

**ANTİHİSTAMİNİK ETKİLİ OFTALMİK
KONTROLLÜ SALIM GÖSTEREN
FARKLI SİSTEMLER ÜZERİNDE
ÇALIŞMALAR
Doktora Tezi**

**Umay Merve GÜVEN
Eskişehir, 2016**

**ANTİHİSTAMİNİK ETKİLİ OFTALMİK KONTROLLÜ SALIM GÖSTEREN
FARKLI SİSTEMLER ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

Umay Merve GÜVEN

DOKTORA TEZİ

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yasemin YAZAN

(İkinci Danışman: Yard. Doç. Dr. Murat Sami BERKMAN)

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi






Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ekim, 2016

Bu tez çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 1406S312 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Umay Merve GÜVEN'in "Antihistaminik Etkili Oftalmik Kontrollü Salım Gösteren Farklı Sistemler Üzerinde Çalışmalar" başlıklı tezi 03/10/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Teknoloji Anabilim dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Yasemin YAZAN	
Üye	: Prof. Dr. Nuran ÖĞÜLENER	
Üye	: Prof. Dr. İmran VURAL	
Üye	: Doç. Dr. Rana ARSLAN	
Üye	: Yard. Doç. Dr. Ebru BAŞARAN	



ÖZET

ANTİHİSTAMİNİK ETKİLİ OFTALMİK KONTROLLÜ SALIM GÖSTEREN FARKLI SİSTEMLER ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Umay Merve GÜVEN

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ekim, 2016

Danışman: Prof.Dr. Yasemin YAZAN

(İkinci Danışman: Yard.Doç.Dr. Murat Sami BERKMAN)

Alerji oküler yüzeyde en sık karşılaşılan hastalıklardan biridir. Oküler alerji tanısı konulduktan sonra genel olarak antihistaminik içeren preparatlarla tedavi edilmektedir. Ancak gözün doğal koruma mekanizması ve anatomisi ilaç taşıyıcı sistem için problem oluşturmaktadır. Gözyaşı ile atılım, drenaj, gözün alabildiği sıvı kapasitesinin düşüklüğü ve korneadan geçişin düşük olması gibi nedenler ilacın emilimini engellemektedir.

Histamin H₁ reseptörünü inhibe eden olopatadin hidroklorür göz alerjisinde kullanılan ikinci nesil antihistaminik sınıftan antialerjik maddedir. Bu grup antihistaminikler hastalarda daha az yan etkiye yol açmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada etkin madde olarak olopatadin hidroklorür kullanılmıştır.

Oftalmik formülasyonların çoğu topik uygulama için göz damlası şeklinde hazırlanmaktadır. Ancak konvensiyonel oftalmik çözelti uygulamanın ardından gözden hızla elimine olup preorneal alanda etkin maddenin etkin konsantrasyonunu sağlayamamaktadır.

Bu çalışmada, ilaç salımını uzatmak için umut vaat edici olan polimerik nanopartikül, mikroemülsiyon ve *in situ* jelleşen sistemler hazırlanmıştır. Hazırlanan sistemlerin farklı sıcaklık ortamlarındaki davranışları kararlılık çalışması ile incelenmiştir. Farklı formülasyon tipinin göz yüzeyinde kalma süresi koyunlarda karşılaştırılmıştır. Piyasa preparatına oranla daha uzun süre gözde kalabilen oküler sistemler başarıyla hazırlanmış ve istenilen oftalmik özelliklerin sağlandığı belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Olopatadin hidroklorür, Oküler, Polimerik nanopartikül, Mikroemülsiyon, *İn situ* jelleşen sistem

ABSTRACT

STUDIES ON DIFFERENT CONTROLLED RELEASING OPHTHALMIC SYSTEMS WITH ANTIHISTAMINIC ACTIVITY

Umay Merve GÜVEN

Department of Pharmaceutical Technology

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, October, 2016

Supervisor: Prof.Dr. Yasemin YAZAN

(Co-Supervisor: Assist.Prof.Dr. Murat Sami BERKMAN)

Ocular allergy is one of the most frequently encountered disorders of the ocular surface. It is generally treated with antihistaminic active ingredients once diagnosed. Eyes present challenges for drug delivery systems due to their unique anatomy and natural protective mechanism. Reasons such as excretion by tears, drainage, low capacity of ocular liquid retention and low corneal permeability prohibit drug absorption.

Olopatadine hydrochloride with histamine H₁ receptor antagonistic action is an antiallergic agent which belong to second generation antihistamines. This generation causes less side effects in patients. Therefore olopatadine hydrochloride was selected as the active ingredient in this study.

Ophthalmic formulations are mostly formulated as eye drops for topical application. However, conventional ophthalmic solution being eliminated rapidly after administration cannot provide and maintain active drug concentration in precorneal area.

In this study, polymeric nanoparticles, microemulsion and *in situ* gelling systems which are promising for sustaining drug release were prepared. Behavior of formulations at different thermal conditions were investigated within the concept of stability study. Ocular residence time of formulations were compared using sheep. Ocular systems with longer residence period compared to a commercial preparation were successfully prepared and the desired ophthalmic properties were determined to be obtained.

Keywords: Olopatadin hydrochloride, Ocular, Polymeric nanoparticle, Microemulsion, *In situ* gelling system

TEŞEKKÜR

Çalışma boyunca bana her türlü olanağı sağlayan, bilgi, yardım ve desteklerini esirgemeyen danışman hocam Prof.Dr. Yasemin YAZAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yardımcı danışmanım olarak çalışmaya destek veren hocam Yard.Doç.Dr. Murat Sami BERKMAN'a emeği için teşekkür ederim.

Bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım kıymetli hocam Prof.Dr. Müzeyyen DEMİREL'e, desteklerini ve yardımlarını hem tez çalışmamda hem diğer faaliyetlerde hiçbir zaman esirgemeyen, en önemlisi ablalıklarını daima hissettiğim canım hocalarım Yard.Doç.Dr. Gülay BÜYÜKKÖROĞLU'na, Yard.Doç.Dr. Ebru BAŞARAN'a ve Yard.Doç.Dr. Evrim YENİLMEZ'e teşekkürlerimi sunarım.

İn vivo çalışmalarda ve her türlü konuda bilgi ve yardımlarını benden esirgemeyen değerli hocam Doç.Dr. Rana ARSLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Sitotoksiste çalışmasında bilgi, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen çok sevgili hocam Araş.Gör.Dr. Behiye ŞENEL'e teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında yakın ilgi ve desteklerini gördüğüm bölüm arkadaşlarım Araş.Gör.Dr. Gülsel YURTDaş KIRIMLIOĞLU'na ve Ecz. Kemal Can DEMİRKİLİNÇ'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma ve sosyal hayatımda hem arkadaşlığını hem kardeşliğini esirgemeyen Araş.Gör. Ahmet Alper ÖZTÜRK'e teşekkür ederim.

Çukurova Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı hocam Prof.Dr. Nuran ÖĞÜLENER başta olmak üzere tüm hoca ve arkadaşlarıma manevi destekleri için teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte varlığı ile her zaman bana destek ve yardımcı olan Berat KARDAŞ'a yanımda olduğu için teşekkürlerimi sunarım.


Beni manevi kızları olarak her zaman hayatlarına kabul ettiklerini bildiğim, benim için çok kıymetli Uzm. Sefa AVCIER ve Cihat AVCIER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Uzaktan olsalar da hiçbir zaman beni yalnız hissettirmeyen, her zaman destekleyen, yüreklendiren, her koşulda yanımda olan ve bana maddi-manevi her türlü olanağı sağlayan çok kıymetli babam, annem, ablam ve kardeşimin haklarını ödeyemem, sonsuz teşekkürler.

03/10/2016

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalardan bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmamın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.


Umay Merve GÜVEN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
GÖRSELLER DİZİNİ	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xx
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	2
2.1. Gözün Anatomisi	2
2.2. Göze Uygulanan Sistemler	5
2.3. Mikroemülsiyon	9
2.3.1. Yüzey etkin madde	14
2.3.2. Yardımcı yüzey etkin madde	15
2.3.3. Yağlı faz	16

2.3.4. Mikroemülsiyonun Hazırlanması	16
2.4. Jel Sistemi	17
2.4.1. Sıcaklık değişimine bağlı <i>in situ</i> jel sistemi	18
2.4.2. pH değişimine bağlı <i>in situ</i> jel sistemi	19
2.4.3. İyon değişimine bağlı <i>in situ</i> jel sistemi	19
2.5. Nanopartiküler Sistem	20
2.5.1. Nanopartikül hazırlanması	22
2.6. Oküler Alerji	26
2.7. Olopatadin Hidroklorür	30
3. GEREÇLER	33
3.1. Kullanılan Maddeler	33
3.2. Kullanılan Cihazlar	34
4. YÖNTEMLER	36
4.1. Analitik Yöntem Geliştirme ve Validasyon Çalışmaları	36
4.1.1. Analitik yöntem geliştirme	36
4.1.2. Validasyon	36
4.2. Formülasyonlarda Kullanılan Maddelerle Yapılan Çalışmalar	39
4.2.1. İnfrared (FT-IR) analizi	39
4.2.2. Nükleer manyetik rezonans (NMR) analizi	39
4.2.3. Termal analiz	39

4.2.4. X-Işını kırınım analizi	39
4.2.5. Morfolojik inceleme	40
4.3. Mikroemülsiyon ile Yapılan Çalışmalar	40
4.3.1. Bileşenlerin seçimi	40
4.3.2. Önformülasyon çalışmaları	40
4.3.3. Üçgen faz diyagramı hazırlanması	46
4.3.4. Formülasyonun seçimi	48
4.3.5. Etkin madde içeren formülasyonun hazırlanması	48
4.3.6. Mikroemülsiyon formülasyonların fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi	49
4.3.7. Mikroemülsiyon formülasyonlarında yapılan kararlılık çalışmaları	50
4.4. Nanopartikül Formülasyonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar	52
4.4.1. Önformülasyon çalışmaları	52
4.4.2. Formülasyonların hazırlanması	52
4.4.3. Nanopartikül formülasyonlarının fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve kararlılık çalışmaları	52
4.5. <i>İn situ</i> Jel Formülasyonları ile Yapılan Çalışmalar	54
4.5.1. Bileşenlerin seçimi	54
4.5.2. Önformülasyon çalışması	54
4.5.3. Formülasyonların seçimi ve <i>in vitro</i> jelasyon çalışması	55
4.5.4. Etkin madde içeren formülasyonların hazırlanması	56

4.5.5. <i>İn situ</i> jel formülasyonların fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi	56
4.5.6. <i>İn situ</i> jel formülasyonlarında yapılan kararlılık çalışmaları	58
4.6. Sitotoksite Çalışması	58
4.7. <i>İn vivo</i> Çalışma	59
5. BULGULAR	61
5.1. Analitik Yöntem Geliştirme ve Validasyon Çalışmaları	61
5.1.1. Analitik yöntem geliştirme	61
5.1.2. Validasyon	61
5.2. Formülasyonda Kullanılan Maddelerle Yapılan Çalışmalar	69
5.2.1. İnfrared (FT-IR) analizi	69
5.2.2. Nükleer manyetik rezonans (NMR) analizi	71
5.2.3. Termal analiz	72
5.2.4. X-Işını kırınım analizi	73
5.2.5. Morfolojik inceleme	74
5.3. Mikroemülsiyon Formülasyonları ile Yapılan Çalışmalar	74
5.3.1. Üçgen faz diyagramları	74
5.3.2. Mikroemülsiyon formülasyonların fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi	78
5.3.3. Mikroemülsiyon formülasyonlarında yapılan kararlılık çalışmaları	79
5.4. Nanopartikül Formülasyonları ile Yapılan Çalışmalar	88

5.4.1. Nanopartikül formülasyonlarının fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve kararlılık çalışmaları	88
5.5. <i>İn situ</i> Jel Formülasyonları ile Yapılan Çalışmalar	95
5.5.1. Formülasyonların seçimi	95
5.5.2. <i>İn situ</i> jel formülasyonların fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi	96
5.5.3. <i>İn situ</i> jel formülasyonlarında yapılan kararlılık çalışmaları	97
5.6. <i>İn vitro</i> Salım Çalışması Bulguları	115
5.7. Salım Çalışmasına Ait Modelleme	118
5.8. Sitotoksite Çalışması	120
5.9. <i>İn vivo</i> Çalışma	123
6. TARTIŞMA	127
7. SONUÇ VE ÖNERİLER	148
KAYNAKÇA	150

EKLER

EK-1 Etik Kurul Kararı

Ek-2 Bildiriler

ÖZGEÇMİŞ

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Göze Uygulanan İlaç Şekilleri	7
Çizelge 2.2. Oküler Uygulama Yolları ve İlaç Gruplarına Örnek	9
Çizelge 2.3. Mikroemülsiyon ve Emülsiyon Sistem Arasındaki Temel Farklar	13
Çizelge 2.4. Oftalmolojide Kullanılabilecek Yüzeysel Etkin Maddeler	14
Çizelge 2.5. Oftalmik Mikroemülsiyonlarda Kullanılabilecek Yardımcı Yüzeysel Etkin Madde Sınıfları ve Örnekler	15
Çizelge 2.6. Oküler Mikroemülsiyonlarda En Çok Kullanılan Yağ Grupları ve Örnekler	16
Çizelge 2.7. Oftalmik İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Kullanılan Polimerler	19
Çizelge 2.8. Göz Alerjisi Tedavisinde Kullanılan Bileşenler ve Etkinlikleri	29
Çizelge 2.9. Olopatadin Hidroklorür İçeren Ticari Preparatlar	32
Çizelge 4.1. Mikroemülsiyon Önformülasyonlarının Bileşenleri	41
Çizelge 4.2. Mikroemülsiyon Önformülasyonlarının Bileşenleri	41
Çizelge 4.3. Mikroemülsiyon Önformülasyonlarının Bileşenleri	42
Çizelge 4.4. Mikroemülsiyon Önformülasyonlarının Bileşenleri	43
Çizelge 4.5. 7:1 Formülasyon Oranına Ait % Bileşenler	47
Çizelge 4.6. 8:1 Formülasyon Oranına Ait % Bileşenler	47
Çizelge 4.7. 9:1 Formülasyon Oranına Ait % Bileşenler	47
Çizelge 4.8. 10:1 Formülasyon Oranına Ait % Bileşenler	47
Çizelge 4.9. 11:1 Formülasyon Oranına Ait % Bileşenler	48

Çizelge 4.10. Mikroemülsiyon Formülasyonunun Bileşenleri	48
Çizelge 4.11. Polimerik Nanopartikül Formülasyon Bileşenleri	52
Çizelge 4.12. <i>İn Situ</i> Jel Önformülasyon Bileşenleri	55
Çizelge 4.13. <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonlarının Jelleşme Sıcaklığı	56
Çizelge 4.14. <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonunun Jelleşme Kapasitesi Kodları	56
Çizelge 5.1. UPLC Çalışma Koşulları	61
Çizelge 5.2. Doğrusallık Çalışması İçin Hazırlanan Kalibrasyon Serileri Bulguları	62
Çizelge 5.3. Doğrusallık Çalışması Kalibrasyon Serileri ve Ortalama Bulguları	63
Çizelge 5.4. Kalibrasyon Serilerinin Katsayı ve SH Bulguları	63
Çizelge 5.5. Doğruluk Çalışması İçin Hazırlanan Seriler ve % Geri Kazanım Bulguları	64
Çizelge 5.6. Kesinlik Çalışması İçin Hazırlanan Seriler ve % Geri Kazanım Bulguları	65
Çizelge 5.7. Çalışma Aralığının Belirlenmesi İçin Hazırlanan Serilere Ait Bulgular	66
Çizelge 5.8. Duyarlılık Çalışması Bulguları	68
Çizelge 5.9. 7:1 Formülasyon Oranına ait Hesaplanan % Bileşenler	75
Çizelge 5.10. 8:1 Formülasyon Oranına ait Hesaplanan % Bileşenler	75
Çizelge 5.11. 9:1 Formülasyon Oranına ait Hesaplanan % Bileşenler	76
Çizelge 5.12. 10:1 Formülasyon Oranına ait Hesaplanan % Bileşenler	77
Çizelge 5.13. 11:1 Formülasyon Oranına ait Hesaplanan % Bileşenler	77

Çizelge 5.14. Mikroemülsiyonların Damlacık Boyutu ve Dağılımı	80
Çizelge 5.15. Mikroemülsiyonların Zeta Potansiyel Değerleri	80
Çizelge 5.16. Mikroemülsiyon Formülasyonlarında Etkin Maddenin Geri Kazanımı, %	88
Çizelge 5.17. Nanopartikül Formülasyonlarının Parçacık Boyutu ve Dağılımı	88
Çizelge 5.18. Nanopartikül Formülasyonlarının Zeta Potansiyel Değerleri	89
Çizelge 5.19. Nanopartikül Formülasyonlarının pH Değerleri	89
Çizelge 5.20. Nanopartikül Formülasyonlarının İçerdiği Etkin Madde Miktarı ve Yükleme Kapasitesi	95
Çizelge 5.21. <i>İn situ</i> Jel Formülasyonlarının Kod ve Bileşenleri	96
Çizelge 5.22. <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonlarının Jelleşme Kapasitesi	96
Çizelge 5.23. <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonlarının Şişme Oranı Bulguları	96
Çizelge 5.24. <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonlarının pH Değeri	98
Çizelge 5.25. <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonlarındaki Etkin Maddenin Geri Kazanımı	115
Çizelge 5.26. Yapay Gözyaşı Ortamı Bileşenleri	115
Çizelge 5.27. Formülasyonlardan Zamana Karşı Kümülatif Çözünen Etkin Madde Miktarı	116
Çizelge 5.28. Salım Çalışmasına Ait Model Bulguları	119
Çizelge 5.29. Formülasyonların IC ₅₀ Değerleri	120
Çizelge 5.30. Formülasyonların <i>İn Vivo</i> Uygulamasına ait Bulgular	125

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Göz ve Gözün Anatomik Yapısı	2
Şekil 2.2. Korneanın Anatomik Yapısı	3
Şekil 2.3. Oftalmik Formülasyonun Biyoyararlanım Düşüklüğüne Etkili Faktörler	5
Şekil 2.4. Kontrollü Salım Sağlayan İlaç Taşıyıcı Sistemlere Örnekler	7
Şekil 2.5. Mikroemülsiyon Tiplerinin Şematik Gösterimi	11
Şekil 2.6. Serbest Enerji Oluşumu	12
Şekil 2.7. <i>İn Situ</i> Jel Sisteminin Oküler Yüzeğe Uygulandıktan Sonraki Viskozite Değişimi	18
Şekil 2.8. Gözün Subkonjonktival Alanı ve Oküler Yüzeğe ile Nanopartikül Etkileşimi	22
Şekil 2.9. Polimerik Nanopartikül Hazırlama Yöntemlerinin Şematik Gösterimi	23
Şekil 2.10. Çözücü Buharlaştırma Yöntemi ile Nanopartikül Üretimi	23
Şekil 2.11. Diyaliz Yöntemi ile Nanopartikül Hazırlanması	25
Şekil 2.12. Olopatadin Hidroklorür	30
Şekil 5.1. Hazırlanan Kalibrasyon Serilerine Ait Kromatogramlar	62
Şekil 5.2. Kalibrasyon Serilerinin Doğrusallık Eşitliği ve Denklemi	63
Şekil 5.3. Doğruluk Çalışmasına Ait Serilerin Kromatogramları	64
Şekil 5.4. Kesinlik Çalışmasına Ait Serilerin Kromatogramları	64
Şekil 5.5. Çalışma Aralığı Belirlenmesi için Hazırlanan Konsantrasyonlara ait Doğrusallık Profili	67

Şekil 5.6.	Seçicilik Çalışmasına Ait Analizlerin Kromatogramları	67
Şekil 5.7.	Formülasyonlarda Kullanılan Maddelere ait FT-IR Spektrumları .	69
Şekil 5.8.	Etkin Madde ve Formülasyonlarda Kullanılan Maddelerin NMR Spektrumları	71
Şekil 5.9.	Etkin Madde ve Formülasyonlarda Kullanılan Maddelerin Termogramları	72
Şekil 5.10.	Etkin Madde ve Eudragit® RS'ye ait X-Işını Kırınım Profilleri ...	73
Şekil 5.11.	Olopatadin Hidroklorür'e ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü	74
Şekil 5.12.	Eudragit® RS'ye ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü ...	74
Şekil 5.13.	7:1 Formülasyon Oranına ait Üçgen Faz Diyagramı	75
Şekil 5.14.	8:1 Formülasyon Oranına ait Üçgen Faz Diyagramı	76
Şekil 5.15.	9:1 Formülasyon Oranına ait Üçgen Faz Diyagramı	76
Şekil 5.16.	10:1 Formülasyon Oranına ait Üçgen Faz Diyagramı	77
Şekil 5.17.	11:1 Formülasyon Oranına Ait Üçgen Faz Diyagramı	78
Şekil 5.18.	Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Üçgen Faz Diyagramı Alanları	78
Şekil 5.19.	Mikroemülsiyon Formülasyonuna ait 0. Zaman Reogramı	81
Şekil 5.20.	25°C'de Saklanan Mikroemülsiyona ait Reogramlar	81
Şekil 5.21.	4°C'de Saklanan Mikroemülsiyona ait Reogramlar	83
Şekil 5.22.	40°C'de Saklanan Mikroemülsiyona ait Reogramlar	84
Şekil 5.23.	Mikroemülsiyonlara ait FT-IR Spektrumları	86

Şekil 5.24. Mikroemülsiyon Formülasyonlarında Etkin Maddenin Geri Kazanımı, %	88
Şekil 5.25. Nanopartikül Formülasyonlarına ait NMR Spektrumları	90
Şekil 5.26. Nanopartikül Formülasyonlarına ait FT-IR Spektrumları	91
Şekil 5.27. Nanopartikül Formülasyonlarına ait X-Işını Kırınım Profilleri	93
Şekil 5.28. Nanopartikül Formülasyonlarının Termogramı	93
Şekil 5.29. Nanopartikül Formülasyonlarına ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüleri	94
Şekil 5.30. <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonlarının Zamana Karşı Şişme Oranları	97
Şekil 5.31. P16 <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonuna ait Reogram, 25°C	99
Şekil 5.32. P16 <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonuna ait Reogram, 32°C	101
Şekil 5.33. F16 <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonuna ait Reogram, 25°C	103
Şekil 5.34. F16 <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonuna ait Reogram, 32°C	105
Şekil 5.35. FH1405 <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonuna ait Reogram, 25°C	107
Şekil 5.36. FH1405 <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonuna ait Reogram, 32°C	109
Şekil 5.37. <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonlarının Sıcaklığa Bağlı Viskozite Değişimi	111
Şekil 5.38. F16 <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonuna ait FT-IR Spektrumları	112
Şekil 5.39. P16 <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonuna ait FT-IR Spektrumları	113
Şekil 5.40. FH1405 <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonuna ait FT-IR Spektrumları	114
Şekil 5.41. <i>İn Situ</i> Jel Formülasyonlarındaki Etkin Maddenin Geri Kazanımı	115
Şekil 5.42. Formülasyonlara ait <i>İn Vitro</i> Salım Profilleri	117

Şekil 5.43. 12 Saat Süre Sonunda Formülasyonların Konsantrasyona Bağlı Olarak Gösterdikleri % Hücre Canlılığı	121
Şekil 5.44. 24 Saat Süre Sonunda Formülasyonların Konsantrasyona Bağlı Olarak Gösterdikleri % Hücre Canlılığı	122
Şekil 5.45. Olopatadin Hidroklorür'ün Salım Profilleri	126



GÖRSELLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Görsel 5.1. <i>In Situ</i> Jel Formülasyonlarının Sıcaklığa Bağlı Faz Değişimi Görüntüsü	111
Görsel 5.2. Formülasyon Uygulamasında Gözün Görüntüsü	123
Görsel 5.3. Mikropipet ile Formülasyon Uygulaması	123
Görsel 5.4. <i>Schirmer</i> Gözyaşı Test Membranı ile Örnek Alımı	124



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DK	: Dakika
HPMC	: Hidroksi Propil Metil Selüloz
IPM	: İzopropil Miristat
IPP	: İzopropil Palmitat
OLO	: Olopatadin Hidroklorür
ORT	: Ortalama
SA	: Saat
SH	: Standart Hata
UPLC	: Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi
YEM	: Yüzey Etkin Madde
Y.YEM	: Yardımcı Yüzey Etkin Madde

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Alerjik konjonktivit özellikle çocukluk çağlarında olmak üzere en sık rastlanılan göz hastalığı olarak her yaşta bireyin hayatının bir döneminde karşılaştığı hastalığı tanımlayan genel bir terimdir. En sık görülen tipi mevsim geçişlerinde ve polenlere bağlı olarak gerçekleşen mevsimsel alerjik konjoktivittir.

Havada asılı bulunan alerjenlerin konjonktiva ile teması sonucu mast hücreleri uyarılarak hızla histamin salımı başlar ve H₁ spesifik reseptörleri ile etkileşime girer. H₁ reseptörlerinin uyarılması gözde kaşınmaya, ağrıya, düz kaslarda kasılma hissine, konjonktival damarlarda vazodilatasyona ve ödeme neden olur. Histamin reseptör antagonistleri (antihistaminikler) alerjik hastalıkların tedavisinde ilk basamak olarak yer alır.

Bu çalışmada etkin madde olarak ikinci nesil antihistaminik grubundan OLO kullanılmıştır. Bu etkin maddenin seçilme sebebi klasik antihistaminik maddelere göre yan etkisinin az olması ve aynı zamanda *Kan Beyin Engeli*'ni geçmediği için sedasyon etkisinin çok düşük olmasıdır.

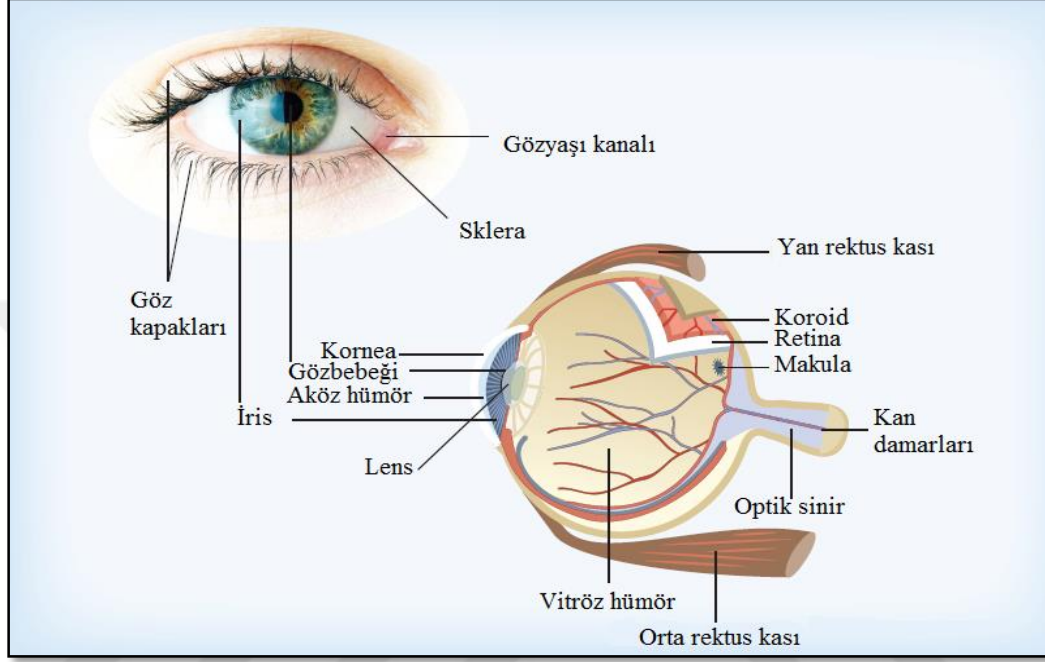
Yıllarca göze uygulanan sistemler için en büyük problem gözde kalış süresinin kısalığı olmuştur. Göz alerjisi tedavisini açısından gözde yeterli miktarda tutunamayan antihistaminik maddenin alerji semptomlarını giderebilmesi neredeyse olanaksızdır. Bu bağlamda, OLO'nun göz yüzeyinde kalış süresini uzatan ve uygulama sıklığını günde bir keze düşüren kontrollü ilaç taşıyıcı sistemler hedeflenmiştir.

Bu çalışma kapsamında göze uygulanabilen kontrollü ve uzun süreli salım sağlayan sistemlerden mikroemülsiyon, polimerik nanopartikül ve *in situ* jelleşen sistemler hazırlanmıştır. Bu tez çalışmasında seçilen formülasyonların geliştirilmesi, *in vitro* karakterizasyonu ve kararlılık çalışmasının yapılması ve *in vitro* - *in vivo* olarak karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Gözün Anatomisi

Gözün anatomik yapısı Şekil 2.1.'de sunulmaktadır.



Şekil 2.1. Göz ve Gözün Anatomik Yapısı

Kaynak: Morrison ve Khutoryanskiy, 2014, s. 1298

Göz küresi (glob, *bulbus oculi*) orbita boşluğu içinde bağ dokusunca zengin yağ yastığına yerleşik ve görme fonksiyonu ile görevli bir çift organdır. Göz kapaklarının açılıp kapanması ve gözün hareketleri göz küresinde bulunan kaslar tarafından kontrol edilmektedir. *Polus anterior* olarak adlandırılan göz küresinin öndeki en çıkıntılı noktası korneanın merkezini oluşturmaktadır (Ludwig, 2005, s. 1597; Malhotra vd., 2011, s. 2; Nitin, 2013, s.49).

Sklera, gözün yapısal bütünlüğünü sağlayan, beyaz, süngerimsi, fibroblastik dokudur. Yapısında % 70 oranında su içerir ve ortalama 17 cm² yüzey alanına sahiptir. Kalınlığı korneal bölgede 0.4 mm'ye kadar düşerken optik sinire yakın bölgede 1 mm'ye kadar artmaktadır (Chang, 2010, s. 168; Attar vd., 2013, s. 589).

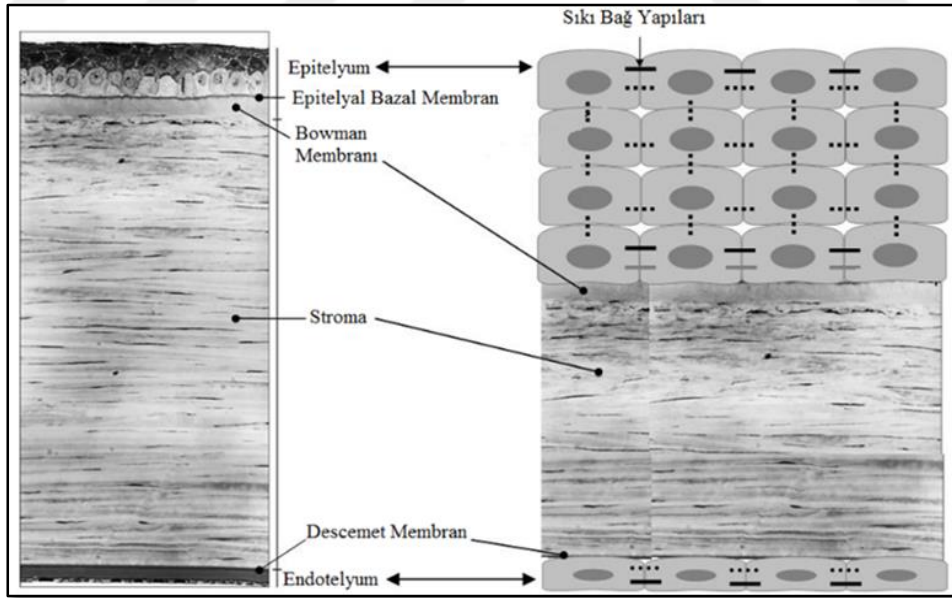
Konjonktiva, skleranın üzerini örterek göz kapaklarının iç kısmından bir hat boyunca uzanan ve ışığı kürenin üzerine yansıtan mukozal yapıda membrandır. Bu

membran kornea üzerinde epitel dokusu, stroma üzerinde bağ dokusu ve vasküler ağdan oluşmaktadır. Konjonktiva anatomik ve klinik olarak üç farklı kısımdan oluşmaktadır: tarsal konjonktiva, forniks konjonktiva ve bulbar konjonktiva (Epstein ve Quinn, 2008, s. 437).

İris, gözün dıştan renkli olarak görünen kısmını oluşturmaktadır. Göze giren ışık miktarını ayarlayabilecek özelliğe sahiptir. İrisin merkezinde bulunan ve retinaya gelen ışığın miktarına göre küçülüp büyüeyebilen açıklığa *pupilla* adı verilmektedir. Bu yapının arkasında mercekle yer almaktadır (Malkoç, 2006, s. 127; Nitin, 2013, s. 50).

Retina, göz küresinin en içteki nöral, duyuşal ve ışığa en duyarlı tabakasıdır. Bu yapı içte saydam duyuşal tabaka (nörosensiyonel), dışta ise tek katmanlı pigment tabakasından oluşmaktadır. Duyuşal retina tabakasının gelişmesinden optik disk bölgesi ve gangliyon hücreleri sorumludur (Whiteley ve Peiffer, 2002, s. 557-558; Malhotra, vd., 2011, s. 3).

Gözün ışık ile temasta bulunan ilk yapısı korneadır; düşük yüzey alanına sahip olmasına karşın (yaklaşık 1 cm²) çok sayıda tabakadan oluşur (Şekil 2.2'de sunulmaktadır).



Şekil 2.2. Korneanın Anatomik Yapısı

Kaynak: Kuno ve Fujii, 2011, s. 197

Konjonktiva epitel tabakası ile devam eden en dıştaki epitel tabaka, periferik kenarları hariç, 3-6 hücre tabakalı, çok katlı, keratinsiz epitel yapıdadır (Goss-Sampson, Vivian ve Kelly, 1995, s. 128). Epitel sürekli olarak çoğalır ve aşınma/yırtılmaya karşı rejenerer olur. *Bowman* membranı 8-15 µm kalınlığındadır ve kolajen liflerden oluşup elastik liflerden yoksundur. Saydam bir tabakadır ve rejenerasyon yeteneği yoktur. Bu tabaka travma ve bakteriyel invazyona karşı koruyucu görev görür. *Substantia propria* korneanın en kalın tabakasıdır. Kornea kalınlığının % 90'ını oluşturur; travma ve deformasyonlara karşı çok dirençlidir. Kornea endoteli tarafından oluşturulan *descemet* membranı 5-10 µm kalınlığındadır. Kornea endoteli en iç tabakayı oluşturmaktadır. Bu tabakanın hücreleri arasında aköz hümörün kornea stromasına geçişine izin veren bağlantı kompleksleri bulunmaktadır. Bu sıkı epitel tabakaların tümü ilaç penetrasyonu için doğal engel oluşturmaktadır (Goss-Sampson, Vivian ve Kelly, 1995, s. 128; Alkoç, 2006, s. 125; Nanjawade, Manvi ve Manjappa, 2007, s. 120).

Korneal epitelyum lipofilik özelliğe sahiptir ve hücrelerarası bağ oldukça kuvvetli yapıdadır. Bu bağlar ilacın geçişinde paraselüler hız sınırlayıcı basamak oluşturmaktadır. Lipofilik ilaçların korneadan geçişi hidrofilik ilaçlara göre daha yüksektir. Buna karşın stroma yüksek hidrofilik yapısı ile lipofilik ilaçların geçişi için ciddi engeldir. Korneal epitel tabakanın engeline karşın transkorneal penetrasyon, ilaçların lakrimal sıvıdan aköz hümöre geçişi için ana yoldur (Willoughby, vd., 2010, s. 4; Kuno ve Fujii, 2011, s. 197; Tangri ve Khurana, 2011, s. 1542).

Gözü dış etmenlerden koruma görevine sahip gözyaşının osmolaritesi normal tuzlu suya oldukça yakındır ve yaklaşık 290-310 mOsmkg⁻¹'dir. 100 ile 640 mOsmkg⁻¹ aralığında osmolariteye sahip çözelti göze uygulandığında göz tolere edebilirken, uygulanan ilacın osmolaritesi gözünkünden ne kadar farklılaşırsa gözde tahriş ve rahatsızlık hissi o derece fazla olmaktadır. Hipotonik çözelti uygulandığında göz damlasından kornea yolu ile ilaç geçirgenliğinin çok daha artacağı belirtilmiştir (Rawas-Qalaji ve Williams, 2012, s. 347).

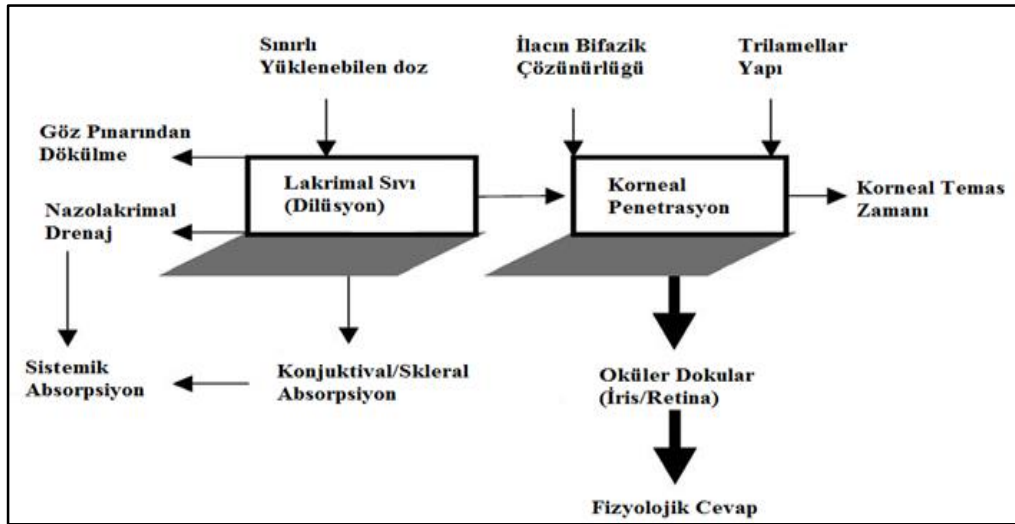
Gözyaşı ortalama 7.4 değerinde pH'ya sahip olduğundan uygulanacak ilacın pH'sının bu değere yakın olması istenir. Örneğin uygulanan göz preparatının asidik olması durumunda denatüre olabilecek proteinlerin çözünmeyen kompleksleri ortaya çıkabilir. Buna karşın göz preparatı yüksek alkali değere sahip olursa gözün hücre zarı bütünlüğü zarar görebilir. Bu nedenle ideal oküler ilacın pH değeri 7 ile 7.7 aralığında olmalıdır (Rawas-Qalaji, Williams, 2012, s. 347). Ancak gözyaşının tamponlama yeteneğinden

dolayı farklı pH değerine sahip preparatlar da tolere edilebilmektedir, örneğin pH 4.0 ve 8.0 aralığındaki değerler uygulama sonrasında gözde sıkıntı oluşturmamaktadır (Fialho ve Silva-Cunda, 2004, s. 629; Ammar vd., 2009, s. 813).

2.2. Göze Uygulanan Sistemler

Göze uygulanan ilaçların temel olarak iki kullanım amacı vardır: gözün yüzeyinde bulunan hastalıkların (konjonktivit, keratit, vb) tedavisi veya gözün iç tabakalarında oluşan hastalıkların (glokom, üveit, vb) tedavisi. Bu ilaçların piyasada en çok bulunduğu dozaj şekli göz damlasıdır. Göz damlası şu anda piyasada bulunan formülasyonların yaklaşık % 90'ını oluşturmaktadır. Damla, çözünebilen etkin maddenin yüksek konsantrasyondaki çözeltisi olarak hazırlanır ve uygulama sık sık tekrarlanır. Çözeltinin üretim maliyeti düşük ve formülasyon geliştirme aşaması oldukça basittir. Bunun yanı sıra gözde bulanıklık oluşturma potansiyeli düşük olduğundan hasta tarafından kolaylıkla kabul edilebilir (Bourlais vd., 1998, s. 34; Bain vd., 2009, s. 1241; Vadlapudi vd., 2015, s. 221).

Topik uygulama göz yüzeyi bozukluklarının tedavisi için birçok üstünlük sunmasına karşın, gözü korumakla görevli çeşitli biyolojik faktörler nedeniyle ciddi biyoyararlanım sıkıntısına sebep olabilir. Bunlar Şekil 2.3'de sunulmaktadır (Vadlapudi vd., 2015, s. 221; Kaur vd., 2004, s. 2).



Şekil 2.3. Oftalmik Formülasyonun Biyoyararlanım Düşüklüğüne Etkili Faktörler

Kaynak: Kaur vd., 2004, s. 2

Birçok ticari firma tarafından göz damlasının uygulama hacmi sınırı 50 µL olarak verildiği halde insan gözüne taşma ve dökülme olmaksızın yüklenebilen miktarının yaklaşık 30 µL olduğu tahmin edilmektedir. Bu nedenle aşırı hacim uygulamasından dolayı etkin madde israf olmaktadır (Kaur vd., 2004, s. 2; Rawas-Qalaji ve Williams, 2012, s. 347). Uygulama sonrası prekorneal faktörler ve anatomik engel topik formülasyonun biyoyararlanımına olumsuz etkiye bulunmaktadır. Prekorneal faktörler çözelti drenajı, göz kırpma ile dökülme, gözyaşı tabakası oluşumu ve gözyaşı salgılanmasının artmasını içermektedir. Gözyaşı, göz yörüngesinin köşesinde bulunan lakrimal bezlerden salgılanmaktadır. İçeriğinde antimikrobiyal enzimler, lizozim, tuzlar ve mukus karışımı bulunmaktadır. Sağlıklı göz yüzeyi varlığını gösteren gözyaşı tabakası oluşumu, yüksek direnç sağlayan ilk basamaktır. Bu tabaka göz yüzeyi üzerindeki patojenleri temizler ve hidrofilik karakterde yüzey oluşturarak koruyucu rol oynar. Bütün bu prekorneal faktörler göz önüne alınarak uygulanan dozun emici membran ile temas süresinin düşük olduğu ve göz içi dokulara % 5'ten daha azının geçtiği belirlenmiştir (Gaudana vd., 2010, s. 348-349; Perrie vd., 2012, s. 394; Rawas-Qalaji ve Williams, 2012, s. 347; Morrison ve Khutoryanskiy, 2014, s. 1298).

İdeal bir oftalmik ilaç taşıyıcı sistem aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır:

- korneal penetrasyonu iyi olmalı,
- kornea dokusu ile temas süresi uzun olmalı,
- kolay uygulanmalı,
- uygulama sıklığı az olmalı,
- hasta uyuncu yüksek olmalı,
- toksisite ve yan etkileri düşük olmalı,
- prekorneal ilaç kaybı az olmalı,
- irite etmemeli (lakrimal salgıyı ve göz kapağı refleksini arttırmamalı),
- bulanık görmeye neden olmamalı,
- uygun akış özellikleri ve viskoziteye sahip olmalıdır (Patel vd., 2010, s.115).

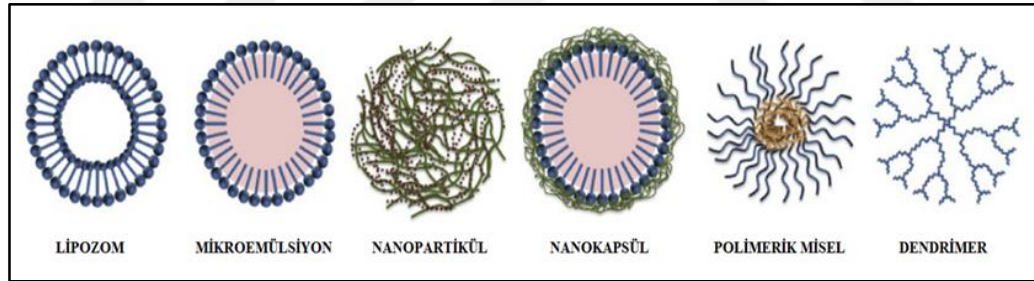
Göze uygulanan ilaç taşıyıcı sistemler konvensiyonel ve konvensiyonel-olmayan (yeni) ilaç taşıyıcı sistem olarak sınırlandırılmaktadır Bu sınıflandırma Çizelge 2.1'de sunulmaktadır. Oftalmik preparatlardan en yaygın kullanılan ve piyasanın yaklaşık % 70'ini kapsayan formülasyon göz damlalarıdır; ancak, bu preparat nazolakrimal drenaj ve gözyaşı ile gözden çok hızlı uzaklaşmaktadır (Urtti, 2006, s. 1129; Tangri ve Khurana,

2011, s. 1541). Bu ve bunun gibi problemlerden dolayı son yıllarda *in situ* jel, nanopartikül, mikroemülsiyon, lipozom, nanosüspansiyon, oküler insert gibi sürekli ve kontrollü salım sağlayan yeni ilaç taşıyıcı sistemler gündeme gelmiştir (Şekil 2.4'te sunulmaktadır.) (Tangri ve Khurana, 2011, s. 1541).

Çizelge 2.1. Göze Uygulanan İlaç Şekilleri

Göz Damlaları	Yarı Katı Dozaj Şekilleri	Kolloidal Sistemler	Diğer Sistemler
Klasik Çözeltiler	Merhemler	Lipozom	Siklodekstrin
Viskoz Çözeltiler	Hidrojel	Niozom	İnsert
Süspansiyonlar	<i>İn situ</i> jeller	Kubazom	Kontakt lens
Kullanılacağı Zaman Sulandırılan Tozlar		Dendrimer	İyontoforez
		Mikroemülsiyon	Sonoforez
		Nanopartikül	İmplant
		Mikro ve Nanoküre	

Kaynak: Gürsoy, 2002, s. 199; Patel vd., 2013, s. 49.



Şekil 2.4. Kontrollü Salım Sağlayan İlaç Taşıyıcı Sistemlere Örnekler

Kaynak: Reimondez-Troitino vd., 2015, s. 281

İlaç etkin maddesinin oftalmik yoldan uygulanmasının ardından farmakokinetiği aşağıdaki şekilde gerçekleşir:

- Lakrimal sıvıdan arteriyel boşluğa transkorneal penetrasyon,
- Sklera ve konjonktiva içinden arteriyel alana ilaç penetrasyonu,
- Kan aköz engel aracılığı ile damardan ilaç dağılımı,
- Kan aköz engel aracılığı ile sistemik dolaşıma aköz hümörden ilaç eliminasyonu,
- Kan retina engeli aracılığıyla gözün arka bölümlerine kandan ilaç dağılımı,

- İntravitreal ilaç uygulaması,
- Kan retina engeli aracılığı ile gözün arkasından ilaç eliminasyonu (Patel vd., 2010, s.114; Tangri ve Khurana, 2011, s. 1542).

Oküler biyoyararlanım, mutlak veya ilacın topik uygulanmasının ardından preabsorpsiyon biyoyararlanımı, biyofazik yararlanım ve sistemik biyoyararlanım olmak üzere sınıflandırılmaktadır. İlacın mutlak biyoyararlanımı ilacın vücuda giriş ve oranı ile veya preabsorpsiyon alanından salımına bağlı olarak belirlenmektedir. Biyofazik yararlanım ve sistemik biyoyararlanım ise sistemik dolaşıma geçişine ve etki edeceği alana girişine bağlı olan terimlerdir. Topik uygulama sonrası biyoyararlanım oldukça düşük olup % 10'un altında olduğu kabul edilmektedir. Bu düşük biyoyararlanımın nedeni olarak fizyolojik koruyucu olan nazolakrimal drenaj, kornea epitelinde bulunan permeabilite ve metabolizasyon engeli ve ilaç molekülünün fizikokimyasal özelliğinin geçiş için yetersizliği sayılmaktadır (Reddy, 1996, s. 13; Kaur ve Kanwar, 2002, s. 476).

Göze uygulanan ilaçların düşük biyoyararlanımına neden olan olası fizyolojik durumlar aşağıda özetlenmiştir:

- proteinlerin gözyaşına bağlanması,
- çözelti şeklindeki ilaçların drenajı,
- lakrimasyon,
- metabolizasyon,
- korneal alanda sınırlı tutunma,
- buharlaşma, permeabilite sorunları (Ding, 1998, s. 328; Rathore, 2010, s. 30).

Formülasyonların biyoyararlanımını arttırmak için çeşitli yöntemler uygulanmaktadır. Bunlardan ilki, formülasyondaki etkin madde konsantrasyonunu düzenlemek için çözünürlüğü arttırıcı madde eklenmesidir. Sudaki çözünürlüğü düşük olan etkin maddenin göz dokuları ile etkileşimi kısa süreli olduğundan, çözünürlüğü iyileştirici madde formülasyona eklenmekte veya etkin maddenin suda çözünen tuz şekli kullanılmaktadır. İkinci olarak, formülasyonun oküler doku ile daha uzun süre temas edecek şekilde düzenlenmesidir. Bir diğer yöntem de formülasyona ilacın penetrasyonunu arttırıcı madde katılmasıdır. Penetrasyon arttırıcı olarak benzalkonyum klorür, EDTA, yüzey etkin madde, safra tuzu veya borik asit kullanılmaktadır. Bunların dışında viskoziteyi arttırmak için çeşitli doğal veya sentetik polimerler de formülasyona eklenmektedir (Kaur ve Kanwar, 2002, s. 477-479; Morrison ve Khutoryanskiy, 2014, s. 1299).

Oküler ilaç sistemlerinden nanotaşıyıcı, 1980’li yıllarda çalışılmaya başlanmıştır. Bununla birlikte son on yıl içinde özellikle Şekil 2.4.’te sunulan sistemlerin oküler anlamda potansiyelinin farkına varılmış ve bu sistemlerin geliştirilmesi sürdürülmüştür (Reimondez-Troitino vd., 2015, s. 281).

Oküler ilaç taşıyıcı sistemler farklı hastalıkların tedavisi için farklı yollarla uygulanmaktadır. Bu uygulama yolları Çizelge 2.2.’de sunulmaktadır.

Çizelge 2.2. Oküler Uygulama Yolları ve İlaç Gruplarına Örnek

Yöntem	Anatomik Bölge	İlaç Grubu
Topik uygulama	Oküler yüzey (konjonktival epitel, kornea ve gözyaşı tabakası üzerine)	Yapay gözyaşı Enfeksiyon ilacı Alerjik ilaç Antihipertansif Anestezik Midriyatik/Miyotik
Perioküler enjeksiyon <i>Sub-konjonktival</i> <i>Sub-tenon</i>	Sub-konjonktival boşluk	Enfeksiyon ilacı Midriyatik Kortikoid
Transeptal	Ön orbit	Anestezik Kortikoid
Orbita gerisine	Arka orbit	Anestezik Kortikoid
İntraoküler enjeksiyon <i>Intrakameral</i> <i>İntravitreal</i>	Arka boşluk ve vitröz	Enfeksiyon ilacı Antianjiyojenik Kortikoid

Kaynak: Diebold ve Calonge, 2010, s.598.

2.3. Mikroemülsiyon

Mikroemülsiyonlar hem kolloidal sisteme hem de konvensiyonel emülsiyon, süspansiyon ve miseller çözeltiye göre birçok üstünlüğe sahiptir. Mikroemülsiyon parenteral, peroral, topik, oküler ve transdemal uygulamalar için sürekli veya kontrollü ilaç salım sistemi olarak umut vaat etmektedir (Grampurohit, Ravikumar ve Mallya, 2011, s. 100).

Hoar ve Schulman'ın (1943, s. 102) yaptığı çalışmada, orta zincirli alkollerle klasik emülsiyon titre edilerek saydam çözelti elde edilmiş ve kaynaklara mikroemülsiyon terimi ilk kez kazandırılmıştır. Mikroemülsiyon, birbiri ile karışmayan iki fazın (su ve yağ) tek bir faz oluşturmak amacıyla uygun yüzey etkin madde veya karışımı ile karıştırıldığı termodinamik açıdan kararlı, izotropik sistemdir (Grampurohit, Ravikumar ve Mallya, 2011, s. 100; Peng vd., 2011, s. 111).

Mikroemülsiyon sistemi farmasötik anlamda ise yüzey etkin madde/karışımı ile kararlı hale getirilmiş, yağ-içinde-su veya su-içinde-yağ tipindeki nanodispersiyon olarak tanımlanmaktadır (Hegde, Verma ve Ghosh, 2013, s. 2).

Mikroemülsiyon sisteminin diğer dozaj şekillerine göre üstünlükleri aşağıda sıralanmıştır:

- emilimi ve biyoyararlanımı artırır,
- lipofilik etkin madde çözünürlüğüne katkıda bulunur,
- suda çözünmeyen etkin maddenin sulu dozaj şeklinde formülasyonunu sağlar,
- oral, topik gibi pek çok yol ile kullanılabilir,
- ufak damlacık boyutu sayesinde ilaç penetrasyonunu etkili ve hızlı hale getirir,
- tat maskelenmesine yardımcıdır,
- iç fazda bulunan etkin maddenin korunmasını sağlar; su-içinde-yağ emülsiyonda etkin maddeyi hidroliz ve oksidasyondan korur,
- sıvı dozaj şekli olduğu için hasta uyuncu fazladır,
- hazırlanması kolaydır,
- dozlama miktarı azalacağı için yan etkilerde azalma sağlar,
- termodinamik açıdan kararlıdır ve uzun raf ömrüne sahiptir (Yenilmez, 2007, s. 3; Jha vd., 2011, s. 6; Prajapati vd., 2013, s. 377).

Mikroemülsiyon sistemi bileşene ve miktarına bağlı olarak üç farklı tipte oluşabilmektedir. Fazlardan birinin, yağ veya su, miktar olarak diğerinden çok az olması durumunda yüzey etkin madde az olan fazı diğerinde damlacıklar halinde dağıtacak ve sistem izotropik olarak kararlı hale gelecektir. Suyun içinde yağ çekirdeği fazla miktarda olduğu zaman sistem su-içinde-yağ (y/s) mikroemülsiyonu şeklinde oluşurken, yağın içinde su çekirdeği fazla miktarda olduğunda yağ-içinde-su (s/y) mikroemülsiyonu oluşur. Yağ ve su miktarı birbirine yakın olduğunda ise damlacık yapısı görünmez ve iki faz birbiri içinde sürekli hareket eder; bu sistem bikontinyus olarak tanımlanır (Şekil 2.5'de sunulmaktadır.) (Peng vd., 2011, s. 111).



Şekil 2.5. Mikroemülsiyon Tiplerinin Şematik Gösterimi (sırasıyla, y/s, s/y, bikontinyus)

Kaynak: Peng vd., 2011, s.111

Mikroemülsiyon sistemi genel olarak birincil yüzey etkin madde ve orta-zincir uzunluğuna sahip alkol olan yardımcı yüzey etkin madde içeren sulu faz ve yağlı fazın karıştırılmasıyla önemli enerji girişi olmaksızın kendiliğinden oluşur. Karıştırma sırasında yüzey etkin madde, yağ ile su arayüzeyine adsorbe olarak dispers fazın ilk kavisini oluşturur. Yüzey etkin madde gerekli kavisin oluşması için yüzey gerilimini düşürmekte ve bu oluşum yardımcı yüzey etkin madde varlığı ile desteklenmektedir. Böylece su ile yağ arayüzeyinde emülsiyon yapıcılar ile oluşan tek tabakalı yapı iki boyutlu yapıya dönüşmektedir. Emülsiyon yapıcı karışımı yüzeylerarasında enerji yaratarak ortama salar. Bu sırada arayüzeyde oluşan eğriler dengeye gelinceye dek bükülmeye başlar. Bu noktada sistem termodinamik olarak kararlı karışık miseller (su-içinde-yağ) veya ters karışık miseller (yağ-içinde-su) oluşturur. Damlacıkların boyutu ve şekli kavislenme ile oluşan serbest enerjiyle yönetilir. Serbest enerjiyi ise yüzey etkin maddenin kavislenebilme yeteneği ve esneklik sabitesi belirler (Peng vd., 2011, s.112; Hegde, Verma ve Ghosh, 2013, s. 2).

Mikroemülsiyon sistemi arayüzey veya karışık film teorisi, çözünme teorisi ve termodinamik teori olmak üzere üç ana teoride incelenmektedir. Termodinamik teorisine göre yüzey etkin madde difüzyonuna bağlı olarak arayüzeyde yüzey gerilimi düşmekte ve sonuçta mikroemülsiyon kendiliğinden oluşmaktadır. Karışık film teorisine göre ise sulu ve yağlı faz yüzeylerarası bölümde farklı özellikler taşır. Çözünme teorisinde mikroemülsiyon miseller yapı ile açıklanmaktadır. Bütün bu teorilere karşın mikroemülsiyon oluşumundaki temel esas yüzey etkin maddenin yağ ile su arayüzeyinde serbest enerjiyi düşürmesi ve sistemin entropi değişimidir (Schulman, Stoeckenius ve Prince, 1959, s. 1677; Prince, 1967, s. 165; Jha, Dey ve Karki, 2011, s. 6; Hegde, Verma ve Ghosh, 2013, s. 3). Serbest enerji oluşumu ve etkili faktörler Şekil 2.6.'da gösterilmiştir.

$$G_f = \gamma a - TS$$

G_f = Serbest enerji oluşumu
 γ = yağ-su yüzeyle arasındaki yüzey gerilimi
 a = Mikroemülsiyonun ara yüzey alanındaki değişim
 T = Sıcaklık
 S = Sistemin entropi değişimi

Şekil 2.6. Serbest Enerji Oluşumu

Yüzey etkin madde ve yardımcı yüzey etkin maddenin varlığı mikroemülsiyon sisteminde var olan yüzey gerilimini oldukça düşürmektedir. Bu nedenle kendiliğinden oluşan mikroemülsiyon ortalama 5 ile 200 nm damlacık boyutuna sahip olur (Grampurohit, Ravikumar ve Mallya, 2011, s. 100; Hegde, Verma ve Ghosh, 2013, s. 2).

Formülasyon hazırlanırken kullanılan maddelerin düşük alerji potansiyeline sahip, fizyolojik şartlara uygun ve yüksek biyoyumlu özelliğe sahip olması gerekmektedir. Genel bir formülasyonda yer alan bileşenler, yağlı faz, sulu faz, birincil yüzey etkin madde (anyonik, non-iyonik veya amfoterik) ve ikincil yüzey etkin madde veya yardımcı yüzey etkin maddedir. Sulu faza hidrofilik etkin madde, koruyucu madde veya tampon eklenebilirken, hidrofobik etkin maddeler yağlı faza katılmaktadır (Grampurohit, Ravikumar ve Mallya, 2011, s. 101; Peng vd., 2011, s.111).

Oftalmik amaçla mikroemülsiyon formülasyonu geliştirilirken bütün bileşenlerin çok dikkatli şekilde seçilmesi gerekmektedir. Sistemin her bir bileşeni, ilaç taşıyıcı sistemin belirlenen amaçta başarılı olabilmesi için önemlidir. Bu nedenle, temel araştırma sistemin fizikokimyasal olarak karakterizasyonunu kapsar (Talegaonkar vd., 2008, s. 252; Peng vd., 2011, s. 113).

Mikroemülsiyon sistemi oküler kullanımda kolay ve rahat uygulamayı sağlarken, gözde tutunmanın iyileşmesi ile korneal ilaç emilimini arttırmakta ve aynı zamanda sistemik yan etkilerin azalmasını sağlamaktadır. Ayrıca ufak damlacık boyutuna sahip olduğu için görme ile ilgili sorun oluşturmaz. Hazırlama yöntemi basit ve ucuz olduğundan üretim ve sterilizasyonu kolaylıkla yapılabilmektedir (Grampurohit, Ravikumar ve Mallya, 2011, s. 105).

Emülsiyon ve mikroemülsiyon sistemin ikisi de birçok mekanizma ile biyouyumluluğa katkıda bulunmaktadır. Çözelti şeklinde hazırlanamayan suda çözünürlüğü düşük hidrofobik etkin maddenin emülsiyonu hazırlanabilmektedir. Sahip olduğu viskoziteden dolayı emülsiyon/mikroemülsiyon sisteminin gözyaşı ile uzaklaşması azalırken, gözde kalma süresi de artar (Peng vd., 2011, s. 113). Göze uygulandıktan sonra emülsiyon sistem içindeki yağ damlaları göz epitelinden emilerek etki gösterir. Katyonik yüzey etkin maddenin eklendiği sistem pozitif yüklü hale gelir. Böylece negatif yüklü olan kornea epiteline bağlanarak ilacın gözde tutunma süresi ve penetrasyonu artırılabilir; ancak, kornea epiteline bağlanan emülsiyon yapıcı toksisiteye yol açabilir.

Emülsiyon ve mikroemülsiyon sistemlerin benzerliklerinin yanında birçok farklılıkları da bulunmaktadır. Bunlar Çizelge 2.3.'te sunulmaktadır.

Çizelge 2.3. Mikroemülsiyon ve Emülsiyon Sistem Arasındaki Temel Farklar

Özellik	Emülsiyon	Mikroemülsiyon
Kararlılık	Kinetik	Termodinamik
Yüzey Etkin Madde Yükleme	< % 1	% 10
Damlacık Boyutu	1-10 µm	40-100 nm
Görünüm	Opak, süt görünümlü	Saydam
Yardımcı Yüzey Etkin Madde	Kullanılmaz	Kullanılır
Hazırlama	Kendiliğinden oluşur	Mekanik enerji ile oluşur
Yüzeylerarası Gerilim	Yüksek	Çok düşük
Mikro Yapı	Statik	Dinamik
Faz	İki fazlı görünüm	Tek fazlı görünüm

Kaynak: Talegaonkar vd., 2008, s. 240; Peng vd., 2011, s. 112.

Habe ve Keipert (1997, s. 181) yaptıkları bir çalışmada oküler mikroemülsiyon formülasyonunu yağlı fazı izopropil miristat, yüzey etkin maddeyi Macrogol® 1500, yardımcı yüzey etkin maddeyi polietilen glikol 200 ve sulu fazı distile su kullanarak hazırlamıştır. Pilokarpin'in etkin madde olduğu çalışmada formülasyon tavşan gözüne uygulanmış ve floresin test ile kornea incelemesi sonucu çözelti şekline göre mikroemülsiyon sistemin gözde daha uzun kaldığı ve herhangi bir iritasyona neden olmadığı saptanmıştır.

2.3.1. Yüzey etkin madde

Yüzey etkin madde molekülünün çözünmesi 10-30 yağ molekülü veya 10-300 su molekülünde olasıdır. Yüzey etkin maddenin yağlı ve sulu fazda çözünmesi yüzeylerarası gerilimi düşürmesi için gereklidir; çünkü düşük yüzey gerilimi su ve yağın kendiliğinden emülsifiye olabilmelerini sağlar. Yüzey etkin madde konsantrasyonu gerilimi düşürecek ve nano boyuttaki damlacıkların kararlılığını sağlayacak kadar yeterli miktarda (% 10-40) olmalıdır (Verma ve Ghosh, 2013, s. 3).

Yüzey etkin maddelerde arzu edilen diğer bir özellik, gözde toksisiteye neden olmamasıdır. Aynı zamanda biyolojik olarak çok hızlı veya çok yavaş parçalanmaması istenir. Çeşitli yüzey etkin madde sınıflandırmalarında bulunan noniyonik maddeler, gelişmiş çözünürlük özellikleri açısından daha işlevsel olarak kullanılmaktadır. Noniyonik yüzey etkin madde iritasyona sebep olmamakta ve permeabiliteyi ve preorneal tutunmayı arttırmaktadır (Hegde, Verma ve Ghosh, 2013, s. 3).

Çizelge 2.4. Oftalmolojide Kullanılabilecek Yüzey Etkin Maddeler

Genel Sınıflandırma	Örnekler
Lesitin ve Lesitin Türevi	Saf fosfolipit (soya gibi), Karışık fosfolipit, Sodyum kolat, Hidroksillenmiş fosfolipit
Gliserol Yağ Asiti Esteri	Poligliserol yağ asiti esterleri, poligliserol polilisinoleat, propilenglikol yağ asiti esterleri (polietilen gliserol, Cremophor® EL, Monobutil gliserol)
Polioksietilen Sorbitan Yağ Asiti Esteri	Tween® 20 (Polietilen glikol sorbitan monolaurat), Tween® 80 (Polietilen glikol sorbitan monooleat)
Diğer (Potansiyel yardımcı yüzey etkin madde)	Polietilen glikol, PEG 200

Kaynak: Hegde, Verma ve Ghosh, 2013, s. 4.

Tüm yüzey etkin maddeler mikroemülsiyon formülasyonu içinde yüksek miktarda kullanıldığından genel olarak gözde iritasyon ve toksisiteye neden olabilir; bu nedenle toksisite testinin yapılması gereklidir. Bununla birlikte yüzey etkin maddeler üzerine yapılan toksisite çalışmaları bilimsel kaynaklarda oldukça azdır. Kaynaklarda yer alan oftalmolojide kullanılabilecek yüzey etkin madde örnekleri Çizelge 2.4'de sunulmaktadır (Hegde, Verma ve Ghosh, 2013, s. 4).

İlaç taşıyıcı sistemlerde en yaygın olarak kullanılan yüzey etkin maddelere örnek olarak poloksamer, polisorbata ve polietilen glikol verilebilir. Lesitin gibi amfoterik yüzey etkin maddeler ise düşük toksisitelerinden dolayı tercih edilmektedir. Stearilamin gibi katyonik yüzey etkin maddeler ise yağ damlasının epitel dokuya bağlanmasını sağlayarak gözde kalış süresini arttırdığı için yarar gösterir (Peng vd., 2011, s. 115).

2.3.2. Yardımcı yüzey etkin madde

Mikroemülsiyon formülasyonu hazırlarken bir diğer ana problem arayüzey esnekliğinin sağlanmasıdır. Bu amaçla yüzey etkin madde ile birlikte yardımcı yüzey etkin madde sıklıkla formülasyona eklenir (Çizelge 2.5’de sunulmaktadır.). Yardımcı yüzey etkin madde, yüzey etkin maddeye göre arayüzeyde daha kolay dağılır ve daha akışkan ortam oluşturur. Yeterince düşük viskoziteye sahip arayüzey, nano boyutlu damlacıkların oluşması ile sonuçlanır. Yardımcı yüzey etkin maddeler, mikroemülsiyon formülasyonunda kullanılan yüzey etkin madde miktarını azalttığı için de tercih edilmektedir. En yaygın olarak kullanılan yardımcı yüzey etkin maddeler 2-10 karbon zincir uzunluğuna sahip düşük molekül ağırlıklı alkol ve glikollerdir. Alkolün zincir uzunluğu arttıkça gözde tahriş potansiyelinin arttığı bilinmektedir. Bunun dışında kullanılan yardımcı yüzey etkin madde kısa zincirli aminlerdir (Grampurohit, Ravikumar ve Mallya, 2011, s. 100; Peng vd., 2011, s. 115; Hegde, Verma ve Ghosh, 2013, s. 4).

Çizelge 2.5. Oftalmik Mikroemülsiyonlarda Kullanılabilecek Yardımcı Yüzey Etkin Madde Sınıfları ve Örnekler

Sınıflar	Örnekler
Alkanoller	Etanol, propanol, 1-butanol
Alkan dioller	1,2-Propan diol, 1,2-butan diol
Alkan polioller	Gliserol, glusitol ve polietilen glikol

Ruth vd. (1995, s. 255-260) yaptığı çalışmada yardımcı yüzey etkin madde olarak etanol ve butanol kullanmış ve formülasyona etkisini karşılaştırmıştır. Mikroemülsiyonun oluşması için etanol miktarının butanol’ün yedi katı olduğu belirlenmiştir. Bunu nedeninin, sulu faz ile arayüzey arasında alkol dağılımının hidrofilik karaktere dayanması olduğu düşünülmüştür. Etanolün arayüzey/su dağılım katsayısı butanol’e oranla çok düşüktür; dolayısıyla sudaki çözünürlüğü çok yüksek olan butanol’ün benzer mekanizmasının sağlanması için çok daha fazla miktarda etanol kullanılması gereklidir.

