belirlenmiştir. Tespit limiti ve tespit limiti çalışmalarında, her biri 10 numune test edilmiştir.

3.2.2.5 Dayanıklılık

Analitik bir yöntemin dayanıklılığı, normal kullanımda güvenilirliğinin bir göstergesidir. Analit gecikmeleri, bozulmayan analitik koşullar altında belirlenmelidir. Bu amaçla 50 µg/ml konsantrasyonda BPO solüsyonu hazırlanıp, 25°C'de 48 saat bekletilmiştir ve sonra analiz edilmiştir. Deney 3 kez tekrar edilmiştir.

3.3 ÖN FORMÜLASYON ÇALIŞMALARI

Ön formülasyon çalışmalarında, kullanılacak polimer ve yardımcı maddelerin miktarlarını belirlemek için ilk sırada Hidroksipropil metilselüloz (HPMC), Propilen Glikol (PG), Polietilen Glikol (PEG) ve Tween 80 maddeleri saf su ile karıştırılarak, homojenlik ve petri kutusuna dökülebilme gibi fiziksel parametreler gözetlenmiştir. Oranlar tablo 3.5'te verilen konsantrasyonlardaki gibi toplam 10 g olacak şekilde solüsyonu distile su kullanılarak hazırlanmıştır.

Tablo 3.5: Ön Formülasyon Çalışmalarında Kullanılan Konsantrasyonları.

Maddeler	Konsantrasyon (% , a/a)			
HPMC	1	5	7.5	10
PG	0	0.1	0.2	0.4
PEG	0	0.1	0.2	0.4
Tween 80	0.1	0.2	0.3	0.4

Çözücü döküm yöntemi kullanarak HPMC, PG, PEG ve Tween 80 maddelerden hazırlanan solüsyon homojen oluşabilmesi için uygun karıştırmak süresi tayin edilmiştir. Bu amaçla oda sıcaklığında (24 ± 2 °C) 0.5, 1, 2, 3, 6, 12, ve 24 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Bu süreler sonunda karışımın akışkanlığı ve homojenliği görsel olarak incelenerek 9 cm çapında cam petrilere dökülmüştür ve sonra 50 °C etüvde 24 saat kontrollü kurumaya bırakılmıştır.

3.4 FORMÜLASYON GELİŞTİRME İÇİN TASARIMLA KALİTE (QBD) YAKLAŞIMI

Formülasyon geliştirme çalışmaları, tasarımda kalite (QbD) ilkelerine göre gerçekleştirilmiştir. Bu anlamda Uluslararası Uyumlaştırma Konferansı (ICH) tarafından yayınlanan ICH Q8 Kılavuzuna [77] ve ABD Gıda ve İlaç İdaresi tarafından yayınlanan QbD Geliştirme Dokümanları [78] referans olarak alınmıştır. Bununla birlikte, en iyi bilinen QbD konseptleri ve uygulamaları oral dozaj formlarına odaklanmıştır ve bu yaklaşımın transdermal ve topikal dozaj formlarına uygulanması hala başlangıç aşamasındadır; topikal formülasyonların optimize edilmesi konusunda yalnızca sınırlı çalışmalar mevcuttur [79].

3.4.1 Kalite Hedef Ürün Profili (QTPP)

QbD odaklı yaklaşımı kullanarak bir ürün geliştirmenin ilk adımı, Kalite hedef ürün profilini (QTPP) belirlemektir. Hedef ürünün kalite profilini ve temel kalite özelliklerini belirlemek için referans ürün karakterizasyonu yapılmıştır. Aşağıdaki tabloda (Tablo 3.6) detaylı olarak filmin QTPP'si, dozaj formunu, uygulama yolunu, dozaj kuvvetini, ambalajı, stabiliteyi ve görünümü gibi hedef ürün kalite profili sunulmuştur.

Tablo 3.6: BPO Film Hedef Ürün Kalite Profili (QTPP).

Hedef ürün kalite profili	Hedef	Açıklama
Dozaj Form	Topikal film	Kolay uygulanır, daha doğru ve kontrollü dozlama sağlar
Uygulama Şekli	Topikal	Lokal etki ve azaltılmış sistemik etkiler için tercih edilen yol.
Doz	1%	Etkiyi göstermek için Risk taşımayan minimum etkinlik.
Ambalaj	Alüminyum	Ürünün özelliğine uygunluk gösterdiğini düşünülmüştür.
Görünüş	Saydam ve homojen film	Estetik açıdan daha makbul görünüş ve hasta uyumluluğunu artırmak
Kullanım Şekli	Nemli cilde uygulama	Cilde yapışmasını sağlayan miktarda su kullanarak cilde direk uygulanır
Terapötik endikasyon	Akne	Yüz ve vücuttaki sivilce ve akne tedavisi için kullanmak
Ağırlık	1.6 ± 0.3 g	Homojen ve uygulama yerinde kalış süresi açısından uygun olduğu düşünülmüştür.
Dayanıklılık	Yeterli güce sahip olmalı	Ambalajlamak ve uygulanabilir kadar dayanıklılığa sahip olmalıdır
Esneklik	Yeterli esnekliğe sahip olmalı	Katlanabilir ve kolay uygulanabilme açısından esnekliğe sahip olmalıdır

3.4.2 Kritik Kalite Özellikleri (CQA)

ICH Q8 (R2)'ye göre Katı oral dozaj formlarının CQA'ları tipik olarak ürünün saflığını, gücünü, ilaç salınımını ve stabilitesini etkileyen yönlerdir. Diğer dağıtım sistemlerine yönelik CQA'lar ayrıca ürüne özgü daha fazla hususu içerebilmektedir [77] [80]. İstenen ürün kalite profilini elde etmek için, nihai ürünün kalitesini, etkinliğini ve güvenliğini etkileyen kritik kalite özelliklerini belirlemek amacıyla (Tablo 3.7) hazırlanmıştır.

Tablo 3.7: BPO Filmin Kritik Kalite Özellikleri (CQA).

Kalite Özellikleri	Hedef	Kritiklik	Açıklama
Ağırlık	1.5-2.5 g	Hayır	Yama sistemleri genellikle, hafif olmakla daha iyi cilde uygulama ve rahatlık sağlar [79]
Kalınlık	0.1 mm	Hayır	Yama sistemleri genellikle tasarımlarda ince olmakla esneklik ve daha iyi cilt rahatlığı sağlar [79].
Nem oranı	% 10	Evet	Ürünün stabilite, cilde tutulama ve hedef bölgeye uygulanabilirliği açısından önem taşımakta ayrıca etkin madde geçişinde röle oynayabilir [81]. Su içeriği polimerlerde plastikleştirici etkisi gösterip erime ve Tg sıcaklığını düşürebilmektedir [82].
Mikrobiyolojik Limitler	Uygun farmakope gereksinimlerini karşılamalıdır.	Hayır	Laboratuvar ölçeğinde, bu parametre pratik olarak kontrol edilebilir. Ayrıca steril ürün kategorisinden sayılmamaktadır [83].
İçerik Tekdüzeliliği	Dozaj birimlerinin USP < 905 > tekdüzeliliğine uygun olmalı.	Evet	İçerik tutarlılığındaki değişiklikler ürünün etkinliğini ve güvenliğini etkiler [84].
pH	4-6	Hayır	Ön çalışmalar sırasında pH değişikliği saptanmadı, Prosedür sırasında, pH başarılı bir şekilde kontrol edilebilir. Cilde tahriş yaratmamak için bu aralık seçildi [10].
Renk	Saydam	Hayır	Tatmin edici görünüm hasta uyumunu artırabilir. Diğer parametreler kontrol edildiğinde bu faktör kritik olarak görülmemiştir.
Koku	Hoş olmayan koku olmasın	Hayır	Genel olarak koku direkt olarak güvenliliği ve etkinliğini etkileyen özellik değildir, ancak koku hasta uyumunu etkilemektedir.

Tablo 3.7: BPO Filmin Kritik Kalite Özellikleri (CQA) (Devam).

Renk	Saydam	Hayır	Tatmin edici görünüm hasta uyumunu artırabilir. Diğer parametreler kontrol edildiğinde bu faktör kritik olarak görülmemiştir.
Koku	Hoş olmayan koku olmasın	Hayır	Genel olarak koku direkt olarak güvenliliği ve etkinliğini etkileyen özellik değildir, ancak koku hasta uyumunu etkilemektedir.
Gerilme direnci	4-6 (N/cm ²)	Evet	Yamaların mekanik özelliklerini aşınmaya karşı dirençleri açısından değerlendirmek kullanmaktadır [85].
Esneklik	% 10	Evet	Esneklik, kopma uzaması testiyle ölçülür. Bu özellik hasta uyumunu ve günlük rutinini etkileyebileceği için belirleyicidir [85].

3.4.3 Kritik Materyal Nitelikleri (CMA) Tanımlaması

Ürünün kalitesini ve performansını belirleyen önemli malzeme özellikleri değerlendirilmiştir. Polimer konsantrasyonu ayrıca PG, PEG ve Tween 80 maddelerin oranları hazırlanan filmin Kopma uzaması, sertliği, dayanıklılığı ve toplamada esneklik profili ayrıca nem oranına etkilerini göstermiştir [85].

3.4.4 Kritik Proses Parametreleri (CPP)

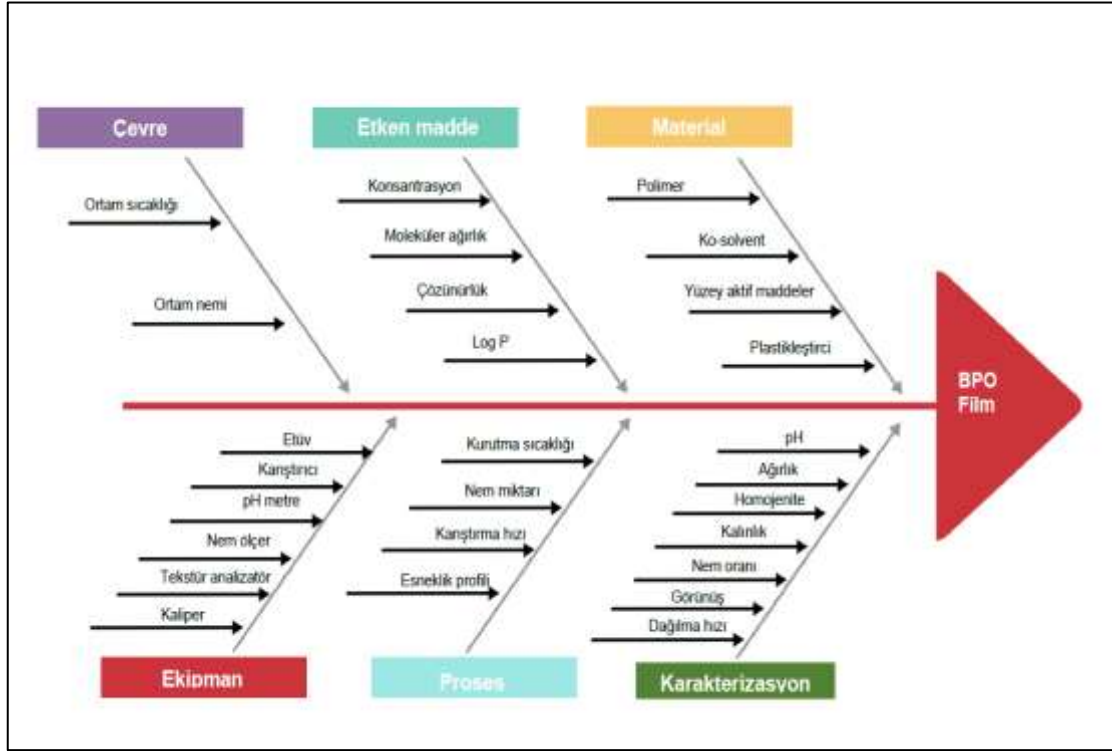
Etkili düşünülen kritik proses parametreleri kurutma sıcaklığı, kurutma süresi, karıştırma süresi ve karıştırma hızı olarak öngörülmüştür. Kurutma sıcaklığı ve süresi filmin sertliğine ve nem oranına etkisi olduğu düşünülmüştür [86].

3.4.5 Risk Değerlendirme Çalışmaları

BPO filmi için kritik kalite özellikleri olarak belirlenen esneklik profili ve nem oranı, farmasötik geliştirme çalışmaları sırasında incelenecektir. Kritik kalite özelliklerini etkileyen kritik materyal özellikleri ve kritik proses parametreleri risk değerlendirilmesi sonucunda belirlenmiştir. İlk olarak Ishikawa diyagramı yardımıyla bitmiş ürün kalite özellikleri üzerinde etkisi olabilecek bütün malzeme ve ekipman parametreleri sıralanmıştır. Başlangıç risk değerlendirmesi kapsamında formülasyon ve proses parametre değişimlerinden, bitmiş ürüne ait kritik kalite özelliklerinden hangilerinin ne kadar

etkilendiği değerlendirilmiştir. Ardından hata türü ve etkileri analizi metodu uygulanarak deney tasarımı kapsamında incelenecek olan yüksek risk seviyesindeki parametreler tespit edilmiştir.

Ishikawa diyagramı (Şekil 3.1), süreçlerde karşılaşılan problemlerin neden-sonuç ilişkileri kurarak tanımlanmasına yarayan basit ve kullanışlı bir araçtır.



Şekil 3.1: Ishikawa Diyagramı.

3.4.5.1 Başlangıç risk değerlendirilmesi

Ishikawa diyagramları tarafından temsil edilen temel malzeme özelliklerinin ve temel işlem parametrelerinin nem oranı ve esneklik profili üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Bazı kritik kalite nitelikleri, formülasyon ve proses parametrelerinden oldukça etkilendiğinden, tüm üretim öncesi değerlendirmeler, ilaç geliştirme çalışmalarında sürekli olarak kontrol edildi ve deneysel tasarım çalışmalarında incelenmiştir. Diğer kritik kalite özellikleri ise bitmiş ürün analizleri ve stabilite çalışmaları ile kontrol edilmiştir. Tablo 3.8’de risk sınıflandırması gösterilmiştir.

Tablo 3.8: Risk Sınıflandırması.

Seviye	Risk Tanımı
Düşük	Risk tamamen kabul edilebilir. Daha fazla araştırmaya gerek yok
Orta	Risk kabul edilebilir, ancak riski ortadan kaldırmak için soruşturma gerekebilir
Yüksek	Risk kabul edilemez. Gelişmiş arama zorunludur.

Tablo 3.8’de gösterilen risk seviyelerine göre üretim sürecinin aktif bileşenlerinin, yardımcı maddelerinin ve işlemlerinin özellikleri için bir başlangıç risk değerlendirmesi yapılmıştır (Tablo 3.9).

Tablo 3.9: Risk Değerlendirme Göstergesi.

Kritik Kalite Özellikleri (CQA)	Malzeme özellikleri ve işlem parametreleri							
	HPMC Miktarı	PG Miktarı	PEG Miktarı	Tween80 Miktarı	Kurutma sıcaklığı	Kurutma süresi	Karıştırma süresi	Karıştırma hızı
Nem oranı	Yüksek	Orta	Orta	Yüksek	Orta	Orta	Düşük	Düşük
Gerilme direnci	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük
Esneklik	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Düşük	Düşük	Orta	Düşük	Düşük
İçerik Tekdüzeliliği	Orta	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük	Orta	Düşük
CQA'lar üzerindeki toplam etki	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Düşük	Orta	Düşük	Düşük

3.4.5.2 Hata türü ve etkileri Analizi (FMEA)

Hata türü ve etkileri analizi, karmaşık süreçlerin daha küçük adımlarla denetlenmesine olanak tanıyan ve kaliteyi iyileştirmek ve hataları erken bir aşamada belirleyip önlemek için kullanılan sistematik bir yöntemdir [6]. Bu analiz, meydana gelen hataların türünü, etkisini ve ciddiyetini belirlemektedir. Reçeteler ve süreç değişkenlerinden temel kalite özelliklerinin etkisini ve potansiyel etkisini belirlemek için hata etkisi ve analiz yöntemleri kullanılmıştır. Risk Öncelik Sayısı (RÖS), hataları değerlendirmek ve önceliklendirmek için kullanılan bir parametredir, aşağıdaki denklem (3.2)’i kullanarak hesaplanmıştır. Bu sayısal

parametrenin belirlenmesi, ciddiyetin, hata olasılığının ve tespit puanının belirlenmesini içermektedir [87].

Önem Derecesi (S): Hatanın ciddiyetini/önem derecesini tanımlayan parametredir, 1 en düşük, 5 en yüksek değerdir.

Hata Olasılığı (P): Hata oluşma olasılığını belirleyen parametredir. 1 en düşük dereceyi, 5 ise en yüksek dereceyi temsil etmektedir.

Tespit (T): Bir hata oluştuğunda kontrol tarafından algılanma kolaylığını gösteren bir parametredir, 1 en kolay hata, 5 en zor hatadır.

$$R\ddot{O}S = S \times P \times T \quad (3.1)$$

ROS skoruna göre 0-29 arası düşük risk, 30-59 arası orta derecede risk, 60 ve üzeri yüksek risk olarak değerlendirilmektedir. Tablo 3.10'te hata türü ve etkileri analizi (FMEA) açıklanmıştır.

Tablo 3.10: Hata Türü ve Etkileri Analizi (FMEA).

CMA ve CPP	Önem Derecesi	Hata Olasılığı	Tespit	RÖS
HPMC miktarı	5	4	4	80
PG miktarı	5	4	4	80
PEG miktarı	5	4	4	80
Tween80 miktarı	4	4	4	64
Kurutma sıcaklığı	4	1	3	12
Kurutma süresi	4	1	3	12
Karıştırma süresi	4	1	1	12
Karıştırma hızı	1	1	1	1

3.4.6 Deney Tasarımı Çalışmaları

Risk değerlendirme çalışmasının ardından, deney tasarımı kapsamında yüksek riskli olarak sınıflandırılan formülasyonlar ve proses parametreleri incelenmiştir. İlk olarak üretilebilirlik çerçevesinde kritik parametrelerin uygulama alanlarını belirlemek için ön testler yapılmıştır.

Bununla birlikte, bir ilk risk değerlendirmesi, bir formülasyonun kalitesini etkileyen ana unsurları ortaya çıkarsa da bu faktörlerin formülasyon kalitesi üzerindeki etkilerini yeterince göstermeyebilmektedir. Bu amaca ulaşmak için bir deney tasarımı (DoE) önerilmiştir.

Yanıt yüzeyi yöntemlerini uygulamak ve polinom modelleri oluşturmak için kullanılmıştır. Tepki yüzeyi yaklaşımları, yanıt fonksiyonunun eğriliğini simüle etmektedir. Çeşitli bağımsız ve bağımlı değişkenler, önceki çalışmalara, deneysel denemelere, risk değerlendirmesine ve hata modu etki analizine dayalı olarak seçilmiştir. Deneysel değişkenleri istatistiksel olarak optimize etmek için, 'D-optimal' tasarımı kullanılarak film setleri oluşturulmuştur. Optimizasyon için seçilen faktörlerin sayısı, bu tasarımı diğer optimizasyon tasarımlarına (merkezi bileşik tasarım, Box Behnken, faktöriyel tasarım) göre önceliklendirmek için kullanılmıştır. Tasarım, sonuçtan ödün vermeden sınırlı sayıda deneysel çalıştırma ile faktörler arasındaki ilişkiyi doğru bir şekilde tahmin etmeye yardımcı olmuştur. Öngörülen R² değerleri negatif olmamalıdır, çünkü negatif bir sayı, genel ortalamanın model bileşenlerinden daha güçlü bir yanıt tahmin edicisi olduğunu ima etmektedir. ANOVA testinin (Analysis of Variance testi) uygulanmasının ardından, program polinom denklemleri üretmiştir. Her denklem, bağımlı değişkeni cevaba bağlamıştır.

Veriler daha sonra faktörlere (bağımsız değişkenlerin çeşitli yanıtlar üzerindeki etkileri) ve bağımsız değişkenlerin ilişki derecesine bakmak için çeşitli teşhis ve analiz diyagramları kullanılarak analiz etmiştir. Tablo 3.11'da gösterilen gibi polimer ve diğer yardımcı madde miktarları, tasarımın sayısal bağımsız değişkenleri olarak kabul edilmiştir. Deneyler sırasında etken madde sabit bırakılırken diğer maddeler minimum ve maksimum seviyede değiştirilmiştir.

Tablo 3.11: Girdi Değişkenlerinin Tanımlanması.

Numara	Girdi Değişkenleri	Hammadde	Minimum Değeri	Maksimum Değeri	Birim
X1	Polimer	HPMC	0.4	0.8	g
X2	Plastikleştirici / Ko-solvent	PEG	0.04	0.08	g
X3	Plastikleştirici / Ko-solvent	PG	0.04	0.08	g
X4	Sürfaktan	Tween 80	0.005	0.01	g

Bağımlı değişkenler veya yanıtlar, esneklik profili ve nem oranı olarak değerlendirilen tablo 3.12’de gösterildi.

Tablo 3.12: Tasarımdaki Yanıtlar.

Yanıt kodu	Yanıt
Y1	% Nem oranı
Y2	Gerilme direnci (N/cm ²)
Y3	% Esneklik

Ön çalışmalar kapsamında, bağımsız değişkenlerin, set büyüklüğü ve yanıt değişkenlerinin değerleri belirlenmiştir. Ardından formüller oluşturulup ve test edilmiştir. Etkin maddeyi sabit tutarak veriler MODDE yazılımına (MODDE Pro 12) girildi ve 19 adet deneme tasarım matrisi çalışması oluşturulmuştur (Tablo 3.13).

Tablo 3.13: Deney Tasarım Matrisi.

