

Siklosporin A ve Siklosporin A Formülasyonlarında Yeni Yaklaşımlar

Sıla GÜLBAĞ^{*o}, Nevin ÇELEBİ^{*}

Cyclosporine A and New Approaches to Cyclosporine A Formulations

SUMMARY

The development of nanoformulations/nanosystems with different active ingredients has become an interesting subject, after the pharmaceutical field has increased as nanotechnology has been the subject of many different areas in recent years. Cyclosporine A (CsA); it is a neutral hydrophobic cyclic peptide containing 11 amino acids. It has been used for the suppression of the immune system after organ transplantation but nowadays it is used for the treatment of many autoimmune diseases also. Low solubility, narrow therapeutic range, effect of p-glycoprotein efflux in enterocytes, significant intra- and inter-individual variability (20-50%) in bioavailability, severe side effects in overdose and severe nephrotoxicity show problems with treatment with CsA. CsA has serious nephrotoxicity but is one of the most commonly used drugs for immunosuppression in autoimmune diseases and especially organ transplantations. In addition to increasing the solubility and thus the bioavailability of CsA, many studies based on current approaches to formulations of CsA have been conducted for purposes such as reducing the side effects seen and showing similar effects with lower doses of active substance and studies for this purpose are still in progress today. In this review, the basic structure of CsA, mechanism of action, its biopharmaceutical properties and drug delivery systems (nanoparticles, solid lipid nanoparticles, liposomes, micelles, liposomes, microspheres, self emulsifying systems, carbon nanotubes, nanogels) for oral administration, which is one of the most suitable ways of using nanotechnology based formulations are briefly described. Also; nanocrystal formulations of CsA on oral administration have also been evaluated.

Key Words: Cyclosporine A, solubility, bioavailability, pharmacokinetic, oral administration, nano carrier systems.

Siklosporin A ve Siklosporin A Formülasyonlarında Yeni Yaklaşımlar

ÖZET

Son yıllarda nanoteknolojinin öneminin pek çok farklı alanda olduğu gibi farmasötik alanda da artmasından sonra, farklı etkin maddeleri içeren nanoformülasyonların/ nanosistemlerin geliştirilmesi ilgi çeken bir konu haline gelmiştir. Siklosporin A (CsA); 11 aminoasit içeren, nötral hidrofobik siklik bir peptiddir. Organ transplantasyonlarından sonra bağışıklık sisteminin baskılanması amacıyla kullanılmış olmakla birlikte, günümüzde pek çok otoimmün hastalığın tedavisinde de kullanılmaktadır. Suda düşük çözünürlüğü, dar terapötik aralığa sahip olması, enterositlerde p-glikoprotein efflux etkisine uğraması, biyoyararlanımında birey içi ve bireyler arası ciddi farklılıklar (%20-50) olması, doz aşımı durumunda ciddi yan etkilerin oluşması ve ciddi nefrotoksisite göstermesi CsA ile tedavide sorunlara neden olmaktadır. CsA; ciddi nefrotoksisite göstermesine rağmen otoimmün hastalıklarda ve özellikle organ transplantasyonlarında immunsupresan amaçlı en sık kullanılan ilaçlardan biri olma özelliğine sahiptir. CsA'nın çözünürlüğünün ve dolayısıyla biyoyararlanımının artırılmasının yanısıra; görülen yan etkilerin azaltılması ve daha düşük doz etkin madde ile benzer etkilerin gösterilmesi gibi amaçlarla CsA'nın formülasyonları ile ilgili güncel yaklaşımlara dayanan pek çok çalışma yapılmıştır ve bu amaçla yapılan çalışmalar günümüzde hâlâ devam etmektedir. Bu derlemede; CsA'nın temel yapısı, etki mekanizması, biyofarmasötik özellikleri, çözünürlüğünü ve çözünme hızını artırmak için yeni yaklaşımlar ve nanoteknolojiye dayalı formülasyonlarının geliştirilmesi amacı ile en uygun kullanım yollarından biri olan oral yolla uygulanmak üzere ilaç taşıyıcı sistemler (nanopartiküller, katı lipit nanopartiküller, lipoküreler, miseller, lipozomlar, mikroküreler, kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler; karbon nanotüpler ve nanojeller) kısaca açıklanmıştır. Ayrıca; CsA'nın oral yolla uygulama üzerine yapılan nanokristal formülasyonları da değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Siklosporin A, çözünürlük, biyoyararlanım, farmakokinetik, oral uygulama, nano taşıyıcı sistemler.

Received: 10.03.2017

Revised: 27.03.2017

Accepted: 06.04.2017

*Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 06330, Etiler/ANKARA

^oCorresponding Author:

Phone: +90 (312) 202 30 52

E-Mail: silagulbag@gazi.edu.tr

GİRİŞ

Organ yetmezliği ve buna bağlı sekonder hastalıkların insidansı tüm dünyada her geçen gün artmakta olup, organ nakli (transplantasyon) olmayı bekleyen hastalar da uygun organ beklerken yaşamlarını yitirebilmektedirler. Organ nakli; organları artık görev yapamaz hale gelen hastalar için hayat kurtarıcı bir tedavidir (Modra ve Hilton, 2015). Günümüzde organ bağışının yaygın olmaması nedeniyle nakil için gerekli organın bulunması yeterince zor iken; bir de başarı ile yapılan organ nakil işlemi sonrasında vücudun nakledilen organı reddetmesi yani greft reddi görülmesi organ nakillerinde yaygın karşılaşılan bir komplikasyondur. Nakil yapılan hastalarda organ reddini önlemek amacıyla, uzun süreli immunosupresif tedavi gerekmektedir.

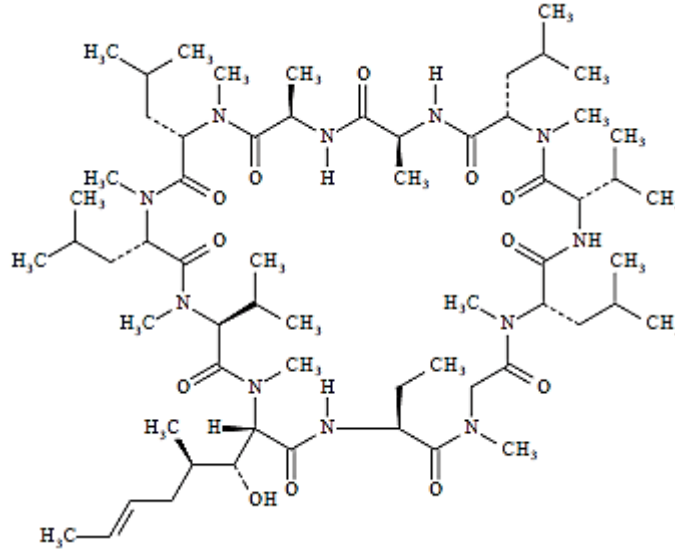
İmmunosupresanlar; vücudun immun sistemini baskılayan bir ilaç grubudur ve transplante organların vücut tarafından yabancı olarak algılanıp vücudun doğal bağışıklığını harekete geçirmesine engel olarak, organının reddini önlerler (Hautz ve ark., 2010). İmmunosupresanlar; antimetabolitler, kortikosteroidler, kalsinorin inhibitörleri, interlökin-2 reseptör blokörleri ve mTOR inhibitörleri olmak üzere alt gruplara ayrılırlar (Herbert ve Warrens, 2004).

Kalsinorin inhibitörü olan CsA'nın 1972 yılında İsviçre'de keşfedilmesi ile transplantasyon sonrası

organın ömrünün uzaması, hastanede yatış süresinin kısılması, buna bağlı olarak hastane giderlerinin düşmesi ve en önemlisi morbiditedeki azalma nedeniyle CsA, transplantasyonda bir devrim yaratmıştır (Verma ve Jasuja, 2008; Tedesco ve Haragsim, 2012). 1973'te *Tolypocladium inflatum* isimli mantardan CsA saflaştırılmıştır ve 1975 yılında da yapısı tamamen aydınlatılmıştır (Wenger, 1982). 1981 yılından beri transplantasyonlarda organ reddinin önlenmesi amacıyla kullanılan 3. jenerasyon bir immunosupresan ajan olan CsA, Amerika Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) ve Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından onaylanmıştır. FDA tarafından klinik kullanım için 1983'te onaylanan CsA; 1984'te sentetik olarak üretilmiştir ve bu sayede kimyasal modifikasyonların yapılması mümkün hale gelmiştir (Shrikant ve ark., 2011).

Siklosporin A'nın Kimyasal Yapısı ve Fizikokimyasal Özellikleri

Bir nötral siklik polipeptit olan CsA; 11 aminoasitten oluşur ve molekül ağırlığı 1202.61 Dalton, erime noktası 148-151°C olan beyaz renkte bir tozdur (Budavari ve ark., 1996). CsA'nın molekül formülü; $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$ 'dir ve 1 numaralı konumdaki doymamış zincir ile 2,3,11 numaralı konumlardaki aminoasitler, immunosupresif aktiviteden sorumludur (Wenger ve ark., 1986) (Şekil 1).



Şekil 1. CsA'nın kimyasal yapısı (<https://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100A/mono100A-22.pdf>)

Su ve n-hekzanda düşük çözünürlük gösteren CsA; diğer organik çözücüler ve lipitlerde yüksek çözünürlüğe sahiptir (Beauchesne ve ark., 2007). CsA'nın 25°C'de sudaki çözünürlüğü 0.04 mg/mL, n-hekzandaki çözünürlüğü 1.6 mg/g'dır (Rosentha-

ler ve Keller, 1990). Sulu çözelti içinde CsA; pH'dan bağımsız, eksotermik çözünürlük davranışı gösterir (Ismailos ve ark., 1991). CsA; yüksek hidrofobisiteye sahip olup, log P değeri 2.92'dir (El Tayar ve ark., 1993; Ran ve ark., 2001).

Siklosporin A'nın Terapötik Etkinliği

CsA'nın en önemli klinik endikasyonu; transplantasyon sonrası organ reddinin profilaksisidir (Guada ve ark., 2016). CsA'nın 1980 yılında immunosupresyon etkinliğinin bulunması ile; organ reddi hızında ciddi bir azalma, başarı ile sonuçlanan nakiller ve artmış hasta uyuncu görülmüştür (European Multi-centre Trial Group, 1983; The Canadian Multicentre Transplant Study Group, 1986; Kahan, 1989). CsA ile tedavide; iskelet kasları (Watt ve ark., 1981; Gulati ve Zalewski, 1982), akciğer (Norin ve ark., 1982; Beveridge, 1983), kornea (Hunter ve ark., 1981), deri (Balaraman ve ark., 1991), kalp (Reitz ve Stinson, 1982) ve karaciğer (Starzl ve ark., 1982) gibi organlar başarılı şekilde nakledilebilmiştir. Borel ve ark., (1998); CsA ile tedavide hastaların hayatta kalma oranlarının anlamlı şekilde arttığını göstermişlerdir. Çalışmada; transplantasyon tedavisinde CsA kullanılmadan önce %55-60'larda olan 1 yıllık greft hayatta kalım oranının %80'lere ulaştığı bulunmuştur. Aynı şekilde; karaciğer transplantasyonunda hastaların 5 yıllık hayatta kalım oranları %20'den %60'a yükselmiştir. Kalp transplantasyonu sonrası 5 yıllık ortalama hayatta kalım oranı

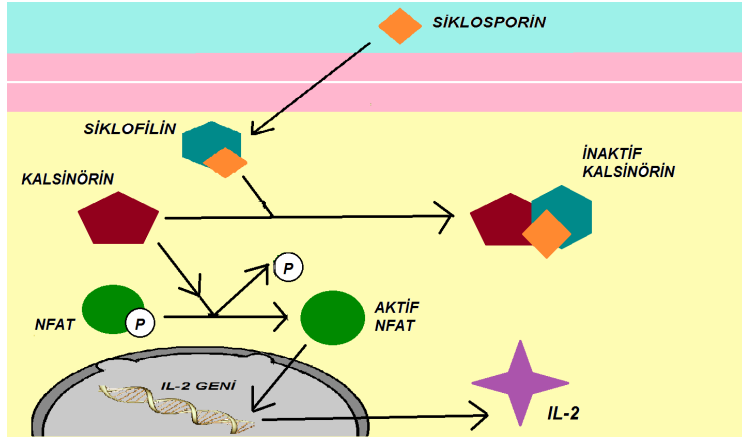
ise CsA ile tedavide %70 dolaylarındadır.

Transplantasyon sonrası immunosupresan etkinliğinin yanısıra CsA ayrıca; romatoid artrit, psöriazis, nefrotik sendrom, atopik dermatit, uveit gibi bazı otoimmün hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır (Azzi ve ark., 2013). Kuru göz sendromu (Kunert ve ark., 2002), vernal konjunktivit (Gupta ve Sahu, 2001), atopik keratokonjunktivit gibi pek çok oküler hastalığın tedavisinde CsA'nın yaygın kullanımı bulunmaktadır (Lallemant ve ark., 2003).

Siklosporin A'nın Etki Mekanizması

İmmüno-supresyonda esas amaç, alıcıda ilaçların minimal yan etkiyle, grefte karşı farmakolojik spesifik bir tolerans oluşturarak organ reddi oluşumunu (antijeni tanıma-kostimulasyon-proliferasyon) engellemektir (Akbaba, 2009).

CsA'nın immunosupresif etkinliği; hücrede sitoplazmaya girişinin ardından, reseptörü olan siklofilin A olarak adlandırılan bir immunofiline bağlanmasının ardından oluşur (Handschumacher ve ark., 1984; Harding ve Handschumacher, 1988) Şekil 2'de CsA'nın etki mekanizması görülmektedir.



Şekil 2. CsA'nın etki mekanizması

Siklofilin A'nın (sitoplazmik reseptör proteini); peptidil-propil cis-trans isomeraz (PPI) aktivitesine sahip olduğu ve siklosporinin siklofiline bağlanması ile PPI aktivitesini bloke ettiği bilinmektedir (Takahashi ve ark., 1989; Fischer ve ark., 1989; Schreiber, 1992).

Siklosporin-siklofilin kompleksi; fosfataz aktivitesinin inhibisyonuna neden olan kalsinörine bağlanıp; kalsinörin enzim aktivitesini ve nükleer faktör (NFATc) aktivasyonunu engeller. IL-2, IL-4, TNF- α ve INF- γ 'yı içeren önemli sitokin genlerinin transkripsiyonu bloke olur. Böylece; T lenfositlerin (T-helper ve T-sitotoksik hücreler) aktivasyonu ve proliferasyonu engellenir, immun sistem baskılanır (Matsuda ve Ko-

yasu, 2000; Ayna ve ark., 2009; Archer ve ark., 2014).