2.3.3. Yağlı faz

Mikroemülsiyon sisteminde yağlı fazın seçimi kararlılığı etkilediği için önemli basamaklardan birisidir. Uzun hidrokarbon zincirli yağlar gözde penetre olamayacağından mikroemülsiyon için kullanılmaz. Kısa zincirli yağların hidrofobik kuyruğu hem penetrasyon için daha uygundur, hem de mikroemülsiyon oluşumu için gerekli arayüzeyi daha kararlı şekilde sağladığı için tercih edilmektedir (Çizelge 2.6’de sunulmaktadır.). Bazı yağların, özellikle trigliseritlerin, hidrofilik kısımları bulunmadığından HLB (Hidrofilik-Lipofilik Balans) değeri sıfır veya sıfıra yakındır (Peng vd., 2011, s. 115; Hegde, Verma ve Ghosh, 2013, s. 3).

Çizelge 2.6. *Oküler Mikroemülsiyonlarda En Çok Kullanılan Yağ Grupları ve Örnekler*

Yağlar	Örnekler
Yağ Asiti Esteri	Etil oleat, izopropil miristat
Tekli Doymamış Yağ Asiti	Oleik asit
Doymuş Yağ Asiti / Düşük Molekül Ağırlıklı	Kaprik- kaprilik trigliserit
Trigliserit	Oktanoik asit

2.3.4. Mikroemülsiyonun Hazırlanması

Mikroemülsiyonun hazırlanması için iki yöntem vardır: Faz ters çevirme yöntemi ve faz titrasyon yöntemi. Faz çevirme yöntemi ile göze uygulanmak üzere hazırlanan mikroemülsiyon sistem bulunmamaktadır (Talegaonkar vd., 2008, s. 240; Jha, Dey ve Karki, 2011, s. 7). Faz titrasyon yöntemi ile hazırlanan mikroemülsiyonda kullanılan faz diyagramı farklı bileşenlerin kullanıldığı karmaşık seriler içeren çalışmalarda oldukça yararlıdır. Çünkü mikroemülsiyon sistemi her bir bileşenin kimyasal yapısına ve konsantrasyonuna bağlı olarak çeşitli etkileşim ve bağlantıların kurulması ile oluşur. Bileşenlerin faz dengesine ve sınırına ulaşması için gerekli parametreleri belirlemek üzere diyagram hazırlanması zorunlu bir işlemdir (Talegaonkar vd., 2008, s. 241).

Faz diyagramı genellikle yüzey etkin madde, yardımcı yüzey etkin madde ve yağ karışımının su ile titrasyonundan elde edilen verilerle belirlenir. Suyun her eklenmesinin ardından saydamlık, akış özelliği ve kararlılık değerlendirilir. Mikroemülsiyon bölgesi belirlendikten sonra faz diyagramının bu bölgesi mikroemülsiyonun daha uzun süreli kararlılık çalışması için kullanılır (Bhargava, Narurkar ve Lieb, 1987, s. 48; Rodamska-Soukharev ve wojciechowska, 2005, s. 468; Hegde, Verma ve Ghosh, 2013, s. 3).

Faz ters çevirme yönteminde ise mikroemülsiyon sistemi sıcaklığa cevap olarak veya dispers fazın fazlasının eklenmesi ile oluşur. Faz değişimi sırasında damlacık boyutu değişimini de içeren ve ilaç salımını etkileyecek ciddi *in vitro* ve *in vivo* değişiklikler ortaya çıkar. Noniyonik yüzey etkin madde kullanıldığında sistemin sıcaklığı değiştirilerek mikroemülsiyon elde edilmektedir. Düşük sıcaklıkta su-içinde-yağ emülsiyonundan veya yüksek sıcaklıkta yağ-içinde-su mikroemülsiyonundan faz ters çevirme sağlanmaktadır (Talegaonkar vd., 2008, s. 241).

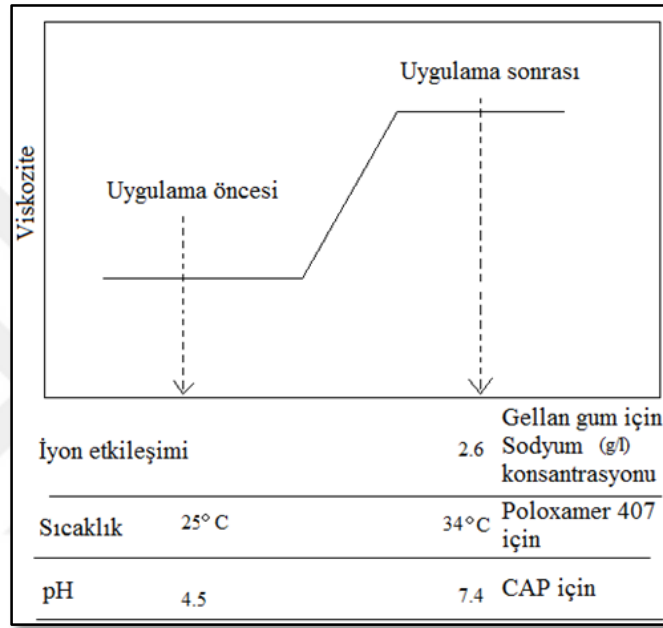
2.4. Jel Sistemi

Sentetik ve doğal polimerik sistem göze topik veya diğer bir yol ile uygulandığında ilaç biyoyararlanımını arttırmada önemli rol oynar. Oftalmik ilaç taşıyıcı sistemde kullanılan polimerler üç grupta sınıflandırılır: viskozite arttırıcı, mukoadezif ve gözün fizyolojik koşullarına maruz kaldığında jelleşen *in situ* polimerler (Thrimawithana vd., 2012, s. 117).

Oküler kullanılacak polimerin sahip olması gereken özellikler arasında biyoyumlu olması, belli derecede mukoadezif özellik taşıması, psödoplastik akış göstermesi ve iyi tolere edilmesi bulunmaktadır (Suryawanshi, vd., 2012, s. 72; Bassi, Gill ve Sharma, 2015, s. 193). Oküler ilaç taşıyıcı sistemler arasında *in situ* jelleşen sisteme son zamanlarda artan ilgi vardır. Bu sistem uygulandığında yapısal olarak fiziksel veya kimyasal değişime uğrayarak jel şekline dönüşmektedir. Jelleşme, ilacın göz yüzeyinde tutunma süresini arttırmak, sürekli salım sağlamak, protein yapıları ilaçların kararlılığını arttırmak ve gerektiğinde etkinleşen salım sistemi formüle etmek üzere birçok çalışmada kullanılmaktadır (Thrimawithana, vd., 2012, s. 117; Patil ve Kumar, 2015, s. 427).

Hidrojel, yüksek moleküler ağırlığa sahip, su içinde üç boyutlu ağ oluşturan hidrofilik çapraz bağlı polimer veya kopolimerden oluşur. Bu polimerler özellikle uygulandığı bölgede tutunma zamanını arttırarak ilaç biyoyararlanımını iyileştirmeye yönelik oluşturulmuştur (Suryawanshi, vd., 2012, s. 69; Kirchof, Goepferich, Brandl, 2015, s.227). Kim vd. (1992, s. 283) hidrojel, su veya sulu çözücüde şişebilme özelliğindeki polimer olarak tanımlamaktadır. *In situ* jel, genel tanım olarak, sıvı halde uygulanan ancak fizyolojik ortamda yarı-katı jel faza dönüşebilen polimer çözeltisidir. Jelleşme sıcaklığa, pH veya iyon değişimine bağlı olarak, UV kaynaklı veya çözücü değişimi ile gerçekleşir (Rathore, 2010, s. 31; Suryawanshi, vd., 2012, s. 69).

İdeal bir *in situ* jel, göze tekrar tekrar uygulayabilmeye izin verecek kadar düşük viskoziteye sahip, faz değişiminin ardından gözde tutunabilecek kadar güçlü olan ve uzun süreli kalabilen sistemdir. İlacın etkinliğini arttırmak için gözde temas süresini arttırmak hastanın sık uygulama gereksinimini azaltacak ve etkin maddenin tek uygulama ile daha uzun süreli salımını sağlayacaktır. *In situ* jel sistemin oküler yüzeye uygulandıktan sonraki viskozite değişimi Şekil 2.7.'de sunulmaktadır (Rathore, 2010, s. 30).



Şekil 2.7. *In Situ Jel Sisteminin Oküler Yüzeye Uygulandıktan Sonraki Viskozite Değişimi*

Kaynak: Rathore, 2010, s. 30

2.4.1. Sıcaklık değişimine bağlı *in situ* jel sistemi

Bu sistem, sıcaklığa bağlı olarak göz sıcaklığında çözelti şeklinden jel şekline dönüşen polimer kullanımı ile elde edilir. Termal jelleşme, göz yüzeyinde uzun süre tutunma için mükemmel oluşumdur. Sistem oda sıcaklığında çözelti iken, vücut sıcaklığında jel haline dönüşür (Rathore, 2010, s. 31; Gupta ve Manocha, 2012, s. 716; Suryawanshi, vd., 2012, s. 69). Bu grupta en yaygın kullanılan polimer, sıcaklığa duyarlı noniyonik Poloxamer®'dir. Polimerler ticari olarak üç şekilde isimlendirilmiştir: Poloxamer®, Pluronic® ve Tetronic®. Oküler olarak kullanılabilen Pluronic® F 127 göz sıcaklığında renksiz ve saydam jele dönüşür. % 20'den yüksek konsantrasyonu gözde iritasyona neden olabilir (Almeida vd., 2014, s. 404).

2.4.2. pH değişimine bağlı *in situ* jel sistemi

pH'ya duyarlı polimer kullanılarak hazırlanan jel sistemidir. Bu sistem ortam pH'sı değiştğinde proton salar veya alır. Zayıf asidik grup içerenler, çevre pH'sı arttında jelleşmeye başlar. Örneğin pH 4.2'den göz pH'sına (7.4) yükseldiğinde polimer şişer ve jelleşir (Nirmal, Bakliwal ve Pawar, 2010, s. 1399; Gupta ve Manocha, 2012, s. 715). pH'nın artması ile birlikte jele dönüşen, sulu çözeltisi düşük viskoziteye ve asidik yapıya sahip olan Carbopol® en yaygın olarak kullanılan polimerlerden biridir (Almeida vd., 2014, s. 405).

2.4.3. İyon değişimine bağlı *in situ* jel sistemi

Polimerin farklı iyonların varlığına bağlı olarak jelleşmesiyle oluşan sistemdir. Bu polimerler lakrimal sıvı içerisindeki iyonlar ile etkileşerek sıvı halden jel hale geçer. Örneğin, karragenan az miktarda potasyum varlığında kırılğan jel oluştururken, kalsiyum varlığında esnek jele dönüşür. Gellan zamkı, sodyum ve potasyum gibi katyonik iyon varlığında jelleşen anyonik polisakkarittir. Benzer şekilde aljinik asit de çift değerli katyonik iyon varlığında jelleşir (Nirmal, Bakliwal ve Pawar, 2010, s. 1400; Patil ve Kumar, 2014, s.431).

Oftalmik ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılan çevreye duyarlı polimerler Çizelge 2.7.'de sunulmaktadır (Thrimawithana, vd., 2012, s. 117-121; Almeida, vd., 2014, s. 404-409).

Çizelge 2.7. Oftalmik İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Kullanılan Polimerler

Özellik	Grup
Sıcaklığa Duyarlı	Selüloz Türevi (MC, HPMC)
	Ksiloglukan
	Poloksamer (Poloxamer® 407, Pluronic® F)
	Poli-N-izopropilakrilamit
	Polietilen glikol ve polilaktik-ko-glikolit
pH'ya Duyarlı	Polikaprolakton (PCL)
	Karbomer (Carbopol®, Carbopol® 974)
	Psödolateks (CAP lateks)
İyon Değişimine Duyarlı	Kitosan
	Gellan (Gellan Zamkı)
	Aljinit

In situ jel sisteminde yapılan karakterizasyon çalışmaları fiziksel görünüş ve saydamlık kontrolü, reolojik davranışın incelenmesi, jelleşme kapasitesi ve çözeltiden jele geçiş sıcaklığının belirlenmesi, pH ölçümü, *in vitro* salım ve şişme çalışmasını içerir (Patil ve Kumar, 2014, s.433; Bassi, Gill ve Sharma, 2015, s. 197). Bu çalışmalar, ‘yöntemler’ bölümünde ayrıntılı olarak anlatılmıştır.

Mohan vd. (2009, s. 1093) yaptıkları çalışmada pH kontrollü, sıcaklık ve iyon değişimine bağlı *in situ* jelleşen sistemleri hazırlamış ve reolojik davranış ve *in vitro* salım açısından karşılaştırmıştır. pH değişimine bağlı formülasyonda Hidroksi propil metil selüloz (HPMC) ve Carbopol® 940 kombine halde kullanılmıştır. Sıcaklık değişimine bağlı jelleşme için Pluronic® F 127 ve HPMC, iyon değişimine bağlı jelleşme için ise Gellan zamkı formülasyona eklenmiştir. Formülasyonların tümünün kararlı ve altı saat boyunca salım gösteren özellikte olduğu ve gözde iritasyona neden olmadığı saptandığı için göz damlasına alternatif olabileceği belirtilmiştir.

Asasutjarit vd. (2011, s. 129) Pluronic® F 127, F 68 ve Carbopol® 940 kullanarak diklofenak sodyum içeren *in situ* jel hazırlamış ve *in vitro* karakterizasyon çalışması yapmıştır. İdeal formülasyonların oda sıcaklığında sıvı, göz sıcaklığında ise akış göstermediği belirlenmiştir. Ayrıca oküler iritasyon testinde, 0 ile 4 arası ölçekte formülasyonların hepsinde tüm parametreler 0 düzeyinde bulunmuş ve formülasyonların iritasyon edici olmadığı raporlanmıştır.

Bir diğer çalışmada ise poloksamer kullanarak *in situ* jel hazırlanmış ve *in vitro* salım profili göz damlası ile karşılaştırılmıştır. Sonuçta salım ortamında göz damlası 2 saat sonunda % 90’ın üzerinde konsantrasyona ulaşırken *in situ* jel sistemi % 90 konsantrasyona 24. saatin sonunda ulaşmıştır (Cao, Zhang ve Ping, 2010, s. 505).

2.5. Nanopartiküler Sistem

Nanopartiküller etkin madde içeren veya içermeyen, boyutu 10-1000 nm arasında değişebilen parçacıklardır. Etkin madde sistemde çözülmüş, kapsül içine alınmış, hapsedilmiş veya matrise tutunmuş olabilir. Bu nedenle nanopartikül, nanokapsül veya nanoküre gibi farklı isimlerle ifade edilir. Bütün bu isimler nano boyutta olan parçacıkları tanımlar. Nanokapsül tek bir polimer membran ile etkin maddeyi çevreleyen veziküler sistem iken, nanoküre etkin maddenin fiziksel olarak eşit şekilde disperse edildiği matris sistemdir (Soppimath, vd., 2001, s. 1; Nagarwal, vd., 2009, s. 3).

Etkin madde yüklü nanopartiküller fizyolojik engelleri aşabilme yeteneğine sahip, hem pasif hem de ligand yapılı hedefleme mekanizmasıyla, özellikle hücrelere veya hücre içine gönderilebilen çok yönlü sistemlerdir (Nagarwal vd., 2009, s. 3).

Polimerik nanopartiküller aşağıda yazılan birçok üstünlüğe sahiptir:

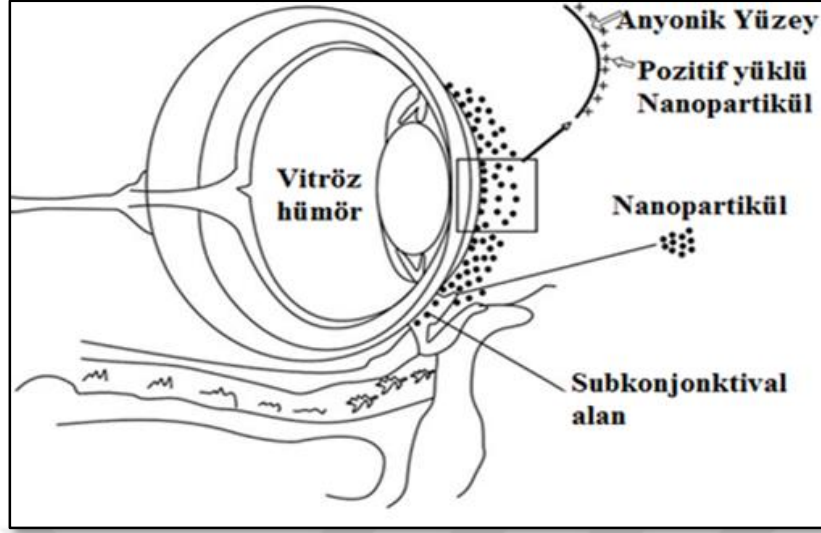
- üretimi ve özelliklerini belirlemek kolaydır,
- üretim işleminin maliyeti düşüktür,
- polimerler biyouyumlu ve biyoparçalanabilir özelliktedir; toksik ve immünojenik değildir,
- suda çözünebilen ve oküler olarak kullanılabilen birçok polimer vardır,
- genetik materyal, protein ve ufak moleküllü etkin madde yüklenebilir,
- kararlılığı yüksektir,
- gözde tahrişe neden olmaz (Nagarwal vd., 2009, s. 11).

Nanopartikül sistem, uygun olarak formüle edildiğinde oftalmik olarak göz damlası gibi kolaylıkla uygulanır ve uygulama sıklığını azaltarak oküler tutunma süresini artırır (Dandagi vd., 2008, s. 80; Nagarwal, vd., 2009, s. 3).

Oküler amaçla hazırlanan ilk nanopartikül örneği polialkil siyanoakrilat polimeriyle hazırlanan sistemdir. Ardından kitosan, hyalüronik asit, Carbopol® ve Eudragit® RS ve RL gibi birçok polimer kullanılarak nanopartiküler sistem hazırlanmış ve incelenmiştir (Reimondez-Troitino vd., 2015, s. 281).

Oftalmik nanopartikül içeren süspansiyon klasik süspansiyon ve göz damlasına göre pek çok üstünlüğe sahiptir. Kolloidal sistem iyi formüle edildiğinde raf ömrü boyunca çökme olmaksızın süspand halde kalır. Partiküller göze uygulandıktan sonra oküler yüzey ile etkileşime girerek göz dokusunda tutunur ve planlanan süre boyunca depo görevi görerek ilacı kontrollü salma eğilimi gösterir (Şekil 2.8'de sunulmaktadır.). Aynı zamanda partiküllerin sahip olduğu geniş yüzey alanı nedeniyle biyoyararlanım artar ve etkin madde konsantrasyonu etkin dozda uzun süre sağlanır (Chang, 2010, s. 175). Oftalmik formülasyonun kolloidal boyutu 1-500 nm arasında kabul edilse ve bu aralıkta olduğu belirtilse bile, daha iri partiküller içerebilir (Nagarwal vd., 2009, s. 3).

Liyofilik ve liyofobik terimleri dispersiyon ortamının özelliğini tanımlamak için kullanılır; liyofilik sistemi hazırlamak genellikle daha kolaydır ve kararlılığı daha yüksektir. Kolloidal dispersiyonu oluşturmak için dispersiyon ortamına organik molekül eklemek, nanopartikülün kolayca dağılmasını sağlar (Sahoo vd., 2008 s. 147; Nagarwal, vd., 2009, s. 3).



Şekil 2.8. Gözün Subkonjonktival Alanı ve Oküler Yüzey ile Nanopartikül Etkileşimi

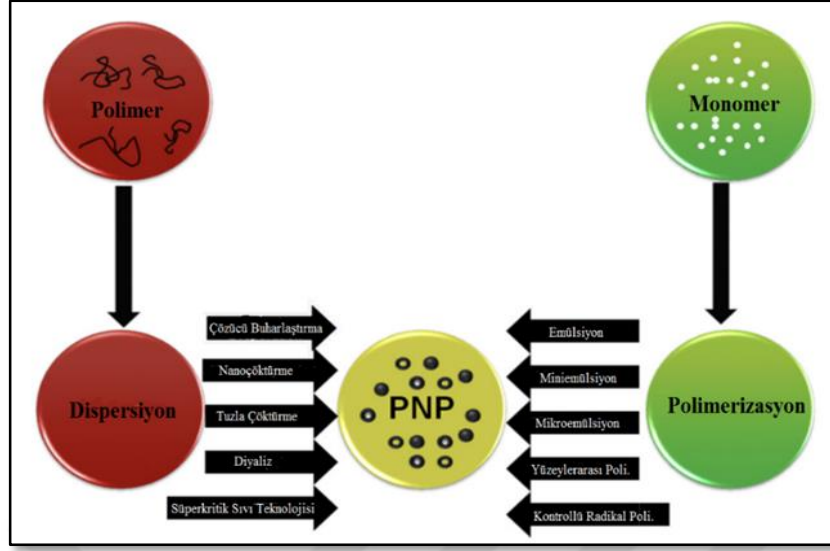
Kaynak: Nagarwal, vd., 2009, s. 5

İlaç yüklü nanopartikülleri göz damlası gibi sıvı şekilde uygulayabilmek de üstünlüklerinden biridir. Sıvı şekli ile hasta tarafından kolaylıkla uygulanan nanopartiküller, göz merhemi gibi viskoz ve yapışkan sistemlerin oluşturduğu bulanık görme durumuna neden olmaz. Kolloidal sistem bu nedenlerle bulanık görme ve düşük biyoyararlanıma karşı üstün sistemler arasında yer alır (Nagarwal vd., 2009, s. 3).

Nanopartikül ve nanopartikülün sulu süspansiyonu, oküler ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmaktadır. Kolloidal partiküllerin enzim ve protein içeren biyolojik sıvılardaki kararlılığı önemli bir konudur; çünkü, oküler mukoza ile etkileşime giren partiküllerin sahip olduğu özellikleri koruması gereklidir (Nagarwal vd., 2009, s. 3).

2.5.1. Nanopartikül hazırlaması

Nanopartikül hazırlanırken başlangıçta iki yol vardır: önceden hazırlanan sentetik veya doğal polimerin dispersiyonu veya monomerlerin polimerizasyonu. Mikroemülsiyon, miniemülsiyon, yüzey etkin madde içermeyen emülsiyon veya arayüzey polimerizasyonu gibi polimerizasyon tekniği kullanılarak monomerler ile doğrudan üretilebilir. Her iki yol için de polimerik nanopartikül hazırlama yöntemleri Şekil 2.9’da sunulmaktadır (Kaş, 2002, s. 83; Rao ve Geckeler, 2011, s. 890).

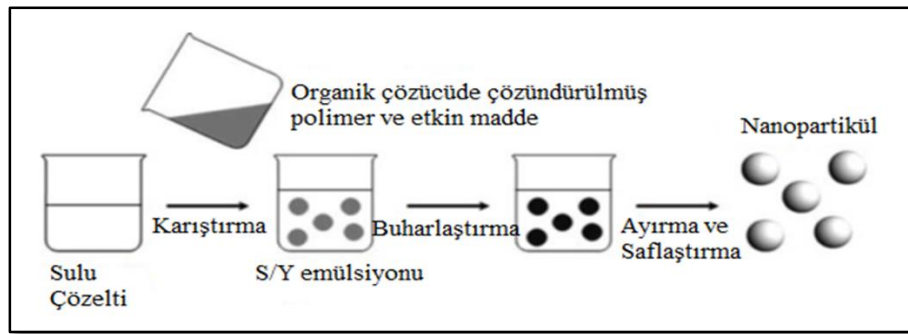


Şekil 2.9. Polimerik Nanopartikül Hazırlama Yöntemlerinin Şematik Gösterimi

Kaynak: Rao ve Geckeler, 2011, s. 890

2.5.1.1. Çözücü buharlaştırma yöntemi

Bu yöntemde polimer diklorometan, kloroform veya etil asetat gibi organik çözücüde çözündürülür. Daha sonra, etkin madde polimerik çözelti içerisinde çözündürülür veya süspande edilir. Emülsiyon yapıcı yardımı ile tek veya çoklu emülsiyon oluşturulması sağlanır ve ardından sıcaklık veya basınç etkisi ile karıştırıcı kullanılarak organik çözücü uzaklaştırılır. Yöntem şematik olarak Şekil 2.10'da sunulmaktadır (Soppimath vd., 2001, s. 2; Derman, Kızılbey ve Akdeste, 2013, s. 114).



Şekil 2.10. Çözücü Buharlaştırma Yöntemi ile Nanopartikül Üretimi

Kaynak: Derman, Kızılbey ve Akdeste, 2013, s. 114

2.5.1.2. Nanoçöktürme yöntemi

Çözücü ile yer değiştirme olarak da isimlendirilen bu yöntemin temel prensibi lipofilik çözücü ile su ile karışabilen yarı-polar çözücünün yer değiştirmesi sonrasında polimerin arayüzeyde birikmesidir. Non-solvan faza çözücünün hızla difüze olması ile arayüzey gerilimi düşerek organik çözücü ufak damlacıklar oluşturur ve yüzey alanının artmasına neden olur (Rao ve Geckeler, 2011, s. 893).

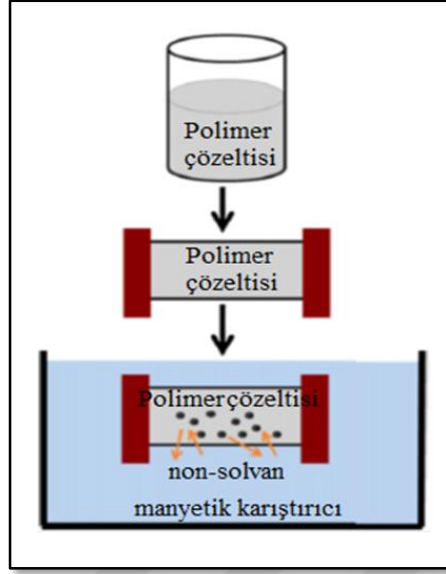
Katara ve Majumdar (2013, s. 456) çalışmalarında asiklofenak etkin maddesi ve Eudragit® RL 100 polimeri ile nanoçöktürme yöntemi kullanarak nanopartikül sistemi hazırlamıştır. Yöntemde, polimer ve etkin madde organik çözücüde çözündürüldükten sonra yüzey etkin madde ve distile su ile sabit hızda karıştırmanın ardından uçurma yöntemi ile organik çözücü uzaklaştırılmıştır. Sulu dispersiyon liyofilize edilerek nanopartiküller hazırlanmıştır.

2.5.1.3. Tuzla çöktürme yöntemi

Yöntemde, güçlü tuzlama etkisi oluşturmak için seçilen tuzun veya şekerin yüksek miktarı sulu faza eklenir ve emülsiyon yapıcı ile polimer aseton/su ile tamamen karışabilen çözücü ile formüle edilir. Magnezyum klorür, kalsiyum klorür ve magnezyum asetat yaygın olarak kullanılan elektrolitlerdir. Su eklenmesi ile tuzla çöktürmenin ters etkisi emülsiyondaki damlacıklarda çözünen polimerin çökmesine yol açar (Rao ve Geckeler, 2011, s. 892).

2.5.1.4. Diyaliz yöntemi

Diyaliz, ufak ve dar dağılım boyutuna sahip nanopartikül hazırlamak için basit ve etkili bir yöntemdir. Uygun organik çözücüde çözündürülen polimer uygun molekül boyutuna sahip diyaliz tüpü içerisine yerleştirilir. Membran içerisinde çözücünün yer değiştirmesi ile çözünürlük azalır nanopartiküllerin homojen süspansiyon oluşturması nedeniyle polimer agregasyonu gerçekleşir. Yöntem şematik olarak Şekil 2.11'de sunulmaktadır (Rao ve Geckeler, 2011, s. 894).



Şekil 2.11. *Diyaliz Yöntemi ile Nanopartikül Hazırlanması*

Kaynak: Rao ve Geckeler, 2011, s. 894

2.5.1.5. Süperkritik sıvı yöntemi

Bu yöntemin en büyük üstünlüğü çöktürülmüş ürünün çözücü içermemesidir. Süperkritik sıvı genel olarak süperkritik sıcaklığın üzerinde basınç değişmesine karşın faz değiştirmeyen sıvı olarak tanımlanır. CO₂ hem ucuz hem de toksik olmayan özelliği ile en çok kullanılan süperkritik sıvıdır. Süperkritik çözeltinin hızlı genişmesi (RESS) ve süperkritik anti-çözücü yöntemi (SAS) en çok kullanılan yöntemlerdir. RESS yönteminde etkin madde ve polimer süperkritik çözücüde yüksek basınçta çözündürülürken, SAS yönteminde etkin madde molekülleri organik çözücüde çözündürüldükten sonra süperkritik sıvı ile temasta bırakılır. Organik faz süperkritik çözücüde hızla çözünmekte ve geriye süzulebilen nanopartiküller kalmaktadır (Derman, Kızılbey ve Akdeste, 2013, s. 116).

Nanopartiküllerin yalnızca oküler uygulamada değil tüm biyomedikal uygulamalar için terapötik olarak biyoyumlu olması istenir. Bu ifade, partikülün ve bileşenlerinin canlı dokular ile biyolojik olarak uyumlu, non-immünolojik, non-toksik veya herhangi bir zararlı etki göstermemesi anlamına gelir (Diebold ve Calonge, 2010, s. 605).

Nanopartikülün biyoyuyumluluğunu önemli derecede etkileyen fizikokimyasal özellikleri vardır. Bunlar boyutu, şekli, çözünürlüğü, yükü, lipofilik veya hidrofilik özelliği ve partikülün yükünü de belirleyen yüzeyindeki kimyasal gruplardır.

Tüm bu özelliklerle birlikte nanopartikülün uygulanmasının ardından toksisiteye veya biyolojik reaksiyona yol açabilir. Örneğin, ufak boyutlu nanopartiküller daha iyi etkileşim göstereceği için tercih edilir; ancak, geniş yüzey alanına sahip olduğu için bu etkileşim hücresel düzeyde veya dokuda toksisiteye neden olur. Organik ve inorganik nanopartiküllerin olası riski plazma proteinlerine adsorpsiyon, dokularda birikme ve agregasyon olarak sayılabilir. Agregasyon hücre metabolizmasını engelleyebilir veya doku fonksiyonlarını bozabilir (Zimmer ve Kreuter, 1995, s. 69; Diebold ve Calonge, 2010, s. 606).

2.6. Oküler Alerji

Göz alerjisi mevsimsel alerjik konjonktivit, saman nezlesi, vernal keratokonjonktivit, kronik alerjik konjonktivit ve atopik konjonktiviti kapsar. Bunların dışında sıklıkla kontakt mercek kullanımına bağlı olarak veya operasyon sonrası gelişen papiller konjonktivit de göz alerjisi olarak kabul edilmektedir.

Mevsimsel alerjik konjonktivit polen, hayvan tüyü, toz veya kimyasal maddelere karşı ani olarak gelişen aşırı duyarlılık ile kendini gösteren alerji durumudur. Bu durum oküler alerjinin en yaygın biçimidir (Palmer, 2007, s. 1).

Saman nezlesi ise ilkbahar, yaz sonu ve sonbahar başında kendini belli eden sıklıkla rinit ile ilişkili olan alerjik konjonktivitin hafif şekli olarak tanımlanır. Saman nezlesi başlangıcı ve süresi tozlaşmaya ve polene bağlı olduğundan bölgesel olarak farklılık gösterir. Bu farklılığa karşın alerjene maruz kalınmasıyla birlikte mast hücreleri tetiklenerek alerji ve enflamasyona yol açan medyatör serbest hale geçer. Bu medyatörlerden biri olan histamin, mevsimsel alerjik konjonktivitte erken evre belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olur (Ono ve Abelson, 2004, s. 118).

Kronik alerjik konjonktivit, ev tozu, küf ve hayvan tüyü gibi alerjenlere karşı ortaya çıkan daha uzun süreli konjonktivit türüdür.

Atopik keratokonjonktivit durumu ise konjonktivayı ve korneayı etkileyen ciddi bir iltihabi tablodur. 30 ile 50 yaşları arasındaki erkeklerde daha sık görülmektedir. Astım, ürtiker veya saman nezlesi genellikle aile öyküsünde var olan bireylerde bulunur. Belirtileri bulanık görme, ışık duyarlılığı, ip şeklinde mukuslu akıntı, yanma ve sulanmadır. Tedavisinde alerjik konjonktivitte kullanılan etkin maddelerin yanısıra steroid de kullanılır.

Bunların dışında iyatrojenik olarak ortaya çıkan papiler konjonktivit söz konusudur. Bu alerji tipi konjuktival epitelde oluşan mekanik travma sonucu gerçekleşir ve alerji T hücre reseptörleri aracılığı ile başlar (Ono, Abelson, 2004, s. 120; Palmer, 2007, s. 1; Ackerman, Smith ve Gomes, 2016, s. 53).

Alerjik yanıt için sayısız sitokin önemli role sahip olsa da bunların spesifik ve farklı etkinliği tam olarak aydınlatılamamıştır. İnterlökin 4, 5, 6, 8 gibi birçok sitokin ve kemokinin, alerjik konjonktivitte tam olarak belirlenemese de önemli rolü olduğu rapor edilmiştir. İnterselüler adezyon molekülleri sitokinler tarafından uyarılarak konjunktival dokudan enflamasyonun geçişini kolaylaştırarak alerji reaksiyonlarını arttırır (Ackerman, Smith ve Gomes, 2016, s. 54).

Göz alerjisinin en önemli belirtisi kaşıntıdır. Kaşıntı olmadan göz alerjisinden söz etmek olanaksızdır. Bunun yanısıra konjunktivada şişme de söz konusu olabilir. Şişme ile birlikte göz kapakları belirgin hal alır ve şiddetine bağlı olarak göz etrafındaki hassas kolajen liflerinin yapısında değişiklik ortaya çıkabilir (Barney, Cook ve Stahl, 2014, s.622).

Alerjik konjonktivitin patojenezi karmaşıktır ve birkaç mekanizma içerir. Alerjik hastalıklarda en sık görülen duyarlılık mekanizmasında üretilen immünglobülin E antikorunun mast hücrelerine ve dolaşımdaki bazofillere seçici olarak bağlanması ile medyatör salımı tetiklenir ve medyatörler alerjik reaksiyonları başlatır (Ulaş, 2003, s. 3; Ackerman, Smith ve Gomes, 2016, s. 53).

İnsan konjonktivasındaki mast hücrelerin sayısı yaklaşık 5000 ile 6000 hücre/mm³ olarak hesaplanmıştır (Leonardi ve Quintieri, 2010, s. 972). Bu sayı tüm oküler alerjik hastalıklarda artar. Alerjik konjonktivitin akut semptomlarında histamin, platelet aktive edici faktör, lökotrien c4 gibi mast hücre medyatörleri önemli rol oynar; ancak, bunların en önemlisi histamindir. Histamin, spesifik L-histidin dekarboksilaz enziminin rol oynadığı reaksiyon sonucu sentezlenerek mast hücrelerinin ve bazofillerin sitoplazmik granüllerinde depolanır; etkisini histamin reseptörlerine bağlanarak gösterir (Ulaş, 2003, s. 4).

Histamin klasik alerji belirti ve bulgularından olan kızarıklık, şişkinlik ve kaşıntının en önemli sorumlularından biridir. Mast hücrelerinin aktivasyonu ile hızlı şekilde salınan histamin, konjunktiva üzerindeki çoğu etkiden sorumlu H₁ spesifik reseptörleri ile etkileşime girer. H₁ reseptörlerinin uyarılması gözde kaşınmaya, ağrıya, düz kaslarda kasılma hissine, konjunktival damarlarda vazodilatasyona ve ödeme neden olur.

Bu durumun tersine H₂ reseptörlerinin uyarımı ise kaşınma olmaksızın gözde vazodilatasyona yol açar. Bu nedenle histamin reseptör antagonistleri (antihistaminikler) alerjik hastalıkların tedavisinde ilk basamak olarak yer almaktadır. Oküler alerjideki diğer H₃ ve H₄ reseptörlerinin rolü ise halen araştırılmaktadır (Brodsky, 2000, s. 56; Leonardi, 2000, s. 18; Leonardi ve Quintieri, 2010, s. 971).

Alerjik rinit ve konjonktivit yetişkinlerin % 10-30'unda ve çocukların ise % 40'ında görülen çok yaygın hastalıklardır. Alerjiye sahip yetişkinlerin % 40'ında astım görülürken, astım hastası olanların yaklaşık % 80'inde alerjik rinit ve konjonktivit bulunmaktadır (Nickels vd., 2011, s. 1594).

Uygun dozda antihistaminik, histaminin mast hücreleri tarafından salınımı ve mast hücrelerinin aktivasyonunu inhibe eder. Bilindiği üzere bu hücreler bazı sitokinlerin, kemokinlerin, adhezyon moleküllerinin ve enflamatuvar medyatörlerin salınımı düzenler. Dolayısıyla antihistaminiklerin alerji reaksiyonunu ortadan kaldırması mast hücreleri ve bazofillerin aktivitesini etkilemesine ve bu medyatörlerin salınımı inhibe etmesine bağlıdır (Yayla, Avşar ve Cansever, 2014, s. 261).

Antihistaminikler farmakokinetik etkilerine, yapısal özelliklerine ve yan etkilerine bağlı olarak klasik ve yeni nesil olarak sınıflandırılır. Yeni nesil antihistaminiklerin klasik antihistaminiklere göre pek çok üstünlüğü bulunmaktadır. Bunlar sıralanacak olursa (Yayla, Avşar ve Cansever, 2014, s. 261):

- H₁ reseptörlere afinite ve selektivitesi daha yüksektir,
- Kan Beyin Engeli'ni genelde geçmez, dolayısı ile sedasyon etkisi çok az görülür,
- H₁ reseptör dışındaki reseptörlere (muskarinik, vb) etkisi çok az olduğundan kolinerjik etkisi çok düşüktür,
- emilimi hızlıdır ve iyi tolere edilir,
- etki süresi uzun olduğundan uygulama sıklığı düşüktür,
- klasik nesilin pek çok yan etkisini (örneğin, santral sinir ve kardiyovasküler sisteme) göstermez veya dikkate alınmayacak kadar düşüktür,
- 6 yaş üzeri çocuklarda ve yetişkinlerde rahatlıkla kullanılabilir.

Soğuk kompres, yapay gözyaşı sıvısı ile gözleri yıkamak, alerjiden kaçınmak gibi önlemler, alerjik hastanın semptomlarını biraz olsun azaltsa bile yetersizdir. Konjonktivit tedavisi için topikal uygulama farmakokinetik ve klinik açıdan en uygun yoldur. Sistemik antihistaminik kullanımının göz kuruluğuna neden olduğu açıkça bilindiğinden en doğrusu doğrudan lokal uygulama yapmaktır (Ono ve Abelson, 2004, s. 119).

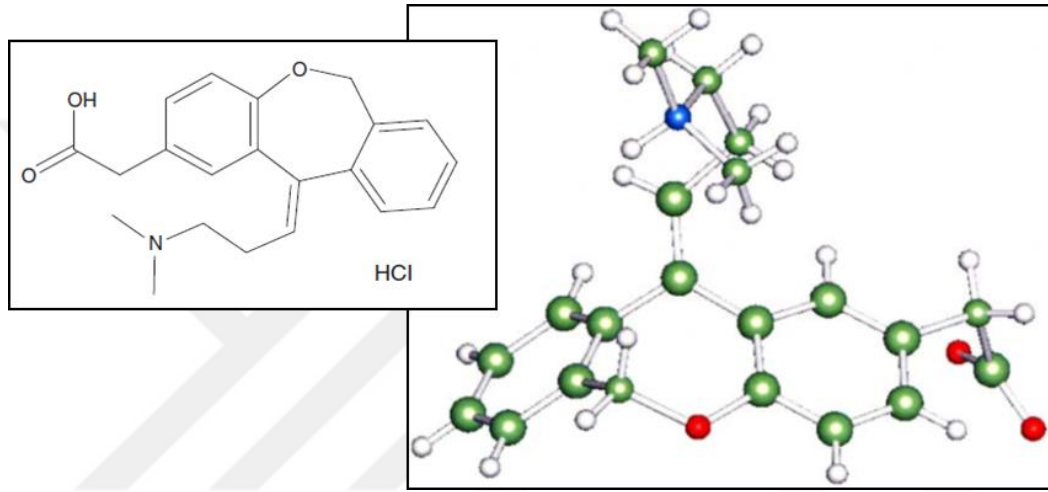
Çizelge 2.8.'de göz alerjisinde kullanılan bazı bileşenler ve hücre üzerindeki etkileri sunulmaktadır.

Çizelge 2.8. Göz Alerjisi Tedavisinde Kullanılan Bileşenler ve Etkinlikleri

Bileşen	Sınıfı	Mast Hüresinden Medyator Salımına Etkisi	Diğer Hücreler Üzerine Etkisi
Antazolin	H ₁ Reseptör Antagonisti	Etkisi yok	Konjunktival epitel hücreden interlökin 6 ve 8 salımının inhibisyonu
Feniramin	H ₁ Reseptör Antagonisti	Etkisi yok	Konjunktival epitel hücreden interlökin 6 ve 8 salımının inhibisyonu
Emedastin	H ₁ Reseptör Antagonisti	Etkisi yok	Konjunktival epitel hücreden interlökin 6 ve 8 salımının inhibisyonu
Levakabastin	H ₁ Reseptör Antagonisti	Etkisi yok	Konjunktival epitel hücreden interlökin 6 ve 8 salımının inhibisyonu
Olopatadin	H ₁ Reseptör Antagonisti Mast hücre stabilizatörü	Histamin, Triptaz, Prostaglandin D ₂ , Tumor Nekroz Faktör- α	Konjunktival epitel hücrelerinde bulunan tümör nekroz faktör- α 'nın yönettiği hücrelerarası adezyon molekülünün artışının inhibisyonu
Ketotifen	H ₁ Reseptör Antagonisti Mast hücre stabilizatörü	Histamin	Eozinofillerin kimyasal yapısını ve aktivasyonunu etkiler
Azelastin	H ₁ Reseptör Antagonisti Mast hücre stabilizatörü	Veri yok	Eozinofillerin aktivasyonunu etkiler
Kromolin	Mast hücre stabilizatörü	Triptaz Histamin için veri yok	Eozinofil, nötrofil ve monositlerin kimyasal yapısını ve aktivasyonunu etkiler
Lodoksamid	Mast hücre stabilizatörü	Veri yok	Eozinofillerin kimyasal yapısını ve aktivasyonunu etkiler
Nedokromil	Mast hücre stabilizatörü	Veri yok	B hüresinden imminoglolin e sentezini etkiler
Pemirolast	Mast hücre stabilizatörü	Veri yok	Eozinofil ve nötrofillerin kimyasal yapısını ve aktivasyonunu etkiler
Alkaftadin	H ₁ Reseptör Antagonisti Mast hücre stabilizatörü	Histamin	Eozinofillerin kimyasal yapısını ve aktivasyonunu etkiler
Bepotastin	Mast hücre stabilizatörü	Histamin	Eozinofillerin kimyasal yapısını etkiler

2.7. Olopatadin Hidroklorür

Olopatadin hidroklorür (11-[(Z)-3-(dimetilamino)- propilidin]-6,11 dihidrodibenz [b,e] oksepin-2-asetik asit)(OLO) , beyaz renkli, kristal yapılı, molekül ağırlığı 373.88 olan, suda çözünebilen bir bileşiktir (Şekil 2.12’de sunulmaktadır) (Ohmori, 2002, s. 379; Leonardi ve Quintieri, 2010, s. 972). Bileşiğin oral yol için antihistaminik ajan olarak sentezlenmesi Ohshima vd. (1992, s. 2074) tarafından gerçekleştirilmiş ve yapı-aktivite ilişkisi incelenmiştir.



Şekil 2.12. Olopatadin Hidroklorür

In vivo çalışmalarda OLO'nun oral kullanımı ile alerjik cilt yanıkları, rinokonjonktivit ve bronşiyal astıma ait deneysel modellerde semptomları azalttığı gözlenmiştir. Yapılan klinik çalışmalarda ise sağlıklı gönüllülerde hızlı ve yüksek miktarda emildiği ve alerjik rinit, kronik ürtiker ve konjonktivit tedavisinde son derece yararlı olduğu belirlenmiştir (Ohmori, 2002, s. 393; Okubo, Okuda ve Kaneko, 2010, s. 1658).

Olopatadin (Allelock®) Aralık 2000 yılında alerjik rinit, kronik ürtiker, ekzama, dermatit, prurigo, kaşıntılı deri, *psoriasis vulgaris* ve eritem *exsudativum multiforme* tedavisi için Japonya'da onaylanmıştır. OLO'nun oftalmik çözeltisi (Patanol®) mevsimsel alerjik konjonktivit tedavisi için Aralık 1996 tarihinde ABD'de onaylanmış ve günümüzde Alcon firması tarafından pazarlanıp birçok ülkede kullanılmaktadır (Ohmori vd., 2004, s. 809).

OLO, H₁ reseptör antagonisti ve aynı zamanda da insan konjonktival mast hücrelerinin etkinliğine sahip olan antialerjik maddedir. Bileşik, klinik olarak etkili konsantrasyonundan en az on kat fazla konsantrasyondaki mast hücrelerini baskılayabilmektedir (Brockm vd., 2003; Tamura, Masato, 2008). Antihistaminik özellikte ve mast hücresi üzerinde etkili olması tedaviye hızlı bir başlangıç yaptığını ve uzun süreli koruma sağladığını ön göstermektedir (Abelson, 1998, s. 798).

Butrus vd.'nin (2000, s. 1462) yaptığı klinik çalışmada, OLO birinci kuşak antihistaminik olan nedokromil ile karşılaştırılmış ve kullanımının hasta uyuncu ve kaşıntı giderme açısından üstünlüğü gösterilmiştir.

Bir başka çalışmada ise % 2 konsantrasyondaki göz damlası, alerjik konjunktiviti olan hastalarda günde 2 defa kullanılmış ve tedavide etkili olduğu, güvenilirliği ve iyi tolere edildiği sonuçlarına ulaşılmıştır (Ohno ve Ando, 2012, 876).

OLO, H₂ ve H₃ histamin, adrenerjik, dopaminerjik ve muskarinik reseptörleri ile etkileşimi zayıftır; ancak, H₁ histamin reseptörüne yüksek oranda seçicidir. Aynı zamanda sitokinez, adezyon molekülleri ve lökotrienlerin salımını baskıladığı ve antienflamatuvar özellikte olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (Shah vd., 2009, s. 100; Ackerman, 2016, s. 58).

OLO oral, nazal ve göze uygulanan preparatları da dâhil olmak üzere etkinlik mekanizması benzer olan üç farklı dozaj şekli bulunmaktadır. Bütün preparatları genellikle iyi tolere edilir. En yaygın görülen yan etkileri baş ağrısı, duyarlılık, göz kuruluğu ve keratittir. Ayrıca nazal ve oküler kullanımda çok nadir de olsa yüksek duyarlılığa neden olduğu kaydedilmiştir (Nickels vd., 2011, s. 1594).

Farmakokinetik açıdan incelenen OLO'nun oküler uygulanması sonucu sistemik emiliminin çok düşük olduğu saptanmıştır. Sağlıklı gönüllüler ile yapılan çalışmada 2 hafta boyunca 12 saatte bir uygulanan oftalmik OLO'nun ardından plazma konsantrasyonunun tayin sınırının altında olduğu (< 0.5 ng/mL) bulunmuştur (Alcon e-katalog).

Plazma yarı ömrü 3 saat olan olopatadin'in vücuttan atılımının büyük çoğunluğu böbrek yoluyla atılır. Atılımı, % 60-70 oranında ana molekül olarak, düşük miktarda da monodesmetil ve N-oksit metabolitleri şeklindedir.

Ruhsat kullanım talimatında 6 hafta boyunca 8 saat arayla günde 2 kez uygulandığında alerjik konjunktivit tedavisinde etkili olduğu belirtilmiştir (Alcon e-katalog).

Oküler kullanım sonrası sistemik biyoyararlanımı hakkında veri bulunmamaktadır. Ancak farmakokinetik çalışmalarda oral uygulamaya göre oküler uygulamada plazma konsantrasyonu yaklaşık 50-200 kat düşük olduğu için yaşlılarda ve böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda doz ayarlamasına gerek olmadığı bildirilmiştir (Leonardi ve Quintieri, 2010, s. 972).

Ayrıca yapılan çalışmalarda baş ağrısı, bulanık görme, gözde yanma ve batma, ağız kuruluğu ve boğaz ağrısı gibi yan etkilere neden olabileceği kaydedilmiştir (Yayla, Avşar ve Cansever, 2014, s. 266).

OLO içeren ticari preparatlar **Çizelge 2.9.**'da sunulmaktadır.

Çizelge 2.9. OLO İçeren Ticari Preparatlar

Preparat İsmi	Firma İsmi	Farmasötik Şekli	Ruhsat Tarihi
Patanol®	Alcon	% 0.1 steril oftalmik çözelti	30.11.2000
Ofnol®	Abdi İbrahim	% 0.1 steril oftalmik çözelti	02.02.2011
Patanol S®	Alcon	% 0.2 steril oftalmik çözelti	26.12.2012
Pallada®	World Medicine	% 0.1 steril oftalmik çözelti	31.10.2013
Oladin®	Bilim	% 0.1 steril oftalmik çözelti	08.02.2014

Kaynak: Rx Media, 2016.

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Maddeler

<u>Madde adı</u>	<u>Firma adı</u>
1-Butanol	: Sigma-Aldrich, Almanya
Asetik asit	: Sigma-Aldrich, Almanya
Asetonitril	: Sigma-Aldrich, Almanya
Benzalkonyum klorür	: Fluka, Almanya
Dötorokloroform	: Merck, Almanya
Etanol	: Sigma-Aldrich, Almanya
Eudragit® RL 100	: Degussa Röhm Pharma Polymers, Almanya
Eudragit® RS 100	: Degussa Röhm Pharma Polymers, Almanya
Hidroksi propil metil selüloz	: Sigma-Aldrich, Almanya
İzopropil alkol	: Sigma-Aldrich, Almanya
İzopropil miristat	: Merck, Almanya
İzopropil Palmitat	: Merck, Almanya
Kalsiyum klorür	: Sigma-Aldrich, Almanya
Metanol	: Sigma-Aldrich, Almanya
Olopatadin hidroklorür	: Sigma-Aldrich, Almanya
Pluronic F® 127	: Sigma-Aldrich, Almanya
Polietilen glikol 400	: Sigma-Aldrich, Almanya
Poloxamer®	: Sigma-Aldrich, Almanya
Sodyum asetat	: Merck, Almanya
Sodyum bikarbonat	: Sigma-Aldrich, Almanya
Sodyum klorür	: Merck, Almanya
Span® 20	: Sigma-Aldrich, Almanya
Span® 80	: Sigma-Aldrich, Almanya
Tween® 20	: Sigma-Aldrich, Almanya
Tween® 80	: Sigma-Aldrich, Almanya
Dimetil sülfoksit (DMSO)	: Applichem, Almanya
<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)</i>	: Biological Ind., İsrail
MTT Boyası	: Applichem, Almanya

Penisilin/Streptomisin

: GIBCO, İngiltere

3.2. Kullanılan Cihazlar

Buzdolabı

: Arçelik No Frost, Türkiye

Derin Dondurucu

: Liebherr Medline, LGEX 3410,
Almanya

Diferansiyel Taramalı Kalorimetri

: Shimadzu DSC-60, Japonya

Distile Su Cihazı

: Millipore, Fransa

Etüv

: Nüve, FN500, Türkiye

Hassas terazi

: Mettler AM 100, ABD

İnfrared Spektrofotometresi

: Shimadzu IR Prestige-21,
Japonya

Japonya

Karbondioksitli Etüv

: BINDER, Almanya

Kondüktometre

: Hanna Instruments HI8820,
Portekiz

Magnetik Karıştırıcı

: Wisd Laboratory Instruments,
Daihan SMH5-3, Kore

Manyetik ısıtıcı

: IKA®, Almanya

Mekanik karıştırıcı

: IKA® RW 20, Almanya

Otoklav

: Hirayama HVE 50, Japonya

Parçacık Büyüklüğü Analiz Cihazı

: Zeta Sizer Nano Series, İngiltere

pH Metre

: WTW Profi Lab. pH 597, Almanya

Plate Okuyucu

: Cytation 5, ABD

Püskürterek Kurutma Cihazı

: Nano Spray-Dryer B-90, Büchi,
İsviçre

Reometre

: Brookfield, Amerika

Santrifüj

: Eppendorf Centrifuge 5417R,
Almanya

Santrifüj

: Nüve NF400, Türkiye

Steril Kabin

: Biowizard Xtraline 130, Blue
Series, Finlandiya

Nükleer Manyetik Rezonans

Spektrofotometresi

: Ultra Shield CP MAS NMR,
Almanya

Taramalı Elektron Mikroskopu

: FESEM SUPRATM 50 VP ZEISS,
Almanya

Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi

: Agilent Technologies, 1290
infinity, Almanya

Ultrasonik Banyo

: Wisc Laboratory Instruments,
WUC-A03H, Kore

Vorteks

: Jeitech VM96B, Kore

X-Işını Kırınım Cihazı

: XRD-RIKAGU D/Max-3C,

Zeta Potansiyel Analiz Cihazı

: Zeta Sizer Nano Series, İngiltere

4. YÖNTEMLER

4.1. Analitik Yöntem Geliştirme ve Validasyon Çalışmaları

4.1.1. Analitik yöntem geliştirme

Çalışmalarda etkin madde olan OLO'nun miktar tayini için Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi (UPLC) kullanılmıştır. Sabit faz olarak C₁₈ kolonunun kullanıldığı sistemde hareketli faz olarak metanol, su ve tampon çözeltisinin farklı oranlarda karıştırılması ile izokritik ayırım yapılmasına karar verilmiştir. En uygun hareketli fazın seçiminde farklı faz ve oranlar denenerek OLO'nun sinyali ve diğer maddelerin sinyallerinden ayrılma durumu değerlendirilmiştir.

Etkin madde ile hazırlanan hareketli faz sıcaklığı 20-40°C arasında değiştirilen kolona verilmiştir. Dedektör kullanılarak OLO'nun farklı dalga boylarındaki piki incelenmiş ve en görünür olduğu dalga boyu belirlenmiştir.

4.1.2. Validasyon

Analitik yöntem validasyonunun amacı yöntemin uygun olduğunu kanıtlamak için kullanılan test yönteminin doğruluk ve güvenilirliğinin verilerle gösterilmesidir. Bu çalışmada, etkin maddenin miktar tayini yöntem validasyonunda doğrusalılık, doğruluk, kesinlik, seçicilik ve duyarlılık gibi analitik parametreler esas alınmış ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

4.1.2.1. Doğrusallık

Analitik yöntemin doğrusalılığı bilinen konsantrasyondaki stok çözeltiden farklı oranlarda hazırlanan örnekler ile doğru orantılı test sonuçları elde edilebilme yeteneğidir. Doğrusal ilişki için analitik yöntemin çalışma aralığı içerisinde bir bölge seçilmelidir.

Doğrusallık, analit konsantrasyonunun fonksiyonu olarak bir sinyal alanı verir. Bu test sonuçları, regresyon analizi ve uygun istatistiksel yöntemlerle değerlendirme yapılır. Doğrusallık için en az 5 konsantrasyonda çalışma önerilmektedir.

Doğru denkleminin belirlenmesi için, 5 ile 50 µg/mL konsantrasyon aralığında 6 seri hazırlanmıştır. Bu çözeltiler UPLC'ye enjekte edilerek pik alanları ve tutunma zamanları bulunmuştur.

4.1.2.2. Doğruluk

Analitik yöntemin doğruluğu, bulunan veya kabul edilen değerlerin gerçek değer veya kabul edilen referans değere olan yakınlığını ifade eder.

Doğruluğun belirlenebilmesi için konsantrasyonu bilinen örneklerin analizi yapılır ve hesaplanan miktarların gerçek miktarlara yakınlığı karşılaştırılır. Bu parametre incelenirken en az 3 farklı konsantrasyonda ve 3 kez tekrarlanarak hesaplama yapılmalıdır. Sonuçlar % verim ve her seri için bağıl standart sapma olarak verilir.

4.1.2.3. Kesinlik

Kesinlik aynı örnekten yapılan birden fazla örneklemden oluşan seriler arasındaki yakınlığı ifade eder. Kesinlik üç düzeyde kabul edilir: tekrar elde edilebilirlik, ara kesinlik ve tekrarlanabilirlik. Yöntemin kesinliğini göstermek için güven aralığı ve bağıl standart sapma değeri verilir.

Tekrar elde edilebilirlik, bir analizin laboratuvar koşulları değiştirildiğinde bile doğru sonuç vermesidir; ancak zorunlu olmayan analitik parametredir.

Ara kesinlik, rastgele değişkenlerin analitik yönteme etkisinin belirlenmesidir. Değişken gün, analist, ekipman, araç ve malzeme olabilir.

Tekrarlanabilirlik parametresi aynı stok çözeltisinin kısa zaman aralıklarında birkaç kez tekrarlanarak ölçülmesi ile elde edilir. Bu işlem ya 3 farklı konsantrasyonun 3'er kez tekrarı ile veya test konsantrasyonunun tamamının en az 6 kez tekrarı ile gerçekleştirilir.

4.1.2.4. Çalışma Aralığı

Kullanılan analitik yöntemin doğrusallık, doğruluk ve kesinlik koşullarına sahip olduğunun gösterilmesi için örnek içindeki analitin alt ve üst konsantrasyonlarının aralığıdır. Çalışma aralığı, genellikle, doğrusallık çalışmaları ile işlemin amaçlanan uygulamasına bağlı olarak belirlenir. Çalışma aralığının belirlenmesinde yapılacak olan çalışma dikkate alınmalıdır (ICH Topic Q2B, 1996, s. 8):

- Uyuşturucu madde ve bitmiş ürün analizi için, test konsantrasyonunun %80 ile %120 aralığında olmalıdır.
- Etkin madde miktar tayini testi için test konsantrasyonunun en az %70 ile %130 aralığında veya daha geniş aralıkta olmalıdır.
- Çözünme testi için belirlenen aralığın \pm %20'sinde çalışılması gereklidir.

4.1.2.5. Seçicilik

Seçicilik analitik yöntemin yalnızca hedeflenen maddenin veya maddelerin analizine özgü olduğunu değerlendirebilme yeteneğidir. Tek bir bileşen için yapılan ölçüm, ortamda bulunan diğer bileşenlerden kaynaklanabilecek girişimlerden etkilenmemelidir. Eğer yöntem birden fazla maddenin analizi için kullanılacaksa, yöntemin seçiciliğini göstermek her zaman olası olmayabilir. Bu durumda, iki ya da daha fazla analitik işlem kombinasyonu kullanılması önerilir.

4.1.2.6. Duyarlılık

Analitik yöntemin düşük konsantrasyonları saptayabilme yeteneğidir. Saptama sınırı (LOD), örnek içindeki analitin konsantrasyonunun tam değer olarak en düşük düzeydeki miktarıdır. Bu değer kesin bir kantitatif değer olmayabilir. Miktar tayini sınırı (LOQ), örnek içindeki analitin uygun doğruluk ve kesinlikle kantitatif olarak saptanabilen en düşük miktarıdır. Hem saptama sınırı hem de miktar tayini sınırını belirlemek için yöntemin enstrümental olup olmamasına bağlı olarak farklı yaklaşımlar vardır:

- Görsel değerlendirmeye bağlı yöntem,
- Sinyal-gürültü yöntemi,
- Eğim ve standart sapmaya bağlı yöntem.
 - Boş örneklerin standart sapması
 - Kalibrasyon eğrisinin kullanımı

4.1.2.7. Sağlamlık/Tutarlılık

Analitik yöntemin küçük değişimlerden etkilenmeden kalma kapasitesinin ölçümüdür. Ancak bu parametre yöntemde bilinçli değişiklik yapıldığında değil normal kullanım sırasında ortaya çıkan değişimde güvenilirlik sağlar.

4.1.2.8. Sistem Uygunluğu

Sistem uygunluk testi birçok analitik işlemin ayrılmaz parçasıdır. Testi, donanımı, analitik işlemi ve elektronik durumu kapsar. Sistem uygunluk testi parametreleri valide edilmiş işlemin tipine bağlı olarak planlanır.

USP (Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi) tarafından tanımlanan sistem uygunluk testi parametreleri aşağıda verilmiştir.

- Pik morfolojisi
- Teorik tabaka sayısı
- Kuyruklanma ve asimetri faktörleri
- Kapasite faktörü
- Seçicilik faktörü
- Ayırım gücü
- Pik yüksekliği veya alanının % bağıl standart sapması

Bu kriterlerden en az iki tanesinin gerekli koşulu sağlaması yöntemin sistem uygunluğunu gösterir (Berkman, 2007, s.36).

4.2. Formülasyonda Kullanılan Maddelerle Yapılan Çalışmalar

4.2.1. İnfrared (FT-IR) analizi

Etkin madde olan OLO ve çalışmada kullanılan polimerlerin FT-IR analizi için 500-4000 cm^{-1} arasında spektrumlar alınmıştır.

4.2.2. Nükleer manyetik rezonans (NMR) analizi

Etkin madde ve kullanılan polimerlerin NMR spektrumları dötero kloroform kullanılarak alınmıştır.

4.2.3. Termal analiz

OLO ve çalışmada kullanılan polimerlerin termal analizinde diferansiyel taramalı kalorimetre kullanılmış ve termogramlar elde edilmiştir. Yaklaşık 3-5 mg madde alüminyum örnek kabına konulmuş ve basınç yardımı ile kapatılmıştır. Analiz boş alüminyum örnek kabı referans alınarak, 50 $\text{mL} \cdot \text{dk}^{-1}$ akış hızında azot gazı ve 10 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{dk}^{-1}$ sıcaklık artışı ile gerçekleştirilmiştir.

4.2.4. X-ışını kırınım analizi

Etkin madde ve kullanılan polimerlerin X-ışını kırınım analizi 4-40 $^{\circ}\text{C}$ aralığında 40 kV voltaj ve 20 mA akım şiddetindeki jeneratör kullanılarak yapılmıştır.

4.2.5. Morfolojik inceleme

OLO ve kullanılan polimerler karbon bantı üzerine yayılıp altın ile kaplandıktan sonra yüzey özellikleri ve şekilleri taramalı elektron mikroskobu kullanılarak incelenmiştir.

4.3. Mikroemülsiyonlar ile Yapılan Çalışmalar

4.3.1. Bileşenlerin seçimi

Bu çalışmada hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarında yağlı faz olarak izopropil miristat (IPM) ve izopropil palmitat (IPP), ve yüzey etkin madde (YEM) olarak Tween® 80, Tween® 20, Span® 80 ve Span® 20 kullanılmıştır. Hazırlanan formülasyonlara yardımcı yüzey etkin madde (Y.YEM) olarak izopropil alkol, etanol, 1-butanol, polietilen glikol 400 ve sulu faz olarak ise distile su eklenmiştir.

4.3.2. Önformülasyon çalışmaları

YEM ve Y.YEM'ler farklı oranlarda karıştırılmış ve formülasyon toplam 10 g olacak şekilde 9 ayrı formülasyon titrasyon yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Yağ, YEM ve Y.YEM tartılıp mekanik karıştırıcı ile karıştırılmış ve distile su oda sıcaklığında damla damla eklenerek titre edilmiştir. Su ekleme işlemi bulanıklık görülen noktaya kadar sürdürülmüş ve karışımın bozulmadan iç faza alabildiği distile su miktarı mL olarak kaydedilmiştir.

Formülasyonlar hazırlanırken mekanik karıştırıcının farklı hızlarının denenmesi sonucunda su alma kapasitesi ve saydamlık açısından 700 rpm hız seçilmiştir. Formülasyon hazırlama sıcaklık parametresi değerlendirildiğinde, alkol yapısında olan Y.YEM'lerin yüksek sıcaklıkta uçarak formülasyondan uzaklaşması nedeni ile 25°C'lik oda sıcaklığında çalışılması uygun bulunmuştur.

Yağlı faz olarak IPP'nin kullanıldığı formülasyonların IPM içerenlere göre iç faza daha az miktarda su aldığı saptandığından yağlı faz olarak IPM tercih edilmiştir. Span® 20 ile hazırlanan formülasyonların su alma kapasitesinin Span® 80 ile hazırlanan formülasyonlardan daha yüksek olduğu görülmüştür. Ancak Span® 20 içeren formülasyonun kararlılık sorunu nedeni ile Span® 80 kullanılmasının uygun olduğuna karar verilmiştir.