No	BPO	HPMC	PEG	PG	Tween 80	Su
N1	0,0187	0,4	0,04	0,04	0,005	0,865
N2	0,0247	0,8	0,04	0,04	0,005	0,825
N3	0,0247	0,4	0,08	0,04	0,005	0,825
N4	0,0307	0,8	0,08	0,04	0,005	0,785
N5	0,0247	0,4	0,04	0,08	0,005	0,825
N6	0,0307	0,8	0,04	0,08	0,005	0,785
N7	0,0307	0,4	0,08	0,08	0,005	0,785
N8	0,0367	0,8	0,08	0,08	0,005	0,745
N9	0,0195	0,4	0,04	0,04	0,01	0,86
N10	0,0255	0,8	0,04	0,04	0,01	0,82
N11	0,0255	0,4	0,08	0,04	0,01	0,82
N12	0,0315	0,8	0,08	0,04	0,01	0,78
N13	0,0255	0,4	0,04	0,08	0,01	0,82
N14	0,0315	0,8	0,04	0,08	0,01	0,78
N15	0,0315	0,4	0,08	0,08	0,01	0,78
N16	0,0375	0,8	0,08	0,08	0,01	0,74
N17	0,0281	0,6	0,06	0,06	0,0075	0,8025
N18	0,0281	0,6	0,06	0,06	0,0075	0,8025
N19	0,0281	0,6	0,06	0,06	0,0075	0,8025

Test koşullarının ve matematiksel hesaplamaların kesinliğini kontrol etmek için deneysel tasarımın doğrulanması programı kullanarak yapılmıştır. Tasarımı doğrulamak için, üç kopya halinde başka bir kontrol noktası formülasyonu yapılmıştır. Ayrıca bağımlı değişkenler deneysel olarak değerlendirilerek ortalama değerleri alınmıştır. Daha sonra sonuçlar, yazılımdan elde edilenlerle bildirilen değerlerle karşılaştırılmıştır.

3.5 FORMÜLASYON HAZIRLAMA

Programdan alınan deney tasarım matrisinde bulunan oranlara göre filmin formülasyonları hazırlanmıştır. İlk önce HPMC saf suya eklenerek çözülmek için 1000 rpm hızında manyetik karıştırıcı 30 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra PG, PEG ve Tween80 art arda karışıma eklenmiştir. Etken madde BPO daha sonra ilk hazırlanan karışıma eklenmiştir. Bütün maddeler bir araya geldikten sonra beherde 60 dakika süresince 1000 rpm'de karıştırılmıştır. 1 saat bekletmenin ardından 9 cm çapında cam petriye dökülmüştür, akabinde 50 °C sıcaklığında 24 saat kurutulmak amacıyla etüve verilmiştir.

3.6 TASARIM ALANI VE OPTİMİZASYON ÖNCESİ KARAKTERİZASYON ÇALIŞMALARI

Elde edilen 19 tane farklı forumlardaki filmlere karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Fiziksel muayene, nem tayini, esneklik profili ve diğer testler gerçekleştirilmiştir.

3.6.1 Ağırlık Tekdüzeligi

Her filminden $1.70 \times 1.70 \text{ cm}^2$ boyutlarında 5 adet kare şeklinde numuneler alınıp ve hassas terazide ağırlıkları belirlenmiştir [88].

3.6.2 Kalınlık

$1.70 \times 1.70 \text{ cm}^2$ boyutlu filmin kalınlığı bir dijital kumpas ile ölçülmüştür. Film üzerinde 5 farklı noktada (köşeler ve merkez) ölçüm alındı, her formülasyon için 5 tekrar yapılmıştır [89].

3.6.3 Nem İçeriği

$1.70 \times 1.70 \text{ cm}^2$ boyutlarında film parçaları nem ölçer cihazına yerleştirilerek (Şekil 3.2), standart koşullara göre nem miktarı tayin edilmiştir, bu test her filminden 5 numune ile tekrar

edilmiştir. Temel olarak nem tayin cihazı numuneyi ısıtmadan önce tartar ve ardından kuruyana kadar ısıtır, Numune kuruduktan sonra cihaz tekrar tartım işlemini yaparak, kütle farkını hesaplar ve nem içeriğini tespit etmektedir.



Şekil 3.2: Nem Ölçer Cihazı.

3.6.4 pH Tayini

1.75 x 1.75 cm² film parçaları, 25 mL'lik bir behere yerleştirildi ve 20 mL fosfat tamponu (pH 6.8) eklenmiştir. Beher ağzı parafilm ile kapatıldı ve 10 dakika sonra pH metre kullanılarak pH ölçülmüştür [90]. Her formülasyon için altı tekrar yapılmıştır.

3.6.5 Gerilme Direnci ve Esneklik

Hazırlanan filmlerin esnekliği, fiziksel sağlamlığını ve elastikiyetini ölçmek için aşağıda ayarlanan test parametreleri (Tablo 3.14) ile Tekstür Analiz Cihazı kullanılmıştır (şekil 3.3). 50 x 10 mm² dikdörtgen şeklinde kesilmiş parçaların uçları (10mm üst, 10mm alt) aparatın iki kıskacı arasına yerleştirildiğinde yapışmaması ve yırtılmaması için kenarlarına bant uygulanmıştır. Cihazın alt ve üst kıskaçlarına film yerleştirildikten sonra üst kıskaç 0,5 mm/s sabit hızla çekildiğinde film uzamaya başladı, filmin kopma anındaki kuvveti ve çekme mukavemeti tespit edilmiştir. Filmin kopma anındaki kuvvet kaydedilerek aşağıdaki

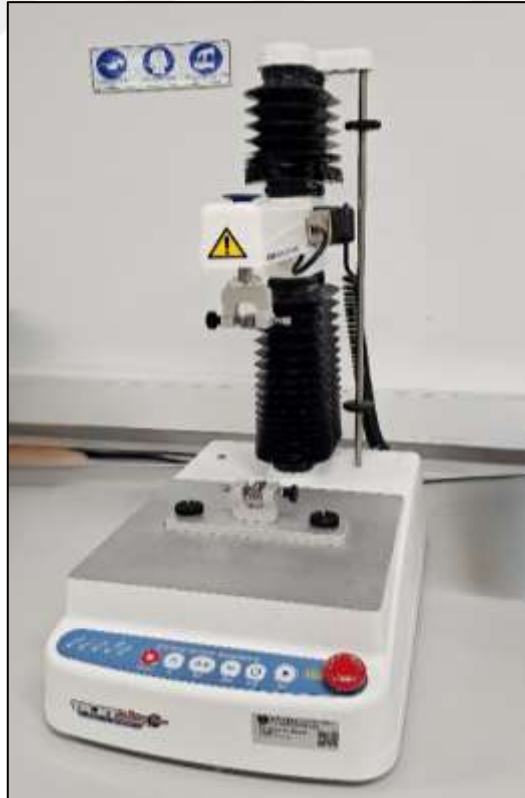
formüller yardımıyla filmin gerilme direnci ve esnekliği hesaplanmıştır. Her film için 3 tekrar yapılmıştır [91].

Aşağıda verilen formüller kullanılarak, formülasyonların kopma kuvveti ve uzama mesafesi hesaplandı ve cm^2 'ye düşen kopma kuvveti ile % elastikiyet değerleri hesaplanmıştır [92].

- Gerilme Direnci (N/cm^2) = Kuvvet-mesafe grafiğindeki kopma kuvveti (N)/İlk kesit alanı (cm^2)
- Esneklik = [Kopma anındaki uzunluktaki artış (mm)/İlk uzunluk (mm)] x 100

Tablo 3.14: Tekstür Analiz Cihazının Test Parametreleri.

Test Parametreleri	
Yükleme hücresi	5 kg
Test modu	Tension
Test hızı	0.5 mm/sn
Hedef modu	Mesafe
Mesafe	30 mm
Test için kullanılan aparat	TA-XT plus C tekstür cihazı



Şekil 3.3: Tekstür Analiz Cihazı.

3.7 FORMÜLASYONUN OPTİMİZASYONU VE TASARIM ALANAI

Deney tasarımı matrisinden alınan filmlerle yapılan karakterizasyon testlerinin sonucu MODDE® Pro 12.1 yazılımına girilmiştir, Optimizasyon süreci için üç faktöre dayalı yanıt yüzeyi metodolojisi ve 'D-optimal' tasarım oluşturulmuş ve uygulanmıştır. CQA'lar için elde edilen nem oranı, esneklik profili ve sertlik dahil olmak üzere formülasyon partilerinin tepkileri değerlendirildi. Program tarafından elde edilen R^2 , Düzeltilmiş R^2 , Q^2 değerlerine dayanarak modeller sağlanmıştır ve MODDE programı kullanılarak optimum formül elde edilmiştir. Programda elde edilen sonuçlara göre ideal formülasyonlar belirlenmiştir. Hiperküp kenar düşük (Hypercube edge low), Hiperküp kenar yüksek (Hypercube edge high), ayar noktası (Optimum), minimum ve maksimum konsantrasyonlar elde edilmiştir. Böylelikle kritik girdi parametrelerinin değişkenlerinden elde edilen çıktılarının sonuçları ile ilacın tasarım alanı optimize edilmiştir. Hiperküp kenar düşük, hiperküp kenar yüksek, ayar noktası (optimum), minimum ve maksimum konsantrasyonların formülasyonları hazırlanmıştır.

3.7.1 Optimum Formülasyon Hazırlığı

Maddelerin tartımı yapıldıktan sonra, HPMC oda sıcaklığındaki suda dağıldı ve 1000 rpm hızında 30 dakikaya kadar karıştırıldı. BPO'ya PG, PEG, Tween80 eklendi ve 30 dakikaya kadar manyetik karıştırıcıyla karıştırıldı. Etken madde tam çözüldükten sonra dağılan HPMC'ye eklendi. Karışım 30 dakika 1000 rpm hızında karıştırıldı, sonradan film dökümü metodu ile petrilere dökülerek 50 °C sıcaklıkta 24 saat kurutulmaya bırakılmıştır. Optimum formülün değerleri aşağıdaki (Tablo 3.14) verilmiştir.

Tablo 3.15: Optimum Formülasyon Değerleri.

Maddeler	Optimum formül (a/a)%
HPMC	0,67
PEG	0,53
Tween 80	0,083
PG	0,53
BPO	0,018
SU	8,16

3.7.2 Optimum Formülasyonun Karakterizasyonu

Elde edilen optimum formülüne karakterizasyon testleri yapılmıştır. Bu doğrultuda gerilme direnci, nem oranı, esneklik, içerik tekdüzeliği, difüzyon, toksisite, stabilite ve diğer testler uygulanmıştır.

3.7.2.1 Görsel inceleme

Hazırlanan optimum filmlerin görünümü, rengi ve dokusu makroskopik olarak incelenmiştir.

3.7.2.2 Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskop (FESEM) incelemesi

Alan emisyon taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM), malzemelerin mikro yapı görüntüsünü yakalamak için kullanılan ileri bir teknolojidir. Bu çalışmada, etkin maddenin filmde bulunması ve bulunduğu şeklin tespit edilmesi için gerçekleştirilmiştir. Yıldız Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarında bulunan Thermo Scientific Apreo 2 model alan taramalı elektron mikroskobu kullanılarak görüntü alınmıştır. FESEM cihazına biri boş biri etkin madde içeren 2 farklı film taranmıştır. İncelemeden önce numuneler, çift taraflı yapışkan bant kullanılarak alüminyum bir saplamanın üzerine monte edildi ve vakumda hazırlanmıştır. Alan emisyon taramalı elektron mikroskobu 500 V'luk bir hızlanma voltajında çalıştırılmıştır.

3.7.2.3 Optimum filmin diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi

Filmi oluşturmada kullanılan etkin madde ve polimerlerin termal özelliklerini incelemek amacıyla diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi, alt bölüm 3.2.1.4'te açıklandığı gibi gerçekleştirilmiştir.

3.7.2.4 Ağırlık tekdüzeliği

Bu test, alt bölüm 3.6.1'deki gibi anlatılan aynı yöntemi izleyerek yapılmıştır.

3.7.2.5 Kalınlık

Bu test, alt bölüm 3.6.2'deki gibi anlatılan aynı yöntemi izleyerek yapılmıştır.

3.7.2.6 pH

Bu test, alt bölüm 3.6.4'teki gibi anlatılan aynı yöntemi izleyerek yapılmıştır.

3.7.2.7 Gerilme direnci ve esneklik

Bu test, alt bölüm 3.6.5'teki gibi anlatılan aynı yöntemi izleyerek yapılmıştır.

3.7.2.8 Nem içeriği

Bu test, alt bölüm 3.6.3'teki gibi anlatılan aynı yöntemi izleyerek yapılmıştır.

3.7.2.9 Dağılma testi

6 cm² büyüklüğünde petri 'ye 10 ml saf su eklendikten sonra 1x1 cm kare şeklinde film parçası suyun yüzeyine yerleştirmiştir, filmin tamamı dağılana kadar zaman hesaplanmıştır. Bu çalışma 5 defa tekrarlanmıştır [93] [94]

3.7.2.10 Katlama direnci

Hazırlanan filmleri kırılana kadar aynı yerden sürekli katlayarak yapılmıştır. Filmin katlama direnci, kırılmadan gerçekleştirilen katlama sayısı olarak belirlenmiştir [95].

3.7.2.11 İçerik tekdüzeliği

Optimum filmden 1.70 cm kenar uzunluğunda kare şeklinde parçalar kesilerek 10 mL'lik behere koyulmuş ACN:Su (80:20) ile hacmine tamamlanmıştır. 30 dk karıştırıldıktan sonra bu çözülden 500 µL alınarak 10 mL'lik behere eklenerek ACN:Su (80:20) ile hacmine tamamlanmıştır. 0.45 µm membran filtreden geçilerek miktar tayini için HPLC cihazına verilmiştir. Alt bölüm 3.2.2'de açıklanan doğrulanmış yöntem ile içerik miktarı 235 nm dalga boyutunda saptanmıştır [96]. Dozaj içeriği, etiket iddiasını %95 ila %110 oranında karşılamalıdır [84]. Ortalama içerik miktarı, standart sapma, varyasyon katsayısı ve kabul değeri (KD) hesaplanmıştır (Denklem 3.2). Bu test için 10 tekrar yapılmıştır.

$$KD = R - X + ks \quad (3.2)$$

X: Bireysel film içeriklerinin % ortalaması

R : Referans değer

Eğer, % 98,5 < X < % 101,5 ise, R = X (KD = ks)

Eğer, X < % 98,5 ise, R = % 98,5 (KD = 98,5 - X + ks)

Eğer, X > % 101,5 ise, R = % 101,5 (KD = X - 101,5 + ks)

k : Kabul edilebilirlik sabitidir.

s : Standart sapma

KD'yi elde etmek için kabul edilebilirlik sabiti $k = 2.4$ ve T (Hedef içerik) = %100 kullanılmıştır. Testi başarıyla geçmek ve kriterleri karşılamak için izin verilen maksimum kabul değeri veya KD, 15.0'a eşit veya daha az olmalıdır.

3.7.2.12 Dissolüsyon testi çalışmaları

Hazırlanan optimum filme aşağıda belirtilen şekilde çözünme hızı testi yapılmıştır [97].

Metot: Palet

Devir hızı: 50 rpm

Çözünme ortamı: Distile su

Sıcaklık: $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5$

Ortam hacmi: 900 mL

Hazırlanan optimum film formülasyonundan BPO'nun çözünmesini tespit etmek için film, 3 x 3 cm² boyutunda 125 µm paslanmaz çelik tel kafese yerleştirilmiştir. Cihazın 900 ml çözünme ortamına yerleştirilmesinden sonra zamana bağlı olarak BPO'nun formülasyonlardan serbestleşmesi incelenmiştir. Çözünme hızı çalışmalarında; çözünme ortamından 1, 3, 5, 10, 15 ve 30 dakika sonra 5 mL numune toplandı ve her toplama sonrasında aynı koşullar altında ortama 5 mL taze çözünme ortamı eklenmiştir. Numuneler 0,45 µm filtreden geçirildikten sonra HPLC cihazında, 235 nm dalga boyutunda analiz edilmiştir. Formülasyonun çözünme profili, zaman içinde salınan aktif bileşen miktarının yüzdesi olarak oluşturulmuştur. Her formülasyon için üç tekrar gerçekleştirilmiştir.

3.7.2.13 Sitotoksosite çalışmaları

Sitotoksosite çalışmaları MTT testi kullanılarak yapılmıştır. MTT testi, canlı hücrelerde mitokondriyal aktivitenin bir sonucu olarak meydana gelen kolorimetrik değişikliklerin ölçülmesine dayanmaktadır. Dehidrojenaz enzimi tarafından üretilen formazan ürünü miktarı, kültürdeki canlı hücre miktarını doğrudan yansıtmaktadır. MTT testinde, hücre popülasyonundaki canlı hücrelerin yüzdesini kolorimetrik ve kantitatif olarak ölçmek için bir mikro plaka okuyucu spektrofotometre kullanılmıştır. CCD-1079Sk sağlıklı deri fibroblast hücreleri (pasaj 29) 1x10 hücre/kuyucuk olacak şekilde süspanse olarak hazırlanarak 96 kuyucuklu hücre kültür plaklarına dağıtılmıştır. Hücreler 24 saat süresince

37 °C'de %5 CO₂'li etüvde inkübe edildikten sonra, yeni besiyeri ile numunelerin 6 farklı konsantrasyonları hazırlanıp (son konsantrasyon 500 µg/mL-15,625 µg/mL) en az 3 biyolojik tekrar uygulanarak 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi olan 24 saat sonunda hücrelerdeki besiyerleri dökülerek son konsantrasyonu 0,5 mg/mL olacak şekilde DMEM-F12 besiyeri (%10 FBS, %1 penisilin/streptomisin) içinde seyreltik MTT konuldu ve 37 °C'de %5 CO₂'li etüvde 3 saat inkübe edilmiştir. Oluşan formazan kristalleri DMSQ içerisinde çözündürüldü ve numunelerin absorbans değerleri mikropilaka okuyucu spektrofotometre ile donatılmış BioTek Synergy HI cihazında 540 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Konsantrasyon grubu canlılığı yüzdesi, kontrol grubuna göre hesaplandı. IC değerleri Graphpad Prism 5 programı kullanılarak probit analizi ile hesaplanmıştır. Kontrol grubu, besiyeri kontrol grubu olarak uygulanmıştır.

3.7.2.14 Stabilite çalışmaları

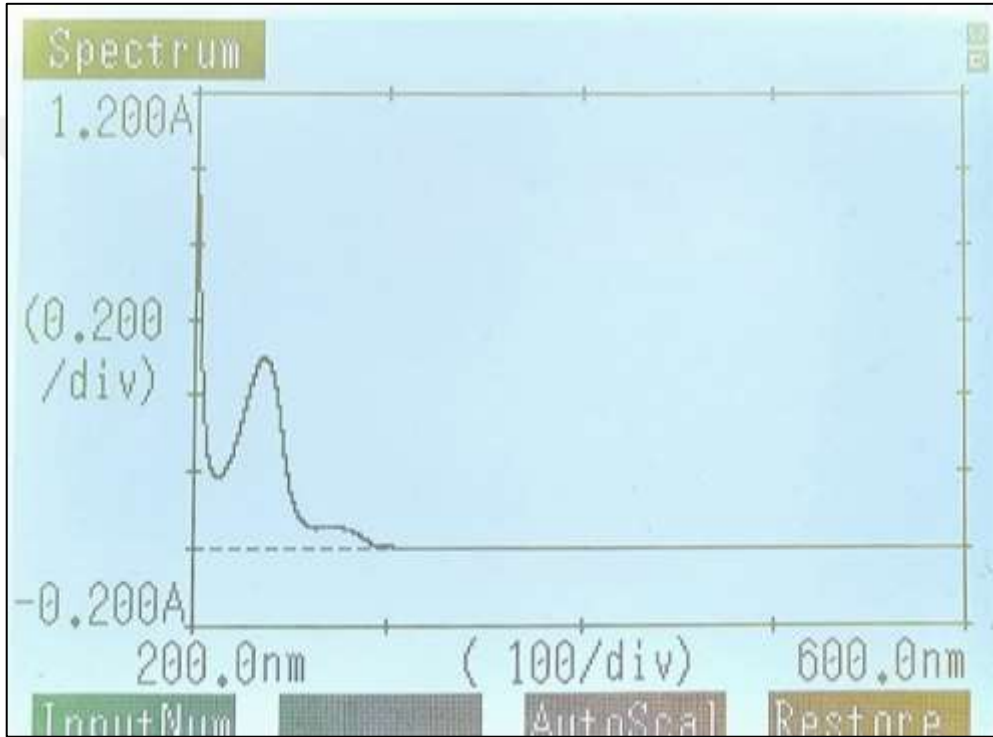
Stabiliteyi incelemek için optimum film, katlanmış ve kapatılmış bir alüminyum folyoya yerleştirildikten sonra hava geçirmez plastik poşete konuldu, iki parti şeklinde 4 hafta boyunca %60 nem, 25 ± 2 °C derecede bir stabilite kabininde saklanmıştır. Filmlerin görünüm, ağırlık, kalınlık, ilaç içeriği, pH, esneklik profili ve nem oranını başlangıçta ve dördüncü haftada değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 BPO'NUN FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ İLE İLGİLİ BULGULAR

4.1.1 UV Spektrum Bulguları

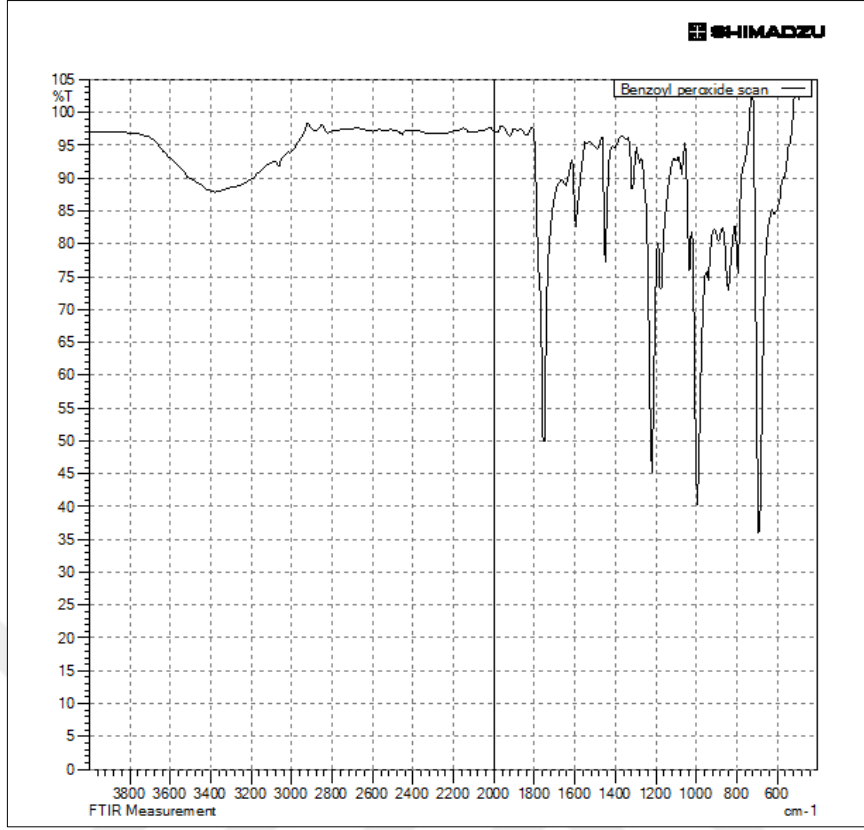
Yöntem 3.2.1.1'e göre yapılan çalışmada elde edilen BPO'nun UV spektrumu Şekil 4.1'de gösterilmektedir. En yüksek absorbans değerleri 235 ve 274 nm'de ölçülmüştür.