Siklosporin A'nın Farmakokinetik Özellikleri

CsA; biyoyararlanımda yüksek değişkenliğe sahip bir ilaçtır ve etkinliği hasta popülasyonunun özelliklerine bağlıdır. Yaş, cinsiyet, genetik faktörler, patoloji, diyet (besin alımı), diyabet, gastrik motilite problemleri, diyare, ilaç dozlama zamanı ve diğer ilaçlarla beraber kullanım gibi pek çok faktör; ilacın vücutta dağılmasını etkiler ve farmakokinetik parametrelerde birey içi/bireyler arası yüksek değişkenlik görülmesine, biyoyararlanımda ciddi farklılıkların oluşmasına neden olur (Lindholm, 1991; Naesens ve ark., 2009). Birey içi ve bireyler arası yüksek değişkenlik göstermesi nedeni ile CsA ile tedavide kan konsantrasyonu

nun ayarlanmasında sorunlar yaşanmaktadır (Kahan, 1986; Freeman, 1991; Lindholm ve ark., 1988).

CsA'nın oral, oküler ve intravenöz (iv) gibi birçok uygulama yolu bulunmaktadır (Freeman, 1991). Oral olarak uygulandığında gastrointestinal kanalda absorpsiyon ince barsaklarda gerçekleşir (Christians ve Sewing, 1993). Genellikle oral yoldan verilmesi tercih edilmesine rağmen; lipofilik özelliklerinden dolayı etkin maddenin biyoyararlanımı düşüktür. Oral uygulamanın ardından; biyoyararlanım %20-60 arasında yüksek değişkenlik gösterir (Christians ve Sewing, 1993) ve maksimum ilaç konsantrasyonuna 1-8 saat arasında ulaşılır (Freeman, 1991; Christians ve Sewing, 1993). Bu değer emilimin düzenli olmamasına ve ilacın dokulara olan dağılımının uzamasına bağlı olarak değişkenlik gösterebilir (Kelly, 2000). CsA'nın lipofilik yapısından dolayı vücutta dağılım hacmi yüksektir; insanda dağılım hacmi 2.9-4.7 L/kg aralığındadır (Lindholm, 1991; Lill ve ark., 2000).

CsA'nın ana metabolizasyonu karaciğerde olur (Kahan, 1989). İlaç karaciğerde sitokrom P450 sistemi ve özellikle CYP3A4 ve CYP3A5 enzimleri tarafından yüksek oranda metabolize olur (Freeman, 1991; Tedesco ve Haragsim, 2012). Sitokrom P450 enzim sistemini inhibe ettiği bilinen ilaçlar (kloramfenikol, eritromisin, flukonazol, diltiazem vb.) ile birlikte kullanıldığında CsA seviyesinde artış görülürken; aynı şekilde P450 sistemini indükleyen ilaçlarla (barbitüratlar, fenobarbital, fenitoin vb.) beraber kullanıldığında CsA seviyesinde azalma görülür (Kahan, 1989; Osman ve ark., 2011; Tedesco ve Haragsim, 2012). Ayrıca, greyfurt suyuyla birlikte kullanımının CsA konsantrasyonunu ve dolayısıyla biyoyararlanımını artırdığı bildirilmiştir (Yee vd., 1995; Mehra vd., 2003).

Karaciğerden ilk geçiş metabolizasyonuna uğraması, verilmiş şekli ve diğer ilaçlarla görülen ilaç etkileşimleri gibi faktörlerin tümü CsA'nın absorpsiyonunu etkiler. Bu nedenle karaciğer bozukluğu olan hastalarda doz ayarlanması gereklidir.

Besinler genellikle CsA absorpsiyonunu azaltır. Absorpsiyon sonrası CsA'nın %58'i eritrositlerde, %33'ü plazmada, %5'i lenfositlerde ve %4'ü granülositlerde bulunur. Plazmada bulunan ilacın %90'ı proteinlere ve özellikle lipoproteinlere bağlı haldedir ayrıca albümin ve globülinlere de bağlanmaktadır (Kahan, 1989; Tedesco ve Haragsim, 2012).

CsA dozunun yaklaşık %6'sı böbreklerden idrar ile uzaklaştırılır. Renal klirens 0.35 L/saat/kg'dır (Freeman, 1991). Eliminasyon yarı ömrü hastalar arasında farklılıklar göstererek 6.4 saat (kalp transplantasyon hastası) ile 20.4 saat (hepatik disfonksiyonlu hasta) arasında değişir (Freeman, 1991). Terminal yarı ömrü yetişkinlerde ortalama 8.4 saattir (Kahan, 1989).

Siklosporin A'nın Ticari Formları

CsA; tedavide oral, intravenöz ve oftalmik yollar ile uygulanmaktadır. İlaç endüstrisinde ilk CsA formülasyonu; Sandimmune® ismi ile Novartis firması tarafından çıkarılmıştır. Sandimmune®'nin; oral çözelti ve yumuşak jelatin kapsül formlarının yanı sıra, intravenöz infüzyon için konsantre çözelti formu da bulunmaktadır (Guada ve ark., 2016a). Sandimmune®(oral dozaj formu); esterleşmiş mısır yağı ve etanol içeren konvansiyonel yağ bazlı bir formülasyondur. Bu formülasyondan CsA absorpsiyonu; gastrointestinal kanaldaki safra tuzlarının varlığına ve pankreatik enzimler tarafından sindirilmeye bağlıdır. Bu nedenle formülasyonda CsA biyoyararlanımı düşüktür ve birey içi/bireyler arası değişkenlik göstermektedir (Lindholm ve ark., 1988). CsA farmakokinetiğinde gastrointestinal sistem etkisi belirgin olduğu için; CsA'nın mikroemülsiyon formu geliştirilmiş ve geliştirilen bu yeni form sayesinde CsA etkinliği ve güvenilirliği artmıştır (Meier-Kriesche ve Kaplan, 2002; Pollard ve ark., 1999). Sandimmune®'in düşük çözünürlük göstermesi nedeniyle, biyoyararlanımı artırmak amacıyla geliştirilen; DL- α -tokoferol, etanol, propilen glikol, mısır gliseritleri ve Cremophor®RH 40 içeren mikroemülsiyon formülasyonu, Neoral® ismi ile 1995 yılında FDA tarafından onaylanmıştır. Mikroemülsiyon formülasyonunda; gastrointestinal sıvılar ile temastan sonra, ortalama 30 nm boyutlarında homojen emülsiyon damlacıkları oluşmakta ve bu yöntemle CsA absorpsiyonu arttırılmaktadır. Mikroemülsiyon formülasyonu ile farmakokinetik parametreler daha iyi hale gelmesine rağmen; oral uygulanan Sandimmune® ile tedavide görülen yan etkilerde herhangi bir azalma olmamıştır. Ayrıca kandaki ilaç konsantrasyonunu terapötik pencere içerisinde sabit tutmak önemli bir noktadır ve bu nedenle ilaç konsantrasyonunun dikkatle takip edilmesi gerekmektedir (Taber ve ark, 2005; Singh ve Narsipur, 2011; Guada ve ark., 2016a).

Siklosporin A ile İlişkili Yan Etkiler

CsA'nın terapötik kullanımında karşılaşılan en önemli sorun; böbrekler üzerinde ciddi toksik etkilerin (nefrotoksisite) görülmesidir. Karşılaşılan diğer yan etkiler arasında; nörotoksisite, hepatotoksisite, hiperlipidemi, hirsutizm, gingival hiperplazi, lenfoproliferatif tümör oluşumu, bulantı, kusma ve tremor bulunmaktadır (Bennet ve Norman, 1986; Survase ve ark., 2011).

Siklosporin A'nın Biyofarmasötik Yönden Değerlendirilmesi

CsA farklı endikasyonlar amacıyla, farklı uygulama yolları ve dozaj formlarında ilaç pazarında bulunmasına rağmen; görülen yan etkiler nedeniyle CsA kullanımında sınırlamalar bulunmaktadır. Bu yan

etkiler sadece ilaç ile ilişkili olmayıp formülasyonda kullanılan yardımcı maddeler ile de ilişkili olabilmektedir. CsA'ya ait yan etkilerin görülmesinde karşılaşılan etkenler; klinik (ilaçın kendi yapısı nedeniyle oluşan) ve farmasötik (formülasyon aşamasında oluşan) problemler olarak incelenebilir (Guada ve ark., 2016a).

CsA'nın kendi yapısı ile ilişkili sınırlamalar; yüksek molekül ağırlığına ve lipofilik bir yapıya (log P: 2.92) sahip olması nedeniyle düşük çözünürlük ve düşük permeabiliteye sahip olması ve bu nedenle etki bölgesine ilacın yeterince ulaşamamasıdır. Bilindiği gibi P-gp (permeabilite-glikoprotein); karaciğer, böbrek, barsak ve vb. doku ve organ hücrelerinde bulunan ve geçirgenliği düzenleyen bir proteindir. Yabancı maddeleri hücreden uzaklaştırma görevi nedeniyle; dışarı atım proteini olarak da bilinmektedir. P-gp'nin engellenmesi yani inhibisyonu sayesinde ilaçların farmakokinetik parametrelerinde değişiklikler görülmektedir. CsA da bir P-gp substratıdır ve oral absorpsiyonu sırasında P-gp etkisi nedeniyle biyoyararlanımı azalmaktadır (Yu ve ark., 2013). Ayrıca molekülün nötral karakterde olması ve iyonize olabilen fonksiyonel gruplara sahip olmaması da bileşiğin çözünürlüğünün düşük olmasına yol açmaktadır. Düşük çözünürlük ve düşük permeabiliteye sahip olması nedeniyle Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi'ne göre Sınıf IV (Amidon ve ark., 1995; Italia ve ark., 2006) olarak sınıflandırılmasına rağmen; formülasyonları içinde sürfaktan bulunması ve bu sürfaktanların P-gp efflux etkisini inhibe etmesi nedeniyle CsA permeabilitesinde artış olup aynı sınıflandırma sisteminde Sınıf II olarak da değerlendirilmektedir (Chiu ve ark., 2003; Su-Geun, 2010).

CsA'nın çözünürlüğünü artırmak için formülasyonlara bazı yardımcı maddeler ilave edilmiştir. Formülasyonlara eklenen yardımcı maddelerden biri olan etanol; hem oral hem intravenöz formda kullanılan organik çözücülerden biridir. Fakat hamilelerde, hepatik disfonksiyonlu hastalarda, epilepsi hastaları ve pediyatrikler gibi özel popülasyonlarda etanol kullanımını zararlı olabilir. Bunların yanısıra etanol; yumuşak jelatin kapsülün kabuk kısmı ile etkileşime girebilir ve dozaj formunun stabilitesinde sorunlara neden olabilir (Dai ve ark., 2015). Mikroemülsiyon formülasyonunda kullanılan polioksil 40 hidrojene kastor yağı (Cremophor RH 40); gastrointestinal hastalıklara neden olabilir ve ilaç absorpsiyonunu anlamlı şekilde değiştirebilir. Benzer şekilde, intravenöz infüzyon hazırlanmasında kullanılan polioksietillenmiş kastor yağı (Cremophor EL)'nin hiperlipidemi, periferik nöropati ve anafilaktik reaksiyon gibi çok ciddi yan etkiler oluşturduğu bilinmektedir (Beauchesne ve ark., 2007).

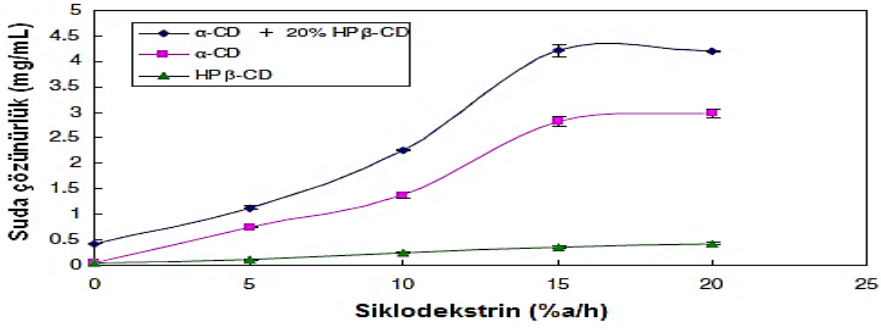
Yüksek molekül ağırlığına, yüksek log P değerine, suda düşük çözünürlüğe, dar terapötik aralığa, P-gp efflux etkisine ve yüksek presistemik metabolizasyona sahip olması gibi CsA'ya ait fizikokimyasal özellikler nedeniyle kullanımı sınırlanmıştır. Zayıf biyofarmasötik özellikleri nedeniyle, CsA'nın uygun bir taşıyıcı sistem içerisinde formülasyonu üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. Derlemenin bundan sonraki kısımlarında; CsA'nın çözünürlüğünü artırmak amacıyla yeni yaklaşımlar ve özellikle oral yoldan CsA uygulanması üzerinde yapılan ilaç taşıyıcı sistemler açıklanacaktır.

Siklosporin A'nın Çözünürlüğünü Artırma Yaklaşımları

CsA'nın tedavi etkinliğini artırmak konvansiyonel dozaj şekilleriyle mümkün gözükmemektedir. CsA'nın temel sınırlayıcı özelliği olan; sudaki düşük çözünürlüğü ve çözünme hızını artırmak dolayısıyla da biyoyararlanımı iyileştirmek, daha yüksek kan konsantrasyonu sağlamak, enzimatik yıkımdan korumanın yanısıra toksik etkilerini azaltmak amacıyla, yeni arayışlar ve nanoteknolojiye dayalı güncel yaklaşımların kullanılması sonucunda yapılmış pek çok çalışma literatürde yer almaktadır. Bu çalışmalar; temelde siklodekstrinler ile kompleks oluşturma, katı dispersiyonlarının hazırlanması ve uygun taşıyıcı sistemler içine yüklenecek uygulanması şeklindeki formülasyon yaklaşımlarıdır.

Siklodekstrinler; hidrofobik boşluk ve hidrofilik bir yüzeye sahip, lipofilik moleküller ile inklüzyon kompleksleri oluşturabilen, özel şekilli siklik oligosakkaritlerdir. Oluşan kompleks sayesinde, hapsettikleri molekülün fizikokimyasal özelliklerini değiştirebilmektedirler (Erden ve Çelebi, 1988; Çelebi ve Erden, 1992; Acartürk ve ark., 1992; Numanoglu ve Tarımcı, 2006). BCS Sınıf II ve IV gibi suda çözünürlüğü düşük etkin maddeler ve etkin madde adayları ile kompleks oluşturmaları sonucu çözünürlüğü artırmaları nedeniyle; siklodekstrinlerin farmasötik alanda kullanımları artmıştır (Brewster ve Loftsson, 2007; Tiwari ve ark., 2010).