Ön çalışmalar sonucunda belirlendiği üzere 700 rpm karıştırma hızında ve 25°C'lik oda sıcaklığında hazırlanan farklı önformülasyonların içeriği Çizelge 4.1-4.4'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Mikroemülsiyon Önformülasyonlarının Bileşenleri (* Faz ayrışması)

Formülasyon (gram)	Yağ IPM	YEM1 Span® 20	YEM2 Tween® 80	Y.YEM -	YEM+Y.YEM (3:2)	Distile Su (mL)*
F1	1.00	5.40	3.60	-	9.00	-
F2	2.00	4.80	3.20	-	8.00	-
F3	3.00	4.20	2.80	-	7.00	0.76
F4	4.00	3.60	2.40	-	6.00	0.70
F5	5.00	3.00	2.00	-	5.00	0.68
F6	6.00	2.40	1.60	-	4.00	0.67
F7	7.00	1.80	1.20	-	3.00	0.65
F8	8.00	1.20	0.80	-	2.00	0.62
F9	9.00	0.60	0.40	-	1.00	0.40

Çizelge 4.2. Mikroemülsiyon Önformülasyonlarının Bileşenleri (* Faz ayrışması)

Formülasyon (gram)	Yağ IPM	YEM1 Span® 80	YEM2 -	Y.YEM PEG 400	YEM+Y.YEM (1:1)	Distile Su (mL)*
F1	1.00	4.50	-	4.50	9.00	0.72
F2	2.00	4.00	-	4.00	8.00	0.85
F3	3.00	3.50	-	3.50	7.00	0.96
F4	4.00	3.00	-	3.00	6.00	1.32
F5	5.00	2.50	-	2.50	5.00	1.75
F6	6.00	2.00	-	2.00	4.00	1.35
F7	7.00	1.50	-	1.50	3.00	1.20
F8	8.00	1.00	-	1.00	2.00	0.98
F9	9.00	0.50	-	0.50	1.00	0.61
Formülasyon	IPM	Span® 80	-	PEG 400	(2:1)	Distile Su
F1	1.00	6.00	-	3.00	9.00	-
F2	2.00	5.33	-	2.67	8.00	-
F3	3.00	4.67	-	2.33	7.00	-
F4	4.00	4.00	-	2.00	6.00	-
F5	5.00	3.33	-	1.67	5.00	-
F6	6.00	2.67	-	1.33	4.00	-
F7	7.00	2.00	-	1.00	3.00	-
F8	8.00	1.33	-	0.67	2.00	-
F9	9.00	0.67	-	0.33	1.00	-

Çizelge 4.2. (Devam) Mikroemülsiyon Önformülasyonlarının Bileşenleri

Formülasyon (gram)	Yağ IPM	YEM1 Span® 80	YEM2 -	Y.YEM PEG 400	YEM+Y.YEM (1:2)	Distile Su (mL)
F1	1.00	3.00	-	6.00	9.00	-
F2	2.00	2.67	-	5.33	8.00	-
F3	3.00	2.33	-	4.67	7.00	-
F4	4.00	2.00	-	4.00	6.00	-
F5	5.00	1.67	-	3.33	5.00	-
F6	6.00	1.33	-	2.67	4.00	-
F7	7.00	1.00	-	2.00	3.00	-
F8	8.00	0.67	-	1.33	2.00	-
F9	9.00	0.33	-	0.67	1.00	-

Çizelge 4.3. Mikroemülsiyon Önformülasyonlarının Bileşenleri

Formülasyon (gram)	Yağ IPM	YEM1 Span® 80	YEM2 Tween® 80	Y.YEM PEG 400	YEM+Y.YEM (1:1)	Distile Su (mL)
F1	1.00	2.25	2.25	4.50	9.00	-
F2	2.00	2.00	2.00	4.00	8.00	-
F3	3.00	1.75	1.75	3.50	7.00	-
F4	4.00	1.50	1.50	3.00	6.00	-
F5	5.00	1.25	1.25	2.50	5.00	-
F6	6.00	1.00	1.00	2.00	4.00	-
F7	7.00	0.75	0.75	1.50	3.00	-
F8	8.00	0.50	0.50	1.00	2.00	-
F9	9.00	0.25	0.25	0.50	1.00	-
Formülasyon	IPM	Span® 80	Tween® 80	PEG 400	(3:1)	Distile Su
F1	1.00	4.05	2.70	2.25	9.00	0.68
F2	2.00	3.60	2.40	2.00	8.00	0.74
F3	3.00	3.15	2.10	1.75	7.00	0.88
F4	4.00	2.70	1.80	1.50	6.00	0.98
F5	5.00	2.25	1.50	1.25	5.00	0.78
F6	6.00	1.80	1.20	1.00	4.00	0.76
F7	7.00	1.35	0.90	0.75	3.00	0.60
F8	8.00	0.90	0.60	0.50	2.00	0.48
F9	9.00	0.45	0.30	0.25	1.00	0.36
Formülasyon	IPM	Span® 80	Tween® 80	PEG 400	(1:2)	Distile Su
F1	1.00	1.50	1.50	6.00	9.00	0.68
F2	2.00	1.33	1.33	5.33	8.00	0.65
F3	3.00	1.17	1.17	4.67	7.00	0.50
F4	4.00	1.00	1.00	4.00	6.00	0.42
F5	5.00	0.83	0.83	3.33	5.00	-
F6	6.00	0.67	0.67	2.67	4.00	-
F7	7.00	0.50	0.50	2.00	3.00	-
F8	8.00	0.33	0.33	1.33	2.00	-
F9	9.00	0.17	0.17	0.67	1.00	-

Çizelge 4.4. Mikroemülsiyon Önformülasyonlarının Bileşenleri

Formülasyon (gram)	Yağ IPM	YEM1 Span® 80	YEM2 Tween® 80	Y.YEM 1-butanol	YEM+Y.YEM (1:1)	Distile Su (mL)
F1	1.00	3.75	0.75	4.50	9.00	1.00
F2	2.00	3.33	0.67	4.00	8.00	0.82
F3	3.00	2.92	0.58	3.50	7.00	0.60
F4	4.00	2.50	0.50	3.00	6.00	0.42
F5	5.00	2.08	0.42	2.50	5.00	0.34
F6	6.00	1.67	0.33	2.00	4.00	-
F7	7.00	1.25	0.25	1.50	3.00	-
F8	8.00	1.83	0.17	1.00	2.00	-
F9	9.00	0.42	0.08	0.50	1.00	-
Formülasyon	IPM	Span® 80	Tween® 80	1-butanol	(1:1)	Distile Su
F1	1.00	3.60	0.90	4.50	9.00	1.04
F2	2.00	3.20	0.80	4.00	8.00	0.74
F3	3.00	2.80	0.70	3.50	7.00	0.54
F4	4.00	2.40	0.60	3.00	6.00	0.40
F5	5.00	2.00	0.50	2.50	5.00	0.22
F6	6.00	1.60	0.40	2.00	4.00	-
F7	7.00	1.20	0.30	1.50	3.00	-
F8	8.00	0.80	0.20	1.00	2.00	-
F9	9.00	0.40	0.10	0.50	1.00	-
Formülasyon	IPM	Span® 80	Tween® 80	1-butanol	(2:1)	Distile Su
F1	1.00	5.00	1.00	3.00	9.00	0.75
F2	2.00	4.44	0.89	2.67	8.00	0.56
F3	3.00	3.89	0.78	2.33	7.00	0.46
F4	4.00	3.33	0.67	2.00	6.00	0.32
F5	5.00	2.78	0.56	1.67	5.00	-
F6	6.00	2.22	0.44	1.33	4.00	-
F7	7.00	1.67	0.33	1.00	3.00	-
F8	8.00	1.11	0.22	0.67	2.00	-
F9	9.00	0.56	0.11	0.33	1.00	-
Formülasyon	IPM	Span® 80	Tween® 80	1-butanol	(2:1)	Distile Su
F1	1.00	4.80	1.20	3.00	9.00	0.90
F2	2.00	4.27	1.07	2.67	8.00	0.60
F3	3.00	3.73	0.93	2.33	7.00	0.46
F4	4.00	3.20	0.80	2.00	6.00	0.23
F5	5.00	2.67	0.67	1.67	5.00	0.12
F6	6.00	2.13	0.53	1.33	4.00	-
F7	7.00	1.60	0.40	1.00	3.00	-
F8	8.00	1.07	0.27	0.67	2.00	-
F9	9.00	0.53	0.13	0.33	1.00	-

Çizelge 4.4. (Devam) Mikroemülsiyon Önformülasyonlarının Bileşenleri

Formülasyon (gram)	Yağ IPM	YEM1 Span® 80	YEM2 Tween® 80	Y.YEM 1-butanol	YEM+Y.YEM (3:1)	Distile Su (mL)
F1	1.00	3.38	3.38	2.25	9.00	-
F2	2.00	3.00	3.00	2.00	8.00	-
F3	3.00	2.63	2.63	1.75	7.00	-
F4	4.00	2.25	2.25	1.50	6.00	-
F5	5.00	1.88	1.88	1.25	5.00	-
F6	6.00	1.50	1.50	1.00	4.00	-
F7	7.00	1.13	1.13	0.75	3.00	-
F8	8.00	0.75	0.75	0.50	2.00	-
F9	9.00	0.38	0.38	0.25	1.00	-
Formülasyon	IPM	Span® 80	Tween® 80	1-butanol	(3:1)	Distile Su
F1	1.00	5.63	1.13	2.25	9.00	0.65
F2	2.00	5.00	1.00	2.00	8.00	0.50
F3	3.00	4.38	0.88	1.75	7.00	0.47
F4	4.00	3.75	0.75	1.50	6.00	0.38
F5	5.00	3.13	0.63	1.25	5.00	-
F6	6.00	2.50	0.50	1.00	4.00	-
F7	7.00	1.88	0.38	0.75	3.00	-
F8	8.00	1.25	0.25	0.50	2.00	-
F9	9.00	0.63	0.13	0.25	1.00	-
Formülasyon	IPM	Span® 80	Tween® 80	1-butanol	(3:1)	Distile Su
F1	1.00	5.40	1.35	2.25	9.00	0.70
F2	2.00	4.80	1.20	2.00	8.00	0.50
F3	3.00	4.20	1.05	1.75	7.00	0.42
F4	4.00	3.60	0.90	1.50	6.00	0.36
F5	5.00	3.00	0.75	1.25	5.00	-
F6	6.00	2.40	0.60	1.00	4.00	-
F7	7.00	1.80	0.45	0.75	3.00	-
F8	8.00	1.20	0.30	0.50	2.00	-
F9	9.00	0.60	0.15	0.25	1.00	-
Formülasyon	IPM	Span® 80	Tween® 80	1-butanol	(4:1)	Distile Su
F1	1.00	3.60	3.60	1.80	9.00	-
F2	2.00	3.20	3.20	1.60	8.00	-
F3	3.00	2.80	2.80	1.40	7.00	1.15
F4	4.00	2.40	2.40	1.20	6.00	0.98
F5	5.00	2.00	2.00	1.00	5.00	0.70
F6	6.00	1.60	1.60	0.80	4.00	0.28
F7	7.00	1.20	1.20	0.60	3.00	0.19
F8	8.00	0.80	0.80	0.40	2.00	0.15
F9	9.00	0.40	0.40	0.20	1.00	-

Çizelge 4.4. (Devam) Mikroemülsiyon Önformülasyonlarının Bileşenleri

Formülasyon (gram)	Yağ IPM	YEM1 Span® 80	YEM2 Tween® 80	Y.YEM 1-butanol	YEM+Y.YEM (5:1)	Distile Su (mL)
F1	1.00	3.75	3.75	1.50	9.00	-
F2	2.00	3.33	3.33	1.33	8.00	1.70
F3	3.00	2.91	2.91	1.17	7.00	1.41
F4	4.00	2.50	2.50	1.00	6.00	1.02
F5	5.00	2.08	2.08	0.83	5.00	1.00
F6	6.00	1.67	1.67	0.67	4.00	0.44
F7	7.00	1.25	1.25	0.50	3.00	0.28
F8	8.00	0.83	0.83	0.33	2.00	0.14
F9	9.00	0.42	0.42	0.17	1.00	0.10
Formülasyon	IPM	Span® 80	Tween® 80	1-butanol	(6:1)	Distile Su
F1	1.00	3.86	3.86	1.29	9.00	1.14
F2	2.00	3.43	3.43	1.14	8.00	1.86
F3	3.00	3.00	3.00	1.00	7.00	1.68
F4	4.00	2.57	2.57	0.86	6.00	1.52
F5	5.00	2.14	2.14	0.71	5.00	1.28
F6	6.00	1.71	1.71	0.57	4.00	1.02
F7	7.00	1.29	1.29	0.43	3.00	0.78
F8	8.00	0.86	0.86	0.29	2.00	0.44
F9	9.00	0.43	0.43	0.14	1.00	0.36
Formülasyon	IPM	Span® 80	Tween® 80	1-butanol	(7:1)	Distile Su
F1	1.00	3.94	3.94	1.13	9.00	1.02
F2	2.00	3.50	3.50	1.00	8.00	1.98
F3	3.00	3.06	3.06	0.88	7.00	2.34
F4	4.00	2.62	2.62	0.75	6.00	2.20
F5	5.00	2.19	2.19	0.63	5.00	1.54
F6	6.00	1.75	1.75	0.50	4.00	1.24
F7	7.00	1.31	1.31	0.38	3.00	0.70
F8	8.00	0.88	0.88	0.25	2.00	0.56
F9	9.00	0.44	0.44	0.13	1.00	0.42
Formülasyon	IPM	Span® 80	Tween® 80	1-butanol	(8:1)	Distile Su
F1	1.00	4.00	4.00	1.00	9.00	0.98
F2	2.00	3.56	3.56	0.89	8.00	1.86
F3	3.00	3.11	3.11	0.78	7.00	2.63
F4	4.00	2.67	2.67	0.67	6.00	2.10
F5	5.00	2.22	2.22	0.56	5.00	1.52
F6	6.00	1.78	1.78	0.45	4.00	1.08
F7	7.00	1.33	1.33	0.33	3.00	0.80
F8	8.00	0.89	0.89	0.22	2.00	0.58
F9	9.00	0.44	0.44	0.11	1.00	0.48

Çizelge 4.4. (Devam) Mikroemülsiyon Önformülasyonlarının Bileşenleri

Formülasyon (gram)	Yağ IPM	YEM1 Span® 80	YEM2 Tween® 80	Y.YEM 1-butanol	YEM+Y.YEM (9:1)	Distile Su (mL)
F1	1.00	4.05	4.05	0.90	9.00	0.76
F2	2.00	3.60	3.60	0.80	8.00	1.90
F3	3.00	3.15	3.15	0.70	7.00	2.30
F4	4.00	2.70	2.70	0.60	6.00	2.04
F5	5.00	2.25	2.25	0.50	5.00	1.26
F6	6.00	1.80	1.80	0.40	4.00	1.10
F7	7.00	1.35	1.35	0.30	3.00	0.70
F8	8.00	0.90	0.90	0.20	2.00	0.62
F9	9.00	0.45	0.45	0.10	1.00	0.48

Formülasyon	IPM	Span® 80	Tween® 80	1-butanol	(10:1)	Distile Su
F1	1.00	4.09	4.09	0.82	9.00	0.95
F2	2.00	3.64	3.64	0.73	8.00	1.60
F3	3.00	3.18	3.18	0.64	7.00	2.10
F4	4.00	2.73	2.73	0.55	6.00	1.80
F5	5.00	2.27	2.27	0.45	5.00	1.26
F6	6.00	1.82	1.82	0.36	4.00	1.12
F7	7.00	1.36	1.36	0.27	3.00	0.64
F8	8.00	0.91	0.91	0.18	2.00	0.50
F9	9.00	0.45	0.45	0.09	1.00	0.42

Formülasyon	IPM	Span® 80	Tween® 80	1-butanol	(11:1)	Distile Su
F1	1.00	4.13	4.13	0.75	9.00	0.94
F2	2.00	3.67	3.67	0.67	8.00	1.60
F3	3.00	3.21	3.21	0.58	7.00	1.90
F4	4.00	2.75	2.75	0.50	6.00	1.78
F5	5.00	2.29	2.29	0.42	5.00	1.26
F6	6.00	1.83	1.83	0.33	4.00	1.02
F7	7.00	1.38	1.38	0.25	3.00	0.60
F8	8.00	0.92	0.92	0.17	2.00	0.46
F9	9.00	0.46	0.46	0.08	1.00	0.32

4.3.3. Üçgen faz diyagramı hazırlanması

Ön formülasyon çalışmalarının ardından üçgen faz diyagramı çizimi için alanlar daraltılmış ve 7 formülasyon noktası üzerinden mikroemülsiyon alanları çizilmiştir. Üçgen faz diyagramı çizilmesi amacıyla yağ, YEM ve su miktarları % olarak hesaplanmış ve Çizelge 4.5-4.9'da gösterilmiştir. % miktarlar toplam 10'ar g formülasyona su eklendikten sonra belirlenmiştir. Farklı oranlardaki YEM miktarı için farklı üçgen faz diyagramları hazırlanmıştır.

Çizelge 4.5. 7:1 Formülasyon Oranına Ait % Bileşenler

Formülasyon (7:1)	Yağ (%) (IPM)	YEM+Y.YEM (%) (Span® 80, Tween® 80, 1-butanol)	Distile su (%)
F1	9.1	81.7	9.3
F2	16.7	66.8	16.5
F3	24.3	56.7	19.0
F4	32.8	49.2	18.0
F5	43.3	43.4	13.3
F6	53.4	35.6	11.0
F7	65.5	28.0	6.5

Çizelge 4.6. 8:1 Formülasyon Oranına Ait % Bileşenler

Formülasyon (8:1)	Yağ (%) (IPM)	YEM+Y.YEM (%) (Span® 80, Tween® 80, 1-butanol)	Distile su (%)
F1	9.1	82.0	8.9
F2	16.9	67.5	15.7
F3	23.8	55.4	20.8
F4	33.0	49.6	17.3
F5	43.4	43.4	13.2
F6	54.2	36.1	9.7
F7	64.9	27.7	7.4

Çizelge 4.7. 9:1 Formülasyon Oranına Ait % Bileşenler

Formülasyon (9:1)	Yağ (%) (IPM)	YEM+Y.YEM (%) (Span® 80, Tween® 80, 1-butanol)	Distile su (%)
F1	9.3	83.6	7.1
F2	16.8	67.2	16.0
F3	24.4	56.9	18.7
F4	33.2	49.8	16.9
F5	44.4	44.4	11.2
F6	54.1	36.0	9.9
F7	65.4	28.0	6.5

Çizelge 4.8. 10:1 Formülasyon Oranına Ait % Bileşenler

Formülasyon (10:1)	Yağ (%) (IPM)	YEM+Y.YEM (%) (Span® 80, Tween® 80, 1-butanol)	Distile su (%)
F1	9.1	82.2	8.7
F2	17.3	68.9	13.8
F3	24.8	57.9	17.4
F4	33.9	50.8	15.3
F5	44.4	44.4	11.2
F6	54.1	35.9	10.1
F7	65.9	28.1	6.0

Çizelge 4.9. 11:1 Formülasyon Oranına Ait % Bileşenler

Formülasyon (11:1)	Yağ (%) (IPM)	YEM+Y.YEM (%) (Span® 80, Tween® 80, 1-butanol)	Distile su (%)
F1	9.1	82.3	8.6
F2	17.2	69.0	13.8
F3	25.2	58.8	16.0
F4	34.0	50.9	15.1
F5	44.4	44.4	11.2
F6	54.5	36.3	9.3
F7	66.0	28.4	5.7

4.3.4. Formülasyonun seçimi

Üçgen faz diyagramındaki formülasyon oranları işaretlenmiş, tüm gruplar için mikroemülsiyon alanları saptanmış ve en büyük alana sahip grup seçilmiştir. Ağırlık merkezindeki yüzde oranlarına göre etkin maddesiz mikroemülsiyon hazırlanmış ve 2 hafta kararlılık için oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu süre sonunda faz ayrımı gözlenmemiştir. Daha sonra etkin madde içeren formülasyon oranları belirlenmiştir.

4.3.5. Etkin madde içeren formülasyonun hazırlanması

Üçgen faz diyagramında en geniş mikroemülsiyon alanının ağırlık merkezine göre hazırlanan etkin madde içeren mikroemülsiyon formülasyonunun oranları Çizelge 4.10'da sunulmuştur. IPM, Tween® 80, Span® 80 ve 1-butanol hesaplanan miktarlarda tartılıp karıştırılmıştır. 25°C'lik oda sıcaklığında ve 700 rpm karıştırma hızında, gerekli miktardaki distile su damla damla eklenmiştir. Etkin madde distile sudaki toplam konsantrasyonu % 0.1 olacak şekilde çözündürülerek sisteme yüklenmiştir.

Çizelge 4.10. Mikroemülsiyon Formülasyonunun Bileşenleri

Bileşen % (a/a)		
	Etkin Maddesiz Formülasyon	Etkin Maddeli Formülasyon
Olopatadin Hidroklorür	-	0.1
IPM	31.32	31.22
Tween® 80	26.03	26.03
Span® 80	26.03	26.03
1-butanol	5.79	5.79
Distile su	10.83	10.83

4.3.6. Mikroemülsiyon formülasyonların fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi

4.3.6.1. Fiziksel görünüş

Taze hazırlanan formülasyonlar fiziksel görünüşleri açısından görsel olarak incelenmiştir.

4.3.6.2. Tip tayini

Taze hazırlanan formülasyonların dış fazları yağlı faz ile seyreltilerek tipi kontrol edilmiş ve ayrıca formülasyonlara distile su eklenmiş ve bozunma durumları incelenmiştir. Bunların yanısıra tip tayini için iletkenlik ölçümü de kullanılmıştır.

4.3.6.3. Faz ayrımı ve santrifüj uygulanması

Taze hazırlanan formülasyonlar 500 ve 1000 rpm hızda 10 dakika santrifüj edilmiş ve faz ayrımı olup olmadığı değerlendirilmiştir. Santrifüj işleminin yanısıra formülasyon iki gün boyunca -20°C'de bekletip, oda sıcaklığında çözündürüldükten sonra fiziksel durumu görsel olarak incelenmiştir.

4.3.6.4. Damlacık boyutu ve dağılımı

Taze hazırlanan formülasyonların damlacık boyutu ve dağılımı zetasizer cihazı ile ölçülmüştür. Ölçüm her formülasyon için 6 kez tekrarlanmış, ortalama ve standart hata (SH) hesaplanmıştır.

4.3.6.5. Zeta potansiyel ölçümü

Taze hazırlanan formülasyonların zeta potansiyel ölçümü zetasizer cihazı ile yapılmıştır. Ölçüm her formülasyon için 6 kez tekrarlanmış, ortalama ve standart hata (SH) hesaplanmıştır.

4.3.6.7. Reolojik davranışın incelenmesi

Taze hazırlanan formülasyonların reolojik davranışı incelenmiştir. Reolojik analiz için Brookfield koni-tabla reometresi kullanılmıştır. Koninin açısı 1.565° ve çapı 1.2 cm'dir. Ölçüm 25°C'de yapılmıştır.

4.3.6.8. *İnfrared (FT-IR) analizi*

Taze hazırlanan formülasyonların FT-IR analizi 500-4000 cm^{-1} arasında gerçekleştirilmiştir.

4.3.6.9. *İn vitro salım çalışması*

Taze hazırlanan formülasyondan etkin maddenin *in vitro* salım profilinin belirlenmesi için salım ortamı olarak yapay gözyaşı kullanılmıştır. Çalışma göz yüzeyi sıcaklığı olan 32°C’de, 100 rpm hızdaki manyetik karıştırıcı ile diyaliz membran yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

Salım çalışmasına başlamadan önce suni gözyaşı vasatı hazırlanıp 32°C’ye getirilmiştir. Diyaliz membrana her formülasyondan 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonda olacak şekilde eklenip, salıma başlama süreleri kaydedilmiştir. Her bir ortamdan 5., 15., 30., 45., 60., 90., 120., 150., 180. dakikalarda ve 6., 18., 21., 24. ve 48. saatlerde toplam 14 örnek alınmıştır. Her formülasyon için salım çalışması 3 kez tekrarlanmış olup örneklerin, önceden valide edilmiş yöntem ile UPLC kullanılarak miktar tayinleri yapılmıştır.

4.3.7. Mikroemülsiyon formülasyonlarında yapılan kararlılık çalışmaları

Hazırlanan formülasyonlar kararlılık çalışması için 25±1°C, 4±1°C ve 40±1°C’lik sıcaklık koşullarında saklanmış ve belirli periyotlarda (7., 15., 30., 60. ve 90. günlerde) fiziksel özelliklerinin incelenmesi için testler uygulanmıştır.

4.3.7.1. *Fiziksel görünüş*

Farklı sıcaklık koşullarında saklanan formülasyonların fiziksel görünüşündeki değişim belirli aralıklarda görsel olarak incelenmiştir.

4.3.7.2. *Tip tayini*

25°C, 4°C ve 40°C’lik sıcaklık koşulunda saklanan formülasyonlar farklı günlerde yağlı ve sulu faz ile ayrı ayrı seyreltilip tip tayini yapılmıştır.

4.3.7.3. Faz ayrımı ve santrifüj uygulanması

Kararlılık çalışması koşullarında saklanan formülasyonlara 7., 15., 30., 60. ve 90. günlerde 500 ve 1000 rpm hızda 10 dakika santrifüj uygulanmış ve durumları incelenmiştir.

4.3.7.4. Damlacık boyutu ve dağılımı

25°C, 4°C ve 40°C'lık sıcaklık koşullarında saklanan formülasyonların damlacık boyutu ve dağılımı 7., 15., 30., 60. ve 90. günlerde ölçülmüştür.

4.3.7.5. Zeta potansiyel ölçümü

Kararlılık çalışması kapsamında zeta potansiyel ölçümleri yapılmıştır.

4.3.7.7. Reolojik davranışın incelenmesi

Reolojik inceleme 25°C, 4°C ve 40°C'lık sıcaklık koşullarında saklanan formülasyonlarda 0. zaman, 7., 15., 30., 60. ve 90. günlerde gerçekleştirilmiştir.

4.3.7.8. İnfrared (FT-IR) analizi

25°C, 4°C ve 40°C'lık sıcaklık koşullarında saklanan formülasyonların 90. günde 400-4000 cm⁻¹ arasında spektrumları alınmıştır.

4.3.7.9. Etkin madde miktar tayini

Kararlılık çalışması kapsamında daha önceden valide edilmiş UPLC yöntemi kullanılarak hazırlanan formülasyonlarda miktar tayini yapılmıştır.

4.4. Nanopartikül Formülasyonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar

4.4.1. Önformülasyon çalışması

Yapılan ön çalışmalarda, farklı oranlarda Eudragit® RS 100 ve RL 100 polimeri kullanılarak ve püskürterek kurutma yöntemi ile nanopartikül hazırlanmıştır. *Spray-dryer* cihazına verilen formülasyonun sisteme giriş sıcaklığı 120°C, çıkış sıcaklığı ise 70°C olarak ayarlanmıştır.

Hazırlanan önformülasyonların parçacık boyutu ve zeta potansiyel gibi özellikleri saptanarak elde edilen sonuçlara göre kararlılık çalışması iki farklı konsantrasyondaki formülasyon ile sürdürülmüştür.

4.4.2. Formülasyon hazırlanması

Formülasyonların hazırlanması için öncelikle etkin madde ve polimer 100 mL metanol içinde 500 rpm karıştırma hızındaki manyetik karıştırıcıda 12 saat karıştırılmıştır. Tamamen çözünme gerçekleştikten sonra formülasyon püskürtülerek kurutulmuştur. Sistemin kapatılmasının ardından partiküller cihazdan toplanmış ve analizi gerçekleştirilmiştir. Analizlerde kullanılan formülasyonların kod ve bileşenleri Çizelge 4.11’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.11. *Polimerik Nanopartikül Formülasyon Bileşenleri*

Formülasyon	Olopatadin Hidroklorür	Eudragit® RS 100
NP Plasebo	-	10
NP1	0.5	10
NP2	1	10

4.4.3. Nanopartikül formülasyonlarının fizikokimyasal özelliğinin belirlenmesi ve kararlılık çalışması

4.4.3.1. Parçacık boyutu analizi ve dağılımı

Hazırlanan nanopartikül formülasyonlarının parçacık boyutu ve dağılımı NaCl ile 50 µS iletkenliğe ayarlanan distile suda disperse edilerek ölçülmüştür. Ölçümler kararlılık çalışması kapsamında 3. ve 6. ayın sonunda tekrarlanmıştır.

4.4.3.2. Zeta potansiyel ölçümü

Hazırlanan nanopartikül formülasyonlarının zeta potansiyel ölçümü NaCl ile 50 µS iletkenliğe ayarlanan distile suda disperse edilerek ölçülmüştür. Ölçümler 3. ve 6. ayın sonunda kararlılık çalışması kapsamında tekrarlanmıştır.

4.4.3.3. pH ölçümü

Hazırlanan nanopartikül formülasyonların pH değeri ölçümleri pH metre ile yapılmıştır. Ölçümler 3. ve 6. ayın sonunda kararlılık çalışması için tekrarlanmıştır.

4.4.3.4. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) analizi

Hazırlanan formülasyonların spektrumları dötero kloroform kullanılarak alınmıştır. Analiz 6. ayın sonunda tekrarlanmıştır.

4.4.3.5. İnfrared (FT-IR) analizi

Hazırlanan formülasyonların FT-IR spektrumları 500-4000 cm^{-1} arasında alınmıştır. Analiz 6. ayın sonunda tekrarlanmıştır.

4.4.3.6. X-Işını kırınım (XRD) analizi

Hazırlanan formülasyonların X-ışını kırınım analizi 4-40°C aralığında 40 kV voltaj ve 20 mA akım şiddetinde jeneratör kullanılarak yapılmıştır

4.4.3.7. Termal analiz

Hazırlanan formülasyonların termal analizi için diferansiyel taramalı kalorimetre kullanılarak termogramları belirlenmiştir.

4.4.3.8. Morfolojik inceleme

Hazırlanan formülasyonlar karbon bandı üzerine yayılıp altın ile kaplandıktan sonra yüzey özelliği ve şekilleri taramalı elektron mikroskobu kullanılarak saptanmıştır.

4.4.3.9. Etkin madde miktar tayini

Etkin madde miktar tayini için çalışma kapsamında valide edilmiş UPLC yöntemi kullanılmıştır. Nanopartikül formülasyonları 5 mg tam olarak tartılmış, toplam etkin madde miktarı için 2 mL metanolde, yüzeye tutunan etkin madde miktarı için ise 2 mL distile suda çözündürülmüş ve UPLC ile analiz edilmiştir. Yüklenen etkin madde miktarı Eşitlik 1 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{OLO}_E = \{(\text{OLO}_T - \text{OLO}_S) \times \text{OLO}_T^{-1}\} \times 100$$

Eşitlik 1

OLO_T = Toplam Etkin Madde Miktarı

OLO_S = Yüze Tutunan Etkin Madde Miktarı

OLO_E = Yüklenen Etkin Madde Miktarı

4.4.3.10. *In vitro* salım çalışması

Hazırlanan formülasyonlardan etkin maddenin salım profilini saptamak için *in vitro* salım ortamı olarak yapay gözyaşı kullanılmıştır. Deney her formülasyon için 3 kez tekrarlanmıştır. Çalışma diyaliz membran yöntemi kullanılarak, göz yüzeyi sıcaklığı olan 32°C’de ve 100 rpm hızda manyetik karıştırıcı ile gerçekleştirilmiştir.

4.5. *In situ* Jel Formülasyonları ile Yapılan Çalışmalar

4.5.1. Bileşen seçimi

Hazırlanan *in situ* jel formülasyonlarında polimer olarak Poloxamer[®], Pluronic[®] F 127 ve hidroksi propil metil selüloz (HPMC), izotoni ayarı için sodyum klorür (NaCl), koruyucu madde olarak benzalkonyum klorür ve çözücü olarak distile su kullanılmıştır.

4.5.2. Önformülasyon çalışması

Formülasyon çalışmalarına farklı oranlarda polimer kullanılarak başlanmıştır. Polimerlerin oran seçimi kaynaklara uygun olarak yapılmıştır. Etkin maddenin sudaki çözeltisini izotonik hale getirmek üzere Raoult Yasası’na göre NaCl miktarı hesaplanmıştır. Koruyucu madde miktarı seçiminde ise piyasada bulunan göz preparatlarında en çok kullanılan madde ve orana göre % 0.01 benzalkonyum klorür kullanılmıştır.

Jel hazırlarken iki yöntemden biri kullanılır: *Hot Method*, *Cold Method*. Sıcaklık etkisi ile jelleşen polimerler ile çalışırken karıştırma işleminin soğuk ortamda yapılması gereklidir (Rawat, Warade, Lahoti, 2010, s. 61). Bu nedenle hazırlama sırasında sıcaklığı 10°C olacak şekilde ayarlanan manyetik karıştırıcı kullanılmıştır. Öncelikle etkin madde içermeyen formülasyon hazırlamak için polimer, NaCl, benzalkonyum klorür ve distile su beherde manyetik balık yardımı ile karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi 24 saat süresince 100 rpm hızda gerçekleştirilmiştir. Önformülasyon çalışması için hazırlanan formülasyonlar kodu ile birlikte Çizelge 4.12’de sunulmuştur.

Çizelge 4.12. *In Situ* Jel Önformülasyon Bileşenleri

Formülasyon	Polimer (g)			NaCl (g)	Benzalkonyum Klorür (g)	Distile Su (g)
	Poloxamer®	Pluronic® F 127	HPMC			
P10	10	-	-	0.884	0.01	ym 100
P12	12	-	-	0.884	0.01	ym 100
P14	14	-	-	0.884	0.01	ym 100
P16	16	-	-	0.884	0.01	ym 100
P18	18	-	-	0.884	0.01	ym 100
P20	20	-	-	0.884	0.01	ym 100
F10	-	10	-	0.884	0.01	ym 100
F12	-	12	-	0.884	0.01	ym 100
F14	-	14	-	0.884	0.01	ym 100
F16	-	16	-	0.884	0.01	ym 100
F18	-	18	-	0.884	0.01	ym 100
F20	-	20	-	0.884	0.01	ym 100
FH1205	-	12	0.5	0.884	0.01	ym 100
FH121	-	12	1	0.884	0.01	ym 100
FH1405	-	14	0.5	0.884	0.01	ym 100
FH141	-	14	1	0.884	0.01	ym 100
FH1605	-	16	0.5	0.884	0.01	ym 100
FH161	-	16	1	0.884	0.01	ym 100

4.5.3. Formülasyon seçimi ve *in vitro* jelasyon çalışması

Göze uygulanacak *in situ* jel formülasyonunun en ideali kuşkusuz göz yüzeyinin sıcaklığı olan 32°C’de jelleşebilen sistemdir. Polimer miktarına bağlı olarak formülasyonun çözelti-jelleşme sıcaklığı değişim gösterir. Bu nedenle hazırlanan her formülasyonun jelleşme sıcaklığını belirlemek için formülasyonlar 0°C’den 50°C’ye kadar *Test Tüpü Eğme Yöntemi (Test Tube Tilting Method)* ile test edilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.13’de sunulmuştur (Nirmal, Bakliwal ve Pawar, 2010, s. 1404).

Test her formülasyon için 3 kez tekrarlanmış ve göz yüzeyinin sıcaklığı olan 32°C’de jelleşebilen polimer oranlarına sahip formülasyonlar seçilmiştir.

Çizelge 4.13. *İn Situ Jel Formülasyonlarının Jelleşme Sıcaklığı*

Formülasyon	Jelleşme Sıcaklığı (°C)	Formülasyon	Jelleşme Sıcaklığı (°C)	Formülasyon	Jelleşme Sıcaklığı (°C)
P10	50'de sıvı	F10	50'de sıvı	FH1205	50'de sıvı
P12	50'de sıvı	F12	50'de sıvı	FH121	47.8
P14	38.1	F14	31.5	FH1405	31.7
P16	30.4	F16	28.4	FH141	25.3
P18	22.7	F18	26.6	FH1605	26.6
P20	22.2	F20	20.8	FH161	18.2

4.5.4. Etkin madde içeren formülasyonların hazırlanması

Göz yüzeyi sıcaklığına uygun sıcaklıkta jelleşen polimer oranındaki formülasyon piyasa preparatına uygun olması açısından % 0.1 konsantrasyonda etkin madde yüklenerek hazırlanmıştır. Etkin madde içermeyen formülasyonun hazırlama basamakları aynen uygulanmış ancak karıştırma işleminin başında diğer maddeler ile birlikte etkin madde de eklenerek 24 saat süresince 100 rpm hızda ve 10°C sıcaklıkta çalışılmıştır.

4.5.5. *İn situ* jel formülasyonların fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi

4.5.5.1. Jelleşme kapasitesi

Hazırlanan etkin maddeli formülasyonların jelleşme kapasitesini belirlemek için 50 mL taze hazırlanmış yapay gözyaşı ortamına 1 damla formülasyon damlatılmış ve jelleşme zamanı görsel olarak kaydedilmiştir. Jelleşme kapasitesini belirlemek için Çizelge 4.14'de gösterilen zamana göre ifade belirten kod sistemi kullanılmıştır.

Çizelge 4.14. *İn Situ Jel Formülasyonunun Jelleşme Kapasitesi Kodları*

Gözlem	Kod
Jelleşme oluşmadı	-
Jelleşme birkaç dakika içinde oluştu ve birkaç saat sürdü	+
Jelleşme hemen oluştu ve birkaç saat sürdü	++
Jelleşme hemen oluştu ve uzun süre sürdü	+++
Çok yoğun jel oluştu	++++

4.5.5.2. Şişme çalışması

In situ jel formülasyonunun şişme çalışmasında 34°C sıcaklıkta yapay gözyaşı ortamı kullanılmıştır. 1 mL formülasyon diyaliz membranına konulup sızdırmayacak şekilde kapatılmıştır. Yapay gözyaşı ortamına konulmadan önce ve belirli süre bekletildikten sonra jel ağırlığı tartılmıştır. Eşitlik 2 kullanılarak şişme yüzdesi hesaplanmıştır.

$$\% \text{ şişme oranı } (t) = \{(\text{jel ağırlığı } (t) - \text{jel ağırlığı } (t_0)) / \text{jel ağırlığı } (t_0)\} \times 100 \quad \text{Eşitlik 2}$$

4.5.5.3. Fiziksel görünüş ve saydamlık

Hazırlanan etkin madde içeren *in situ* jel formülasyonların fiziksel görünüşleri görsel olarak incelenmiştir. Partikül varlığı olasılığı nedeniyle jel sistemlerin saydamlığı beyaz ve siyah arka plan kullanılarak değerlendirilmiştir.

4.5.5.4. pH ölçümü

Hazırlanan *in situ* jel formülasyonların pH değeri ölçümü oda sıcaklığında pH metre ile yapılmıştır.

4.5.5.5. Reolojik davranışın incelenmesi

Hazırlanan etkin madde içeren formülasyonların reolojik davranışı 25°C ve 32°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta tekrarlanmıştır. İki sıcaklıktaki viskozite ölçüm değişimi kaydedilmiştir.

4.5.5.6. İnfrared (FT-IR) analizi

Hazırlanan formülasyonların spektrumu FT-IR kullanılarak 500-4000 cm⁻¹ arasında belirlenmiştir.

4.5.5.7. İn vitro salım çalışması

Hazırlanan etkin maddeli formülasyondan *in vitro* salım çalışması diyaliz membran yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Salım ortamı olarak yapay gözyaşı kullanılmış ve test 32°C'de ve 100 rpm hızdaki manyetik karıştırıcıda gerçekleştirilmiştir.

4.5.6. *İn situ* jel formülasyonlarında yapılan kararlılık çalışmaları

Hazırlanan formülasyonların kararlılık çalışması için örnekler 4°C sıcaklıkta 90 gün saklanmış ve belirli periyotlarda (7., 15., 30., 60. ve 90. gün) fiziksel özelliklerini incelemek üzere test edilmiştir.

4.5.6.1. *Fiziksel görünüş ve berraklık*

4°C sıcaklıkta saklanan formülasyonların fiziksel görünüşündeki değişim 7., 15., 30., 60. ve 90. günlerde görsel olarak incelenmiştir. Ayrıca jel sistemlerin saydamlığı beyaz ve siyah arka plan kullanılarak değerlendirilmiştir.

4.5.6.2. *pH ölçümü*

4°C sıcaklık koşulunda saklanan formülasyonların pH ölçümü pH metre ile gerçekleştirilmiştir.

4.5.6.3. *Reolojik davranışın incelenmesi*

4°C sıcaklık koşulunda saklanan formülasyonların reolojik davranışı 7., 15., 30., 60. ve 90. günlerde 34°C ve 25°C'de ayrı ayrı incelenmiştir. Her iki sıcaklıktaki viskozite ölçümü karşılaştırılmıştır.

4.5.6.4. *İnfrared (FT-IR) analiz*

4°C sıcaklık koşulunda saklanan formülasyonların spektrumu 90. günün sonunda 500-4000 cm⁻¹ arasında alınmıştır.

4.5.6.5. *Etkin madde miktar tayini*

4°C sıcaklık koşulunda saklanan formülasyonlarda etkin madde miktar tayini 0. zaman, 7., 15., 30., 60. ve 90. günde daha önceden valide edilmiş UPLC yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

4.6. *Sitotoksite Çalışması*

Günümüzde MTT olarak bilinen 3-(4,5-dimetiltriazol-2-il)-2,5- difeniltetrazolium bromür yöntemi ilk olarak Mosmann tarafından tanımlanmış ve daha sonra Alley ve ark.

tarafından geliştirilmiştir (Stockert vd., 2012, s. 785). Hücre biyolojisinde sitotoksiste, hücre canlılığı ve proliferasyonun değerlendirilmesinde en çok kullanılan yöntemdir.

MTT, mitokondride bulunan süksinat dehidrojenaz enzimi ile tetrazolyum halkasının ayrılması sonucu çözünmez formazana dönüşen, suda çözünebilir tetrazolyum tuzudur. Bu dönüşüm ile sarı renkli MTT boyası koyu mor renkli formazana indirgenir. Hücrelerin MTT indirgeme özelliği hücre canlılığının ölçütü olarak değerlendirilir ve MTT analizi sonucunda elde edilen boya yoğunluğu canlı hücre sayısı ile doğru orantı gösterir (Fotakis ve Timbrell, 2006, s. 171-172, Boncler vd., 2014, s. 9).

Bu çalışmada hazırlanan formülasyonların sitotoksitesinin belirlenmesi için MTT testi kullanılmıştır. MTT testi kapsamında:

1. 3T3 Fibroblast hücreleri kültüre edildikten sonra % 10 FBS (*Foetal Bovine Serum*) içeren *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) besiyerinde süspansiyon haline getirilmiş ve *Thoma* lamı kullanarak hücre sayımı yapılmıştır. 2×10^4 /mL hücre süspansiyonu 96 kuyucuklu hücre kültür plakalarının her kuyucuğuna belirli miktarlarda aktarılmıştır.
2. 24 saatlik üreme periyodunun ardından sitotoksik etkiyi incelemek üzere hücre süspansiyonunun üzerine farklı derişimde formülasyon eklenmiş ve formülasyon ile muamele edilmeyen kontrol hücreleri ile birlikte 37°C 'de, % 5 CO_2 ve % 95 hava içeren atmosfer ortamında 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Deney aşamasında, % 2 olopatidin hidroklorür içeren formülasyonlar 5, 10, 30, 90, 120, 150, 200 $\mu\text{g}/100\mu\text{L}$ konsantrasyon olacak şekilde besiyerinde dağıtılmış ve hücreler üzerine uygulanmıştır.
3. 12 ve 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda her bir kuyucuğa 20 μL (5 mg/mL) MTT boyası eklenmiş ve MTT boyasının canlı hücreler tarafından formazan tuzu haline dönüştürülebilmesi için 37°C de 4 saat daha inkübe edilmiştir.
4. Bu sürenin sonunda formülasyon MTT kuyucuklarından uzaklaştırılmış ve her bir kuyucuğa 200 μL dimetil sülfoksit eklenerek plaka okuyucuda (ELISA) 570 nm dalga boyundaki renk değişimi saptanmıştır (Uchida vd., 2009, s. 756). Bu çalışmada 12 ve 24 saat inkübasyon süresi sonunda, absorbans ölçümleri BioTek Cytation 5 (BioTek Instruments, Germany) çoklu plaka okuyucu ile 572 nm'de yapılmıştır.
5. Sitotoksiste testleri için her bir formülasyon için 3 plaka ve her bir konsantrasyon için 8 kuyu kullanılmıştır.

4.7. *In Vivo* Çalışma

OLO'nun alerjik konjonktivitte tedavi sağlaması için göz yüzeyinde tutunma (*ocular retention*) süresi önemlidir. Bu çalışmanın *in vivo* deney kapsamında, hazırlanan formülasyonların oftalmik uygulamasının ardından gözde kalma süresini ve etkin maddenin salım profilini izlemek ve piyasa preparatı ile karşılaştırmak bulunmaktadır.

Çalışma kapsamında hayvanlar huzursuz edilmeden 5 formülasyondan her biri günde bir kez 6 koyunun birer gözüne uygulanmıştır. Uygulamanın ardından 30. dakika, 1., 2., 3., 6., 24. ve 48. saatte gözyaşı örnekleri 'Schirmer gözyaşı testi membranı'na emdirilerek toplanmıştır. Membran her bir örnek alma zamanında göze 30 saniye süresince temas ettirilmiştir. Her bir gözden 7 örnek olmak üzere bir koyundan 14 gözyaşı örneği alınmıştır. Her grupta hem dişi hem erkek koyunlar kullanılarak cinsiyete bağlı değişim dikkate alınmamıştır. Alınan test membranı örnekleri analiz edilinceye kadar -20°C'de saklanmıştır. Gözyaşındaki OLO miktarı UPLC yöntemi ile tayin edilmiş ve zamana karşı gözde kalış süresi hakkında veri elde edilmiştir.

OLO uygulanan hayvanlar ile kontrol arasındaki farklılık *two-way ANOVA Tukey* testi uygulanarak istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir. Deney sonucu olarak elde edilen tüm verilerin istatistiksel analizi için *GraphPad Prism version 5.0* istatistik programı kullanılmıştır.

5. BULGULAR

5.1. Analitik Yöntem Geliştirme ve Validasyon Çalışmaları

5.1.1. Analitik yöntem geliştirme

OLO'nun miktar tayininde kullanılan UPLC yönteminde sabit faz olan C₁₈ kolonunda hareketli faz olarak metanol, su ve tampon çözeltisi karışımı kullanılarak izokritik ayırım yapılmıştır. Hareketli faz seçiminde farklı oranlar ve karışımlar denenmiş, en uygun hareketli fazın 40:50:10 (h:h:h) oranında metanol-distile su-sodyum asetat tamponu olduğuna karar verilmiştir. Sodyum asetat tamponu 0.1 M olarak hazırlanmıştır.

Analiz sırasında kolon sıcaklığı 20-40°C arasında değiştirildiğinde, piklerin şekli/tabana genişliği açısından en uygun sıcaklığın 40°C olduğu saptanmıştır. Etkin maddenin çeşitli dalga boyutlarında sinyali incelendiğinde ise en şiddetli absorpsiyonun gerçekleştiği 246 nm dalgaboyu çalışma için seçilmiştir. Farklı akış hızlarında denemeler yapılmış ve sinyalin hem morfolojik açıdan hem de diğer sinyallerden ayrılabilmesi için analizin 0.5 mL/dk akış hızında yapılmasına karar verilmiştir. Ayrıca, maddenin kolonda tutunma zamanına göre analiz süresi 5 dakika olarak belirlenmiştir.

Kromatografik koşullar ayarlandıktan sonra, tüm çalışmalardan önce hareketli faz kolondan 30 dakika süresince geçirilerek kolonun dengeye gelmesi sağlanmıştır. Validasyonda ve analizde uygulanan çalışma koşulları Çizelge 5.1'de sunulmuştur.

Çizelge 5.1. UPLC Çalışma Koşulları

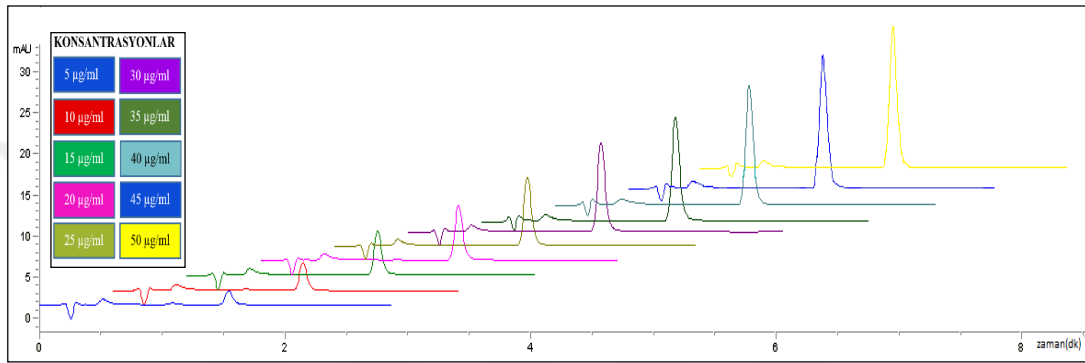
Cihaz	Agilent Technology 1290 Infinity
Kolon	Zorbax Eclipse Plus C18 2.1x50 mm 1.8 Micron
Hareketli Faz	Metanol-Distile su-Sodyum asetat tamponu (40:50:10 h/h/h)
Fırın Sıcaklığı	40°C
Akış Hızı	0.5 mL/dk
Enjeksiyon Hacmi	0.5 µL

5.1.2. Validasyon

Validasyon çalışmasından elde edilen bulgular doğruluk, doğruluk, kesinlik, çalışma aralığı, seçicilik, duyarlılık, sağlamlık/tutarlılık ve sistem uygunluk testi başlıkları altında değerlendirilmiştir.

5.1.2.1. Doğrusallık

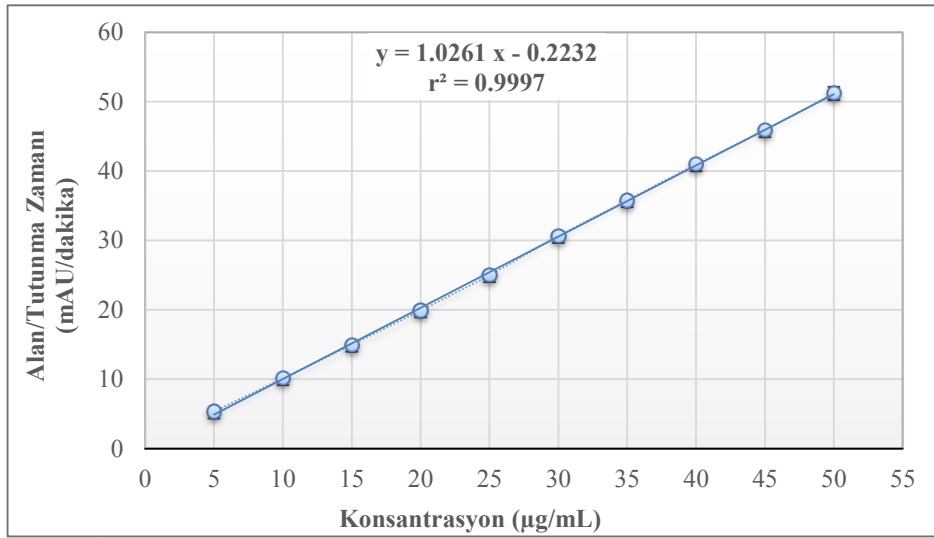
Kalibrasyon serilerinin konsantrasyonları ve kromatogramları Şekil 5.1’de sunulmuştur. Serilerden elde edilen alan/tutunma zamanı ortalama değeri ve konsantrasyon kullanılarak regresyon analizi yapılmış ve doğrusal eşitlik elde edilmiştir (Şekil 5.2’de verilmiştir.). Çizelge 5.2 ve 5.3’de konsantrasyonlara ait bulgular ortalama (ORT) ve standart hata (SH) değerleri olarak verilmiştir. Kalibrasyon denkleminde ait veriler Çizelge 5.4’te sunulmuştur.



Şekil 5.1. Hazırlanan Kalibrasyon Serilerine Ait Kromatogramlar

Çizelge 5.2. Doğrusallık Çalışması İçin Hazırlanan Kalibrasyon Serileri Bulguları (n=6)

Konsantrasyon (µg/mL)	Doğrusallık Çalışması İçin Hazırlanan Kalibrasyon Serilerinin Pik Alanları / Tutunma Zamanları (mAU/dakika)							
	Seri 1	Seri 2	Seri 3	Seri 4	Seri 5	Seri 6	ORT	SH
5	5.0527	5.5112	5.3992	5.1779	5.5870	5.3624	5.3484	0.0822
10	9.5732	10.8530	10.5599	9.9528	10.1235	9.8266	10.1482	0.1949
15	14.8031	14.8227	14.8719	14.5165	15.4841	15.2825	14.9635	0.1445
20	19.6789	20.3723	19.8431	19.3839	20.2729	20.0030	19.9257	0.1514
25	24.4101	25.0492	25.3675	24.4975	25.1915	25.5215	25.0062	0.1868
30	30.5391	30.0892	30.0357	30.5605	31.4295	31.2381	30.6487	0.2356
35	35.3706	35.8338	35.8605	35.2386	36.7011	35.7289	35.7889	0.2098
40	40.7814	40.9490	41.3528	39.5974	42.4260	40.7612	40.9780	0.3755
45	45.1011	45.6652	46.3293	45.1958	46.8384	46.1956	45.8876	0.2793
50	49.2618	50.8738	51.8442	49.0916	51.1159	55.2504	51.2396	0.9152



Şekil 5.2. Kalibrasyon Serilerinin Doğrusallık Eşitliği ve Denklemi

Çizelge 5.3. Doğrusallık Çalışması Kalibrasyon Serileri ve Ortalama Bulguları

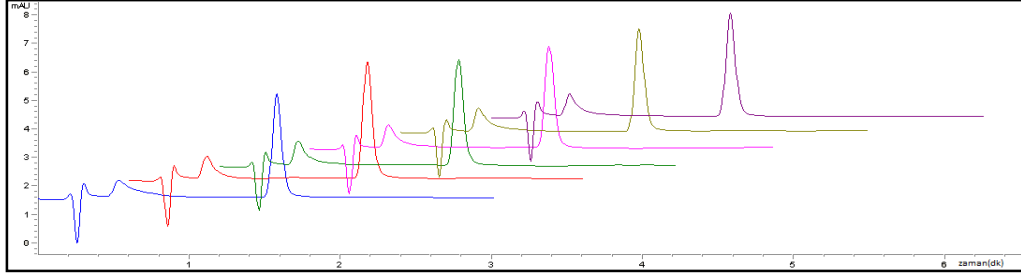
	Seri 1	Seri 2	Seri 3	Seri 4	Seri 5	Seri 6	Ortalama
r ²	0.9990	0.9994	0.9992	0.9991	0.9988	0.9952	0.9997
Eğim	1.0057	1.0109	1.0346	0.9951	1.0388	1.0713	1.0261
y-keşisim	-0.1986	0.2018	-0.3041	-0.0439	-0.0496	0.9451	-0.2232

Çizelge 5.4. Kalibrasyon Serilerinin Katsayı ve SH Bulguları (n=6)

	Katsayı	SH
y-Kesişim	-0.2232	0.1930
y-keşisim (Ortalama)	-0.2232	0.2379
Eğim	1.0261	0.0062

5.1.2.2. Doğruluk

Etkin maddenin 10, 30, 50 µg/mL olacak şekilde bilinen üç farklı konsantrasyonda çözeltisi hazırlanıp her konsantrasyon için 6 tekrar analizi yapılmasının ardından 30 µg/mL konsantrasyon serisine ait kromatogram Şekil 5.2’de sunulmuştur. Elde edilen sonuçlar doğrusallık eşitliği kullanılarak hesaplanmış ve bilinen konsantrasyonlar ile karşılaştırılarak yöntemin doğruluğu % geri kazanım olarak hesaplanmıştır. Doğruluk için % geri kazanımların kabul aralığı ±% 2’dir. Elde edilen bulgulara göre yöntemin geri kazanım ve doğruluk için uygun olduğu kanıtlanmıştır. Bulgular Çizelge 5.3’te sunulmuştur.



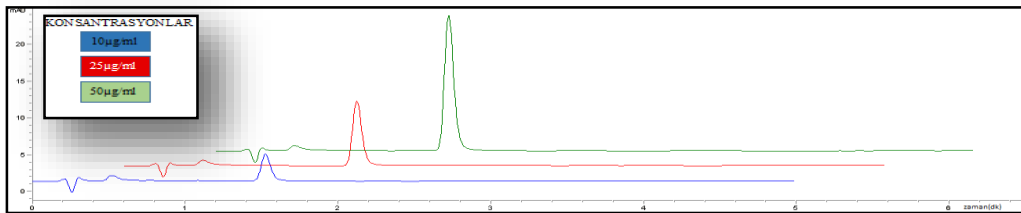
Şekil 5.3. Doğruluk Çalışmasına Ait Serilerin Kromatogramları

Çizelge 5.5. Doğruluk Çalışması İçin Hazırlanan Seriler ve % Geri Kazanım Bulguları

Eklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	10	30	50
Bulunan Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	10.1226	30.0078	49.6759
	10.1972	30.1497	49.9997
	9.8626	29.7365	50.7641
	10.1961	29.5292	51.0192
	10.1390	30.2876	49.7127
	10.0172	30.0343	50.2048
% Geri Kazanım	101.2258	100.0262	99.3517
	101.9716	100.4989	99.9994
	98.6262	99.12159	101.5283
	101.961	98.43081	102.0384
	101.3901	100.9587	99.4255
	100.1719	100.1143	100.4097
Ortalama % Geri Kazanım	100.8911	99.8584	100.4588
Standart Hata	0.5266	0.3784	0.4526
Varyasyon Katsayısı	1.2786	0.9282	1.1036
Güven Aralığı	1.3537	0.9727	1.1635

5.1.2.3. Kesinlik

Etkin maddenin 10, 25, 50 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda 3 farklı çözeltisi hazırlanmış ve her konsantrasyona ait kromatogram Şekil 5.4'te sunulmuştur. Her konsantrasyon için 6 tekrar analizi 3 ardarda gün yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrusal eşitlik kullanılarak ve bilinen konsantrasyonlar ile karşılaştırılarak yöntemin kesinliği hesaplanmıştır. Kesinlik için kabul edilebilir sınır varyasyon katsayısının % 2'den düşük olmasıdır.



Şekil 5.4. Kesinlik Çalışmasına Ait Serilerin Kromatogramları

Bulgular Çizelge 5.6’da sunulmuştur. Bulguların kabul edilebilir sınır içerisinde olması yöntemin kesinliğini kanıtlanmaktadır.

Çizelge 5.6. Kesinlik Çalışması İçin Hazırlanan Seriler ve % Geri Kazanım Bulguları

Konsantrasyon (µg/mL)	1. Gün	2. Gün	3. Gün
10	10.7627	10.1226	10.0157
	10.6246	10.1972	9.8972
	10.2580	9.8626	10.4339
	10.4714	10.1961	10.0251
	10.3506	10.1390	9.9540
	10.6737	10.0172	10.0994
	Ortalama	10.5235	10.0891
Standart Sapma	0.1965	0.1290	0.1906
Varyasyon Katsayısı	1.8675	1.2786	1.8921
% 95 Güven Aralığı	0.2026	0.1354	0.2000
25	25.0470	25.7119	25.3637
	25.5678	25.3868	25.7825
	25.8460	25.9718	26.1796
	25.9588	25.7103	25.8703
	25.2500	25.0353	25.6781
	25.7918	26.2712	26.5112
	Ortalama	25.5769	25.6812
Standart Sapma	0.3612	0.4332	0.4008
Varyasyon Katsayısı	1.4120	1.6867	1.5478
% 95 Güven Aralığı	0.3790	0.4546	0.4206
50	51.1539	49.5329	49.6759
	49.3385	50.9081	49.9997
	49.7437	50.3153	50.7641
	49.1510	49.5384	51.0192
	50.1421	51.2606	49.7127
	49.0142	51.1875	50.2048
	Ortalama	49.7572	50.4572
Standart Sapma	0.7992	0.7875	0.5543
Varyasyon Katsayısı	1.6063	1.5607	1.1036
% 95 Güven Aralığı	0.8387	0.8264	0.5817

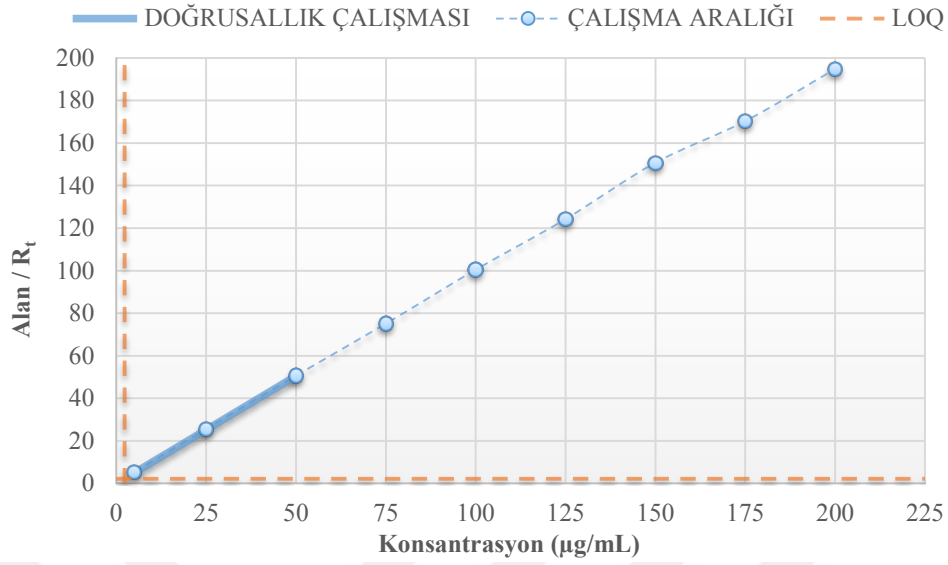
5.1.2.4. Çalışma Aralığı

5 µg/mL-200 µg/mL konsantrasyonda hazırlanan 9 adet çözelti UPLC'ye enjekte edilerek pik alanları ve tutunma zamanları bulunmuştur (Çizelge 5.7'de sunulmuştur.). Doğrusal eşitliği kullanılarak saptanan değerler ile bilinen konsantrasyonlar karşılaştırılarak doğrusal grafiğin bozulmaya başladığı konsantrasyon belirlenmiştir.

Çizelge 5.7. Çalışma Aralığının Belirlenmesi İçin Hazırlanan Serilere Ait Bulgular (n=3)

Konsantrasyon (µg/mL)	Alan/Tutunma Zamanı	Ortalama	Varyasyon Katsayısı	SH
5	5.0527	5.3210	4.4920	0.1380
	5.5112			
	5.3992			
25	26.0626	25.5547	2.1436	0.3163
	25.6273			
	24.9743			
50	49.2618	50.6599	2.5748	0.7531
	50.8738			
	51.8442			
75	74.3246	75.0941	3.6519	1.5833
	78.1390			
	72.8187			
100	97.7206	100.4525	2.5626	1.4862
	102.8327			
	100.8042			
125	119.2401	124.2617	3.5729	2.5633
	127.6666			
	125.8785			
150	145.8169	150.7572	3.2729	2.8488
	155.6853			
	150.7694			
175	177.3296	170.3375	3.5640	3.5050
	166.4081			
	167.2747			
200	199.6739	194.8151	2.4235	2.7259
	190.2442			
	194.5271			

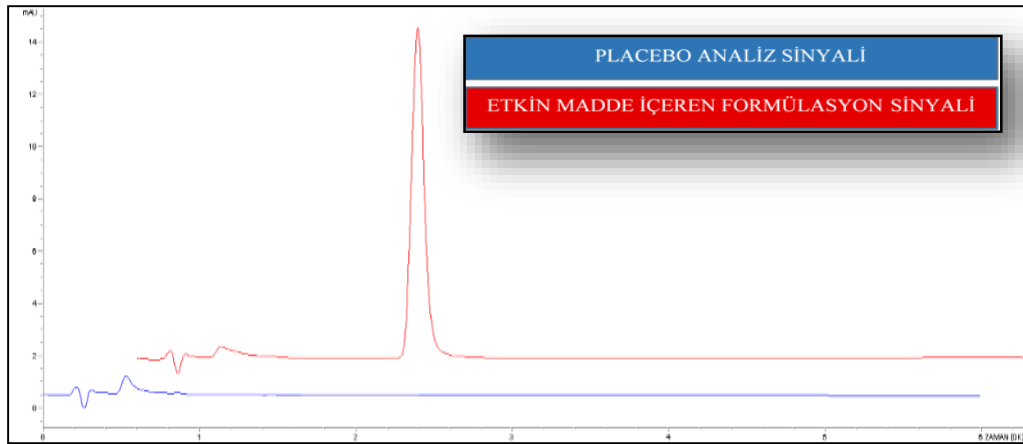
Bulgulara göre etkin madde konsantrasyonu 125 µg/mL ve üzerine çıktığında doğrusallık eşitliğine göre standart hata istenilen sınırın dışına çıkmaktadır. Bu nedenle çalışmalar doğrusallığın kanıtlandığı aralıkta sürdürülmüştür. Konsantrasyonlara ait doğrusallık profili Şekil 5.5.'te sunulmuştur.



Şekil 5.5. Çalışma Aralığı Belirlenmesi için Hazırlanan Konsantrasyonlara ait Doğrusallık Profili

5.1.2.5. Seçicilik

Etkin madde dışında tüm bileşenleri içeren formülasyonun kromatogramına göre etkin madde piki ile diğer sinyaller uygun şekilde ayrılmaktadır (Şekil 5.6'da sunulmuştur.). Dolayısıyla, kullanılan yöntemin seçicilik açısından uygun olduğuna karar verilmiştir.



Şekil 5.6. Seçicilik Çalışmasına Ait Analizlerin Kromatogramları

5.1.2.6. Duyarlılık

Verilen eşitlikler kullanılarak saptama sınırı ve miktar tayini sınırı hesaplanmıştır. Bulgular Çizelge 5.8’de sunulmuştur.

LOD (Saptama sınırı) = 3.3 x (y-kesişim değerinin standart sapması / eğim)

LOQ (Miktar tayini sınırı) = 10 x (y-kesişim değerinin standart sapması / eğim)

Çizelge 5.8. Duyarlılık Çalışması Bulguları

	Katsayı	Standart Hata
y-kesişim	-0.2232	0.192951045
y-kesişim (ortalama)	-0.2232	0.237927700
eğim	1.0261	0.006219375
LOD	0.6206 µg/mL	
LOQ	1.8805 µg/mL	
LOD (ortalama)	0.7652 µg/mL	
LOQ (ortalama)	2.3188 µg/mL	

Yöntemin duyarlılığı için kabul edilebilir doğruluk ve kesinlikte ölçülebilen en küçük konsantrasyon 5 µg/mL olup, hesaplanan LOD ve LOQ değerleri bu değerin çok altındadır. Bu sonuçlar yöntemin duyarlı olduğunu göstermektedir.

5.1.2.7. Sağlamlık / Tutarlılık

Analitik yöntem geliştirme sırasında yapılan yöntem parametrelerinin çeşitliliği denenmiş ve yöntemin güvenilir olduğu gösterilmiştir. Bu parametreler, hareketli faz çözücü ve oranlarındaki değişim, akış hızındaki değişim, enjeksiyon hacmi ve fırın sıcaklığı olarak özetlenebilir.

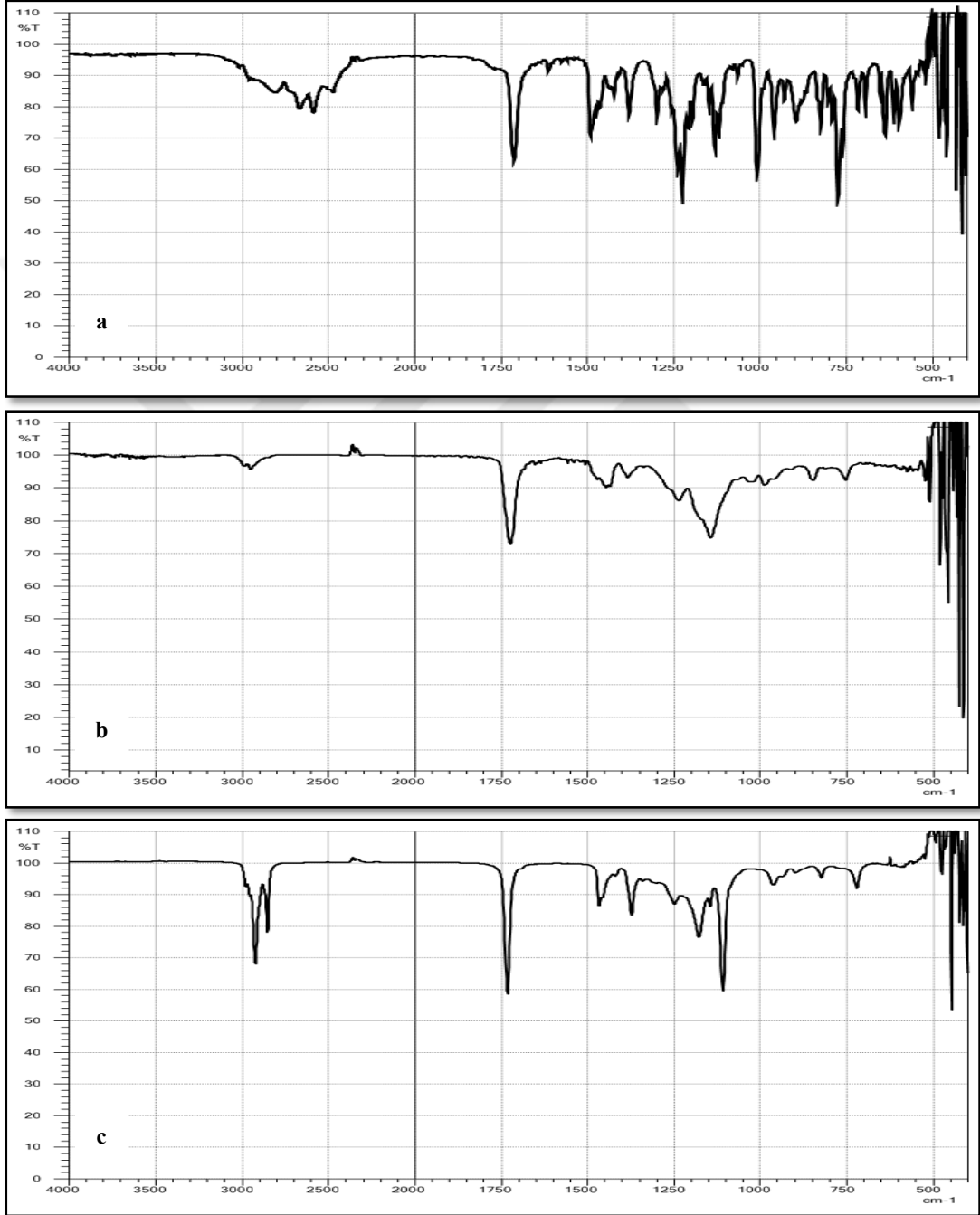
5.1.2.8. Sistem Uygunluğu

USP (Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi) tarafından tanımlanan sistem uygunluk testi parametrelerinden asimetri faktörü 1.154 ve pik alanının % bağıl standart sapması % 1.408 olarak hesaplanmıştır.