Şekil 4.1: BPO UV Spektrumu.

4.1.2 Fourier Dönüştümlü Kızılötesi (FTIR) Spektrumu Bulguları

Gerçekleştirilen çalışmada elde edilen Benzoil Peroksit'in FTIR spektrumu Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



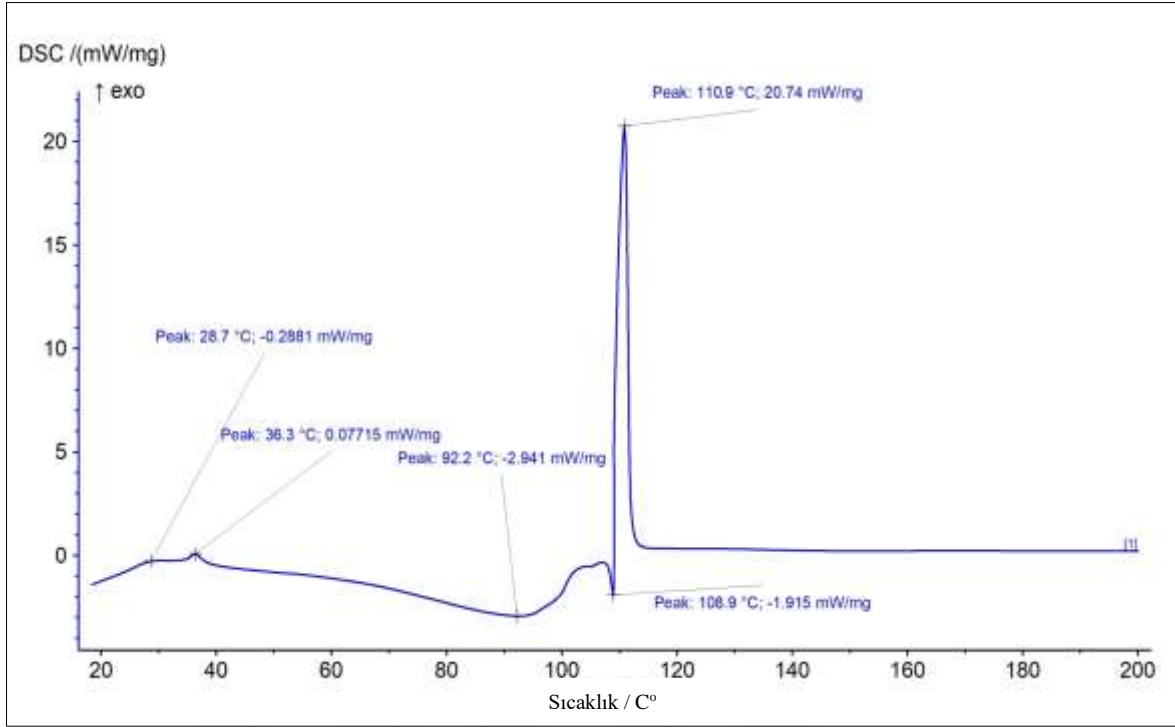
Şekil 4.2: BPO FTIR Spektrumu.

4.1.3 Erime Derecesi Tayini Bulguları

Gerçekleştirilen çalışmaya göre, Benzoil Peroksitin erime noktası 103-109 °C aralığında olduğunu bulunmuştur.

4.1.4 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analiz Sonuçları

Yöntem 3.2.1.4'te belirtilen şekilde gerçekleştirilen çalışmada elde edilen BPO'nun DSC termogramı Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3: BPO'nun DSC Termogramı.

Benzoil peroksite ait ekzotermik pik 110.90°C'de görülmektedir. Faz değişimi incelendiğinde erimenin 108.90°C–114.50°C aralığında gerçekleştiği görülmektedir. Elde edilen bu değerler ile literatürde bahsedilen değerlerle uyumlu olduğu görülmüştür [98].

4.1.5 Çözünürlük Tayini Bulguları

Yöntem 3.2.1.5'te belirtilen şekilde gerçekleştirilen çalışmaların sonucu olarak, etken maddenin etanoldeki çözünürlüğü 17,89 mg/mL olarak bulunmuştur.

4.2 BPO TAYİNİ İÇİN KULLANILAN ANALİTİK METOT VE VALİDASYONUNA AİT BULGULAR

4.2.1 Doğrusallık Bulguları

Gerçekleştirilen çalışmalara göre hazırlanan standart çözeltilere ait 235 nm'de bulunan ortalama alan değerleri Tablo 4.2'de ve kalibrasyon grafiği de Şekil 4.1'de verilmiştir. 5-200 µg/mL konsantrasyon aralığında r^2 değeri 0,9998 olarak bulunmuştur.

Tablo 4.1: Alan Değerleri.

Alan	Konsantrasyon
4583	0
557988	5
1035028	10
2840218	25
5674569	50
8490257	75
11278398	100
22136607	200

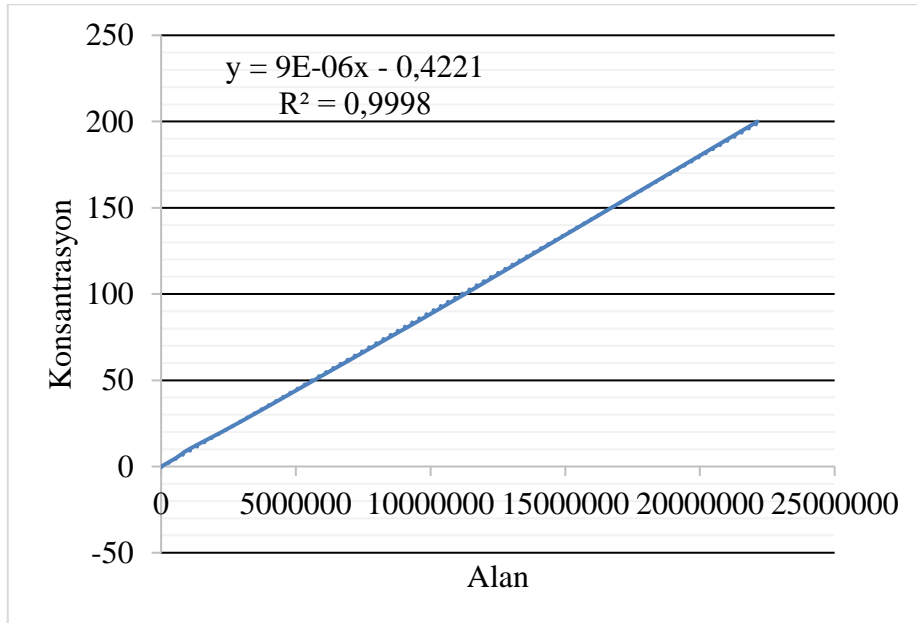
Yapılan çalışma neticesinde standart doğru denklemi aşağıdaki (4.1)'te gösterilen eşitlik olarak bulunmuştur. Grafikteki semboller aşağıda belirtilmiştir.

$$y = 9e - 06x - 0,422 \quad (4.1)$$

y : Konsantrasyon

x : Alan

R2: Determinasyon katsayısı



Şekil 4.4: Kalibrasyon Grafiği.

4.2.2 Kesinlik Bulguları

Gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen kesinlik ve tekrar edebilirlik sonuçları Tablo 4.2'de gösterilmektedir. Çalışmalar, varyasyon katsayısının %2'den az olduğunu göstermiştir.

Tablo 4.2: Kesinlik Bulguları.

Okuma	Konsantrasyon 50 µg/mL		Konsantrasyon 70 µg/mL		Konsantrasyon 90 µg/mL	
	Tekrar edilebilirlik	Tekrar üretilebilirlik	Tekrar edilebilirlik	Tekrar üretilebilirlik	Tekrar edilebilirlik	Tekrar üretilebilirlik
1	50,12	70,56	90,26	50,12	70,56	90,26
2	50,78	70,14	90,2	50,78	70,14	90,2
3	49,89	70,89	90,35	49,89	70,89	90,35
4	50,9	69,85	90,17	50,9	69,85	90,17
5	49,76	69,44	89,94	49,76	69,44	89,94
6	50,33	70,59	90,86	50,33	70,59	90,86
Orta.	50,30	70,245	90,2	50,30	70,245	90,29
SS.	0,46	0,53	0,30	0,46	0,53	0,30
VK.	0,92	0,76	0,34	0,92	0,76	0,34

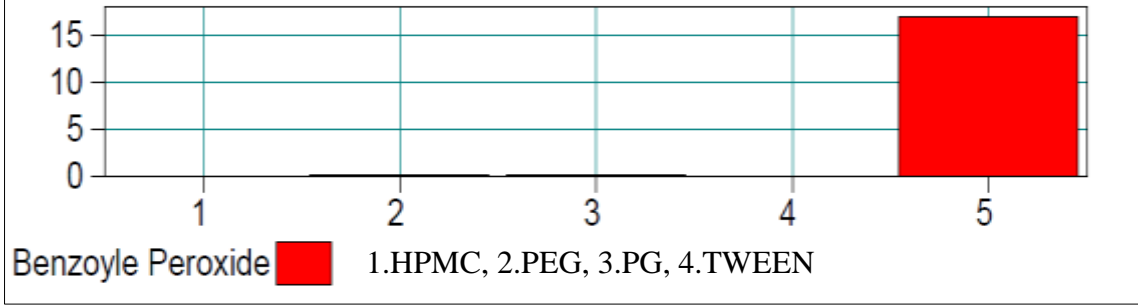
4.2.3 Doğruluk ve Seçicilik Bulguları

Gerçekleştirilen çalışmadan elde edilen doğruluk parametresine ait bulgular Tablo 4.3'te verilmiştir. Geri kazanım farkı %10 aralığında ve varyasyon katsayısı % 2'den küçük bulunmuştur.

Tablo 4.3: Doğruluk Bulguları.

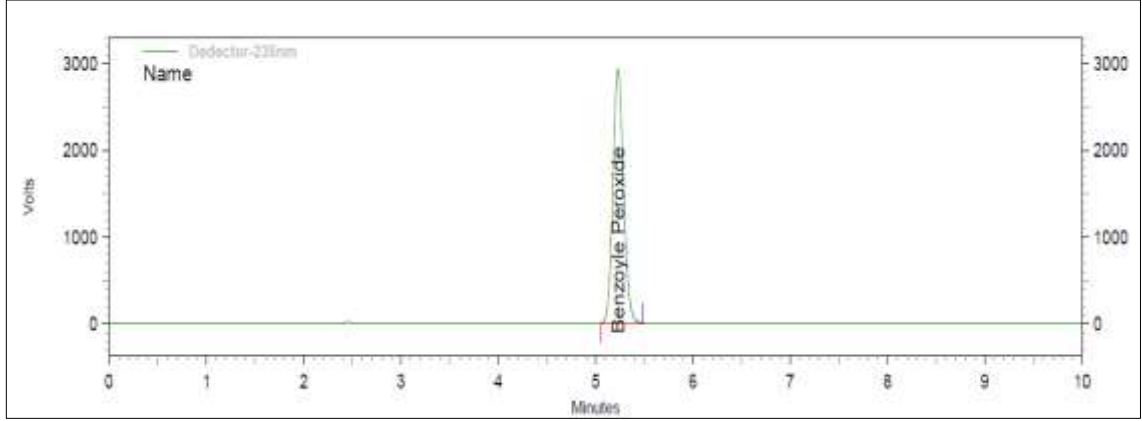
Konsantrasyon (µg/mL)	I	II	III	%Geri kazanım I	%Geri kazanım II	%Geri kazanım III	%Geri kazanım Ort	SS	VK
50	49,26	49,84	49,65	98,52	99,68	99,3	99,25	0,70	0,70
100	99,32	99,67	99,89	99,32	99,67	99,89	99,64	0,05	0,05
150	149,88	149,37	149,24	99,92	99,58	99,49	99,56	0,30	0,30

Yardımcı maddelerin absorbands vermediği gözlenmiştir (Şekil 4.5, 4.6).



Şekil 4.5: Seçicilik Sonuçları.

Şekil 4.6'te etkin madde ve mobil faz piklerinin örtüşmediğini görebilirsiniz. Bu nedenle bu yöntemin BPO'ya özgü olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.6: BPO ve Mobil Faza Ait Kromatogram.

4.2.4 Teşhis ve Tayin Sınırları (LOD ve LOQ) Bulguları

Yöntem 3.2.2.5'te belirtilen şekilde gerçekleştirilen çalışmadan elde edilen BPO'nun saptama sınırı (LOD) 0.236 µg/mL olarak bulunmuştur. Miktar Tayin Sınırı (LOQ) BPO'nun kabul edilebilir kesinlik ve doğruluk ile tayin edilebildiği en düşük konsantrasyon 0.389 µg/mL olarak bulunmuştur.

4.2.5 Dayanıklılık Bulguları

Elde edilen konsantrasyon değerlerinde anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. ($p > 0.05$). Bulgular Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4: BPO'nun Dayanıklılık Bulguları.

Zaman (gün)	Konsantrasyon (50 µg/mL)
0	49,96
1	49,91
2	49,88
ORT	49,92
SS	0,04
VK	0,08

4.3 ÖN FORMÜLASYON BULGULARI

Yapılan ön çalışmalarda bulunan bulgular, homojenlik ve petri kutusuna dökülebilme gibi fiziksel parametreler görsel olarak incelendikten sonra minimum ve maksimum değerler tablo 4.5'teki gibi olmasına karar verilmiştir.

Tablo 4.5: Minimum ve Maksimum Ön Formülasyon Değerleri.

Maddeler	Minimum miktar	Maksimum miktar
HPMC	0.4g	0.8g
PG	0.04g	0.08g
PEG	0.04g	0.08g
Tween 800	0.01g	0.005g

Tablo 3.5'te gösterilen miktarlarda hazırlanan ve petri kaplarına dökülen formülasyonlar için optimum kuruma süresi 50 ± 2 °C'de etüvde 23-25 saat olarak bulunmuştur.

4.4 TASARIM ALANI VE OPTİMİZASYON ÖNCESİ KARAKTERİZASYON ÇALIŞMALARI BULGULARI

4.4.1 Ağırlık Tekdüzeligi Bulguları

Yöntem 3.6.1'de belirtilen şekilde gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları Tablo 4.6'te verilmiştir.

Tablo 4.6: Ağırlık Tekdüzelığı Bulguları

Formülasyon	Ağırlık tekdüzelığı (mg) n=3
F1	32,5 ± 0,86
F2	89,3 ± 2,49
F3	32,67 ± 3,30
F4	62,4 ± 2,16
F5	56,33 ± 3,09
F6	86,33 ± 2,05
F7	94,75 ± 3,56
F8	109,67 ± 3,30
F9	51,67 ± 3,09
F10	51,33 ± 3,40
F11	62,67 ± 0,94
F12	90,7 ± 3,56
F13	70,67 ± 1,70
F14	76,67 ± 3,30
F15	86,67 ± 3,40
F16	115,3 ± 2,55
F17	75,33 ± 3,86
F18	77,67 ± 3,30
F19	74,33 ± 3,30

Bu sonuçlara göre F16 115,3 ± 2,55 mg ağırlıkla en ağır film formülasyonu olarak bulunmuştur. En hafif film, F1 ve F3 formülasyonları 32,5 ± 0,86 ve 32,67 ± 3,30 mg olarak görülmüştür.

4.4.2 Kalınlık Bulguları

Yöntem 3.6.2'de belirtilen şekilde gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları Tablo 4.7'te verilmiştir.

Tablo 4.7: Kalınlık Tekdüzeliği Bulguları.

Formülasyon	Kalınlık (mm) n=3
F1	0,1 ± 0
F2	0,2± 0
F3	0,1± 0
F4	0,1± 0
F5	0,1 ± 0,01
F6	0,1 ± 0,01
F7	0,1 ± 0,01
F8	0,3 ± 0,01
F9	0,2 ± 0,01
F10	0,2 ± 0,01
F11	0,2 ± 0,01
F12	0,3 ± 0,01
F13	0,2 ± 0,01
F14	0,2± 0
F15	0,2 ± 0,01
F16	0,2 ± 0,01
F17	0,2 ± 0,01
F18	0,2 ± 0,01
F19	0,2 ± 0,01

4.4.3 pH Bulguları

Yöntemler bölümünde bulunan yöntem 3.6.4'te belirtilen şekilde gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları Tablo 4.8'te verilmiştir. Çalışmalar 3 tekrar şeklinde oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4.8: pH Bulguları.

Formülasyon	pH n=3
F1	5,33 ± 0,23
F2	5,33± 0,51
F3	5,34± 0,13
F4	5,24± 0,22
F5	5,24± 0,48
F6	5,24± 0,15
F7	5,25± 0,29
F8	5,22± 0,63
F9	5,33± 0,45
F10	5,34± 0,24
F11	5,24± 0,21
F12	5,24± 0,19
F13	5,23± 0,34
F14	5,24± 0,46
F15	5,32± 0,29
F16	5,31± 0,26
F17	5,23± 0,24
F18	5,23± 0,29

4.4.4 Nem Oranı Bulguları

Yöntemler bölümünde bulunan yöntem 3.6.3'te belirtilen şekilde gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları Tablo 4.9'te verilmiştir.

Tablo 4.9: Nem Oranı Bulguları.

Formülasyon	Nem Oranı % n=3
F1	13,11 ± 2,04
F2	12,24 ± 1,09
F3	16,19 ± 0,88
F4	14,57 ± 0,97
F5	12,63 ± 1,06
F6	9,49 ± 3,94
F7	8,10 ± 1,45
F8	10,23 ± 0,91
F9	9,45 ± 1,81
F10	11,32 ± 0,85
F11	15,59 ± 1,85
F12	9,93 ± 0,65
F13	11,28 ± 1,08
F14	15,53 ± 0,67
F15	12,94 ± 1,50
F16	9,60 ± 1,60
F17	11,35 ± 2,30
F18	11,15 ± 1,21
F19	10,35 ± 1,32

4.4.5 Gerilme Direnci ve Esneklik Bulguları

Yöntemler bölümünde bulunan yöntem 3.6.5'te belirtilen şekilde çalışmaların sonuçları

Tablo 4.10'te verilmiştir.

Tablo 4.10: Gerilme Direnci ve Esneklik Bulguları.

Formülasyon	Gerilme direnci (N/cm ²) n=3	Esneklik %
F1	0,4 ± 0,1	3,78 ± 0,7
F2	1,1 ± 0,3	4,28 ± 0,63
F3	2,26 ± 0,4	5,9 ± 0,16
F4	1,5 ± 0,6	9,98 ± 1,1
F5	0,28 ± 0,3	5,68 ± 0,86
F6	0,96 ± 0,2	12,14 ± 1,8
F7	0,18 ± 0,3	4,1 ± 0,6
F8	0,58 ± 0,3	6,48 ± 0,7
F9	0,56 ± 0,7	4,94 ± 0,8
F10	0,24 ± 0,6	11,7 ± 1,4
F11	0,26 ± 0,2	3,38 ± 0,8
F12	0,82 ± 0,7	4,9 ± 0,16
F13	0,2 ± 0,1	3,66 ± 0,1
F14	1,18 ± 0,3	7,88 ± 0,6
F15	0,12 ± 0,1	4,62 ± 0,7
F16	0,9 ± 0,4	7,34 ± 0,4
F17	0,62 ± 0,3	9 ± 1,6
F18	0,63 ± 0,4	6,28 ± 0,8
F19	0,62 ± 0,3	9,68 ± 0,74

4.5 TASARIM ARALIĞI VE FORMÜLASYONUN OPTİMİZASYON SONUÇLARI

Tasarım aralığı belirlenmesi ve doğrulanması için gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları MODDE 1.2 yazılımına girildikten sonra analiz verileri tablo 4.11’de ki gibi bulunmuştur.