CsA'nın sudaki çözünürlüğünü artırmak amacıyla Malaekheh-Nikouei ve ark.(2007)'nin yaptıkları bir çalışma sonucunda; CsA'nın α -siklodekstrin (α -CD) ile kompleks oluşturması sonucunda çözünürlüğünün 10 kat arttığı; hidroksipropil- β -siklodekstrin (HP- β -CD) ile kompleks oluşturduğunda ise çözünürlüğünün 80 kat arttırıldığı bulunmuştur. Şekil 3'te görüldüğü üzere sadece kompleks oluşturulması ile çözünürlük anlamlı şekilde artırılabilir.



Şekil 3. CsA'nın sudaki çözünürlüğüne α -CD, HP- β -CD ve CD karışımlarının farklı konsantrasyonlarının etkisi, ortalama \pm SS (n=3) (Malaekheh-Nikouei ve ark., 2007)

Katı dispersiyonlar da; suda çözünürlüğü düşük etkin maddelerin çözünürlüğü, çözünme hızı ve biyoyararlanımını arttırmak için yaygın kullanılan yöntemlerden biridir.

Liu ve ark. (2005); çözücü eritme metodu kullanarak, polioksietilen stearat (PS) ve CsA içeren katı dispersiyon hazırlamış ve karakterizasyon çalışmalarını yapmışlardır. Su içindeki PS miktarı arttıkça, PS'nin sulu çözeltisinde CsA'nın çözünürlüğü artmıştır. 37°C'de sudaki çözünürlüğü saf ilaç ile kıyaslandığında; fiziksel karışım ve katı dispersiyonlardan ilacın çözünürlüğünün belirgin şekilde arttığı görülmüştür.

Yapılan bir çalışmada; amfililik blok kopolimer olan poli[MPC-ko-BMA] kullanarak, ıslak öğütme tekniği ile CsA'nın biyofarmasötik özelliklerini iyileştirmek amacıyla kendiliğinden misel oluşturabilen katı dispersiyonları (SMSD) geliştirilmiş ve fizikokimyasal özellikleri (morfoloji, kristalinite, çözünürlük, partikül büyüklüğü dağılımı ve stabilite) bakımından karakterize edilmiştir. SMSD/CsA; sulu ortamda yaklaşık 180 nm. boyutlara sahip miseller oluşturmuştur. SMSD/CsA (10 mg CsA/kg)'nın sıçanlara oral uygulaması sonrasında amorf CsA ile karşılaştırıldığında; C_{maks} açısından 11 kat, biyoyararlanım açısından 42 kat artış görülmüştür (Onoue ve ark., 2014).

Yapılan bir başka çalışmada ise; 5°C, 20°C ve 37°C'de, d-alfatokoferil-polietilenglikol-1000 süksinat varlığında CsA'nın çözünürlüğünün arttığı bulunmuştur (Ismailov ve ark., 1994).

CsA ile ilişkili yan etkileri azaltmak için araştırılan pek çok farklı yaklaşım arasında; renal hasarı önlemek amacıyla koruyucu etkiye sahip antioksidanlarla beraber uygulanması (Barany ve ark., 2001) ve CsA dozunun azaltmak için diğer immunosupresanlarla kombine uygulanması (Azzi ve ark., 2013) en umut verici olanlardır. Fakat hastaların birden fazla ilaç kullanması sonucu etkileşim oluşabilme riskinin yüksek olması ve hasta güvenliğinin sağlanamaması nedeniyle; CsA'nın terapötik etkinliğini artıran yeni taşıyıcı sistemler ile

verilmesinin daha doğru bir tedavi yaklaşımı olacağı düşünülmüştür.

Siklosporin A İçeren Taşıyıcı Sistemler

CsA'nın taşıyıcı sistemler ile verilmesi; istenilen endikasyona göre en uygun uygulama yolunun tercih edilmesi ve en uygun dozun hastaya verilebilmesine imkan sağlaması açısından uygun bir yaklaşımdır. Ayrıca; sonuç ürünün farklı saklama şartlarında stabilitesini sürdürebilmesi de bir başka önemli avantaj olarak düşünülebilir. Taşıyıcı sistemler; sadece CsA'nın etkinlik ve güvenilirliğini arttırmakla kalmayıp, aynı zamanda hasta için kolay uygulanabilir olması nedeniyle yüksek konfor ve artmış uyunca da neden olabilmektedirler (Guada ve ark., 2016a).

CsA'ya ait pek çok farklı uygulama yolu bulunmaktadır. Oral, parenteral (Azzi ve ark., 2010; Zhang ve ark., 2013; Jyothi ve ark., 2015), topikal (Zhou ve Wei, 2014; Wan ve ark., 2015), oküler (Lallemand ve ark., 2003; Aksungur ve ark., 2011; Hermans ve ark., 2012; Başaran ve ark., 2013; Agarwal ve Rupenthal, 2016), bukkal (Karavana ve ark., 2012), inhaler (Chiou ve ark., 2008; Yamasaki ve ark., 2011; Onoue ve ark., 2012) ve intrakoronar (Azzi ve ark., 2013; Yin ve ark., 2014) olmak üzere farklı uygulama yolları ile yapılan çalışmalar arasından oral ve oküler olarak uygulanmak amacı ile hazırlanan formülasyonlar büyük çoğunluğu oluşturmaktadır. Transplantasyonlarda ve sistemik otoimmün hastalıkların tedavisinde CsA'nın oral yolla uygulanması tercih edilirken; kuru göz sendromu hastalığının tedavisinde ise oküler yolla uygulama tercih edilir.

Oral Yoldan Uygulanmak Üzere Hazırlanan Siklosporin A İçeren Taşıyıcı Sistemler

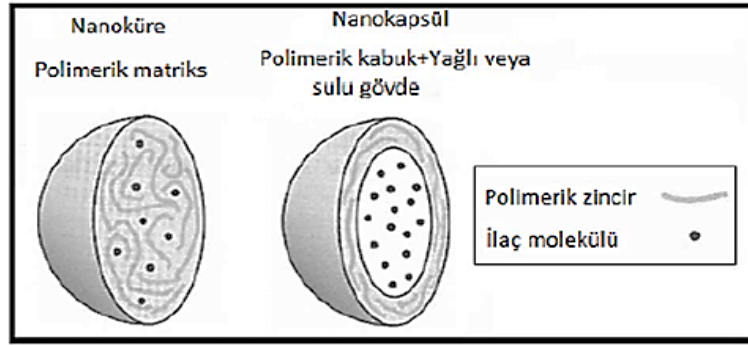
İlaçların oral yolla verilmesi, hastalar tarafından kolay kabul edilen ve en yaygın kullanılan yoldur. Oral yolla uygulanması düşünülen ilaçlarda; çözünürlük, stabilite ve biyoyararlanımların artırılması amacıyla nano ilaç taşıyıcı sistemlerin kullanımı son yıllarda yaygınlaşmıştır.

CsA'nın sistemik etkisi için; etkin bileşiğin absorpsiyonu, kan dolaşımına geçmesi ve hedef bölgede terapötik konsantrasyonda bulunması gerekmektedir. İlacın oral absorpsiyonunu artırmak için; taşıyıcı içinde CsA'nın çözünürlüğünün artırılması ve biyolojik ortamda çökme göstermeden gastrointestinal sıvıda çözünmüş halde bulunması önemlidir. Kullanılacak olan taşıyıcının; mümkün olan en az miktarda yardımcı madde kullanılarak hazırlanması ve yüksek ilaç yükleme kapasitesi göstermesi beklenmektedir. Oral taşıyıcı sistem; p-gp efflux etkisini düzenlemenin ve presistemik metabolizasyonu engellenmenin yanı sıra pH değişiklikleri ve mide enzimleri gibi fizyolojik şartlarda stabil kalabilmelidir. Böylece; CsA'nın oral absorpsiyonundaki değişimler azaltılabilir ve akut organ reddi veya nefrotoksisite riskleri azalabilir. İlacın hızlı salımı ile daha kısa sürede kararlı durum konsantrasyonuna ulaşılabilir ve daha iyi immunosupresiyon sağlanabilir. Ayrıca; kontrollü bir salım sistemi ile CsA'nın terapötik aralık içinde sürdürülebilir kan seviyelerinin sağlanması; dozlama sıklığını düşürerek hasta uyuncunun artmasını sağlamak açısından önemlidir (Guada ve ark., 2016a).

Oral yolla uygulanan nanotaşıyıcılar; nanopartiküller, katı lipit nanopartiküller, polimerik miseller, mikro/nano emülsiyonlar, kesecik şeklindeki ilaç taşıyıcı sistemler (lipozomlar, niozomlar vb.), kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler, nanokristaller (nanosüspansiyonlar) vb. olarak sınıflandırılabilir (Suri ve ark., 2007; Zhang ve ark., 2008; Farokhzad ve Langer, 2009; Ranade ve Cannon, 2011; Acartürk, 2014). CsA'nın oral yoldan uygulanması amacı ile nanotaşıyıcı sistemler aşağıda verilmektedir.

1. Nanopartiküller

Nanopartiküller, boyutları 1-100 nm arasında, doğal veya sentetik polimerlerden farklı şekil ve büyüklüklerde hazırlanabilen, hazırlama yöntemine göre nanokapsül veya nanoküre olarak adlandırılan, katı kolloidal ilaç taşıyıcı sistemlerdir (**Şekil 4**). Etkin madde; nanopartikül içinde çözünmüş, tutulmuş, yüze adsorbe olmuş veya kovalan bağlanmış şekilde bulunabilir. Ayrıca kan dolaşımında uzun süre kalması amacıyla nanopartikül polietilen glikol (PEG) gibi bazı polimerler ile modifiye edilebilir ve bu sayede aktif/pasif hedeflemeye olanak sağlanabilir (Bilensoy, 2014).



Şekil 4. Nanoküre ve Nanokapsül yapısı (Özcan, 2008)

Emülsifikasyon/solvan uçurma, solvan yer değiştirme, iyonik jelyasyon, tuzla çöktürme, nanoçöktürme ve koaservasyon gibi pek çok nanopartikül üretim yöntemi bulunmaktadır (Pal ve ark., 2013).

Son yıllarda bilimsel çalışmalarda çözünürlük ve çözünme hızını dolayısıyla da biyoyararlanımı artırmak amacıyla birçok etkin madde ile nanopartikül yapıları hazırlanmış, *in vitro/in vivo* araştırmalar yapılmıştır. CsA içeren polimerik nanopartiküller üzerine pek çok çalışma literatürde yer almaktadır. Nanopartiküller; ince barsağın lenfoit dokusu (GALT)'nın bir parçası olan Peyer plaklarındaki M hücreleri tarafından tanınırlar. Nanopartiküllerin gastrointestinal alımı, önemli ölçüde yük ve nanopartikül boyutundan etkilenir (Ensign ve ark., 2012; Acartürk, 2014). CsA'nın immunosupresif aktivitesi, T lenfositlerinde seçici etki göstermesi ile ortaya çıkar. Yani kısaca; na-

nopartikül yapısı kullanılarak lenfatik sisteme hedefleme ile CsA'nın terapötik etkisinin artırılabilceğinin mümkün olduğu düşünülebilir.

Ankora ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada (2010); laktik asit ve etilen glikol (EL14) multi-blok kopolimeri kullanılarak CsA nanopartikülleri (NP) emülsiyon- difüzyon- evaporasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. CsA yüklü-EL14 NP'leri (partikül büyüklüğü ~135 nm) aynı yöntemle üretilmiş geleneksel CsA yüklü-PLGA NP (partikül büyüklüğü ~100 nm) ile karşılaştırılmıştır. EL14 NP için; ilaç yüklemesinin %10'dan %30'a yükseltildiğinde; tutunma kapasitesinin azaldığı fakat partikül büyüklüğü açısından anlamlı bir fark bulunmadığı görülmüştür. PLGA NP ise; artmış partikül büyüklüğü ve artmış tutunma kapasitesi göstermiştir. Her iki nanopartikül de %90 üzerinde *in vitro* CsA salımı gösterirken; sa-

lım hızı hidrofobik PLGA NP'de çok daha yavaş bulunmuştur. Sıçanlarda *in vivo* yapılan çalışmada; CsA yüklü-EL14 NP'ler, CsA yüklü-PLGA NP'lere kıyasla daha yüksek C_{maks} ve t_{maks} göstermiştir. Her iki NP için ortalama biyoyararlanımları benzer ve ticari ürün Neoral'den yüksek bulunmuştur. Bu veriler sonucunda etkin CsA taşınması için nanopartiküllerin; daha düşük molekül ağırlığa sahip hidrofilik polimer EL14 ile hazırlanabileceği ve siklosporin ile ilişkili nefrotoksitenin azaltılabileceği düşünülmektedir.

Ankola ve ark. tarafından yapılan (2011) bir önceki çalışmanın devamı olan bir başka çalışmada ise; CsA yüklü-PLGA NP'lerin nefrotoksitesi hem tek doz hem de çoklu doz (kronik uygulama) ile araştırılmıştır. %30 CsA yüklü nanopartiküllerin 30 mg/kg tek doz uygulamasında; 15 mg/kg tek doz Neoral' uygulaması ile kıyaslanabilir C_{maks} gösterdiği görülmüştür. Kronik uygulama amaçlı, 30 gün boyunca günlük tek doz uygulama sonunda ise Neoral' ile karşılaştırma sonunda düşük nefrotoksite bulunmuştur. Düşük kan üre nitrojeni, plazma kreatinin düzeyi ve glomerüler hasar tarafından gösterilen CsA nanopartiküllerinde azalmış nefrotoksitenin; CsA'nın nanopartiküllerden yavaş salımının sonucu olarak geçilmiş t_{maks} görülmesi şeklinde yorumlanmıştır. CsA'nın organ transplantasyonlarında kronik uygulandığı göz önüne alınırsa; araştırma, CsA'nın oral taşınmasında polimerik nanopartiküllerin potansiyel kullanımının önünü açmıştır.