5.2. Formülasyonlarda Kullanılan Maddelerle Yapılan Çalışmalar

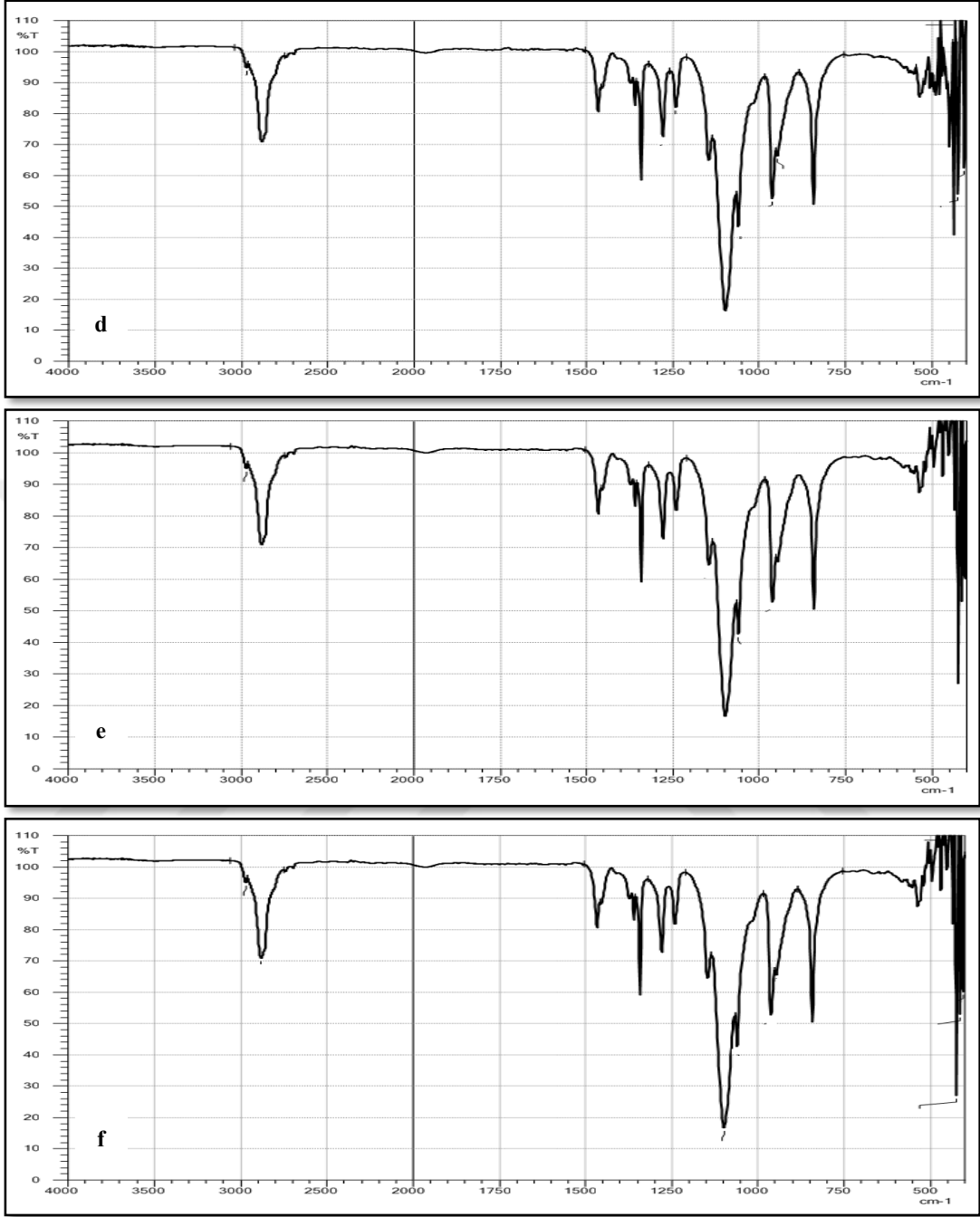
5.2.1. İnfrared (FT-IR) analizi

Etkin madde ve çalışmada kullanılan polimerlerin 500-4000 cm^{-1} arasındaki FT-IR spektrumları Şekil 5.7’de sunulmuştur.



Şekil 5.7. Formülasyonlarda Kullanılan Maddelere ait FT-IR Spektrumları

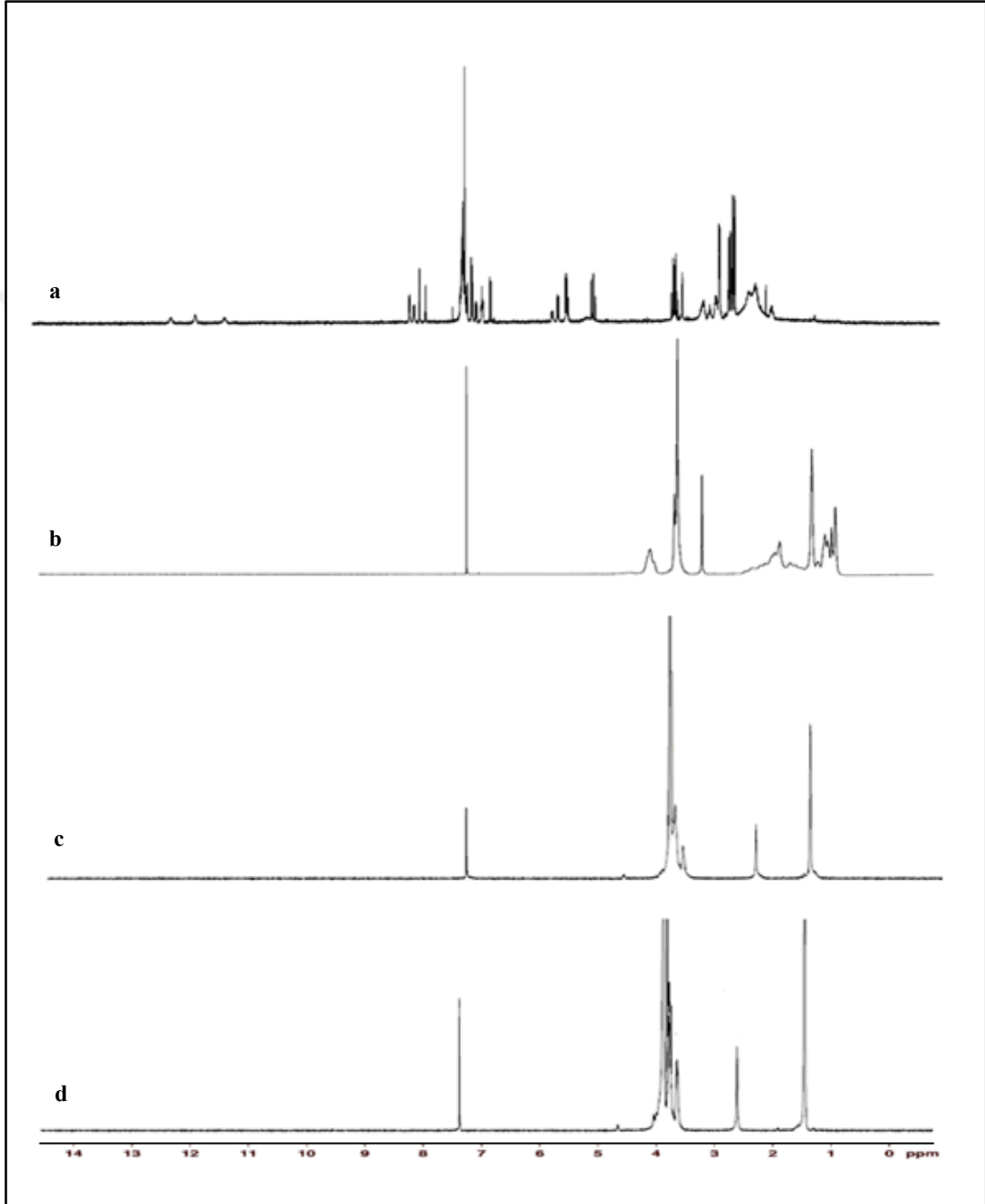
a. Olopatadin Hidroklorür; b. Eudragit® RS; c. IPM



Şekil 5.7. (Devam) Formülasyonlarda Kullanılan Maddelere ait FT-IR Spektrumları
d. Poloxamer[®]; *e.* Pluronic[®] F; *f.* HPMC

5.2.2. Nükleer manyetik rezonans (NMR) analizi

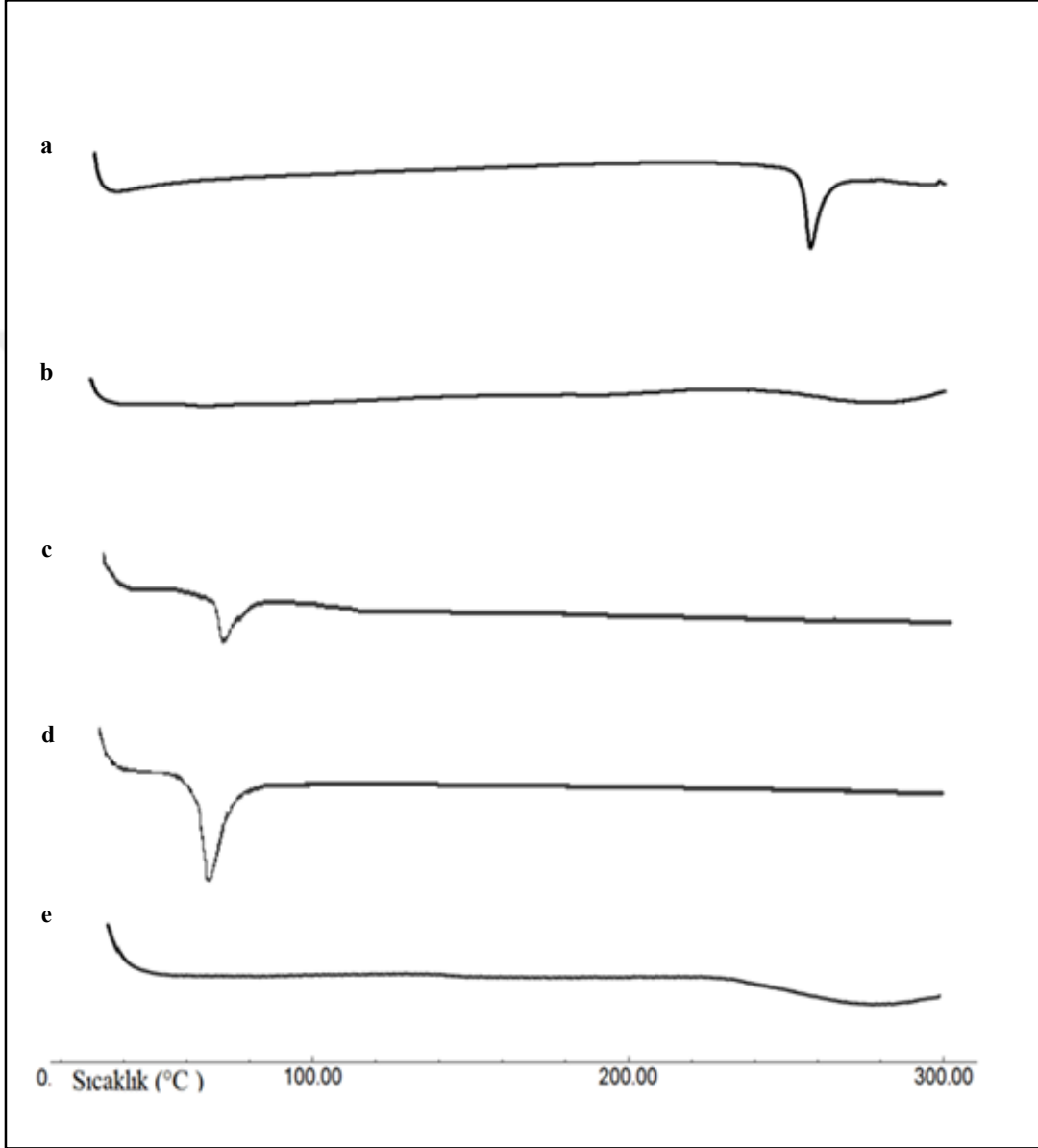
Etkin madde ve çalışmada kullanılan polimerlerin NMR spektrumları Şekil 5.8’de gösterilmiştir.



Şekil 5.8. Etkin Madde ve Formülasyonlarda Kullanılan Maddelerin NMR Spektrumları
a. Olopatadin Hidroklorür; b. Eudragit® RS; c. Poloxamer®; d. Pluronic® F

5.2.3. Termal analiz

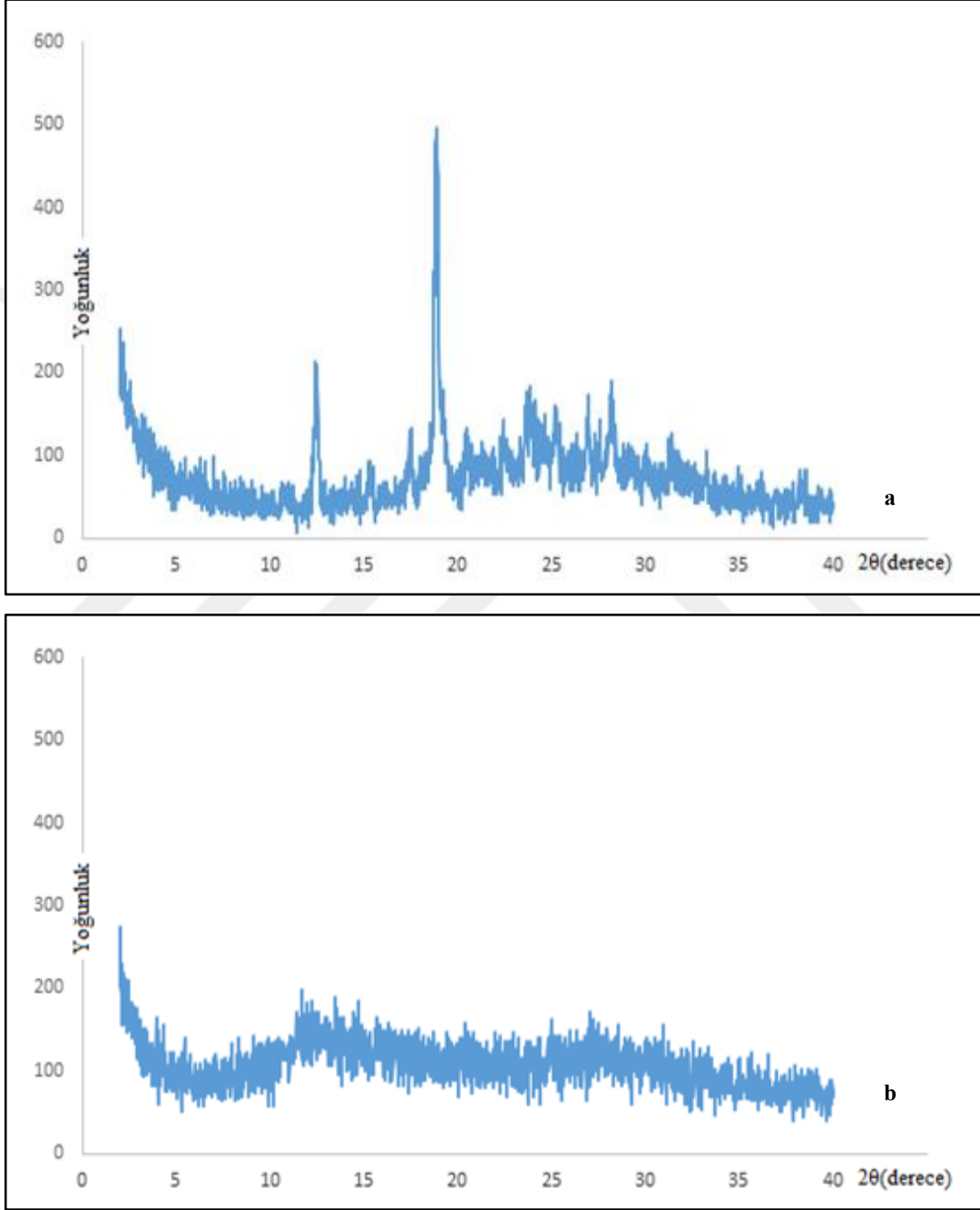
Etkin madde ve kullanılan polimerlerin termogramları Şekil 5.9’da sunulmuştur. OLO’ya ait termogramda 256.98°C’de pik gözlenmiştir.



Şekil 5.9. Etkin Madde ve Formülasyonlarda Kullanılan Maddelerin Termogramları
a. Olopatadin Hidroklorür; *b.* Eudragit® RS; *c.* Poloxamer®; *d.* Pluronic® F; *e.* HPMC

5.2.4. X-ışını kırınım analizi

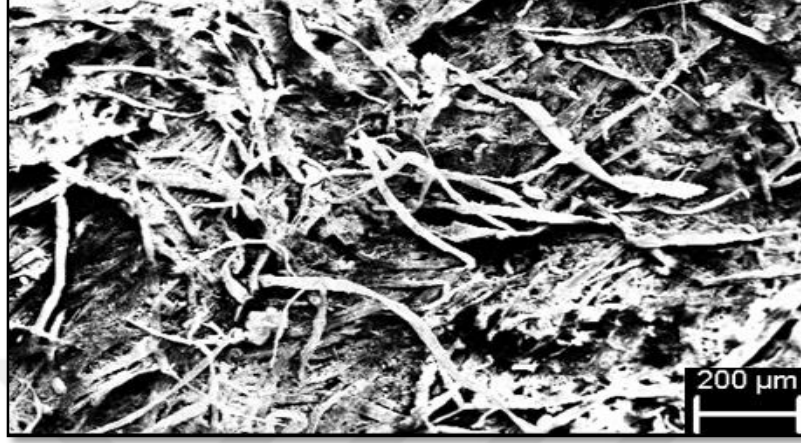
Etkin madde ve kullanılan polimerlerin X-ışını kırınım analiz profilleri Şekil 5.10'da sunulmuştur.



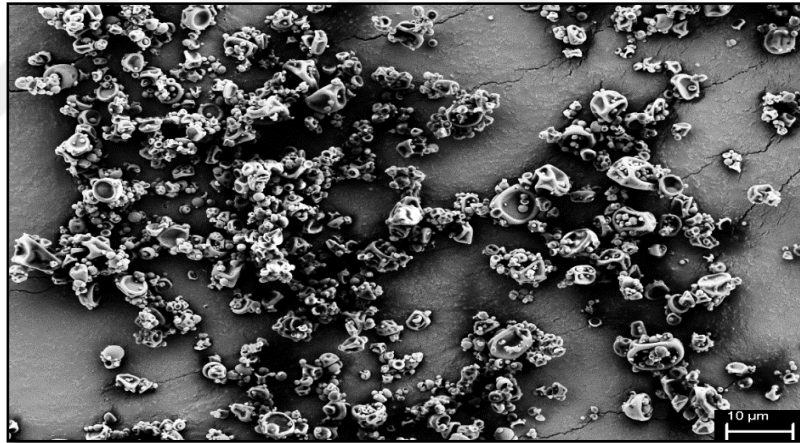
Şekil 5.10. Etkin Madde ve Eudragit® RS'ye ait X-ışını Kırınım Profilleri
a. Olopatadin Hidroklorür; *b.* Eudragit® RS

5.2.5. Morfolojik inceleme

Etkin madde ve Eudragit® RS'nin taramalı elektron mikroskobu kullanılarak elde edilen görüntüleri sırasıyla Şekil 5.11 ve Şekil 5.12'de sunulmuştur.



Şekil 5.11. Olopatadin Hidroklorür'e ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü



Şekil 5.12. Eudragit® RS'ye ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüsü

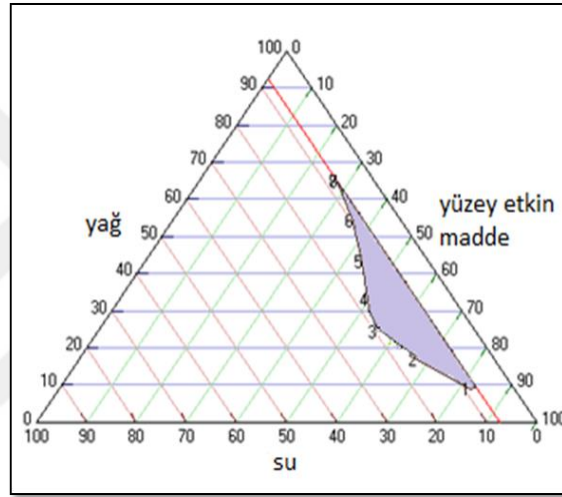
5.3. Mikroemülsiyon Formülasyonları ile Yapılan Çalışmalar

5.3.1. Üçgen faz diyagramları

Önformülasyon çalışmalarının ardından üçgen faz diyagramı çizimi için seçilen formülasyon oranlarına ait hesaplanan % bileşenler Çizelge 5.9, 5.10, 5.11, 5.12 ve 5.13'te, üçgen faz diyagramları ise Şekil 5.13, 5.14, 5.15 ve 5.16, 5.17'de sunulmuştur. Üçgen faz diyagramı alanları da Şekil 5.18'de sunulmuştur.

Çizelge 5.9. 7:1 Formülasyon Oranına ait Hesaplanan % Bileşenler

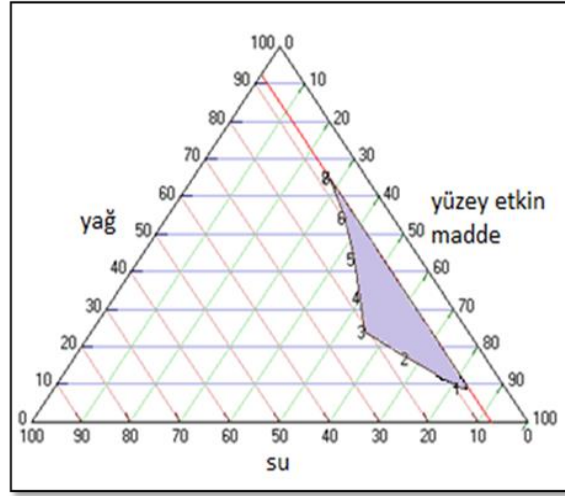
Yağ	YEM+Y.YEM	Distile Su	Alan (br ²)
9.1	81.7	9.3	
16.7	66.8	16.5	
24.3	56.7	19.0	
32.8	49.2	18.0	309.18
43.3	43.4	13.3	
53.4	35.6	11.0	
65.5	28.0	6.5	



Şekil 5.13. 7:1 Formülasyon Oranına ait Üçgen Faz Diyagramı

Çizelge 5.10. 8:1 Formülasyon Oranına ait Hesaplanan % Bileşenler

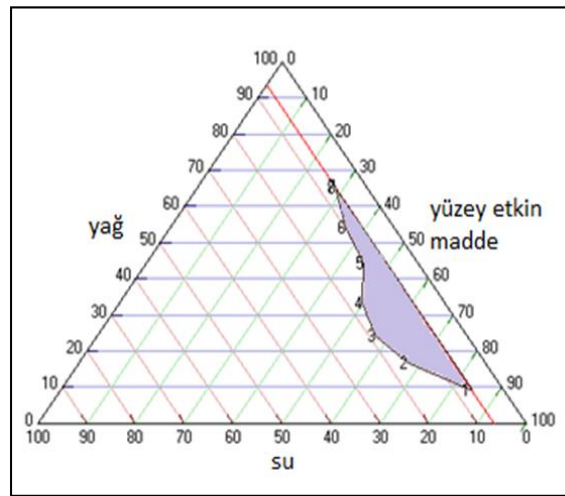
Yağ	Yem+Y.Yem	Distile Su	Alan (br ²)
9.1	82.0	8.9	
16.9	67.5	15.7	
23.8	55.4	20.8	
33.0	49.6	17.3	310.72
43.4	43.4	13.2	
54.2	36.1	9.7	
64.9	27.7	7.4	



Şekil 5.14. 8:1 Formülasyon Oranına ait Üçgen Faz Diyagramı

Çizelge 5.11. 9:1 Formülasyon Oranına ait Hesaplanan % Bileşenler

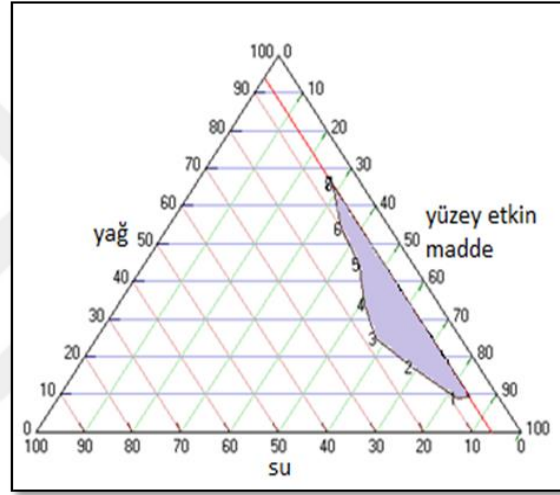
Yağ	Yem+Y.Yem	Distile Su	Alan (br ²)
9.3	83.6	7.1	
16.8	67.2	16.0	
24.4	56.9	18.7	
33.2	49.8	16.9	314.66
44.4	44.4	11.2	
54.1	36.0	9.9	
65.4	28.0	6.5	



Şekil 5.15. 9:1 Formülasyon Oranına ait Üçgen Faz Diyagramı

Çizelge 5.12. 10:1 Formülasyon Oranına ait Hesaplanan % Bileşenler

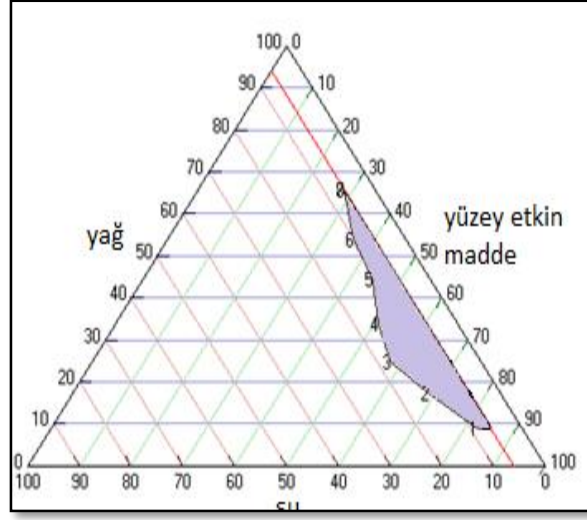
Yağ	Yem+Y.Yem	Distile Su	Alan (br ²)
9.1	82.2	8.7	
17.3	68.9	13.8	
24.8	57.9	17.4	
33.9	50.8	15.3	306.65
44.4	44.4	11.2	
54.1	35.9	10.1	
65.9	28.1	6.0	



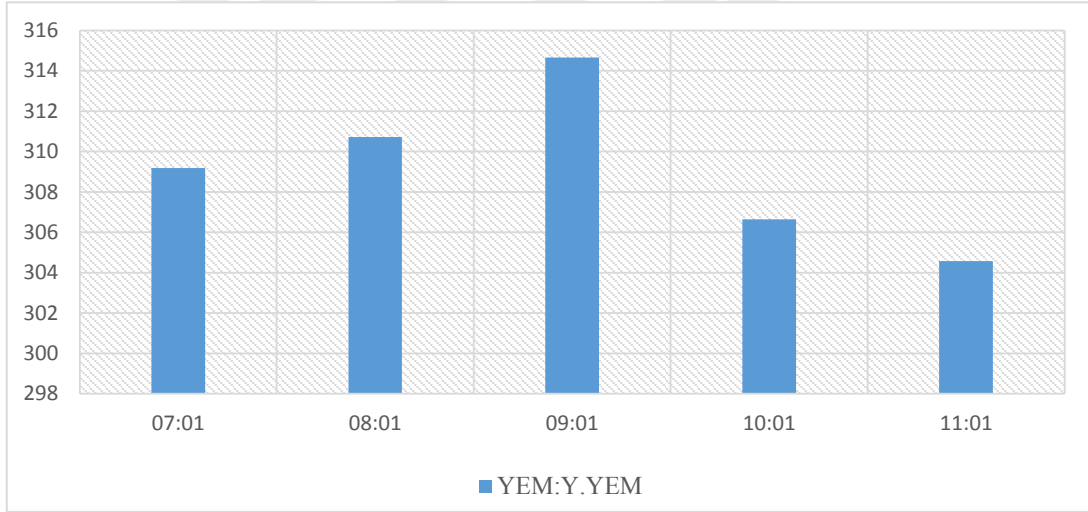
Şekil 5.16. 10:1 Formülasyon Oranına ait Üçgen Faz Diyagramı

Çizelge 5.13. 11:1 Formülasyon Oranına ait Hesaplanan % Bileşenler

Yağ	Yem+Y.Yem	Distile Su	Alan (br ²)
9.1	82.3	8.6	
17.2	69.0	13.8	
25.2	58.8	16.0	
34.0	50.9	15.1	304.58
44.4	44.4	11.2	
54.5	36.3	9.3	
66.0	28.4	5.7	



Şekil 5.17. 11:1 Formülasyon Oranına Ait Üçgen Faz Diyagramı



Şekil 5.18. Mikroemülsiyon Formülasyonlarının Üçgen Faz Diyagramı Alanları

5.3.2. Mikroemülsiyon formülasyonlarının fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi

5.3.2.1. Fiziksel görünüş

Taze hazırlanan formülasyonların görsel olarak saydam ve tekdüze görünüme sahip olduğu kaydedilmiştir.

5.3.2.2. Tip tayini

Taze hazırlanan mikroemülsiyonların tipinin yağ-içinde-su (s/y) olduğu belirlenmiştir. Ayrıca formülasyonlara distile su eklendiğinde bozunma olduğu saptanarak s/y tipi desteklenmiştir.

Formülasyonun iletkenliğinin ölçülememesi de formülasyon tipinin s/y olduğunu göstermiştir.

5.3.2.3. Faz ayrımı ve santrifüj uygulanması

Taze hazırlanan formülasyonların 500 ve 1000 rpm hızlarda santrifüj edilmesi sonucunda ve ardından 2 gün -20°C’de bekletip oda sıcaklığında çözündürüldükten sonra görsel olarak herhangi bir değişikliğe uğramadığı belirlenmiştir.

Taze hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarına ait damlacık boyutu ve dağılımı, zeta potansiyel ölçümü, pH ölçümü, reoloji ve FT-IR analiz sonuçları kararlılık çalışması ile birlikte karşılaştırmalı olarak Çizelge 5.14.-Çizelge 5.15. ve Şekil 5.18.-Şekil 5.22’de sunulmuştur.

5.3.3. Mikroemülsiyon formülasyonlarında yapılan kararlılık çalışmaları

5.3.3.1. Fiziksel görünüş

4°C, 25°C ve 40°C’lik sıcaklıkta saklanan formülasyonlarda hazırlandıkları günden itibaren herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Formülasyonlar saydam ve tekdüze görünümünü korumuştur.

5.3.3.2. Tip tayini

4°C, 25°C ve 40°C’lik sıcaklıkta saklanan formülasyonların s/y tipini koruduğu saptanmıştır.

5.3.3.3. Faz ayrımı ve santrifüj uygulanması

4°C, 25°C ve 40°C’lik sıcaklık koşullarında saklanan formülasyonlara santrifüj uygulanması sonucu hiçbirinde faz ayrımı olmadığı belirlenmiştir.

5.3.3.4. Damlacık boyutu ve dağılımı

4°C, 25°C ve 40°C'lik sıcaklıkta saklanan formülasyonların damlacık boyutu ve dağılımının ortalaması ve standart hatası (SH) taze hazırlanmış formülasyon ölçümleri ile birlikte Çizelge 5.14'te sunulmuştur.

Çizelge 5.14. Mikroemülsiyonların Damlacık Boyutu ve Dağılımı (n=6)

Zaman	Saklama Koşulları					
	25°C		4°C		40°C	
	Boyut (nm±SH)	Dağılım (PDI±SH)	Boyut (nm±SH)	Dağılım (PDI±SH)	Boyut (nm±SH)	Dağılım (PDI±SH)
0. Zaman	187.833 ±0.419	0.408 ±0.001	187.833 ±0.419	0.408 ±0.001	187.833 ±0.419	0.408 ±0.001
7. Gün	223.333 ±0.770	0.484 ±0.002	236.000 ±1.764	0.585 ±0.007	244.667 ±1.503	0.529 ±0.002
15. Gün	253.767 ±1.338	0.422 ±0.054	284.333 ±1.347	0.645 ±0.003	294.333 ±1.262	0.537 0.010
30. Gün	288.883 ±0.694	0.480 ±0.002	315.667 ±1.711	0.468 ±0.005	354.667 ±1.678	0.592 ±0.003
60. Gün	362.767 ±1.708	0.532 ±0.007	457.333 ±1.018	0.562 ±0.012	493.000 ±1.856	0.722 ±0.010
90. Gün	364.333 ±1.262	0.522 ±0.010	459.667 ±0.839	0.567 ±0.004	503.333 ±0.839	0.749 ±0.020

5.3.3.5. Zeta potansiyel ölçümü

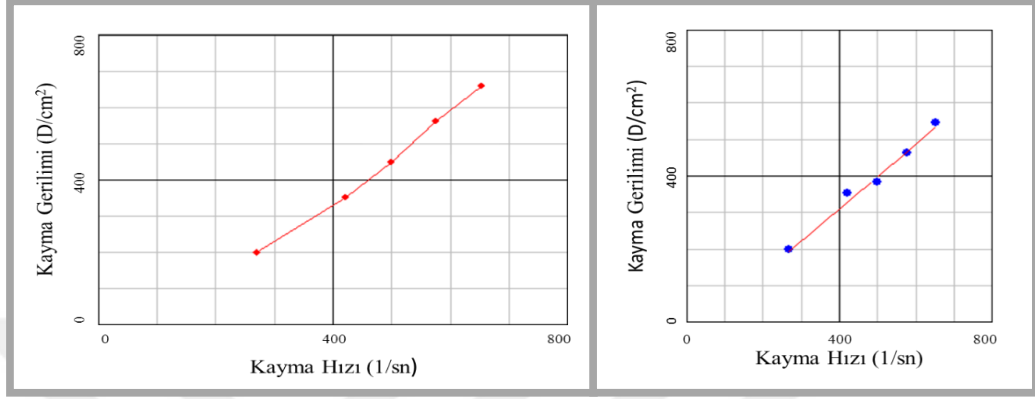
4°C, 25°C ve 40°C'lik sıcaklık koşullarında saklanan formülasyonların zeta potansiyel değerleri taze hazırlanmış formülasyon değeri ile birlikte Çizelge 5.15'de sunulmuştur.

Çizelge 5.15. Mikroemülsiyonların Zeta Potansiyel Değerleri (n=6)

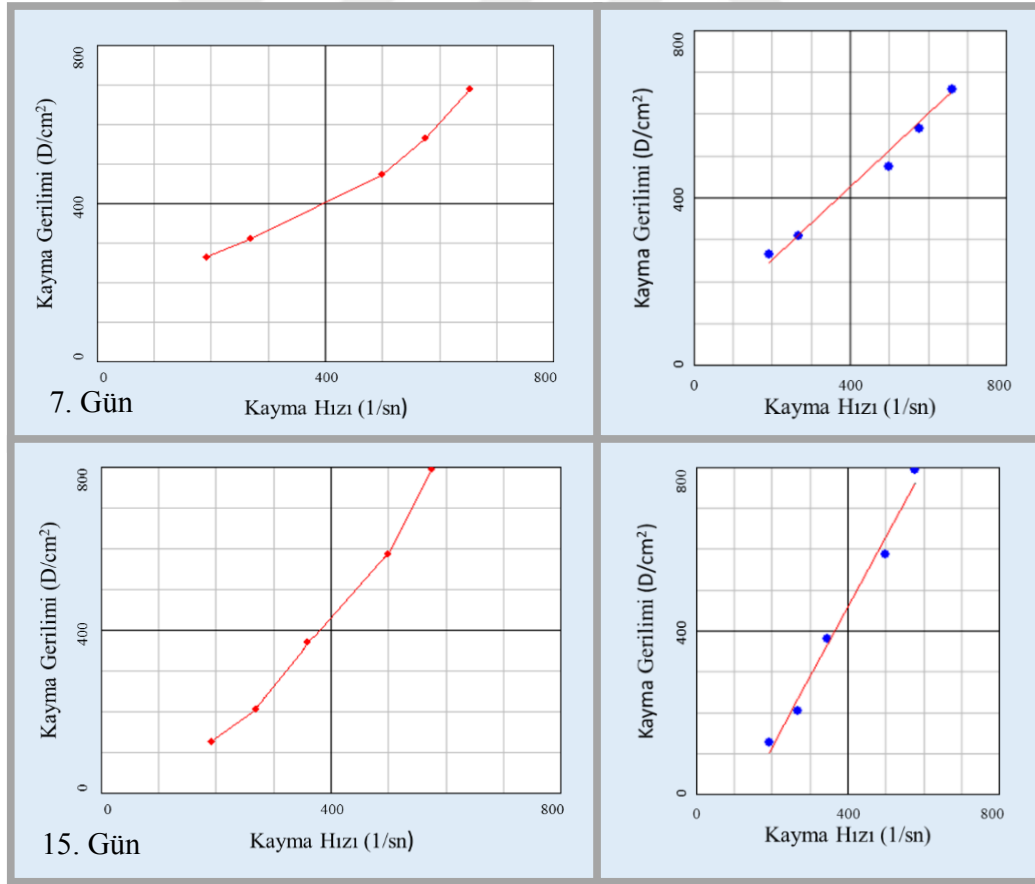
Zaman	Saklama Koşulları		
	25°C	4°C	40°C
	Ortalama ± Standart Hata (mV±SH)		
0. Zaman	-38.733±0.985	-38.733±0.985	-38.733±0.985
7. Gün	-42.300±1.186	-45.333±1.929	-42.333±1.309
15. Gün	-46.633±0.838	-47.333±1.166	-37.667±0.400
30. Gün	-41.433±0.693	-40.800±0.524	-36.967±0.430
60. Gün	-42.433±0.918	-42.600±0.267	-40.300±0.318
90. Gün	-47.700±1.017	-43.633±1.034	-40.167±0.372

5.3.3.6. Reolojik davranışların incelenmesi

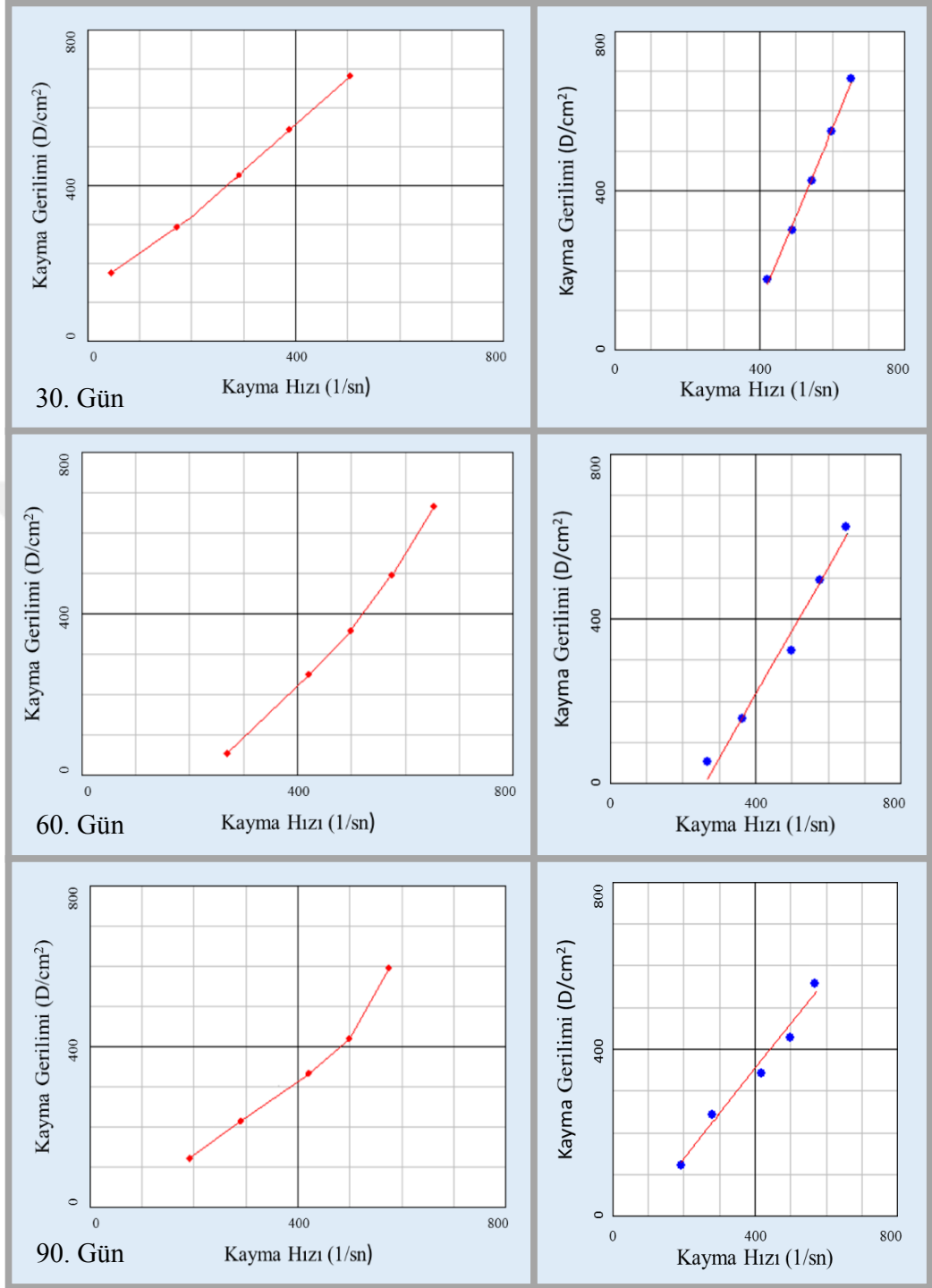
4°C, 25°C ve 40°C'lik sıcaklıkta saklanan formülasyonlara ait reogramlar Şekil 5.19, 5.20, 5.21 ve 5.22'de sunulmuştur.



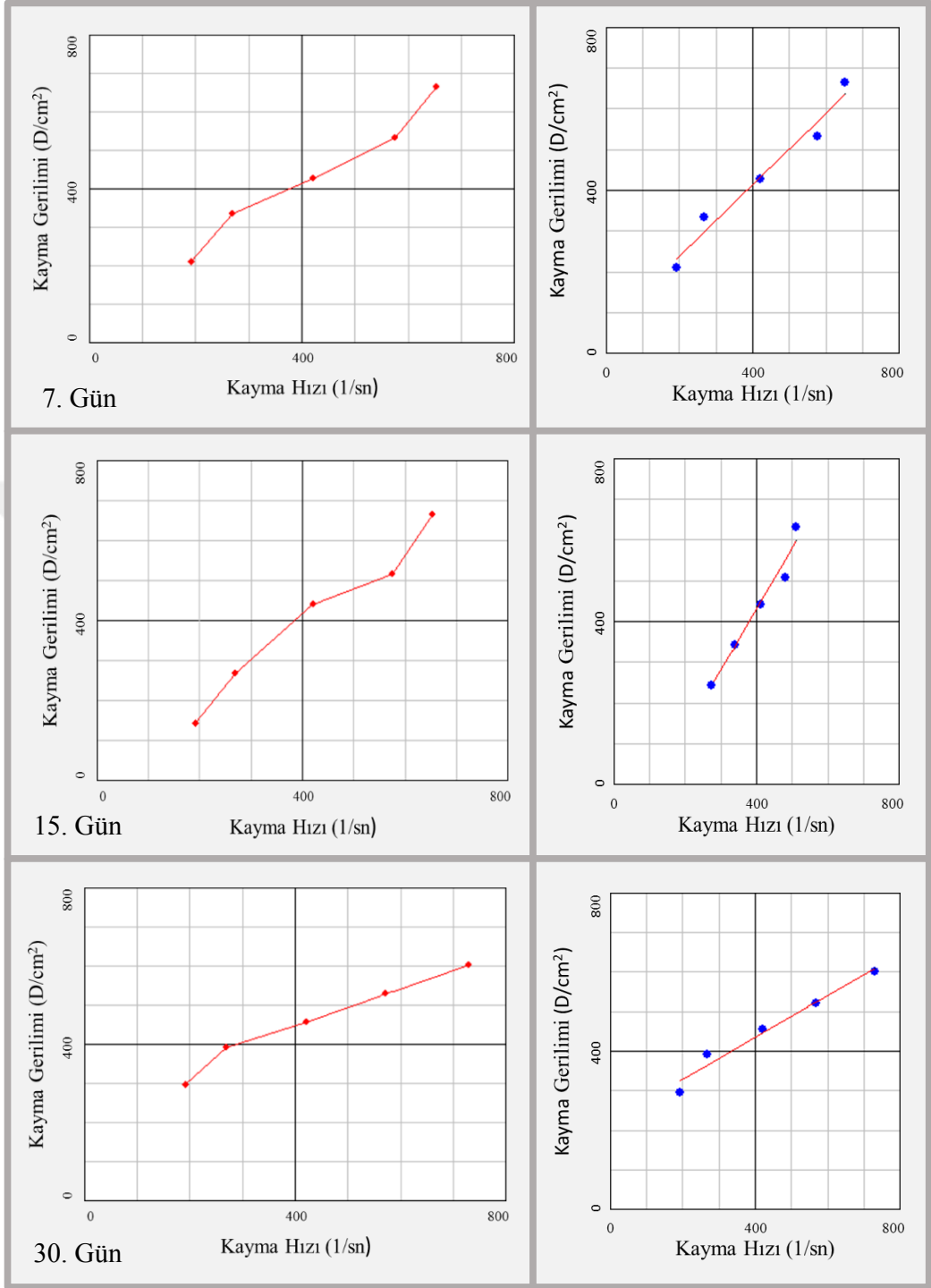
Şekil 5.19. Mikroemülsiyon Formülasyonuna ait 0. Zaman Reogramı



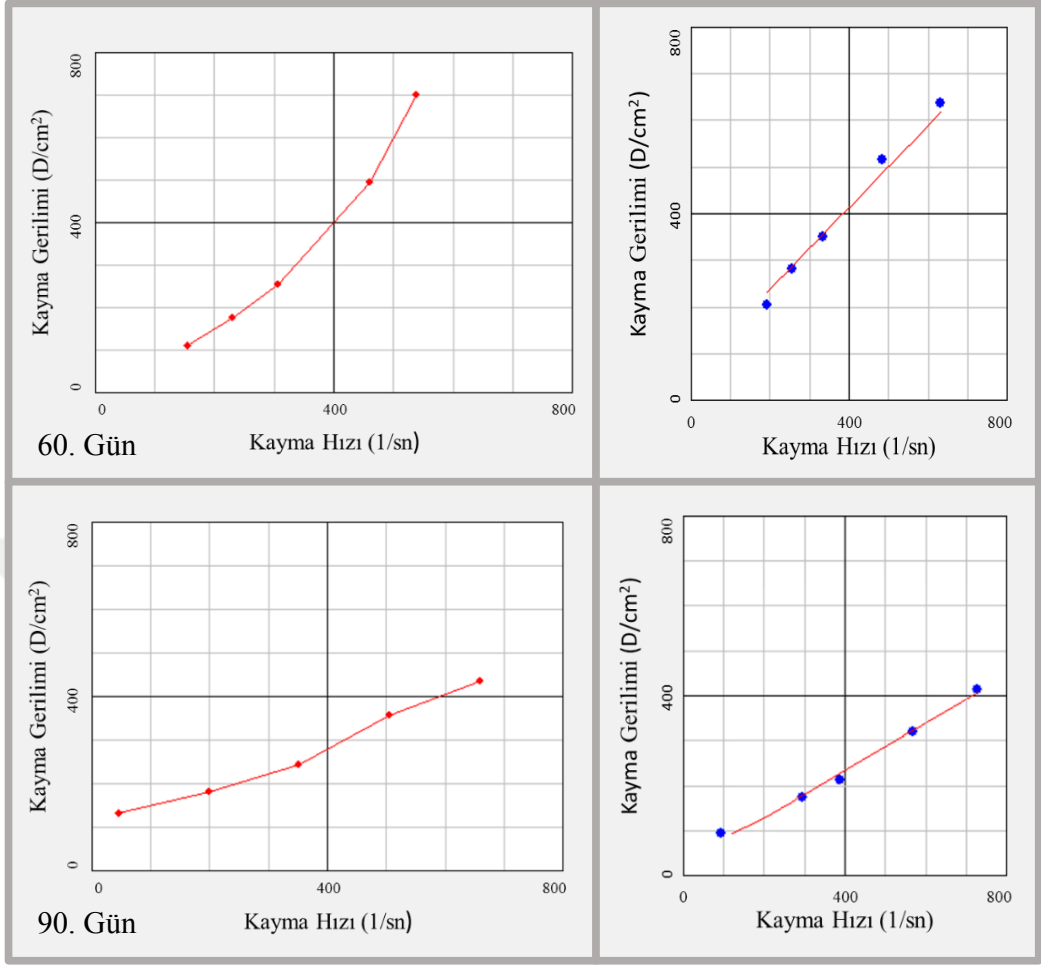
Şekil 5.20. 25°C'de Saklanan Mikroemülsiyona ait Reogramlar (7, 15. Gün)



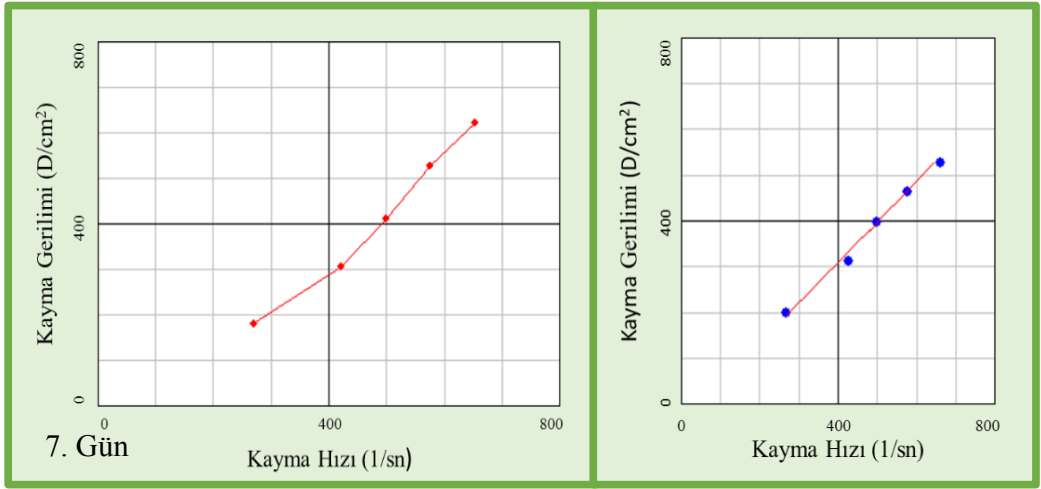
Şekil 5.20. (Devam) 25°C'de Saklanan Mikroemülsiyona ait Reogramlar (30, 60, 90. Gün)



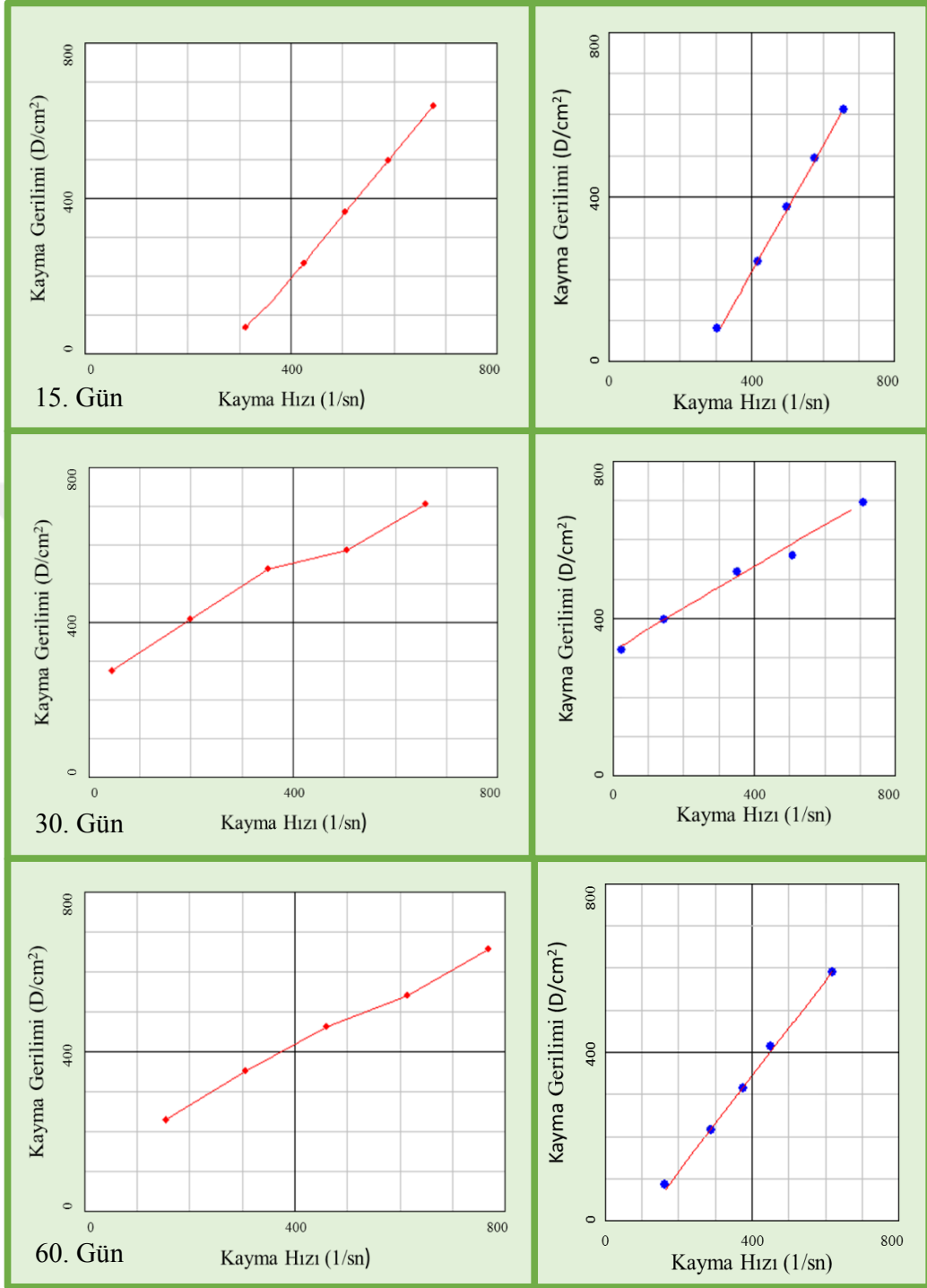
Şekil 5.21. 4°C'de Saklanan Mikroemülsiyona ait Reogramlar (7, 15, 30. Gün)



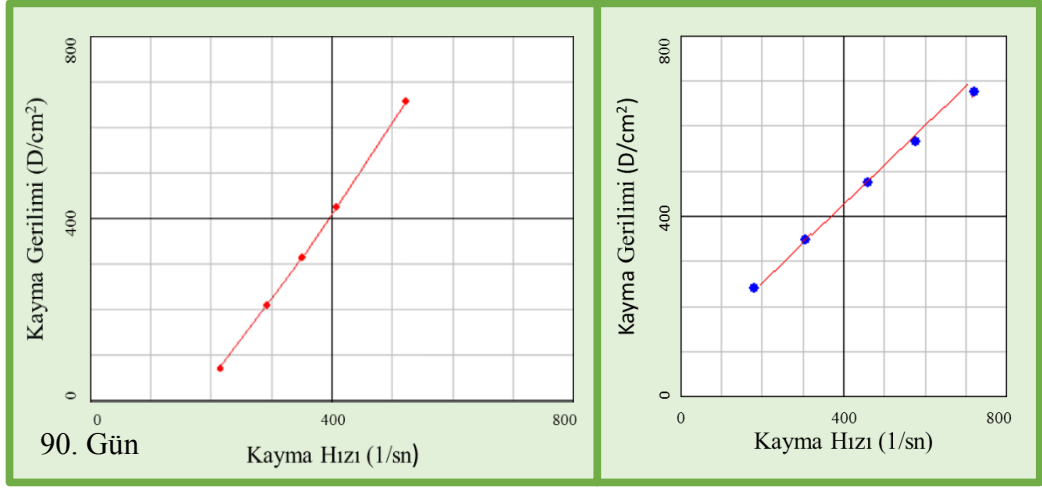
Şekil 5.21. (Devam) 4°C'de Saklanan Mikroemülsiyona ait Reogramlar (60, 90. Gün)



Şekil 5.22. 40°C'de Saklanan Mikroemülsiyona ait Reogramlar (7. Gün)



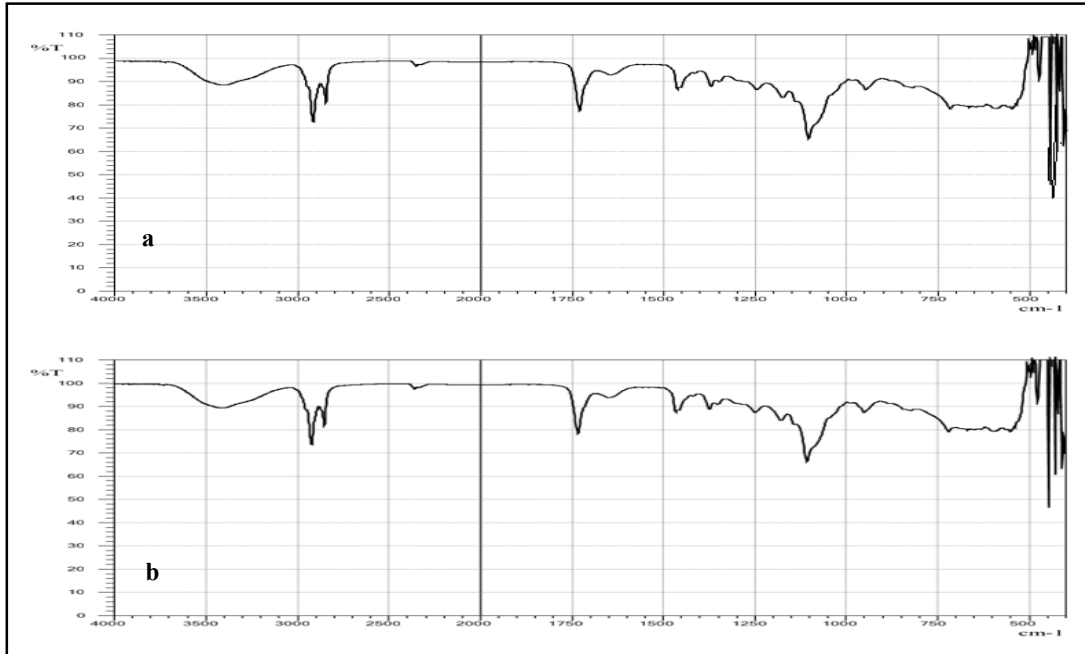
Şekil 5.22. (devam) 40°C'de Saklanan Mikroemülsiyona ait Reogramlar (15, 30, 60. Gün)



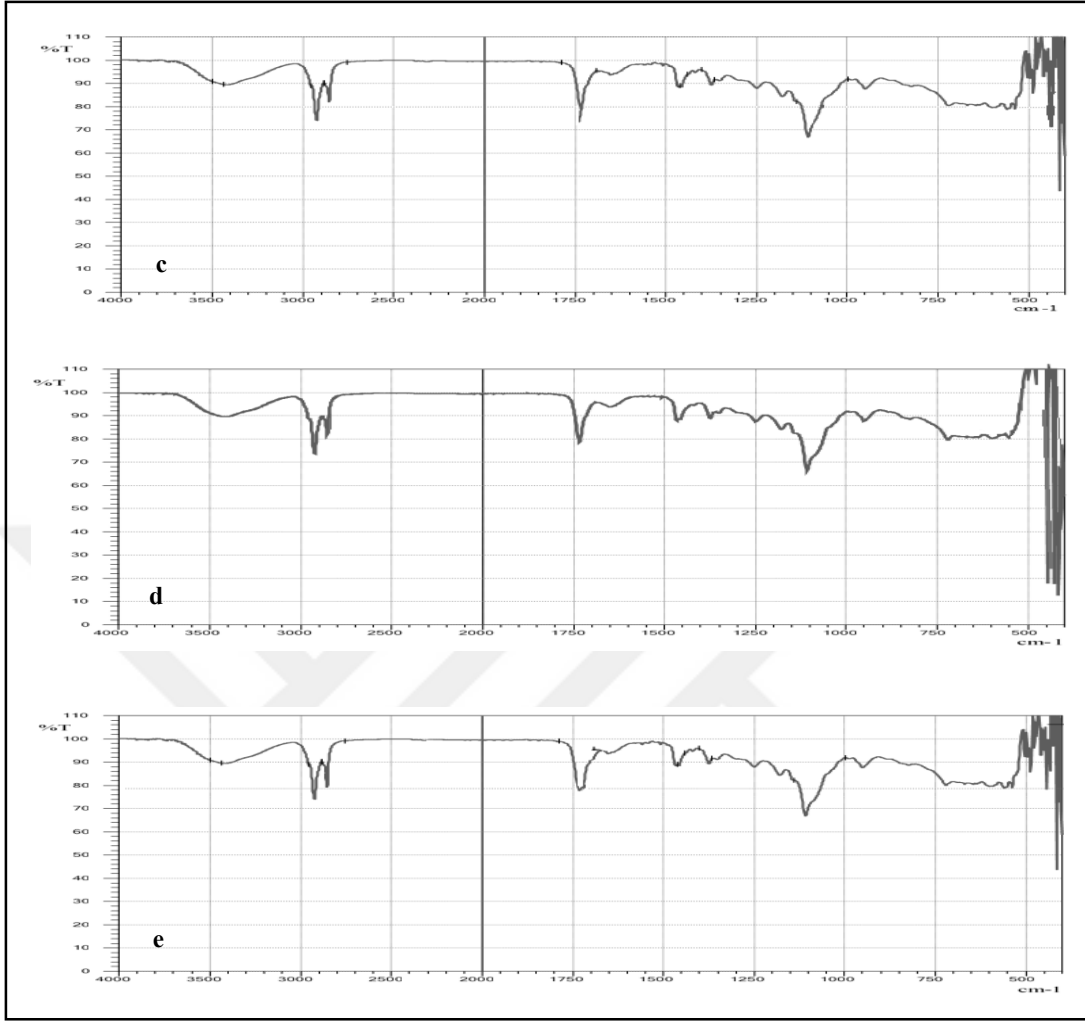
Şekil 5.22. (devam) 40°C'de Saklanan Mikroemülsiyona ait Reogramlar (90. Gün)

5.3.3.7. İnfrared (FT-IR) analizi

Etkin madde içermeyen ve etkin madde içeren taze hazırlanmış ve 4°C, 25°C ve 40°C'lik sıcaklıkta saklanan formülasyonların 400-4000 cm⁻¹ arasındaki FT-IR spektrumları Şekil 5.23'de sunulmuştur.



Şekil 5.23. Mikroemülsiyonlara ait FT-IR Spektrumları
a. Plasebo formülasyon; b. Etkin madde içeren formülasyon, 0. Gün



Şekil 5.23. (devam) Mikroemülsiyonlara ait FT-IR Spektrumları

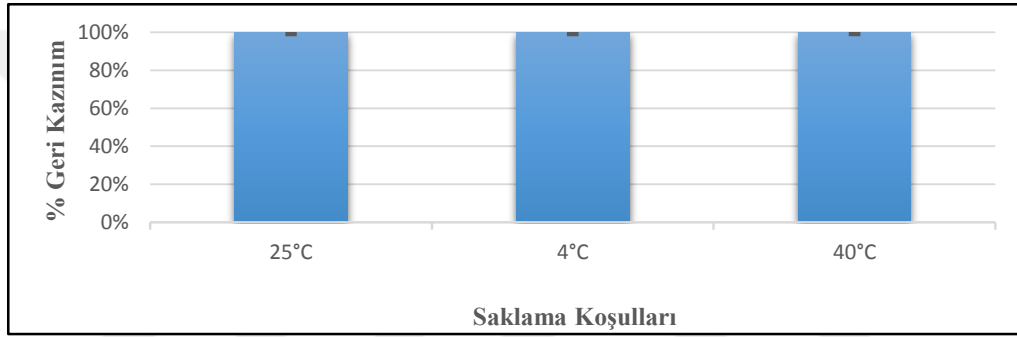
*c. 25°C'de saklanan formülasyon, 90. Gün; d. 4°C'de saklanan formülasyon, 90. Gün;
e. 40°C'de saklanan formülasyon, 90. Gün*

5.3.3.8. Etkin madde miktar tayini

25°C, 4°C ve 40°C'lık sıcaklık koşullarında saklanan formülasyonların 7., 15., 30., 60. ve 90. günlerde daha önceden valide edilmiş yöntem UPLC kullanılarak miktar tayinleri yapılmış ve % geri kazanımları hesaplanmıştır. Her formülasyon için analiz 6 tekrar olarak yapılmış, ortalamaları, standart sapma ve standart hataları ile birlikte Çizelge 5.16'da sunulmuştur. Ayrıca saklama koşullarına ait % geri kazanım bulguları grafik ile Şekil 5.24'te sunulmuştur.

Çizelge 5.16. Mikroemülsiyon Formülasyonlarında Etkin Maddenin Geri Kazanımı, %

Zaman	Saklama Koşulları		
	25°C	4°C	40°C
7. Gün	100.43570	101.20820	101.25330
15. Gün	98.13515	100.27510	101.20720
30. Gün	98.42900	99.65470	99.86574
60. Gün	101.2559	100.06584	97.31566
90. Gün	99.46785	99.36450	96.65685
Ortalama	99.54472	99.84004	99.25975
Standart Sapma	1.17979	0.35381	1.93331
Bağıl Standart Sapma	0.01185	0.00354	0.01947



Şekil 5.24. Mikroemülsiyon Formülasyonlarında Etkin Maddenin Geri Kazanımı, %

5.4. Nanopartikül Formülasyonları ile Yapılan Çalışmalar

5.4.1. Nanopartikül formülasyonlarının fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve kararlılık çalışmaları

5.4.1.1. Parçacık boyutu analizi ve dağılımı

Hazırlanan nanopartikül formülasyonlarının ölçülen parçacık boyutu ve dağılımı ve iletkenliği Çizelge 5.17’de sunulmuştur.

Çizelge 5.17. Nanopartikül Formülasyonlarının Parçacık Boyutu ve Dağılımı (n=6)

Zaman	Formülasyon Kodu			
	NP1		NP2	
	Boyut (nm±SH)	PDI	Boyut (nm±SH)	PDI
0. Zaman	302.467±12.817	0.531±0.070	305.633±10.750	0.542±0.039
3. Ay	314.800±11.495	0.435±0.035	332.567±4.288	0.557±0.060
6. Ay	327.833±5.347	0.461±0.019	313.967±4.278	0.552±0.024

5.4.1.2. Zeta potansiyel ölçümü

Hazırlanan nanopartikül formülasyonlarının zeta potansiyel ölçümleri Çizelge 5.18’de sunulmuştur.

