

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**OKÜLER UYGULAMAYA YÖNELİK
NANOTAŞIYICILARIN HAZIRLANMASI**

MELTEM EZGİ DURGUN KILIÇ

**DANIŞMAN
PROF. DR. YILDIZ ÖZSOY ERGİNER**

**FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI/
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2019

DOKTORA TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Farmasötik Teknoloji Programında Doktora öğrencisi Meltem Ezgi Durgun Kılıç tarafından Prof. Dr. Yıldız Özsoy Erginer'in danışmanlığında hazırlanan Oküler Uygulamaya Yönelik Nanotaşıyıcıların Hazırlanması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 31/05/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.



Jüri Başkanı
Prof. Dr. Ahmet Oğul Araman
İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Teknoloji ABD



Jüri-Danışman
Prof. Dr. Yıldız Özsoy Erginer
İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Teknoloji ABD



Jüri
Prof. Dr. Sevgi Güngör
İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Teknoloji ABD



Jüri
Prof. Dr. Çetin Taş
Yeditepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Teknoloji ABD



Jüri
Doç. Dr. Evren Homan Gökçe
Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Teknoloji ABD

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Meltem Ezgi DURGUN KILIÇ

İTHAF

Doktora eğitimime başlarken yanımda olup yolculuğum sırasında kaybettiğim
Anneannem Bedriye Altuncu'ya / Dedem Rüstem Durgun'a / Amcam Enver Yıldız'a /
Büyük babaannem Ayşe Durgun'a /
Hocalarım Prof. Dr. Nurşen Ünlü ve Prof. Dr. Ünsal Çalış'a ithaf ediyorum.
Saygı, minnet ve tarifi mümkün olmayan özlemle...

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim sürecince bilgisi ve sıcakkanlılığı ile desteğini her an hissettiğim, özellikle karşıma çıkan aksiliklerin üstesinden gelebilme konusunda çözüm odaklılığı ve yapıcılığı ile bana yol gösteren ve idolüm olan danışman hocam Prof. Dr. Yıldız Özsoy Erginer'e;

Çalışmalarımın ve deney prosedürlerinin değerlendirilmesinde danışman hocam gibi özveride bulunan ve sıcakkanlılığını her zaman hissettiren Prof. Dr. Sevgi Güngör'e;

Deney çalışmalarına başladığım ilk günden itibaren önceki çalışmalarına ait deneyimlerini aktaran, okulda bulunamadığım günlerde benim için proje evrak takiplerini yapan Dr. Öğr. Üyesi Emine Kahraman'a;

Yardım ve desteklerinden dolayı Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ahmet Oğul Araman'a;

Etken maddemin teminini sağlayan Deva Holding'e;

Deneylerde kullandığım gözlerin temininde ve saklanmasıyla üstün bir çaba gösteren amcam Veteriner Hekim İhsan Kenanoğlu'na;

Yardımları, motive edici konuşmaları ve arkadaşlıkları için Ar. Gör. Burcu Mesut ve Aslı Gürbüz'e, Farmasötik Teknoloji ABD linsansüstü eğitim öğrencileri Neriman Aybilek, Elmira Kalami, Kübra Çakmak, Betül Gökçe ve Ece Özcan'a;

Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı'nın tüm personeline;

Hayatımın her anında sevgilerini ve desteklerini hissettiğim, üretmek yaşamın değerini öğretti, eğitimimin en zor zamanlarında aynı konuları bıkmadan dinleyen, motivasyonumun düştüğü her seferde bana tekrar mücadele isteği aşılayan annem, babam, ağabeyim, kardeşim Pınar ve eşime teşekkür ederim.