Tablo 4.11: Her Yanıt İçin İstatistiksel Değerler.

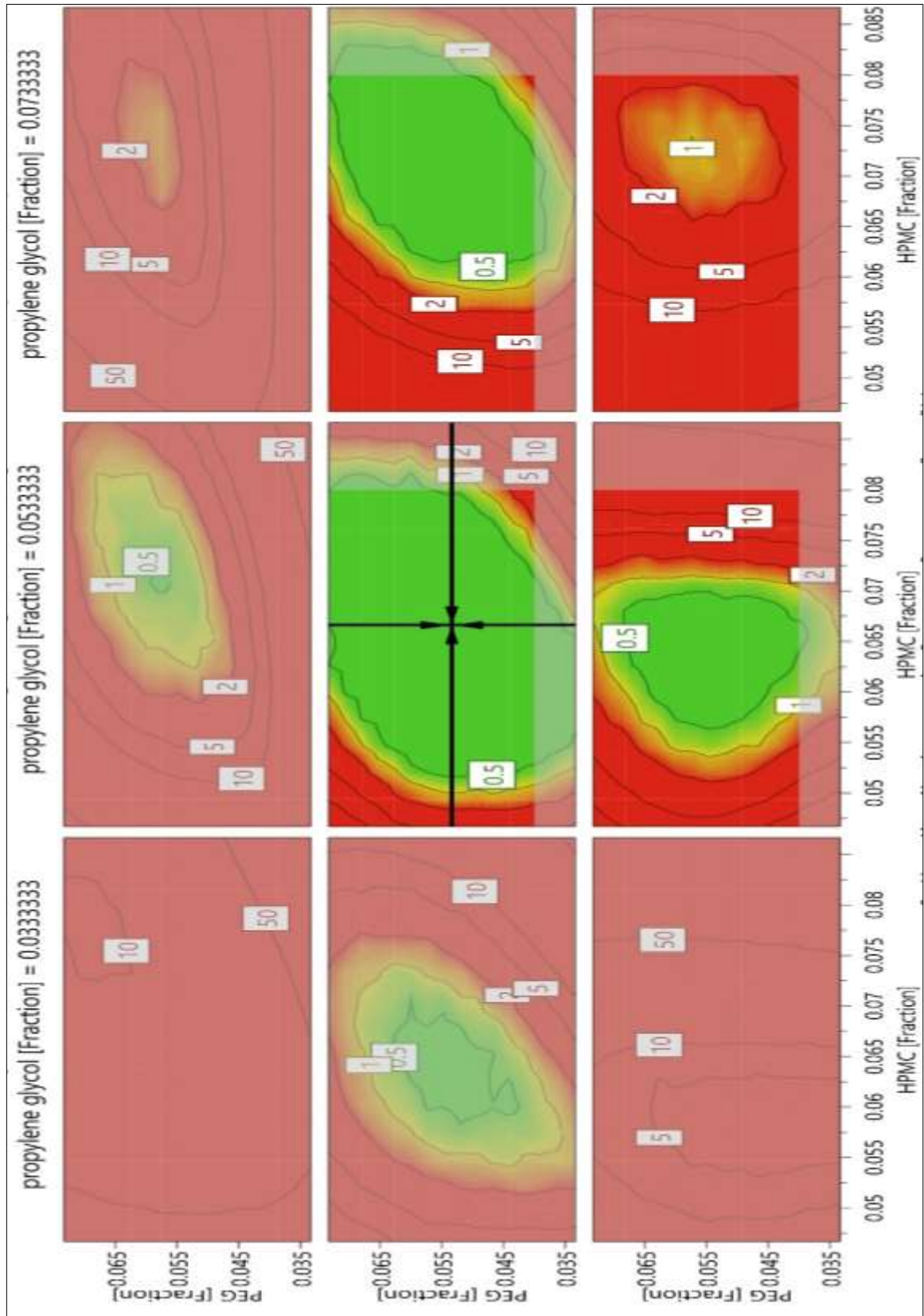
Yanıtlar	R²	Düzeltilmiş R²	Q²	Model Geçerliliği	Yeniden Üretilbilirlik
Nem Oranı %	0,96	0,78	0,65	0,84	0,94
Gerilme direnci (N/cm ²)	0,96	0,67	0,62	0,72	0,91
Esneklik %	0,93	0,75	0,66	0,74	0,98

Tasarım alanını oluşturmak için program tarafından istatistiksel ve matematiksel hesaplamalar yapılmıştır. Şekil 4.7’te gösterildiği gibi Tasarım alanı içindeki yeşil alan, tarifi belirtilen bölge içinde yanıt üretebileceği güvenli bir bölgeyi göstermektedir. Noktalı çerçeve, hesaplanan tasarım alanı hiperküpünün yapısını göstermektedir. Tasarım alanı hiperküpü, yanıt verme yeteneğinden ödün vermeden herhangi bir öğe kombinasyonunun kullanılabilmesi için bir hacme karşılık getirmektedir.

Tween 80

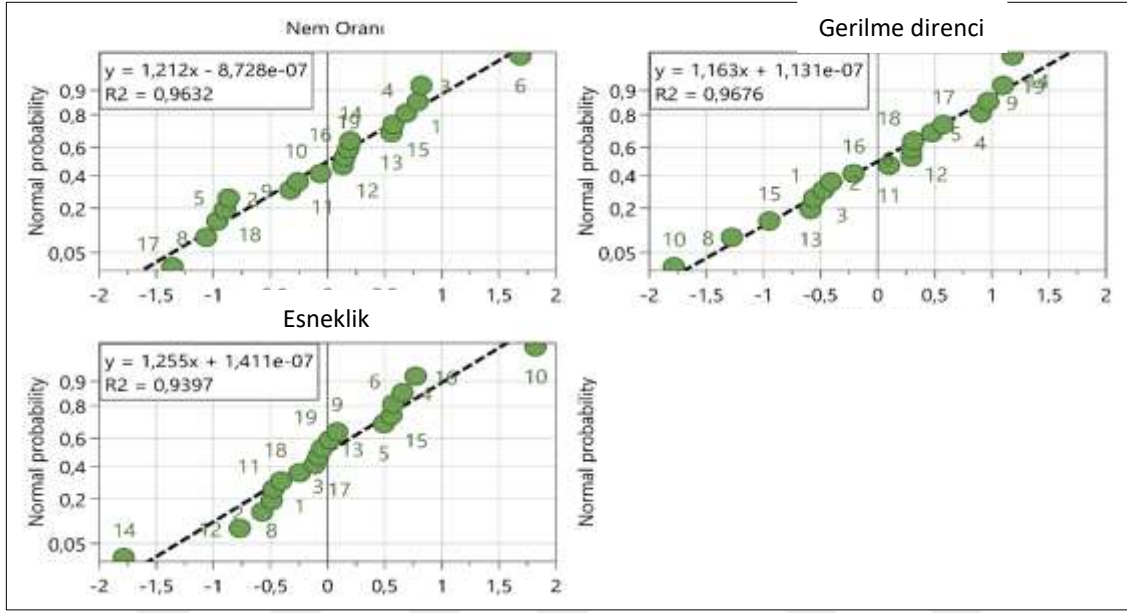
Tween 80

Tween 80



Şekil 4.7: Tasarım Alanı.

Kalan Normal Olasılık Grafiği, kalanları çift logaritmik bir ölçekte göstermektedir. Bu eylem Aykırı değerleri belirler ve kalıntıların normallüğünün değerlendirmesini sağlamaktadır. Kalanlar rastgeleyse ve normal dağılıyorsa, kalanların normal olasılık çizimindeki tüm noktaları standartlaştırır ayrıca standart sapmalar -4 ve +4 arasında düz bir çizgi üzerinde yer alacaktır (şekil 4.8).



Şekil 4.8: Kalan Normal Olasılık.

Bulunan istatistik değerlere dayanarak, yazılımın önerdiği modelin tasarım alanının değerleri tablo 4.12’da verilmiştir.

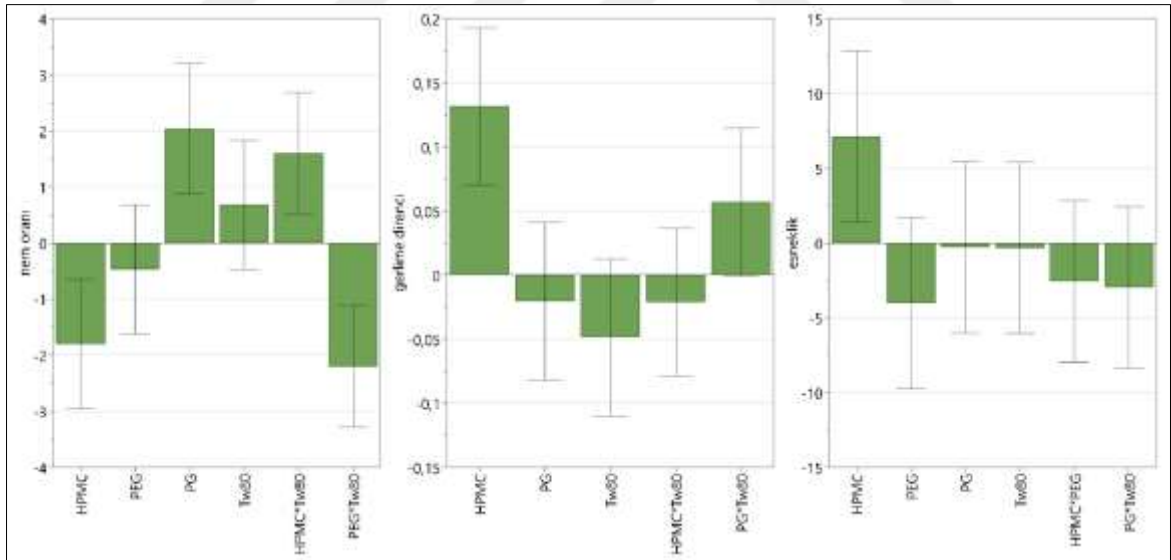
Tablo 4.12: Tasarım Alanı Değerleri (A/A Oranı Şeklinde Verilmiştir).

Bileşenler	Düşük	Hiperküp kenar düşük	Ayar noktası	Hiperküp kenar yüksek	Yüksek
HPMC	0,473	0,587	0,667	0,720	0,860
PEG	0,318	0,453	0,533	0,640	0,749
Tween 80	0,058	0,067	0,083	0,093	0,108
P.G	0,325	0,453	0,533	0,613	0,742
BPO	0,012	0,016	0,018	0,021	0,025
Su	8,814	8,424	8,165	7,913	7,517

Hazırlıklar, arzu edilen kalite özellikleri üzerindeki kısıtlamalarla tasarım alanı oluşturulurken seçilen tolere edilebilir sınırlar içinde kaldığından, iyi kalite özellikleri gözlenmiştir. Bu nedenle, film oluşturmak için tasarım alanı içindeki parametrelerin alternatif kombinasyonları seçildiğinde, bulgular optimum formülasyon ve belirli bir kalite kriterleri seti için oluşturulan tasarım alanının benzer sonuçlar ürettiğini gösterilmiştir.

Katsayı grafikleri model terimlerinin önemini grafiksel sunumunu sağlamaktadır. Önemli bir terim, $y=0$ 'dan büyük bir mesafeye sahip olan ve aynı zamanda $y=0$ boyunca uzanmayan bir belirsizlik düzeyine sahip olan terimdir. Anlamlı olmayan bir model terimi, $y=0$ 'a yakın ve belirsizlik düzeyi $y=0$ 'ı geçen bir model terimidir.

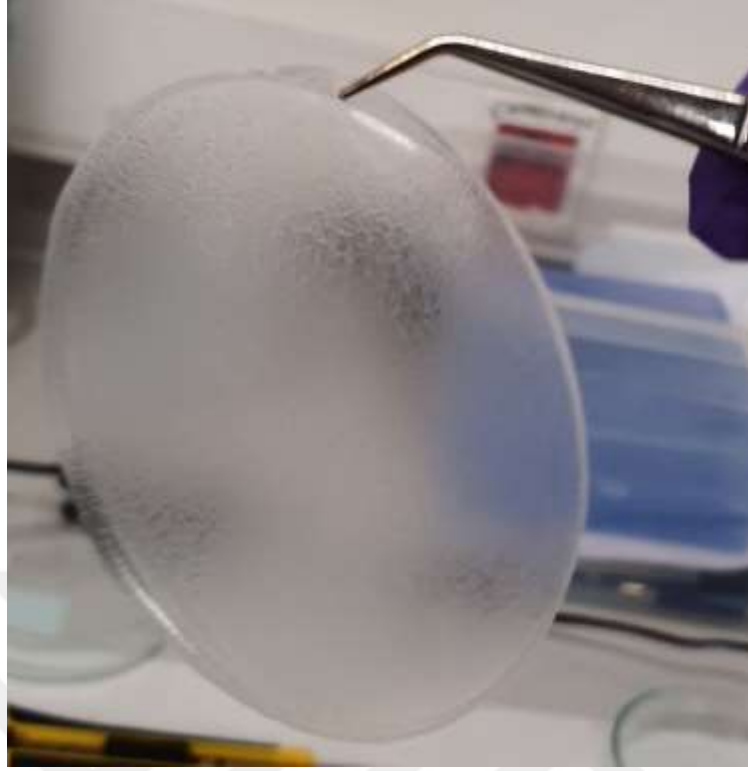
Katsayı grafiğine dayanarak, şekil 4.9'da görüldüğü gibi, HPMC ve PEG + Tween 80 miktarının nem içeriği üzerinde önemli negatif bir etkiye sahip oldukları gösterilmiştir. Aynı grafikte nem oranını PG ve HPMC + Tween 80 ikilisinin önemli pozitif etkiye sahip oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca HPMC, gerilme direnci ve esnekliğe pozitif, PG ise bunlara negatif etkileri olduğu görülmüştür.



Şekil 4.9: Katsayı Grafiği.

4.5.1 Optimum Formülasyon Hazırlama Sonuçları

Yazılımdan elde edilen tasarım alanının değerlerini kullanarak optimum formülasyon hazırlanmıştır ve şekil 4.10'de görüldüğü gibi ürün elde edilmiştir.



Şekil 4.10: BPO Yüklü Optimum Formülasyon.

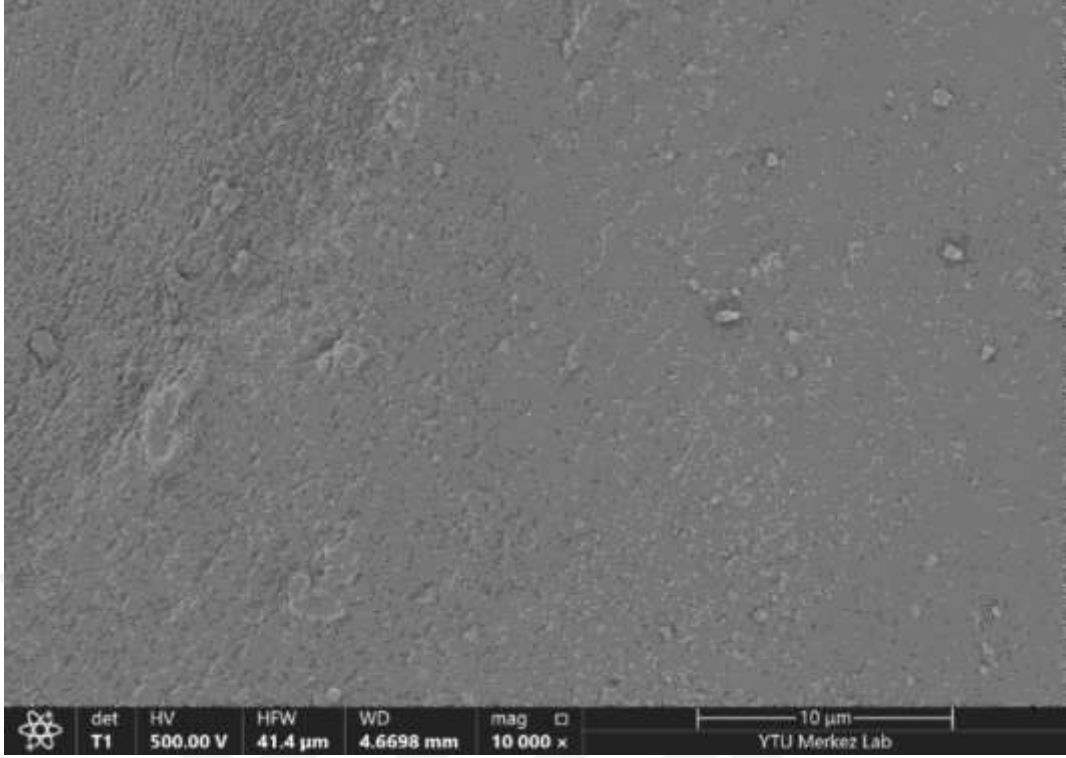
4.5.2 Optimum Formülasyonun Karakterizasyon Sonuçları

4.5.2.1 Fiziksel ve görsel inceleme sonuçları

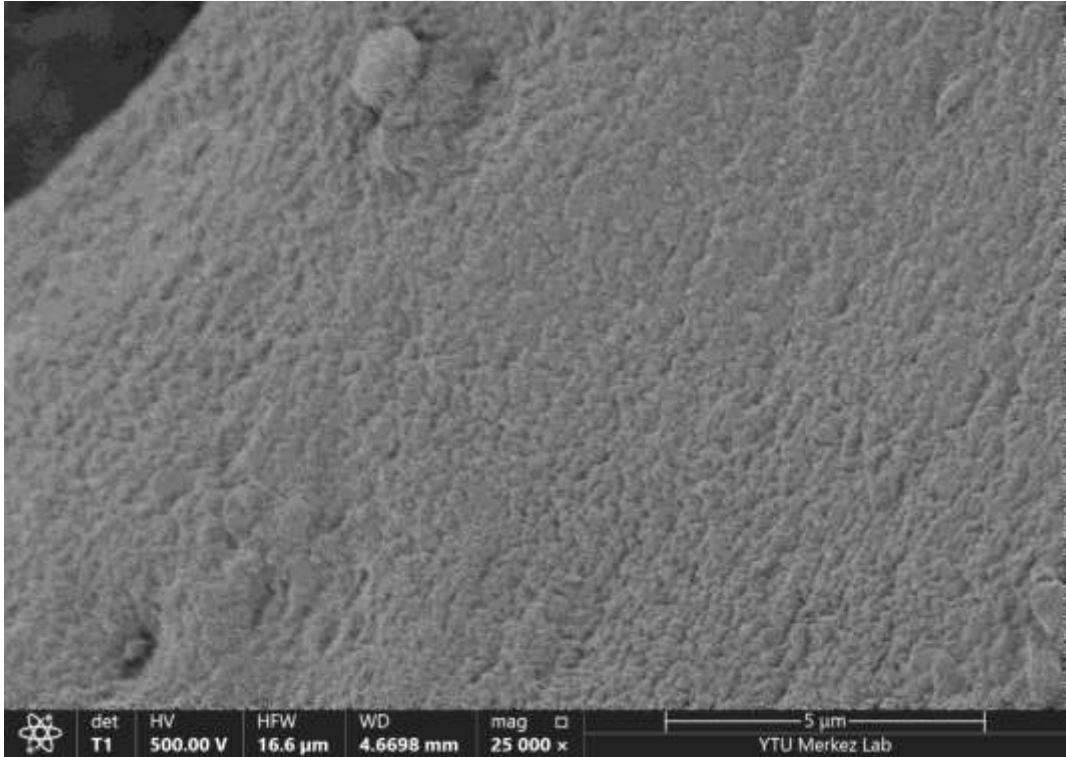
Elde edilen film, mat, şeffaf, hafif beyaz renge meyli olan, pürüzsüz, homojen görüntülü, esnekliği uygun, doku ve karakteristik bir kokuya sahip, şekil 4.9’de gösterildiği gibi gözlemlenmiştir.

4.5.2.2 Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskop (FESEM) sonuçları

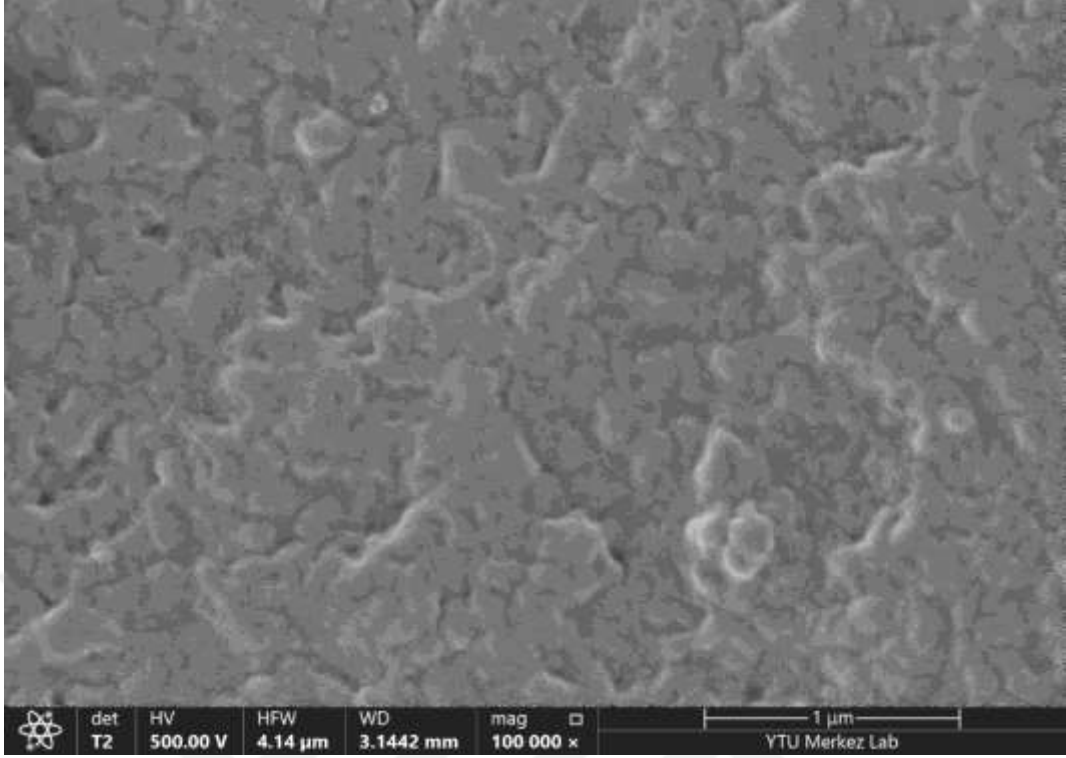
Polimer filmin alan taramalı elektron mikroskop çalışması, aşağıdaki Şekillerde (4.14- 4.16) gösterildiği gibi, etkin maddenin matris tipi polimerde mevcut olduğunu ortaya çıkarmıştır. Çalışmada farkı göstermek için BPO içermeyen boş film alttaki Şekillerde (4.11- 4.13) gösterilmiştir.