Çizelge 5.18. *Nanopartikül Formülasyonlarının Zeta Potansiyel Değerleri (n=6)*

Zaman	Formülasyon Kodu	
	NP1 (mV±SH)	NP2 (mV±SH)
0. Zaman	44.9±0.7	39.4±1.0
3. Ay	50.2±0.7	42.1±0.7
6. Ay	49.7±0.9	50.4±1.1

5.4.1.3. pH analizi

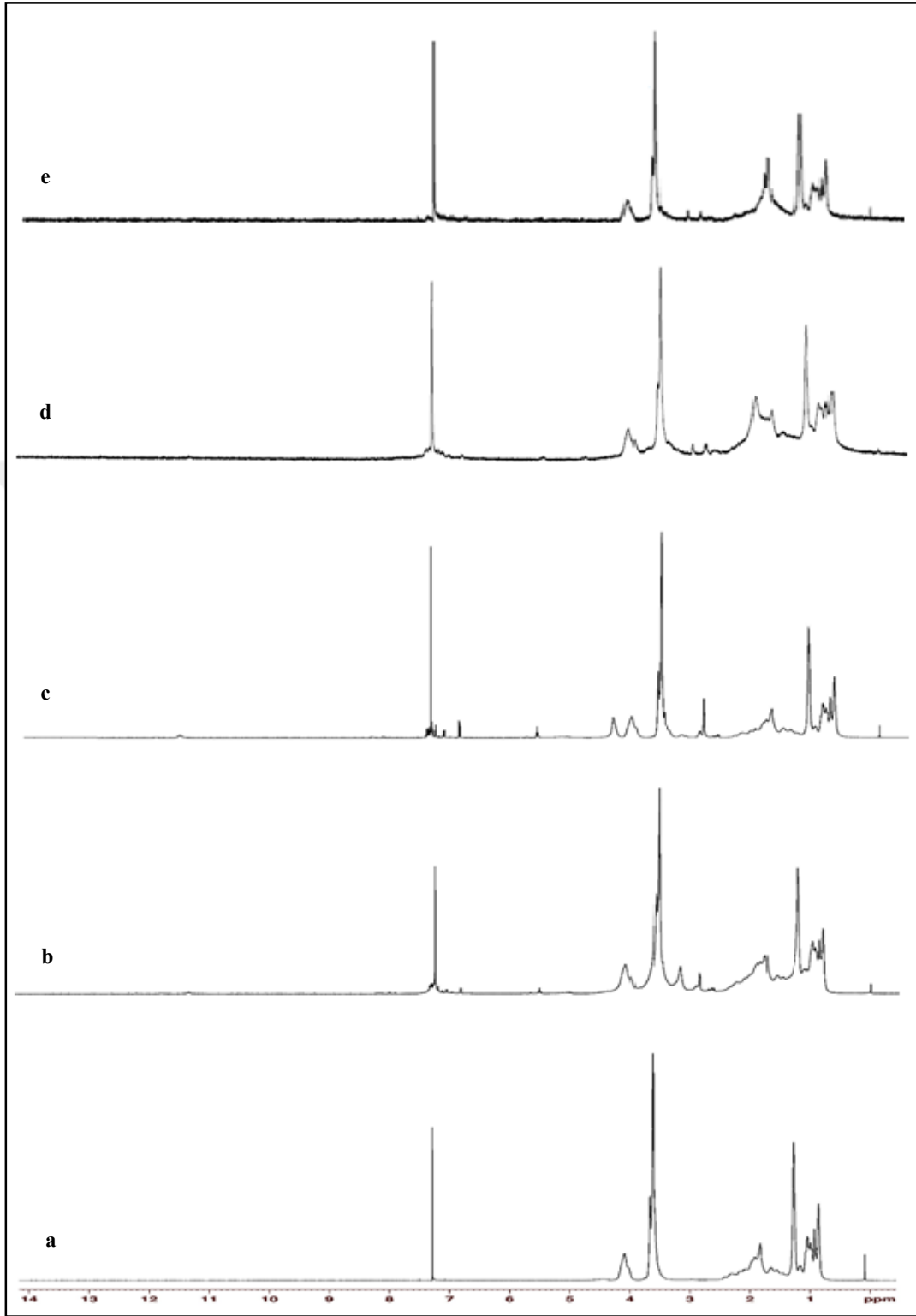
Hazırlanan nanopartikül formülasyonlarının pH değerleri ortalama ve standart hata (SH) olarak Çizelge 5.19’da sunulmuştur.

Çizelge 5.19. *Nanopartikül Formülasyonlarının pH Değerleri (n=3)*

Zaman	Formülasyon Kodları	
	NP1	NP2
0. Zaman	6.82	7.12
	6.84	7.18
	6.88	7.15
Ort ± SH	6.85 ± 0.01	7.15 ± 0.01
3. Ay	6.58	7.04
	6.60	7.00
	6.58	6.92
Ort ± SH	6.59 ± 0.00	6.99 ± 0.02
6. Ay	6.02	6.66
	6.14	6.72
	6.00	6.58
Ort ± SH	6.05 ± 0.03	6.65 ± 0.02

5.4.1.4. Nükleer manyetik rezonans (¹H-NMR) analizi

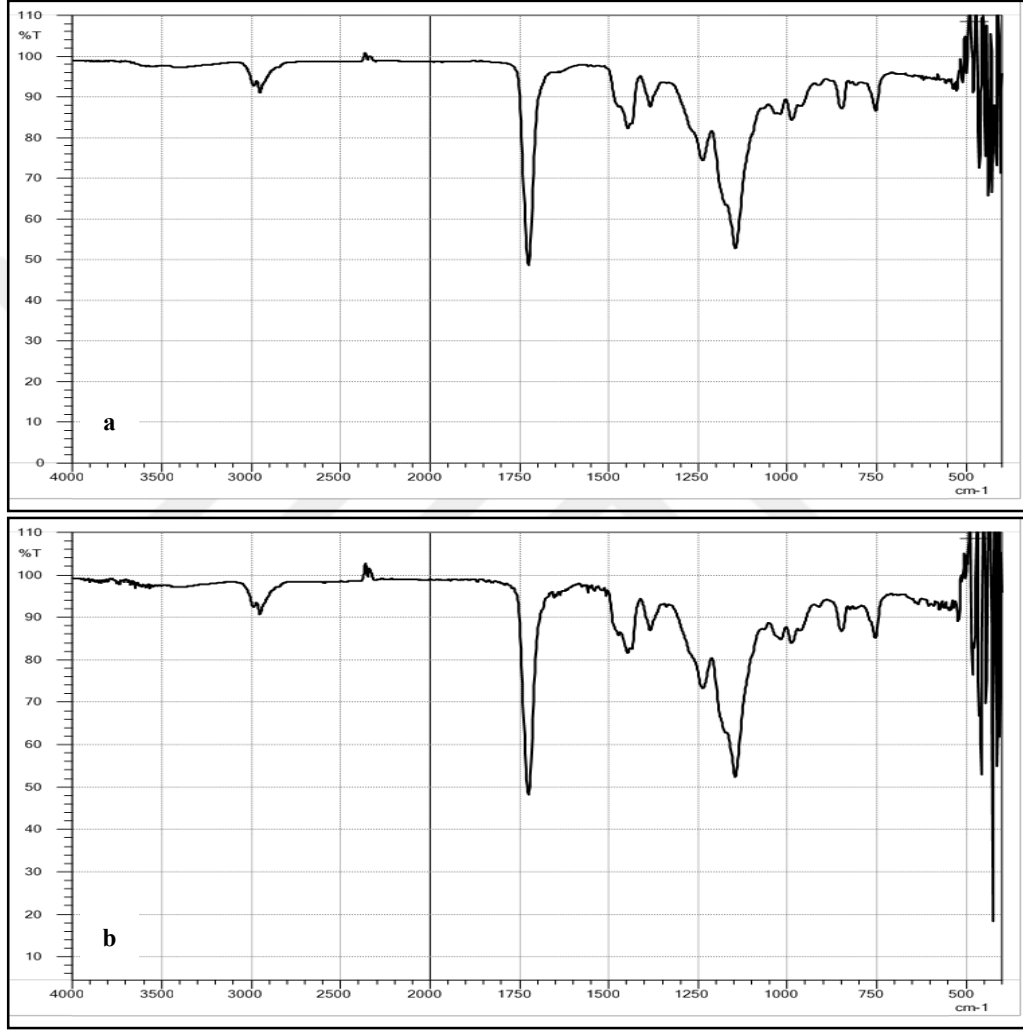
25°C’de ve çözücü olarak dötörokloroform’un kullanıldığı plasebo formülasyona, taze etkin madde içeren formülasyonlara ve hazırlanan formülasyonlara ait ¹H-NMR spektrumları kararlılık çalışması kapsamındaki spektrumlar ile birlikte Şekil 5.25’te sunulmuştur.



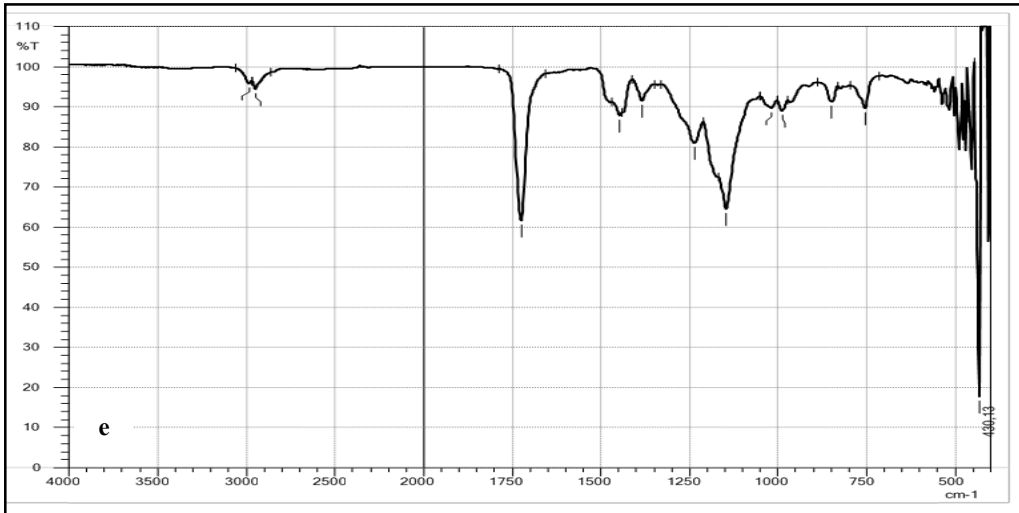
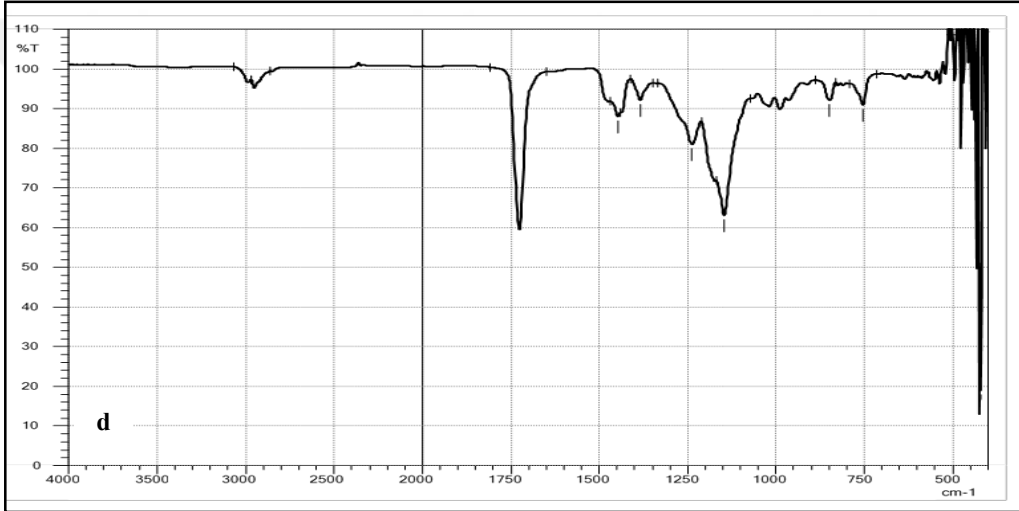
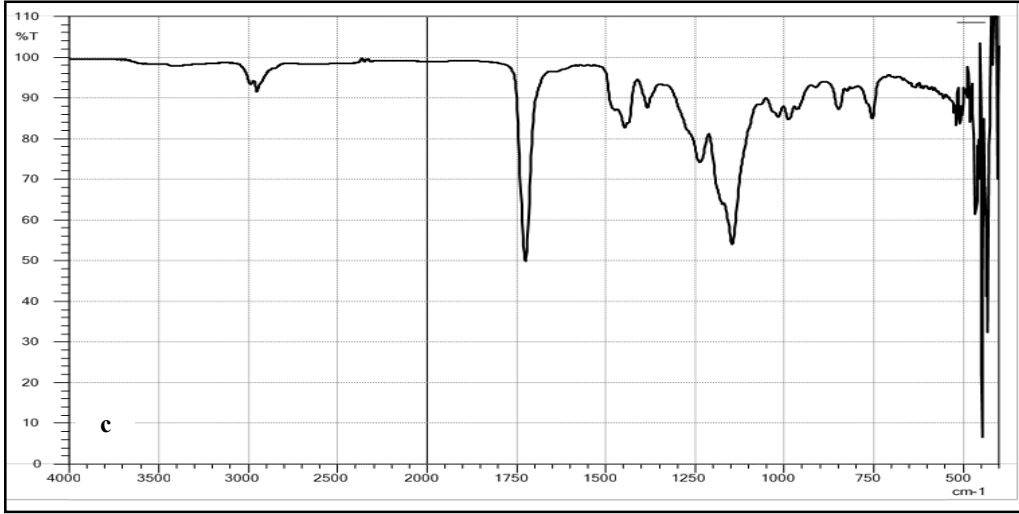
Şekil 5.25. Nanopartikül Formülasyonlarına ait NMR Spektrumları
a. Plasebo formülasyon; *b.* NP1, 0. Gün; *c.* NP2, 0. Gün; *d.* NP1, 90. Gün;
e. NP2, 90. Gün

5.4.1.5. *İnfrared (FT-IR) analizi*

Plasebo formülasyona, etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonlara ve hazırlanan formülasyonlara ait FT-IR spektrumları kararlılık çalışması kapsamındaki spektrumlar ile birlikte Şekil 5.26’da sunulmuştur.



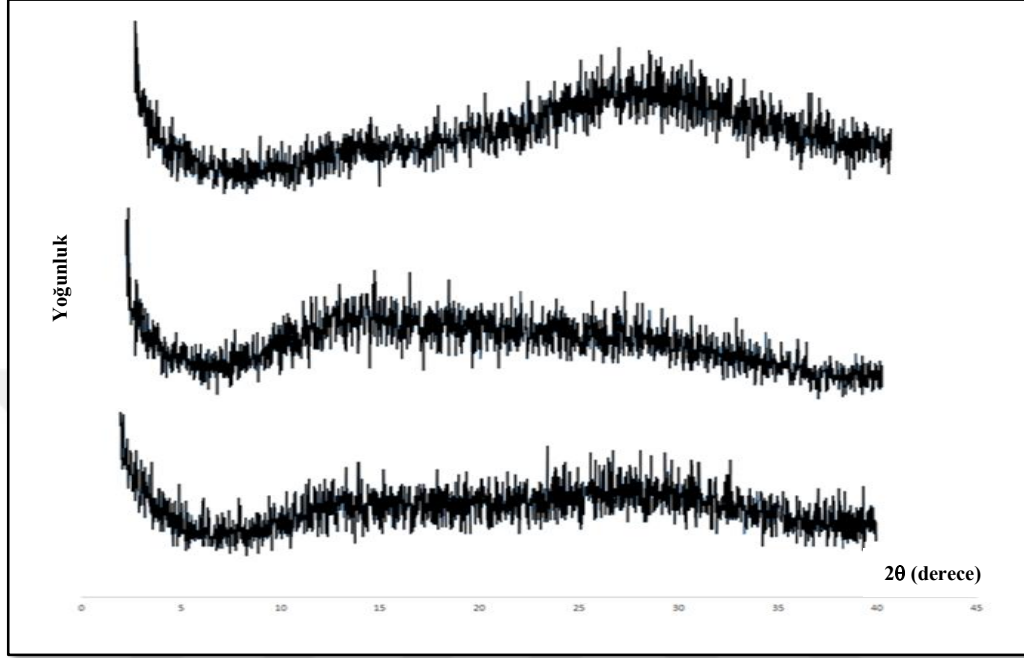
Şekil 5.26. *Nanopartikül Formülasyonlarına ait FT-IR Spektrumları*
a. Plasebo formülasyon; b. NPI, 0. Gün



Şekil 5.26. (Devam) Nanopartikül Formülasyonlarına ait FT-IR Spektrumları
c. NP2, 0. Gün; d. NP1, 90. Gün; e. NP2, 90. Gün

5.4.1.6. X-Işını kırınım analizi

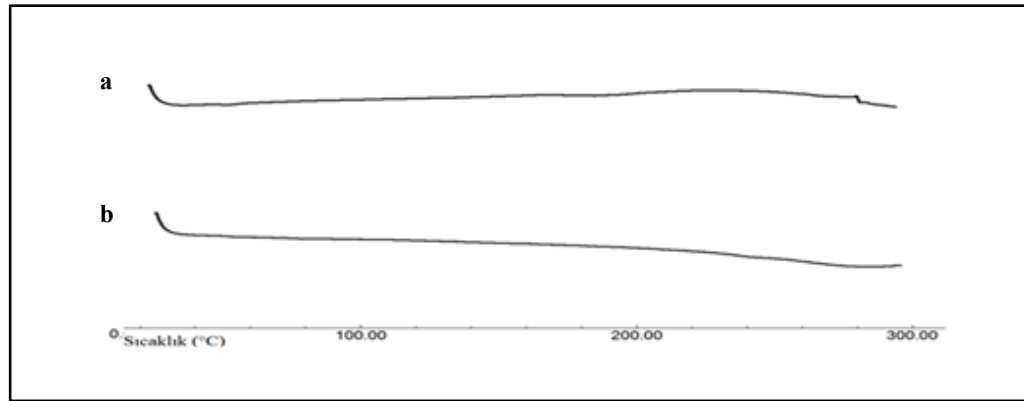
Etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların analiz profilleri Şekil 5.27’de sunulmuştur.



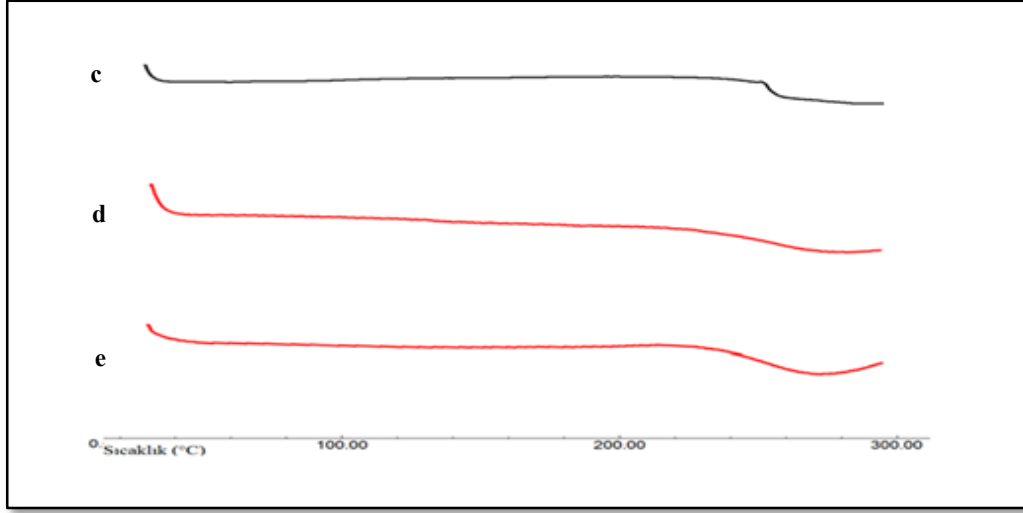
Şekil 5.27. Nanopartikül Formülasyonlarına ait X-Işını Kırınım Profilleri
a. Plasebo formülasyon; b. NP1; c. NP2

5.4.1.7. Termal analiz

Etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların termogramları Şekil 5.28’de sunulmuştur.



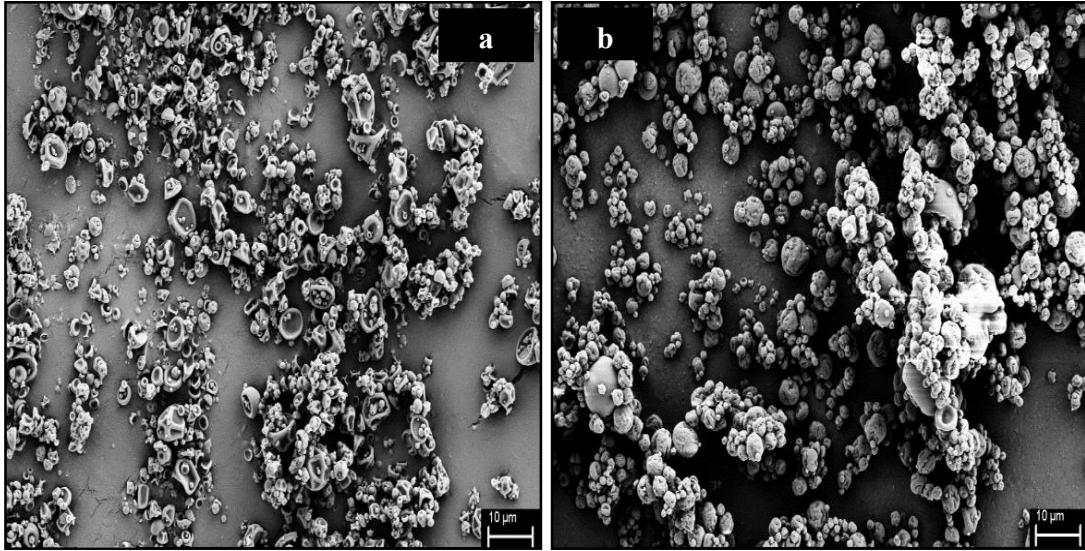
Şekil 5.28. Nanopartikül Formülasyonlarının Termogramı
a. Plasebo formülasyon; b. NP1



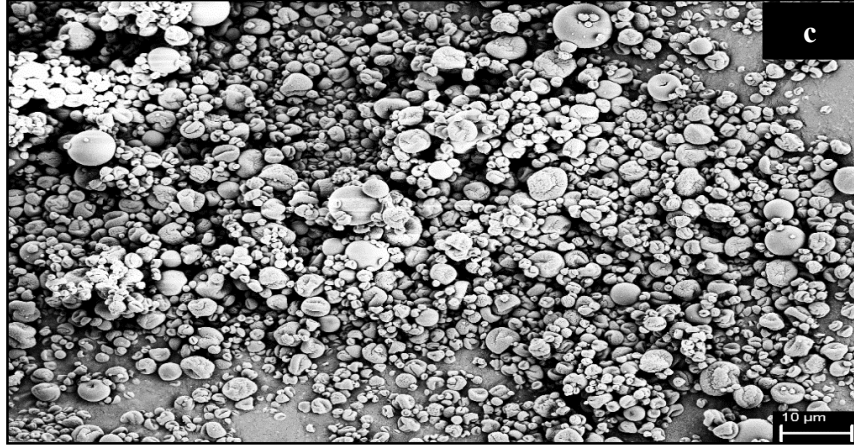
Şekil 5.28. (Devam) Nanopartikül Formülasyonlarının Termogramı
c. NP2, 0. Gün; d. NP1, 90. Gün; e. NP2, 90. Gün

5.4.1.8. Morfolojik inceleme

Etkin madde içermeyen plasebo formülasyonun ve etkin madde içeren taze hazırlanmış formülasyonların taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 5.29’da sunulmuştur.



Şekil 5.29. Nanopartikül Formülasyonlarına ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüleri
a. Plasebo formülasyon; b. NP1; c. NP2



Şekil 5.29. (Devam) Nanopartikül Formülasyonlarına ait Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüleri c. NP2

5.4.1.9. Etkin madde miktarı ve yükleme kapasitesi

Nanopartikül formülasyonlarının içerdiği etkin madde miktarı ve yükleme kapasitesine ait değerler Çizelge 5.20’de sunulmuştur.

Çizelge 5.20. Nanopartikül Formülasyonlarının İçerdiği Etkin Madde Miktarı ve Yükleme Kapasitesi

Zaman	Formülasyon Kodu	OLO _T (μg ±SH)	OLO _S (μg ±SH)	OLO _E (%)
0. Zaman	NP1	140.007±0.738	102.138±0.874	27.048
	NP2	203.680±0.532	184.990±0.587	9.176
3. Ay	NP1	141.422±0.560	103.436±0.755	26.983
	NP2	208.602±0.797	188.783±0.847	9.530
6. Ay	NP1	144.755±1.172	106.270±0.847	26.706
	NP2	213.602±1.161	192.783±0.524	9.776

OLO_T= Toplam Etkin Madde Miktarı; OLO_S= Yüzeğe Tutunan Etkin Madde Miktarı; OLO_E= Yüklenen Etkin Madde Yüzde Miktarı (n=6)

5.5. İn situ Jel Formülasyonları ile Yapılan Çalışmalar

5.5.1. Formülasyonların seçimi

Hazırlanan formülasyonların içeriği Çizelge 5.21’de % olarak sunulmuştur.

Çizelge 5.21. *İn situ* Jel Formülasyonlarının Kod ve Bileşenleri

Kod	Polimer			Olopatadin Hidroklorür	NaCl	Benzalkonyum Klorür	Distile Su
	Poloxamer	Pluronic® F 127	HPMC				
P16	16	-	-	0.1	0.884	0.01	km 100
F16	-	16	-	0.1	0.884	0.01	km 100
FH1405	-	14	0.5	0.1	0.884	0.01	km 100

5.5.2. *İn situ* jel formülasyonların fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi

5.5.2.1. *Jelleşme kapasitesi*

Hazırlanan etkin maddeli formülasyonların jelleşme kapasiteleri Çizelge 5.22’de sunulmuştur.

Çizelge 5.22. *İn Situ* Jel Formülasyonlarının *Jelleşme Kapasitesi*

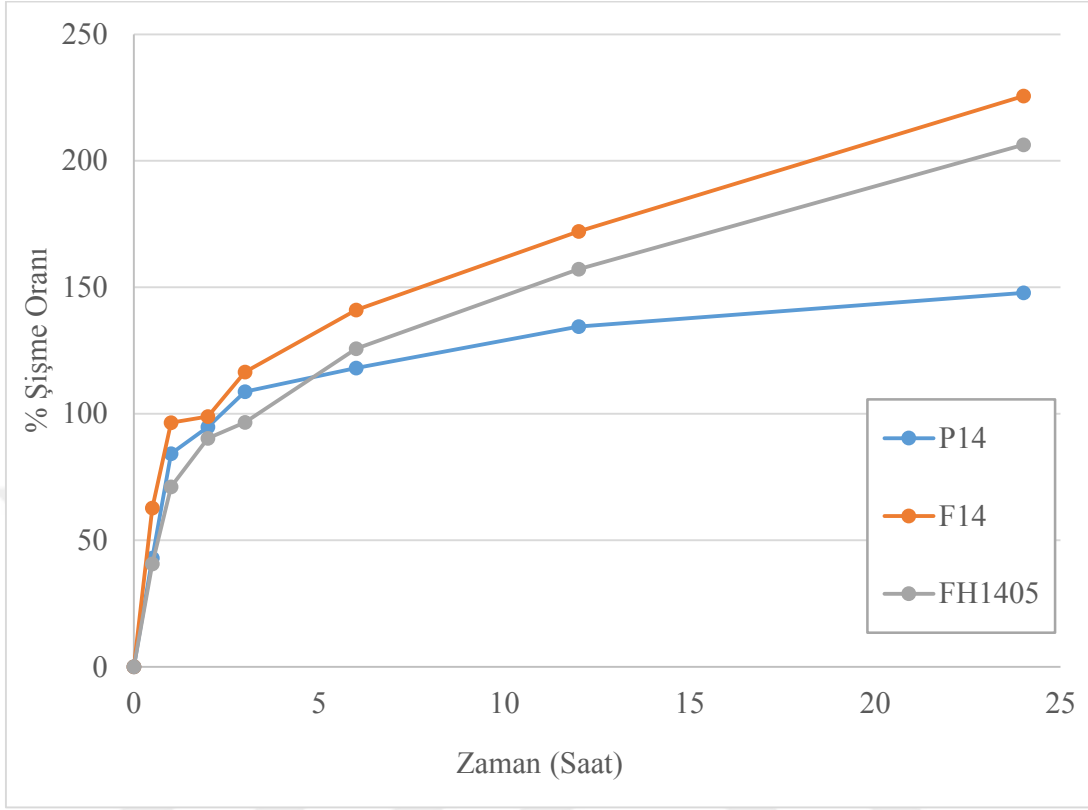
Kod	Jelleşme Kapasitesi
P16	++
F16	++
FH1405	+++

5.5.2.2. *Şişme çalışması*

Hazırlanan etkin maddeli formülasyonlarda şişme oranı bulguları Çizelge 5.30’da sunulmuştur.

Çizelge 5.23. *İn Situ* Jel Formülasyonlarının *Şişme Oranı Bulguları* (% $n=3$)

Zaman (saat)	Şişme Oranı (% \pm SH)		
	P16	F16	FH1405
0.5	42.973 \pm 0.452	62.744 \pm 0.729	40.735 \pm 0.390
1	84.308 \pm 0.696	96.510 \pm 0.177	71.168 \pm 0.267
2	94.862 \pm 0.259	98.925 \pm 0.269	90.365 \pm 1.438
3	108.801 \pm 0.584	116.530 \pm 0.960	96.710 \pm 0.244
6	118.121 \pm 0.613	141.046 \pm 1.293	125.779 \pm 0.421
12	134.531 \pm 0.346	172.191 \pm 0.596	157.245 \pm 0.587
24	147.833 \pm 0.192	225.624 \pm 0.846	206.362 \pm 0.622



Şekil 5.30. *In Situ Jel Formülasyonlarının Zamana Karşı Şişme Oranları*

5.5.2.3. Fiziksel görünüş ve berraklık

Taze hazırlanan formülasyonlar fiziksel görünüşleri açısından görsel olarak incelenmiş, saydam ve tekdüze görünüme sahip oldukları kaydedilmiştir.

5.5.3. *In situ* jel formülasyonlarında yapılan kararlılık çalışması

5.5.3.1. Fiziksel görünüş ve berraklık

Görsel olarak incelenen *in situ* jel formülasyonlarında hazırlandıkları günden itibaren herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Formülasyonlar saydam ve tekdüze görünümünü korumuştur.

5.5.3.2. pH analizi

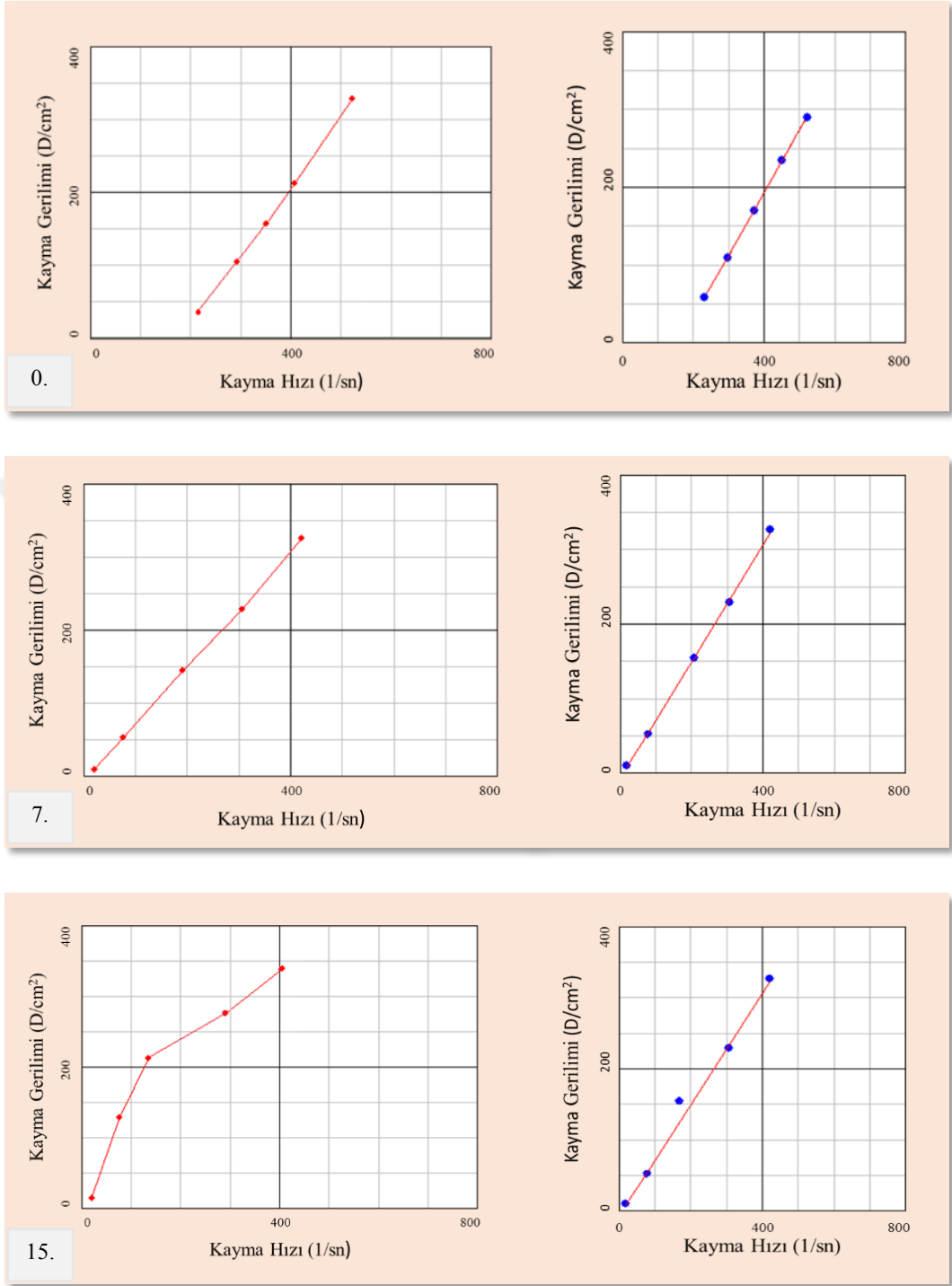
4°C sıcaklık koşulunda saklanan formülasyonların pH değerleri Çizelge 5.24'te sunulmuştur.

Çizelge 5.24. *İn Situ* Jel Formülasyonlarının pH Değeri (n=3)

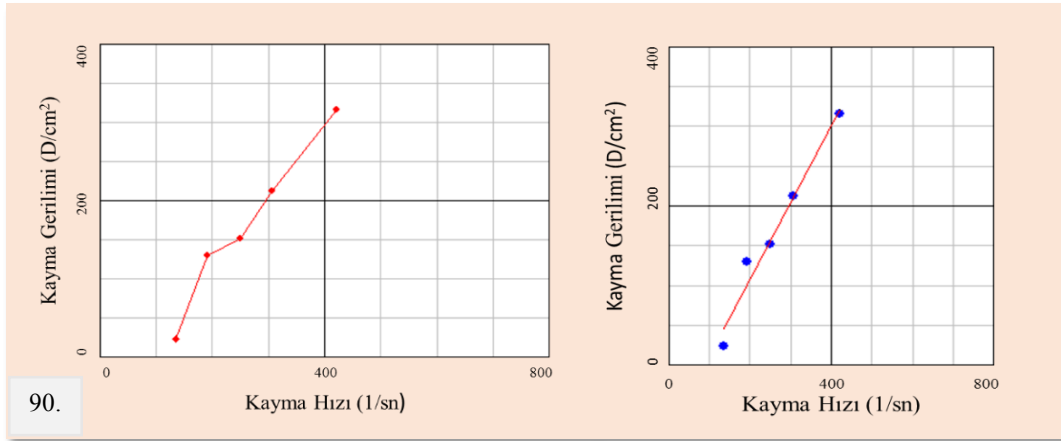
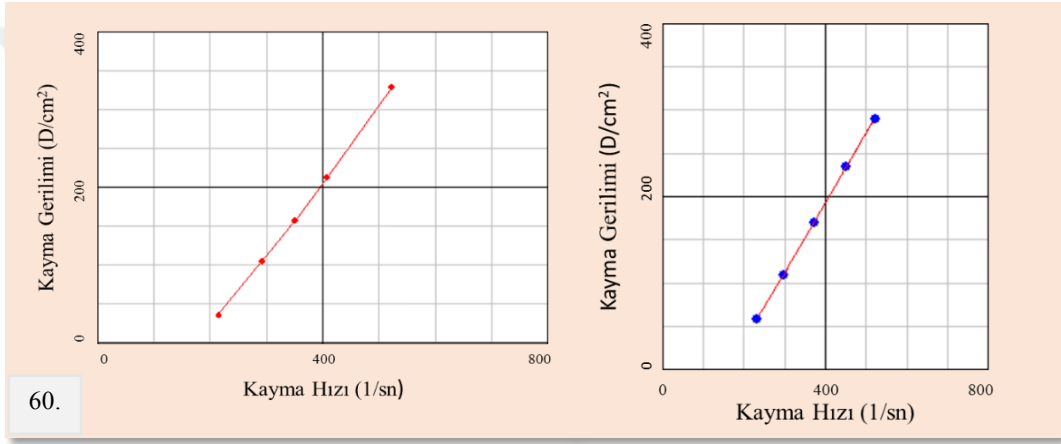
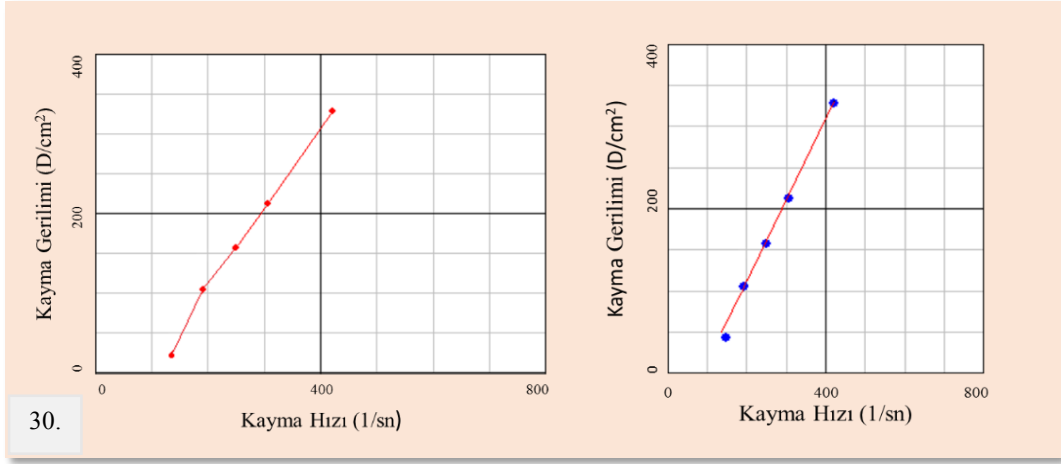
Zaman	Kod		
	P16	F16	FH1405
0. Zaman	6.62	6.60	6.70
	6.61	6.60	6.70
	6.60	6.60	6.69
Ort ± SH	6.61±0.00	6.60±0.00	6.70±0.00
7. Gün	6.62	6.57	6.70
	6.61	6.57	6.70
	6.60	6.60	6.69
Ort ± SH	6.61±0.00	6.58±0.00	6.70±0.00
15. Gün	6.59	6.53	6.69
	6.60	6.52	6.67
	6.58	6.53	6.65
Ort ± SH	6.59±0.00	6.53±0.00	6.67±0.01
30. Gün	5.54	6.50	6.67
	6.57	6.48	6.63
	6.62	6.52	6.62
Ort ± SH	6.58±0.01	6.50±0.01	6.64±0.01
60. Gün	5.58	6.53	6.65
	5.58	6.57	6.63
	5.59	6.54	6.65
Ort ± SH	6.58±0.00	6.55±0.01	6.64±0.00
90. Gün	5.60	6.50	6.63
	5.58	6.48	6.61
	5.57	6.52	6.62
Ort ± SH	6.58±0.01	6.50±0.01	6.62±0.00

5.5.3.3. *Viskozite ve reolojik davranış*

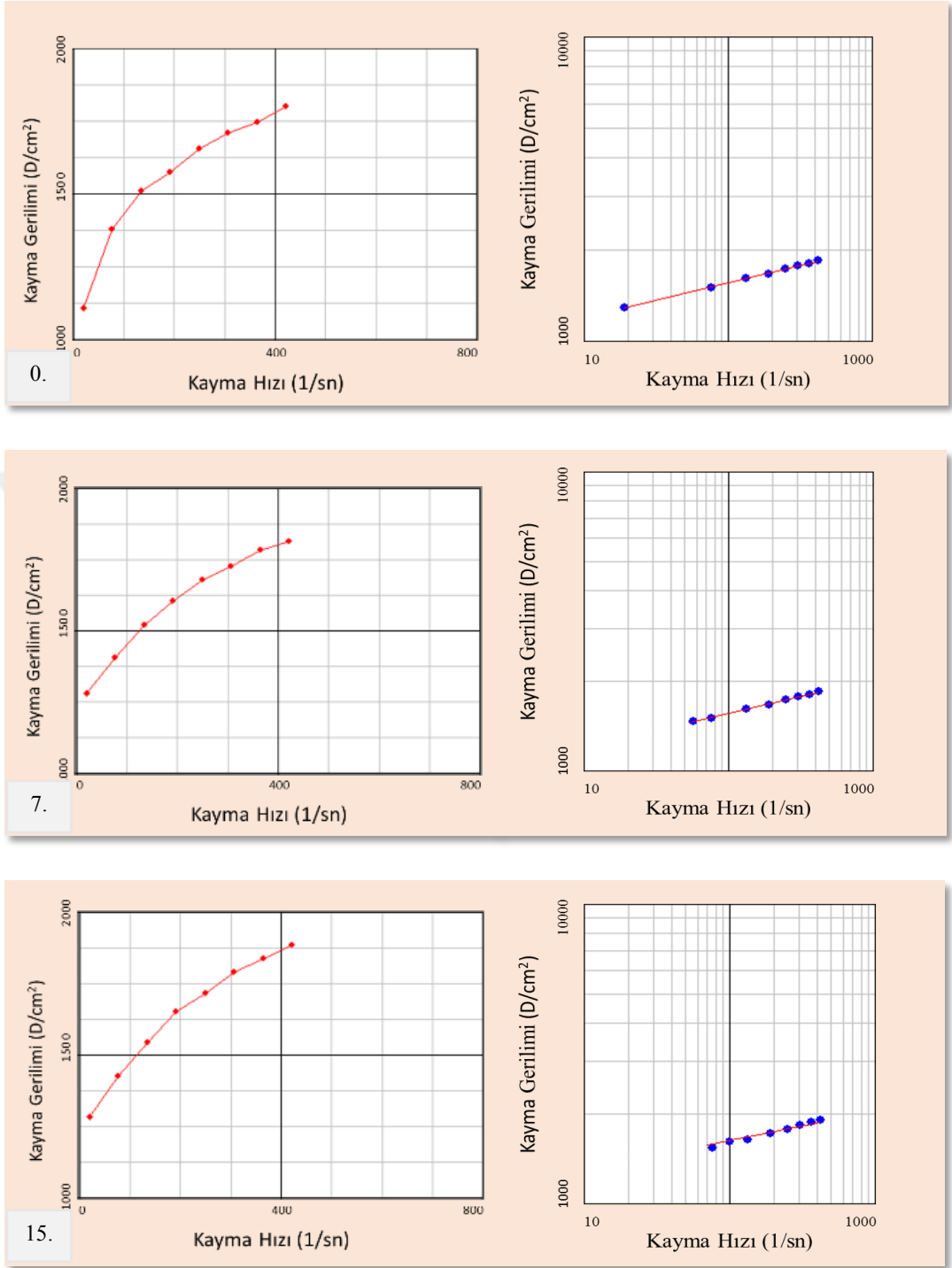
İn situ jel formülasyonlarının 25°C ve 32°C olmak üzere iki farklı sıcaklıktaki reogramları Şekil 5.31, 5.32, 5.33, 5.34, 5.35 ve 5.36'da sunulmuştur.



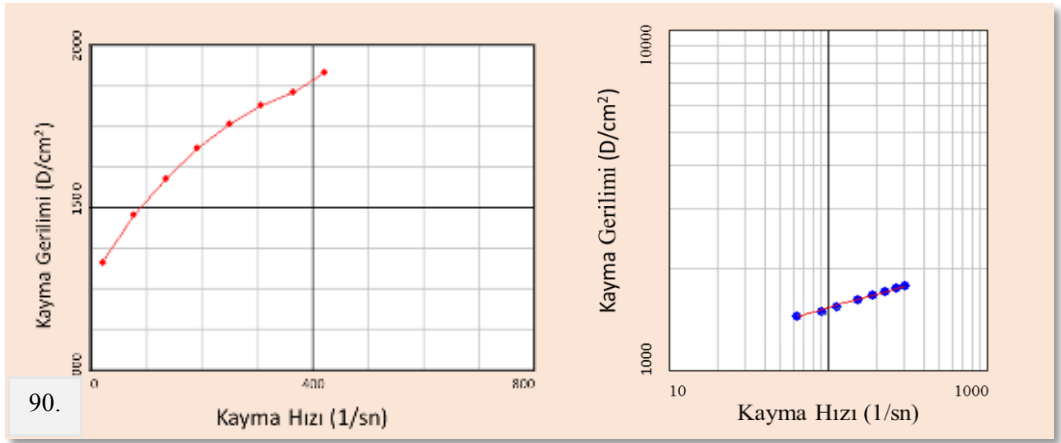
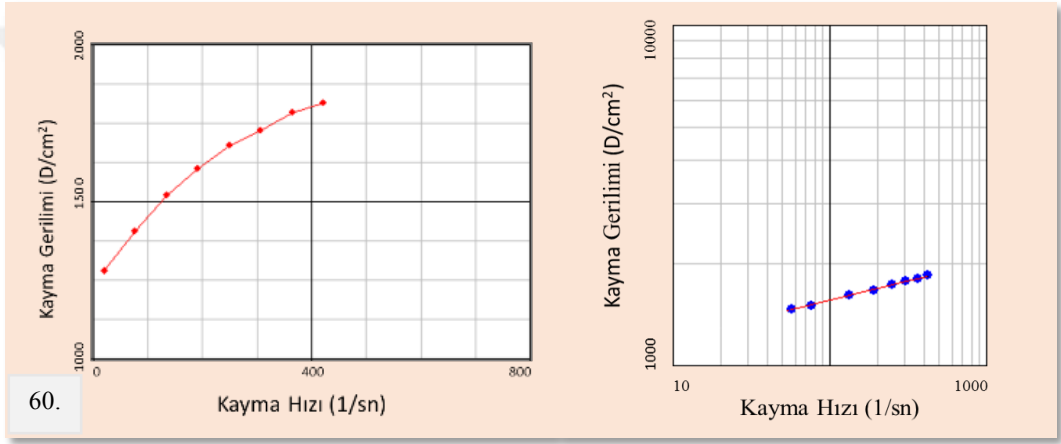
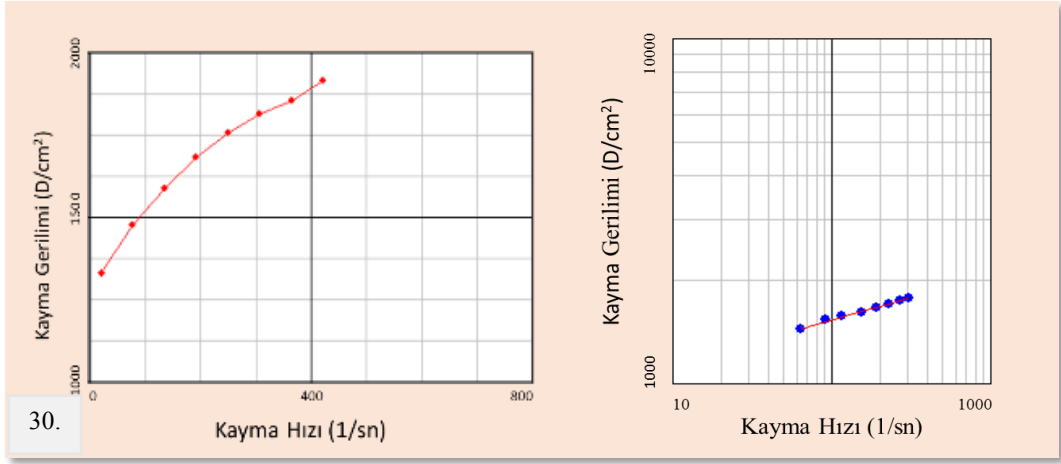
Şekil 5.31. P16 İn Situ Jel Formülasyonuna ait Reogram, 25°C
(0. Zaman, 7, 15. Gün)



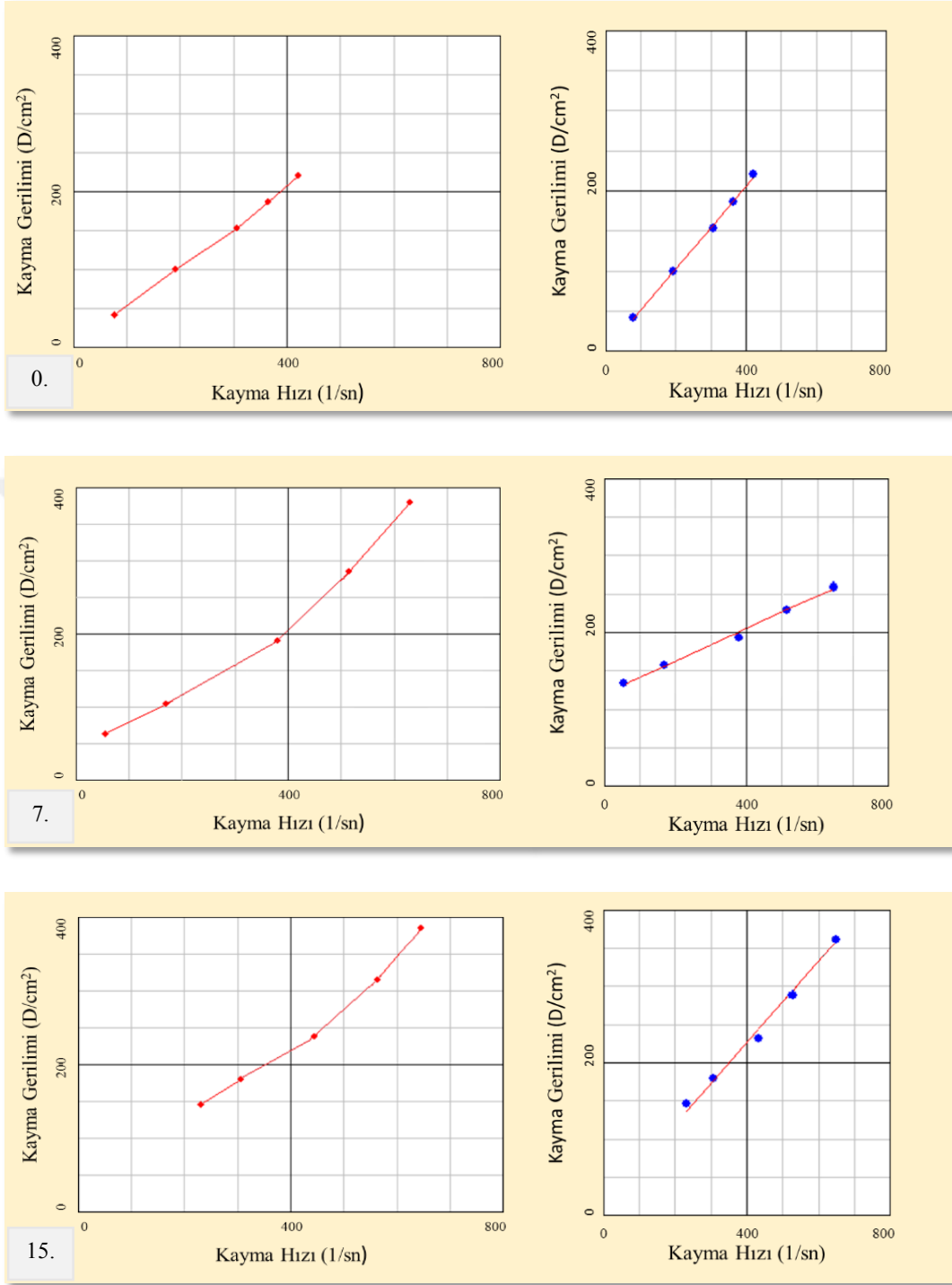
Şekil 5.31. (Devam) P16 İn Situ Jel Formülasyonuna ait Reogram, 25°C
(30, 60 ve 90. Gün)



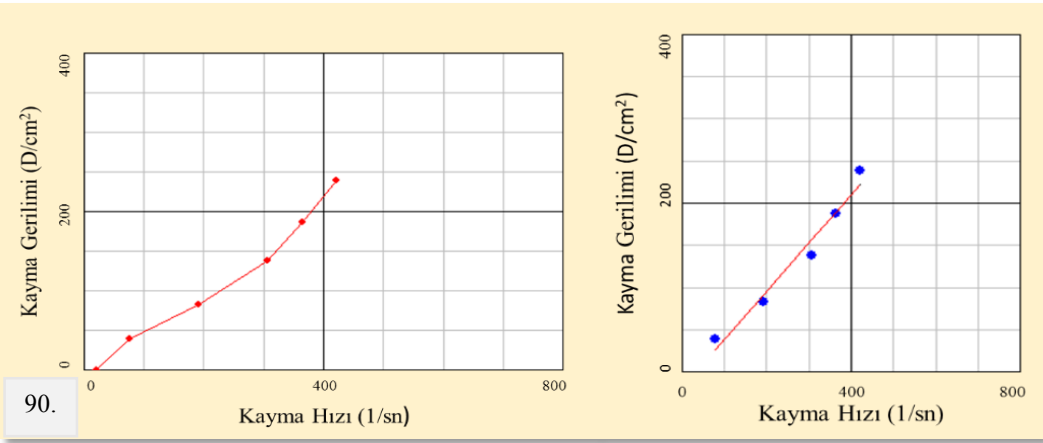
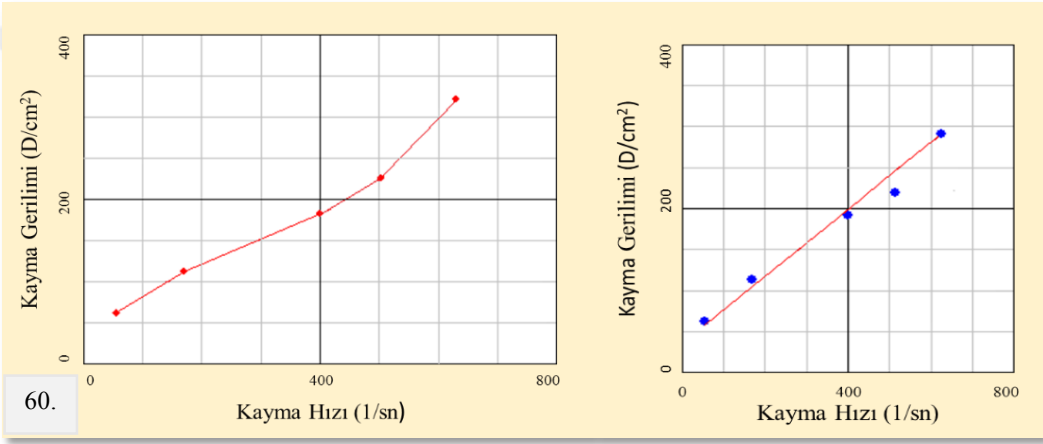
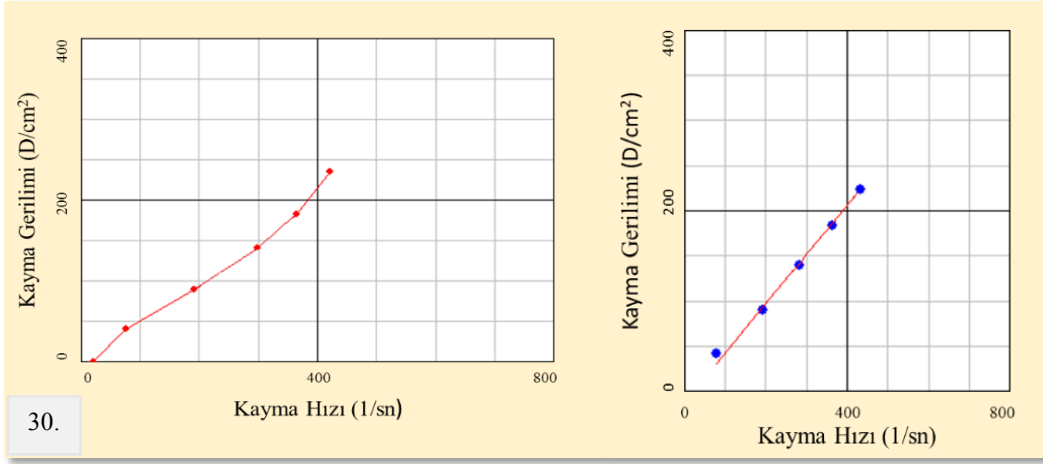
Şekil 5.32. P16 İn Situ Jel Formülasyonuna ait Reogram, 32°C
(0. Zaman, 7, 15. Gün)



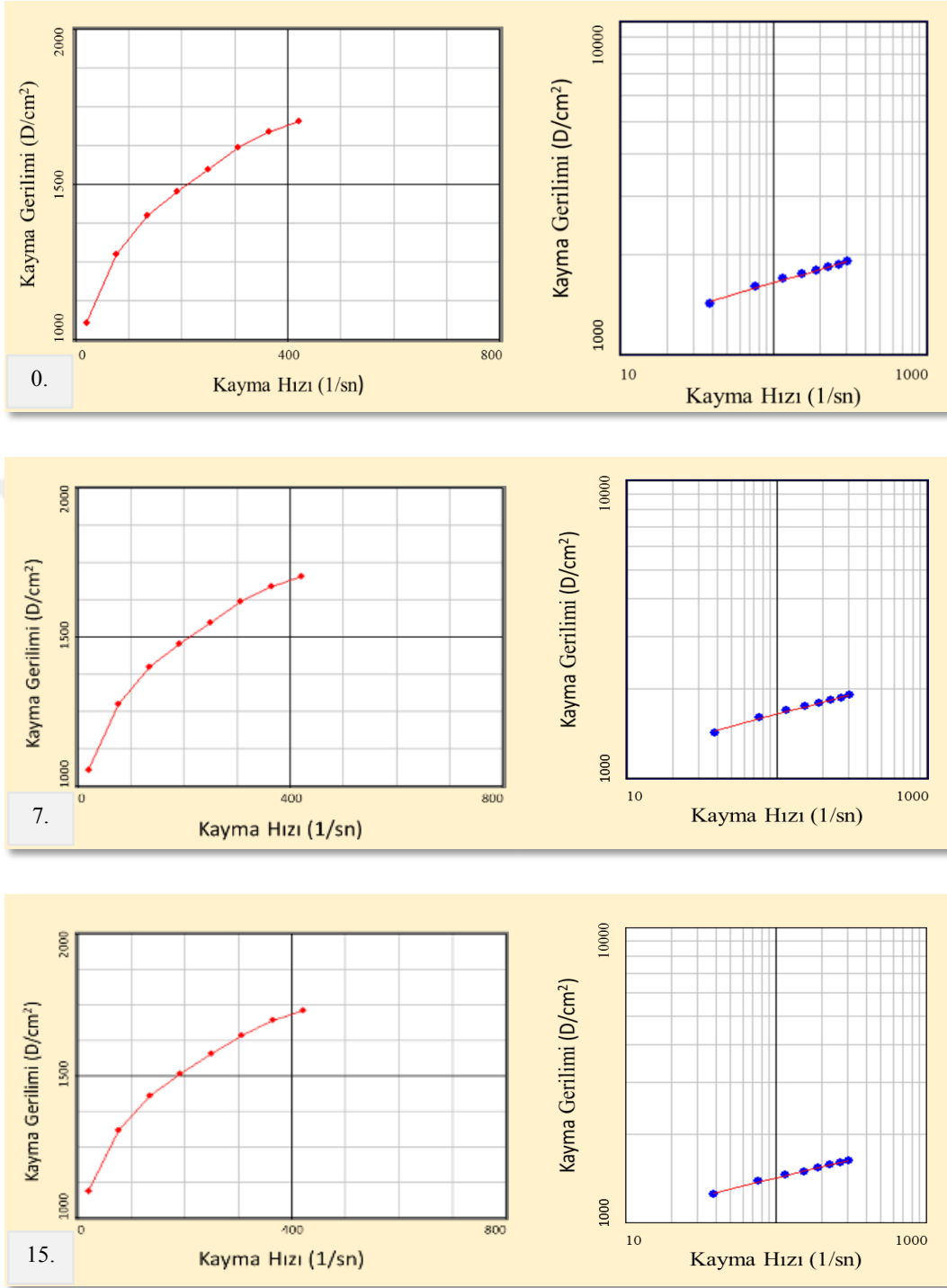
Şekil 5.32. (Devam) P16 İn Situ Jel Formülasyonuna ait Reogram, 32°C
(30, 60 ve 90. Gün)



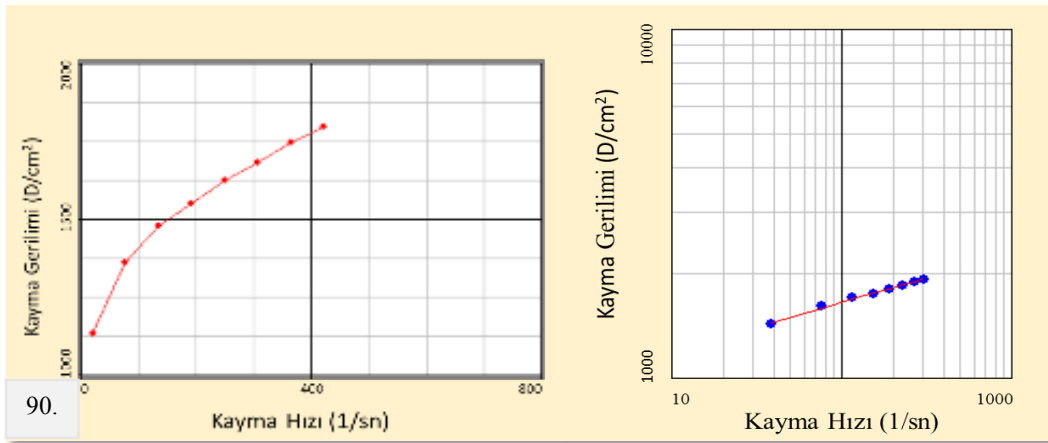
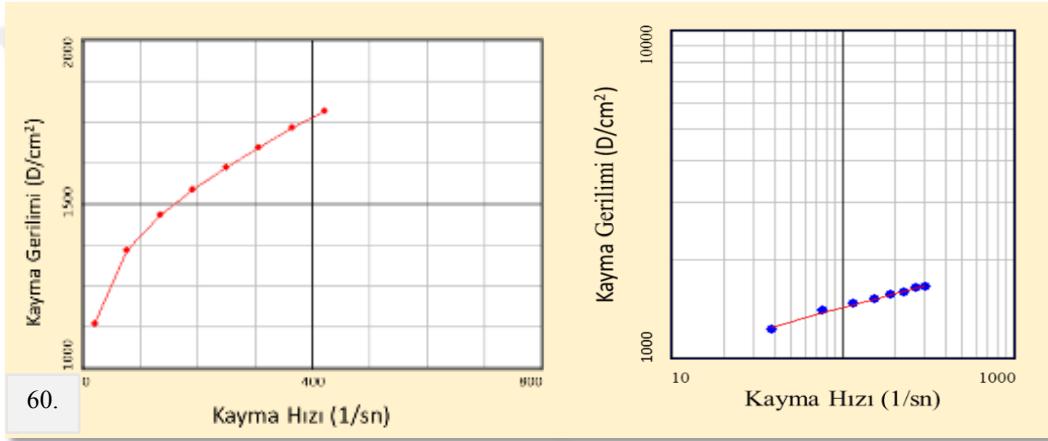
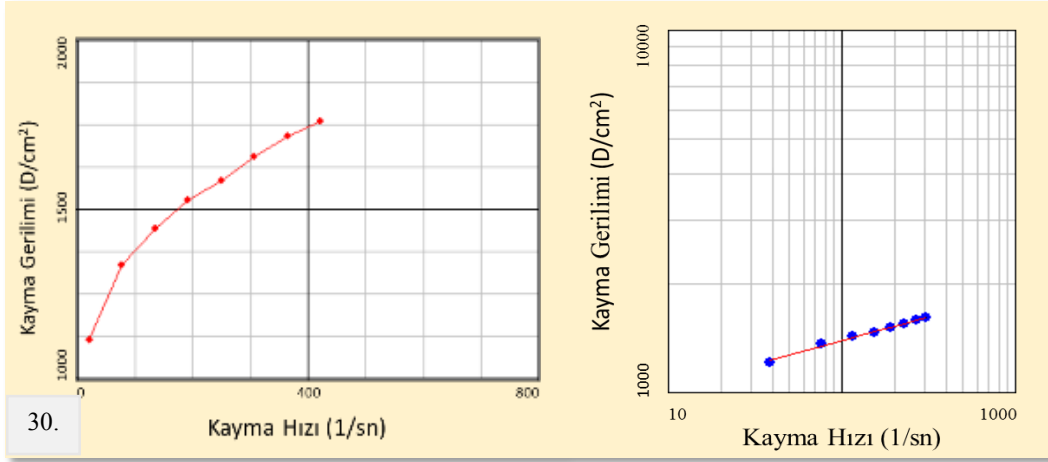
Şekil 5.33. F16 İn Situ Jel Formülasyonuna ait Reogram, 25°C
(0. Zaman, 7, 15. Gün)