Ec. Meltem Ezgi Durgun Kılıç

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 20958

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xiv
ÖZET	xvi
ABSTRACT.....	xvii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Gözün Anatomisi, Fizyolojisi ve Farmakokinetiği.....	2
2.1.1. Gözün Anatomisi ve Fizyolojisi	2
2.1.2. Gözün Farmakokinetiği.....	6
2.2. Oküler İlaç Modelleri.....	12
2.2.1. Konvansiyonel İlaçlar	12
2.2.2. İlaç Taşıyıcı Sistemler.....	13
2.2.3. Oküler Geçişin Artırılmasına Yönelik Yeni Yaklaşımlar.....	18
2.3. Nanomiseller	20
2.3.1. Kritik Misel Konsantrasyon (CMC)	21
2.3.2. Nanomisellerin Yapısı.....	22
2.3.3. Misel Üretim Teknikleri.....	24
2.3.4. Misellerde İlaç Salımını Etkileyen Faktörler	26
2.3.5. Miseller Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları	27
2.4. Oküler Enflamasyonlar	28
2.4.1. Keratit.....	28
2.4.2. Endoftalmi.....	34
2.4.3. Uveit.....	36
2.4.4. Sklerit	37
2.4.5. Konjunktivit	44

2.5. Posakonazol (PSC).....	45
2.5.1. Fizikokimyasal Özellikler	45
2.5.2. Etki Mekanizması	47
2.5.3. Farmakokinetik Özellikler	47
2.5.4. Farmakodinamik Özellikler	56
2.5.5. PSC'nin Oküler Kullanımına Yönelik Çalışmalar	62
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	64
3.1. Araç ve Gereçler	64
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	64
3.1.2. Kullanılan Aletler.....	65
3.2. Yöntem.....	66
3.2.1. PSC Üzerinde Yapılan Çalışmalar	66
3.2.2. Oküler Misel Formülasyon Çalışmaları	71
3.2.3. Misel Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları	87
3.2.4. <i>In vitro</i> Salım Çalışmaları	89
3.2.5. Sığır Kornea ve Sklera Dokularında <i>Ex Vivo</i> Geçiş Çalışmaları	89
3.2.6. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması.....	91
3.2.7. İstatistiksel Değerlendirmeler	92
4. BULGULAR.....	93
4.1. PSC Üzerinde Yapılan Çalışmalar	93
4.1.1. FTIR Spektrumu	93
4.1.2. Erime Derecesi Tayini	93
4.1.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini	94
4.1.4. PSC'nin Çözünürlük Tayini	99
4.1.5. PSC'nin 37 °C'de Stabilesinin Tayini	100
4.2. Misel Formülasyonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar	100
4.2.1. Ön Formülasyon Çalışmaları	100
4.3. Misel Formülasyonlarının Karakterizasyonu.....	114
4.3.1. Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Tayini.....	114
4.3.2. Zeta Potansiyel Tayini	118
4.3.3. AFM ile Misellerin Morfolojilerinin Tayini	120
4.3.4. Misellerdeki PSC Miktarının ve PSC Yükleme Etkinliğinin Tayini	121
4.3.5. Stabilitate	121

4.4. <i>In vitro</i> Salım Çalışmaları	146
4.5. Sığır Kornea ve Sklera Dokularında <i>Ex Vivo</i> Geçiş Çalışmaları	147
4.5.1. <i>Ex Vivo</i> Geçiş ve Biyoadhezyon Çalışmaları.....	147
4.6. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması.....	150
5. TARTIŞMA	154
5.1. PSC Üzerinde Yapılan Çalışmalar	155
5.1.1. FTIR Spektrumu	155
5.1.2. Erime Derecesi Tayini	155
5.1.3. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini	155
5.1.4. PSC'nin Çözünürlük Tayini.....	156
5.1.5. PSC'nin 37 °C'de Stabilesinin Tayini	156
5.2. Misel Formülasyonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar	156
5.2.1. Ön Formülasyon Çalışmaları	156
5.3. Misel Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları	159
5.3.1. Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Tayini.....	159
5.3.2. Zeta Potansiyel Tayini	160
5.3.3. AFM ile Misellerin Morfolojilerinin Tayini	161
5.3.4. Misellerdeki PSC Miktarının ve PSC Yükleme Etkinliğinin Tayini	161
5.3.5. Stabilitate	162
5.4. <i>In vitro</i> Salım Çalışmaları	166
5.5. Sığır Kornea ve Sklera Dokularında <i>Ex Vivo</i> Geçiş Çalışmaları	167
5.6. Sonuç.....	170
KAYNAKLAR	171
HAM VERİLER	199
FORMLAR	200
ETİK KURUL KARARI	201
PATENT HAKKI İZNİ	202
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	203
ÖZGEÇMİŞ	204