Şekil 4.11: Boş HPMC Filmin FESEM x10000 Görüntüsü.



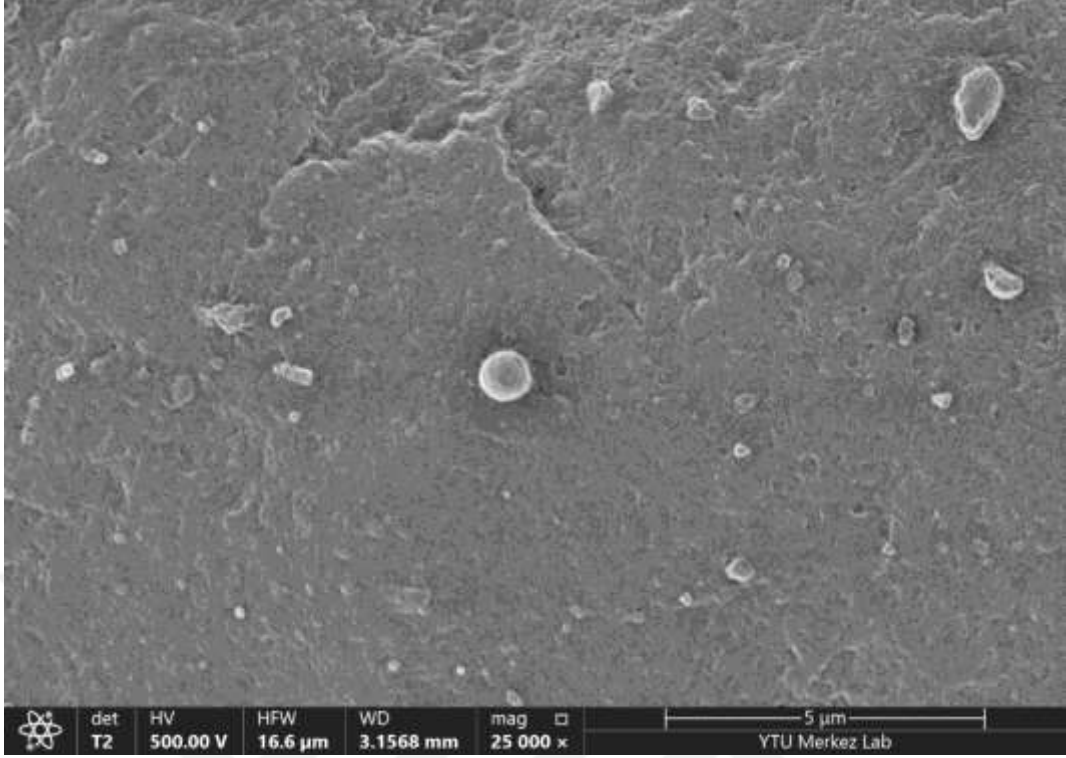
Şekil 4.12: Boş HPMC Filmin FESEM x25000 Görüntüsü.



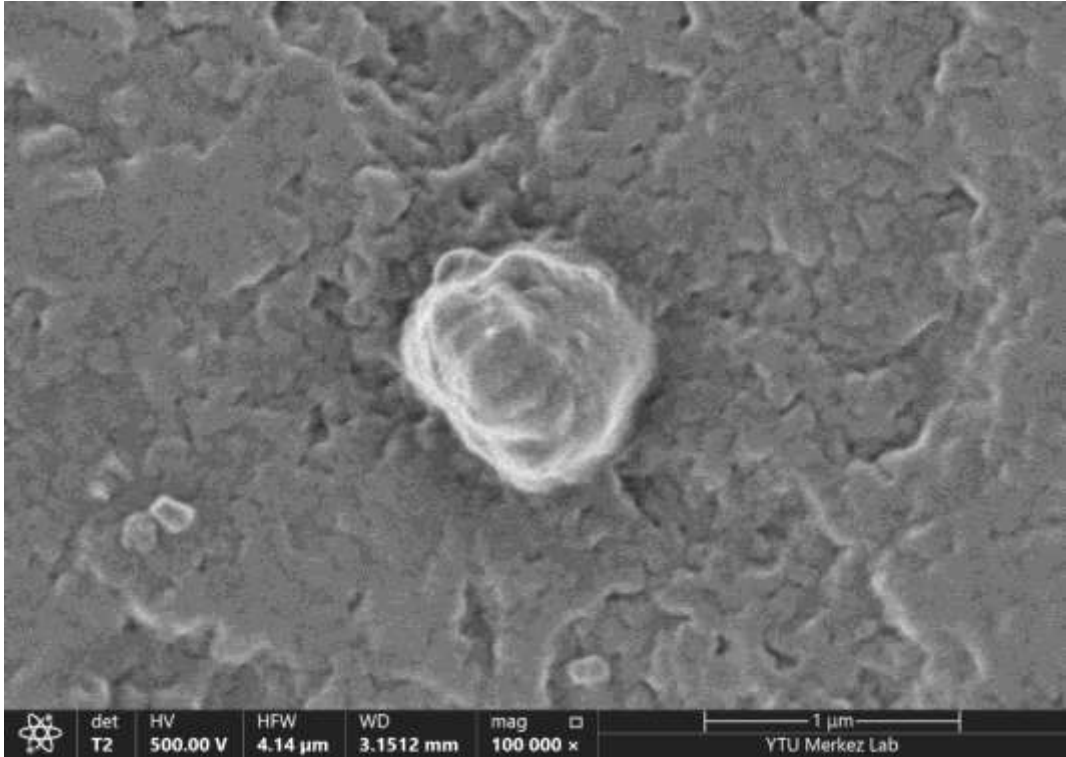
Şekil 4.13: Boş HPMC Filmin FESEM x100000 Görüntüsü



Şekil 4.14: BPO İçeren Filmin FESEM x10000 Görüntüsü.



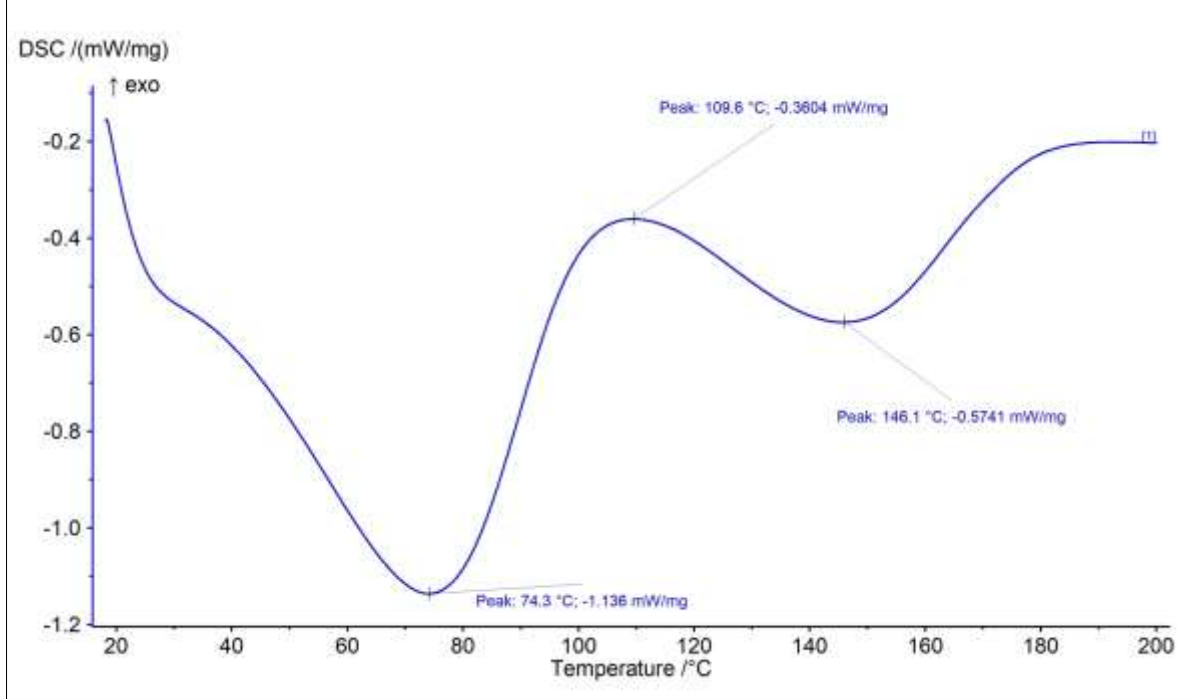
Şekil 4.15: BPO İçeren Filmin FESEM x25000 Görüntüsü.



Şekil 4.16: BPO İçeren Filmin FESEM x100000 Görüntüsü.

4.5.2.3 Optimum filmin diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) sonuçları

Film yapısında yer alan etkin madde (BPO) ve polimerin termal özelliklerini görebilmek amacıyla yöntem 3.2.1.4'te belirtilen şekilde yapılmıştır. Gerçekleştirilen çalışmada optimum filmin DSC termogramları oluşturulmuştur (Şekil 4.17).



Şekil 4.17: Optimum Filmin DSC Termogramı.

4.5.2.4 Ağırlık tekdüzeliği sonuçları

Optimum film üretildikten sonra 1,70 x 1,70 cm² boyutunda kesilmiştir, Yöntem 3.6.1'de belirtilen şekilde gerçekleştirilen çalışmaların ortalama ağırlıkları tablo 4.13'te verilmiştir.

Tablo 4.13: Optimum Ağırlık Sonuçları.

	Düşük	Hiperküp düşük kenar	Ayar noktası	Hiperküp yüksek kenar	Yüksek
Ağırlık tekdüzeliği (mg)	49,25 ± 2	72 ± 1,3	86 ± 2,5	107,6 ± 3,2	125 ± 0,4

4.5.2.5 Kalınlık sonuçları

Yöntem 3.6.2’de belirtilen şekilde optimum filme gerçekleştirilen kalınlık çalışmalarının sonuçları tablo 4.14’te verilmiştir.

Tablo 4.14: Optimum Kalınlık Sonuçları.

	Düşük	Hiperküp düşük kenar	Ayar noktası	Hiperküp yüksek kenar	Yüksek
Kalınlık (mm)	0,1	0,1	0,1	0,1 ± 0,01	0,2

4.5.2.6 pH

Yöntem 3.6.4’te belirtilen şekilde gerçekleştirilen optimum formülün pH değeri ölçüldü 5.25 ± 0.1 olarak bulunmuştur.

4.5.2.7 Gerilme direnci ve esneklik sonuçları

Yöntem 3.6.5’te belirtilen şekilde gerçekleştirilen, optimum formülasyon üzerinde yapılan gerilme direnci ve esneklik çalışmalarının sonuçları tablo 4.15’te verilmiştir.

Tablo 4.15 Optimum Gerilme direnci ve esneklik Sonuçları.

Formülasyon	Gerilme direnci (N/cm²)	Esneklik %
Düşük	3,14 ± 0,3	4,58 ± 0,4
Hiperküp düşük kenar	4,32 ± 0,6	4,92 ± 0,6
Ayar noktası	5,52 ± 0,4	9,9 ± 0,8
Hiperküp yüksek kenar	6,26 ± 0,7	12,78 ± 1,3
Yüksek	8,9 ± 0,6	16,14 ± 1,4

4.5.2.8 Nem içeriği sonuçları

Yöntem 3.6.3’te belirtilen şekilde gerçekleştirilen, optimum formülasyon üzerinde yapılan nem içeriği çalışmalarının sonuçları tablo 4.16’te verilmiştir.

Tablo 4.16 Optimum Nem Oranları Sonuçları.

	Düşük	Hiperküp düşük kenar	Ayar noktası	Hiperküp yüksek kenar	Yüksek
Nem oranı %	8,08 ± 1,2	9,92 ± 0,6	10,32 ± 0,3	12,348 ± 0,7	12,94 ± 1,4

4.5.2.9 Dağılma testi sonuçları

Yöntem 3.7.2.9’da belirtilen şekilde optimum formülasyon üzerinde gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları Tablo 4.17’te verilmiştir.

Tablo 4.17 Dağılma Testi Sonucu.

	Dağılma süresi (dk)
Optimum formülasyon	14,35 ± 1

4.5.2.10 Katlama direnci sonuçları

Yöntem 3.7.2.10’da belirtilen şekilde optimum formülasyon üzerinde gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları Tablo 4.18’te verilmiştir.

Tablo 4.18 Katlama Direnci Sonucu.

	Katlama direnci
Optimum formülasyon	115 ± 5

4.5.2.11 İçerik tekdüzeliği sonuçları

Yöntem 3.7.2.11’de belirtilen şekilde, optimum formülasyon üzerinde gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları Tablo 4.19’te verilmiştir.

Tablo 4.19 İçerik Tekdüzelik Sonuçları.

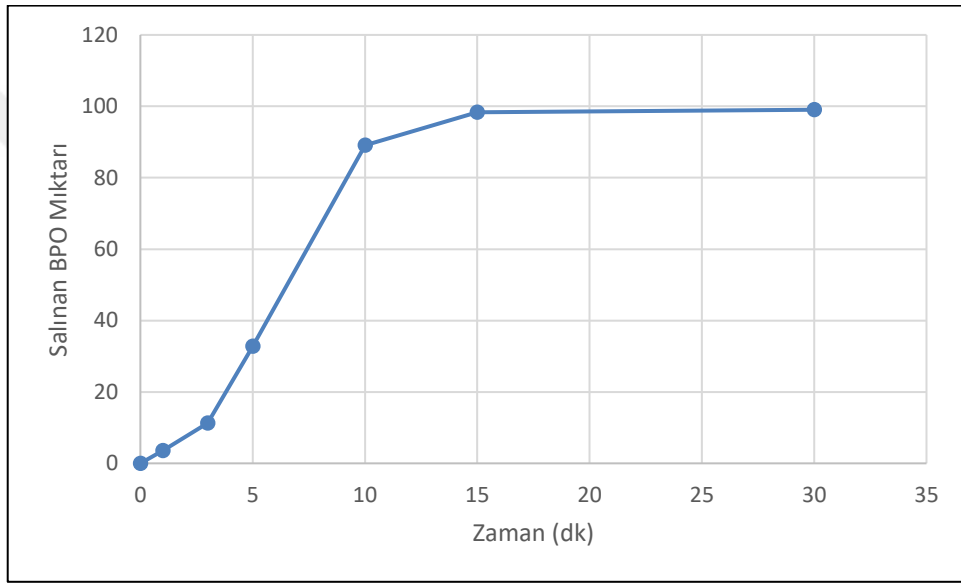
	İçerik Tekdüzeliliği (%)	Kabul Değeri	V.K	S.S
Optimum formülasyon	95.87 ± 1.12	9.87	1.18	2.6

4.5.2.12 Dissolüsyon testi sonuçları

Yöntem 3.7.2.12'd belirtilen şekilde gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları Tablo 4.20'de ve çözünme hızı grafiği Şekil 4.18'de verilmiştir.

Tablo 4.20: Dissolüsyon Testi Sonuçları.

	1. dk	3. dk	5. dk	10. dk	15. dk	30. dk
Optimum formülasyon n=3	3,56 ± 0,42	11,3 ± 2,63	32,76 ± 2,27	89,10 ± 4,86	98,30 ± 2,40	99,04 ± 0,44



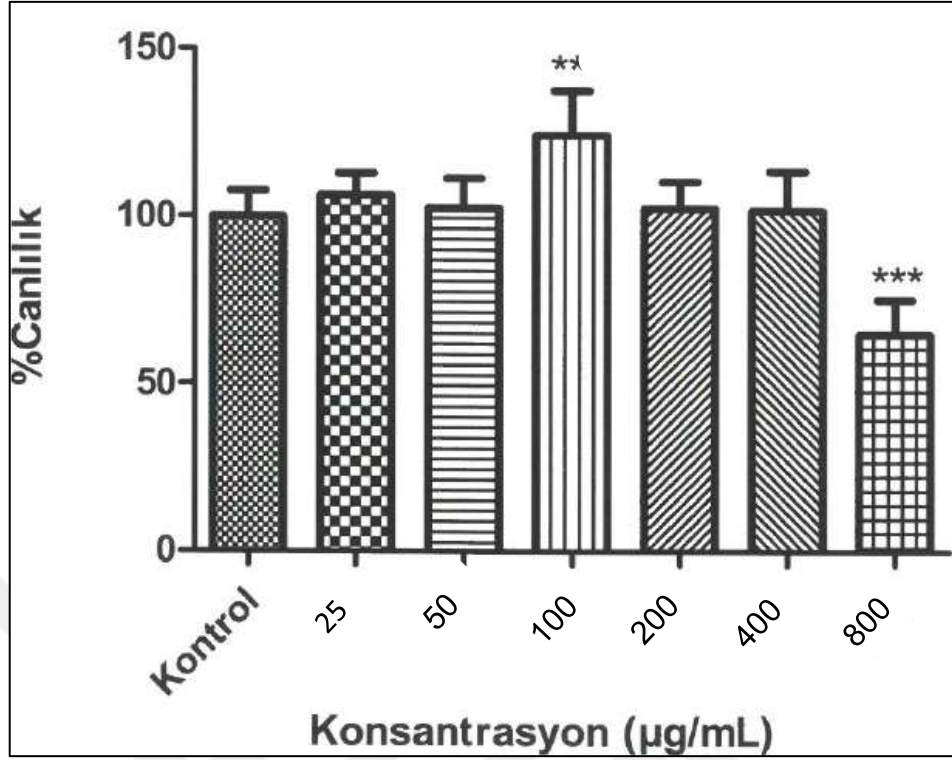
Şekil 4.18: BPO Çözünme Hızı Grafiği.

4.5.2.13 Sitotoksosite çalışmaları sonuçları

Yöntem 3.7.2.13'te belirtilen şekilde gerçekleştirilen sitotoksosite deneyinin sonuçlarına göre, analiz edilen 1 adet numune için IC₅₀ değerinin >800 µg/ml olduğu tespit edildi. Optimum formülasyona ait % hayatta kalma değerleri Tablo 4.20'de ve % hayatta kalma grafiği ise Şekil 4.19'de verilmiştir.

Tablo 4.21 Sitotoksosite Test Sonuçları.

Konsantrasyon µg/ml	25	50	100	200	400	800
% Canlılık	100	100	118	100	100	65



Şekil 4.18 MTT Sitotoksiste Analiz Sonuçları.

4.5.2.14 Stabilite çalışmaları sonuçları

Yöntem 3.7.2.12'de belirtilen şekilde gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları Tablo 4.21, 4.22 ve Tablo 4.23'te gösterilmiştir. Filmlerde yapılan fiziksel incelemelerde renk ve genel görünüşlerinde bir bozulma gözlenmemiştir.

Tablo 4.22 Stabilite Çalışmalarına Ait Ağırlık, pH ve Kalınlık Bulguları.

Zaman (hafta)	Sıcaklık	Nem	Ağırlık mg	Kalınlık mm	pH
0	25 °C	%60	84,36 ± 1,2	0.1	5.26 ± 0.1
4			84,31 ± 1,6	0.1	5.31 ± 0.2

Tablo 4.23 Stabilite Çalışmalarına Ait Etkin Madde İçeriği Bulguları

Zaman (hafta)	Sıcaklık	Nem	İçerik Tekdüzeliliği (%)	Nem Oranı
0	25 °C	%60	95,58 ± 2,3	10,4 ± 0,2
4			95,43 ± 1,4	10,6 ± 0,4

Tablo 4.24 Stabilité Çalışmalarına Ait Gerilme Direnci ve Esneklik Sonuçları.

Zaman (hafta)	Sıcaklık	Nem	Gerilme direnci (N/cm ²)	Esneklik %
0	25 °C	%60	5,49 ± 0,3	9,8 ± 0,4
4			5,51 ± 0,2	9,8 ± 0,6

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmanın gerçekleştirilme amacı akne tedavisi için kullanılan antibakteriyel, antiinflamatuvar, keratolitik ve yara iyileştirici özelliklere sahip olan Benzoil Peroksit'in cilde uygulamak için hidrofilik polimer filmini QbD prensipleri dahilinde üretmektir.

Hem enflamatuvar hem de enflamatuvar olmayan akne lezyonları için çok çeşitli tedaviler mevcuttur, ancak hem keratolitik hem de geniş spektrumlu bir antibakteriyel etkiye sahip olduğu için topikal benzoil peroksit (BPO) en popüler tedavilerden biri olarak bilinmiştir [99]. BPO, birçok çeşit çözücüde kimyasal kararsızlığını göstermiştir. BPO molekülündeki O-O bağının kararsızlığından kaynaklanan hızlı bir serbest radikal mekanizması yoluyla benzoik asit (BA) ve diğer yan ürünleri oluşturması sonucunda etkin maddenin ayrışması ve bozulması gerçekleştiği bildirilmiştir [100].