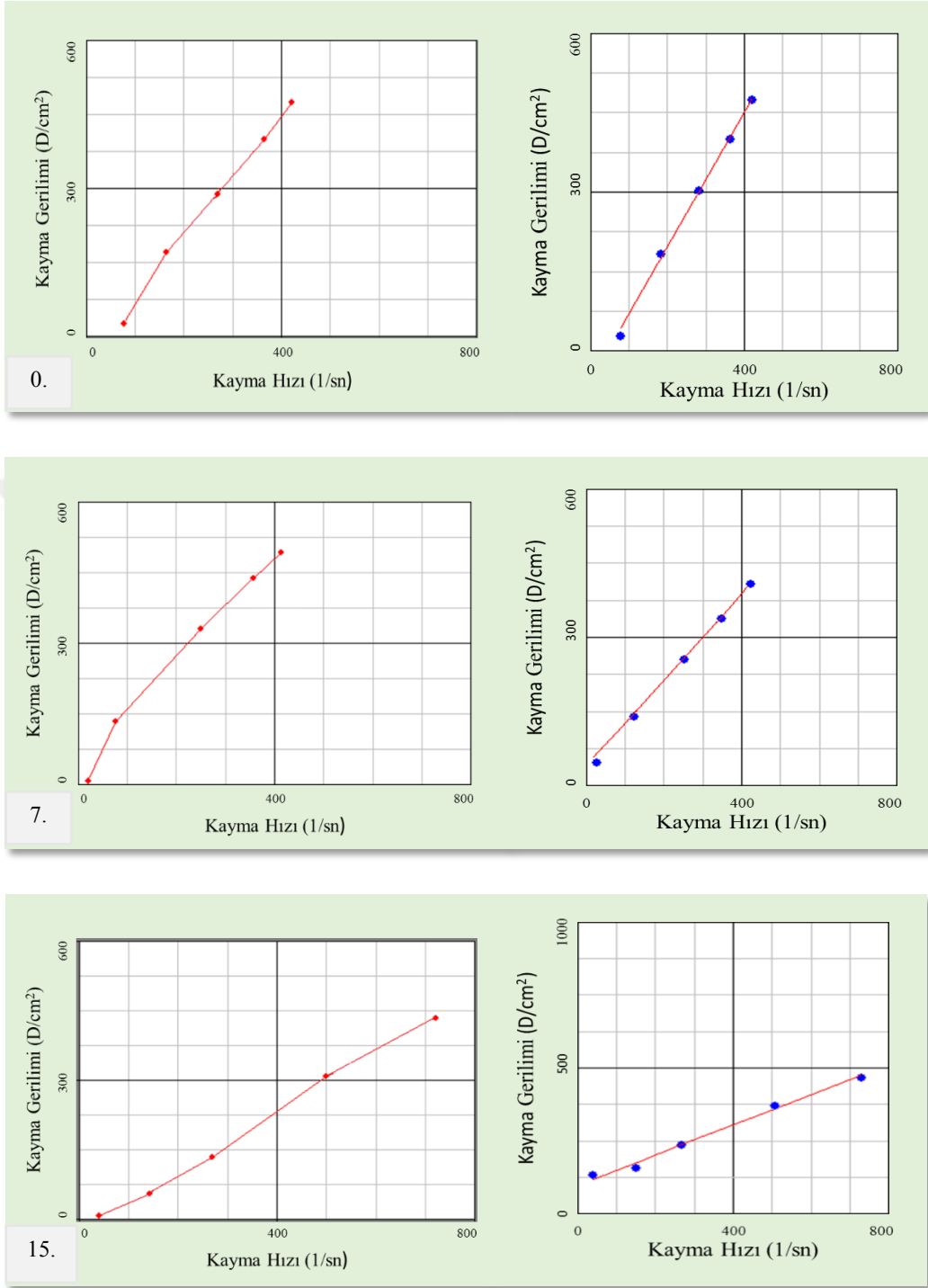
Şekil 5.33. (Devam) *F16 İn Situ Jel Formülasyonuna ait Reogram, 25°C*
(30, 60 ve 90. Gün)



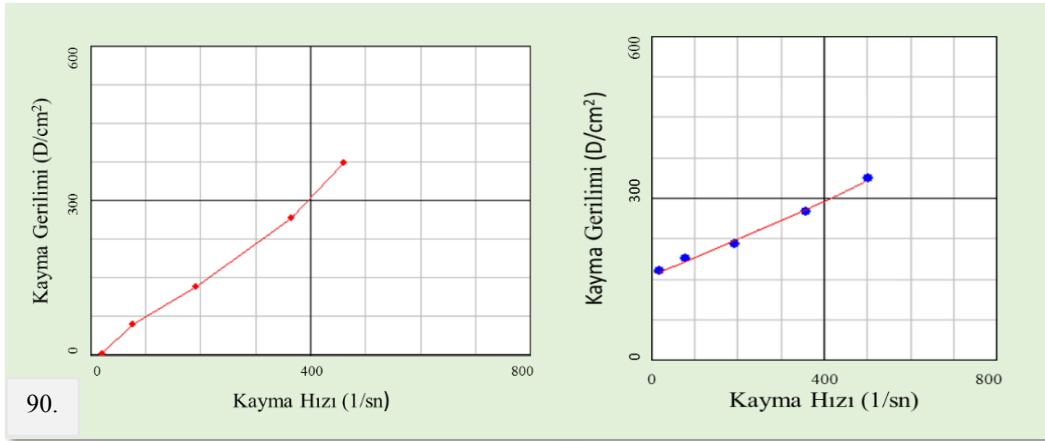
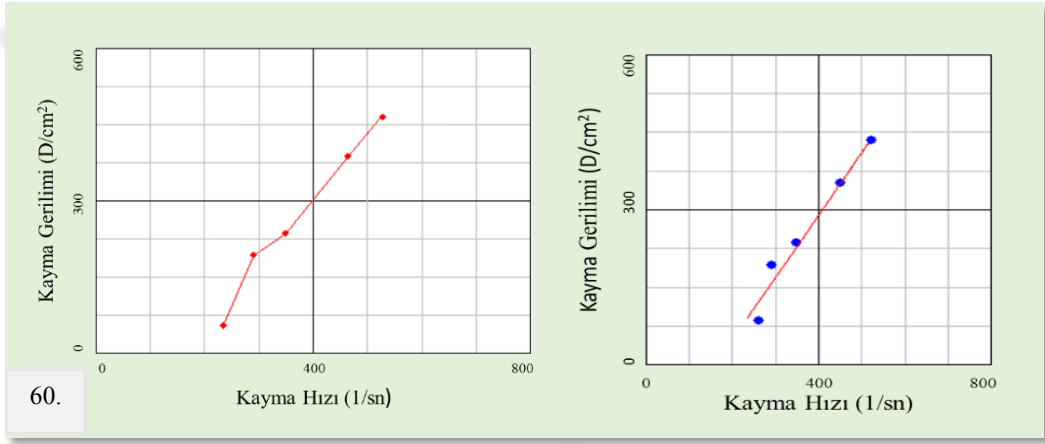
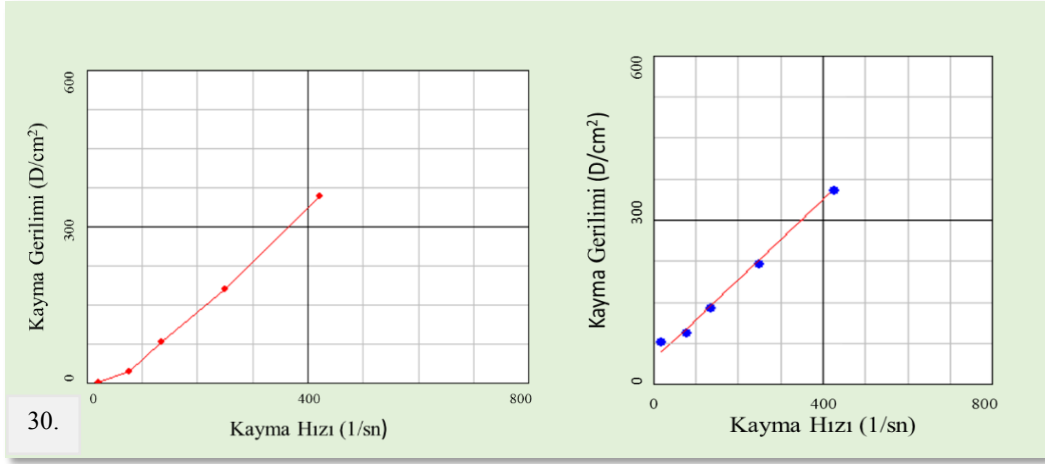
Şekil 5.34. F16 İn Situ Jel Formülasyonuna ait Reogram, 32°C
(0. Zaman, 7, 15. Gün)



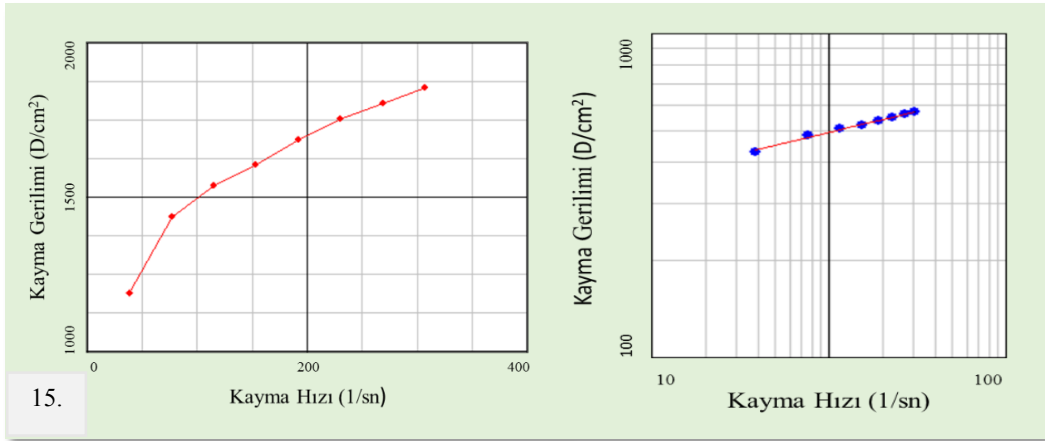
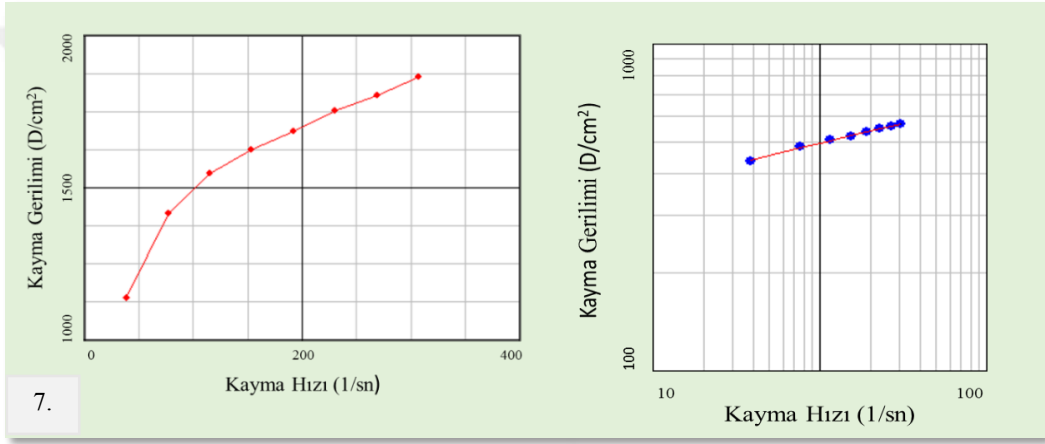
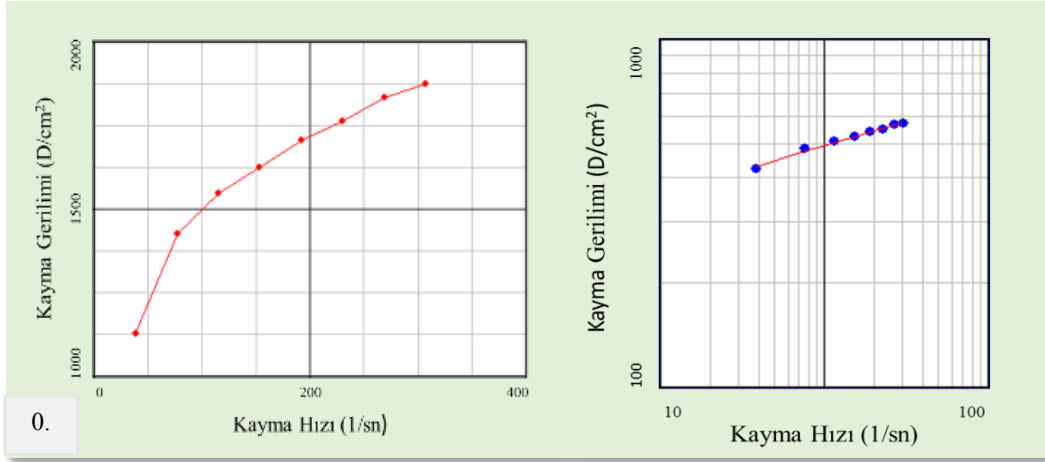
Şekil 5.34. (Devam) *F16 İn Situ Jel Formülasyonuna ait Reogram, 32°C*
(30, 60 ve 90. Gün)



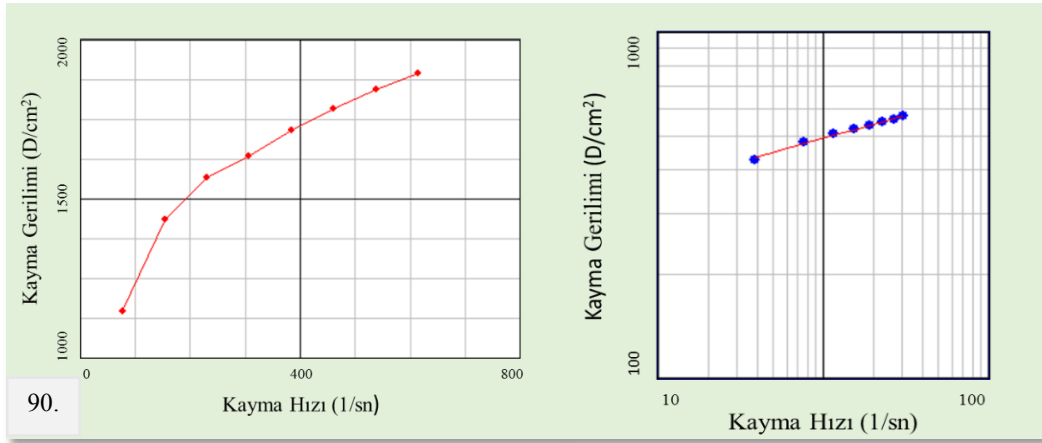
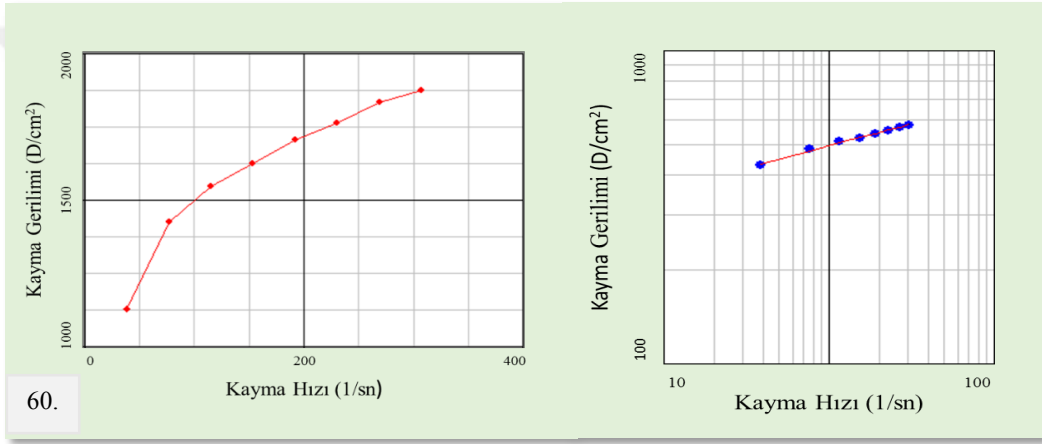
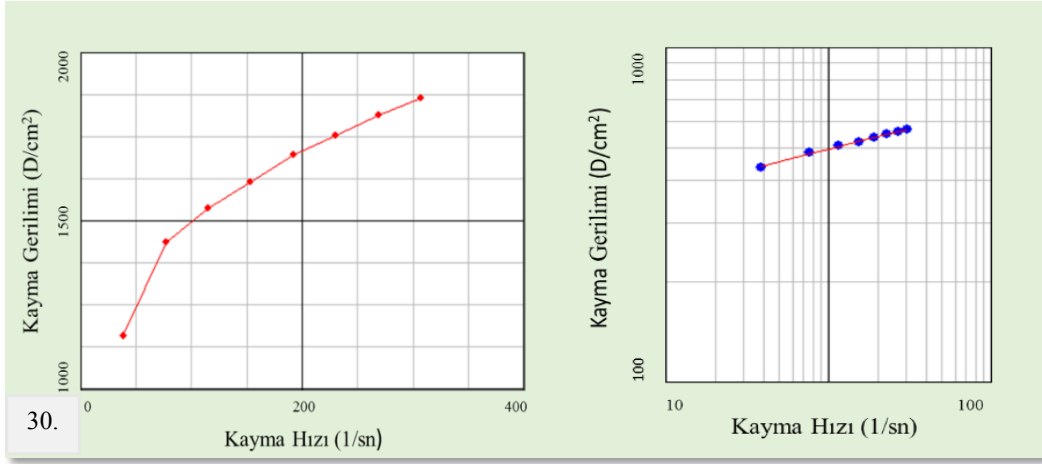
Şekil 5.35. FHI405 İn Situ Jel Formülasyonuna ait Reogram, 25°C
(0. Zaman, 7, 15. Gün)



Şekil 5.35. (Devam) FH1405 İn Situ Jel Formülasyonuna ait Reogram, 25°C
(30, 60 ve 90. Gün)



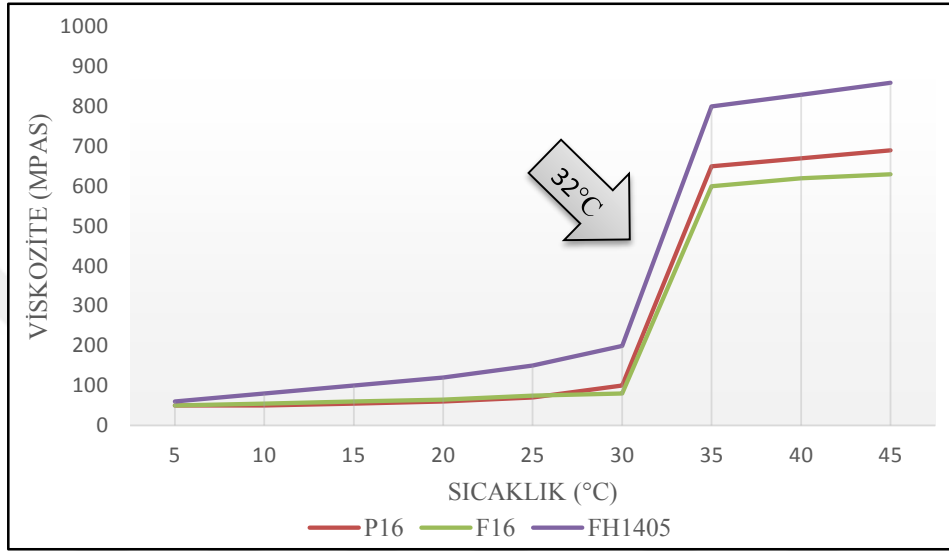
Şekil 5.36. FHI405 İn Situ Jel Formülasyonuna ait Reogram, 32°C
(0. Zaman, 7, 15. Gün)



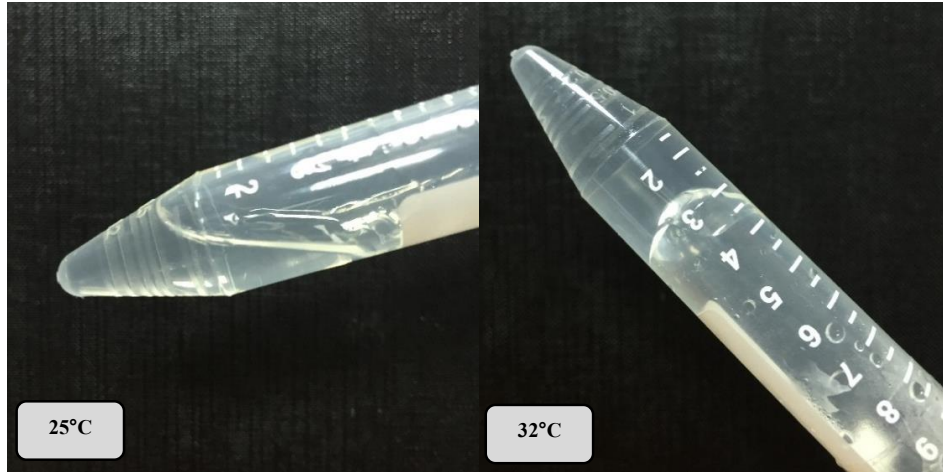
Şekil 5.36. (Devam) *FH1405 İn Situ Jel Formülasyonuna ait Reogram, 32°C*
(30, 60 ve 90. Gün)

5.5.3.4. Sıcaklığa Bağlı Viskozite Değişimi

İn situ jel formülasyonlarının viskozite değişimi Şekil 5.37’de sunulmuştur. Viskozite 32°C’de ani yükselme göstermiştir. Oda sıcaklığındaki ve 32°C’deki *in situ* jel görünümü ise Görsel 5.1’de verilmiştir.



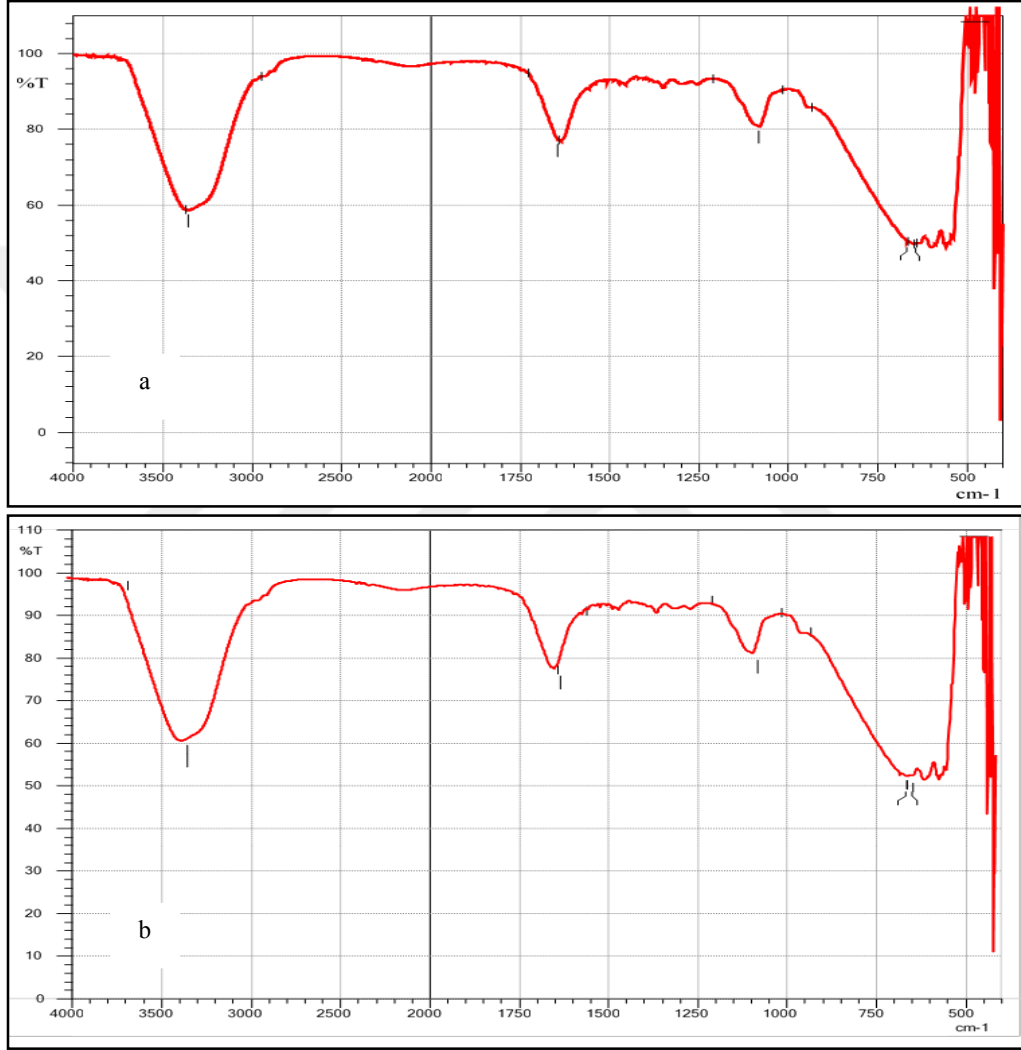
Şekil 5.37. *İn Situ* Jel Formülasyonlarının Sıcaklığa Bağlı Viskozite Değişimi



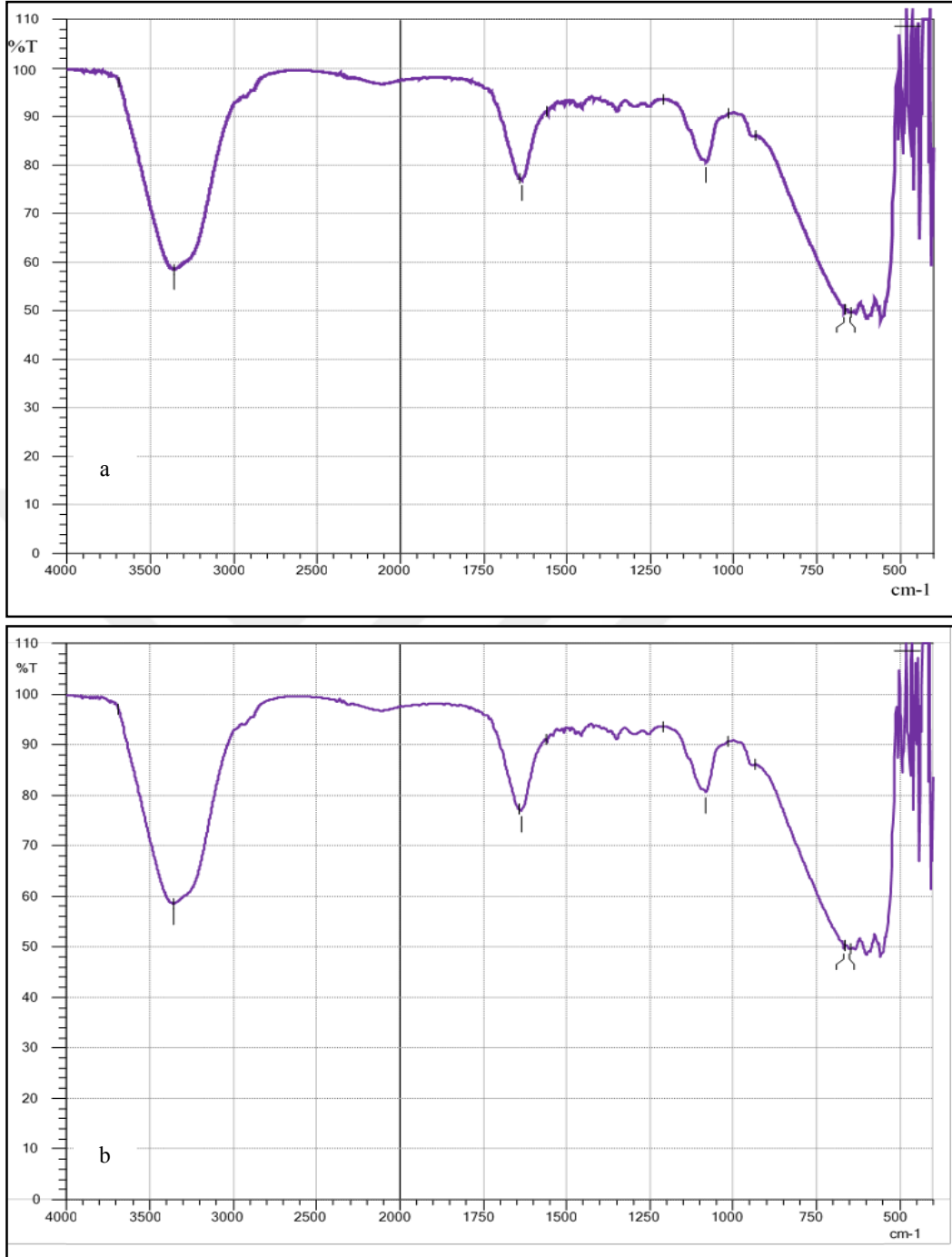
Görsel 5.1. *İn Situ* Jel Formülasyonlarının Sıcaklığa Bağlı Faz Değişimi Görüntüsü

5.5.3.5. İnfared (FT-IR) analizi

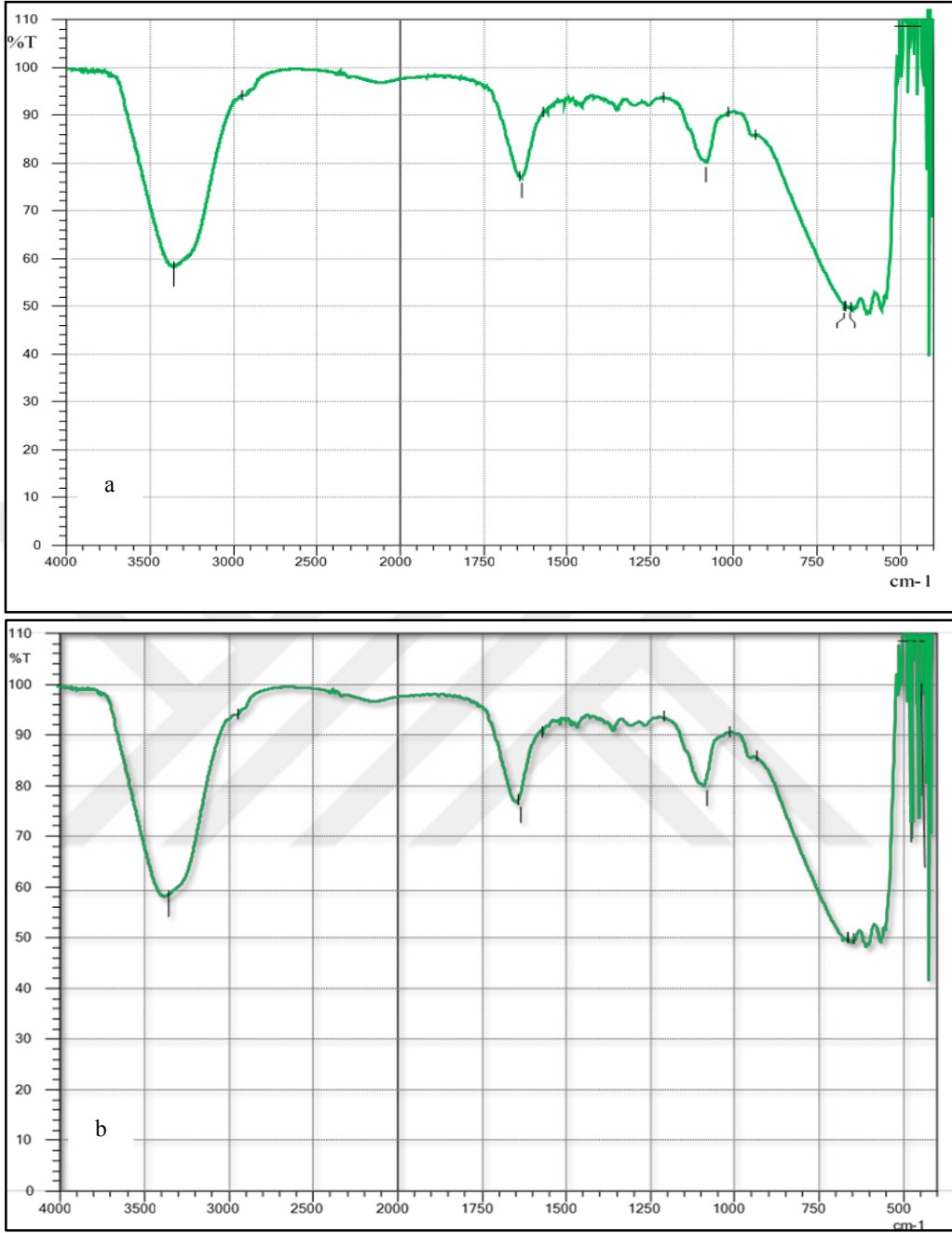
Taze hazırlanan *in situ* jel formülasyonlarının FT-IR spektrumları kararlılık çalışması için 90. günde tekrarlanan spektrumlar ile birlikte Şekil 5.38, 5.39 ve 5.40’da verilmiştir.



Şekil 5.38. F16 İn Situ Jel Formülasyonuna ait FT-IR Spektrumları
a. F16, 0.Zaman; *b.* F16, 90.Gün



Şekil 5.39. *P16 İn Situ Jel Formülasyonuna ait FT-IR Spektrumları*
a. P16, 0. Zaman; b. P16, 90.Gün



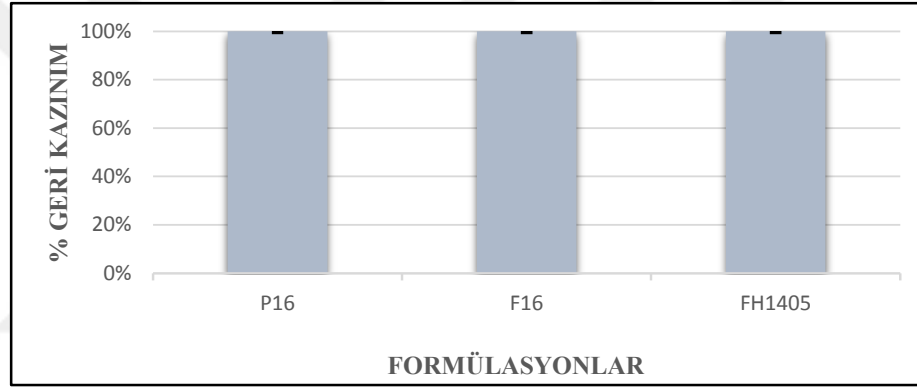
Şekil 5.40. FH1405 İn Situ Jel Formülasyonuna ait FT-IR Spektrumları
a. FH1405, 0. Zaman; *b.* FH1405, 90.Gün

5.5.3.6. Etkin madde miktar tayini

4°C sıcaklık koşulunda saklanan *in situ* jel formülasyonlarına ait hesaplanan etkin maddenin % geri kazanımları Çizelge 5.25'te sunulmuş ve Şekil 5.41'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.25. *In Situ* Jel Formülasyonlarındaki Etkin Maddenin Geri Kazanımı (% , n=6)

Zaman	Kod		
	P16	F16	FH1405
7. Gün	99.95240	100.30953	100.53594
15. Gün	101.34345	100.85300	100.74126
30. Gün	100.85360	100.86472	99.78531
60. Gün	100.41870	99.95374	98.99617
90. Gün	100.65280	101.05480	101.72369
Ortalama	100.64419	100.60716	100.35647
Standart Hata	0.09218	0.08210	0.18387
Bağıl Standart Sapma	0.00458	0.00408	0.00916



Şekil 5.41. *In Situ* Jel Formülasyonlarındaki Etkin Maddenin Geri Kazanımı (% , SH)

5.6. *In Vitro* Salım Çalışması Bulguları

Salım ortamı olarak kullanılan yapay gözyaşı bileşenleri Çizelge 5.26'da verilmiştir.

Çizelge 5.26. Yapay Gözyaşı Ortamı Bileşenleri

Bileşenler (Distile Suda)	% Miktar (a/a)
Sodyum Bikarbonat	0.2
Kalsiyum Klorür	0.008
Sodyum Klorür	0.67
pH 7.4	

Hazırlanan etkin maddeli formülasyonların *in vitro* etkin madde salım profilleri ise Çizelge 5.27'de sunulmuştur.

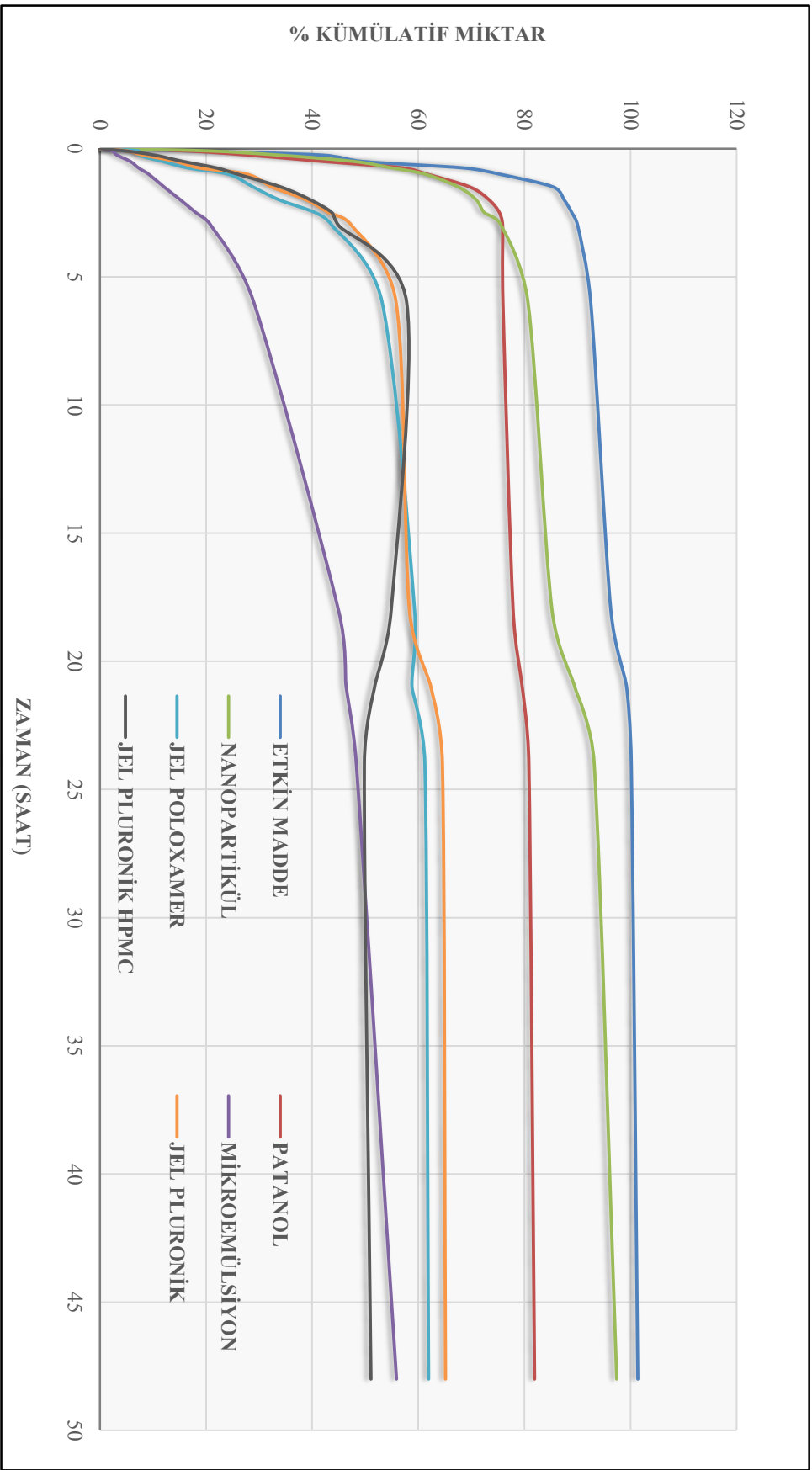
Çizelge 5.27. Formülasyonlardan Zamana Karşı Kümülatif Çözünen Etkin Madde Miktarı (n=3)

Zaman	Etkin Madde		Patanol®	
	%	SH	%	SH
5. dk.	15.79	0.52	16.00	0.50
15. dk.	41.80	0.63	28.09	0.97
30. dk.	49.46	0.39	42.21	0.74
45. dk.	68.43	0.46	57.04	1.06
60. dk.	75.44	0.16	61.77	1.29
90. dk.	85.50	0.68	69.78	1.01
120. dk.	87.51	0.84	73.35	0.43
150. dk.	88.96	0.24	75.31	1.10
180. dk.	90.04	0.59	75.89	1.87
6. sa.	92.51	0.29	75.96	0.72
18. sa.	96.29	0.40	77.87	0.24
21. sa.	99.26	0.49	79.59	0.30
24. sa.	100.15	0.44	80.84	0.92
48. sa.	101.38	0.67	81.92	1.31

Zaman	Nanopartikül		Mikroemülsiyon	
	%	SH	%	SH
5. dk.	19.92	1.13	2.28	0.07
15. dk.	33.73	1.55	3.21	0.15
30. dk.	47.95	1.92	5.76	0.31
45. dk.	54.95	2.02	7.26	0.70
60. dk.	61.38	1.71	9.21	1.14
90. dk.	67.62	1.08	12.12	1.58
120. dk.	70.94	1.76	15.19	2.07
150. dk.	72.47	1.04	18.12	2.60
180. dk.	75.64	0.88	20.94	2.53
6. sa.	80.68	0.27	29.01	1.51
18. sa.	85.20	0.70	44.96	0.66
21. sa.	89.49	0.68	46.40	0.66
24. sa.	93.16	1.92	48.32	1.44
48. sa.	97.40	2.03	55.89	1.29

ZAMAN	P16		F16		FH1405	
	%	SH	%	SH	%	SH
5. dk.	7.25	0.58	5.06	0.07	4.57	1.73
15. dk.	7.38	0.10	8.14	0.13	10.26	0.64
30. dk.	11.86	0.46	14.44	0.55	15.72	0.18
45. dk.	16.59	0.45	18.65	0.39	21.92	0.57
60. dk.	24.29	0.96	27.78	0.51	26.01	0.72
90. dk.	28.93	0.93	32.47	0.16	34.16	1.74
120. dk.	33.84	1.50	38.91	0.35	39.71	1.51
150. dk.	40.66	1.21	43.17	0.30	43.76	1.70
180. dk.	43.78	1.10	47.46	0.25	45.01	1.69
6. sa.	53.20	0.52	55.83	0.31	57.81	1.81
18. sa.	59.30	1.08	58.33	1.34	54.89	2.01
21. sa.	58.81	1.03	62.37	1.68	51.77	4.16
24. sa.	61.24	1.94	64.55	0.61	49.84	3.24
48. sa.	61.94	2.02	65.13	0.88	51.08	3.31

Elde edilen veriler kullanılarak formülasyonların, etkin maddenin ve Patanol®'e ait *in vitro* salım profilleri Şekil 5.42'ta sunulmuştur.



Şekil 5.42. Formülasyonlara ait *In Vitro* Salım Profilleri

5.7. Salım Çalışmasına Ait Modelleme

Seçilen 6 formülasyonun *in vitro* etkin madde salım verileri farklı kinetik modellere (sıfırıncı derece kinetik, birinci derece kinetik, Higuchi modeli, Hopfenberg modeli, Korsmeyer-Peppas modeli ve Hixson-Crowell modeli) uygulanmıştır. En uygun kinetik modelin seçimi için formülasyonlar hız sabiti (k), determinasyon katsayısı (r^2) ve *Akaike* bilgi kriteri (AIC) ile değerlendirilmiştir. En yüksek k ve r^2 değerleri ile en düşük AIC verilerine göre formülasyonların Korsmeyer-Peppas modeline uyum gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular Çizelge 5.28’de sunulmuştur.



Çizelge 5.28. Salın Çalışmasına Ait Model Bulguları

Formülasyon	Değerlendirme Kriteri	Modeller					
		Sıfırncı Derece	Birinci Derece	Higuchi	Hixson-Crowell	Hopfenberg	Korsmeyer-Peppas
Nanopartikül	k	3.130	0.823	20.956	0.034	0.000	56.435
	r ²	-2.1940	0.8148	-0.3450	-0.8561	0.8147	0.8733
	AIC	158.8780	116.1651	145.9050	150.7361	118.1702	98.2118
Mikroemülsiyon	k	1.613	0.028	9.499	0.008	0.000	11.815
	r ²	0.5698	0.7830	0.9599	0.7270	0.7829	0.9714
	AIC	117.2112	106.9438	81.6223	110.3859	108.9523	72.1587
Jel Poloxamer	k	2.012	0.065	12.885	0.016	0.000	25.679
	r ²	-0.3360	0.2580	0.6004	0.1079	0.2578	0.8731
	AIC	138.6726	129.8514	120.5673	132.6156	131.8557	95.7923
Jel Pluronik	k	2.105	0.105	13.551	0.020	0.000	27.896
	r ²	-0.4357	0.2437	0.5476	0.0742	0.2436	0.8639
	AIC	140.8934	131.2796	123.5720	134.3116	133.2801	97.6767
Jel Pluronik Hpmc	k	1.754	0.048	11.802	0.011	0.000	28.362
	r ²	-1.0887	-0.5036	0.1536	-0.6925	-0.5038	0.7307
	AIC	141.5080	136.5782	127.9582	138.3530	138.5795	101.8144

5.8. Sitotoksosite Çalışması

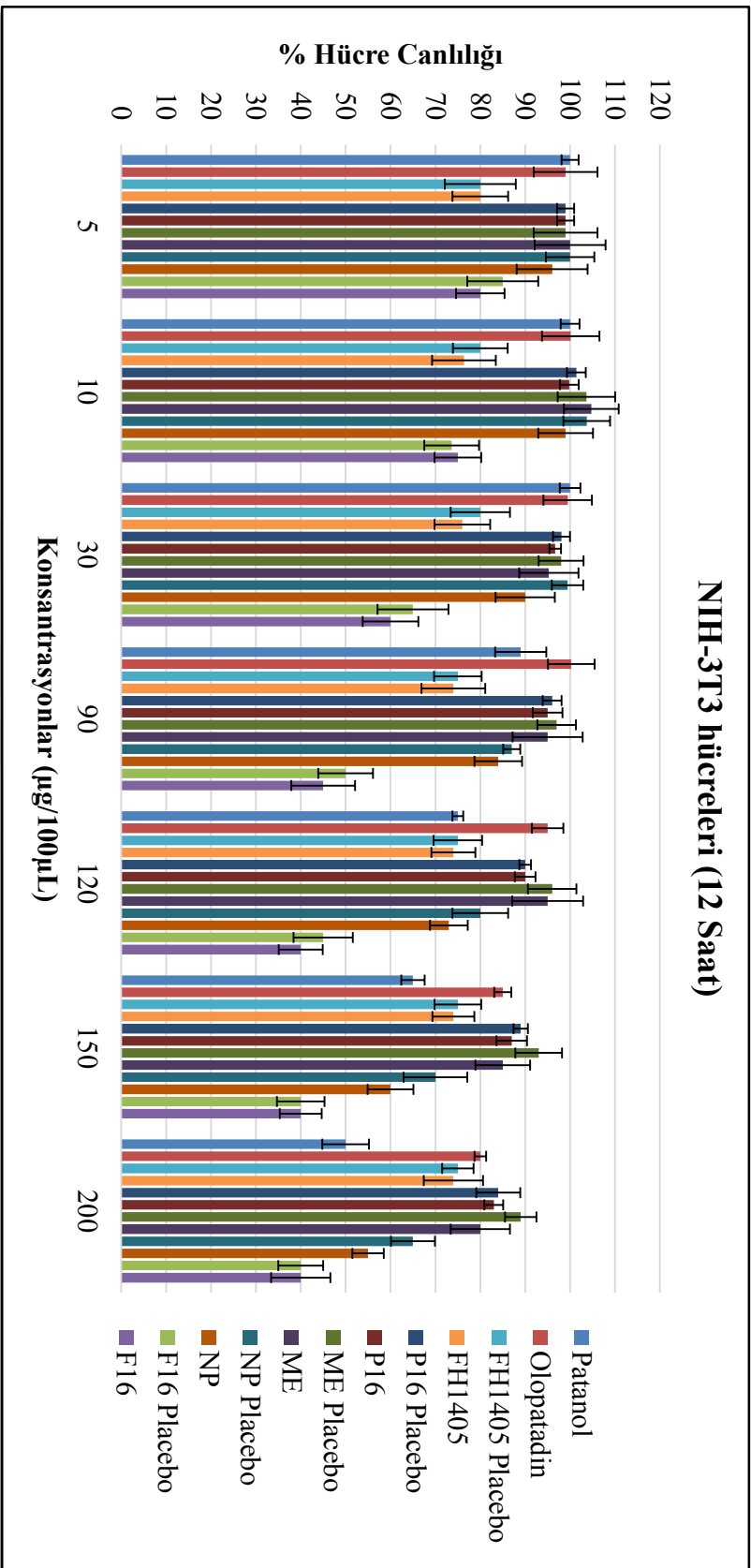
İn vitro sitotoksosite çalışmasında olopatadin içeren çeşitli formülasyonların hücreler üzerindeki etkileri MTT yöntemi kullanılarak olopatadin içeren tek ticari ürün olan Patanol® ile karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır.

Herhangi bir formülasyon uygulanmamış yalnızca kültür ortamı ile inkübe edilmiş kontrol grubu için elde edilen absorbans değerinin %100 hücre canlılığı gösterdiği kabul edilmiştir. İlk 12 saatlik inkübasyon süresince herhangi bir sitotoksosite gözlenmediğinden IC₅₀ (hücre çoğalmasında % 50 azalmaya sebep olan inhibitör konsantrasyonu) değerleri 24 saatlik inkübasyon sonunda saptanmıştır. Bu değerler Çizelge 5.29’da sunulmuştur.

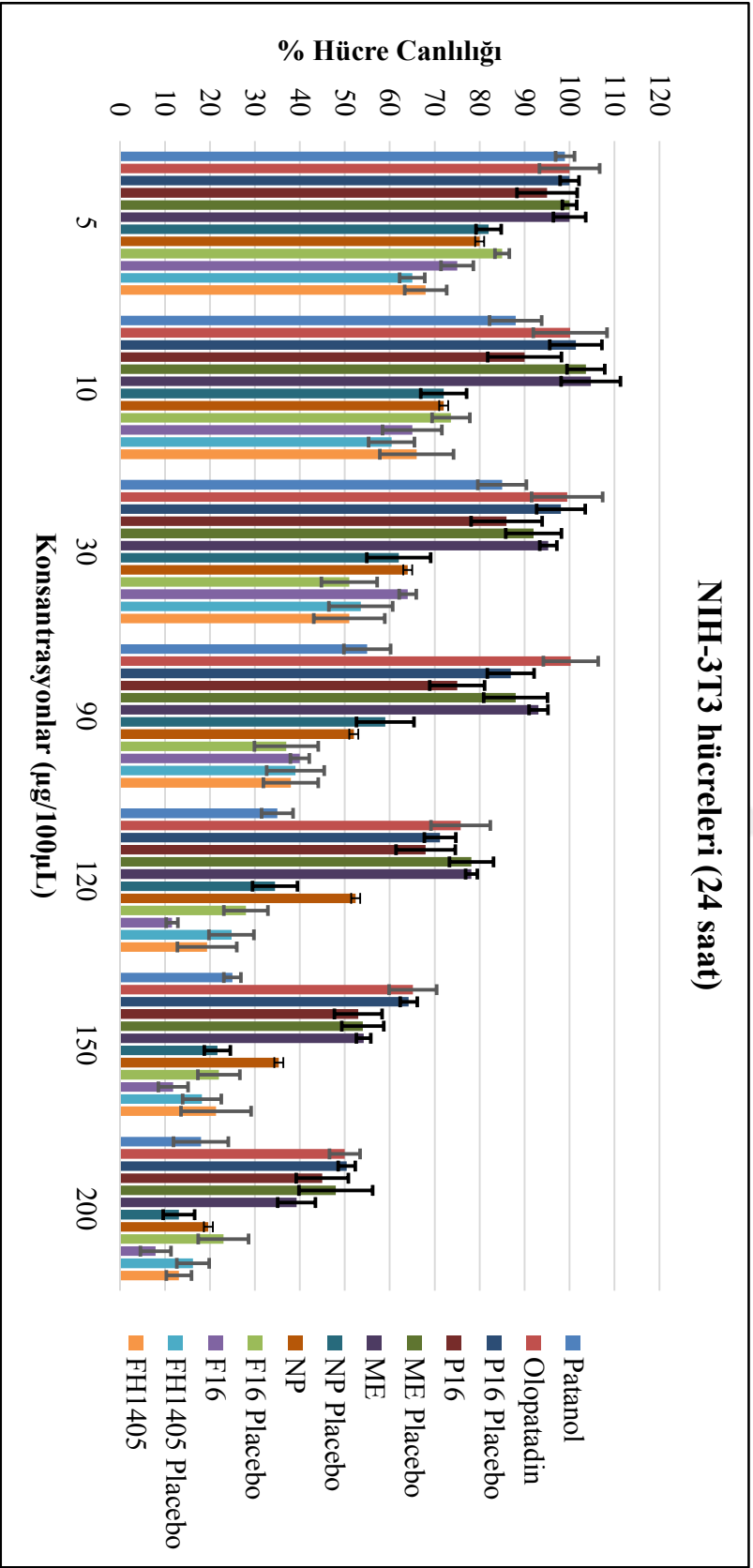
Çizelge 5.29. *Formülasyonların IC₅₀ Değerleri*

Formüller	IC₅₀ (µg/100 µL)
Patanol®	99
Olopatidin Hidroklorür	200
F16 Placebo	70
F16	67
FH1405 Placebo	33
FH1405	30
P16 Placebo	200
P16	154
ME Placebo	150
ME	154
NP Placebo	106
NP	90

Bu çalışmada kullanılan tüm formülasyonların zamana ve konsantrasyona bağlı olarak gösterdiği sitotoksosite Şekil 5.43 ve Şekil 5.44’te standart hata değerleri ile birlikte sunulmuştur.



Şekil 5.43. 12 Saat Süre Sonunda Formülasyonların Konsantrasyonuna Bağlı Olarak Gösterdiği % Hücre Canlılığı

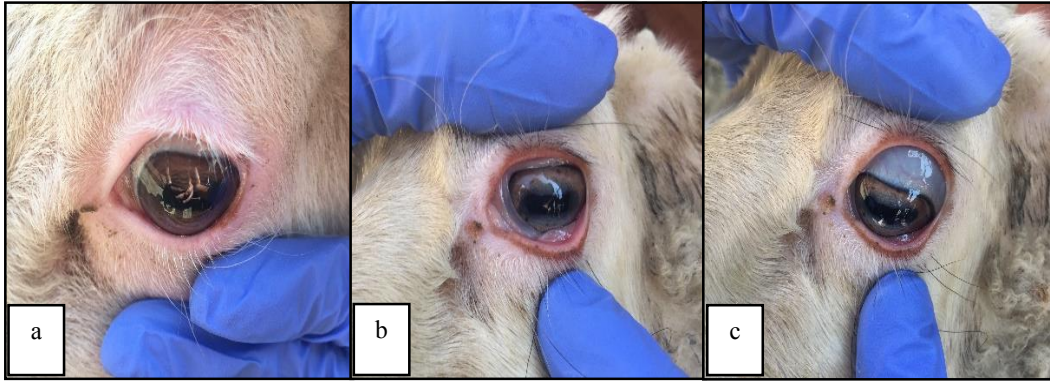


Şekil 5.44. 24 Saat Süre Sonunda Formülasyonların Konsantrasyonuna Bağlı Olarak Gösterdiği % Hücre Canlılığı

5.9. *In Vivo* Çalışma

Koyunlar ile gerçekleştirilen *in vivo* testlerde, Yöntemler kısmında bahsedildiği gibi OLO miktar tayini gözyaşında UPLC kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her grupta erkek ve dişi olacak şekilde 6 koyun bulundurulmuş, bir göze placebo bir göze etkin maddeli formülasyon olacak şekilde ayarlanmıştır. Kontrol grubu için bir göze serum fizyolojik, diğer gözlerine ise formülasyonlar ile karşılaştırma yapılabilmesi için Patanol® göz damlası uygulanmıştır.

Hayvanlara formülasyon uygulanmasının ardından gözde oluşabilecek iritasyon, uygulama yapılmayan göz referans alınarak kontrol edilmiştir. Uygulama sırasında ve sonrasında herhangi bir kızarıklık veya rahatsızlık saptanmamıştır. Formülasyon uygulamasının önce ve sonrasında gözün durumu Görsel 5.2’de sunulmuştur.



Görsel 5.2. *Formülasyon Uygulamasında Gözün Görüntüsü*

a. Uygulama yapılmayan; b. Uygulama Öncesi; c. Uygulama Sonrası

Formülasyon uygulamasından sonra koyunlar kısa süre sabitlenip gözleri açık bekletilmiştir. Formülasyonun uygulama şekli Görsel 5.3’de sunulmuştur.



Görsel 5.3. *Mikropipet ile Formülasyon Uygulaması*

Örnek alma zamanlarında test membranı 30 saniye boyunca özellikle alt göz kapağının iç kısmına temas ettirilerek gözyaşı toplanmış ve her test kağıdı ayrı ayrı steril tüplere alınmıştır. Gözyaşı örnek alımı Görsel 5.4’de sunulmuştur. Toplanan bütün örnekler analize kadar -20°C’de derin dondurucuda saklanmıştır.



Görsel 5.4. Schirmer Gözyaşı Test Membranı ile Örnek Alımı

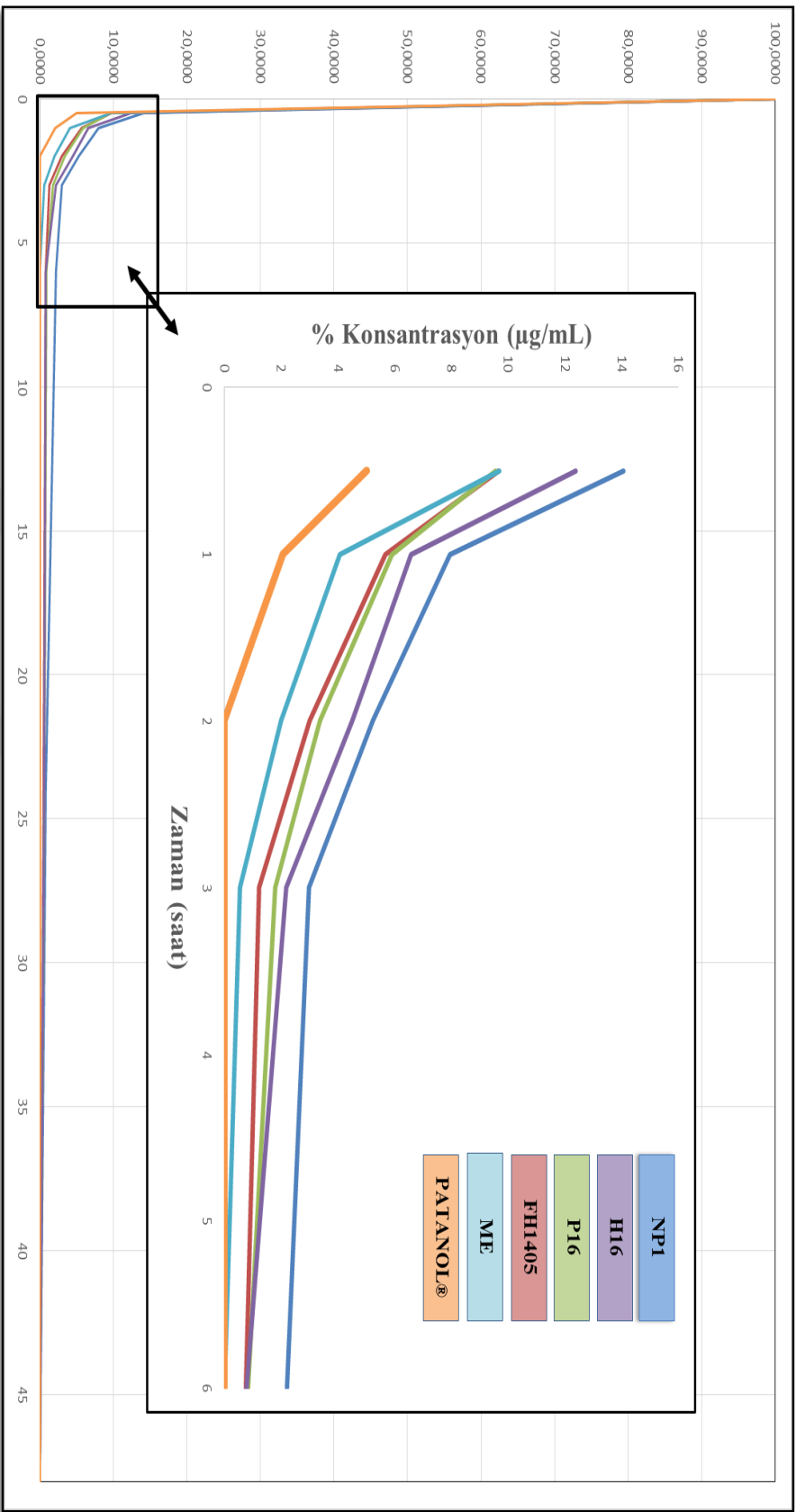
Gözyaşı örneklerinin analiz bulgularına göre, beş formülasyon da pozitif kontrol grubu Patanol®’e oranla daha uzun süre göz yüzeyinde kalabilmiş ve anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0.05$). NP, P16 ve FH1405 formülasyonları pozitif kontrole göre 24. saate kadar ileri düzeyde anlamlı fark göstermiştir ($p < 0.001$). F16 formülasyonu 6. saate kadar, ME formülasyonu ise 3. saate kadar ileri düzeyde anlamlı fark göstermiştir ($p < 0.001$). Miktar tayini bulgularında ise en yüksek konsantrasyona NP formülasyonu ulaşmıştır. NP formülasyonu diğer formülasyonlar ile kıyaslandığında istatistiksel olarak 6. saate kadar anlamlı fark tespit edilmiştir ($p < 0.01$).

Göze bir kez uygulanan her formülasyon için UPLC yöntemi ile yapılan etkin madde miktar tayini bulguları formülasyon kodları ile birlikte Çizelge 5.30’da sunulmuştur. Miktar tayini bulguları zamana karşı Şekil 5.45’te sunulmuştur.

Çizelge 5.30. Formülasyonların İn Vivo Uygulamasına ait Bulgular (n=6)

Olopatadin Hidroklorür Konsantrasyonu (µg/mL±SH)						
Zaman (sa.)	NP	F16	P16	FH1405	ME	PATANOL®
0	100.0000	100.0000	100.0000	100.0000	100.0000	100.0000
0.5	14.0775*** ±0.2391	9.6595*** ±0.1176	9.5702*** ±0.1311	12.3801*** ±0.1154	9.6839*** ±0.1322	5.0141 ±0.1206
1	7.9702*** ±0.2134	5.6719*** ±0.2015	5.9074*** ±0.1784	6.5815*** ±0.2439	4.0720*** ±0.1292	2.0660 ±0.0942
2	5.2415*** ±0.1232	3.0081*** ±0.0709	3.3654*** ±0.0806	4.5187*** ±0.1097	1.9929*** ±0.0562	0.0000 ±0.0000
3	2.9837*** ±0.0751	1.2376*** ±0.0986	1.8061*** ±0.0510	2.1960*** ±0.0431	0.5636*** ±0.0423	0.0000 ±0.0000
6	2.2122*** ±0.0372	0.7503*** ±0.0357	0.8478*** ±0.0443	0.7828*** ±0.0274	0.0000 ±0.0000	0.0000 ±0.0000
24	0.7731*** ±0.0315	0.4823** ±0.0240	0.5368*** ±0.0185	0.5579*** ±0.0217	0.0000 ±0.0000	0.0000 ±0.0000
48	0.0000 ±0.0000	0.0000 ±0.0000	0.0000 ±0.0000	0.0000 ±0.0000	0.0000 ±0.0000	0.0000 ±0.0000

(Patanol®'e göre anlamlılık: ** p<0.01, *** p<0.001)



Şekil.5.45. Olopatadin Hidroklorür'ün Salım Profili

6. TARTIŞMA

Bu bölümde tez çalışması kapsamında kullanılan etkin madde ve yardımcı maddelerin fizikokimyasal özelliklerine ait bulgular ile hazırlanan formülasyonlara ait *in vitro* ve *in vivo* çalışmaların bulguları tartışılacaktır.

6.1. Analitik Yöntem Geliştirme ve Validasyon Çalışmaları

In vitro ve *in vivo* çalışmaların tümünde OLO miktar tayini için UPLC yöntemi kullanılmıştır. Miktar tayininde HPLC'ye göre daha güncel bir yöntem olan UPLC'nin seçilmesinin pek çok avantajı bulunmaktadır. Öncelikle çok daha hassas ve saptama sınırları (LOD ve LOQ) oldukça düşük bir yöntemdir. UPLC kolonundaki parçacık boyutu çok daha ufak olduğu için basınca daha dayanıklıdır ve kolon içindeki partiküller- arası boşlukların az olması nedeniyle sinyaller daha nettir. Ayrıca analiz süresi saniyelerle ifade edilecek kadar kısadır ve kullanılan hareketli faz miktarı çok daha düşüktür (Novakova, Matysova ve Solich, 2006, s. 917).

Etkin madde sinyalinin görünür olduğu dalga boyunun saptanmasının ardından morfolojik olarak en iyi şekilde gelebilmesi için yöntem geliştirme çalışmaları yapılmış ve uygun yöntem parametreleri seçilmiştir. 246 nm dalga boyu OLO için ideal şiddette ve uygun morfolojide pik vermektedir. Ayrıca 20 ile 40 °C arasında kolon sıcaklığı değiştirilmiş ve yine pikin ideal olduğu 40 °C analizler için uygun bulunmuştur.

Doğrusallık çalışması sonucunda determinasyon katsayısı (r^2) 0.9997 olarak bulunmuş ve çalışma aralığında miktar tayininin doğrusallığı kanıtlanmıştır. Üç farklı konsantrasyon ile yapılan doğruluk ve geri eldeedilebilirlik çalışmasında Çizelge 5.5'te sunulan veriler ile yöntemin doğruluğu onaylanmıştır. 3 gün süren kesinlik çalışmaları sonucu yöntemin tekraredilebilirliği ve tekrar eldeedilebilirliği için varyasyon katsayısının % 2'nin altında bulunması yöntemin kesinliğini ifade etmiştir.

Yöntemin seçiciliğini belirlemek için mutlaka çalışmadaki diğer maddelerle birlikte analizinin yapılması gerekmektedir. Etkin maddenin absorbands verdiği dalga boyunda formülasyondaki herhangi bir maddenin sinyal vermediği ve girişim yapmadığı Şekil 5.6.'da gösterilmiş ve yöntemin OLO için seçici olduğu belirlenmiştir.

In vitro ve *in vivo* analizlerde etkin madde konsantrasyonunun saptama sınırı ve miktar tayini sınırı dışına çıkmaması gerekmektedir. Gözde etkin madde düzeyi çok düşük olduğu ve gözyaşı analizlerinde düşük konsantrasyonlar ile çalışıldığı için yapılan duyarlılık çalışması bulguları son derece önemlidir (Çizelge 5.8'de sunulmuştur.).

Kullanılan yöntemde etkin maddenin saptama sınırı ve miktar tayini sınırının çok düşük olduğu bulunmuş ve etkin madde konsantrasyonu için çalışma aralığı bu limitlerin üzerinde planlanmıştır.

Sistem uygunluğunu saptamak için belirlenen asimetri faktörü pikin simetrik olduğunun göstergesidir. Simetrik olmayan piklerde, doğru olmayan ayırım gücü, kararlı olmayan miktar tayini, pik kuyruklanmaları ve tekrarlanabilirliğin düşük olması gibi sorunlarla karşılaşılabilir. Asimetri faktörünün ideal olduğu aralık 0.95-1.2 olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada elde edilen asimetri faktörü 1.154 sistem uygunluğu açısından uygun görülmüştür. Sistem uygunluğu için yapılan bir diğer kontrol olan pik alanının % bağıl standart sapması genel ayırım için %1.5'dan küçük olmalıdır (Güler, 2014, s. 25). İncelenen ve % 1.408 olarak hesaplanan pik alanının % bağıl standart sapması sistem uygunluğu açısından kabuledilir aralıktadır.

6.2. Formülasyonlarda Kullanılan Maddelerle Yapılan Çalışmalar

Formülasyon geliştirme çalışmalarına başlamadan önce etkin maddenin ve kullanılacak yardımcı maddelerin fizikokimyasal özelliklerini belirlenmiştir

Öncelikle etkin maddenin FT-IR, NMR, DSC, XRD analizleri yapılmış, ardından SEM görüntüsü alınmıştır. Yapısal özelliklerin belirlenmesi için FT-IR, NMR ve XRD analizlerinin yapılmasındaki amaç maddenin saf olduğunun kanıtlanması ve formülasyondaki diğer bileşenler ve formülasyon hazırlama parametreleri nedeniyle değişikliğe uğrayıp uğramadığının kontrol edilmesidir. Referans ile karşılaştırıldığında kullanılan etkin maddenin saf olduğu (http1) ve SEM görüntüleri ile de desteklenen yapı analizinde kristal şekilde olduğu belirlenmiştir. Polimerik nanopartikül hazırlama sırasında yüksek sıcaklığa maruz kalacak olan etkin maddenin davranışının belirlenmesi termal analiz (DSC) ile gerçekleştirilmiştir. Termogramda OLO'nun erime derecesinin referans ile uyumlu olarak 246-248°C olduğu saptanmıştır (http1).