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Gözün anatomik ve fizyolojik parametreleri	11
Tablo 2-2 Skleritin sınıflandırılması.....	40
Tablo 2-3: Yükselen-tek dozlu bir çalışmada oral uygulama sonrası PSC'nin plazmadaki farmakokinetik parametreleri ^a	50
Tablo 2-4: Günde iki kere oral PSC uygulanan yükselen-çok dozlu bir çalışmada 14 gün sonundaki plazmadaki farmakokinetik parametreleri ^a	51
Tablo 2-5: Bazı tiazol grubu antifungallere ait farmakokinetik parametreler	52
Tablo 2-6: Hastalarda tek doz 300 mg PSC'nin, iv uygulandıktan sonraki farmakokinetik parametreleri.....	53
Tablo 2-7: Antifungal ajanların sıklıkla karşılaşılan invazif mantar patojenlerine karşı aktivite spektrumu.....	57
Tablo 2-8: Farklı suşlara karşı antifungal ajanların MIC değerleri	60
Tablo 3-1: HPLC ile miktar tayininde kullanılan kromatografik koşullar	67
Tablo 3-2: HPLC validasyon çalışmaları için hazırlanan çözelti konsantrasyonları ve kullanılan stok çözelti miktarları	68
Tablo 3-3: Ön formülasyon çalışmasında üretilen formülasyonlar ve alınan sonuçlar ..	73
Tablo 3-4: Ön formülasyon çalışmaları sonunda seçilen dört formülasyon	80
Tablo 3-5: Üretilen formülasyonlara ait kodlar	86
Tablo 4-1: PSC'nin HPLC yöntemi ile miktar tayini validasyonunun doğrusalılık çalışmasına ait bulgular (n=3).....	95
Tablo 4-2: PSC'nin HPLC yöntemi ile miktar tayini validasyonunun doğruluk çalışmasına ait bulgular (n=3).....	96
Tablo 4-3: PSC'nin HPLC yöntemi ile miktar tayini validasyonunun günler içi kesinlik çalışmasına ait bulgular (n=3).....	96
Tablo 4-4: PSC'nin HPLC yöntemi ile miktar tayini validasyonunun günler arası kesinlik çalışmasına ait bulgular (n=3).....	97
Tablo 4-5: PSC'nin HPLC yöntemi ile miktar tayininin stabilitesine ait bulgular (n=3)	98
Tablo 4-6: PSC'nin farklı ortamlarda çözünürlük çalışmasına ait bulgular (n=3).....	99
Tablo 4-7: PSC'nin 37 °C'de % 0,1 SLS (a/h) içeren yapay gözyaşı ortamında içerisindeki stabilitesine ait bulgular (n=3)	100