Kimyasal kararsızlığın ve zayıf sulu çözünürlüğünün bir sonucu olarak, BPO yaygın olarak alkol çözeltileri ya da süspansiyon şeklinde hazırlanmaktadır, bu topikal çözeltilerin ilaç salınımı etkili olsa da ürüne dahil edilen aşırı yüksek ilaç konsantrasyonları (tipik olarak %2,5-10, ağırlık/ağırlık) genellikle cilt tahrişine yol açmaktadır [101]. BPO uygulamak için alternatif ve daha verimli bir formülasyon geliştirilmesi, avantajlı olabileceğini düşünülmüştür.

İlk olarak benzoil peroksitin saflığını ve fizikokimyasal özelliklerini belirlemek için çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla başlayan çalışmalarda, BPO'nun en yüksek absorbans değerini bulmak için UV analizi yapılmıştır ve sonuç olarak (235 ve 274) nm'de benzoil peroksitin en yüksek absorbans gösterdiği değerler olarak bulunmuştur (Şekil 4.1). Bu veriler literatürde bildirilen değerlerle uyumlu olduğu görülmüştür [102].

Aktif bileşenin polimerlerle kimyasal stabilitesi ve uyumluluğunu tespit etmek için FTIR spektroskopisi yöntem ile incelenmiştir. FTIR spektroskopisi, fonksiyonel grupları ve kimyasal bileşimleri tanımlamak için kullanılmaktadır. Kolay, hassas ve tahribatsız bir yöntem olduğu bildirilmiştir [103]. Uyumluluğu incelemek için, spektrumun ana piklerindeki değişiklik, yeni fonksiyonel gruplar ve bileşikler olduğu anlamına gelmektedir. Gerçekleşen FTIR analiz sonuçlarına göre, spektrumda herhangi bir değişiklik olmadığı tespit edilmişti ayrıca etken maddenin ekspiyanlarla etkileşime girmediğini ve aynı saf formda formülasyonda bulunduğu sonucuna varılmıştır. FTIR spektroskopisi cihazı ile

bulunan BPO'nun spektrumu 3062, 2453, 1921, 1751, 1597, 1450, 1281, 1172, 995, 840, 694, 617 cm⁻¹'de piklerde belirlenmiştir (Şekil 4.2). Tespit edilen bu piklerin benzoil peroksitin kimyasal yapısına uygun olduğunu görülmüştür [104].

Cildin geçirgenliği ile erime noktasının ters orantılı olduğu bilinmektedir. Erime noktası 200°C'nin altında olan maddelerin genellikle daha yüksek erime noktasına sahip olan maddelere göre önemli ölçüde daha iyi nüfuz ettiğini çalışmalarda bildirilmiştir [105]. BPO'nun erime noktasının ölçülmesi bu yönden önem taşımaktadır. Yapılan testler sonucunda erime noktası 103-109 °C olarak tespit edilmiştir. Bu sonucu literatürde bildirilen değerlere uyumlu olduğunu bulunmuştur [106]. Bu sonucun doğrultusunda BPO'nun erime noktası ciltten geçmesi için uygunluk gösterdiğini düşünülmüştür.

DSC analizi, bir maddedeki fiziksel ve kimyasal değişikliklerin sonucu olarak bir yapının ısı kaybını veya ısı kazancını sıcaklığın bir fonksiyonu olarak gösterilmektedir. Analizde test numunesi ile referans numune, aynı sıcaklıkta tutmak için gereken enerjinin ölçümüne dayanarak yapılmaktadır. Keskin, simetrik bir erime endotermik malzemenin saflığını gösterirken, geniş asimetrik bir eğri, yabancı maddelerin varlığını veya birden fazla termal işlemin meydana geldiğini göstermektedir [107]. Örnek maddeye daha fazla veya daha az ısı akması, reaksiyonun ekzotermik veya endotermik olmasına bağlı olmaktadır. Örneğin, sıcaklık arttıkça numunenin katıdan sıvı faza geçiş için endotermik kristalizasyon aşamasında daha az ısıya ve ekzotermik erime aşamasında daha fazla ısıya ihtiyacı olmaktadır [108]. Benzoil peroksitin ekzotermik zirvesi 110,90 °C'de olarak gözlemlenmiştir (şekil 4.3). Faz değişimi incelendiğinde erimenin 108,90 °C ile 114,50 °C arasında gerçekleştiği görülmüştür. Elde edilen bu sonuçların literatürde bildirilen değerlerle tutarlı olduğu tespit edilmiştir [98]. Geçimlilik çalışmaları kapsamında etken madde ile yardımcı maddeler arasındaki etkileşimi gözlemek amacıyla hazırlanan optimum filmin DSC analizleri gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları 4.5.2.3'te verilmiştir ve bulunan optimum filmin pik değeri 109.6 olarak bulunmuştur, bu da erime derecesinde bir farklılık ya da piklerde herhangi bir girişim gözlemlenmediğinin anlamına gelmektedir. Sonuç olarak yardımcı maddelerin etken madde ile geçimli ve uyumlu olduğunu düşünülmüştür.

Optimum filmin FESEM görüntüleri alınarak yüzey morfolojilerinin incelenmesi amaçlanmıştır (4.12- 4.16). Farkı göstermek amacıyla, BPO yüklü optimum film ve BPO içermeyen optimum filmler görüntülenmiştir. FESEM görüntüleri yüklü filmlerde etken

maddenin olduğunu ve literatüre uygun [109] olarak düzgün, küresel bir şekle matrisin içinde bulunduğunu tespit edilmiştir.

Derinin sıcaklığı 32- 35 °C civarında olduğu bilinmektedir, bu nedenle çözünürlük testi $34 \pm 0,5$ °C derecede yapılmıştır. Bir ilaç adayının çözünürlük profili yüksek önem taşımaktadır, o yüzden en çok dikkat çeken ön formülasyon analizlerinden biri olmaktadır. Oluşturulan formülasyonun performansı, ön formülasyon aşamasının temel araştırması ile belirlenmektedir. Çözünürlük analizi yapmak için, belirli bir çözücü içinde sabit bir sıcaklık ve basınçta doymuş bir çözelti oluşturmak gerekmektedir. Çözünen ilacın miktarı, ilacın çözünürlüğüdür. BPO suda çözülmeyen ama organik çözücülerde çözüldüğü için [76], çözünürlük çalışması etanolde yapılmıştır. BPO'nun etanoldeki çözünürlüğü çalışmalar sonucunda (17,89 mg/mL) olarak tespit edilmiştir. Buda etkin maddenin etanolde çözünür olarak göstermektedir ve literatürde belirlenen değerlerle uyumlu olarak görülmüştür [76]

Validasyon, bir cihazın, yöntemin veya sistemin performansının belirtilen koşulları karşıladığını göstermek için tasarlanmış bir dizi eylemdir. Validasyon çalışmalarında doğrusalılık, kesinlik, doğruluk, seçicilik, LOD, LOQ ve stabilite parametreleri test edilmektedir. Analiz için kullanılan HPLC cihazının ve yöntemin validasyon çalışmaları yapılmıştır. Çalışmaların sonucunda ortaya çıkan denklem grafiği (Denklem 4.1) ile verilmiştir. Belirleme katsayısı 0,9998 olarak belirlenmiştir. Varyasyon katsayısının %2'den altında olması, verilerin kılavuzların gerektirdiği değerlere uygun olduğunu göstermiştir [67]. HPLC uygunluğu, yöntemin uygulanabilirliğini gösteren doğrulama çalışmaları ile kanıtlanmıştır.

Tez çalışmasında taşıyıcı sistem olarak kullanmak için hidrofilik polimer film geliştirilmiştir. Literatürlerde geçen bilgilere göre, topikal yamaların hidrofilikliği, bileşiğin polimer matristen çıkış profilini tahmin etmek için kullanılabilir [110]. Yüksek hidrofiliklik, artan bir salım profili göstermektedir; dolayısıyla hidrofiliklik ilaç salınımı için önemli bir özelliktir [110]. Filmin nem alımı yüksek olduğunda, hidratlı film oldukça gözenekli olacaktır. Suyun şişmesi, bazı hidrofilik maddelerin matris filminden çözünmesine ve erozyonuna neden olur ve ilacın salınması için gözenekli kanalların artmasına sebep olmaktadır [111]. Film formülasyonlarının üretiminde kullanılan HPMC polimerlerinin, film oluşturucu maddeler olarak başarıyla kullanıldığı, suda çözünebildiği ve kolaylıkla dağılabileceği bilinmektedir [112]. HPMC'nin şeffaf, dayanıklı ve esnek filmler

oluşturduğu bildirilmektedir ve literatürde en yaygın kullanılan selüloz türevidir. İkame türleri ve viskoziteye göre sınıflandırılmaktadır.

HPMC E türevleri HPMC E3, E5 ve E15, düşük viskoziteleri ve uygun cam geçiş sıcaklıkları nedeniyle literatürde yaygın olarak kullanılmıştır [113]. Bir çalışmada HPMC E15, PEG 400 ve gliserin olmak üzere iki farklı plastikleştirici kullanılarak sırasıyla dispersiyon süreleri 120 ve 92 saniye olan şeffaf filmler elde edilmiştir [114]. HPMC E15 şeffaf, pürüzlü ve orta kalınlıkta filmler oluşturabilmesine rağmen, süper dağıtıcı ilavesinin yapışkanlığı arttırdığı ve HPMC E15, süper dağıtıcı ve plastikleştiriciden oluşan bir formülasyonun dağılım süresinin 40 ~ 95 saniye olduğu rapor edilmiştir [115]. HPMC E3, E6 ve E15 polimerleri kullanılarak hazırlanan filmler için E15 formülasyonunun, 10 saniyede dağılan, en hızlı dağılan formülasyon olduğu bulunmuştur. Çalışmaya göre 8 dakika sonra aktif bileşenin %99'u serbest bırakılmıştır ve HPMC E15 içeren formülasyon, optimal formülasyon olarak seçilmiştir [116]. Bu çalışmalardan alınan bilgilere göre, HPMC E15 film oluşturucu formülasyonlar için uygun olduğunu ve bu sebepten dolayı bu çalışmada tercih edilmiştir.

Yardımcı madde seçimi, nihai ürün performansını, tasarım özelliklerini ve stabiliteyi etkilediği için özenle seçilmesi gerekmektedir. Yardımcı madde seçme kararı dozaj formu, uygulama prosedürü, tolere edilebilirlik, üretim yöntemi ve düzenleyici faktörlerden etkilenmektedir. Yardımcı maddenin türü ve miktarı, farmasötik formülasyonlardan ilaç salınımını, epidermal bariyer özelliklerini ve ilacın geçirgenliğini etkileyecektir; bunların tümü, hedeflenen cilt katmanındaki terapötik aktivitenin süresini ve derecesini etkileyecektir. Eksipyanlar filmin formülasyonunda stabiliteyi arttırmak, daha iyi ilaç çözünürlüğü elde etmek, istenilen konsantrasyonda uygulamak, ilaç salınımını ve reolojik özellikleri düzenlemek, etkili cilt penetrasyonunu teşvik etmek ve kontaminasyonun olasılığın engellemek için kullanılmaktadır. Uluslararası farmakopeler tıbbi ürünlerin geliştirilmesinde kullanım için kabul edilebilir farmasötik yardımcı maddelerin listelerini içermektedir [117]. Çeşitli literatür çalışmalarına göre yüklü (anyonik/katyonik) yüzey aktif maddeler toksik ve tahriş edebilmektedir. İyonik olmayan yüzey aktif maddeler (Tween 80 gibi) yüzey aktif madde bazlı toksisiteyi azalttığını gösterilmiştir [118]. Bu nedenle yardımcı madde olarak Tween 80 tercih edilmiştir.

Poli(etilen glikol) (PEG), suda ve aynı zamanda yaygın olarak kullanılan organik çözücülerde çözünebilir eşsiz bir polimer olarak bilinmektedir. PEG'in suda çözünebilir

özelliği, pürüzsüz yüzeylere sahip olan polimerler oluşturulması ve ko-solvent etkisi gösterdiği için [119] formülasyonda kullanılmasına karar verilmiştir.

Propilen glikol, oda sıcaklığında berrak, renksiz, hafif şuruplu bir sıvıdır. ABD Gıda ve İlaç İdaresi tarafından gıdalarda, ilaçlarda ve kozmetiklerde kullanım için güvenli olduğu bildirmiştir. Ayrıca mükemmel bir solventtir çünkü su ile serbestçe karışabilir ve hidrofobik maddeleri çözebilmektedir [120]. Formülasyonda çözücü ve plastikleştirici olarak kullanılmıştır. Plastikleştiriciler, film formülasyonlarında hayati bileşen olarak kabul edilmiştir. Şeridin esnekliğini artırmaya yardımcı olur ve şeridin kırılgenliğini azaltmaktadır. Plastikleştirici, polimerin cam geçiş sıcaklığını düşürerek şerit özelliklerini önemli ölçüde artırmıştır [55].

Ön formülasyon çalışmaları kapsamında polimerlerin suda oluşturdukları jellerin homojen olarak petri kutusuna dökülebilme gibi fiziksel parametreleri incelenerek HPMC için % 1-10, PEG için % 0-0,4, PG için % 0-0,4 ve Tween 80 için % 0-0,4 a/a olmasına karar verilmiştir. Tablo 3.5'teki gösterildiği gibi bileşenleri içeren formülasyonlar hazırlanmıştır.

Tasarımla kalitenin çalışmaları kapsamında ilk adımı olan kalite hedef ürün profili (QTPP) belirlenmiştir. QTPP ile ilişkili ve CQA'ları etkileyen CMA ve CPP'yi tanımlamak için risk değerlendirmesi yapılmıştır. Kritik parametrelerin risk seviyelerini, ön formülasyon çalışmaları ve literatür taramaları sırasında edinilen bilgiye dayanarak düşük, orta ve yüksek olarak sınıflandırılmıştır [6]. Kalitatif bir risk analizi yöntemi olan “balık kılıçđı diyagramı (Ishikawa) Şekil 3.1'deki gibi çizilmiştir. Ardından yarı kalitatif bir risk analizi yöntemi olan sebep-sonuç matrisi yöntemi kullanılarak CQA'lara etki eden CPP ve CMA'lar seçilmiştir. Yapılan değerlendirmelere göre, en yüksek riskli CMA'ler, kullanılan polimer, çözücü, Sürfaktan ve plastikleştiricinin oranları olduğunu düşünülmüştür. Bu maddelerin oranları deđiştđi zaman elde edilen filmin kalınlığını, esnekliğini, katlana bilirlğini ve hatta şeffaflığını etkilediğini görülmüştür. Riskli proses parametreleri olarak (CPP), kurutma sıcaklığı ve kurutma süresi olarak düşünülmüştür. Ancak yüksek derecede bu faktörler kontrol edilebildiği için riskler düşük olarak değerlendirilmiştir ve kritik olmadığına karar verilmiştir.

Kritik CMA'lere istinaden minimum ve maksimum değerler MODDE bilgisayar programına girilmiştir. CQA'ları etkileyen çıktılar nem oranı ve esneklik profili formülasyon serilerinin yanıtları olarak kabul edilmiş ve MODDE® yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir.

Yanıtların verileri girildikten sonra yanıtlara ilişkin modeller sunulmuştur. Bu modeller programın ürettiği R^2 , Düzeltilmiş R^2 ve Q^2 değerlerine dayandırılmıştır (Tablo 4.11). Programa yüklenen girdilerin anlamlı olup olmadığı, önem derecesi, sayısal büyüklüğü, faktör ve etkileşimleri ile modelin korelasyon değeri hesaplanarak belirlenmiştir. R^2 değeri bulgularına göre değerlendirmeler aşağıdaki gibidir:

$R^2 \geq 0,70$ iyi kalitede,

$0,50 \leq R^2 \leq 0,70$ dikkat gerektiren ama anlamlı,

$R^2 \leq 0,50$ Modelin kalitesiz olduğunu gösterir [121]

Deney tasarımı çalışmaları kapsamında belirlenen üç adet faktörün nem oranı, gerilme direnci ve esneklik özellikleri üzerindeki etkileri, üretilen 19 adet deneme serisine ait verilerin istatistiksel analiz çıktıları esas alınarak belirlenmiştir. Deneme serisinden alınan yanıtlar tekrar MODDE® programına tanıtılarak değerlendirme yapılmıştır ve tasarım alanı bulunmuştur. Tasarım alanında bulunan optimum formülü üretmek için bulunan en iyi oranları kullanarak ayar noktası (optimum) ve hiperküp noktaları hazırlanıp ve test edilmiştir, beklenen kalitede filmler başarıyla hazırlanmıştır.

Filmin pH'ı stabiliteyi ve cilt tahriş etkisini tahmin etmek için önemlidir. Normal koşullar altında stratum korneum'un derisinin yüzeyi 4 ila 6 arasında asidik pH'a sahiptir. Cilt pH'ı çok sayıda endojen faktörden etkilenir; cilt nemi, ter, sebum, anatomik bölge, genetik yatkınlık ve yaş. Ayrıca deterjanlar, kozmetik ürünlerin uygulanması, tıkaçıcı pansumanlar ve topikal antibiyotikler gibi eksojen faktörler de cilt pH'ını etkileyebilir. Akne vulgaris, irriteren kontak dermatit, atopik dermatit, İktiyoz ve Candida Albicans enfeksiyonları gibi deri hastalıklarının patogeneğinde pH değişikliklerinin rol oynadığı bildirilmektedir [10]. Bu bilgilerin doğrultusunda, araştırma testlerin sonuçlarında bulunan optimum filmin pH'ı (pH: 5.25) uygun olduğunu göstermektedir.

Filmlerin nem içeriği esneklik profili ve stabilite açısından ciddi önem taşımaktadır [122]. Ayrıca nem içeriği cilt hidrasyonunda bir artışa neden olacak, bu da nüfuzun artmasına ve

dolayısıyla ilaç bileşeninin geçiş artmasına neden olacaktır [123]. Tablo 4.16'teki verilen optimum nem oranı ortalama % 10 olarak bulunmuştur ve literatürlerden teyit edilerek uygun olduğu görülmüştür [111]

Şeridin kalınlığı, farklı stratejik konumlarda dijital kumpas ölçüm cihazı ile 3.6.3'te anlatıldığı gibi ölçülmüştür. Film dozunun doğruluğu ile doğrudan ilişkili olduğundan, filmin kalınlığındaki tek biçimliliği tespit etmek için önemlidir [55]. Tablo 4.14'teki bulunduğu verilere göre, tüm partilerin kalınlıkları hemen hemen benzerdir; bu da hazırlanan optimum filmin fiziksel tekdüzeliği sağladığını göstermektedir.

Tablo 4.18 gösterilen Katlama Direnci testinin sonuçları, filmin kolay kırılmayacağını ve cilt üzerinde normal şartlarda bütünlüğünün koruyacağını anlamına gelmektedir. Katlanma dayanıklılığı ortalama 115 kat bulunmuştur, bu da tatmin edici olarak değerlendirilmekte ve iyi film özelliğini ortaya koymaktadır [124]

Gerilme dirence ve esneklik profil, hazırlanan filmin dayanıklılığını ve elastikiyetini belirlemek için kullanılır. Sert ve kırılğan filmler, çok az uzamayla birlikte yüksek bir çekme mukavemeti sergiler. Buna karşılık, yumuşak ve sert bir film, düşük bir gerilme mukavemetine sahip olacak, ancak çok daha büyük bir uzamaya ve eğri altında daha yüksek bir alana (dayanıklılık) sahip olacaktır. Buda, aktif bileşenin salınım hızı ve formülasyonun paketleme özellikleri dikkate alındığında önemlidir [125]. Formülasyondaki PG miktarının artırılmasının esnekliği arttırdığı, PG miktarının artmasının ise çekme mukavemetini azalttığı tespit edilmiştir. Esnekliğe ilişkin veriler, literatürdeki plastikleştirici miktarı arttıkça arttığı bildirilen verilerle tutarlıdır [55]. Filmlerde arzu edilen yüksek bir gerilme direncidir [86]. Yapılan çalışmalarda optimum formülün gerilme direncinin $5,52 \pm 0,4$ olduğunu ve esneklik miktarı $9,9 \pm 0,8$ olarak bulunduğu literatürde bulunan ve diğer çalışmalarda görülen sonuçlarla uyumluluk sağladığını gösterilmiştir [126] [86].

HPMC, suyla temas ettiğinde şişen hidrofilik bir polimerdir. Yüksek şişme indeksi gösteren formülasyonlar, yüksek matriks erozyon göstermektedirler. Bu, su akışının polimer ağının bütünlüğünü zayıflatması, şişmiş matrisin yapısal dayanıklılığını ciddi şekilde etkilemesi, jel tabakasının kaybolmasına ve erozyona yol açması gerçeğine atfedilebilir [127]. Bu çalışmada hazırlanan film formülasyonlarının matriks erozyon sonuçları da literatürde geçen

bilgileri ile uyumludur [127]. Tablo 4.17’te gösterilen dağılma testi sonucu, filmin kısa sürede dağıldığını ve neticesinde etkin maddenin serbest kalacağını belirlemektedir.