Nanopartikül formülasyonu için seçilen Eudragit® RS 100 polimerine ait DSC, XRD, FT-IR ve NMR analiz sonuçlarında maddenin saf olduğu ve referans ile uyumlu sonuçlar verdiği gözlenmiştir (Trapani vd., 2007, s. 70-71; Ramesh ve Praveen, 2012, s. 173).

In situ jel sistemlerinin hazırlanmasında kullanılan polimerler için de DSC, FT-IR ve NMR analizleri yapılmıştır. Formülasyon öncesi ve sonrası olası yapısal değişimler karşılaştırılmış herhangi bir değişimin olmadığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, termal

analiz sonucunda Poloxamer® ve Pluronic®'in erime dereceleri referanslar ile uyumlu olarak sırasıyla 53-56°C ve 55-56°C olarak bulunmuştur. Jel formülasyonu hazırlanırken soğukta karıştırma işlemi kullanıldığından elde edilen düşük erime sıcaklığı verilerinin herhangi bir problem oluşturmadığı kararına varılmıştır.

6.3. Mikroemülsiyonlar

Yağ-ıçinde-su mikroemülsiyon sistemi hidrofilik etkin maddenin göze uygulanmasında kabul gören sistemdir. Etkin madde sulu fazda çözündürülüp formüle edildiğinde sistemin çekirdeğinde yer alan su sayesinde yavaş ve kontrollü etkin madde salımına olanak vermektedir. Uygulanmasının hemen ardından sulu ortam olan gözyaşı ile dağılıp faz değişimine uğraması oftalmik preparatlar için ideal bir durum oluşturmaktadır. Ayrıca bu durum bazı sistemlerde viskozite artışına yol açmakta, dolayısıyla oküler yüzeyde uzun kalmasını sağlayarak terapötik etkinliğin korunmasında yardımcı olmaktadır (Chan vd., 2007, s. 70; Cheng vd., 2008, s. 45).

OLO'nun hidrofilik yapıda olması nedeniyle iç faza etkin maddenin hapsedilebildiği, kontrollü salım sağlayan bir taşıyıcı sistem hedeflenmiş ve çalışmada kullanılan mikroemülsiyon sistemi yağ-ıçinde-su olarak tasarlanmıştır. Yağ-ıçinde-su mikroemülsiyonu hazırlanırken topik kullanıma uygun olduğu bilinen noniyonik YEM'ler tercih edilmiştir (Wu vd., 2001, s. 64).

Formülasyonda yağlı faz olarak göz tarafından iyi tolere edilebildiği için uzun zincirli trigliserit yapısında olan izopropil miristat ve noniyonik YEM olarak da oftalmik preparatlarda güvenli ve yaygın olarak kullanılan Tween® 80 kullanılmıştır. Tween® 80'in göz için irite edici özellikte olmadığı ve kullanılabilirliği Amerika, Avrupa ve Japon Farmakope'lerinde belirtilmektedir (Kesavan vd., 2013, s. 346).

Mikroemülsiyonlarla ilgili temel sorun, fizyolojik olarak kullanılacak YEM ve Y.YEM çeşidinin az olmasıdır. Ayrıca sistemin kararlılığı için YEM miktarının yüksek olması gerekmektedir. Birçok çalışmada Y.YEM olarak kısa ve orta zincirli alkoller kullanıldığı bilinmektedir. Ancak toksik ve iritan özelliklerinden dolayı kullanımları belirli sınırlar içinde olmalıdır. Bu nedenle formülasyon hazırlarken ve bileşenler seçilirken duyarlılık durumu da göz önünde bulundurulmuştur. Bunun yanısıra Y.YEM olarak kullanılan alkoller, formülasyonun su tutma kapasitesini arttırdığı ve üçgen faz diyagramında kararlı mikroemülsiyon alanının büyük olmasını sağladığı için tercih edilmiştir (Radomska-Soukharev ve Wojciechowska, 2005, s. 465).

Y.YEM kullanılmadan hazırlanan mikroemülsiyonlarda faz ayrışması olduğu ve kararlılığın uzun süre korunamadığı görülmüştür. Ardından Y.YEM olarak izopropil alkol, etanol, 1-butanol ve polietilen glikol 400'ün kullanıldığı ön formülasyon çalışmaları yapılmıştır. Polietilen glikol 400 ile çalışıldığında formülasyonların çoğunda mikroemülsiyon elde edilememiş, oluşanlarda ise kısa süre sonra faz ayrışması ortaya çıkmıştır. İzopropil alkol ve etanol ile çalışıldığında ise mikroemülsiyon yapısı elde edilmiş ancak Y.YEM konsantrasyonu çok yüksek olduğu için tercih edilmemiştir. Nandi vd. (2003, s. 6) tarafından yapılan çalışmada beş farklı alkanol kullanılarak mikroemülsiyon formülasyonu hazırlanmış ve su alma kapasiteleri karşılaştırılmıştır. 1-Butanol ve 1-pentanol'ün diğer alkanollere göre formülasyonda daha tatmin edici oranlarda su tutabildiği görülmüştür. Bu çalışmadaki bilgiler ışığında 1-butanol kullanılarak hazırlanan formülasyonların etanol kullanılarak hazırlanan formülasyonlara göre daha düşük miktarda Y.YEM içerirken daha yüksek miktarda su tuttuğu gözlenmiştir.

Titrasyon yöntemi ile hazırlanan formülasyonların su miktarı belirlenerek kararlı haldeki mikroemülsiyon oranlarının üçgen faz diyagramı çizilmiş ve en büyük alanı veren YEM ve Y.YEM oranının ağırlık merkezindeki formülasyon ideal mikroemülsiyon formülasyonu olarak seçilmiştir.

Bu çalışmada seçilen formülasyonun üçgen faz diyagramında Tween® 80 ve Span® 80 1:1 oranında olmak üzere iki YEM seçilmiştir. Y.YEM olarak 1-butanol ise YEM karışımı ile en ideal olduğu oran 9:1 olmuştur. Etkin madde oranı piyasa preparatları ile uygun olması açısından % 0.1 olarak kullanılmıştır.

Porras vd. (2008, s. 185) çalışmalarında en iyi çözünürlüğün ve kararlılığın sağlandığı sistemi bulmak için Span® ve Tween® oranlarını ve sistemdeki su miktarını değiştirmiş ve yağ-içinde-su mikroemülsiyonu oluşturmada optimum HLB aralığının 8-12 olduğunu belirlemiştir. Yalnızca HLB değeri değil, aynı zamanda bu HLB aralığındaki en iyi karıştırma oranını sağlamanın da önemli etmen olduğunu vurgulamışlardır. Porras vd. (2008, s. 185) ait çalışma sonucunda damlacık boyutu 30 ile 120 nm arasında değişen kararlı formülasyonlar elde etmek için Tween® 80:Span® 80 oranı 49:51 olarak kullanılmıştır.

Acharya vd. (2013, s. 66) karbamazepin içeren transnazal mikroemülsiyon formülasyonu geliştirmiş ve ideal mikroemülsiyon formülasyonunu belirlemek için izlediğimiz yöntemle benzer çalışmalar yapmıştır. Bileşenlerin farklı oranlarda olduğu

altı faz diyagramı ve mikroemülsiyon alanı belirlenip en yüksek alana sahip formülasyon ileri çalışmalar için seçilmiştir. Bu mikroemülsiyon alanının merkez noktasındaki ideal orana sahip formülasyon karakterizasyon çalışmaları için kullanılmıştır.

İdeal formülasyon seçiminin ardından etkin maddeli formülasyonlar hazırlanmış ve fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi için tip tayini, santrifüj uygulaması, dondurma-çözme işlemi, damlacık boyutu ve dağılımı, zeta potansiyel, iletkenlik ölçümü, reolojik davranışların incelenmesi, FT-IR ve NMR analizi yapılmıştır. Daha sonra kararlılık çalışmaları için 4°C, 25°C ve 40°C sıcaklıklarda 90 gün boyunca saklanmıştır.

Mikroemülsiyon sistemler yapıları gereği saydam görünümdeydir. Bu durum dağılan fazın sahip olduğu ufak damlacık boyutu ile ilgilidir. Bu nedenle yaklaşık 150 nm'den iri damlacıklara sahip sistemlerde görünür ışık geçişinin azalması formülasyonların saydamlıktan uzaklaşmasına sebep olur. Terminolojik olarak 'mikroemülsiyon' kelimesi yanıltıcı da olsa 10 ile 100 nm arasındaki damlacık boyutuna sahip kararlı ve nano-boyutlu sistemlerdir (Ramteke vd., 2010, s. 34).

Yapılan mikroemülsiyon çalışmalarının hemen hemen çoğunda öncelikle fiziksel kararlılık kontrol edilmektedir. Bu amaçla, hazırlanan formülasyona belirli süre ve hızda santrifüj işlemi uygulanmakta ve faz ayrımı olup olmadığı görsel olarak incelenmektedir (Jain, Fernandes ve Patravale, 2010, s. 829; Tashtoush, Bennamani ve Al-Taani, 2013, s. tir). Abd-Allah vd. (2010, s. 259) çalışmalarında mikroemülsiyonun fiziksel kararlılığını incelemek için saklama süresince belirli zamanlarda 13000 rpm hızda 30 dakika santrifüj uygulayarak faz ayrımını incelemiş ve renk değişimini ve saydamlığı görsel olarak kaydetmiştir. Ayrıca dondurma-çözme yöntemi ile formülasyonu iki gün boyunca -20°C'de bekletip oda sıcaklığında çözdürdükten sonra fiziksel durumunu incelemiştir. Tüm işlemler sonucu saklama süresince değişim olmaması formülasyonun fiziksel olarak kararlı olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmada hazırlanan taze formülasyonların fiziksel görünüşleri görsel olarak incelendiğinde saydam ve tekdüze görünüme sahip oldukları kaydedilmiştir. 4°C, 25°C ve 40°C'lik sıcaklık koşullarında saklanan formülasyonların incelenen fiziksel görünüşlerinde hazırlandıkları günden itibaren herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Aynı saklama koşullarında saklanan formülasyonların 500 ve 1000 rpm hızda santrifüj edilmesinin ardından hiçbirinde faz ayrımı ortaya çıkmadığı saptanmıştır. Bunların yanısıra iki gün boyunca -20°C'de bekletilip oda sıcaklığında çözdürülen formülasyonlarda görsel olarak herhangi bir değişim görülmemiştir. Tüm bu testlerin

sonucu, hazırlanan formülasyonların saklama süresince kararlı yapıda kaldığını göstermiştir.

İletkenlik mikroemülsiyonun faz tipini belirlemede önemli bir parametredir. Chan vd. (2007, s. 65-71) tarafından yapılan çalışmada oküler kullanım için hazırlanan formülasyonların karakterizasyonu karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilmiştir. Aynı bileşenlerin farklı oranları ile hazırlanan formülasyonlar üçgen faz diyagramının farklı bölgelerinden seçilmiştir. İletkenlik değeri su-içinde-yağ olan formülasyonu için $190 \mu\text{S}$ iken, yağ-içinde-su formülasyonu için sifıra yakın bulunmuştur. Dolayısıyla, mikroemülsiyonun belirli iletkenlik değerine sahip olması su-içinde-yağ tipinde olduğunu kanıtlamaktadır (Fialho ve Silva-Cunda, 2004, s. 629).

Boonme vd.'nin (2006, s. 6) yağlı faz olarak izopropil palmitat, YEM olarak Brij® 97 ve Y.YEM olarak 1-butanol kullandıkları çalışmada iletkenlik ölçümü değerlendirilerek % 30'dan az su içeren sistemlerde dış fazın yağ, % 35'den fazla su içerenlerde ise dış fazın su olduğu görülmüştür. Dış fazı yağ olanlarda iletkenlik değeri sifıra yakın çıkmış ve su oranının % 10'u aşmasından itibaren iletkenlik değeri ölçümü kaydedilebilmiştir.

Bu çalışmada hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonunun iletkenlik değerinin sifıra yakın olduğu ve iletkenliğin anlamlı olarak ölçülemediği saptanmıştır. Bu durum formülasyon tipinin yağ-içinde-su olduğunu belirtmektedir. Formülasyonun yağ eklenmesiyle seyrelmesi ve su eklenmesiyle bulanıklaşıp bozulması da s/y tipinde olduğunu desteklemiştir.

İdeal bir oftalmik preparatın uygulamadan sonra maksimum konforu sağlaması için pH değerinin 7.2 ± 0.2 olması gerekmektedir. Bununla birlikte gözyaşının tamponlama kapasitesinden dolayı farklı pH değerine sahip preparatlar da tolere edilebilmektedir. Bu nedenle 4.0 ve 8.0 arasındaki pH değerine sahip oftalmik preparat uygulanabilmektedir (Fialho ve Silva-Cunda, 2004, s. 629; Ammar vd., 2009, s. 813). Bu çalışmada hazırlanan mikroemülsiyon sistemlerinin dış fazı yağ olduğu için pH ölçümü yapılmamıştır.

Zeta potansiyel kolloidal sistemlerin elektrostatik potansiyelini ifade eder. Bu potansiyel değeri hem dağılan damlacık/parçacıkların arayüzeyde bulunan çift tabakalı elektrik potansiyelini, hem de arayüzeyden damlacıkların dağıtan faza karşı oluşturduğu potansiyeli ifade etmektedir. Diğer bir deyişle dağıtma ortamı ile ortamda dağılan damlacık/parçacık arasındaki potansiyel farkı olarak tanımlamaktadır (Lu ve Gao, 2010, s. 66). Zeta potansiyele etki eden en önemli etmen ortamın pH değeridir. Bunun dışındaki

diğer etmenler sıcaklık, iyonik güç ve ortamda bulunan maddelerin konsantrasyonu olarak sıralanmaktadır. Formülasyon açısından zeta potansiyelin önemi ise kısa ve uzun dönemde kararlılık ile ilişkilidir. Pozitif ya da negatif düşük zeta potansiyel değerine sahip dispers sistem düşük fiziksel kararlılık gösterirken, yüksek zeta potansiyele sahip sistemde itme ve çekme kuvvetlerinin gücüne bağlı olarak kararlılık daha yüksektir (Lu ve Gao, 2010, s. 66).

Damlacık yüzeyindeki elektriksel yük değişimi zeta potansiyel ölçümü ile belirlenir. Çalışmaların birçoğunda hem karakterizasyon hem de kararlılık için zeta potansiyel ölçümleri yapılmış ve bulgular değerlendirilmiştir (Qi vd., 2011, s. 989; Kawtikwar vd., 2009, s. 144). Örneğin Moghimipour, Salimi ve Eftekhari'nin (2013, s. 67) çalışmasında hazırlanan farklı mikroemülsiyon formülasyonları için en yüksek zeta potansiyeli değeri -15.70 mV olarak kaydedilmiş ve kararlılık için en uygun formülasyonun bu değere sahip mikroemülsiyon sistemi olduğu rapor edilmiştir.

Bu çalışmada hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonunda yapılan zeta potansiyel değeri değerlendirmesi sonucunda sistemin kararlılığını 3 ay süresince koruduğu ve değerlerde anlamlı değişim olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Bu durum saklama süresince damlacıkların şeklini koruduğunu işaret etmektedir.

Yine bu çalışmada kararlılık çalışması boyunca değerlendirilen damlacık boyutunda zaman içerisinde büyüme görülmüş ve istatistiksel anlamda önemli ölçüde fark olduğu saptanmıştır ($p\leq 0.05$). Polidisperslik indisindeki artışın ölçümlerde gözlenen 1 ile 10 nm arasındaki damlacıkların büyümesinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Ancak tüm değerlerin göze uygulanabilecek aralıkta olması formülasyonun oküler kullanımını uygun kılmaktadır.

Reolojik modellerinden *Newton* akış modelinde kayma gerilimi ile kayma hızı arasında doğrusal korelasyon bulunmaktadır (Gradzielski ve Hoffman, 1999, s. 362; Subramanian vd., 2005, s. 1532). Mikroemülsiyon sistemi düşük viskozite ve *Newton* akışı gösterir. Bu akış modeline uyması damlacıkların küresel olduğunu, agregat oluşturmadığını, iç faz hacim oranının düşük ve damlacık boyutunun çok ufak olduğunu belirtir (Çelebi, 2007, s. 404).

Bu çalışmada hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonunda 0-800 sn^{-1} kayma hızı aralığında ölçüm yapıldığında kayma hızı ile kayma geriliminin orantılı şekilde artması formülasyonun *Newton* akış tipine uyduğunu göstermiştir. Kararlılık süresince akış özelliği korunmuştur.

Mikroemülsiyon sisteminde yapının kararlılığını koruyup korumadığının belirlenmesi, faz değişiminin veya bileşenler arasındaki etkileşimlerin incelenmesi için FT-IR analizi uygulanmaktadır (Kumar ve Sinha, 2014, s. 85). Mikroemülsiyon formülasyonuna ait FT-IR analizinde IPM ve etkin maddenin etkileşime girmesine ait herhangi bir sinyal gözlenmemiştir. Bunun yanısıra IPM'e ait spesifik pikler korunmuş, etkin maddeye ait sinyal ile bölgelerinde şiddetin arttığı gözlenmiştir. Kimyasal karakterizasyon amacıyla yapılan ve bu çalışmada kararlılık çalışması sonu olan 3. ayda her üç ortam için elde edilen FT-IR spektrumlarındaki pik morfolojisi ve sinyalde değişim olmadığı ve dolayısıyla hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonunun yapısal kararlılığını koruduğu gözlenmiştir.

Formülasyonların oküler olarak kullanılacak olması nedeni ile sterilizasyonu steril membran süzgeç kullanılarak sağlanmış ve sterilizasyon sonrası hem fiziksel olarak hem de damlacık boyutu açısından herhangi bir değişim olmamıştır ($p>0.05$).

6.4. Polimerik Nanopartiküller

Polimerik nanopartiküller kontrollü ilaç taşıyıcı sistem tasarlama yaklaşımlarından biridir. Nanopartiküler sistem yüksek tedavi değerine sahip ve düşük maliyetli olmasının yanısıra göz dokusuna hedefleme olasılığı sunmaktadır. Etkin maddenin biyoparçalanır polimerle kombine edilmesi ile gözün iç dokularında kontrollü etkin madde salımı sağlanabilmektedir (Nagarwal vd., 2009, s. 4).

Tek bir aşamada organik çözücünün çözeltiden hızla uzaklaştırılmasını içeren püskürterek kurutma yöntemi, çözelti içindeki etkin madde ve polimerin aynı hızda katılaşmasına dayalı işlemdir. Düşük verim ve yetersiz ürün hacmine sahip geleneksel püskürterek kurutma cihazlarının aksine Büchi B-90 nano-püskürterek kurutucu damlacıkları püskürtmek için örgü titreşimli ağızlık ve püskürterek kurutulmuş parçacıkları yakalamak için elektrostatik parçacık toplayıcıya sahiptir (Gu, Linehan ve Tseng, 2015, s. 208).

Oftalmik taşıyıcı sistem olarak Eudragit® polimeri ile hazırlanmış birçok formülasyon incelendiğinde, kararlı yapısı, pozitif yüzey özelliği ve ilginç boyut dağılımı ile oküler kullanım için öne çıkan aday olduğu görülmüştür. Özellikle klasik göz damlası ile karşılaştırıldığında, kornea yüzeyinde daha uzun süre tutunması ve etkin maddeyi sürekli salması ile etkin maddenin planlanan sürede planlanan konsantrasyonda gözde kalmasına olanak vermektedir (Dillen vd., 2006, s. 72; Pignatello vd., 2006, s. 1). Bütün

bu avantajlardan dolayı çalışmada Eudragit® polimeri kullanılarak polimerik nanopartikül hazırlanmıştır. Farklı polimer oranları, farklı yüzdelerde etkin madde ile karıştırılarak, çok sayıda formülasyon hazırlanmış, parçacık büyüklüğü ve zeta potansiyel analizlerine göre en iyi sonuçların Eudragit® RS 100 ile hazırlanan NP1 ve NP2 kodlu formülasyonlarda alındığı gözlenmiştir.

Pignatello vd. (2002, s. 54) yaptıkları çalışmada, Eudragit® RS polimeri kullanarak kuasi-emülsiyon çözücü difüzyon tekniği ile ibuprofen içeren nanopartiküller hazırlanmıştır. Hazırlanan formülasyonun göz yüzeyinde kalış süresinin çözeltiye oranla daha uzun olduğu tavşan üzerinde yapılan *in vivo* çalışma ile gösterilmiştir.

Eudragit® RS ve RL, yapısında sırasıyla % 4.5-% 6.8 ve % 8.8-% 12 oranında katerner amonyum grubu içeren polietilakrilat, metil metakrilat ve klorotrimetil-amonyum etil metakrilat kopolimerleridir. Bu kimyasal yapılar fizyolojik pH değerinde suda çözünmeyen, şişme yeteneğine sahip ve bu nedenle etkin bileşenlerin dispersiyonunun hazırlanması için ideal maddelerdir (Pignatello vd., 2006, s. 1).

Bu çalışmada hazırlanan formülasyonların SEM görüntüsü incelendiğinde karakteristik nanopartikül görüntüsünün oluştuğu, küresel ve düzgün yüzeyli parçacıklar elde edildiği görülmüştür. Etkin madde içermeyen formülasyondaki parçacıkların küresel olmayan şekli, küreselleşmenin etkin madde yüklenmesi ile gerçekleştiğini kanıtlamıştır. Benzer bir diğer çalışmanın SEM analizi yine aynı şekilde, hazırlanan parçacıkların küresel ve düzgün olduğunu göstermiştir (Pignatello, vd. 2006, s. 2-4).

Parçacık boyutu oküler ilaç taşıyıcı sistem geliştirmede önemli bir parametredir; aynı zamanda gözün toleransını belirlemek için de fikir vermektedir. İri parçacık boyutu gözyaşı üretiminin artmasına, etkin maddenin gözden hızla direnajına ve buna bağlı olarak da düşük biyoyararlanıma yol açar (Gupta vd., 2011, s. 412). İri parçacıkların neden olacağı bir diğer problem ise görüşü bozacağı için hastanın konforunu olumsuz yönde etkilemesidir (Dillen vd., 2006, s. 75).

Polidisperslik indisi bilindiği üzere parçacık boyutu dağılımını tanımlamak için kullanılan bir parametredir. Bu değer tek fazlı sistemler için 0.01 civarından 0.5-0.7 değerine kadar yükselebilir. 0.7'den daha yüksek değerler çok geniş boyut dağılımının göstergesidir (Lopedata vd., 2009, s. 503).

Bu çalışmada hazırlanan formülasyonların parçacık boyutu oküler uygulama için uygundur. Boyut kararlılık çalışması süresince belirli bir aralıkta kalmış ve anlamlı değişiklik göstermemiştir ($p>0.05$). Polidisperslik indisi değeri 0.7'ye kadar

yükselebileceği için kabuledilebilir sınırlar içerisinde ve zamana bağlı değişim göstermemiştir ($p>0.05$). Ancak çok ufak parçacıkların ölçüm sırasında belirli oranda pik vermesi tekdüze boyut dağılımını olumsuz yönde etkilemiştir.

Benzer bir çalışmada oküler kullanım amacıyla Eudragit® RL ve RS ile hazırlanan nanopartiküllerin polidisperslik indisinin ortalama 1.0 civarında olması parçacık boyutu dağılımının tekdüze olduğunu göstermiştir (Pignatello, vd. 2006, s. 2-4).

Eudragit® RS ve RL polimerleri ile hazırlanan tüm formülasyonların pozitif zeta potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir. Zeta potansiyel değerinin pozitif olmasının nedeninin polimer yapısındaki katerner amonyum grupları olduğu belirtilmiştir (Ubrich vd., 2005, s. 172). Kornea yüzeyinin negatif yüke sahip olması ve nanopartikülün pozitif olması göz yüzeyine tutunma açısından önemli bir avantaj sağlamaktadır.

Sulu ortamda dağıtılan nanopartiküllerin kararlılığı elektrostatik kararlılığa, sterik kararlılığa veya her ikisine bağlı olarak gerçekleşmektedir. Yüksek zeta potansiyel değeri (yaklaşık +/- 30 mV) kolloidal dispersiyonun kararlı olduğunu gösterir. Sistemin görsel olarak değişmesi veya bulanıklaşması ise kararlılığını kaybettiğinin ilk belirtisidir (Nagarwal vd., 2009, s. 6).

Çetin vd. (2013, s. 573-575) yaptıkları çalışmada Eudragit® RSPO polimeri ile metformin hidroklorür içeren nanopartikül hazırlamıştır. SEM görüntüsünde küresel ve yumuşak yüzey özellikli, 8-10 mV zeta potansiyel değerine sahip ve 270-280 nm boyutunda parçacıklar elde edilmiştir.

Bu çalışmada hazırlanan NP1 ve NP2 kodlu formülasyonların zeta potansiyel değerinin her zaman pozitif olması polimerin pozitif yüklü yapısından kaynaklanmaktadır. Elde edilen formülasyonların zeta potansiyel değerinin başlangıç, 3. ve 6. aylarda ortalama 40-50 mV olması sistem kararlılığının yüksek olduğunu göstermektedir ve formülasyonların zeta potansiyel değişimi zamana bağlı incelendiğinde fark görülmemiştir ($p>0.05$). Ayrıca formülasyonun pozitif zeta potansiyel değeri, anyonik özellikteki kornea yapısına tutunmasının iyi olmasını ve göz yüzeyinde kalış süresinin arttırılmasını sağlayacaktır.

Bu çalışma kapsamındaki formülasyonların ilk gün ve 90 gün sonundaki DSC termogramlarının birbirini desteklediği görülmüştür. Eudragit® RS 100 ile hazırlanan bir başka polimerik nanopartikülün DSC termogramında Eudragit® RS 100'e ait erime piki görülmemiş, XRD ve FT-IR analiz sonuçları ise bu tez çalışmasında olduğu gibi karakteristik sinyaller göstermiştir. Bu çalışmada hazırlanan nanopartiküllerin XRD

analizi sonucunda etkin maddeye ait sinyallerin şiddetinde görülen azalma nanopartiküllerin polimer ile kaplandığını düşündürmüştür. Polimer sinyallerinde herhangi bir değişiklik olmaması kimyasal yapının korunduğu ve etkin madde ile etkileşim olmadığını göstermiştir (Adibkia vd., 2007, s. 412).

Wu vd. (2008, s. 165) tarafından yapılan çalışmada kersetin yüklü nanopartiküllerin fizikokimyasal olarak değerlendirilmesi için XRD verisi yorumlanmıştır. Saf kersetin'in sahip olduğu karakteristik sinyallerin nanopartikül formülasyonunda şiddetini yitirmiş olması, etkin maddenin polimer içine enkapsüle edildiği şekilde değerlendirilmiştir.

Devarajan ve Sonavane (2007, s. 103-111) tarafından yapılan çalışmada Eudragit® RL ve RS polimerleri ile hazırlanan nanopartikülün DSC termogramı ve FT-IR spektrumunun saf etkin madde ve polimer ile karşılaştırılması sonucu herhangi bir etkileşim ve bozunmanın olmadığı belirlenmiştir.

Oftalmik nanopartiküler sistemin pH değerinin fizyolojik değere yakın veya tamponlanabilir değerde olması istenir. Bu çalışmada hazırlanan nanopartiküllerin pH değeri kararlılık süresi boyunca azalmış ancak anlamlı bir fark olmamıştır ($p > 0.05$). Formülasyona eklenecek her bileşenin kararlılığı olumsuz etkileyebileceği düşünüldüğünden nanopartikül süspansiyonunda tamponlama için herhangi bir maddeye gereksinim duyulmamıştır.

Sterilizasyon yöntemini belirlemek formülasyon sürecinde önemli bir parametredir. Nanopartikül süspansiyonlarının sterilizasyonu için gamma radyasyon, süzme veya termal sterilizasyon yöntemi kullanılmaktadır. Ancak yöntem belirlerken formülasyonun kararlılığının etkilenmemesi dikkate alınmalıdır (Wang vd. s. 6). Bu çalışma kapsamında hazırlanan nanopartikül formülasyonlarının sterilizasyonu otoklav ile 121°C'de 20 dakika yapılmıştır. Sterilizasyon sonrası etkin madde miktarı, parçacık boyutu ve fiziksel görünüşte herhangi bir değişim olmamıştır.

6.5. *In Situ* Jel Sistemler

Poloxamer® veya Pluronic® F, 30'dan fazla farklı yapıda YEM içeren noniyonik polimerdir. Bu polimerler farklı oranda etilen oksit ve propilen oksitin yaklaşık 1100-14000 arasında molekül ağırlığına sahip kopolimeridir ve sulu çözeltileri sıcaklığa bağlı jelleşen sistem oluşturur. Poloxamer® genellikle non-toksik olarak bilinir. Bu nedenle

enjeksiyonluk preparatların yanısıra rektal, vajinal, transdermal ve oküler gibi birçok sistemde kullanılmaktadır. Formülasyona katkısı etkin maddenin uygulama bölgesinde kalış süresini uzatarak etkinliği ve biyoyararlanımı arttırmak olarak açıklanmaktadır (Ruel-Gariepy ve Leroux, 2004, s. 417). Oküler kullanımının yaygın ve non-toksik özellikte olması Poloxamer® ve Pluronic® F'nin bu çalışmada kullanılması için avantaj oluşturmuştur. Bunun yanısıra HPMC'nin suda çözünmesi, çözeltisi hazırlandığında saydam ve uygun viskoziteye sahip olması ve oftalmolojide yaygın olarak kullanılması bu çalışmadaki jel formülasyonları için tercih nedeni olmuştur. HPMC ayrıca kontak lens yıkama çözeltisi içerisinde de kullanılan polimerdir (Khangtragool, 2014, s. 167).

Timolol maleat ile glokom tedavisinde kullanılmak üzere hazırlanan *in situ* jelle eklenen Pluronic® F'nin gözde jelleşme için konsantrasyonunun % 15 olduğu belirlenmiştir (El-Kamel, 2002, s. 48-49).

Formülasyonda izotoni sağlamak için gerekli sodyum klorür miktarı bir çalışmada 'Sodyum Klorür Ekvivalanı Yöntemi' kullanılarak hesaplanmıştır (El-Kamel, 2002, s. 48-49). Bu çalışmada ise *in situ* jel formülasyonlarda izotoniye ayarlamak için Raoult Yasası kullanılmış ve formülasyona sodyum klorür eklenmiştir.

Oküler sistemde sınırlı sayıda koruyucu madde kullanılabilir. Benzalkonyum klorür, tiyomersal, paraben türevleri ve polianopropil biguanit güvenli ve etkili koruyucular olarak belirlenmiştir. Bu maddeler arasında en sık kullanılan benzalkonyum klorür hızlı ve yüksek etki gösteren ve mükemmel kimyasal kararlılığa sahip koruyucu madde olarak tanımlanmaktadır. Geniş pH aralığında kararlı, yüksek sıcaklıkta bozunmayan yapıya sahiptir ve katyonik özelliktedir. Benzalkonyum klorür'ün oküler dokulara geçişi sınırlı olmasına karşın etkin maddelerin oküler penetrasyonunu arttırdığı da bilinmektedir (Başaran, 2007, s. 65).

Bu çalışmada hazırlanan *in situ* jel formülasyonlara koruyucu özelliğinden dolayı benzalkonyum klorür % 0.01 oranında katılmıştır.

Jel formülasyonunda gerçekleştirilen FT-IR analizi etkin ve yardımcı maddelerin etkileşim olasılığı ve geçimsizlik durumunu aydınlanmak için kullanılır (Suryawanshi vd., 2012, s. 78). Rawat vd. (2010, s. 63) ornidazol ile yaptığı önformülasyon çalışmasında etkin maddenin ve polimerin FT-IR spektrumlarını almış ve maddelerin saf olduğunu saptamıştır. Ayrıca spektrumlarda herhangi bir etkileşim olmadığı da belirlenmiştir.

Bu çalışmada yapılan önformülasyon çalışmasının ardından hazırlanan formülasyonun 0. zamanda ve kararlılık çalışması kapsamında 3. aydaki FT-IR spektrumunun pik morfolojisinde ve sinyallerinde değişim olmaması yapısal kararlılığını koruduğunu göstermiştir.

Birçok sistemde olduğu gibi jel sistemlerde de fizikokimyasal özellikler incelenirken ilk bakılması gereken fiziksel görünüş ve saydamlıktır. Çalışmaların çoğunda formülasyonda parçacık olup olmadığı siyah ve beyaz arka planda ışık altında görsel olarak incelenir (Gupta vd. 2007, s. 509; Patil ve Kumar, 2014, s. 433).

Bu çalışmada jel sistemin saydamlığı parçacık varlığı olasılığı için beyaz ve siyah arka plan kullanılarak değerlendirilmiş ve hazırlandığı günden itibaren herhangi bir değişiklik gözlenmemiş, formülasyon saydam ve tekdüze görünümünü korumuştur. Dolayısıyla hazırlanan jel sisteminin fiziksel açıdan kararlı olduğu belirlenmiştir.

Jelleşme sıcaklığı formülasyon içeriğindeki maddelerin ve özellikle polimerin konsantrasyonuna bağlı olarak farklılık gösterir. Bu nedenle göze uygulanacak formülasyonun da göz yüzeyi sıcaklığında jelleşmesi istenir. Polimer konsantrasyonu çok düşük olduğunda 32°C’de jelleşme sağlanamayacağı gibi, çok yüksek konsantrasyonda polimer kullanımı hem maliyeti artırır hem de toksik etkilerin oluşmasına yol açar. Dolayısıyla 32°C’de jelleşme sağlayan minimum konsantrasyon hedeflenir (Jeong, 2002, s. 38).

Çözelti halinden jel haline geçiş sıcaklığını belirlemek amacıyla kaynaklarda verilen *Test Tüpü Eğme Yöntemi* bu çalışmada kullanılmıştır. Bu yöntemde, sıcaklık zamanla kademeli olarak artırılarak faz geçişi görsel olarak kaydedilir ve böylece jelleşme sıcaklığı belirlenir.

Önformülasyon çalışması kapsamında farklı polimer konsantrasyonlarındaki formülasyonların göz yüzeyi sıcaklığı olan 32°C’de jelleşebilenleri karakterizasyon çalışması için seçilmiş ve etkin maddeli formülasyon hazırlanmıştır. Etkin madde eklenmesinden sonra jelleşme sıcaklığında herhangi bir değişim olmamıştır.

Grateri vd. (2010, s. 192) çalışmalarında farklı oranlarda Poloxamer® 407 ve kitosan polimeri ile hazırladıkları *in situ* jel sistemleri karşılaştırdığında oküler yüzeyde optimum jelleşme gösteren sistemin %16 Poloxamer® kullanılarak hazırlanan jel olduğunu belirlemiştir.

Göze uygulanan preparatın pH’sının tamponlanabilme kapasitesi oldukça geniştir. Bu çalışmada tekrarlanan pH ölçümlerinde P16 kodlu formülasyonda zamana bağlı

anlamli değişme olmazken ($p > 0.05$), FH1405 formülasyonunda önemli ölçüde ($p \leq 0.05$) ve F16 formülasyonunda ise çok önemli derecede fark saptanmıştır ($p \leq 0.01$). Hazırlanan *in situ* jel formülasyonunun pH değerinin kararlılık süresi boyunca ortalama 6.50 ile 7.00 arasında olması göz için uyumlu olduğunu göstermiştir. Bu nedenle ve formülasyona eklenecek her maddenin toksisite veya kararlılık açısından sakınca yaratacağı gerçeği ile ayrıca ek bir kimyasal madde kullanarak pH ayarı yapılmasına gerek olmamıştır.

Mandal vd. (2012, s. 79-81) geliştirdiğı moksifloksazin hidroklorür içeren oftalmik *in situ* jel sisteminin pH değerinin ortalama 6.5 civarında olduğunu ve bu değeri gözün tolere edebileceğini rapor etmiştir.

In situ jel sistemler için viskozite ve jelleşme kapasitesi olmazsa olmaz iki temel niteliklerdir. Uygun viskoziteye ve jelleşmeye sahip formülasyon tıpkı göz damlası gibi kolay uygulanabilir ve hasta uyuncu korunabilir (Gupta, 2007, s. 512).

Chang vd. (2002, s. 158) Poloxamer® 407 ve 188 kullanarak vajinal jel formülasyonu hazırlayıp 20°C’de reolojik açıdan incelediğinde sıvı formülasyonun *Newton* akış gösterdiğini belirlemiştir. Vücut sıcaklığı olan 37°C’de jelleşen sistemin bu sıcaklıktaki reolojik ölçümü, kayma hızının arttıkça viskozitesinin azalmasıyla psödoplastik akışı göstermiştir.

Bir başka çalışmada pilokarpin içeren Pluronic® ile oftalmik *in situ* jel hazırlanmış ve reolojik davranışının sıvı şekilde iken *Newton* akış modeline, jel şeklinde ise psödoplastik akış modeline uyduğu, kayma hızına karşı kayma gerilimi grafikleri ile gösterilmiştir (Lin, Sung ve Vong, 2004, s. 2362).

Nazal insülin formülasyonu hazırlanan bir diğer çalışmada *in situ* jel oda sıcaklığında düşük viskozite ile akışkan özellik gösterirken, vücut sıcaklığında bekletilen formülasyonun akışının durduğu görsel olarak saptanmıştır (Agrawal, vd., 2010, s. 189).

Bu çalışmada hazırlanan jel formülasyonları da 25°C’de sıvı halde çözeltiye benzer şekilde *Newton* akış gösterirken, göz sıcaklığı olan 32°C’de jelleşerek psödoplastik akış göstermiştir. Jelleşme sonrası viskozitenin hızlı artış göstermesi formülasyonun gözde kalış süresinin uzayacağını belirtmektedir.

Ketorolak trometamin yüklü oküler *in situ* jel sistemde yapılan çalışmalardan biri de şişme kapasitesidir (Bhowmik, 2010, s. 2151). Ju vd. (2013, s. 2710-2711) çalışmalarında Poloxamer® 407 ve kitosan kullanarak *in situ* jel hazırlamış ve şişme davranışını incelemiştir. Şişme oranını arttırmak ve sulu ortamda çözünmeyi yavaşlatmak için de sisteme gluteraldehit eklenmiştir.

Bir başka çalışmada Pluronic® F 127 kullanılan *in situ* jelin zamana ve sıcaklığa bağlı şişme davranışı incelenmiş ve jelin hem çapraz bağlanma oranı hem de şişme özelliğinin etkin maddenin difüzyonunu ve uygulandığı doku ile etkileşimini değiştirdiği gösterilmiştir (Diniz vd., 2015, s. 153).

Bu çalışmada hazırlanan *in situ* jel sistemlerin yapay gözyaşı kullanılarak hesaplanan şişme oranları karşılaştırıldığında F14 kodlu formülasyonun şişme oranının P14 ve FH1405'e oranla daha yüksek olduğu bulunmuştur. 6. saate kadar hızla artan ağırlık artışı daha sonra yavaşlayarak devam etmiştir. Formülasyonun gözde kalış süresi dikkate alındığında çalışmanın 24 saate kadar sürdürülmesi uygun bulunmuştur.

Göze uygulanan preparatlar için sterilizasyon son derece önemlidir. Bu yüzden hazırlanan formülasyonların uygulama öncesinde mutlaka sterilize edilmesi gerekmektedir. *In situ* jel sistemler için kullanılacak yöntemlerden birinin uygun gözenek çapına sahip süzgeçten süzme olduğu bir çok kaynakta görülmektedir (Mohan vd., 2009, s. 1090). Bu çalışmada hazırlanan jel formülasyonlarının sterilizasyonu da soğukta çözelti şeklinde iken 0.22 µm gözenek çapına sahip süzgeçten süzme ile yapılmıştır.

6.6. Etkin Madde Miktar Tayini

Kararlılık çalışması boyunca etkin maddenin hazırlanan formülasyonlar içinde bozunmadan kalabildiğini göstermek üzere tüm formülasyonlarda etkin madde miktar tayini ilk hazırlandıkları zamanda ve belirlenen aylarda valide edilmiş UPLC yöntemi kullanarak yapılmıştır.

Nanopartiküller 1000 µm'den ufak doğal veya sentetik polimer, lipit hatta metallere oluşan parçacıklardır. Etkin madde bu matrisin içinde veya yüzeyine tutunmuş olarak bulunabilir (Sahoo, Dilnawaz ve Krishnakumar, 2008, s. 147; Bucolo, Drago ve Salomone, 2012, s. 1). Bu nedenle nanopartiküler sistemde etkin madde miktarı belirlenirken hem yüklenen miktar hem de polimer yüzeyine tutunan miktar hesaplanmalıdır. 'Yöntemler' kısmında belirtildiği şekilde gerçekleştirilen yükleme kapasitesi çalışması sonucunda NP1 kodlu formülasyonun yükleme kapasitesinin diğer formülasyona göre yaklaşık üç kat fazla olduğu saptanmıştır. Bu nedenle *in vitro* ve *in vivo* salım çalışmaları için NP1 formülasyonu tercih edilmiştir.

Hazırlama sırasındaki kayıptan dolayı ve parçacığa yüklenen/tutunan etkin madde oranını bulmak için nanopartikül sistemde hesaplama yapılması gerekir. Kararlılık

süresince yapılan nanopartikül miktar tayinlerinde anlamlı bir fark olmamış ve OLO miktarı sabit kalmıştır. Aynı şekilde yükleme oranlarında da değişiklik olmamıştır ($p>0.05$).

Mikroemülsiyon ve jel sistemlerin hazırlanmasında sisteme eklenen etkin madde miktarı belli olduğundan herhangi bir kayıp gerçekleşmez. 0. zaman ölçümünde mikroemülsiyon ve *in situ* jel formülasyonlarında başlangıç değeri esas alınarak, kararlılık boyunca miktar tayini yapılmış, saptanan ortalama % 99-101 etkin madde miktarı 90 günün sonunda sabit kaldığından etkin maddede kayıp veya bozunma olmadığı sonucuna varılmıştır ($p>0.05$).

6.7. *In Vitro* Salım Çalışması

Liv vd. (2012, s. 54) çalışmalarında propofol içeren mikroemülsiyon hazırlamış ve 30 mL pH. 7.4 fosfat tamponu ortamında 3 kDa boyutlarında diyaliz membranı kullanarak *in vitro* salım çalışması yapmıştır. 2 saat içinde propofol'un % 20'si salınmış, 48. saat sonunda ise yaklaşık % 72 oranında salım sağladığı bulunmuştur.

Kumar ve Sinha'nın (2014, s. 83) oküler amaçlı çalışmasında diyaliz membranı kullanılarak yapılan salım testinde saf etkin madde 6 saatte % 95 konsantrasyona ulaşırken mikroemülsiyon formülasyonunun 12 saatin sonunda yaklaşık % 70 konsantrasyona ulaştığı kaydedilmiştir. Sonuçların 0. Derece, 1. Derece, Higuchi, Korsmeyer-Peppas ve Hixson-Crowell gibi kinetik modellere uygulanması sonucunda Higuchi modele benzerlik gösterdiği rapor edilmiştir.

Partiküler sistemlerin ilaç salımında çoğunlukla birden fazla mekanizma rol almaktadır. Partiküllerin yüzeyine absorbe olan ilaç, salım ortamı ile temas ettiğinde hızlıca çözünerek patlama etkisine neden olur. Benzer olarak *in vitro* salım çalışmalarına göre, 5. dakikada mikroemülsiyonda yaklaşık % 2, P16, F16 ve FH1405 formülasyonlarında yaklaşık % 5-7 etkin madde salımı görülürken aynı zaman içerisinde nanopartikül formülasyonunda yaklaşık % 20 etkin madde salımı ile patlama etkisi görülmüştür. Polimer esaslı matris sistemlerinden ilaç salım mekanizması karmaşıktır ve tam olarak anlaşılabilmiştir. Bazı sistemler sadece difüzyon veya erozyon kontrollü olarak sınıflandırılabilirken, çoğu sistem bu mekanizmaların kombinasyonunu sergilemektedir. Korsmeyer-Peppas kinetik modeli, difüzyon ve erozyon mekanizmalarının bir kombinasyonudur. Formülasyonların salım verilerinin Korsmeyer-

Peppas modeline uyması, salımın hem ilacın difüzyonu hem de partiküler sistemler için matrisin çözünme/erozyonu ile gerçekleştiğini göstermektedir.

Bu çalışmada hazırlanan tüm formülasyonlar için zamana karşı etkin madde konsantrasyonu profilleri Çizelge 5.28’de sunulmuştur. Etkin madde çözeltisi ilk yarım saat içerisinde % 50 konsantrasyona ve 3 saatin sonunda % 90’a ulaşmıştır. Patanol® ilk yarım saatte yaklaşık % 42, 3 saatin sonunda ise % 75 konsantrasyona yükselmiştir.

Mikroemülsiyon formülasyonundan OLO salımı ilk yarım saatte % 5 iken testin sonunda % 55’e ulaşmıştır. Mikroemülsiyonun uzatılmış salım göstermesi dış fazının yağ olması ve etkin maddenin iç sulu fazda çözündürülmüş olmasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle etkin madde uzun sürede açığa çıkmaktadır. *İn vitro* salım çalışmasının 48 saat sonunda durdurulmasının nedeni OLO’nun yarılanma ömrünün 3 saat olmasıdır. Ayrıca etkin maddelerin göz yüzeyinde daha uzun süre tutulması da fizyolojik faktörlerden dolayı olanaksızdır.

Nanopartikül yüzeyinde tutunan etkin maddenin salım ortamında hızla çözünmesinden dolayı ani konsantrasyon artışı görülmüş, daha sonra partiküller içinde hapsolan etkin maddenin 48. saate kadar sürekli salım gösterdiği saptanmıştır.

Hazırlanan üç farklı *in situ* jel sistem benzer salım profili sergilemiş, başlangıçta ani yükselme olmadan salım kontrollü olarak 48 saat boyunca sürmüştür. P16 ve F16 formülasyonları salım çalışmasının sonunda yaklaşık % 60-65 konsantrasyona ulaşırken, FH1405 formülasyonundan salım bu süre sonunda % 51’e ulaşmıştır. Bu farkın FH1405 formülasyonunun jelleşme kapasitesi ve vizkozitesinin diğer formülasyonlara oranla yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

6.8. Sitotoksikite Çalışması

Bu çalışmada formülasyonların sitotoksik potansiyellerinin nicelik olarak belirlenmesinde hücre sayısının dolaylı olarak ölçüldüğü MTT testi kullanılmıştır. MTT suda çözünebilen sarı bir tetrazolyum boyasıdır. Bu boya yaşayan hücreler tarafından sulu çözeltilerde çözünmeyen mor formazan tuzuna indirgenir. Üretilen formazanın miktarı doğrudan canlı hücre miktarı ile orantılıdır ve spektrofotometrik olarak ölçülebilir (Arranja vd., 2014, s. 88).

OLO antialerjik sınıfına katılan son grup etkin maddelerden biridir; antihistaminik ve membran stabilize edici özelliğinin yanısıra alerjik cevapta rol oynayan araçlar üzerinde etkiye de sahiptir. Karşılaştırmalı çalışmalarda H₁ seçici OLO’nun ketotifen,

levokabastin, antazolin ve feniramin gibi diğer antihistaminik maddelere göre üstün olduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda histamin salımı için IC₅₀ değerinin 559 µM olduğu belirlenirken, OLO'nun bu dozun 10 kat üstünde bile hücre üzerinde herhangi bir sitotoksitesinin olmadığı belirtilmiştir (Zierhut, Biedermann ve Ono, 2010, s. 205). Bu çalışmada da OLO'nun en yüksek dozda dahi % 50 hücre canlılığı gösterdiği saptanmıştır.

HPMC farmasötik endüstri kadar gıda endüstrisinde de sıkça kullanılan ve suda çözünebilir biyouyumlu selülozik polimerdir. Biyouyumlu olması nedeni ile de ilaç taşıma sistemlerinde kullanımı yaygınlaşmıştır.

Misra vd. (2015, s. 107) hazırladıkları metotreksat yüklü folat nanopartiküllerinde % 6, 8 ve 9.5 oranında HPMC kullanılarak nano taşıyıcı hazırlanmıştır. Hazırlanan bu formülasyonların HeLa hücreleri üzerinde yapılan MTT testinde herhangi bir sitotoksitesite saptanmamıştır.

Angelova vd. (2016, s. 9) % 5 HPMC ve HPC ile hazırlanan silika hibrit maddelerin sitotoksitesini 3T3 hücreleri üzerinde 24 saat süresince incelemiş ve sonuçta herhangi bir sitotoksitesiteye rastlamamıştır.

Bu çalışmada HPMC polimeri ile hazırlanan formülasyonlar ile ilgili olarak ilk 12 saatte konsantrasyona bağlı hücre azalması görülürken, en yüksek dozda dahi hücre canlılığı % 50'nin altına inmemiştir. Ancak 24. saatte yaklaşık 30 µg/100 µL'de hücre canlılığı % 50'ye yaklaşmıştır.

Khoh-Reiter vd. (2009, s. 5) % 0.005, 0.01, 0.025, 0.05, 0.075 ve 0.1 konsantrasyonlarında benzalkonyum klorür çözeltisi hazırlamış ve kornea epiteli üzerinde 6 saat sonundaki sitotoksitesiteyi incelediğinde bu çözeltilerin en yüksek dozunda bile % 66 hücre canlılığı görülmüştür.

Bu çalışmada hazırlanan formülasyonlarda kullanılan benzalkonyum klorür konsantrasyonu % 0.01'i geçmemiş ve böylece sitotoksitesite üzerinde önemli bir etki göstermemiştir.

Poloxamer[®] 407 kullanılan bir başka çalışmada bu polimer ile paklitaksel yüklü sıcaklığa duyarlı misel-hidrojelere hazırlanmıştır (Ju vd., 2013, s. 2712). % 19 oranında Poloxamer[®] kullanılan çalışmada 24 ve 48 saatlik süre sonunda en yüksek formülasyon dozunda (1500 µg/mL) bile hücre canlılığı % 50'nin altına düşmezken, 72 saat sonunda hücre canlılığı % 40'a kadar düşmüştür.

Çekirdek çapraz bağlama ile stabilize edilen Pluronic[®] miselleri hazırlanan çalışmada sitotoksitesite testi için NIH-3T3 fare fibroblast hücreleri kullanılmıştır (Arranja

vd., 2014, s. 92). Saf Pluronic® F127'nin 2.5 µg/mL ve 5000 µg/mL aralığındaki konsantrasyonda 24 ve 48 saatlik MTT testinde hiç bir dozda sitotoksisite belirlenmemiştir. Pluronic® F 127 ve Poloxamer® 407 ile hazırlanan formülasyonlarda ise sitotoksisitenin Pluronic® F 127 ile hazırlananlarda daha yüksek olduğu görülürken Poloxamer® 407'nin ancak en yüksek dozda (200 µg/100 µL) % 50 hücre canlılığı gösterdiği saptanmıştır.

Bu çalışmada hazırlanan formülasyonların konsantrasyona ve zamana bağlı olarak yalnızca yüksek dozlarda sitotoksisite gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçların bazıları literatürdeki çalışmalarla uyumlu bulunurken, bazıları ile uyumsuz olmasının nedeninin geçmişte yapılan çalışma sayısının azlığı ve çalışmalarda kullanılan konsantrasyon ve zamanların farklılığı olduğu düşünülmüştür.

6.9. *In Vivo* Çalışma

Tez kapsamında hazırlanan formülasyonların göz yüzeyi ile temas süresinin uzatılması hedeflenmiş ve bu doğrultuda değerlendirme yapabilmek için OLO'nun gözyaşında miktar tayini zamana karşı test edilmiştir.

Byrro vd. (2012, s. 545-547) tarafından yapılan çalışmada ofloksasin içeren oftalmik mukoadeziv kitosan film hazırlanmış ve tavşanlara uygulanmıştır. Gruplardan ilkine hazırlanan formülasyon, diğerine piyasa preparatı günde üç kez 50 µL, toplamda 150 µL uygulanmış ve belirli saat aralıklarında lakrimal keseden gözyaşı örneği alınmıştır. Gözyaşı '*Schirmer* gözyaşı testi' membranlarına emdirilerek toplanmıştır. Gözyaşı örneklerinde HPLC yöntemi kullanılarak etkin madde miktar tayini yapılmıştır. Sonuç olarak, hazırlanan sistemin gözde kalış süresi uzadığı için biyoyararlanımın artacağı bildirilmiştir.

Bir diğer çalışmada natamisin ile nanopartiküler sistem hazırlanmış ve gözde alıkonma çalışması *in vivo* olarak yapılmıştır (Bhatta vd., 2012, s. 107-111). Çalışmada her bir formülasyondan 20 µL birer gözün lakrimal kesesine uygulanmış ve belirli zaman aralıklarında (5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 210, 240 dakika) kılcal boru ile lakrimal keseden 10 µL gözyaşı toplanmıştır. Toplanan gözyaşı örneklerinde HPLC yöntemi ile miktar tayini yapılmış ve etkin madde konsantrasyon eğrisi çizilmiştir. Sonuçta geleneksel göz damlasına alternatif yeni ilaç sistemi tasarlandığı belirtilmiş ve hasta uyuncunun dozlama açısından çok daha yüksek olacağı kaydedilmiştir.

Bir başka benzer çalışmada sağlıklı insan gönüllülere uygulanan oküler sistem için gözyaşı örnekleri alınarak uygun miktar tayini yöntemi ile analiz yapılmıştır (Raizman vd., 2002, s. 1441).

Netilmisin etkin maddesi ile gözyaşında kalış süresi 32 sağlıklı gönüllü üzerinde çalışılmış, 5, 10, 20 ve 60. dakikalarda gözyaşı örneği toplanmıştır. Örnekler her defada 5 µL olacak şekilde cam mikropipet yardımı ile alınmıştır. Alınan örneklerde HPLC ile etkin madde miktarı yapılmıştır. Sonuçlara göre 5. dakikada 256 µg/mL konsantrasyon elde edilmişken, 60. dakikada 27.5 µg/mL olarak saptanmıştır (Scuderi vd., 2002, s. 49).

Oküler *in vivo* çalışmalarda tavşanın yanısıra koyun da tercih edilmektedir. Gerometta vd. (2010, s. 3042) çalışmasında olduğu gibi bu çalışmada da veteriner tarafından sağlıklı bulunan dişi ve erkek, 12-24 ay arası yaşa sahip ve 35-40 kg ağırlığında koyunlar kullanılmıştır. 5 farklı ilaç formülasyonu ve pozitif kontrol grubu olarak göz damlası (Patanol®) her bir grupta 6 koyun olacak şekilde uygulanmıştır. Kontrol grubuna ise serum fizyolojik damlatılmıştır. Formülasyon uygulanan göz ile kontrol göz görsel olarak karşılaştırıldığında herhangi bir kızarıklık veya iritasyon gözlenmemiştir. Uygulamanın standardizasyonu açısından serum fizyolojik damlatılan gözden de gözyaşı örneği alınmış ancak etkin madde bulunmadığı için UPLC ile analiz edilmemiştir.

Çizelge 5.30'da verilen bulgulara göre, Patanol® grubu örneklerinde 2. saat itibarıyla etkin maddeye rastlanmamışken, formülasyonların tamamında 3. saate kadar etkin madde miktarı saptanmıştır. Mikroemülsiyon sistemi için 6. saatte etkin madde belirlenmemiştir. 24. saatin sonundaki verilere göre nanopartikül süspansiyonu ve *in situ* jel formülasyonu gözdeki varlığını hala sürdürmektedir. 48. saatte alınan gözyaşı örneklerinde ise tüm formülasyon ve kontrol grubunda etkin madde saptanmamıştır. Bu doğrultuda Patanol® grubu ile tüm formülasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0.05$).

Şekil 5.45'te sunulan grafikte görüldüğü üzere tüm formülasyonlar pozitif kontrol grubuna göre sürekli salım profiline sahiptir. Nanopartikül süspansiyonu gözde kalış süresi en yüksek olan formülasyon olmasına karşın diğer formülasyonlar ile karşılaştırıldığında 6. saate kadar önemli fark bulunmadığı görülmüştür ($p<0.001$). Gözde kalış süresi uzunluğu NP1'den sonra sırası ile H16, P16 ve FH1405 *in situ* jel formülasyonlarına aittir. Hazırlanan formülasyonlar arasında gözden en hızlı uzaklaşan formülasyon mikroemülsiyon olmuştur.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

OLO içeren mikroemülsiyon, polimerik nanopartikül ve *in situ* jel sistemlerin hazırlandığı ve geliştirildiği bu çalışmada kararlılık çalışması süresince fizikokimyasal özellikler incelenmiş, damlacık ve parçacık boyutu açısından oküler kullanıma uygun oldukları belirlenmiştir. Hazırlanan formülasyonlardaki etkin madde konsantrasyonu piyasada bulunan Patanol® göz damlası ile aynı olacak şekilde ayarlanmıştır.

Formülasyonların tamamında pH değişimleri kararlılık süresince gözün tamponlayabileceği aralıkta kalmıştır.

Mikroemülsiyon formülasyonunda dış fazın yağ iç fazın su olması ve suda çözünen etkin maddenin iç fazda bulunması kontrollü salıma olanak sağlamıştır. Kararlılık çalışması boyunca damlacık boyutu ve dağılımı göze uygulanabilecek ve bulanıklık oluşturmayacak sınır içerisinde kalmıştır.

SEM görüntüsü ile küresel parçacıklar elde edildiği, miktar tayini analizi ile ise etkin madde yüklü parçacıklar elde edildiği belirlenen nanopartikül formülasyonunda yapılan IR, NMR, DSC ve XRD analizi ile fizikokimyasal kararlılığın 6 ay boyunca korunduğu saptanmıştır. Polimerik nanopartikül süspansiyonunun zeta potansiyelinin pozitif değere sahip olması, negatif korneal yüzeyde formülasyonun uzun süreli tutunmasına olanak sağlamıştır.

In situ jelleşen sistem ile hem çözelti gibi uygulama kolaylığı sağlanmış hem de göz sıcaklığında jelleşerek göz yüzeyinde kalma süresi arttırılmıştır. Jel hazırlanırken göz yüzeyi sıcaklığında jelleşme sağlayan minimum polimer konsantrasyonu saptanmış ve formülasyon içeriği bu veriye göre belirlenmiştir. Ayrıca oda sıcaklığında *Newton* akış, 32°C’de ise psödoplastik akış gösterdiği reolojik inceleme ile desteklenmiştir.

Kararlılık çalışması boyunca düzenli aralıklarla tüm formülasyonlarda etkin madde miktar tayini yapılmış ve etkin maddenin formülasyonda kararlılığını koruduğu gösterilmiştir.

Sitotoksisite çalışmasında formülasyonların artan doz ile toksik özellik gösterdiği belirlenmiştir. Ancak *in vivo* olarak uygulanan değer göz önüne alındığında dozun toksik konsantrasyonlara ulaşmadığı görülmektedir.

Piyasa preparatı olan Patanol® ile karşılaştırmalı *in vitro* salım ve *in vivo* çalışmada etkin maddenin hazırlanan formülasyonlarda sürekli salım gösterdiği görülmüştür. *In vitro* salımda en uzun salım profilini mikroemülsiyon gösterirken, koyunlarda yapılan

çalışmada nanopartikül formülasyonunun daha uzun süre gözde tutunduğu ve salım gösterdiği belirlenmiştir.

Göz yüzeyine ait bir hastalık olan alerjik konjonktivit tedavisinin başarısı için en önemli parametre, etkin maddenin göz yüzeyinde uzun süre kalmasının sağlanmasıdır. Göz damlası uygulamasının ardından direnaktan kaynaklanan hızlı atılım dozlamasının sık sık tekrarlanmasına yol açmaktadır. Bu durum iritasyona ve uzun dönemde gözde toksisiteye neden olabilir. Bu çalışmada geliştirilen ve günde bir kez uygulama ile gün boyu sürekli salım sağlayan yeni taşıyıcı sistemler, hasta uyuncunu arttıracak ve farmakolojik açıdan alerji semptomlarının giderilmesi için etkin maddenin yüzeyde yeterli süre kalmasına daha fazla olanak verecektir.

Çalışmanın sonraki aşamasında formülasyon daha da geliştirilerek hazırlanan polimerik nanopartikül *in situ* jele yüklenip *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla yeni salım profillerindeki değişim incelenebilir. Bu çalışmanın devamında farklı alerji modelleri oluşturularak tedavideki etkinliği üzerinde ek çalışmalar yapılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Abd-Allah, F.I., Dawaba H.M. ve Ahmed A.M.S. (2010). Development of a microemulsion-based formulation to improve the availability of poorly water soluble drug. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 4 (4), 257-266.
- Abelson, M.B. ve Spitalny, L. (1998). Combined analysis of two studies using the conjunctival allergen challenge model to evaluate olopatadine hydrochloride, a new ophthalmic antiallergic agent with dual activity. *American Journal Of Ophthalmology*, 125 (6), 797-804.
- Acharya, S.P., Pundarikakshudu, K., Panchal, A. ve Lalwani, A. (2013). Preparation and evaluation of transnasal microemulsion of carbamazepine. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8, 64-70.
- Ackerman, S., Smith, L.M. ve Gomes, P.J. (2016). Ocular itch associated with allergic conjunctivitis: latest evidence and clinical management. *Therapeutic Advances in Chronic Disease*, 7 (1), 52-67.
- Adibkia, K., Shadbad, M.R.S., Nokhodchi, A., Javadzede, A., Barzegar-Jalali, M., Barar, J., Mohammadi, G. ve Omid, Y. (2007). Piroxicam nanoparticles for ocular delivery: physicochemical characterization and implementation in endotoxin-induced uveitis. *Journal of Drug Targeting*, 15, 407-416.
- Agrawal, A. K., Gupta, P.N., Khanna, A., Sharma, R.K., Chandrabanshi, H.K., Gupta, N., Patil, U.K. ve Yadav, S.K. (2010). Development and characterization of in situ gel system for nasal insulin delivery. *Die Pharmazie*, 65 (3), 188-193.
- Alcon Laboratories. (2007), Patanol® Olopatadine hydrochloride ophthalmic solution %0,1. U.S. Patent, No: 5116863; 5641805.
- Almeida, H., Amaral, M.H., Lobao, P. ve Lobo, J.M.S. (2014). *In situ* gelling systems: a strategy to improve the bioavailability of ophthalmic pharmaceutical formulations. *Drug Discovery Today*, 19 (4), 400-412.
- Alonso, M.J. (1996). Nanoparticulate drug carrier technology. S. Cohen ve H. Bernstein (Eds.), *Microparticulate Systems for the Delivery of Proteins and Vaccines* içinde (s. 203-230). New York.

- Ammar, H.O., Salama, H.A., Ghorab, M. ve Mahmoud, A.A. (2009). Nanoemulsion as a potential ophthalmic delivery system for dorzolamide hydrochloride. *AAPS PharmSciTech*, 10 (3), 808-818.
- Angelova, T., Rangelova, N., Uzunova, V., Georgieva, N., Andreeva, T., Momchilova, A., Tzoneva, R. ve Müller R. (2016). Cytotoxicity and antibiofilm activity of SiO₂/cellulose derivative hybrid materials containing silver nanoparticles. *Turkish Journal of Biology*, 40, 1-11.
- Arranja, A., Schroder, A.P., Schmutz, M., Waton, G., Schosseler, F. ve Mendes, E. (2014). Cytotoxicity and internalization of Pluronic micelles stabilized by core cross-linking. *Journal of Controlled Release*, 196, 87-95.
- Asasutjarit, R., Thanasanchokpibull, S., Fuongfuchat, A. ve Veeranondha, S. (2011). Optimization and evaluation of thermoresponsive diclofenac sodium ophthalmic in situ gels. *International Journal of Pharmaceutics*, 411, 128-135.
- Attar, M., Brassard, J.A., Kim, A.S., Matsumoto, S., Ramos, M ve Vangyi, C. (2013). Safety evaluation of ocular drugs. A. S. Faqi (Ed.), *A comprehensive guide to toxicology in preclinical drug development* içinde (s. 567-618). ABD: Elsevier.
- Bain, M.K., Bhowmik, M., Ghosh, S.N. ve Chattopadhyay, D. (2009). *In situ* fast gelling formulation of methyl cellulose for *in vitro* ophthalmic controlled delivery of ketorolac tromethamine. *Journal of Applied Polymer Science*, 113, 1241-1246.
- Barney, N.P., Cook, E.B. ve Stahl, J.L. (2014). Allergic and immunologic diseases of the eye. N.F. Adkinson, B.S. Bochner, W. Burks, W.W. Busse, S.T. Holgate, R.F. Lemanske ve R.E. Ohehir (Eds.), *Middleton's allergy: principles and practice* içinde (s. 617-638). Philadelphia: Elsevier Saunder.
- Bassi, B., Gill, N.S. ve Sharma C. (2015). A review on ocular in situ gels as smart drug delivery system. *International Journal Of Recent Advances In Pharmaceutical Research*, 5 (3), 192-200.
- Başaran, E. (2007). *Siklosporin A içeren katı lipid nanopartikül, mikroemülsiyon ve polimerik nanopartikül formülasyonlarının hazırlanması ve in vitro-in vivo değerlendirilmesi*. Doktora Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi.

- Berkman, M.S. (2007). *Çinko oksit ve oktosrilenin katı lipit nanopartikül, mikroemülsiyon ve emülsiyon sistemlerinde formülasyonu ve in vitro değerlendirilmesi*. Doktora Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi.
- Bhargava, H.N., Narurkar, A. ve Lieb, L.M. (1987). Using microemulsions for drug delivery. *Pharm. Technol.*, 11, 46-52.
- Bhatta, R.S., Chandasana, H., Chhonker, Y.S., Rathi, C., Kumar, D., Mitra K. ve Shukla P.K. (2012). Mucoadhesive nanoparticles for prolonged ocular delivery of natamycin: in vitro and pharmacokinetics studies. *International Journal of Pharmaceutics*, 432, 105- 112.
- Bhowmik, M., Das, S., Sinha, J., Bag, S., Chattopadhyay, D. ve Ghosh, L.K. (2010). Methyl cellulose based sustained release thermosensitive in situ fast gelling ocular delivery of ketorolac tromethamine. *Asian Journal of Chemistry*, 22 (3), 2147-2154.
- Boonme, P., Krauel, K., Graf, A., Rades, T. ve Junyaprasert, V.B. (2006). Characterization of microemulsion structures in the pseudoternary phase diagram of isopropyl palmitate/water/brij 97:1-butanol. *AAPS PharmSciTech*, 7 (2), 1-6.
- Bourlais, C.L., Acar L., Zia, H., Sado, P.A., Needham, T. ve Leverage R. (1998). Ophthalmic drug delivery systems recent advances. *Progress in Retinal and Eye Research*, 17 (1), 33-58.
- Brockman, H.L., Momsen, M.M., Knudtson, J.R., Miller, S.T., Graff, G. ve Yanni, J.M. (2003). Interactions of olopatadine and selected antihistamines with model and natural membranes. *Ocular Immunology and Inflammation*, 11 (4), 247-268.
- Brodsky, M. (2000), Allergic conjunctivitis and contact lenses: experience with olopatadine hydrochloride 0.1% therapy. *Acta Ophthalmol. Scand.*, 78, 56-59.
- Bucolo, C., Drago, F. ve Salomone, S. (2012). Ocular drug delivery: a clue from nanotechnology. *Pharmacology & therapeutics*, 130 (2), 191-201.
- Butrus, S., Greiner, J.V., Discepola, M. ve Finegold, I. (2000). Comparison of the clinical efficacy and comfort of olopatadine hydrochloride 0.1% ophthalmic solution and nedocromil sodium 2% ophthalmic solution in the human conjunctival allergen challenge model. *Clinical Therapeutics*, 22 (12), 1462-1472.