Bir çalışmada; solvan yer değiştirme metodu kullanılarak, hidroksipropil metilselüloz flatat (HPMCP; HP50 ve HP55 içeren) ile enterik kaplanmış CsA yüklü pH-duyarlı nanopartiküller hazırlanmış ve tutunma etkinliği, partikül büyüklüğü ve morfolojileri açısından incelenmiştir. Sıçanlarda oral uygulama ile, HP50 ve HP55 nanopartikül kolloidlerinde CsA biyoyararlanımı ticari ürün Neoral' ile karşılaştırılmıştır. pH'ya duyarlı CsA nanopartiküllerin partikül büyüklükleri 50-60 nm, tutunma etkinliği %95'in üzerinde bulunmuştur. **Tablo 1**'de formülasyon ve ticari ürüne ait farmakokinetik parametreler görülmektedir. AUC_{0-72} değerleri bakımından değerlendirildiğinde CsA-HP55 nanopartikülünün biyoyararlanımının CsA-HP50 nanopartikülün biyoyararlanımından daha yüksek bulunmasına rağmen; CsA-HP50 ve CsA-HP55 nanopartiküllerinin biyoyararlanımları sırasıyla %82.3 ve %119.6 olduğu ve bu değerlerin referans olarak değerlendirilen Neoral' ile benzer bulunduğu görülmüştür. Referans ile karşılaştırıldığında, hem CsA-HP50 hem de CsA-HP55 nanopartikülleri için artmış ortalama kalış süresi (MRT) ve azalmış eliminasyon hız sabitinin görülmesi nedeniyle; nanopartikülden CsA salımının sürdürülebilir salıma uygun olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Araştırma sonunda; CsA'nın oral absorpsiyonunun pH'ya duyarlı HPMCP nanopartikülleri kullanılarak artırılabilirliği ve benzer yaklaşımların diğer suda düşük çözünürlüğe sahip ilaçlar için de uygulanabileceği düşünülmektedir (Wang, 2004).

Tablo 1. Neoral' mikroemülsiyonu, CsA-HP50 nanopartikül kolloidi ve CsA-HP55 nanopartikül kolloidlerinin oral uygulama sonrası CsA'nın farmakokinetik parametreleri, ortalama \pm SS (n=8) (Wang, 2004).

Parametre	Neoral'	CsA-HP50 nanopartikül	CsA-HP55 nanopartikül
C_{maks} (ng/mL)	1982.9 \pm 247.4	1177.0 \pm 126.4	2004.7 \pm 256.5
t_{maks} (saat)	2.12 \pm 0.44	7.38 \pm 1.52	4.38 \pm 0.92
AUC (ng/mL saat)	32,531.1 \pm 4355.2	26,788.1 \pm 1993.3	38,914.9 \pm 3684.7
K_a (saat ⁻¹)	1.447 \pm 0.420	0.495 \pm 0.096	1.187 \pm 0.237
K_{10} (saat ⁻¹)	0.076 \pm 0.007	0.044 \pm 0.008	0.043 \pm 0.014
MRT (saat)	16.93 \pm 0.65	20.80 \pm 0.54	23.40 \pm 1.76
Bağlı biyoyararlanım (%)	-	82.3	119.6

Yine yapılan bir başka çalışmada; polimetakrilik asit ve polimetakrilat kopolimeri ile hazırlanan pH duyarlı CsA nanopartiküllerinin sıçanlarda oral uygulanmasında, ticari ürün Neoral' ile karşılaştırıldığında biyoyararlanımda artış görüldüğü bulunmuştur (Dai ve ark., 2004).

El-Shabouri tarafından beagle türü köpeklerde yapılan bir *in vivo* çalışmada (2002); kitosan HCl ve jelatin-A gibi katyonik polimerler kullanılarak hazırlanan pozitif yüklü nanopartiküllerin Neoral' ile karşılaştırıldığında artmış CsA biyoyararlanımı gösterdikleri

bulunmuştur. Bu artışın, negatif yüklü mukoza yüzeyi ile pozitif yüklü partikül arasındaki elektrostatik etkileşme nedeniyle olduğu düşünülmüştür.

2. Katı Lipit Nanopartiküller

Polimerik nanopartiküllere ve lipozomlara alternatif olarak geliştirilen katı lipit nanopartiküller; boyutları 50-1000 nm civarında olan, fizyolojik katı lipitlerin yüzey etkin maddeler ile stabilize edildiği, vücut sıcaklığında katı halde bulunan sistemlerdir (Homan Gökçe ve Özer, 2014). Etkin maddenin pasif/aktif hedeflendirilmesini sağlamalarının yanısıra kontrollü

salımına da olanak sağlayan katı lipit nanopartiküller; lipofilik ve hidrofilik etkin maddelerin taşınmasını sağlarlar.

Yüksek devirli homojenizasyon ve ultrason, yüksek basınçlı homojenizasyon, çözücü emülsifikasyon ve buharlaştırma ve mikroemülsiyon yöntemi gibi üretim yöntemine sahip olan katı lipit nanopartiküller; kolay üretilebilen ve fizyolojik olarak vücuda uyumlu sistemlerdir (Almeida ve Souto, 2007; Geszke-Moritz ve Moritz, 2016; Kalaycıoğlu ve Aydoğan, 2016).

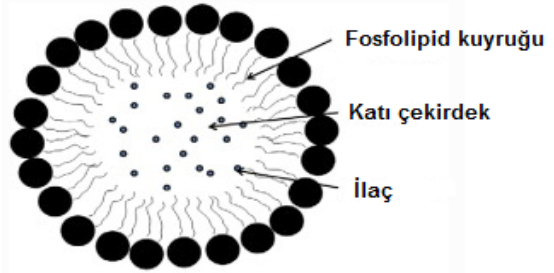
Yapılan bir çalışmada; sıcak homojenizasyon/ultrasonikasyon metodu kullanılarak üretilen lipit nanopartiküller (LN) içine CsA yüklenmiştir. CsA'nın oral uygulaması amacıyla; Tween® 80, fosfatidilkolin, taurokolat ve Pluronic® F127 gibi farklı yüzey etkin maddeler kullanılarak üç farklı formülasyon geliştirilmiştir. Nanopartiküllerin morfolojileri, kristal yapıları ve ilaç yükleme kapasitesi incelenmiştir. Yaklaşık %100 CsA yükleme kapasitesi bulunmuştur. Tüm LN'lerin yüzeyinin negatif yüklendiği görülmüştür. Ayrıca, 3 ay boyunca 4°C'de bekletilen CsA LN'lerin fizikokimyasal özelliklerini koruduğu ve stabilizan sistemi kullanıldığında ise oda sıcaklığında da stabil kalabildikleri bulunmuştur. Yeni CsA formülasyonlarının IL-2 seviyesini inhibe ederek *in vitro* doz-bağımlı immunosupresif etki gösterdikleri kanıtlanmıştır. Sonuç olarak; lipit nanosistemlerin; oral uygulama için fizikokimyasal olarak stabil CsA formülasyonu üretebilmek için iyi bir alternatif olabileceği düşünülmüştür (Guada ve ark., 2015).

CsA'nın gastrointestinal bariyerler yoluyla absorpsiyonunun artırılması amacıyla lipit nanopartiküllerinin hazırlandığı bir çalışmada; CsA üç farklı emülsifiye sistem ile stabilize edilen LN'ler içine yerleştirilmiştir. LN'lerin fiziksel özellikleri; gastrointestinal pH koşullarına uygun olarak incelenmiştir ve bütünlüklerinin kullanılan stabilizantlara bağlı olduğu görülmüştür. *In vitro* permeabilite çalışmaları insan kolon adenokarsinoma hücre modeli ile, *in vivo* farmakokinetik çalışmalar Balb/c fare türünde referans olarak ticari ürün Sandimmun Neoral® kullanılarak yapılmıştır. Ticari ürün ile karşılaştırıldığında LN'lerin; benzer veya daha yüksek biyoyararlanım, benzer farmakokinetik ve biyodağılım profili gösterdiği bulunmuştur. Sonuç olarak; LN'lerin CsA'nın oral uygulaması için uygun taşıyıcı sistemler olduğu kanıtlanmıştır (Guada ve ark., 2016b)

Yeni formülasyonlar ile yapılan araştırmalarda CsA'nın biyoyararlanımının artırılması ana hedef olmasının yanında; ilaç salımının istenen şekilde değiştirilip kontrol edilebilmesi, farmakodinamik açıdan ve yan etkiler açısından bu formülasyonların etkilerinin

incelenmesi de önem arz etmektedir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada (Guada ve ark., 2016c); referans olarak Sandimmun Neoral® kullanılarak oral uygulanacak CsA lipit nanopartiküllerinin (LN) farmakodinamik etkileri ve CsA kan seviyeleri Balb/c farelerde 5 ve 10 gün boyunca günlük doz uygulamanın ardından araştırılmıştır. CsA-LN uygulanan gruplarda, immunosupresyon indikatörü olan lenfosit sayısında anlamlı artış görülmüş ve ticari ürüne kıyasla daha iyi bir immunosupresyon gösterdiği öngörülmüştür. LN ile tedavi sonrasında CsA kan seviyesi sabit kalırken; Sandimmun Neoral® uygulanan grupta kan konsantrasyonunun bir miktar azaldığı bulunmuştur. Sonuç olarak; LN formülasyonlarının daha iyi bir farmakolojik cevap ve daha az toksisite riski göstermesi nedeniyle CsA'nın oral taşınması için iyi bir alternatif olabileceği düşünülmüştür.

3. Lipoküreler



Şekil 5. Lipoküre yapısı (Avramoff ve ark., 2012)

Lipoküre formülasyonları, suya ilave edildiğinde katı partiküllerin nano-mikron parçacık boyutlarında dağılımına neden olan, tamamen çözünebilen, biyolojik moleküllerin taşınması amacıyla kullanılabilen sistemlerdir (Şekil 5) (Cortesi ve ark., 2002).

Oral yolla uygulanmak amacıyla CsA lipoküreleri hazırlanmış ve lipokürelerin bileşiminin ve partikül boyutunun, CsA'nın oral biyoyararlanımı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Formülasyonun etkinliği; T hücrelerinin çoğalması üzerindeki etkiye bakılarak *in vitro* olarak ve oral biyoyararlanım; oral alımdan sonra CsA kan seviyelerini takiben insanlar üzerinde değerlendirilmiştir. 25-400 nm parçacık boyutuna sahip olan siklosporin dispersiyon sistemleri, oda sıcaklığında en az 6 ay boyunca stabil bulunmuştur. Oral alımdan 2 saat sonra yaklaşık 1300 ng/mL'lik bir C_{maks} bulunmuştur (Bekerman ve ark., 2004).

CsA içeren bir lipoküre formülasyonu, ticari ürün olan Neoral® referans formülasyonuna kıyasla, farmakokinetik profili ve biyodeşdeğerlik için test edilmiş ve rapor edilmiştir. Sonuç olarak; referans ile karşılaştırılan oral CsA formülasyonu biyodeşdeğer bulunmuştur (Avramoff ve ark., 2007).

Avramoff ve ark. (2012) tarafından yapılan bir başka çalışmada; oral uygulama amacıyla CsA içeren lipoküre formülasyonları hazırlanmıştır. CsA, katı yağ, dağıtıcı ajanları ve amfililik çözücülerden oluşan lipoküre ön-dispersiyon formülasyonu; bileşenlerin basit bir şekilde karıştırılması ile hazırlanmıştır. Bu formülasyonun hazırlanmasında; fosfolipit, suda çözünür organik çözücü içinde çözülmüş, bundan sonra diğer bileşenler ile birlikte CsA eklenmiş ve formülasyon optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Formülasyon hazırlandıktan sonra formülasyonun *in vitro* karakterizasyonu amacıyla; ultra-santrifüj, TEM, Cryo-TEM ve DSC teknikleri kullanılmış, parçacık büyüklüğü tayini ve *in vitro* ilaç salım çalışması gerçekleştirilmiştir ve ticari Neoral® mikroemülsiyon formülasyonu ile karşılaştırılmıştır. Hazırlanan ön-dispersiyon lipoküre formülasyonunun oda sıcaklığında 2 yıl boyunca stabil olduğu ve ticari ürün ile benzer biyoyararlanım gösterdiği bulunmuştur. Bu formülasyon yaklaşımının suda çözünmeyen ilaçların biyoyararlanımı için potansiyel bir klinik kullanıma sahip olabileceği düşünülmüştür.

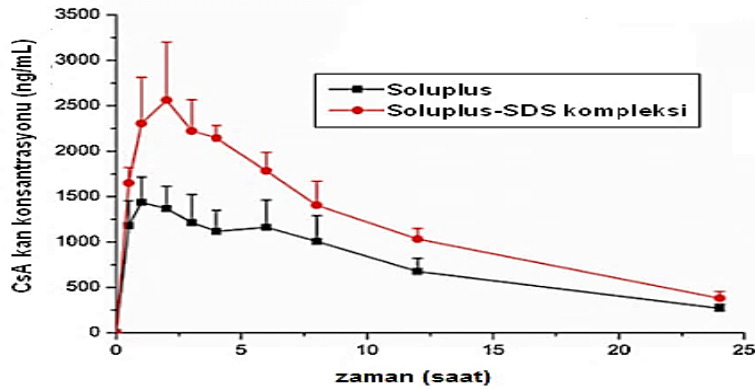
4. Miseller

Hidrofobik çekirdek ve hidrofilik kabuktan oluşan, belli bir konsantrasyon (kritik misel konsantrasyonu) ve sıcaklıkta kendiliğinden oluşabilen, genellikle 5-100 nm boyutlarında bulunan amfililik kolloidlerdir (Özsoy, 2014). Vücuda uyumlu olmaları, boyutlarının küçük olması, düşük toksisite ve uzun süre kan dolaşımında bulunabilmeleri, misel çekirde-

ğinin yüksek ilaç yüklenme kapasitesine sahip olması ve kontrollü etkin madde salımı sağlamaları nedeniyle miseller farmasötik alanda tercih edilen sistemlerdir (Gaucher ve ark., 2010; Cagel ve ark., 2017).

Yu ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada (2013); çözünürlük özelliklerini değiştirmek amacıyla kullanılan bir yardımcı madde olan Soluplus® ile hazırlanmış aşırı doymuş miseller kullanılarak sıçanlarda *in vivo* farmakokinetik çalışma yapılmıştır. Neoral® ile kıyaslanınca; artmış t_{maks} , C_{maks} ve AUC_{0-24} ve %134 biyoyararlanım bulunmuştur. Bu sonuç dört aşırı doymuşluk derecesine sahip formülasyonlardan yalnızca birinde (ilaç/Soluplus® oranı 1/7 olan formülasyon) görülmüş olup; aşırı doymuşluk dereceleri arttıkça oral absorpsiyon azalmıştır. Bu veriler; CsA'nın çözünürlük ve çözünme-sınırlı oral absorpsiyona sahip olduğunu göstermiştir.