Tablo 4-8: Önformülasyon çalışmasında hazırlanan formülasyonlar ve alınan sonuçlar	106
Tablo 4-9: Üretilen misellerin partikül büyüklüğü ve dağılımı (n=3).....	114
Tablo 4-10: Üretilen misellerin zeta potansiyel değerleri (n=3).....	118
Tablo 4-11: Üretilen misellerdeki PSC miktarı ve yükleme etkinliği (n=3)	121
Tablo 4-12: Stabilite çalışması sonrası yapılan partikül büyüklüğü ve dağılımı tayinine ait bulgular (n=3)	123
Tablo 4-13: Stabilite çalışması sonrası yapılan zeta potansiyel tayinine ait bulgular (n=3).....	128
Tablo 4-14: F191 kodlu tüm formülasyonların 25 ± 2 °C, % 60 ± 5 bağıl nem ortamında 180. günlük stabilite çalışmasına ait PSC'nin miktar tayini ve % içerik çalışması sonuçları (n=3).....	133
Tablo 4-15: F191 kodlu tüm formülasyonların 40 ± 2 °C, % 75 ± 5 bağıl nem ortamında 180. günlük stabilite çalışmasına ait PSC'nin miktar tayini ve % içerik çalışması sonuçları (n=3).....	134
Tablo 4-16: F195 kodlu tüm formülasyonların 25 ± 2 °C, % 60 ± 5 bağıl nem ortamında 180. günlük stabilite çalışmasına ait PSC'nin miktar tayini ve % içerik çalışması sonuçları (n=3).....	135
Tablo 4-17: F195 kodlu tüm formülasyonların 40 ± 2 °C, % 75 ± 5 bağıl nem ortamında 180. günlük stabilite çalışmasına ait PSC'nin miktar tayini ve % içerik çalışması sonuçları (n=3).....	136
Tablo 4-18: F206 kodlu tüm formülasyonların 25 ± 2 °C, % 60 ± 5 bağıl nem ortamında 180. günlük stabilite çalışmasına ait PSC'nin miktar tayini ve % içerik çalışması sonuçları (n=3).....	137
Tablo 4-19: F206 kodlu tüm formülasyonların 40 ± 2 °C, % 75 ± 5 bağıl nem ortamında 180. günlük stabilite çalışmasına ait PSC'nin miktar tayini ve % içerik çalışması sonuçları (n=3).....	138
Tablo 4-20: F207 kodlu tüm formülasyonların 25 ± 2 °C, % 60 ± 5 bağıl nem ortamında 180. günlük stabilite çalışmasına ait PSC'nin miktar tayini ve % içerik çalışması sonuçları (n=3).....	139
Tablo 4-21: F207 kodlu tüm formülasyonların 40 ± 2 °C, % 75 ± 5 bağıl nem ortamında 180. günlük stabilite çalışmasına ait PSC'nin miktar tayini ve % içerik çalışması sonuçları (n=3).....	140

Tablo 4-22: Stabilit� çalışması sonrası yapılan pH ölçümlerine ait bulgular	142
Tablo 4-23: Üretilen formülasyonların ve seyreltilmiş PSC süspansiyonunun Franz difüzyon hücrelerindeki PSC salım çalışması sonuçları (n=6)	146
Tablo 4-24: Üretilen formülasyonların ve seyreltilmiş PSC süspansiyonunun sığır korneasındaki <i>ex vivo</i> PSC geçiş çalışması sonuçları (n=6)	148
Tablo 4-25: Üretilen formülasyonların ve seyreltilmiş PSC süspansiyonunun sığır sklerasındaki <i>ex vivo</i> PSC geçiş çalışması sonuçları (n=6)	149



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Gözün anatomik yapısı.....	2
Şekil 2-2: Göze ilaç uygulama yolları ve ilacın geçtiği dokular.....	12
Şekil 2-3: Oküler taşıyıcı sistemlerin şematik gösterimleri.....	20
Şekil 2-4: Misel oluşumu ve CMC noktası.....	21
Şekil 2-5: Misel üretim yöntemlerinin şematik gösterimi A: Doğrudan çözündürme, ..	26
Şekil 2-6: PSC ve ITC'nin kimyasal yapıları ve uzaysal görünümleri.....	46
Şekil 3-1: Film oluşturma yönteminin şematik gösterimi	82
Şekil 3-2: Y/S emülsiyon yönteminin şematik gösterimi	84
Şekil 3-3: <i>Ex vivo</i> çalışmalarda kullanılan Valia Chain hücreler	90
Şekil 4-1: PSC'nin FTIR Spektrumu.....	93
Şekil 4-2: PSC'ye (50 µg/mL) ait HPLC kromatogramı	94
Şekil 4-3: PSC'nin kalibrasyon doğrusu ve denklemi	95
Şekil 4-4: F191F formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği.....	116
Şekil 4-5: F191F Y/S formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği.....	116
Şekil 4-6: F195F formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği.....	116
Şekil 4-7: F195F Y/S formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği.....	117
Şekil 4-8: F206F formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği.....	117
Şekil 4-9: F206F Y/S formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği.....	117
Şekil 4-10: F207F formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği.....	118
Şekil 4-11: F207F Y/S formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği.....	118
Şekil 4-12: F206 koflu formülasyonun AFM görüntüsü (500 nm x 500 nm)	120
Şekil 4-13: Üretilen formülasyonların ve PSC süspansiyonun zamana karşı % salım grafiği.....	147
Şekil 4-14: Üretilen formülasyonların ve PSC süspansiyonun sığır korneasındaki <i>ex vivo</i> zamana karşı % geçiş grafiği	148
Şekil 4-15: Üretilen formülasyonların ve PSC süspansiyonun sığır skleradaki <i>ex vivo</i> zamana karşı % geçiş grafiği	149
Şekil 4-16: Üretilen formülasyonların ve PSC süspansiyonun zamana karşı % salım grafiği ve kalibrasyon doğruları.....	151