- Byrro, R.M.D., Fulgencio, G., Cunha, A., Cesar, I., Chellini, P. ve Pianetti, G. (2012). Determination of ofloxacin in tear by HPLC–ESI-MS/MS method: Comparison of ophthalmic drug release between a new mucoadhesive chitosan films and a conventional eye drop formulation in rabbit model. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 70, 544-548.
- Cao, F., Zhang, X. ve Ping, Q. (2010). New method for ophthalmic delivery of azithromycin by poloxamer/carbopol-based in situ gellind system. *Drug Delivery*, 17 (7), 500-507.
- Chan, J. Maghraby, G.M.M., Craig, J.P. ve Alany, R.G. (2007). Phase transition water-in-oil microemulsions as ocular drug delivery systems: In vitro and in vivo evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, 328, 65-71.
- Chang, J.N. (2010). Recent advances in ophthalmic drug delivery. V.S. Kulkarni (Ed.), *Handbook of non-invasive drug delivery systems* içinde (s. 165-192). ABD: Elsevier Inc.
- Chang, J.Y., Oh, Y., Choi, H., Kim, Y.B. ve Kim, C. (2002). Rheological evaluation of thermosensitive and mucoadhesive vaginal gels in physiological conditions. *International Journal of Pharmaceutics*, 241, 155-163.
- Cheng, M., Wang, J., Li, Y., Liu, X., Zhang, X., Chen, D., Zhou, S. ve Zhang, Q. (2008). Characterization of water-in-oil microemulsion for oral delivery of earthworm fibrinolytic enzyme. *Journal of Controlled Release*, 129, 41-48.
- Çelebi, N. (2007). Reoloji. F. Acartürk vd. (Eds.), *Modern farmasötik teknoloji* içinde (s. 391-405). Ankara: Türk Eczacıları Birliği Eczacılık akademisi Yayını.
- Çetin, M., Atila, A., Şahin, S. ve Vural, İ. (2013). Preparation and characterization of metformin hydrochloride loaded-Eudragit®RSPO and Eudragit®RSPO/PLGA nanoparticles. *Pharmaceutical Development and Technology*, 18 (3), 570–576.
- Dandagi, P., Kerur, S., Mastiholimath, V., Gadad, A. ve Kulkarni, A. (2008). Polymeric ocular nanosuspension for controlled release of acyclovir: in vitro release and ocular distribution. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 8 (2), 79-86.

- Derman, S., Kızılbey, K. ve Akdeste, Z.M. (2013). Polymeric nanoparticles. *Journal of Engineering and Natural Sciences*, 31, 107-120.
- Devarajan, P.V. ve Sonavane, G.S. (2007). Preparation and in vitro / in vivo evaluation of gliclazide loaded eudragit nanoparticles as a sustained release carriers. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 33 (2), 101-111.
- Diebold, Y. ve Calonge, M. (2010). Applications of nanoparticles in ophthalmology. *Progress in Retinal and Eye Research*, 29, 596-609.
- Dillen, K., Vandervoort, J., Van den Mooter, G. ve Ludwig, A. (2006). Evaluation of ciprofloxacin-loaded Eudragit RS100 or RL100/PLGA nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 314 (1), 72-82.
- Ding, S. (1998). Recent developments in ophtalmic drug delivery. *Primary Science Teaching Trust*, 1 (8), 328-335.
- Diniz, I.M.A., Chen C., Xu, X., Ansari, S., Zadeh, H.H., Marques, M.M., Shi, S. ve Moshaverinia, A. (2015). Pluronic F-127 hydrogel as a promising scaffold for encapsulation of dental-derived mesenchymal stem cells. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 26 (153), 1-10.
- El-kamel, A.H. (2002). In vitro and in vivo evaluation of Pluronic F127-based ocular delivery system for timolol maleate. *International Journal of Pharmaceutics*, 241 (1), 47-55.
- Epstein, A.B. ve Quinn, C.J. (2008). Diseases of the conjunctiva. J.D. Bartlett (Ed.). *Clinical ocular pharmacology* içinde (s. 437-482). ABD: Elsevier Inc.
- Fialho, S.L. ve Silva-Cunda, A. (2004). New vehicle based on a microemulsion for topical ocular administration of dexamethasone. *Clinical and Experimental Ophthalmology*, 32, 626-632.
- Gaudana, R., Ananthula, H.K., Parenky, A. ve Mitra, A.K. (2010). Ocular drug delivery. *The AAPS Journal*, 12 (3), 348-360.
- Gaudana, R., Jwala, J., Boddu, S.H., Mitra, A.K. (2009). Recent perspectives in ocular drug delivery. *Pharmaceutical Research*, 26 (5), 1197-1216.

- Gerometta, R., Spiga, M., Borrás, T. ve Candia, O. (2010). Treatment of Sheep Steroid-Induced Ocular Hypertension with a Glucocorticoid-Inducible MMP1 Gene Therapy Virus, Investigative. *Ophthalmology & Visual Science*, 51 (6), 3042-3048.
- Goss-Sampson, M. Vivian, A.J. ve Kelly, F.J. (1995). Free radicals, inflammation and eye diseases. D. Blake ve P.G. Winyard (Eds.), *Immunopharmacology of free radical species* içinde (s. 127-139). London: Academic Press Limited.
- Gradzielski, M. ve Hoffmann, H. (1999). Rheological Properties of Microemulsions. P. Kumar, K.L. Mittal (Eds.), *Handbook of microemulsions science and technology* içinde (s. 357-386). New York: Marcel Dekker Inc.
- Grampurohit, N., Ravikumar, P. ve Mallya, R. (2011). Microemulsions for topical use-a review. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 45 (1), 100-107.
- Gratieri, T., Gelfuso, G.M., Rocha, E.M., Sarmiento, V.H., Freitas, O. ve Lopez, R.F.V. (2010). A poloxamer/chitosan in situ forming gel with prolonged retention time for ocular delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 75, 186-193.
- Gu, B., Linehan, B. ve Tseng, Y.C. (2015). Optimization of the Büchi B-90 spray drying process using central composite design for preparation of solid dispersions. *International Journal of Pharmaceutics*, 491 (1-2), 208-217.
- Gupta, A. ve Manocha, N. (2013). Formulation and evaluation of *in-situ* ophthalmic drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 3 (4), 715-718.
- Gupta, H., Aqil, M., Khar, R.K., Ali, A., Bhatnagar, A. ve Mittal, G. (2011). Biodegradable levofloxacin nanoparticles for sustained ocular drug delivery. *Journal of Drug Targeting*, 19 (6), 409-417.
- Gupta, H., Jain, S., Mathur, R., Mishra, P., Mishra, A.K. ve Velpandian, T. (2007). Sustained ocular drug delivery from a temperature and pH triggered novel in situ gel system. *Drug Delivery*, 14 (8), 507-515.

- Güler, Ş. (2014). İlaç analizlerinde yüksek performanslı sıvı kromatografisi uygulamaları. Yüksek Lisans Tezi. Kayseri: Erciyes Üniversitesi.
- Gürsoy, A.Z. (2002). Oküler sistemler. A.Z. Gürsoy (Ed.), *Kontrollü salım sistemleri* içinde (s. 197-215). İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını.
- Habe, A. ve Keipert, S. (1997). Development and characterization of microemulsions for ocular application. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 43, 179-183.
- Hegde, R.R., Verma, A. ve Ghosh, A. (2013). Microemulsion: new insights into the ocular drug delivery. *ISRN Pharmaceutics*, 2013, 1-11.
- Hoar, T.P. ve Schulman, J.H. (1943). Transparent water-in-oil dispersions: the oleopathic hydro-micelle. *Nature*, 152, 102-103.
- ICH Topic Q2B (1994). Validation of analytical procedures: Methodology, The European Agency for the evaluation of medicinal products. CPMP/ICH/281/95, Step 4, Consensus Guideline, 1-8.
- Jain, J., Fernandes, C. ve Patravale, V. (2010). Formulation development of parenteral phospholipid-based microemulsion of etoposide. *AAPS PharmSciTech*, 11 (2), 826-831.
- Jeong, B., Kim, S.W. ve Bae, Y.H. (2002). Thermosensitive sol-gel reversible hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54 (1), 37-51.
- Jha, S.K., Dey, A. ve Karki, R. (2011). Microemulsions- potential carrier for improved drug delivery. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 1 (1), 5-9.
- Ju, C., Sun, J., Zi, P., Jin, X. ve Zhang, C. (2013). Thermosensitive micelles-hydrogel hybrid system based on poloxamer 407 for localized delivery of paclitaxel. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 102 (8), 2707-2717.
- Kaş, H.S. (2002). İlaç taşıyıcı partiküler sistemler. A.Z. Gürsoy (Ed.), *Kontrollü salım sistemleri* içinde (s. 65-102). İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını.

- Katara, R. ve Majumdar, D.K. (2013). Eudragit RL 100-based nanoparticulate system of aceclofenac for ocular delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 103, 455-462.
- Kaur, I.P. ve Kanwar, M. (2002). Ocular preparations: the formulation approach. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 28 (5), 473-493.
- Kaur, I.P., Garg, A., Singla, A.K. ve Aggawal, D. (2004). Vesicular systems in ocular drug delivery: an overview. *International Journal of Pharmaceutics*, 269, 1-14.
- Kawtikwar, P.S., Kulkarni, N.P., Yadav, S. ve Sakarkar D.M. (2009). Formulation and evaluation of an antiepileptic drug-loaded microemulsion for nose to brain delivery. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 143-147.
- Kesavan, K., Kant, S., Singh, P.N. ve Pandit, J.K. (2013). Mucoadhesive chitosan-coated cationic microemulsion of dexamethasone for ocular delivery: in vitro and in vivo evaluation. *Current Eye Research*, 38 (3), 342-352.
- Khangtragool, A. (2014). Methocel E4M: Preparation and properties as a vehicle for the ocular drug delivery of vancomycin. *Chiang Mai Journal of Science*, 41 (1), 166-173.
- Khoh-Reiter, S. ve Jessen, B.A. (2009). Evaluation of the cytotoxic effects of ophthalmic solutions containing benzalkonium chloride on corneal epithelium using an organotypic 3-D model. *BMC Ophthalmology*, 9 (5), 1-7.
- Kim, S.W., Bae, Y.H. ve Okano, T. (1992). Hydrogel: swelling, drug loading and release. *Pharmaceutical Research*, 9 (3), 283-290.
- Kirchhof, S., Goepferich, A.M. ve Brandl, F.P. (2015). Hydrogels in ophthalmic applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 95, 227-238.
- Kumar, R. ve Sinha, V.R. (2014). Preparation and optimization of voriconazole microemulsion for ocular delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 117, 82-88.
- Kuno, N. ve Fujii, S. (2011). Recent advances in ocular drug delivery systems. *Polymers*, 3, 193-221.

- Leonardi, A. (2000). Role of histamine in allergic conjunctivitis, *Acta ophthalmologica scandinavica*, 78, 18-21.
- Leonardi, A. ve Quintieri L. (2010). Olopatadine: a drug for allergic conjunctivitis targeting the mast cell. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 11 (6), 969-981.
- Li, G., Fan, Y., Li, X., Wang, X., Li, Y., Liu, Y. ve Li, M. (2012). In vitro and in vivo evaluation of a simple microemulsion formulation for propofol. *International Journal of Pharmaceutic*, 425, 53-61.
- Lin, H.R., Sung, K.C. ve Vong, W.J. (2004). In situ gelling of alginate/pluronic solutions for ophthalmic delivery of pilocarpine. *Biomacromolecules*, 5 (6), 2358-2365.
- Lopedota, A., Trapani, A., Cutrignelli, A., Pantucci, E., Curci, R., Manuali, E. ve Trapani, G. (2009). The use of Eudragit® RS 100/cyclodextrin nanoparticles for the transmucosal administration of glutathione. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72, 509-520.
- Lu, G.W. ve Gao, P. (2010). Emulsions and microemulsions for topical and transdermal drug delivery. V.S. Kulkarni (Ed.), *Handbook of non-invasive drug delivery systems* içinde (s. 59-94). Elsevier Inc.
- Ludwig, A. (2005). The use of mucoadhesive polymers in ocular drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1595-1639.
- Malhotra, A., Minja, F.J., Crum, A. ve Burrowes, D. (2011). Ocular anatomy and cross-sectional imaging of the eye. *Seminars in Ultrasound CT and MRI*, 32, 2-13.
- Malkoç, İ. (2006). Layers of the bulbus oculi: an anatomic and histological review. *The Eurasian Journal of Medicine*, 38, 124-129.
- Mandal, S., Thimmasetty, M., Prabhushankar, G.L. ve Geetha, M.S. (2012). Formulation and evaluation of an in situ gel-forming ophthalmic formulation of moxifloxacin hydrochloride. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 2 (2), 78-82.
- Misra, R., Upadhyay, M., Perumal, V. ve Mohanty, S. (2015). In vitro control release, cytotoxicity assessment and cellular uptake of methotrexate loaded liquid-crystalline folate nanocarrier *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 69, 102-110.

- Moghimpour, E., Salimi, A. ve Eftekhari, S. (2013). Design and characterization of microemulsion systems for naproxen. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 3 (1), 63-71.
- Mohan, E.C., Kandukuri, J.M. ve Allenki, V. (2009). Preparation and evaluation of in-situ-gels for ocular drug delivery. *Journal of Pharmacy Research*, 2 (6), 1089-1094.
- Morrison, P.W.J. ve Khutoryanskly, V.V. (2014). Advances in ophthalmic drug delivery. *Therapeutic Delivery*, 5 (12), 1297-1315.
- Nagarwal, R.C., Kant, S., Singh, P.N., Maiti, P. ve Pandit, J.K. (2009). Polymeric nanoparticulate system: a potential approach for ocular drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 136 (1), 2-13.
- Nandi, I., Bari, M. ve Joshi, H. (2003). Study of isopropyl myristate microemulsion systems containing cyclodextrins to improve the solubility of 2 model hydrophobic drugs. *AAPS PharmSciTech*, 4 (1), 1-10.
- Nanjawade, B.K., Manvi, F.V. ve Manjappa, A.S. (2007). In situ forming hydrogels for sustained ophthalmic drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 122, 119-134.
- Nickels, A.S., Dimov, V. ve Wolf, R. (2011). Pharmacokinetic evaluation of olopatadine for the treatment of allergic rhinitis and conjunctivitis. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, 7 (12), 1593-1599.
- Nirmal, H.B., Bakliwal, S.R. ve Pawar, S.P. (2010). In-situ gel: new trends in controlled and sustained drug delivery system. *International Journal of PharmTech Research*, 2 (2), 1398-1408.
- Nitin, Z. (2013). Ophthalmic in situ drug delivery system: a review. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 5 (5), 48-55.
- Novakova, L., Matysova, L. ve Solich, P. (2006). Advantages of application of UPLC in pharmaceutical analysis. *Talanta*, 68, 908-918.
- Ohmori, K., Hasegawa, K., Tamura, T., Miyake, K., Matsubara, M., Masaki, S., Karasawa, A., Urayama, N., Horikoshi, K., Kajita, J., Hasegawa, M., Taniguchi, K., Komada, T. ve Kawamoto, Y. (2004). Properties of olopatadine hydrochloride, a new antiallergic/antihistaminic drug. *Arzneimittelforschung*, 54 (12), 809-829.

- Ohmori, K., Hayashi, K., Kaise, T., Ohshima, E., Kobayashi, S., Yamazaki, T. ve Mukouyama, A. (2002). Pharmacological, pharmacokinetic and clinical properties of olopatadine hydrochloride, a new antiallergic drug. *Jpn. J. Pharmacol.*, 88, 379-397.
- Ohno, S. ve Ando, M. (2012). A 10-week safety and efficacy evaluation of olopatadine, 0.2% instilled twice-daily in patients with allergic conjunctivitis in Japan. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, 116 (9), 869-879.
- Ohshima, E., Otaki, S., Sato, H., Kumazawa, T., Obase, H., Ishii, A., Iskii, H., Ohmori, K. ve Hiramaya, N. (1992). Synthesis and antiallergic activity of 11-(aminoalkylidene)-6,11-dihydrodibenz[b,e]oxepin derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*, 35 (11), 2074-2084.
- Okubo, K., Okuda, M. ve Kaneko, H.M.K. (2010). Olopatadine hydrochloride in children: efficacy and safety for perennial allergic rhinitis. *Current Medical Research and Opinion*, 26 (7), 1657-1665.
- Olopatadine Drug Information. <http://www.catalog.md/drugs/olopatadine.html> (Erişim Tarihi: 03.07.2016)
- Ono, S.J. ve Abelson, M.B. (2004), Allergic conjunctivitis: Update on pathophysiology and prospects for future treatment. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 115 (1), 118-122.
- Palmer, M. (2007). Ocular allergy. M.B. Abelson (Ed.), *Ocular immunology* içinde, (s. 75-82). Philadelphia: Elsevier.
- Patel, A., Cholkar, K., Agrahari, V. ve Mitra, A.K. (2013). Ocular drug delivery systems: an overview. *World J Pharmacol.*, 2 (2), 47-64.
- Patel, H.A., Patel, J.K., Patel, K.N. and Patel, R.R. (2010). Ophthalmic drug delivery system: a review. *Der Pharmacia Lettre*, 2, 100-115.
- Patil, R.N. ve Kumar, R.S. (2015). In situ gelling system: novel approach for ophthalmic drug delivery. *World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, 3 (7), 423-440.

- Peng, C.C., Bengani, L.C., Jung, H.J., Leclerc, J.J., Gupta, C. ve Chauhan, A. (2011). Emulsions and microemulsions for ocular drug delivery, *J. Drug Del. Sci. Tech.*, 21 (1), 111-121.
- Perrie, Y., Badhan, R.K.S., Kirby, D.J., Lowry, D., Mohammed, A.R. ve Ouyang, D. (2012). The impact of ageing on the barriers to drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 161, 389-398.
- Pignatello, R., Bucolo, C., Ferrara, P., Maltese, A., Puleo, A. ve Puglisi, G. (2002). Eudragit RS100[®] nanosuspensions for the ophthalmic controlled delivery of ibuprofen. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16 (1-2), 53-61.
- Pignatello, R., Ricupero, N., Bucolo, C., Maugeri, F., Maltese, A. ve Puglisi, G. (2006). Preparation and characterization of eudragit retard nanosuspensions for the ocular delivery of cloricromene. *AAPS PharmSciTech*, 7 (1), 1-7.
- Porras, M., Solans, C., Gonza'lez, C. ve Gutie'rrez, J.M. (2008). Properties of water-in-oil (W/O) nano-emulsions prepared by a low-energy emulsification method. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 324, 181-188.
- Prajapati, S.K., Kumar, S., Singh, A. ve Singh A. (2013). Microemulsions for topical drug carrier: a review. *International Journal of Medicine and Pharmaceutical Research*, 1 (4), 376-380.
- Prince, L.M. (1967). A theory of aqueous emulsions I. negative interfacial tension at the oil/water interface. *Journal of Colloid And Interface Science*, 23, 165-173.
- Qi., J., Zhuang, J., Wu, W., Lu, Y., Song, Y., Zhang, Z., Jia, J. ve Ping, Q. (2011). Enhanced effect and mechanism of water-in-oil microemulsion as an oral delivery system of hydroxysafflor yellow A. *International Journal of Nanomedicine*, 6, 985-991.
- Radomska-Soukharev, A. ve Wojciechowska, J. (2005), Microemulsions as potential ocular drug delivery systems: phase diagrams and physical properties depending on ingredients. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 62 (6), 465-471.

- Raizman, M.B., Rubin, J. M., Graves, A.L. ve Rinehart, M. (2002). Tear concentrations of levofloxacin ophthalmic solution in healthy volunteers. *Clinical Therapeutics*, 24 (9), 1439-50.
- Ramesh, K.C., Ravali, G. ve Praveen, C.S. (2012). Formulation development and in vitro evaluation of sustained release matrix tablet of lamivudine. *International Research Journal of Pharmacy*, 3 (12), 171-174.
- Rao, J.P. ve Geckeler, K.E. (2011). Polymer nanoparticles: preparation techniques and size-control parameters. *Progress in Polymer Science*, 36, 887-913.
- Rathore, K.S. (2010). *In situ* gelling ophthalmic drug delivery system: an overview. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2 (4), 30-34.
- Rawas-Qalaji, M. ve Williams, C. (2012). Advances in ocular drug delivery. *Current Eye Research*, 37 (5), 345-356.
- Rawat, S., Warade, S. ve Lahoti, S. (2010). In situ gel formulation of ornidazole for the treatment of periodontal disease. *Current Pharma Research*, 1 (1), 60-69.
- Reddy, I.K. ve Ganesan, M.G. (1996). Ocular therapeutics and drug delivery: an overview. I.K. Reddy (Ed.), *Ocular therapeutics and drug delivery* içinde (s. 3-29). Lancaster: Technomic Publication.
- Reimondez-Troitiño, S., Csaba, N., Alonso, M.J. ve Faunte, M. (2015). Nanotherapies for the treatment of ocular diseases. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 95, 279-293.
- Ruel-Gariepy, E. ve Leroux, J. (2004). In situ-forming hydrogels-review of temperature-sensitive systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 58 (2), 409-426.
- Ruth, H.S., Attwood, D., Ktistis, G. ve Taylor, C.J. (1995). Phase studies and particle size analysis of oil-in-water phospholipid microemulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, 116, 253-261.
- R_x Media, 2016.
- Sahoo, S.K., Dilnawaz, F. ve Krishnakumar, S. (2008). Nanotechnology in ocular drug delivery. *Drug Discovery Today*, 13 (3-4), 144-151.

- Schulman, J.H., Stoeckenius, W. ve Prince, L.M. (1959). Mechanism of formation and structure of microemulsions by electron microscopy. *Structure of Microemulsions by Electron Microscopy*, 63, 1677-1680.
- Scuderi, A.C., Paladino, G.M., Marino, C. ve Trombetta, F. (2003). In vitro toxicity of netilmicin and ofloxacin on corneal epithelial cells. *Cornea*, 22 (5), 468-472.
- Shah, S.R., Nayak, A., Ratner, P., Roland, P. ve Wall, G.M. (2009). Effects of olopatadine hydrochloride nasal spray 0.6% in the treatment of seasonal allergic rhinitis: a phase III, multicenter, randomized, double-blind, active- and placebo-controlled study in adolescents and adults. *Clinical Therapeutics*, 31 (1), 99-107.
- Singh, M.K., Chandel, V., Gupta, V. ve Ramteke, S. (2010). Formulation development and characterization of microemulsion for topical delivery of Glipizide. *Scholars Research Library*, 2 (3), 33-42.
- Soppimath, K.S., Aminabhavi, T.M., Kulkarni, A.R. ve Rudzinski, W.E. (2001). Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of Controlled Release*, 70, 1-20.
- Stockert, J.C., Blázquez-Castro, A., Canete, M. ve Horobin, R.W. (2012). MTT assay for cell viability: intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets. *Acta Histochemica*, 114, 785-796.
- Subramanian, N., Ghosal, S.K., Acharya, A. ve Moulik, S.P. (2005). Formulation and physicochemical characterization of microemulsion system using isopropyl myristate, medium-chain glyceride, polysorbate 80 and water. *Chem. Pharm. Bull*, 53 (12), 1530-1535.
- Suryawanshi, S.S., Kunjwani, H.K., Kawade, J.V., Alkunte, M.A. ve Yadav, D.J. (2012). Novel polymeric in situ gels for ophthalmic drug delivery system. *International Journal of Research in Pharmacy and Science*, 2 (1), 67-83.
- Talegaonkar, S., Azeem, A., Ahmad, F.J., Khar, R.K., Pathan, S.A. ve Khan, Z.I. (2008). Microemulsions: a novel approach to enhanced drug delivery. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 2, 238-257.

- Tamura, T. ve Komai, M. (2008). Effect of olopatadine hydrochloride, an anti-histamine drug, on rhinitis induced by intranasal instillation of toluene-2,4-diisocyanate in rats. *International Immunopharmacology*, 8, 916-921.
- Tangri, P. ve Khurana, S. (2011). Basics of ocular drug delivery systems. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2 (4), 1541-1552.
- Tashtoush, B.M., Bennamani, A.N. ve Al-Taani, B.M. (2013). Preparation and characterization of microemulsion formulations of nicotinic acid and its prodrugs for transdermal delivery. *Pharmaceutical Development and Technology*, 18 (4), 834-843.
- Thrimawithana, T.R., Rupenthal, I.D., Young, S.A. ve Alany, R.G. (2012). Environment-sensitive polymers for ophthalmic drug delivery. *J. Drug Del. Sci. Tech.*, 22 (2), 117-124.
- Trapani, A., Laquintana, V., Denora, N., Lopodota, A., Cutrignelli, A., Franco, M., Trapani, G. ve Liso, G. (2007). Eudragit RS 100 microparticles containing 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin and glutathione: physicochemical characterization, drug release and transport studies. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 30, 64-74.
- Ubrich, N., Schmidt, C., Bodmeier, R., Hoffman, M. ve Maincent, P. (2005). Oral evaluation in rabbits of cyclosporin-loaded Eudragit RS or RL nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 288 (1), 169-175.
- Ubricha, N., Schmidtb, C., Bodmeierb, R., Hoffmana, M. ve Maincenta, P. (2005). Oral evaluation in rabbits of cyclosporin-loaded Eudragit RS or RL nanoparticles, *International Journal of Pharmaceutics*, 288, 169–175.
- Uchida, M., Li, X.W., Mertens, P. ve Alpar, H.O. (2009). Transfection by particle bombardment: Delivery of plasmid DNA into mammalian cells using gene gun. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1790, 754-764.
- Ulaş, F. (2003). *Olopatadin solüsyonunun mevsimsel alerjik konjonktivit kliniği ve gözyaşı IL-4 ile IL-5 düzeyleri üzerinde etkisi*. Uzmanlık Tezi. Elazığ: Fırat Üniversitesi.
- Urtti, A. (2006). Ocular drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58, 1129-1130.

- Vadlapudi, A.D., Cholkar, K., Dasari, S.R. ve Mitra, A.K. (2015). Ocular drug delivery. A.K. Mitra, D. Kwatra, A.D. Vadlapudi (Eds.), *Drug delivery* içinde (s. 219-263). Burlington: Jones and Bartlett Learning.
- Wang, L., Du, J., Zhou, Y. ve Wang, Y. (2016). Safety of nanosuspensions in drug delivery. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 1-16.
- Whiteley, H. ve Peiffer, R.L. (2002). The eye. W.M. Haschek, C.G. Rousseaux. M.A. Wallig (Eds.), *Handbook of Toxicologic Pathology* içinde (s. 539-584). ABD: Academic Press.
- Willoughby, C.E., Ponzin, D., Ferrari, S., Lobo, A., Landau, K. ve Omid, Y. (2010). Anatomy and physiology of the human eye: effects of mucopolysaccharidoses disease on structure and function-a review. *Clinical and Experimental Ophthalmology*, 38, 2-11.
- Wu, H., Ramachandran, C., W. N.D. ve Roessler, B.J. (2001). Topical transport of hydrophilic compounds using water-in-oil nanoemulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, 220, 63-75.
- Wu, T., Yen, F., Lin, L., Tsai, T., Lin, C. ve Cham, T. (2008). Preparation, physicochemical characterization, and antioxidant effects of quercetin nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 346 (1-2), 160-168.
- Yayla, M., Avşar, Ü.Z. ve Cansever, Z. (2014). The use of new generation H1 receptor blockers and advantages in terms of reliability. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 5 (3), 260-268.
- Yenilmez, E. (2007). *Vitamin E'nin farklı formülasyon sistemlerinden salımı ve in vitro-in vivo değerlendirilmesi*. Doktora Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi.
- Zimmer, A. ve Kreuter, J. (1995). Microspheres and nanoparticles used in ocular delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 16, 61-73.
- ¹<https://docs.google.com/viewer?url=patentimages.storage.googleapis.com/pdfs/US20100137619.pdf> (Erişim Tarihi: 26.07.2016)





T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(HADYEK)

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ	: 15. 06. 2016
TOPLANTI SAYISI	: 97
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 518-1
KARAR NUMARASI	: 518-1
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	: Prof. Dr. E. Yasemin YAZAN
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	: Yrd Doç. Dr. Murat Sami BERKMAN Arş. Gör. Umay Merve GÜVEN
HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI	: Anadolu Merinos (48 adet erkek ve dişi)

Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi **Prof. Dr. E. Yasemin YAZAN**'ın araştırma yürütücüsü olduğu 518-1/2016 kayıt numaralı ve "Antihistaminik Etkili Oftalmik Kontrollü Salm Gösteren Farklı Sistemler Üzerinde Çalışmalar " konulu çalışma; Deney Hayvanları Etik Kurulu Yönergesi'ne göre değerlendirilmiş ve gerekçede belirtildiği şekilde yapılması uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Kevser EROL (Başkan)

Prof. Dr. Kubilay UZUNER (Üye)

Prof. Dr. Hasan V. GÜNEŞ (Üye)

Prof. Dr. Emel ULUPINAR. (Üye)

Doç. Dr. Engin YILDIZ (Üye)

Yrd. Doç. Dr. Ünal ÖZELMAS (Üye)

Yrd.Doç.Dr.Nurdan KIRIMLIOĞLU (Üye)

Vet.Hek .Yrd.Doç.Dr.Oya ERALP İNAN (Üye)

Vet. Hek. Refik ARTAN (Üye)

Avukat Şükrü KIRDEMİR (Üye)



T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(HADYEK)
GEREKÇE

Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi **Prof. Dr. E. Yasemin YAZAN**'ın araştırma yürütücüsü olduğu 518-1/2016 kayıt numaralı ve "Antihistaminik Etkili Oftalmik Kontrollü Salım Gösteren Farklı Sistemler Üzerinde Çalışmalar " konulu çalışma; tarafımızdan değerlendirilmiştir.

Alerjik konjonktivit tedavisi için uygulanacak olan olopatidin hidroklorürün göz yüzeyinde tutunması önemlidir. Çalışmamızın in vivo kısmında ilacın göze uygulanıp, gözde kaldığı süreyi ve salım profilini değerlendirmek ve piyasa preparatı ile karşılaştırmayı amaçlıyoruz.

Literatür örneklerinde olduğu gibi, 5 farklı ilaç formülasyonu ve piyasada bulunan göz damlası (Patanol®) her bir grupta 6 koyun olacak şekilde uygulanacaktır. Kontrol grubuna ise serum fizyolojik damlatılacaktır.

Kontrol grubundaki hayvanların sağ gözlerine serum fizyolojik, sol gözlerine ise Patanol uygulanacaktır. 1. Grup hayvanlara Olopatadin hidroklorür içeren mikroemülsiyon Formülasyonu sol göze uygulanıp, sağ göze ise etkin madde içermeyen mikroemülsiyon Formülasyonu uygulanacaktır. 2. Grup hayvanlara Olopatadin hidroklorür içeren nanopartikül Formülasyonu yine sol göze uygulanıp yine aynı hayvanın sağ gözüne etkin madde içermeyen formülasyon uygulanacaktır. 3. 4. Ve 5. Gruplara farklı polimerlerle hazırlanan in situ jelleşen formülasyonlar uygulanacaktır. 3. Grup Pluronic F 127, 4. Grup Poloxamer ve &. Grup pluronic F 127ve HPMC ile hazırlanan in situ jelleşen sistemlerdir. Her gruptaki koyuna sol göz etkin madde içeren Oftalmik jel, sağ göze ise etkin madde içermeyen jel damlatılacaktır.

Hayvanlar huzursuz edilmeden günde bir sefer her bir ilaç göze uygulanacaktır. Uygulamanın akabinde gözyaşı numuneleri toplanacaktır. Örnek alma süreleri 30 dakika, 1, 2, 3, 6, 24 ve 48 saat olmak üzere 7 farklı zamandan oluşacaktır. Örnekler kuru göz sendromunda kullanılan sehirmir göz yaşı testi adı verilen membranlara emdirilerek toplanacaktır. Her bir örnek alma zamanında, 30 saniye boyunca kağıt göze temas ettirilecektir. Her bir gözden 7 örnek olmak üzere bir koyundan 14 gözyaşı örneği alınacaktır. Her grupta hem dişi hem erkek koyunlar kullanılarak cinsiyete bağlı değişim gözardı edilecektir. Alınan test membranlarına ait örnekler analiz edilene kadar -20°C'de saklanacaktır. Göz yaşında ilaç etkin maddesinin miktar tayini yapılarak zamana karşı gözde kalış süresi hakkında veri elde edilecektir. Gözyaşı örneği yeterli gelmediği durumlarda her gruba 2 ilave koyun daha kullanılacaktır. Hayvanlardan elde edilen tüm değerler, tek tek deneysel verilerin aritmetik ortalaması olarak verilecektir. Kontroller ile madde uygulanan hayvanlar arasında görülen farklılıklar One-way ANOVA 'Tukey' testi uygulanarak istatistiksel açıdan değerlendirilecektir. Deney sonuçları olarak elde edilen tüm verilerin istatistiksel analizleri için GraphPad Prism version 5.0 istatistik programı kullanılacaktır.

Bütün bu işlemler **Veteriner Mehmet Varol** gözetiminde ve eşliğinde yapılacaktır.

Kullanılan yöntemler uluslararası standardı olan yöntemlerdir. Gerekli literatürler verilmiştir. Çalışmanın yapılmasında, Komisyonumuzun olumsuz görüşü bulunmamaktadır.

Adres: Meşelik Kampüsü 26480 Eskişehir
Telefon: 0 222 239 29 79 / (45 63)



ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
BAŞVURU FORMU



Protokol No:

Geliş tarihi:

Onay tarihi:

I. ARAŞTIRMANIN BAŞLIĞI: Antihistaminik Etkili Oftalmik Kontrollü Salım Gösteren Farklı Sistemler Üzerinde Çalışmalar

II. ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ:

Ünvan, ad ve soyadı: **Prof. E. Yasemin YAZAN**

Üniversite/Kurum: Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Bölüm/Anabilim Dalı/Klinik: Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Telefon:(0222) 335 0580 - 3734

E-posta:yyazan@anadolu.edu.tr

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası¹ Var Yok

III. YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR:

Ünvan, ad ve soyadı: **Yard Doç. Murat Sami BERKMAN,**

Üniversite/Kurum: Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Bölüm/Anabilim Dalı/Klinik: Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası¹

Var Yok

Ünvan, ad ve soyadı: **Araş. Gör. Umay Merve GÜVEN**

Üniversite/Kurum: Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Bölüm/Anabilim Dalı/Klinik: Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası¹

Var Yok

¹ Deney hayvanları ile birebir uğraşacak olan araştırmacıların sertifika fotokopilerini başvuruya eklemeleri gerekmektedir.

IV. BAŞVURU TİPİ:

Yeni Başvuru

, Değişiklik (Eski Protokol No):

V. ARAŞTIRMANIN TÜRÜ:

Araştırma

Ön Çalışma

Eğitim

Yüksek Lisans

Doktora

Tıpta Uzmanlık

VI. ARAŞTIRMANIN SÜRESİ: 18 ay

VII. ARAŞTIRMAYI DESTEKLEYEN KURULUŞ(LAR):

Yoktur

ESOĞÜ - Araştırma Fonu

TÜBİTAK

DPT

Yurtdışı Fonları

Diğer (Açıklayınız): Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu

VIII. ARAŞTIRMANIN AMACI:

Bu bölümde araştırmayla ilgili genel bilgiler sunulmalı, literatürdeki yayınlara numara ile atıf verilerek konunun güncel durumu ve önemi açıklanmalıdır (Konuyla doğrudan ilişkili olan 5-10 literatür kullanılmalıdır).

Not: Lütfen bu bölümün uzman olmayan kişiler tarafından da okunacağını göz önüne alınız.

Akut alerjik konjunktivit polen, kimyasal veya hayvansal gibi çeşitli çevresel etmenlerden kaynaklanan ani aşırı duyarlılık tepkisidir. Yaygın olarak görülen oküler alerjinin bütün tiplerinin karakteristik klinik özellikleri konjunktival hiperemi, ödem ve kaşıntıdır (1).

Alerjinin en iyi tedavisi spesifik alerjenin ortamdaki uzaklaştırılmasıdır ancak bu durum her zaman sağlanamayabilir. Alerji tedavisinde yaygın olarak antihistaminikler, tek veya kombine olarak vasokonstriktörler, nonsteroidal antiinflamatuvarlar ve kortikosteroidler kullanılmaktadır. Günümüzde topikal oküler tedavide en çok olopatadin, azelastin, ketotifen ve epinastin içeren ilaçlar tercih edilmektedir. Söz konusu etkin maddeler semptomlar şiddetini arttırmadan önce alındığında daha çok yarar sağlamaktadır. Yüksek H1 reseptör afinitesine sahip olan bu ilaçlar genellikle damlatıldıkları andan itibaren hastalara rahatlama hissettirmektedir (2).

Oftalmik ilaç taşıyıcı sistemler son zamanlarda daha yüksek biyoyararlanım sağlamak amacıyla geliştirilmektedir. Bu sistemlere örnek olarak *in situ* jelleşen sistemler, mikroküreler, nanopartiküller, lipozomlar ve insertler verilebilir. Bahsedilen taşıyıcı sistemler etkin maddenin etkin dozunun gözde istenilen sürede kalmasını sağlamanın yanında ilaç dozlamasını düzenleyerek sistemik yan etki riskini de azaltmaktadır (3). Olopatadin hidroklorür oftalmik çözeltisinin etkin ve güvenli şekilde anti-alerjik etkiye sahip olduğu *in vitro* olarak belirlenmiştir. Bu preparat diğer histamin antagonisti oftalmik çözeltiler veya non-steroidal antiinflamatuvar göz damlaları ile karşılaştırıldığında alerjik konjunktivit hastalarında üstün klinik verimlilik sağlamaktadır (4).

Oküler *in vivo* çalışmalara örnek olarak yapılan bir çalışmada, ofloksasin etkin maddesi ile oftalmik sistemler hazırlanmış ve tavşanlar üzerinde kullanılmıştır. Gruplardan ilkinde hazırlanan formülasyon, diğerine piyasa preparatı günde üç defa uygulanmış ve belirli saat aralıklarında lakrimal keseden göz yaşı örneği alınmıştır. Göz yaşı schirmer göz yaşı testi adı verilen membranlara emdirilerek toplanmıştır. Daha sonra bu örnekler HPLC ile miktar tayini yapılmıştır. Sonuçlarda yeni sistemin gözde kalış süresi uzadığı için biyoyararlanımın arttırıldığı düşünülmektedir. (5)

Bir diğer çalışmada ise natamisin adlı etkin madde ile nanoparikül hazırlanmış ve *in vivo* gözde alikonma (ocular retention) çalışmaları yapılmıştır. Çalışmada, her bir formülasyondan bir göze 20µl lakrimal kese içine uygulanmış, yine belirli zaman

aralıklarında (5, 15, 30,45 60, 90, 120, 150, 210, 240dk) lakrimal keseden kılcal boru ile 10µl göz yaşı toplanmıştır ve HPLC miktar tayini yapılmıştır. Bu örnekler ile gözdeki ilaç konsantrasyon eğrisi çizilmiştir. sonuçlarda geleneksel göz damlasına alternatif yeni ilaç sistemi tasarlandığı ve dozlamada hasta uyuncunun çok daha iyi olacağı kaydedilmiştir. (6)

Yine benzer bir çalışmada sağlıklı insan gönüllülere uygulanan ilacın yine göz yaşı örneklerinden miktar tayini yapılmıştır. (7)

Çalışmamızda, Gerometta ve ark. Yaptığı çalışmada olduğu gibi veteriner tarafında sağlıklı bulunan, dişi, 12-24 ay arası yaşa sahip koyunlar kullanılacaktır (8).

Kaynaklar

1. Bielory L., 'Allergic and immunologic disorders of the eye.Part II: Ocular Allergy', 1019-1032, 2000.
2. Palmer M., 'Ocular Allergy', xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference, 1-8, 2007.
3. Hornof M., Weyenberg W., Ludwig A., Bernkop-Schnurch A., 'Mucoadhesive Ocular Insert Based on Thiolated Poly (acrylic acid): Development and in Vivo Evaluation in Humans', Journal of Controlled Release 89, 419-428, 2003.
4. Uchio E., 'Treatment of allergic conjunctivitis with olopatadine hydrochloride eye drops', 2(3) 525-531, 2008.
5. Byrro R. M. D., Fulgencio G., Cunha A., Cesar I., Chellini P., Pianetti G., 'Determination of ofloxacin in tear by HPLC-ESI-MS/MS method: Comparison of ophthalmic drug release between a new mucoadhesive chitosan films and a conventional eye drop formulation in rabbit model', Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 70 544- 548, 2012.
6. Bhatta R. S., Chandasana H., Chhonker Y. S., Rathi C., Kumar D., Mitra K., Shukla P. K., 'Mucoadhesive nanoparticles for prolonged ocular delivery of natamycin: In vitro and pharmacokinetics studies', International Journal of Pharmaceutics 432 105- 112, 2012.
7. Raizman M. B., Rubin J. M., Graves A. L., Rinehart M., 'Tear concentrations of levofloxacin ophthalmic somution in healthy volunteers', Clin Ther. 24(9):1439-50, 2002.
8. Gerometta R., Spiga M., Borrás T., Candia O., 'Treatment of Sheep Steroid-Induced Ocular Hypertension with a Glucocorticoid-Inducible MMP1 Gene Therapy Virus, Investigative Ophthalmology & Visual Science, Vol. 51, No. 6, 2010.

IX. DENEY HAYVANLARI ÜZERİNDE YAPILACAK İŞLEMLER:

Bu bölümde hayvanlar üzerinde yapılacak tüm işlemler, ardışık sıra ile ayrıntılı bir şekilde belirtmeli ve kullanılacaksa uygun istatistik metod/ lar yazılmalıdır.

Alerjik konjonktivit tedavisi için uygulanacak olan olopatidin hidroklorürün göz yüzeyinde tutunması önemlidir. Çalışmamızın in vivo kısmında ilacın göze uygulanıp, gözde kaldığı süreyi ve salım profilini değerlendirmek ve piyasa preparatı ile karşılaştırmayı amaçlıyoruz.

Literatür örneklerinde olduğu gibi, 5 farklı ilaç formülasyonu ve piyasada bulunan göz damlası (Patanol®) her bir grupta 6 koyun olacak şekilde uygulanacaktır. Kontrol grubuna ise serum fizyolojik damlatılacaktır.

Kontrol grubundaki hayvanların sağ gözlerine serum fizyolojik, sol gözlerine ise Patanol uygulanacaktır. 1. Grup hayvanlara Olopatadin hidroklorür içeren mikroemülsiyon Formülasyonu sol göze uygulanıp, sağ göze ise etkin madde içermeyen mikroemülsiyon Formülasyonu uygulanacaktır. 2. Grup hayvanlara Olopatadin hidroklorür içeren nanopartikül Formülasyonu yine sol göze uygulanıp yine aynı hayvanın sağ gözüne etkin madde içermeyen formülasyon uygulanacaktır. 3. 4. Ve 5. Gruplara farklı polimerlerle hazırlanan in situ jelleşen formülasyonlar uygulanacaktır. 3. Grup Pluronic F 127, 4. Grup Poloxamer ve 5. Grup pluronic F 127ve HPMC ile hazırlanan in situ jelleşen sistemlerdir. Her gruptaki koyuna sol göz etkin madde içeren Oftalmik jel, sağ göze ise etkin madde içermeyen jel damlatılacaktır.

Hayvanlar huzursuz edilmeden günde bir sefer her bir ilaç göze uygulanacaktır. Uygulamanın akabinde gözyaşı numuneleri toplanacaktır. Örnek alma süreleri 30 dakika, 1, 2, 3, 6, 24 ve 48 saat olmak üzere 7 farklı zamandan oluşacaktır. Örnekler kuru göz sendromunda kullanılan schirmer gözyaşı testi adı verilen membranlara emdirilerek toplanacaktır. Her bir örnek alma zamanında, 30 saniye boyunca kağıt göze temas ettirilecektir. Her bir gözden 7 örnek olmak üzere bir koyundan 14 gözyaşı örneği alınacaktır. Her grupta hem dişi hem erkek koyunlar kullanılarak cinsiyete bağlı değişim gözardı edilecektir. Alınan test membranlarına ait örnekler analiz edilene kadar -20°C'de saklanacaktır. Göz yaşında ilaç etkin maddesinin miktar tayini yapılarak zamana karşı gözde kalış süresi hakkında veri elde edilecektir. Gözyaşı örneği yeterli gelmediği durumlarda her gruba 2 ilave koyun daha kullanılacaktır.

Hayvanlardan elde edilen tüm değerler, tek tek deneysel verilerin aritmetik ortalaması olarak verilecektir. Kontroller ile madde uygulanan hayvanlar arasında görülen farklılıklar One-way ANOVA 'Tukey' testi uygulanarak istatistiksel açıdan değerlendirilecektir. Deney sonuçları olarak elde edilen tüm verilerin istatistiksel analizleri için GraphPad Prism version 5.0 istatistik programı kullanılacaktır.

Bütün bu işlemler Veteriner Mehmet Varol gözetiminde ve eşliğinde yapılacaktır.

Veteriner iletişim:

Adres: Md Et Center Besicilik Çiftliği

Telefon: 0530 110 45 85

Benzer Literatür çıktıları ekte dir.

1. Başaran E., Demirel M., Sirmagül B., Yazan Y., Cyclosporine A incorporated cationic solid lipid nanoparticles for ocular delivery, Journal of Microencapsulation, 27(1) 37-47, 2010
2. Khateb K., Ozhmukhametova E., Mussin M., Seilkhanov S., Rakhypbekov., Lau Wing., Khutoryanskiy, In situ gelling systems based on Pluronic F127/Pluronic F68 formulations for ocular drug delivery, International Journal of Pharmaceutics, 520 70-79, 2016.

X. BU ARAŞTIRMA İÇİN DENEY HAYVANI KULLANILMAYAN ALTERNATİF BİR YÖNTEM VAR MIDIR?

- Evet Hayır

Yanıtınız hayır ise; deney hayvanı kullanma gerekçe(leri)nizi belirtiniz:

- İncelenen süreçlerin karmaşıklığı nedeniyle daha basit sistemlerde oluşturulması ve model kurulması olanaksızdır.
- İncelenecek sistemin, canlı olmayan modellerde taklit edilebilmesi için yeterli bilgi birikimi yoktur.
- Klinik uygulamalardan önce, prelinik çalışmalarda canlı hayvan üzerinde deney yapmak zorunludur.
- Diğer (Açıklayınız):

XI. DENEY HAYVANLARININ TEMİN EDİLECEĞİ YER:

- TICAM
- Bir başka çalışmadan artmıştır (Açıklayınız):
- Yaban ortamdan izole edilecektir.
- Koloni içinde üretilecektir (Hangi laboratuvar belirtiniz):
- Diğer (Açıklayınız): MD Et Center Besi Çiftliğinde yer alan hayvanlar kullanılacaktır.

XII. DENEY HAYVANININ KİMLİĞİ:

Tür: Ovis Aries

Soy/Irk: Anadolu Merinos

Cinsiyet: Erkek/Dişi

Yaş/Ağırlık sınırı: 12 – 24 ay arası, 25 – 40 kg ağırlığında hayvanlar kullanılacaktır.

XIII. SEÇİLEN TÜRÜN GEREKÇE(LERİ)Sİ:

- Daha önce elde edilen verilerle karşılaştırma yapmayı olanaklı kılan geniş veritabanları bulunmaktadır.
- Önerilen türün anatomik ve fizyolojik özellikleri yapılacak çalışma için yegane uygun modeldir:
- Önerilen tür, bu çalışmanın yapılabilmesi için uygun doku, boyut ve anatomiye sahip ve filogenetik olarak en düşük olanıdır.
- Bu tür, insan ya da hayvanlardaki durumu simüle etmek için çok uygun bir fizyolojik model oluşturmaktadır.
- Bu projenin köken aldığı önceki çalışmalarda da aynı tür kullanılmıştır.
- Bu türün aşağıda belirtilen özellikleri çalışma için en uygun seçimdir:

XIV. DENEY GRUPLARI VE SAYILARI:

Deneysel ve kontrol grupları	Grup başına hayvan sayısı	Tekrar sayısı(varsın)	Toplam sayı
Kontrol Grubu	6	2	8
1.	6	2	8
2.	6	2	8

3.	6	2	8
4.	6	2	8
5.	6	2	8
Toplam	36	12	48

Her grup için (varsa deney tekrarı için) hayvan sayısını nasıl belirlediğinizi açıklayınız:

İstatistiksel açıdan anlamlı olması için her grupta 6 hayvan kullanılacaktır.

6 koyundan alınan gözyaşı örnekleri miktar tayini için yeterli olmadığı takdirde 2 ilave koyun daha kullanılacaktır.

XV. DENEY SÜRESİNCE HAYVANLARIN BAKIM KOŞULLARI:

BAKIM YERİ: MD ET CENTER BESİCİLİK

BARINMA ALANI VE BAKIM KOŞULLARI:

Md Et Center'ın hazırda var olan veteriner Mehmet Vural ve personel ile birlikte alanı ve bakım şartları kullanılacaktır. Barınma alanı Mustafa Duran adına bakım ve barınma şartları hayvan refahına uygun olması şeklinde ruhsatlı durumdadır. İşletme tescil belgesi ektedir.

XVI. DENEYLERDE (VARSA İŞLEM SONRASI DÖNEMDE) KULLANILACAK

KİMYASAL/ BİYOLOJİK MADDELER VE FARMAKOLOJİK AJANLAR (Pre-anestezi, anestezi, analjezik, sedatif, trankilizan, nöromusküler bloke ediciler):

Ajanın adı	Doz	Hacim	Veriliş yolu	Veriliş sıklığı	Etki süresi

XVII. İNVAZİF KATEGORİ:

Deneyde herhangi bir invazif prosedür kullanılacak mı?

- Evet Hayır

Cevabınız evet ise; işlemler anestezi altında mı gerçekleştirilecek?

- Evet Hayır (Gerekçelerini belirtiniz):

XVIII. ANESTEZİNİN TAKİBİ:

Anestezi derinliği izlenecek mi?

- Evet Hayır

Yanıtınız evet ise; uygun seçenekleri belirtiniz:

- Cilt ya da parmak kısıtma yanıtları
 Palpebra ya da kornea refleksi (kemirgenler için uygun değildir)
 Çene ya da iskelet kası tonusu izlenmesi
 Fizyolojik yanıtın izlenmesi
 Diğer (Açıklayınız) :

İzlenme sıklığı:

- Protokole uygulanması olanaklı değildir.
 Her 2-3 dakikada bir
 Her 4-5 dakikada bir
 Diğer (Açıklayınız) :

XIX. DENEY HAYVANLARI İÇİN KISITLAYICI DURUMLAR:

DENEYLERDE HAYVANLAR İÇİN HERHANGİ BİR KISITLAYICI DURUM, ÖZEL BARINMA, YOKSUN BIRAKMA DURUMU VAR MI?

- EVET HAYIR

CEVABINIZ EVET İSE KISITLAYICI DURUM HAKKINDA BİLGİ VERİNİZ:

- KISITLAYICI CİHAZ KULLANIMI (SÜRE: DAKİKA)
 YÜKSEK/DÜŞÜK SICAKLIĞA MARUZ BIRAKILMA (SÜRE: DAKİKA)
 STANDART DIŞI NEMLİLİK/KURULUK ALTINDA BIRAKILMA (SÜRE: DAKİKA)
 STANDART DIŞI ATMOSFERİK BASINCA MARUZ BIRAKILMA(SÜRE: DAKİKA)
 STANDART DIŞI ATMOSFERDE TUTULMA (SÜRE: DAKİKA)
 STANDART DIŞI KAFESTE BARINDIRMA (ÖRN: METABOLİK KAFES, SÜRE:..... DAKİKA)
 UZUN SÜRELİ STANDART DIŞI IŞIK-KARANLIK SİKLUSUNDA TUTULMA (SÜRE: DAKİKA)
 12 SAATTEN DAHA UZUN SÜRE SUSUZ BIRAKMA (SÜRE: DAKİKA)
 24 SAATTEN DAHA UZUN AÇ BIRAKILMA (SÜRE: DAKİKA)

DİĞER (AÇIKLAYINIZ):

XX. DENEY SIRASINDA/SONRASINDA ORTAYA ÇIKABİLECEK TEHLİKELİ DURUMLAR:

- Mikrobiyolojik kontaminasyon riski
- Kanserojen maddeler
- Radyoizotoplar
- Biyolojik toksinler
- Antineoplastik/sitotoksik ajanlar
- Diğer ajanlar:

Oluşacak tıbbi atıklar ve bunların imhası için alınacak önlemler hakkında kısaca bilgi veriniz:

Oluşacak tıbbi atıklar toplanıp, Anadolu Üniversitesi Atık Birimi'ne teslim edilecek ve imhası gerçekleştirilecektir.

XXI. ÖTANAZİ YÖNTEMLERİ:

- Ötanazi uygulanmayacaktır
- Yüksek doz anestezi
- Anestezi/trankilizasyon altında dekapitasyon
- Anestezi/trankilizasyon altında servikal dislokasyon (Sıçandan büyük hayvanlar için uygun değil)
- Cerrahi sırasında eksanguinasyon (Kanatma veya yüksek miktarda kan alma)
- Karbon dioksit solutma
- Diğer (Açıklayınız):

XXII. BU ARAŞTIRMANIN BİLİME YAPABİLECEĞİ POTANSİYEL KATKILARI AÇIKLAYINIZ:

Çalışmada, klinik özellikleri konjunktival hiperemi, ödem ve kaşıntı olan ve çok yaygın görülen oküler alerji tedavisinde antihistaminik amaçla kullanılacak kontrollü salım gösteren yeni ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi, in vitro deneyler ve ardından in vivo hayvan deneyleri ile etkinliklerinin karşılaştırılması hedeflenmiştir.

Projenin sonucunda erişilmek istenen, piyasada bulunan ilaç taşıyıcı sistemlere alternatif olacak daha etkin, kontrollü salım sağlayan oftalmik formülasyon geliştirmek, gün içi dozlamayı azaltmak, uzun süreli tedavi sağlayarak başarıyı artırmaktır.

Yapılan in vitro çalışmalarda suni gözyaşı vasatında, hazırlanan formülasyonların piyasa preparatına oranla kontrollü salım sağladığı kanıtlanmıştır. İn vitro çalışmalara paralel olarak ilacın gözyaşında da uzun süreli kaldığının kanıtlanması istenmektedir.

ÇALIŞMA GÖREV FORMU

Araştırma Yürütücüsü		
Ünvanı, Adı Soyadı Prof. Dr. E. Yasemin YAZAN		Anabilim Dalı / Bilim Dalı Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
PROJE ÇALIŞANLARI ve GÖREVLERİ		
Ünvanı, Adı Soyadı	Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Projedeki Görevi (Deney aşaması, Patolojik- Biyokimyasal değerlendirmeler vb.)
Yard. Doç. Murat Sami BERKMAN	Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı	İstatistiksel Değerlendirme
Araş. Gör Umay Merve GÜVEN	Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı	Deney aşaması In vivo çalışma

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
TAAHHÜTNAME

25/05/2016

Çalışmanın Tam Adı :

Antihistaminik Etkili Oftalmik Kontrollü Salım Gösteren Farklı Sistemler Üzerinde Çalışmalar

Çalışma Ekibi (Adı-Soyadı, Unvanı) :

Çalışmada Sorumlu Yürütücü :

Prof. Dr. E. Yasemin YAZAN

Diğer Görevliler :

Yard. Doç. Murat Sami BERKMAN,

Araş. Gör. Umay Merve GÜVEN

- Hayvan Hakları yönergesini okudum. Yönergeye uygun olarak çalışacağımı,
- Onay alınmış çalışmada; Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası bulunmayan kişilere deney hayvanlarında herhangi bir işlem yaptırmayacağımı,
- Çalışma süresince işlemlerde ve çalışma ekibinde yapılacak değişiklikler için Yerel Etik Kurul'un iznini alacağımı,
- Çalışmanın bitimini müteakip 3 ay içerisinde Yerel Etik Kurul'a bildireceğimi,
- Bu çalışma süresince, Hayvan Hakları yönergesinde yer alan etik ilkelere uyacağımı, beklenmeyen ters bir etki veya olay olduğunda derhal Yerel Etik Kurul'a bildireceğimi

Taahhüt ederiz.

Prof. Dr. Yasemin YAZAN

Yard. Doç. Murat Sami BERKMAN

Araş. Gör. Umay Merve GÜVEN

Çalışma Yürütücüsü: Prof. Dr. Yasemin YAZAN

Adres: Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Tel İş: :(0222) 335 0580 - 3734

Cep: 0533 656 70 88

E-posta: yyazan@anadolu.edu.tr



December 2014 Volume 5 Issue 5

ISSN: 2157-7439

Journal of Nanomedicine & Nanotechnology

Open Access



Proceedings of 4th International Conference on

Nanotek & Expo

December 01-03, 2014 DoubleTree by Hilton Hotel San Francisco Airport, USA

Add Sponsors



Event Partners



4th International Conference on **Nanotek & Expo**

December 01-03, 2014 DoubleTree by Hilton Hotel San Francisco Airport, USA

Preformulation study of olopatadine hydrochloride for the treatment ocular allergy

Umay Merve Guven, Murat Sami Berkman and Yasemin Yazan
Anadolu University, Turkey

Ocular allergy or allergic diseases of the eye are one of the most frequently encountered disorders of the ocular surface. Among the ocular allergies allergic conjunctivitis is the most common type of allergy. It occurs seasonal or permanently, followed with the complaints of slight redness and swelling of the eyelids, itching, tearing, burning. Especially the treatment of allergic conjunctivitis is regular use of the drugs however what is important this type of therapy is the adjustment of dose. Conventional anti-allergic eye drops and various delivery systems can result in poor drug bioavailability due to the unique ocular anatomy and physiology. The novel approach in ocular treatment using controlled drug delivery system is to maintain prolonged residence time of the active material at the side of action. Olopatadine hydrochloride is an anti-allergic agent with histamine H1 receptor antagonistic action used in ocular allergy and is classified as a second generation antihistamines. This generation causes fewer side effects than the other members. Therefore Olopatadine Hydrochloride was selected as an active material. In this study chitosan based nanaoparticle formulation studies were performed aiming enhanced corneal contact time with the help of mucoadhesive character of the natural polymer; Chitosan.

Biography

Umay Merve Guven got Bachelor's degree in 2010/June from Anadolu University, Faculty of Pharmacy. She started her PhD programme in 2011/February. Since 2012 she has been working as a Research Assistant at the Department of Pharmaceutical Technology at Anadolu University.

umguven@anadolu.edu.tr



Smart Materials

BIT's 2nd Annual World Congress of Smart Materials-2016

Theme: Develop New Path of Smartness

Time: March 4-6, 2016

Venue: Grand Copthorne Waterfront Hotel, Singapore



会刊 Conference
Abstract Book



Title: Microemulsion Formulation Study of Olopatadine Hydrochloride for the Treatment Ocular Allergy

Dr. Umay Merve Güven, Murat Sami Berkman, and Yasemin Yazan*

Research Asistant
Anadolu University
Turkey

Abstract

Conventional dosage forms account for 90% of the available ophthalmic formulations are mostly formulated as eye drops mostly for topical application. However most of the eye drops and various delivery systems can result in poor drug bioavailability due to the unique ocular anatomy and physiology. For the enhancement of the ocular bioavailability various ophthalmic vehicles such as suspensions, ointments, inserts, and aqueous gels have investigated to extend the ocular residence time, however many of these systems resulted in blurred vision. Microemulsions are composed of water, oil and a mixture of surfactants making a homogeneous, transparent and thermodynamically stable solutions. They can be classified as oil in water (o/w), water in oil (w/o) or bicontinuous system depending on their structure. They can increase water solubility of the lipophilic drugs and enhance the ocular drug absorption. Olopatadine Hydrochloride is an antiallergic agent with

histamine H1 receptor antagonistic action used in ocular allergy and is classified as a second generation antihistamines. This generation causes less side effect than the other members. Therefore Olopatadine Hydrochloride was selected as an active material in this study. Microemulsions were prepared with isopropyl myristate, Tween[®] 80 and Span[®] 80 and medium-and-short chain alcohols at different ratios. The effect of the surfactant:cosurfactant ratio on the stability of microemulsion was evaluated. Phase diagrams were made for all microemulsions studied in order to determine the limits of stable microemulsion area. The stable microemulsion system with the greatest area of was selected for further characterization studies. Globule size, zeta potential data were recorded using Malvern Nano-ZS (England). Rheological properties were analyzed using Brookfield (USA). Incorporated Olopatadine Hydrochride amount was detected by Agilent-1290 UPLC (United States).

Biography

Dr. Umay Merve Güven got her bachelor's degree from Anadolu University, Faculty of Pharmacy in 2010. She has started her Ph.D. programme in 2011. Her Ph.D. study is about "Formulation Studies of Antihistaminic Agents Aiming Ocular Application". She has been working as a Research Asistant at the Department of Pharmaceutical Technology at Faculty of Pharmacy of Anadolu University since 2013.



International Society for Biomedical Polymers and Polymeric Biomaterials

The 3rd Annual Conference

August 11 - 12, 2016; Woodbridge, NJ, USA

Thanks to our Exhibitors & Sponsors!



POSTER AWARD Sponsored by:



YOUNG RESEARCHER (ORAL) AWARD Sponsored by:



Ocular Drug Delivery of Olopatadine Hydrochloride Using Temperature Modulated *In Situ* Gelling Systems

Umay Merve Güven*, Murat Sami Berkman, Yasemin Yazan

Anadolu University, Faculty of Pharmacy,
Department of Pharmaceutical Technology, Eskişehir,
TURKEY

*e-mail: umguven@anadolu.edu.tr

In situ gelling systems are liquid aqueous solutions which transform to gel at physiological conditions. There are several mechanisms for *in situ* gel formation such as pH and temperature changes. Those systems are advantageous over conventional ocular systems regarding the elevation of ocular residence time of active ingredient.

Olopatadine hydrochloride is an antiallergic agent belonging to the second generation antihistamines with histamine H1 receptor antagonistic action. In this study, *in situ* gelling systems were prepared using olopatadine hydrochloride, Poloxamer[®] and Pluronic[®] F127 at different ratios. Formulations prepared were investigated for gelation temperature, pH, viscosity, gelling capacity, *in vitro* release and rheological behavior.

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Umay Merve GÜVEN

Yabancı Dil : İngilizce

Doğum Yeri ve Yılı : Trabzon, 1988

E-Posta : umguven@anadolu.edu.tr, umg.umg@hotmail.com

Eğitim:

- İlköğretim : 1995-2000, Atatürk İlköğretim Okulu
- Ortaokul : 2000-2002, Özel Osmaniye Bilim Koleji
- Lise : 2002-2005, Osmaniye Fen Lisesi
- Lisans : 2005-2010, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi

Mesleki Geçmişi:

- 10.10.2012, Araştırma Görevlisi, Çukurova Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Teknolojisi Bölümü
- 12.04.2013, Araştırma Görevlisi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Görevlendirme)

Yayınları:

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

- 2014, **Güven U.M.**, Berkman M.S., Yazan Y., Preformulation Study of Olopatadine Hydrochloride for the Treatment Ocular Allergy, Journal of Nanomedicine & Nanotechnology, 5 (5): 268.
- 2015, Yenilmez E., Başaran E., Arslan R., Berkman M.S., **Güven U.M.**, Bayçu C., Yazan Y., Chitosan Gel Formulations Containing Egg Yolk Oil and Epidermal Growth Factor for Dermal Burn Treatment, Pharmazie, 70: 67-73.
- 2015, Başaran E., Şenel B., Kırımlıoğlu Y.G., **Güven U.M.**, Yazan Y., Ornidazole Incorporated Chitosan Nanoparticles for Ocular Application, Latin American Journal of Pharmacy, 34 (6): 1180-1188.

Bildiriler

- 2016, 4-6 March, **Güven U.M.**, Berkman M.S., Yazan Y., Microemulsion Formulation Study of Olopatadine Hydrochloride for the Treatment of Ocular Allergy, BIT's 2nd Annual World Congress of Smart Materials, Singapore.
- 2016, 11-12 August, **Güven U.M.**, Berkman M.S., Yazan Y., Ocular Drug Delivery of Olopatadine Hydrochloride Using Temperature Modulated *In Situ*

Gelling Systems, ISBPPB Society - Conference Biomedical Polymers & Polymeric Biomaterials, New Jersey, USA.

- 2016, 11-12 August, **Güven U.M.**, Berkman M.S., Yazan Y., Study of Sustained Ophthalmic Drug Delivery Systems Based on Polymers, ISBPPB Society - Conference Biomedical Polymers & Polymeric Biomaterials, New Jersey, USA.

Bilimsel Faaliyetleri:

Projeler

- 2009-2013, Bilimsel Araştırma Projesi, Dermal Yanık Tedavisinde Kullanılabilecek Yumurta Sarısı Yağı ve Epidermal Büyüme Faktörü İçeren Topik Formülasyon Geliştirilmesi ve *İn Vitro - İn Vivo* Değerlendirilmesi, Çalışıcı, Genel Amaçlı Araştırma Projesi.
- 2013-2014, Bilimsel Araştırma Projesi, Oküler Uygulamaya Yönelik Ornidazol İçeren Polimerik Nanopartiküllerin Hazırlanması ve *İn Vitro - İn Vivo* Değerlendirilmesi, Çalışıcı, Genel Amaçlı Araştırma Projesi.
- 2014- Devam Ediyor, Bilimsel Araştırma Projesi, Antihistaminik Etkili Oftalmik Kontrollü Salım Gösteren Farklı Sistemler Üzerine Çalışmalar, Çalışıcı, Doktora Projesi.
- 2015- Devam Ediyor, Bilimsel Araştırma Projesi, Mitomisin C İçeren Oftalmik İlaç Taşıyıcı Sistem Geliştirilmesi ve Kararlılık Çalışmaları, Çalışıcı, Genel Amaçlı Araştırma Projesi.
- 2015- Devam Ediyor, Bilimsel Araştırma Projesi, Kersetin Yüklü Siklodekstrin ve Siklodekstrin/Kitosan Nanopartiküllerinin Hazırlanması ve *İn Vitro* Değerlendirilmesi, Çalışıcı, Genel Amaçlı Araştırma Projesi.

Toplantılar

- 2011, 1-2 June, 9th International Cosmetic Symposium and 2nd Home and Personal Care Ingredients Congress, İstanbul.
- 2013, 18-19 September, 10th International Cosmetic Symposium on 'Antiaging Cosmetics', İstanbul.
- 2014, 14 Kasım, Nanoilaçlar, Tedavide Umutlu Adımlar ve Türkiye, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği, İstanbul.
- 2014, 1-3 December, 4th International Conference on Nanotek & Exposition, San Francisco.

- 2015, 15-17 October, International Multidisciplinary Symposium on Drug Research & Development, Eskişehir.
- 2016, 4-6 March, BIT's 2nd Annual World Congress of Smart Materials, Singapore.
- 2016, 18-19 March, 2nd Annual Formulation & Drug Delivery Congress and Inhalation & Respiratory Drug Delivery Congress, London.
- 2016, 11-12 August, ISBPPB Society – Conference on Biomedical Polymers & Polymeric Biomaterials, New Jersey.

Kurslar

- 2012, 7-18 Mayıs, Osmangazi Üniversitesi, Deney Hayvanları Kullanımı ile İlgili Eğitim Programı, Eskişehir.
- 2014, 26 Kasım, Anadolu Üniversitesi, İş Sağlığı ve Güvenliği Eğitim Programı, Eskişehir.
- 2016, 17 Mart, Anadolu Üniversitesi, Laboratuvar Cihazları Eğitimi, Eskişehir.
- 2016, 13 Ekim, Anadolu Üniversitesi, Laboratuvar Cihazları Eğitimi, Eskişehir.

Mesleki Kuruluş Üyelikleri:

- Türkiye Farmasötik Teknoloji Araştırmacıları Derneği (TÜFTAD)
- Türk Eczacıları Birliği (TEB)
- Kozmetik Araştırmacıları Derneği (TÜKAD)
- International Federation of Societies of Cosmetic Chemists (IFSCC)