BPO için literatürde anlatılan bir HPLC yönteminden uyarlanmıştır [58]. Yöntemin doğrusallığı, kesinliği, seçiciliği, teşhis ve tayin sınırları ve dayanıklılığı niceliksel çalışmalardan önce analitik validasyon çalışmaları ile ortaya konmuştur. Doğrusallık testinde ($r^2 = 0,9998$) oluşturulan aktif madde standart eğrisinin (Şekil 4.4) yüksek belirleme katsayısı nedeniyle, her konsantrasyonda ölçülen alanın standart sapma değeri tablo 4.3’te verilmiştir ve %2’nin altında olması sebebiyle aktif bileşenin doğrusal bir denklemi hesaplanmıştır, böylece miktar belirleme için kullanılabilir olduğuna karar verilmiştir. Kesinlik için yapılan çalışmalarda elde edilen standart sapma değerlerinin (Tablo 4.2) %2’den çok küçük bulunmasına dayanarak yöntemin kesinliği ispatlanmıştır. Yapılan seçicilik çalışması sonucunda, BPO’nun ve formülasyonda kullanılan tüm yardımcı maddelerin 235 nm’de girişim yapmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.5, 4.6).

İçerik tekdüzeliği bulguları Tablo 4.19’de gösterilmiş olup % 95.87 olarak bulunmuştur. Varyasyon katsayısı 1.18 olarak, kabul değeri ise 9.87 olarak tespit edilmiştir. Yapılan miktar tayini sonuçları değerlendirildiğinde, sonuçlarının %95-110 aralığında olduğu tespit edilmiştir (USP 35). Bu bulgular USP’nin verdiği limitler çerçevesinde doğrulanmıştır [84].

Topikal filmlerin çözünme hızını incelemek için standart bir yöntem bulunmamaktadır. Çözünme hızı çalışmaları standart sepet veya pedal aparatı kullanılarak yapılabilmekte olup, pedal aparatı kullanılarak yapıldığında filmin çözünme ortamının üzerinde yüzebildiği rapor edilmiştir [55]. Optimum film için tel kafes kullanarak filmin yüzmesi engellenmiş ve dissolüsyonu sağlanmıştır. Film paslanmaz çelik yay benzeri tutuculara yerleştirilerek dissolüsyon profili çalışılmıştır [128]. Çözünme hızı bulguları Tablo 4.20’de gösterilmiştir. Sonuçlara göre filmin 10. dk’da % 89.1 oranında çözüldüğü tespit edilmiştir. Bu sonuçta filmin hızlı salım yaptığını göstermektedir.

Kimyasal ve biyolojik maddeler veya fiziksel faktörler hücreleri değişen derecelerde etkileyebilir ve sitotoksositeye neden olabilir. Bir maddenin biyolojik davranışını anlamak için onun hücreler üzerindeki toksik veya toksik olmayan etkilerini belirlemek gerekir. İn vitro sitotoksosite testi, farmasötik olarak değerlendirilen veya toksisite profili araştırılan maddelerin değerlendirilmesi amacıyla hücre kültürlerinde yapılan bir ölçüm yöntemidir. Bu

testler, çok miktardaki maddenin kısa sürede analiz edilmesini mümkün kılmakta ve hayvan deneyleri için temel veriler sağlamaktadır. Farklı mekanizmalara ve hassasiyetlere sahip birçok sitotoksosite testi vardır. Araştırmacıların sıklıkla tercih ettiği bir test Tetrazolyum (MTT) testidir [129]. Optimum filme yapılan MTT sitotoksosite testi sonuç verileri Tablo 4.20 ve Şekil 4.18’de sunulmuştur. BPO içeren optimum film için konsantrasyona bağlı sitotoksosite gözlenirken, 800 µg/mL, 400 µg/mL, 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonlarda 5 farklı dozlar denenmiştir, hücre canlılığının 800 µg/mL dozda ciddi oranda azaldığını görünmemiştir. Çalışılan diğer konsantrasyonlarda anlamlı bir hücre canlılık inhibisyonunun olmadığı görülmüştür.

Stabilite testinin amacı, uygun saklama koşullarının yanı sıra etkin madde için bir yeniden test süresi veya ilaç ürünü için bir raf ömrü oluşturmaktır. Aynı zamanda bir ilaç maddesinin veya ilaç ürününün kalitesinin sıcaklık ve nem gibi çeşitli çevresel faktörlerin etkisi altında geçirilen zaman içinde nasıl değiştiğine dair ipuçlarını da içermeyi amaçlamaktadır. Stabilite çalışmaları için filmler, 25 ± 2 °C, %60 nem koşullarındaki stabilite kabiniinde 4 hafta süreyle saklanmıştır. Filmin fiziksel görünümünde herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Tablo 4.21, 4.22, ve 4.23’te gösterildiği gibi, test sonuçlarında önemli bir değişiklik kaydetmemiştir.

Bu çalışmada, QbD yaklaşımı kullanarak hem yüksek kaliteli ürün üretmek hem de düşük maliyete formül ortaya koymak hedeflenmiştir. Hedef ürün kalitesi ve onu etkileyen maddenin kendi özellikleri veya prosesin parametrelerini belirleyerek ve ona göre tasarım alanı bulmak bu hedefe adım atmıştır. Akne tedavisinde yaygın olarak kullanılan Benzoil Peroksit için konvensiyonel olmayan yenilikçi dozaj şekilli ortaya koymak amaçlanmıştır. Güvenli ve kolay uygulanabilen bir taşıyıcı sistem olan polimerik film tercih edilmiştir. Sonuç olarak topikal kullanım için geliştirilen BPO yüklü HPMC filmi yeni bir tercih olarak piyasada bulunmayan dozaj formu ortaya çıkarma potansiyeli vaat etmiştir.

REFERANSLAR

- [1] T. Garg, G. Rath, ve A. K. Goyal, “Comprehensive review on additives of topical dosage forms for drug delivery”, <https://doi.org/10.3109/10717544.2013.879355>, c. 22, sy 8, ss. 969-987, Kas. 2014, doi: 10.3109/10717544.2013.879355.
- [2] H. Gollnick, “Current Concepts of the Pathogenesis of Acne Implications for Drug Treatment”, *Drugs*, c. 63, sy 15, ss. 1579-1596, 2003.
- [3] A. L. Perry ve P. A. Lambert, “Propionibacterium acnes”, *Lett Appl Microbiol*, c. 42, sy 3, ss. 185-188, Mar. 2006, doi: 10.1111/J.1472-765X.2006.01866.X.
- [4] G. A. Taylor ve A. R. Shalita, “Benzoyl Peroxide-Based Combination Therapies for Acne Vulgaris A Comparative Review”, *Am J Clin Dermatol*, c. 5, sy 4, ss. 261-265, 2004.
- [5] B. AKSU, *İlaçta Kalite Tasarımı (QbD) ve İlgili Yasal Düzenlemeler*. İstanbul: Neta Reklam Tanıtım Matbaacılık San. Tic. Ltd. Şti., 2013.
- [6] B. M. Buket Aksu1, “Quality by design (QbD) for pharmaceutical area”, *Journal of Faculty of Pharmacy of Istanbul University*, c. 45, sy 2, ss. 233-251, Kas. 2016, Erişim: 30 Kasım 2022. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr/en/pub/iujfp/issue/25404/268073>
- [7] N. V. Dubashynskaya ve Y. A. Skorik, “Patches as Polymeric Systems for Improved Delivery of Topical Corticosteroids: Advances and Future Perspectives”, *Int J Mol Sci*, c. 23, sy 21, s. 12980, Eki. 2022, doi: 10.3390/ijms232112980.
- [8] J. KANITAKIS, “Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin”, *European Journal of Dermatology*, c. 12, sy 4, ss. 390-401, Tem. 2002, Erişim: 11 Aralık 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: https://www.jle.com/en/revues/ejd/e-docs/anatomy_histology_and_immunohistochemistry_of_normal_human_skin_100285/article.phtml?tab=texte
- [9] G. Cevc, “Drug delivery across the skin”, *Expert Opin Investig Drugs*, c. 6, sy 12, ss. 1887-1937, 1997, doi: 10.1517/13543784.6.12.1887.
- [10] M. Schmid-Wendtner, H. K.-S. pharmacology and physiology, ve undefined 2006, “The pH of the skin surface and its impact on the barrier function”, *karger.comMH Schmid-Wendtner, HC KortingsSkin pharmacology and physiology, 2006•karger.com*, c. 19, ss. 296-302, 2006, doi: 10.1159/000094670.

- [11] E. Fuchs ve C. Byrne, “The epidermis: rising to the surface”, *Curr Opin Genet Dev*, c. 4, sy 5, ss. 725-736, Eki. 1994, doi: 10.1016/0959-437X(94)90140-X.
- [12] P. A. Sotiropoulou ve C. Blanpain, “Development and Homeostasis of the Skin Epidermis”, *Cold Spring Harb Perspect Biol*, c. 4, sy 7, s. a008383, Tem. 2012, doi: 10.1101/CSHPERSPECT.A008383.
- [13] C. M. Willis *vd.*, “Sensitive skin: an epidemiological study”, *academic.oup.com*, c. 145, sy 2, ss. 258-263, 2001, doi: 10.1046/j.1365-2133.2001.04343.x.
- [14] T. M. Brown ve K. Krishnamurthy, “Histology, Dermis”, *StatPearls*, Kas. 2022, Erişim: 11 Aralık 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535346/>
- [15] Y. H, A. M, ve S. S, “Anatomy, Skin (Integument), Epidermis”, *StatPearls*, Ara. 2017, Erişim: 11 Aralık 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://europepmc.org/books/NBK470464>
- [16] H. A. E. Benson ve A. C. Watkinson, *Topical and transdermal drug delivery: principles and practice*. Wiley, 2011.
- [17] M. George ve J. H. Vaughan, “In vitro Cell Migration as a Model for Delayed Hypersensitivity”, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, c. 111, sy 2, ss. 514-521, 1962, doi: 10.3181/00379727-111-27841.
- [18] A. Gomes, L. Aguiar, R. Ferraz, C. Teixeira, ve P. Gomes, “The Emerging Role of Ionic Liquid-Based Approaches for Enhanced Skin Permeation of Bioactive Molecules: A Snapshot of the Past Couple of Years”, *International Journal of Molecular Sciences 2021, Vol. 22, Page 11991*, c. 22, sy 21, s. 11991, Kas. 2021, doi: 10.3390/IJMS222111991.
- [19] M. Q. Man, L. Wood, P. M. Elias, ve K. R. Feingold, “Cutaneous barrier repair and pathophysiology following barrier disruption in IL-1 and TNF type I receptor deficient mice”, *Exp Dermatol*, c. 8, sy 4, ss. 261-266, 1999, doi: 10.1111/J.1600-0625.1999.TB00380.X.
- [20] X. Wang, M. Schunck, K. Kallen, ... C. N.-J. of investigative, ve undefined 2004, “The interleukin-6 cytokine system regulates epidermal permeability barrier homeostasis”, *Elsevier*, Erişim: 11 Nisan 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022202X15308952>

- [21] B. Iqbal, M. Pharm, J. Ali, S. Baboota, ve C. Sanjula Baboota, “Recent advances and development in epidermal and dermal drug deposition enhancement technology”, *Int J Dermatol*, c. 57, sy 6, ss. 646-660, Haz. 2018, doi: 10.1111/IJD.13902.
- [22] H. C. Williams, R. P. Dellavalle, ve S. Garner, “Acne vulgaris”, *The Lancet*, c. 379, sy 9813, ss. 361-372, Oca. 2012, doi: 10.1016/S0140-6736(11)60321-8.
- [23] S. Moradi Tuchayi, E. Makrantonaki, R. Ganceviciene, C. Dessinioti, S. R. Feldman, ve C. C. Zouboulis, “Acne vulgaris”, *Nature Reviews Disease Primers 2015 1:1*, c. 1, sy 1, ss. 1-20, Eyl. 2015, doi: 10.1038/nrdp.2015.29.
- [24] H. C. Williams, R. P. Dellavalle, ve S. Garner, “Acne vulgaris”, *The Lancet*, c. 379, sy 9813, ss. 361-372, 2012, doi: 10.1016/S0140-6736(11)60321-8.
- [25] N. Center for Health Statistics, “Annual number and percent distribution of ambulatory care visits in the United States, 2009-2010”.
- [26] N. Benner ve D. Sammons, “Overview of the treatment of acne vulgaris”, *Osteopathic Family Physician*, c. 5, sy 5, ss. 185-190, Eyl. 2013, doi: 10.1016/J.OSFP.2013.03.003.
- [27] H. Williams, R. Dellavalle, S. G.-T. Lancet, ve undefined 2012, “Acne vulgaris”, *thelancet.com* HC Williams, RP Dellavalle, S Garner *The Lancet*, 2012 • *thelancet.com*, c. 379, ss. 361-72, 2012, doi: 10.1016/S0140.
- [28] Z. Yazici, “Hafif-Orta Şiddetli Akne Vulgaris Yüz Tutulumu Tedavisinde Nadifloksasin % 1 Krem ve Benzoil Peroksit % 5 Losyon İle Birlikte Etkinliklerinin Karşılaştırılması”, uzmanlık tezi, MARMARA ÜNİVERSİTESİ , 2009.
- [29] A. Katsambas ve A. Papakonstantinou, “Acne: Systemic treatment”, *Clin Dermatol*, c. 22, sy 5, ss. 412-418, Eyl. 2004, doi: 10.1016/J.CLINDERMATOL.2004.03.014.
- [30] L. Fox, C. Csongradi, M. Aucamp, J. Du Plessis, ve M. Gerber, “Treatment Modalities for Acne”, *Molecules 2016, Vol. 21, Page 1063*, c. 21, sy 8, s. 1063, Ağu. 2016, doi: 10.3390/MOLECULES21081063.
- [31] “Acne vulgaris: Overview of management - UpToDate”. Erişim: 28 Mart 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: https://www.uptodate.com/contents/acne-vulgaris-overview-of-management?search=Abena%20O.%20Treatment%20of%20acnes%20vulgaris,%20Delivery%20vehicles.&topicRef=39&source=see_link#H541812670

- [32] A. L. Zaenglein, "Topical Retinoids in the Treatment of Acne Vulgaris", *Semin Cutan Med Surg*, c. 27, sy 3, ss. 177-182, Eyl. 2008, doi: 10.1016/J.SDER.2008.06.001.
- [33] A. Krautheim ve H. P. M. Gollnick, "Acne: Topical treatment", *Clin Dermatol*, c. 22, sy 5, ss. 398-407, 2004, doi: 10.1016/J.CLINDERMATOL.2004.03.009.
- [34] N. S. Scheinfeld, W. D. Tutrone, O. Torres, ve J. M. Weinberg, "Macrolides in dermatology", *Clin Dermatol*, c. 21, sy 1, ss. 40-49, 2003, doi: 10.1016/S0738-081X(02)00323-1.
- [35] L. Shaw ve C. Kennedy, "The treatment of acne", *Paediatr Child Health*, c. 17, sy 10, ss. 385-389, Eki. 2007, doi: 10.1016/J.PAED.2007.07.005.
- [36] M. Segransky, ... B. Y.-E. opinion on, ve undefined 2009, "Benzoyl peroxide: a review of its current use in the treatment of acne vulgaris", *Taylor & FrancisM Segransky, BA Yentzer, SR FeldmanExpert opinion on pharmacotherapy, 2009•Taylor & Francis*, c. 10, sy 15, ss. 2555-2562, Eki. 2009, doi: 10.1517/14656560903277228.
- [37] A. Akhavan ve S. Bershad, "Topical acne drugs: Review of clinical properties, systemic exposure, and safety", *Am J Clin Dermatol*, c. 4, sy 7, ss. 473-492, 2003, doi: 10.2165/00128071-200304070-00004.
- [38] M. H. Lee, J. R. Chen, M. Das, T. F. Hsieh, ve C. M. Shu, "Thermokinetic parameter evaluation by DSC and TAM III along with accountability of mass loss by TG from the thermal decomposition analyses of benzoyl peroxide", *J Therm Anal Calorim*, c. 122, sy 3, ss. 1143-1150, Ara. 2015, doi: 10.1007/S10973-015-4917-1.
- [39] "Human Metabolome Database: Showing metabocard for Benzoyl peroxide (HMDB0032040)". Erişim: 31 Mart 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0032040>
- [40] M. C. Kittredge, K. W. Kittredge, M. S. Sokol, A. M. Sarquis, ve L. M. Sennet, "Investigating the Stability of Benzoyl Peroxide in Over-the-Counter Acne Medications", *J Chem Educ*, c. 85, sy 12, ss. 1655-1657, 2008, doi: 10.1021/ED085P1655.
- [41] C. Burkhart, C. B.-I. journal of dermatology, ve undefined 2007, "Treatment of acne vulgaris without antibiotics: tertiary amine–benzoyl peroxide combination vs. benzoyl peroxide alone (Proactiv Solution™)", *Wiley Online Library*, c. 46, sy 1, ss. 89-93, Oca. 2007, doi: 10.1111/j.1365-4632.2007.03081.x.

- [42] L. HEGEMANN, S. M. TOSO, K. KITAY, ve C. F. WEBSTER, “Anti-inflammatory actions of benzoyl peroxide: effects on the generation of reactive oxygen species by leucocytes and the activity of protein kinase C and calmodulin”, *British Journal of Dermatology*, c. 130, sy 5, ss. 569-575, 1994, doi: 10.1111/J.1365-2133.1994.TB13101.X.
- [43] J. Waller, F. Dreher, S. Behnam, ... C. F.-S. P. and, ve undefined 2006, “‘Keratolytic’ properties of benzoyl peroxide and retinoic acid resemble salicylic acid in man”, *karger.com*, Erişim: 31 Mart 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.karger.com/Article/Abstract/93984>
- [44] S. Ibbotson, C. Lambert, M. Moran, ... M. L.-J. of investigative, ve undefined 1998, “Benzoyl peroxide increases UVA-induced plasma membrane damage and lipid oxidation in murine leukemia L1210 cells”, *Elsevier*, Erişim: 31 Mart 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022202X15373711>
- [45] S. Nacht, D. Yeung, J. B. Jr, ... M. A.-J. of the A., ve undefined 1981, “Benzoyl peroxide: percutaneous penetration and metabolic disposition”, *Elsevier*, Erişim: 31 Mart 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0190962281700045>
- [46] D. Yeung, S. Nacht, D. Bucks, H. M.-J. of the A. Academy, ve undefined 1983, “Benzoyl peroxide: percutaneous penetration and metabolic disposition. II. Effect of concentration”, *Elsevier*, Erişim: 31 Mart 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0190962283702094>
- [47] D. Yeung, S. Nacht, D. Bucks, H. I. Maibach, ve S. Francisco, “Benzoyl peroxide: Percutaneous penetration and metabolic disposition. II. Effect of concentration”, 1983.
- [48] O. H. Mills, A. M. Kligman, P. Pochi, ve H. Comite, “Comparing 2.5%, 5%, and 10% Benzoyl Peroxide on Inflammatory Acne Vulgaris”, *Int J Dermatol*, c. 25, sy 10, ss. 664-667, 1986, doi: 10.1111/J.1365-4362.1986.TB04534.X.
- [49] S. J. Longshore ve K. Hollandsworth, “Acne vulgaris: one treatment does not fit all.”, *Cleve Clin J Med*, c. 70, sy 8, ss. 670, 672-4, 677, Ağu. 2003, doi: 10.3949/CCJM.70.8.670.

- [50] O. H. Mills, A. M. Kligman, P. Pochi, ve H. Comite, “Comparing 2.5%, 5%, and 10% Benzoyl Peroxide on Inflammatory Acne Vulgaris”, *Int J Dermatol*, c. 25, sy 10, ss. 664-667, 1986, doi: 10.1111/J.1365-4362.1986.TB04534.X.
- [51] W. Cunliffe, B. B.-A. Dermato-Venereologica, ve undefined 1982, “Benzoyl peroxide: lack of sensitization”, *medicaljournalssweden.se*, Erişim: 31 Mart 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://medicaljournalssweden.se/actadv/article/view/8122>
- [52] R. A. BOJAR, W. J. CUNLIFFE, ve K. T. HOLLAND, “The short-term treatment of acne vulgaris with benzoyl peroxide: effects on the surface and follicular cutaneous microflora”, *British Journal of Dermatology*, c. 132, sy 2, ss. 204-208, 1995, doi: 10.1111/J.1365-2133.1995.TB05014.X.
- [53] K. Kathe ve H. Kathpalia, “Film forming systems for topical and transdermal drug delivery”, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, c. 12, sy 6. Shenyang Pharmaceutical University, ss. 487-497, 01 Kasım 2017. doi: 10.1016/j.ajps.2017.07.004.
- [54] L. Sievens-Figueroa vd., “Preparation and characterization of hydroxypropyl methyl cellulose films containing stable BCS Class II drug nanoparticles for pharmaceutical applications”, *Int J Pharm*, c. 423, sy 2, ss. 496-508, Şub. 2012, doi: 10.1016/J.IJPHARM.2011.12.001.
- [55] R. P. Dixit ve S. P. Puthli, “Oral strip technology: Overview and future potential”, *Journal of Controlled Release*, c. 139, sy 2, ss. 94-107, Eki. 2009, doi: 10.1016/J.JCONREL.2009.06.014.
- [56] K. Kathe ve H. Kathpalia, “Film forming systems for topical and transdermal drug delivery”, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, c. 12, sy 6. Shenyang Pharmaceutical University, ss. 487-497, 01 Kasım 2017. doi: 10.1016/j.ajps.2017.07.004.
- [57] Mahato I. Ram ve Narang S. Ajit, “Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery”, 2018.
- [58] M. M. Feldstein, V. N. Tohmakhchi, L. B. Malkhazov, A. E. Vasiliev, ve N. A. Platé, “Hydrophilic polymeric matrices for enhanced transdermal drug delivery”, *Int J Pharm*, c. 131, sy 2, ss. 229-242, Nis. 1996, doi: 10.1016/0378-5173(95)04351-9.