Şekil 4-17: Üretilen formülasyonların ve PSC süspansiyonun zamana karşı % kornea geçiş grafiği ve kalibrasyon doğruları	152
Şekil 4-18: Üretilen formülasyonların ve PSC süspansiyonun zamana karşı % sklera geçiş grafiği ve kalibrasyon doğruları	153
Şekil 5-1: Çalışmada kullanılan kopolimerlerin ve sürfaktanların kimyasal yapıları...	158



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

PSC	Posakonazol
ITC	İtrakonazol
VRC	Vorikonazol
FLC	Flukonazol
CsA	Sisklosporin A
i.v.	İntra Venöz
g	Gram
mg	Miligram
µg	Mikrogram
ng	Nanogram
L	Litre
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
°C	Santigrat Derece
mM	Mili Molar
CMC	Kritik Misel Konsantrasyon
T _m	Erime Sıcaklığı

Tg	Camsı Geçiş Sıcaklığı
UV	Ultra Violet
PDI	Poli Dispersite İndeksi
AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
DMSO	Dimetil Sülfoksit
TPGS-PEG 1000	D- α -Tokoferol polietilen glikol 1000 suksinat
PEG-PLL 2000	Poli(etilen glikol)-blok-poli-L-laktid
Pluronik F127	Polietilen glikol-b-polipropilen-b-polietilen glikol
Pluronik F68	Polietilen glikol-b-polipropilen-b-polietilen glikol
PEG-PCL 2000	Poli(etilen glikol)-blok-poli(ϵ -kaprolakton
PEG-PCL 5000	Poli(etilen glikol)-blok-poli(ϵ -kaprolakton
Lipoid PE 18:0/18:0-PEG 2000	N-(Karbonil-metoksipolietilenglikol-2000)-1,2-distearol-sn-glisero-3-fosfoetanolamin Na Tuzu / MPEG-2000-DSPE Na Tuzu

ÖZET

Durgun Kılıç ME. Oküler Uygulamaya Yönelik Nanotaşıyıcıların Hazırlanması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Teknoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2019.

Gözün anatomik ve fizyolojik yapısı sebebiyle herhangi bir oküler hastalıkta fırsatçı patojenler aktifleşmektedir. Bu sebeple ülkemizin de bulunduğu iklim kuşağında normalde düşük insidanslı olması beklenen oküler fungal enfeksiyonlara daha sık rastlanılabilmektedir. Fungal oküler hastalıklar, seyri ve sonuçları açısından en tehlikeli göz hastalıklarındandır ve vakit kaybetmeden tedavi edilmelidir. Tedavide oral NSAİİ, sistemik/topikal steroidler ve kortikosteroidler, infektif ajan belirlendiğinde ise antibiyotik veya antifungaller kullanılmaktadır. Ancak antifungal bir ajanın oküler formu mevcut değildir.