Aynı çalışma grubu tarafından yapılan bir başka çalışmada ise; saf haldeki Soluplus®'ın etkinliğini artırmak amacıyla Soluplus®-sodyum dodesilsülfat (SDS) kompleksi kullanılarak hazırlanan aşırı doymuş miseller yapıdan CsA taşınması *in vivo* olarak sıçanlarda incelenmiştir. CsA yüklü- Soluplus® miselleri ile karşılaştırıldığında CsA yüklü-Soluplus®-SDS kompleksine ait AUC ve C_{maks} değerlerinin sırasıyla 1.58 ve 1.8 kat arttığı bulunmuştur (Şekil 6). Bu çalışma; Soluplus®-SDS kompleksinin, suda düşük çözünürlüğe sahip bir ilaç olan CsA'nın çözünürlüğünü ve oral absorpsiyonunu iyileştirebileceğini kanıtlamıştır (Xia ve ark., 2016).



Şekil 6. Soluplus içinde ve Soluplus-SDS kompleksi içinde CsA yüklü misellerin sıçanlara oral uygulama sonrası zamana karşı ortalama kan CsA konsantrasyonları (n=8) (Xia ve ark., 2016).

5. Lipozomlar

Lipozomlar; yapı ve içerik bakımından hücre zarına benzeyen, fosfolipit yapıda, küresel, amfililik veziküllerdir. Hidrofilik ve lipofilik yapıdaki etkin maddeleri taşıyabilmeleri, pasif ve aktif olarak hedeflendirilebilmeleri, pek çok farklı yöntem ile üretilebilmeleri gibi avantajlara sahip olmaları nedeniyle lipozomlar

yıllardır farmasötik alanda en çok araştırmanın yapıldığı sistemlerden biri olmuştur (Akbarzadeh ve ark., 2013; Çoban ve Değim, 2013).

Lipozomlar; film yöntemi, ultrasonikasyon, yüksek basınçla ekstrüksiyon, solvan enjeksiyon ve ters faz buharlaştırma olmak üzere çok farklı yöntemlerle üretilebilirler (Patil ve Jadhav, 2014).

Lipozomlar ile ilgili problemlerin başında gastro-intestinal sıvıdaki stabilitelerinin düşük olması ve yarı ömürlerinin kısa olması gelmektedir. Lipozomların stabilitesinin lipit tabaka içinde safra tuzlarının eklenmesi ile artırılabilceği bilinmektedir. CsA taşınması için lipit nanotaşıyıcı olarak safra tuzlarını içeren lipozomlar kullanılmıştır.

Guan ve ark. (2011); CsA için oral ilaç taşıyıcı sistem olarak sodyum deoksikolat (SDC) içeren lipo-

zomlarını kullanmışlardır. Sıklıkla kullanılan soyafasülyesi fosfatidilkolin (SPC) / kolesterol lipozomları ile SDC/SPC lipozomlarını karşılaştırdıklarında ise; 12 saat sonunda her iki formülasyondan da CsA salımının %5'in altında kaldığını bulmuşlardır. Fakat sıçanlarda yapılan *in vivo* araştırma sonuçlarında göre; konvansiyonel lipozom ve Neoral ile karşılaştırıldığında SPC/SDC lipozomlarının artmış absorpsiyon gösterdiği bulunmuştur (**Tablo 2**).

Tablo 2. Sandimmun Neoral, SPC/SDC lipozomu ve SPC/SDC lipozomlarının oral uygulanması sonrası farmakokinetik parametreler, ortalama ± SS (n=6) (Guan ve ark., 2011).

Formülasyon	t _{maks} (saat)	C _{maks} (µg/mL)	AUC _{0-∞} (µg saat/mL)	MRT (ssat)	Bağlı biyoyararlanım (%)
SPC/SDC lipozom	4.67±1.49	2.65±0.70	73.90 ± 6.63	10.73±0.90	120.3
SPC/Kolesterol lipozom	2.67±0.69	2.28±0.31	60.49 ± 10.79	10.42±0.37	98.6
Sandimmun Neoral	2.67±0.69	2.57±0.20	65.41 ± 29.55	10.23±0.64	-

6. Mikroküreler

Çapları µm boyutlarında olan, doğal ve sentetik polimerler kullanılarak üretilen, homojen ve küresel taşıyıcı sistemlerdir. Kontrollü salım sağlamaları, etkin maddeyi hedef organ/dokuya taşıyabilmeleri, düşük dozda etkin madde uygulamaya olanak sağlamaları ve biyolojik olarak vücutta kolay parçalanabilir olmaları gibi pek çok avantaj sağlayan mikroküreler; farmasötik amaçlı kullanılan taşıyıcı sistemlerin başında gelmektedirler (Kaş, 2002; Vasir ve ark., 2003; Freiberg ve Zhu, 2004; Çetin ve ark., 2007).

Polimerizasyon, koaservasyon, emülsiyon oluşturma/çözücü buharlaştırma, püskürterek dondurma, püskürterek kurutma gibi çok farklı yöntemler ile üretilen mikrokürelerin hazırlanmasında polimer olarak başta polilaktik asit (PLA), poliglikolik asit (PGA) ve polilaktikoglikolik asit (PLGA) vb. polimerler kullanılabilmektedirler (Prasad ve ark., 2014).

Malaek-Nikouei ve ark. (2006a) tarafından yapılan bir çalışmada; emülsifikasyon-solvan uçurma yöntemi kullanılarak CsA-siklodekstrin (CD) kompleksi ile yüklenmiş PLGA mikroküreleri hazırlanmıştır. Mikrokürelerin morfolojisi, boyutu, tutunma etkinliği ve mikrokürelerden ilaç salımı araştırılmıştır. Taramalı elektron mikroskopu ile yapılan çalışma sonunda CsA-CD kompleksi yüklü mikrokürelerin küresel yapıya ve partikül büyüklüğü ölçüm sonuçları ise 1-50 µm boyutlara sahip oldukları görülmüştür. İlaç/polimer oranı arttıkça mikrokürelerin tutunma etkinliğinin arttığı da bulunmuştur (**Tablo 3**). İlaç salımının ani salım fazının ardından yavaş bir fazla devam ederek bifazik olduğu ve 2 haftanın sonunda mikrokürelerden CsA salımının % 43.40±3.45 olduğu görülmüştür. Sonuç olarak mikrokürelerin CsA'nın kontrollü salımı için uygun taşıyıcılar olarak kullanılabilecekleri değerlendirilmiştir.

Tablo 3. CsA-CD kompleks yüklü mikrokürelerin ortalama partikül büyüklüğü, zeta potansiyel, tutunma etkinliği ve ürün verimi, ortalama ± SS; (n=3) (Malaek-Nikouei ve ark., 2006a).

İlaç/polimer oranı	Ortalama partikül büyüklüğü (µm)	Zeta potansiyel (mV)	Tutunma etkinliği (%)	Ürün verimi (%)
1:5	7.58 ± 2.58	-23.0	26.46 ± 2.57	97.00 ± 2.58
1:10	10.69 ± 2.80	-34.4	36.69 ± 3.21	95.58 ± 3.90
1:20	12.85 ± 3.64	-34.2	57.48 ± 2.60	88.69 ± 3.85

Aynı çalışma grubu tarafından farklı PLGA oranlarının CsA yüklü mikrokürelerin özelliklerindeki etkilerini incelemek üzere yapılan bir çalışmada ise; 1-25 µm arasında değişen partikül büyüklüğü ve en yüksek ilaç salım oranı ile PLGA (50:50) mikrokürelerinin CsA için kontrollü salıma uygun oldukları bulunmuştur (Malaekheh-Nikouei ve ark., 2006b).

Yapılan bir başka çalışmada; emülsifikasyon/solvan uçurma metodu kullanılarak, CsA içeren mikroküreler hazırlanmış ve %0.5 (a/a) kitozan çözeltisi ile kitozan kaplanmıştır. Kitozan kaplı CsA mikrokürelerinin morfolojisi, partikül büyüklüğü ve tutunma etkinliği incelenmiştir. Küresel şekle sahip mikrokürelerin tutunma etkinliğinin %78 ile %92 arasında olduğu ve mukoadezif özelliklerinin uygun olduğu görülmüştür. Sonuçta; mikrokürelerin yüzeylerinin kitozan ile modifiye edilmesinin; CsA için oral ilaç taşıyıcı sistem olarak mikrokürelerin kullanımında olumlu olabileceği yorumlanmıştır (Malaekheh-Nikouei ve ark., 2008).

7. Kendiliğinden Emülsifiye Olabilen Sistemler

Kendiliğinden emülsifiye olabilen sistemler (SEDDS) veya kendiliğinden nanoemülsifiye olabilen sistemler (SNEDDS); etkin maddenin yanı sıra yağ, sürfaktan ve yardımcı sürfaktan (ko-sürfaktan) bileşenlerinden oluşan, su (*in vivo* olarak gastrointestinal sıvılar gibi sulu ortamlarda) ile düşük hızda karıştırıl-

dıklarında (*in vivo* olarak gastrointestinal ortamın hareketinin sağladığı hafif çalkalanma sayesinde) yağ/su mikroemülsiyonu oluşturabilen izotropik ve termodinamik açıdan dayanıklı sistemlerdir (Akkuş Arslan ve Tırnaksız, 2013). Geniş yüzey alanı sağlamaları, ilaç difüzyonunu artırmaları, sürfaktan varlığı nedeniyle mukozal geçirgenlikte artış sağlamaları ve içeriklerinde bulunan uzun zincirli yağlara bağlı olarak lenfatik absorpsiyonu artırmaları nedeniyle farmasötik alanda kullanımları yaygınlaşmıştır (Gürsoy ve Benita, 2004; Singh ve ark., 2014).

CsA'nın biyoyararlanımının artırılması amacıyla yapılan lipit bazlı formülasyonlar genellikle kendiliğinden emülsifiye sistemler hatta kendiliğinden emülsifiye nanosistemler üzerinde yoğunlaşmıştır.

Lei ve ark. (2012); beagle köpeklerinde CsA yüklü SNEDDS ile, sıvı SNEDDS ve Neoral'in farmakokinetik sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Katı SNEDDS; sıvı SNEDDS ve Neoral'a kıyasla daha düşük bir absorpsiyon göstermiştir. Neoral ile karşılaştırıldığında sıvı SNEDDS; daha yüksek C_{maks} değeri ile birlikte eşdeğer bir CsA absorpsiyonu göstermiştir (Tablo 4). Sıvı ve katı SNEDDS'ler arasındaki CsA absorpsiyonundaki bu farklılığın, damlacık büyüklüğü (sırasıyla 21 nm ve 54 nm) ve yeniden dağılım hızı (sırasıyla suda 10 dakika ve 20 dakika) nedeniyle olabileceği düşünülmektedir.

Tablo 4. Tek doz uygulama sonrası katı CsA SNEDDS pelletleri, sıvı CsA SNEDDS ve Sandimmune Neoral'in farmakokinetik parametreleri, ortalama ± SS (Lei ve ark., 2012).

Parametreler	Katı SNEDDS Pelletleri	Sıvı SNEDDS	Sandimmune Neoral
AUC ₀₋₂₄ (ng.saatt/mL)	3887.97 ± 1491.09	5582.93 ± 3079.53	5061.14 ± 2472.94
AUC _{0-∞} (ng.saatt/mL)	4508.19 ± 2221.27	5952.29 ± 3335.59	5229.13 ± 2394.23
t _{maks} (saat)	2.20 ± 0.76	1.60 ± 0.42	1.60 ± 0.65
C _{maks} (ng/mL)	702.65 ± 137.09	1316.28 ± 613.59	1106.45 ± 447.02

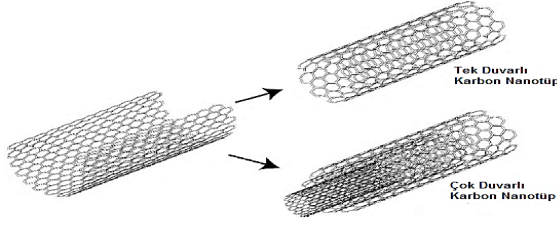
Yapılan bir başka çalışmada; suda çözünürlüğü düşük bir ilaç olan CsA'nın kontrollü oral absorpsiyonu için, emülsiyon/difüzyon metodu kullanılarak SEDDS çekirdekli-polimerik nanokapsülleri (NC) hazırlanmıştır. Sonuçta; 150-220 nm boyutlarında, %4.5-9.4 ilaç yükleme potansiyeline sahip, artmış biyoyararlanım ve sürdürülebilir kan ilaç konsantrasyonu gösteren sistemler elde edilmiştir ve hazırlanmış NC'lerin CsA'nın oral kontrollü salım formülasyonu için potansiyel bir taşıyıcı olduğu yorumlanmıştır (Park ve ark., 2013).

Diğer bir çalışmada ise; SNEDDS'lerin absorpsiyon artırma özellikleri sayesinde ve osmotik salım stratejisi ile CsA'nın kontrollü salımı sağlanmıştır. Labrafil M 1944CS, Transcutol P ve Cremophor EL'den oluşan sıvı SNEDDS'ler, osmotik tablet çe-

kirdeğindeki yardımcı maddeler tarafından absorplanmış ve osmotik tablet haline getirilmişlerdir. Self nanoemülsifiye osmotik pompa tabletlerde; çekirdek tablet ve Sandimmune Neoral ile kıyaslanınca uzatılmış t_{maks} ve anlamlı şekilde azalmış C_{maks} görülmüştür (Zhang ve ark., 2013).

Jain ve ark. (2015); sıçanlarda ve farelerde CsA-TPGS yüklü SNEDDS'lerin biyoyararlanımını ve nefrotoksitesini incelemişler ve ticari ürün Bioral, CsA, TPGS ve CsA-TPGS ile karşılaştırmışlardır. Bioral ile karşılaştırma sonuçlarına göre; CsA-TPGS yüklü SNEDDS'lerin artmış biyoyararlanım ve nefrotoksitesinin göstergesi olan kreatinin ve üre gibi biyokimyasal belirteçlerde anlamlı azalma gösterdikleri görülmüştür.

8. Karbon nanotüpler



Şekil 7. Tek ve Çok Duvarlı Karbon nanotüp yapısı (Yazid ve ark., 2016)

Karbon nanotüpler (KNT); karbon tabakalarının yuvarlanıp silindirik bir hal alması ile oluşan, çapları 2-100 nm arasında ve boyları 5-550 nm arasında değişen nano boyuttaki yapılardır (Şekil 7). Üretim yöntemlerine bağlı olarak tekli duvar, çiftli duvar veya çoklu duvar içeren şekillerde olabilirler. KNT'lerin farmasötik amaçla kullanılmalarının temeli; yüzey modifikasyonu ile suda dağılabilmeyi artırmaları, biyolojik olarak uyumlu olmaları, toksisiteyi azaltarak hücre yüzeyindeki hidrofobik bölgeler ile birleşip endositoz yoluyla hücre içine kolayca girebilmelerine dayanır (Hadidi ve ark., 2013).