- [59] R. Gannu, Y. Vishnu, ... V. K.-P. J. of, ve undefined 2008, “Development of carvedilol transdermal patches: evaluation of physicochemical, ex vivo and mechanical properties”, *journal.pda.org*, Erişim: 05 Nisan 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://journal.pda.org/content/62/6/391.short>
- [60] G. B.-F. and C. Toxicology ve undefined 2007, “Safety assessment of hydroxypropyl methylcellulose as a food ingredient”, *Elsevier*, Erişim: 05 Nisan 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S027869150700261X>
- [61] Walters Kenneth A. ve Roberts Michael S., “Dermatologic, Cosmeceutic, and Cosmetic Development”, *Dermatologic, Cosmeceutic, and Cosmetic Development*, Ara. 2007, doi: 10.3109/9780849375903/DERMATOLOGIC-COSMECEUTIC-COSMETIC-DEVELOPMENT-KENNETH-WALTERS-MICHAEL-ROBERTS.
- [62] S. Güngör, M. Erdal, Y. Ö.-R. advances in plasticizers, ve undefined 2012, “Plasticizers in transdermal drug delivery systems”, *books.google.com*, Erişim: 05 Nisan 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://books.google.com/books?hl=tr&lr=&id=g8qgDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA91&ots=96Nvp6KnrH&sig=y79cxc7n-R0j7yYrbobA5aAnUhA>
- [63] A. C. Williams ve B. W. Barry, “Penetration enhancers”, *Adv Drug Deliv Rev*, c. 64, sy SUPPL., ss. 128-137, Ara. 2012, doi: 10.1016/J.ADDR.2012.09.032.
- [64] N. Aksu, V. Yozgathı, M. Okur, Ş. Ayla, ... A. Y.-J. of drug delivery, ve undefined 2019, “Preparation and evaluation of QbD based fusidic acid loaded in situ gel formulations for burn wound treatment”, *Elsevier*, Erişim: 07 Nisan 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S177322471831520X>
- [65] I. M. Fukuda, C. F. F. Pinto, C. D. S. Moreira, A. M. Saviano, ve F. R. Lourenço, “Design of Experiments (DoE) applied to Pharmaceutical and Analytical Quality by Design (QbD)”, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, c. 54, sy Special Issue, s. e01006, Kas. 2018, doi: 10.1590/S2175-97902018000001006.
- [66] “Q8(R2) Pharmaceutical Development | FDA”. Erişim: 17 Mart 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/q8r2-pharmaceutical-development>

- [67] P. Holm, M. Allesø, M. C. Bryder, ve R. Holm, “Q8(R2)”, *ICH Quality Guidelines*, ss. 535-577, Eyl. 2017, doi: 10.1002/9781118971147.CH20.
- [68] J. N. Sangshetti, M. Deshpande, Z. Zaheer, D. B. Shinde, ve R. Arote, “Quality by design approach: Regulatory need”, *Arabian Journal of Chemistry*, c. 10, ss. S3412-S3425, May. 2017, doi: 10.1016/J.ARABJC.2014.01.025.
- [69] L. X. Yu *vd.*, “Understanding pharmaceutical quality by design”, *AAPS Journal*, c. 16, sy 4, ss. 771-783, May. 2014, doi: 10.1208/S12248-014-9598-3/METRICS.
- [70] I. G.-L. E. medicines agency ve undefined 2011, “Development and manufacture of drug substances (chemical entities and biotechnological/biological entities) Q11”, *nihs.go.jp*, Erişim: 11 Aralık 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.nihs.go.jp/dbcb/TEXT/Q11.pdf>
- [71] H. Bhutani, M. Kurmi, S. Singh, S. Beg, B. S.-Q. Assurance, ve undefined 2004, “Quality by design (QbD) in analytical sciences: an overview”, *researchgate.net*, c. 46, sy 08, 2014, Erişim: 07 Nisan 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: https://www.researchgate.net/profile/Bhupinder-Singh/publication/267034239_Quality_by_Design_QbD_in_Analytical_Sciences_An_Overview/links/54424be10cf2a6a049a7c58f/Quality-by-Design-QbD-in-Analytical-Sciences-An-Overview.pdf
- [72] E. Rozet, R. Marini, E. Ziemons, ... B. B.-... of pharmaceutical and, ve undefined 2011, “Advances in validation, risk and uncertainty assessment of bioanalytical methods”, *Elsevier*, Erişim: 07 Nisan 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708510007235>
- [73] R. Peraman, ... K. B.-I. journal of, ve undefined 2015, “Analytical quality by design: a tool for regulatory flexibility and robust analytics”, *hindawi.com*, Erişim: 10 Nisan 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.hindawi.com/journals/ijac/2015/868727/>
- [74] S. N. Politis, P. Colombo, G. Colombo, ve D. M. Rekkas, “Design of experiments (DoE) in pharmaceutical development”, *Taylor & Francis*, c. 43, sy 6, ss. 889-901, Haz. 2017, doi: 10.1080/03639045.2017.1291672.
- [75] L. Candiotti, M. De Zan, M. Cámara, H. G.- Talanta, ve undefined 2014, “Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development”, *Elsevier*, Erişim: 10 Nisan 2023.

- [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914014000459>
- [76] E. M. Chellquist ve W. G. Gorman, “Benzoyl Peroxide Solubility and Stability in Hydric Solvents”, *Pharmaceutical Research: An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, c. 9, sy 10, ss. 1341-1346, 1992, doi: 10.1023/A:1015873805080/METRICS.
- [77] “INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE PHARMACEUTICAL DEVELOPMENT Q8(R2)”, 2009.
- [78] “FDA. (2011). Quality by design for ANDAs: An example... - Google Akademik”. Erişim: 06 Haziran 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: https://scholar.google.com.tr/scholar?hl=tr&as_sdt=0%2C5&q=FDA.+%282011%29.+Quality+by+design+for+ANDAs%3A+An+example+for+modified+release+dosage+forms.+FDA.+Silver+spring%2C+MD%2C+1-161.&btnG=
- [79] E. J. Kim ve D. H. Choi, “Quality by design approach to the development of transdermal patch systems and regulatory perspective”, *Journal of Pharmaceutical Investigation 2021 51:6*, c. 51, sy 6, ss. 669-690, Haz. 2021, doi: 10.1007/S40005-021-00536-W.
- [80] M. Akhlaq vd., “Formulation and evaluation of anti-rheumatic dexibuprofen transdermal patches: a quality-by-design approach”, *J Drug Target*, c. 24, sy 7, ss. 603-612, Ağu. 2016, doi: 10.3109/1061186X.2015.1116538.
- [81] H. Zhai ve H. I. Maibach, “Effects of Skin Occlusion on Percutaneous Absorption: An Overview”, 2001. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: www.karger.com/journals/sph
- [82] J. Norman, R. Madurawe, ... C. M.-A. drug delivery, ve undefined 2017, “A new chapter in pharmaceutical manufacturing: 3D-printed drug products”, *Elsevier*, Erişim: 11 Aralık 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X16300771>
- [83] K. Alexander, “Dosage Forms and Their Routes of Administration”, içinde *Pharmacology: Principles and Practice*, Elsevier, 2009, ss. 9-29. doi: 10.1016/B978-0-12-369521-5.00002-6.

- [84] “USP–NF General Chapter Uniformity of Dosage Units | USP-NF”. Erişim: 04 Aralık 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.uspnf.com/notices/retired-compendial-notices/usp-nf-general-chapter-uniformity-dosage-units>
- [85] M. B. Vaz, C. Vitorino, ve J. J. S. Sousa, “Safe-by-design development of a topical patch for drug delivery”, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, c. 56, 2020, doi: 10.1590/S2175-97902020000118629.
- [86] Erginer Yıldız ve Bülbül Ö. Ece, “ORAL FİLM FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ VE OPTİMİZASYONU”, 2018.
- [87] YILMAZ, “Hata türü ve etki analizi”, *academia.edu*, Erişim: 08 Haziran 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.academia.edu/download/31068600/hata.pdf>
- [88] C. Woertz ve P. Kleinebudde, “Development of orodispersible polymer films with focus on the solid state characterization of crystalline loperamide”, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, c. 94, ss. 52-63, Ağu. 2015, doi: 10.1016/J.EJPB.2015.04.036.
- [89] K. Peh, C. W.-J. P. P. Sci, ve undefined 1999, “Polymeric films as vehicle for buccal delivery: swelling, mechanical, and bioadhesive properties”, *ualberta.ca*, c. 2, sy 2, ss. 53-61, 1999, Erişim: 12 Haziran 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: [https://www.ualberta.ca/~csps/JPPS2\(2\)/K.Peh/Polymeric-Peh.pdf](https://www.ualberta.ca/~csps/JPPS2(2)/K.Peh/Polymeric-Peh.pdf)
- [90] S. Singh, S. Jain, M. S. Muthu, S. Tiwari, ve R. Tilak, “Preparation and evaluation of buccal bioadhesive films containing clotrimazole”, *AAPS PharmSciTech*, c. 9, sy 2, ss. 660-667, Haz. 2008, doi: 10.1208/S12249-008-9083-3.
- [91] David S. Jones, A. David Woolfson, Jasmina Djokic, ve W. A. Coulter, “Development and Mechanical Characterization of Bioadhesive Semi-Solid, Polymeric Systems Containing Tetracycline for the Treatment of Periodontal Diseases”, *Pharm Res*, c. 13, ss. 1734-1738, 1996.
- [92] A. Y. , Peköz ve Arslan D., “MUKOADEZİF BUKKAL YAMA FORMÜLASYONLARININ GELİŞTİRİLMESİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR.”, 2014.
- [93] W. Brniak, E. Maşlak, ve R. Jachowicz, “Orodispersible films and tablets with prednisolone microparticles”, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, c. 75, ss. 81-90, Tem. 2015, doi: 10.1016/J.EJPS.2015.04.006.

- [94] V. Garsuch ve J. Breitzkreutz, "Comparative investigations on different polymers for the preparation of fast-dissolving oral films", *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, c. 62, sy 4, ss. 539-545, Nis. 2010, doi: 10.1211/JPP.62.04.0018.
- [95] R. Dixit, S. P.-J. of controlled release, ve undefined 2009, "Oral strip technology: Overview and future potential", *Elsevier*, Erişim: 12 Haziran 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016836590900426X>
- [96] M. Jelvehgari, M. R. Siahi-Shadbad, S. Azarmi, G. P. Martin, ve A. Nokhodchi, "The microspunge delivery system of benzoyl peroxide: Preparation, characterization and release studies", *Int J Pharm*, c. 308, sy 1-2, ss. 124-132, Şub. 2006, doi: 10.1016/J.IJPHARM.2005.11.001.
- [97] J. Kraemer, J. Gajendran, A. Guillot, J. Schichtel, ve A. Tuereli, "Dissolution testing of orally disintegrating tablets", *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, c. 64, sy 7. ss. 911-918, Temmuz 2012. doi: 10.1111/j.2042-7158.2012.01473.x.
- [98] M. H. Lee, J. R. Chen, M. Das, T. F. Hsieh, ve C. M. Shu, "Thermokinetic parameter evaluation by DSC and TAM III along with accountability of mass loss by TG from the thermal decomposition analyses of benzoyl peroxide", *J Therm Anal Calorim*, c. 122, sy 3, ss. 1143-1150, Ara. 2015, doi: 10.1007/S10973-015-4917-1/TABLES/5.
- [99] A. D. Katsambas, C. Stefanaki, ve W. J. Cunliffe, "Guidelines for treating acne", *Clin Dermatol*, c. 22, sy 5, ss. 439-444, 2004, doi: 10.1016/j.clindermatol.2004.03.002.
- [100] F. Zaman vd., "The stability of benzoyl peroxide by isothermal microcalorimetry", *Int J Pharm*, c. 227, sy 1-2, ss. 133-137, Eki. 2001, doi: 10.1016/S0378-5173(01)00791-8.
- [101] J. Leyden, "New developments in topical antimicrobial therapy for acne.", *J Drugs Dermatol*, c. 7, sy 2 Suppl, ss. s8-11, Şub. 2008, Erişim: 07 Ağustos 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://europepmc.org/article/med/18404865>
- [102] Y. Zhao, M. B. Brown, ve S. A. Jones, "The topical delivery of benzoyl peroxide using elegant dynamic hydrofluoroalkane foams", *J Pharm Sci*, c. 99, sy 3, ss. 1384-1398, 2010, doi: 10.1002/jps.21933.
- [103] S. Lohumi vd., "Quantitative analysis of Sudan dye adulteration in paprika powder using FTIR spectroscopy", *Food Additives & Contaminants: Part A*, c. 34, sy 5, ss. 678-686, May. 2017, doi: 10.1080/19440049.2017.1290828.

- [104] “Benzoyl Peroxide”. Erişim: 09 Ağustos 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C94360&Type=IR-SPEC&Index=1>
- [105] A. Naik, Y. N. Kalia, ve R. H. Guy, “Transdermal drug delivery: overcoming the skin’s barrier function”, *Pharm Sci Technol Today*, c. 3, sy 9, ss. 318-326, Eyl. 2000, doi: 10.1016/S1461-5347(00)00295-9.
- [106] J. J. Senkevich, “Oxidative chemical vapor deposition of polyacenaphthylene, polyacenaphthene, and polyindane via benzoyl peroxide”, *Thin Solid Films*, c. 556, ss. 23-27, Nis. 2014, doi: 10.1016/J.TSF.2013.12.051.
- [107] R. Bucci, A. D. Magri, ve A. L. Magri, “DSC IN THE CHEMICAL ANALYSIS OF DRUGS Determination of diclofenac in pharmaceutical formulations”, 2000.
- [108] Kodre KV, Attarde SR, Yendhe PR, Patil RY, ve Barge VU, “DSC IN THE CHEMICAL ANALYSIS OF DRUGS Determination of diclofenac in pharmaceutical formulations”, 2000.
- [109] A. Nokhodchi, M. Jelvehgari, M. R. Siahi, ve M. R. Mozafari, “Factors affecting the morphology of benzoyl peroxide microsponges”, *Micron*, c. 38, sy 8, ss. 834-840, Ara. 2007, doi: 10.1016/J.MICRON.2007.06.012.
- [110] J. Suksaeree, P. Karnsopa, N. Wannaphruek, J. Prasomkij, K. Panrat, ve W. Pichayakorn, “Transdermal Delivery of Nicotine Using Pectin Isolated from Durian Fruit-Hulls-Based Polymer Blends as a Matrix Layer”, *J Polym Environ*, c. 26, sy 8, ss. 3216-3225, Ağu. 2018, doi: 10.1007/S10924-018-1203-X/TABLES/4.
- [111] Y. Sampaopan ve J. Suksaeree, “Formulation Development and Pharmaceutical Evaluation of *Lysiphyllum strychnifolium* Topical Patches for Their Anti-inflammatory Potential”, *AAPS PharmSciTech*, c. 23, sy 5, ss. 1-13, Tem. 2022, doi: 10.1208/S12249-022-02269-X/TABLES/2.
- [112] A. R. Chandak ve P. R. P. Verma, “Design and development of hydroxypropyl methycellulose (HPMC) based polymeric films of methotrexate: Physicochemical and pharmacokinetic evaluations”, *Yakugaku Zasshi*, c. 128, sy 7, ss. 1057-1066, Tem. 2008, doi: 10.1248/YAKUSHI.128.1057.
- [113] V. A. dos S. Garcia, J. G. Borges, F. M. Vanin, ve R. A. de Carvalho, “Orally disintegrating films of biopolymers for drug delivery”, *Biopolymer Membranes and Films: Health, Food, Environment, and Energy Applications*, ss. 289-307, Oca. 2020, doi: 10.1016/B978-0-12-818134-8.00012-2.

- [114] A. Kulkarni, H. Deokule, ... M. M.-J. C. P., ve undefined 2010, "Exploration of different polymers for use in the formulation of oral fast dissolving strips", *researchgate.net* AS Kulkarni, HA Deokule, MS Mane, DM Ghadge *J Curr Pharm Res*, 2010 • *researchgate.net*, c. 2, sy 1, ss. 33-35, 2010, Erişim: 22 Eylül 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: https://www.researchgate.net/profile/Ajit-Kulkarni-5/publication/44900180_Exploration_of_different_polymers_for_use_in_the_formulation_of_oral_fast_dissolving_strips/links/555ddfb808ae9963a1138517/Exploration-of-different-polymers-for-use-in-the-formulation-of-oral-fast-dissolving-strips.pdf
- [115] U. C. Galgatte, S. S. Khanchandani, Y. G. Jadhav, ve P. D. Chaudhari, "Investigation of different polymers, plasticizers and superdisintegrating agents alone and in combination for use in the formulation of fast dissolving oral films", *researchgate.net* UC Galgatte, SS Khanchandani, YG Jadhav, PD Chaudhari *International Journal of PharmTech Research*, 2013 • *researchgate.net*, c. 5, sy 4, ss. 1465-1472, Erişim: 22 Eylül 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: https://www.researchgate.net/profile/Upendra-Galgatte/publication/289018374_Investigation_of_different_polymers_plasticizers_and_superdisintegrating_agents_alone_and_in_combination_for_use_in_the_formulation_of_fast_dissolving_oral_films/links/56c45e5808aea564e304aa9c/Investigation-of-different-polymers-plasticizers-and-superdisintegrating-agents-alone-and-in-combination-for-use-in-the-formulation-of-fast-dissolving-oral-films.pdf
- [116] S. Kumar, M. Nagabhushanam, K. R.-P. Lett, ve undefined 2013, "Preparation and in vivo evaluation of oral dissolving films containing sumatriptan succinate", *academia.edu* SK Kumar, MV Nagabhushanam, K Rao, D Bhikshapathi *Pharm Lett*, 2013 • *academia.edu*, Erişim: 22 Eylül 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <https://www.academia.edu/download/103079472/preparation-and-in-vivo-evaluation-of-oral-dissolving-films-containing-sumatriptan-succinate.pdf>
- [117] W. S. Schlindwein ve M. Gibson, "Pharmaceutical quality by design: A practical approach", *Pharmaceutical Quality by Design: A Practical Approach*, ss. 1-337, Ara. 2017, doi: 10.1002/9781118895238.
- [118] R. A. Kennedy ve M. L. Kennedy, "Effect of selected non-ionic surfactants on the flow behavior of aqueous Veegum suspensions", *AAPS PharmSciTech*, c. 8, sy 1, ss. E171-E176, Mar. 2007, doi: 10.1208/PT0801025/METRICS.

- [119] A. Kikuchi, "Surface-grafting methods for biomaterials", *Comprehensive Biomaterials II*, ss. 292-302, Oca. 2017, doi: 10.1016/B978-0-12-803581-8.09294-8.
- [120] K. Bischoff, "Propylene Glycol", *Small Animal Toxicology, Third Edition*, ss. 763-767, 2012, doi: 10.1016/B978-1-4557-0717-1.00072-7.
- [121] B. Aksu, G. Yegen, S. Purisa, E. Cevher, ve Y. Ozsoy, "Optimisation of Ondansetron Orally Disintegrating Tablets Using Artificial Neural Networks", *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, c. 13, sy 9, ss. 1374-1383, Eki. 2014, doi: 10.4314/TJPR.V13I9.1.
- [122] J. Irissin-Mangata, G. Bauduin, B. Boutevin, ve N. Gontard, "New plasticizers for wheat gluten films", *Eur Polym J*, c. 37, sy 8, ss. 1533-1541, Ağu. 2001, doi: 10.1016/S0014-3057(01)00039-8.
- [123] F. Keshavarzi, S. Zajforoushan Moghaddam, M. Barré Pedersen, N. Østergaard Knudsen, S. Jafarzadeh, ve E. Thormann, "Water vapor permeation through topical films on a moisture-releasing skin Model", *Skin Research and Technology*, c. 27, sy 2, ss. 153-162, Mar. 2021, doi: 10.1111/SRT.12926.
- [124] Mohamed M.s. Eid, A. M. Elgadir, ve M. A. & Mahdy, "(PDF) PREPARATION AND RELEASE CHARACTERISTICS OF ITRACONAZOLE POYMERIC FILMS FOR TOPICAL APPLICATION", Preparation and release characteristics of itracinazole poymeric films for topical application. nt. J. Pharm. Pharm. Sci. Erişim: 04 Kasım 2023. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: https://www.researchgate.net/publication/280727190_PREPARATION_AND_RELEASE_CHARACTERISTICS_OF_ITRACONAZOLE_POYMERIC_FILMS_FOR_TOPICAL_APPLICATION
- [125] J. W. McGinity ve L. A. Felton, *Aqueous polymeric coatings for pharmaceutical dosage forms*. Informa Healthcare, 2008.
- [126] A. D. Chonkar vd., "Development of fast dissolving oral films containing lercanidipine HCl nanoparticles in semicrystalline polymeric matrix for enhanced dissolution and ex vivo permeation", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, c. 103, ss. 179-191, Haz. 2016, doi: 10.1016/J.EJPB.2016.04.001.
- [127] L. Sai Cheong Wan, P. Wan Sia Heng, ve L. Fun Wong, "Matrix swelling: A simple model describing extent of swelling of HPMC matrices", *Int J Pharm*, c. 116, sy 2, ss. 159-168, Mar. 1995, doi: 10.1016/0378-5173(94)00285-D.

- [128] W. Brniak, E. Mašlak, ve R. Jachowicz, “Orodispersible films and tablets with prednisolone microparticles”, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, c. 75, ss. 81-90, Tem. 2015, doi: 10.1016/J.EJPS.2015.04.006.
- [129] M. Ghasemi, T. Turnbull, S. Sebastian, ve I. Kempson, “The mtt assay: Utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis”, *Int J Mol Sci*, c. 22, sy 23, s. 12827, Ara. 2021, doi: 10.3390/IJMS222312827/S1.