KNT'ler; elektrik arkı/şerresi, lazer ile çıkarma, sıcaklık uygulanan yöntemler, kimyasal buhar biriktirme, yüksek basınç karbon monoksit sentezi, alev sentezi, kimyasal buhar biriktirme yöntemi ile sentez gibi çeşitli yöntemlerle üretilirler (Değim, 2014).

KNT'lerin tıp ve eczacılık alanındaki kullanımları yeni olmakla birlikte dış yüzlerine yüksek miktarda ilaç yükleyebilmeleri nedeniyle ilgi çeken bir taşıyıcı olan KNT'ler ile CsA'nın taşınması amacıyla yapılmış bir çalışma da bulunmaktadır. İmmunosupresan bir ajan olan CsA'nın taşınması için PEG'lenmiş tek duvarlı karbon nanotüp (TDKNT) sistemi geliştirilmiştir. CsA'nın yapısında bulunan OH grupları, COOH terminal grup oluşturmak üzere bi-fonksiyonel bağlayıcılara bağlanmış ve CsA süksinilasyon işlemi yapılmıştır. Sonuç bileşik, CsA-CO-(CH₂)₂-COOH, fosfolipit-PEG₅₀₀₀-NH₂ ile PEG'lenmiş TDKNT'ün dış yüzeyine tutturulmuştur. PEG'lenmiş TDKNT-CsA kompleksinin ilaç yüklemesi, stabilitesi ve *in vitro* ilaç salımı araştırılmıştır. İlaç yüklemesinin %68-72 arasında ve 3 gün sonrasında CsA salımının %57.3 olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak; PEG'lenmiş TDKNT sisteminin CsA taşınması için uygun bir sistem olduğu ve bu konuda çalışmaların devam edebileceği bulunmuştur (Hadidi ve ark., 2013).

9. Nanojeller

Spesifik polianyonlar ile katyonik polimerlerin bağlanması veya polimerlerin çapraz bağlanması ile oluşan nanojeller; şişme özelliğine sahip taşıyıcı sis-

temlerdir. Kullanılan polimerlerin yapıları, çapraz bağlanma derecesi, iyonik güç, pH ve sıcaklık gibi etkenler nanojellerin temel özelliği olan şişmeyi etkilerler (Zhang ve ark., 2016). Nanojellerin farmasötik alanda kullanılmalarının nedeni; yüksek ilaç yüklemeye kapasitesine sahip olmaları, kontrollü salım sağlayabilmeleri, hedeflendirmeye olanak sağlamaları, etkin maddeleri enzimlerden koruyarak oral biyoyararlanımı artırabilmeleri, kolay hazırlanabilmeleri ve stabilite-lerinin iyi olmasıdır (Çelebi, 2104).

Nanojel hazırlama yöntemleri; polimerlerin fiziksel etkileşimi ile nanojellerin kendiliğinden oluşması, homojen/heterojen faz içinde monomer polimerizasyonu, polimerlerin kimyasal çapraz bağlanması ve kalıplarla desteklenen nanojel partiküllerin üretimi şeklinde sınıflandırılabilir (Oh ve ark., 2008; Çelebi, 2014).

Murda ve ark. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada; hazırlanmalarının kolay olması ve stabilite-lerinin iyi olması nedeniyle; CsA'nın oral verilmesi amacıyla amfifilojeller (jeller) ve jel bazlı emülsiyon formülasyonları geliştirilmesi amaçlanmıştır ve Beagle türü köpeklerde *in vivo* çalışmalar planlanmıştır. Hazırlanan jel formülasyonlarının *in vivo* sonuçları; ticari ürün olan Neoral' mikroemülsiyonu ile benzer absorpsiyon profilleri göstermiştir. Nanojellerin yüksek ilaç absorpsiyonu sağlamasının; sulu gastrik içerik ile jelin etkileşmesi sonucu jelin şişerek içinde tuttuğu yüksek miktardaki ilacı salıvermesi ile ilişkili olduğu düşünülebilir.

10. Diğer Nanosistemler

Nanokristaller

İlaç nanokristalleri; 1000 nm'den daha küçük boyutlara sahip, etkin maddenin saf halini içeren, nanoölçekli kristallerdir (Junghanns ve Müller, 2008). Herhangi bir taşıyıcı içermeksizin %100 ilaç molekülünden oluşmaları ve partikül büyüklüklerinin nano boyutlarda olması nedeniyle; nanokristaller çözünme hızını ve yüksek terapötik konsantrasyon sağlayarak ilaçların biyoyararlanımını artırır (Gülsün ve ark., 2009; Mauludin ve ark., 2009; Sawant ve ark., 2011; Li ve ark., 2014). Nanokristaller genellikle stabilizan içeren sıvı ortamlarda hazırlanırlar ve bu nedenle nanosüspansiyon olarak adlandırılırlar (Kocbek ve ark., 2006).

İlaç nanokristal formülasyonlarının üretim teknikleri; yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya teknolojileri olmak üzere temelde ikiye ayrılmakla birlikte, aşağıdan yukarıya teknoloji çöktürme yönteminden (Du ve ark., 2015), yukarıdan aşağı teknoloji ise öğütme ve homojenizasyon yöntemlerinden (Chen ve ark., 2011; Karaküçük ve ark., 2016) oluşmaktadır.

Ayrıca kombine yaklaşımlar ve kimyasal sentezler olmak üzere farklı teknikler de bulunmaktadır (Pawar ve ark., 2014; Junyaprasert ve Morakul, 2015).

CsA ile yapılan bir çalışmada; stabilizan olarak Poloxamer 407, öğütme ortamı olarak zirkonyum oksit boncukları ve distile su kullanılarak öğütme tekniği ile CsA nanosüspansiyonları hazırlanmıştır. Formülasyonu optimize etmek amacıyla partikül büyüklüğü dağılımı, yüzey morfolojisi, ilaç-sürfaktan etkileşimi, ilaç içeriği, doyunluk çözünürlüğü, osmolarite ve stabilite araştırmaları yapılmıştır. Sonuçlarda; formülasyon küresel şekle sahip, 213 nm boyutlarında ve doyunluk çözünürlüğü 5.69 kat artmış, 3 ay 2-8°C'de stabil bulunmuştur. Albino sıçanlarda yapılan *in vivo* çalışmalarda ise; ticari ürüne göre daha uygun farmakokinetik parametreler bulunmuştur (Nakarani ve ark., 2010).

Sardorood ve ark. (2012) yapmış olduğu bir çalışmada ise; transplantasyonda yaygın kullanılan ilaçlardan biri olan CsA'nın sudaki ve vücut sıvılarındaki çözünürlüğünü artırmak amacıyla nanosüspansiyonu hazırlanmıştır. Stabilizan olarak polivinil prolidon (PVP) kullanılarak hazırlanan nanosüspansiyonlar püskürterek kurutulmuşlardır. Karakterizasyon çalışmalarının ardından, intestinal sıvılarda çözünme hızı çalışması yapılmıştır. %100 verim ile elde edilen nanosüspansiyonların ortalama partikül büyüklüğünün 250 ± 15 nm olduğu, polidispersite indeksinin 0.1'den az olduğu ve uygun çözünme hızı gösterdiği bulunmuştur.

SONUÇ

Organ reddinin önlenmesi amacıyla yaygın kullanılan ilaçlardan biri olan CsA'nın biyofarmasötik özelliklerini iyileştirmek amacıyla nanoteknolojiye dayalı ilaç taşıyıcı sistemler kullanılarak pek çok çalışma yapılmıştır. Yukarıda bahsedilen çalışmalarda görüldüğü gibi, farklı ilaç taşıyıcı sistemler kullanılarak hazırlanmış siklosporin A formülasyon çalışmaları sonunda; çözünürlüğü, çözünme hızı ve biyoyararlanımında artışlar gözlenmiş, toksisitede azalma, uzatılmış sağlık sağlanabileceği görülmüştür. Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde; bulunan sonuçların CsA ile yapılacak ileri çalışmalar için umut vaadedici olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Acartürk, F., Kışlal, Ö., Çelebi, N. (1992), The effect of some natural polymers on the solubility and dissolution characteristics of nifedipine, *Int. J. Pharm.*, 85, 1-6.

Acartürk, F., Editör: Zırh-Gürsoy, A. (2014), *Nanofarmasötikler ve uygulamaları*, (Bölüm 17) Nano taşıyıcıların oral uygulanması, İstanbul (Türkiye): Aktif Matbaa ve Reklam Hizmetleri San. Tic.Ltd.Şti.

Agarwal, P., Rupenthal, I.D. (2016), Modern approaches to the ocular delivery of cyclosporine A, *Drug Discov. Today*, 21(6), 977-988.

Akbaba, D. (2009), İmmünespresif Kan İlaç Düzeyi İzleminin Ve Elde Edilen Test Sonuçlarıyla Biyokimyasal Parametreler Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Bölümü.

Akbarzadeh, A., Rezaei-Sadabady, R., Davaran, S., Joo, S.W., Zarghami, N., Hanifehpour, Y., Samiei, M., Kouhi, M., Nejadi-Koshki, K. (2013), Liposome: classification, preparation and applications, *Nanoscale Res. Lett.*, 8, 102-110.

Akkuş Arslan, Ş., Tırnaksız, F. (2013), Self-Emulsifying Drug Delivery Systems, *FABAD J.Pharm. Sci.*, 38,1, 55-64.

Aksungur, P., Demirbilek, M., Denkbaş, E.B., Vandervoort, J., Ludwig, A., Ünlü, N. (2011), Development and characterization of cyclosporine A loaded nanoparticles for ocular drug delivery: cellular toxicity, uptake, and kinetic studies, *J. Control. Release*, 151, 286-294.

Almeida, A.J., Souto, E. (2007), Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for peptides and proteins, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 59, 478-490.

Amidon, G.L., Lennernas, H., Shah, V.P., Crison, J.R. (1995), A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability, *Pharm Res.*, 12: 413-420.

Ankola, D.D., Battisti, A., Solaro, R., Kumar, M.N.V.R. (2010), Nanoparticles made of multi-block copolymer of lactic acid and ethylene glycol containing periodic side-chain carboxyl groups for oral delivery of cyclosporine A, *J.R.Soc.Interface*, 7, 475-481.

Ankola, D.D., Wadsworth, R.M., Kumar, M.N.V.R. (2011), Nanoparticulate delivery can improve peroral bioavailability of cyclosporine and match Neoral C_{maks} sparing the kidney from damage, *J. Biomed. Nanotechnol.*, 7(2), 300-307.

Archer, T., Boothe, D., Langston, V., Fellman, C., Lunsford, K., Mackin, A. (2014), Oral cyclosporine treatment in dogs: a review of the literature, *J. Vet. Intern. Med.*, 28, 1-20.

Avramoff, A., Laor, A., Kitzes-Cohen, R., Farin, D., Domb, A.J. (2007), Comparative *in vivo* bioequivalence and *in vitro* dissolution of two cyclosporin A soft gelatin capsule formulations, *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, 45(2), 126-132.

- Avramoff, A., Khan, W., Ezra, A., Elgart, A., Hoffman, A., Domb, A.J. (2012), Cyclosporin pro-dispersion liposphere formulation, *J. Control. Release*, 160, 401-406.
- Ayna, T., Çiftçi, H., Tozkır, H., Gürtekin, M., Çarin, M. (2009), İmmünesupresif ilaçların etki mekanizmaları, *Gaziantep Tıp Dergisi*, 15(3): 42-47.
- Azzi, J.R., Tang, L., Moore, R., Tong, R., El Haddad, N., Akiyoshi, T., Mfarrej, B., Yang, S., Jurewicz, M., Ichimura, T., Lindeman, N., Cheng, J., Abdi, R. (2010), Polylactide-cyclosporin A nanoparticles for targeted immunosuppression, *FASEB J.*, 24, 3927-3938.
- Azzi, J.R., Sayegh, M.H., Mallat, S.G. (2013), Calcineurin inhibitors: 40 years later, can't live without, *J. Immunol.*, 191: 5785-5791.
- Balaraman, K., Kuppusamy, M., George, N., Anandkumar, K., Sekar, C. (1991), Evaluation of cyclosporine-A obtained from *Tolypocladium* sp. for immunosuppressive potential, *Indian J Med Res*, 94, 304-6.
- Bárány, P., Stenvinkel, P., Ottosson-Seeberger, A., Alvestrand, A., Morrow, J., Roberts, J. J., Salahudeen, A. K. (2001), Effect of 6 weeks of vitamin E administration on renal haemodynamic alterations following a single dose of neoral in healthy volunteers, *Nephrol Dial Transplant*, 16, 580-584.
- Basaran, E., Yenilmez, E., Berkman, M.S., Büyükköroğlu, G., Yazan, Y. (2013), Chitosan nanoparticles for ocular delivery of cyclosporine A, *J. Microencapsul.*, 31, 49-57.
- Beauchesne, P.R., Chung, N.S., Wasan, K.M. (2007), Cyclosporine A: a review of current oral and intravenous delivery systems, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 33, 211-20.
- Bekerman, T., Golenser, J., Domb, A. (2004), Cyclosporin nanoparticulate lipospheres for oral administration, *J. Pharm. Sci.*, 93(5), 1264-1270.
- Bennet, W.M., Norman, D.J. (1986), Action and toxicity of cyclosporine, *Annu. Rev. Med.*, 37, 215-24.
- Beveridge, T. (1983), Cyclosporin-A: an evaluation of clinical results, *Transplant Proc*, 15, 433-7.
- Bilensoy, E., Editör: Zırh-Gürsoy, A. (2014), *Nanofarmasötikler ve uygulamaları*, (Bölüm 2) Nanopartiküller (Nanoküreler, nanokapsüller, seramik nanopartiküller, nanosüngerler), İstanbul (Türkiye): Aktif Matbaa ve Reklam Hizmetleri San.Tic.Ltd. Şti.
- Borel, J.F., Baumann, G., Beveridge, T. (1998), Cyclosporine, *Encyclopedia of Immunology*, Editörler: Roitt I., Delves, P. Elsevier publication. 686-9.
- Brewster, M.E., Loftsson, T. (2007), Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 59, 645-666.
- Budavari, S.M., O'Neal, J., Smith, A., Heckelman, P.E. (1996), *The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals*. 12th edition. Whitehouse Station, NJ: Merck & Company, Inc.; 1498.
- Cagel, M., Tesan, F.C., Bernabeu, E., Salgueiro, M.J., Zubillaga, M.B., Moretton, M.A., Chiappetta, D.A. (2017), Polymeric mixed micelles as nanomedicines: achievements and perspectives, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 113, 211-228.
- Chen, H., Khemtong, C., Yang, X., Chang, X., Gao, J. (2011), Nanonization strategies for poorly water-soluble drugs, *Drug Discov. Today*, Apr;16(7-8), 354-60.
- Chiou, H., Chan, H.K., Heng, D., Prud'homme, R.K., Raper, J.A. (2008), A novel production method for inhalable cyclosporine A powders by confined liquid impinging jet precipitation, *Aerosol Science*, 39, 500-509.
- Chiu, Y.Y., Higaki, K., Neudeck, B.L., Barnett, J.L., Welage, L.S., Amidon, G.L. (2003), Human Jejunal Permeability of Cyclosporin A: Influence of Surfactants on P-Glycoprotein Efflux in Caco-2 Cells, *Pharmaceutical Research*, May, Volume 20, Issue 5, pp 749-756.
- Christians, U., Sewing, K. (1993), Cyclosporin metabolism in transplant patients, *Pharmacol. Ther.*, 57, 291-345.
- Cortesi, R., Esposito, E., Luca, G., Nastruzzi, C. (2002), Production of lipospheres as carriers for bioactive compounds, *Biomaterials*, 23, 2283-2294.
- Çelebi, N., Erden, N. (1992), Interaction of naproxen with β -cyclodextrin in ground mixture, *Int. J. Pharm.*, 78, 183-187.
- Çelebi, N., Editör: Zırh-Gürsoy, A. (2014), *Nanofarmasötikler ve uygulamaları*, (Bölüm 7) Nanojeller, İstanbul (Türkiye): Aktif Matbaa ve Reklam Hizmetleri San.Tic.Ltd.Şti.
- Çetin, M., Vural, İ., Çapan, Y., Hıncal, A. (2007), Preparation and Characterization of BSA-Loaded Alginate Microspheres, *FABAD J. Pharm. Sci.*, 32, 103-110.
- Çoban, Ö., Değim, Z. (2013), Liposomes Containing Imatinib Mesylate and Dexketoprofen Trometamol: Development and Characterization, *FABAD J. Pharm. Sci.*, 38, 3, 121-126.
- Dai, J., Nagai, T., Wang, X., Zhang, T., Meng, M., Zhang, Q. (2004), pH-sensitive nanoparticles for improving the oral bioavailability of cyclosporine A, *Int J Pharm.*, Aug 6; 280(1-2):229-40.

- Dai, W., Guo, Y., Zhang, H., Wang, X., Zhang, Q. (2015), Silybia 350/Eudragit S100 solid nanomatrix as a promising system for oral delivery of cyclosporine A, *Int. J. Pharm.*, 478, 718–25.
- Değim, İ.T., Editör: Zırh-Gürsoy, A. (2014), *Nanofarmasötikler ve uygulamaları*, (Bölüm 11) Fulleren, Karbon nanotüp, Nanolif, Nanokafesler, İstanbul (Türkiye): Aktif Matbaa ve Reklam Hizmetleri San.Tic.Ltd.Şti.
- Du, J., Li, X., Zhao, H., Zhou, Y., Wang, L., Tian, S., Wang, Y. (2015), Nanosuspensions of poorly water-soluble drugs prepared by bottom-up technologies, *Int. J. Pharm.*, 495, 738-49.
- El Tayar, N., Mark, A.E., Vallat, P., Brunne, R.M., Testa, B., van Gunsteren, W.F. (1993), Solvent-dependent conformation and hydrogen-bonding capacity of cyclosporin A: evidence from partition coefficients and molecular dynamics simulations, *J Med Chem.*, 36:3757-3764.
- El-Shabouri, M.H. (2002), Positively charged nanoparticles for improving the oral bioavailability of cyclosporin-A, *Int J Pharm.*, Dec 5; 249(1-2):101-8.
- Ensign, L.M., Cone, R., Hanes, J. (2012), Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: the gastrointestinal mucus barriers, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 64, 557-570.
- Erden, N., Çelebi, N. (1988), A study of the inclusion complex of naproxen with β -cyclodextrin, *Int. J. Pharm.*, 48, 83-89.
- European Multicentre Trial Group (1983), Cyclosporin in cadaveric renal transplantation: one-year follow-up of a multicentre trial, *Lancet*, 322: 986-989.
- Farokhzad, O.C., Langer, R. (2009), Impact of nanotechnology on drug delivery, *ACS Nano*, 3(1), 16-20.
- Fischer, G., Wittmann-Liebold, B., Lang, K., Kiefhaber, T., Schmid, F.X. (1989). Cyclophilin and peptidylprolyl cis-trans isomerase are probably identical proteins, *Nature*, 337, 476–8.
- Freeman, D.J. (1991), Pharmacology and pharmacokinetics of cyclosporine, *Clin Biochem.*, 24, 9-14.
- Freiberg, S., Zhu, X.X. (2004), Polymer microspheres for controlled drug release, *Int. J. Pharm.*, 282, 1-18.
- Gaucher, G., Satturwar, P., Jones, M.C., Furtos, A., Leroux, J.C. (2010), Polymeric micelles for oral drug delivery, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 76, 147-158.
- Geszke-Moritz, M., Moritz, M. (2016), Solid lipid nanoparticles as attractive drug vehicles: composition, properties and therapeutic strategies, *Mater Sci Eng*, 68, 982-994.
- Gökçe, E., Özer, Ö., Editör: Zırh-Gürsoy, A. (2014), *Nanofarmasötikler ve uygulamaları*, (Bölüm 6) Katı lipid nanopartiküller, İstanbul (Türkiye): Aktif Matbaa ve Reklam Hizmetleri San.Tic.Ltd.Şti.
- Guada, M., Sebastián, V., Irusta, S., Feijóo, E., Dios-Viéitez, M.C., Blanco-Prieto, M.J. (2015), Lipid nanoparticles for cyclosporine A administration: development, characterization and *in vitro* evaluation of their immunosuppression activity, *Int. J. Nanomedicine*, 10, 6541–6553.
- Guada, M., Belouqui, A., Kumar, M.N.V.R., Préat, V., Dios-Viéitez, M.C., Blanco-Prieto, M.J. (2016a), Reformulating cyclosporine A (CsA): More than just a life cycle management strategy, *J Control Rel*, 225: 269-282.
- Guada, M., Lasa-Saracibar, B., Lana, H., Dios-Viéitez, M.C., Blanco-Prieto, M.J. (2016b), Lipid nanoparticles enhance the absorption of Cyclosporine A through the gastrointestinal barrier: *in vitro* and *in vivo* studies, *Int. J. Pharm.*, 500, 154–161.
- Guada, M., Lana, H., Gil, A.G., Dios-Viéitez, M.C., Blanco-Prieto, M.J. (2016c), Cyclosporine A lipid nanoparticles for oral administration: pharmacodynamics and safety evaluation, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 101, 112-118.
- Guan, P., Lu, Y., Qi, J., Niu, M., Lian, R., Hu, F., Wu, W. (2011), Enhanced oral bioavailability of cyclosporine A by liposomes containing a bile salt, *Int. J. Nanomedicine*, 6, 965–974.
- Gulati, A.K., Zalewski, A.A. (1982), Muscle allograft survival after cyclosporin A immunosuppression, *Experimental Neurology*, 77(2), 378-85.
- Gupta, V., Sahu, P.K. (2001), Topical cyclosporin A in the management of vernal keratoconjunctivitis, *Eye*, 15: 39–41.
- Gülsün, T., Gürsoy, R.N., Öner, L. (2009), Nanocrystal Technology For Oral Delivery of Poorly Water-Soluble Drugs, *FABAD J. Pharm. Sci.*, 34, 55–65.
- Gürsoy, R.N., Benita, S. (2004), Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs, *Biomed. Pharmacother.*, 58, 173-182.
- Hadidi, N., Kobarfard, F., Nafissi-Varcheh, N., Aboofazeli, R. (2013), PEGylated single-walled carbon nanotubes as nanocarriers for cyclosporin A delivery, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 14(2), 593-598.
- Handschumacher, R.E., Harding, M.W., Rice, J., Drugge, R.J., Speicher, D.W. (1984), Cyclophilin: a specific cytosolic binding protein for cyclosporin A, *Science*, 226, 544–7.

- Harding, M.W., Handschumacher, R.E. (1988), Cyclophilin, a primary molecular target for cyclosporine. Structural and functional implications, *Transplantation*, 46, 29–35.
- Hautz, T., Brandacher, G., Zelger, B., Gorantla, V.S., Lee, A.W.P., Pratschke, J., Schneeberger, S. (2010), Immunologic aspects and rejection in solid organ versus reconstructive transplantation, *Transplant Proc*, 42, 3347–53.
- Herbert, P.E., Warrens, A.N. (2004), Solid organ and composite organ transplantation -the dynamic equilibrium of rejection and immunosuppression, *J of Surgery*, 2(1): 12-14.
- Hermans, K., van den Plas, D., Everaert, A., Weyenberg, W., Ludwig, A. (2012), Full factorial design, physicochemical characterisation and biological assessment of cyclosporine A loaded cationic nanoparticles, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 82, 27-35.
- Hunter, P.A., Wilhelmus, K.R., Rice, N.S.C., Jones, B.R. (1981), Cyclosporin A applied topically to the recipient eye inhibits corneal graft rejection, *Clin Exper Immunol*, 45, 173–7.
- <https://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol1100A/mono100A-22.pdf>
- Ismailos, G., Repas, C., Dressman, J.B., Macheras, P. (1991), Unusual solubility behaviour of cyclosporin A in aqueous media, *J Pharm Pharmacol*, 43: 287–289.
- Ismailos, G., Reppas, C., Macheras, P. (1994), Enhancement of cyclosporin A solubility by d-alphatocopheryl-polyethylene-glycol-1000 succinate (TPGS), *Eur J Pharm Sci.*, 1(5), 269–71.
- Italia, J.L., Bhardwaj, V., Kumar, M.N.V.R. (2006), Disease, destination, dose and delivery aspects of cyclosporin: the state of the art, *Drug Discovery Today*, Volume 11, Issues 17–18, September: 846–854.
- Jain, S., Kambam, S., Thanki, K., Jain, A.K. (2015), Cyclosporine A loaded self nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS): implication of functional excipient based co-encapsulation strategy on oral bioavailability and nephrotoxicity, *RSC Adv.*, 49633–49642.
- Junghanns, J.U.A.H., Müller, R.H. (2008), *Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications*, *Int. J. Nanomedicine*, 3(3), 295-309.
- Junyaprasert, V. B., Morakul, B. (2015), Nanocrystals for enhancement of oral bioavailability of poorly water-soluble drugs, *Asian J. Pharm. Sci.*, 10, 13-23.
- Jyothi, K., Beloor, J., Jo, A., Nguyen, M.N., Choi, T.G., Kim, J., Akter, S., Lee, S., Maeng, C.H., Baik, H.H. (2015), Liver-targeted cyclosporine A-encapsulated poly (lactic-co-glycolic) acid nanoparticles inhibit hepatitis C virus replication, *Int. J. Nanomedicine*, 10, 903–921.
- Kahan, B.D. (1986), Individualisation of cyclosporine therapy using pharmacokinetic and pharmacodynamic parameter, *Transplantation*, 40, 457–76.
- Kahan, B.D. (1989), Cyclosporine, *N Engl J Med*, 321, 1725-38.
- Kalaycıoğlu, G.D., Aydoğan, N. (2016), Preparation and investigation of solid lipid nanoparticles for drug delivery, *Colloids and Surface A: Physicochem. Eng. Aspects*, 510, 77-86.
- Karakucuk, A., Celebi, N., Teksin, Z.S. (2016), Preparation of ritonavir nanosuspensions by microfluidization using polymeric stabilizers: I. A Design of Experiment approach, *Eur. J. Pharm. Sci.*, Dec 1;95, 111-121.
- Karavana, S., Gökçe, E., Rençber, S., Özbal, S., Pekçetin, Ç., Güneri, P., Ertan, G. (2012), A new approach to the treatment of recurrent aphthous stomatitis with bioadhesive gels containing cyclosporine A solid lipid nanoparticles: *in vivo/in vitro* examinations, *Int. J. Nanomedicine*, 7, 5693-5704.
- Kaş, S., Editör: Zırh-Gürsoy, A. (2002), *Kontrollü sa- lım sistemleri*, (Bölüm 4) İlaç taşıyıcı partiküler sistemler, İstanbul (Türkiye): Elma Bilgisayar Basım ve Ambalaj San.Tic.Ltd.Şti.
- Kelly, M.A. (2000), Cyclosporine: An overview, *Curr Probl Dermatol.*, Nov/Dec, 268-9.
- Kocbek, P., Baumgartner, S., Kristl, J. (2006), Preparation and evaluation of nanosuspensions for enhancing the dissolution of poorly soluble drugs, *Int. J. Pharm.*, 312, 179-86.
- Kunert, K.S., Tisdale, A.S., Gipson, I.K. (2002), Goblet cell numbers and epithelial proliferation in the conjunctiva of patients with dry eye syndrome treated with cyclosporine, *Arch. Ophthalmol.*, 120: 330–337.
- Lallemand, F., Felt-Baeyens, O., Besseghir, K., Behar-Cohen, F., Gurny, R. (2003), Cyclosporine A delivery to the eye: A pharmaceutical challenge, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 56: 307–318.
- Lei, Y., Qi, J., Nie, S., Hu, F., Pan, W., Lu, Y., Wu, W. (2012), Solid self-nanoemulsifying cyclosporine A pellets prepared by fluid-bed coating: stability and bioavailability study, *J. Biomed. Nanotechnol.*, 8, 515–521.

- Li, W., Quan, P., Zhang, Y., Cheng, J., Liu, J., Cun, D., Xiang, R., Fang, L. (2014), Influence of drug physicochemical properties on absorption of water insoluble drug nanosuspensions, *Int. J. Pharm.*, 460, 13-23.
- Lill, J., Bauer, L.A., Horn, J.R., Hansten, P.D. (2000), Cyclosporine-Drug interactions and the influence of patient age, *Am. J. Health Syst. Pharm.*, 57(17), 1579-1584.
- Lindholm, A., Henricsson, S., Lind, M., Dahlgvist, R. (1988), Intraindividual variability in the relative systemic availability of cyclosporin after oral dosing, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 34, 461-4.
- Lindholm, A. (1991), Factors influencing the pharmacokinetics of cyclosporine in man, *Ther. Drug Monit.*, 13, 465-77.
- Liu, C., Zhu, S.J., Zhou, Y., Wei, Y.P., Pei, Y.Y. (2005), Enhancement of dissolution of cyclosporine A using solid dispersions with polyoxyethylene (40) stearate, *Pharmazie*, 61(8), 681-684.
- Malaekheh-Nikouei, B., Tabassi, S.A.S., Jaafari, M.R., Davies, N.M. (2006a), The effect of complexation on characteristics and drug release from PLGA microspheres loaded by cyclosporine-cyclodextrin complex, *J. Drug Del. Sci. Tech.*, 16(5), 345-350.
- Malaekheh-Nikouei, B., Tabassi, S.A.S., Jaafari, M.R. (2006b), The effect of different grades of PLGA on characteristics of microspheres encapsulated with cyclosporine A, *Curr. Drug Deliv.*, 3(4), 343-349.
- Malaekheh-Nikouei, B., Nassirli, H., Davies, N. (2007), Enhancement of cyclosporine aqueous solubility using α - and hydroxypropyl β -cyclodextrin mixtures, *J. Incl. Phenom. Macro Chem.*, 59(3-4), 245-50.
- Malaekheh-Nikouei, B., Tabassi, S.A.S., Jaafari, M.R. (2008), Preparation, characterization and mucoadhesive properties of chitosan-coated microspheres encapsulated with cyclosporine A, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 34(5), 492-498.
- Matsuda, S., Koyasu, S. (2000), Mechanisms of action of cyclosporine, *Immunopharmacology*, 47, 119-25.
- Mauludin, R., Müller, R.H., Keck, C.M. (2009), Development of an oral rutin nanocrystal formulation, *Int. J. Pharm.*, 370, 202-9.
- Mehrsai, A.R., Pourmand, G., Mansour, D., Zand, S., Rezaali, A. (2003), Effect of grapefruit juice on serum concentration of cyclosporine in Iranian renal transplant patient, *Transplantation Proceedings*, 35(7), 2739-41.
- Meier-Kriesche, H., Kaplan, B. (2002), Cyclosporine Microemulsion and Tacrolimus are Associated with Decreased Chronic Allograft Failure and Improved Long-term Graft Survival as Compared with Sandimmune, *American Journal of Transplantation*, 2, 100-4.
- Modra, L., Hilton, A. (2015), Ethical issues in organ transplantation, *Anaesth Int Care Med*, 16(7), 321-23.
- Murdan, S., Andrysek, T., Son, D. (2005), Novel gels and their dispersions- oral drug delivery systems for cyclosporin, *Int. J. Pharm.*, 300, 113-124.
- Naesens, M., Kuypers, D.R.J., Sarwal, M. (2009), Calcineurin inhibitor nephrotoxicity, *Clin Journ of the Am Soc Neph.*, 4(2), 481-508.
- Nakarani, M., Patel, P., Patel, J., Patel, P., Murthy, R.S.R., Vaghani, S.S. (2010), Cyclosporine A-nanosuspension: formulation, characterization and *in vivo* comparison with a marketed formulation, *Sci. Pharm.*, 78, 345-361.
- Norin, A.J., Emerson, E.E., Kamholz, S.L., Pinsker, K.L., Montefusco, C.M., Matas, A.J. (1982), Cyclosporin A as the initial immunosuppressive agent for canine lung transplantation: short and long-term assessment of rejection phenomena, *Transplantation*, 34, 372-5.
- Numanoğlu, U., Tarımcı, N. (2006), Siklodekstrinler ve kozmetiklerdeki kullanımları, *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci*, 2(17): 40-6.
- Oh, J.K., Drumright, R., Siegwart, D.J., Matyjaszewski, K. (2008), The development of microgels/nanogels for drug delivery applications, *Prog. Polym. Sci.*, 33, 448-477.
- Onoue, S., Sato, H., Ogawa, K., Kojo, Y., Aoki, Y., Kawabata, Y., Wada, K., Mizumoto, T., Yamada, S. (2012), Inhalable dry-emulsion formulation of cyclosporine A with improved anti-inflammatory effects in experimental asthma/COPD-model rats, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, Jan; 80(1):54-60.
- Onoue, S., Suzuki, H., Kojo, Y., Matsunaga, S., Sato, H., Mizumoto, T., Yuminoki, K., Hashimoto, N., Yamada, S. (2014), Self-micellizing solid dispersion of cyclosporine A with improved dissolution and oral bioavailability, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 62, 16-22.
- Osman, M.M., Lulic, D., Glover, L., Stahl, C.E., Lau, T., Loveren, H., Borlongan, C.V. (2011), Cyclosporine-A as a neuroprotective agent against stroke: Its translation from laboratory research to clinical application, *Neuropeptides*, 45, 359-68.

- Özcan, İ. (2008), Kemiğe Hedeflemek İçin Sentezlenen Biyolojik Parçalanabilen Polimerler Kullanılarak Hazırlanan Nanopartiküler İlaç Tasıyıcı Sistemlerin Tasarımı Ve *In Vitro -In Vivo* Değerlendirilmesi, Ege Üniversitesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
- Özsoy, Y., Editör: Zırh-Gürsoy, A. (2014), *Nanofarmasötikler ve uygulamaları*, (Bölüm 9) Miseller, İstanbul (Türkiye): Aktif Matbaa ve Reklam Hizmetleri San.Tic.Ltd.Şti.
- Pal, S.L., Jana, U., Manna, P.K., Mohanta, G.P., Manavalan, R. (2011), Nanoparticle: an overview of preparation and characterization, *J. Appl. Pharm. Sci.*, 1(6), 228-234.
- Park, M.J., Balakrishnan, P., Yang, S.G. (2013), Polymeric nanocapsules with SEDDS oil-core for the controlled and enhanced oral absorption of cyclosporine, *Int. J. Pharm.*, 441, 757-764.
- Patil, Y.P., Jadhav, S. (2014), Novel methods for liposome preparation, *Chem. Phys. Lipids*, 177, 8-18.
- Pawar, V.K., Singh, Y., Meher, J.G., Gupta, S., Chourasia, M.K. (2014), Engineered nanocrystal technology: In-vivo fate, targeting and applications in drug delivery, *J. Control. Release*, 183, 51-66.
- Pollard, S.G., Lear, P.A., Ready, A.R., Moore, R.H., Johnson, R.W. (1999), Comparison of microemulsion and conventional formulations of cyclosporine A in preventing acute rejection in de novo kidney transplant patients. The U.K. Neoral Renal Study Group, *Transplantation*, 68, 1325-31.
- Prasad, B.S.G., Gupta, V.R.M., Devanna, N., Jayasurya, K. (2014), Microspheres as drug delivery system- a review, *JGTPS*, 5(3), 1961-1972.
- Ran, Y., Zhao, L., Xu, Q., Yalkowsky, S.H. (2001), Solubilization of Cyclosporin A, *AAPS PharmSciTech*, 2(1): article 2.
- Ranade, V.V., Cannon, J.B. (2011), *Drug delivery systems*, NW (USA): Taylor&Francis Group.
- Reitz, B.A., Stinson, E.B. (1982), Cardiac transplantation, *JAMA*, 248, 1225-7.
- Rosenthaler, J., Keller, H.P. (1990), Comment on cyclosporine assay techniques: an attempt for recommendations, *Transplant Proc*, 22: 1160-1165.
- Sardorood, A., Moslehi, M., Hamidi, M. (2012), Preparation, optimization and *in vitro* characterization of nanosuspension of cyclosporine, *Res. Pharm. Sci.*, 7(5), S287.
- Sawant, S.V., Kadam, D.V.J., Jadhav, D.K.R., Sankpal, S.V. (2011), Drug nanocrystals: novel technique for delivery of poorly soluble drugs, *Int. J. Sci. Innov. Discov.*, 1, 1-15.
- Schreiber, S.L. (1992), Immunophilin-sensitive protein phosphatase action in cell signaling pathways, *Cell*, 70, 365-8.
- Shrikant, A.S., Kagliwal, D.L., Annapure, U.S., Singhal, R.S. (2011), Cyclosporin A - A review on fermentative production, downstream processing and pharmacological applications, *Biotechnol Adv*, 29: 418-435.
- Singh, A.K., Narsipur, S.S. (2011), Cyclosporine: A Commentary on Brand versus Generic Formulation Exchange, *Journal of Transplantation*, Article ID 480642, 6 pages.
- Singh, B., Beg, S., Khurana, R.K., Sandhu, P.S., Kaur, R., Katare, O.P. (2014), Recent advances in self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS), *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, 31(2), 121-185.
- Starzl, T.E., Iwatsuk, S., Van Thiel, D.H., Gartner, J.C., Zitelli, B.J., Malatack, J.J. (1982), Evolution of liver transplantation, *Hepatology*, 2, 614-36.
- Su-Geun, Y. (2010), Biowaiver extension potential and IVIVC for BCS Class II drugs by formulation design: Case study for cyclosporine self-microemulsifying formulation, *Arch Pharm Res Vol*, 33(11): 1835-1842.
- Suri, S.S., Fenniri, H., Singh, B., Nanotechnology-based drug delivery systems, *J Occup Med Toxicol.*, 2, 16-21.
- Survase, S.A., Kagliwal, L.D., Annapure, U.S., Singhal, R.S. (2011), Cyclosporin A - A review on fermentative production, downstream processing and pharmacological applications, *Biotechnol Adv*, 29, 418-35.
- Taber, D.J., Baillie, G.M., Ashcraft, E.E., Rogers, J., Lin, A., Afzal, F., Baliga, P., Rajagopalan, P.R., Chavin, K.D. (2005), Does bioequivalence between modified cyclosporine formulations translate into equal outcomes?, *Transplantation*, Dec 15;80(11):1633-5.
- Takahashi, N., Hayano, T., Suzuki, M. (1989), Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase is the cyclosporin A-binding protein cyclophilin, *Nature*, 337, 473-5.
- Tedesco, D., Haragsim, L. (2012), Cyclosporine: A review, *J. Transplant.*, 1-8.
- The Canadian Multicentre Transplant Study Group (1986), A randomized clinical trial of cyclosporine in cadaveric renal transplantation, *N Engl J Med*, 309, 809-15.
- Tiwari, G., Tiwari, R., Rai, A.K. (2010), Cyclodextrins in delivery systems: Applications, *J. Pharm. Bioallied Sci.*, Apr-Jun: 2(2):72-79.

- Vasir, J.K., Tambwekar, K., Garg, S. (2003), Bioadhesive microspheres as a controlled drug delivery system, *Int. J. Pharm.*, 255, 13-32.
- Verma, V., Jasuja, S. (2008), Current immunosuppression drugs used in transplant: Classification & Status, *Apollo Med*, 5(4): 373-376.
- Wan, K.H., Chen, L.J., Young, A.L. (2015), Efficacy and safety of topical 0.05% cyclosporine eye drops in the treatment of dry eye syndrome: a systematic review and meta-analysis, *The Ocular Surface*, 13(3), 213-225.
- Wang, X., Dai, J., Chen, Z., Zhang, T., Xia, G., Nagai, T., Zhang, Q. (2004), Bioavailability and pharmacokinetics of cyclosporine A-loaded pH-sensitive nanoparticles for oral administration, *J. Control. Release*, 97, 421-429.
- Watt, D.J., Partridge, T.A., Sloper, J.C. (1981), Cyclosporin A as a means of preventing rejection of skeletal muscle allografts in mice, *Transplantation*, 31(4), 266-71.
- Wenger, R.M. (1982), Cyclosporin A, *J Biomed*, 19-31.
- Wenger, R.M., Payne, T.G., Schreier, M.H. (1986), Cyclosporine: chemistry, structure-activity relationships and mode of action, Anonymous Metabolic Control in Diabetes Mellitus Beta Adrenoceptor Blocking Drugs NMR Analysis of Cancer Cells Immunoassay in the Clinical Laboratory Cyclosporine, Springer, 157-191.
- Xia, D., Yu, H., Tao, J., Zeng, J., Zhu, Q., Zhu, C., Gan, Y. (2016), Supersaturated polymeric micelles for oral cyclosporine A delivery: the role of Soluplus-sodium dodecyl sulfate complex, *Colloids Surf, B*, 141, 301-310.
- Yamasaki, K., Kwork, P.C.L., Fukushige, K., Prud'homme, R.K., Chan, H.K. (2011), Enhanced dissolution of inhalable cyclosporine nano-matrix particles with mannitol as matrix former, *Int. J. Pharm.*, 420, 34-42.
- Yazid, M.N.A.W.M., Sidik, N.A.C., Mamat, R., Najafi, G. (2016), A review of the impact of preparation on stability of carbon nanotube nanofluids, *Int J Heat Mass Transf.*, 78, 253-263.
- Yee, G.C., Stanley, D.L., Pessa, L.J., Costa, T.D., Beltz, S.E., Ruiz, J., Lowenthal, D.T. (1995), Effect of grapefruit juice on blood cyclosporin concentration, *Lancet*, 345, 955-6.
- Yin, Q., Pei, Z., Wang, H., Zhao, Y. (2014), Cyclosporine A-nanoparticles enhance the therapeutic benefit of adipose tissue-derived stem cell transplantation in a swine myocardial infarction model, *Int. J. Nanomedicine*, 9, 17-26.
- Yu, H., Xia, D., Zhu, Q., Zhu, C., Chen, D., Gan, Y. (2013), Supersaturated polymeric micelles for oral cyclosporine A delivery, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 85, 1325-1336.
- Zhang, H., Zhai, Y., Wang, J., Zhai, G. (2016), New progress and prospects: the application of nanogel in drug delivery, *Mater. Sci. Eng. C.*, 60, 560-568.
- Zhang, L., Gu, F.X., Chan, J.M., Wang, A.Z., Langer, R.S., Farokhzad, O.C. (2008), Nanoparticles in medicine: therapeutic applications and developments, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 83(5), 761-769.
- Zhang, L., Zhao, Z., Wei, X., Liu, J. (2013), Preparation and *in vitro* and *in vivo* characterization of cyclosporin A-loaded, PEGylated chitosan-modified, lipid-based nanoparticles, *Int. J. Nanomedicine*, 8, 601-610.
- Zhang, X., Yi, Y., Qi, J., Lu, Y., Tian, Z., Xie, Y., Yuan, H., Wu, W. (2013), Controlled release of cyclosporine A self-nanoemulsifying systems from osmotic pump tablets: near zero order release and pharmacokinetics in dogs, *Int. J. Pharm.*, 452, 233-240.
- Zhou, X.Q., Wei, R.L. (2014), Topical cyclosporine A in the treatment of dry eye: a systematic review and meta-analysis, *Cornea*, 33(7), 760-767.