Miseller, partiküler haldeki maddelerden oluşan koloidal dispersiyonlardır. Polimer/süpfaktan, kritik misel konsantrasyon üzerinde kendi kendilerine miseler yapı kazanırlar. Kontrollü ilaç salımı, hedefleme, hidrofobik ilaçların çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını artırma, toksisitede azalma, geniş ölçekli ve tekrarlanabilir hazırlanabilmeleri gibi avantajları vardır. Farklı etkin maddeler miseller formda göze uygulanmış ve misellerin inflamasyon bölgesinde biriktiği kanıtlanmıştır.

Posakonazol, antifungal tedavide en çok tercih edilen tiazol grubuna dahil bir antifungaldir. Posakonazolün dirençli keratit ve sklerokeratit tedavisinde kullanıldığı vaka çalışmalarında piyasadaki tablet formu oral, süspansiyon formu seyreltilerek topikal kullanılmıştır.

Bu çalışmada, kopolimer/süpfaktan kullanılarak üretilen posakonazol misellerinde karakterizasyon, stabilite, *in vitro* salım, *ex vivo* korneal ve skleral geçiş, hücre kültürü çalışmaları yapılmıştır.

Anahtar Kelimer: Polimerik/Süpfaktan Misel, Posakonazol, Oküler İlaç Taşıyıcı Sistem, Oküler İlaç Salımı

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 20958

ABSTRACT

Durgun Kilic ME. Preparation of Nanocarriers for Ocular Administration. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Pharmaceutical Technology. PHD Thesis. İstanbul. 2019.

Opportunistic pathogens are activated in any ocular disease, because of the anatomical and physiological structure of the eye. For this reason, ocular fungal infections, which are expected to be less in the climate zone where our country is located, are more common. Fungal ocular diseases are one of the most dangerous eye diseases due to their course and outcome and should be treated promptly. Ocular inflammation can be treated with oral NSAIDs, systemic/topical steroids and corticosteroids. If the infected agent has diagnosed, antibiotics or antifungal agents may be preferred. However, an ocular form of an antifungal agent is not available.

Micelles are colloidal dispersions which form dispers phase in dispersion medium. Polymers/surfactans have the affinity to self-assemble into micelles above the critical micelle concentration. They can provide many advantages as controlled and targeted drug delivery, solubilization of poorly soluble drugs, increase the bioavailability, reduced toxicity and easy preparation of large quantities and reproducible generating. Different active ingredients have been applied to the eye in the form of micelles and the micelles have been accumulate in the inflammation area.

Posaconazole is an antifungal agent from thiazoles which is the most preferred group in antifungal therapy. There have been case studies of keratitis and sclerokeratitis in literature which are treated by orally and topical posaconazole. The suspension form of posaconazole was used topical treatment after diluted.

In this study, characterization, stability, *in vitro* release, *ex vivo* corneal and scleral transition, cell culture studies were performed in posaconazole micelles produced using copolymer / surfactant.

Keywords: Polymeric/Surfactan Micelle, Posaconazole, Ocular Drug Delivery System, Ocular Drug Release

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 20958

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Fungal kökenli göz hastalıkları, tüm oküler hastalıklar içerisinde oldukça az oranda görülse de komplikasyonlar yönünden en tehlike olanı gruptur (1). Fungus infeksiyonlarının tedavisinde temel olarak kullanılan tiazol grubu antifungal ajanların mevcut bir oküler formu yoktur (2). Bu sebeple mevcut ajanlarla sistemik tedavi uygulanmaktadır. Ancak bu durum da ciddi yan etkilerin görülebilmesine ve biyoyararlanımın oldukça düşük olmasına sebep olmaktadır (3). Biyoyararlanımı yüksek ve daha az yan etkiye sahip, oküler formda terapötik alternatiflerin geliştirilmesi önemlidir.

Konvansiyonel oküler uygulanan ilaçlarda karşılaşılan en temel sorun, oküler bariyerlerin geçilememesi ve gözde kalış süresinin çok az olmasıdır (4-6). Bu nedenle, yeni ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi önem taşımaktadır. Nanotaşıyıcılardan olan miseller, kontrollü ilaç salımı ve hedeflendirme yapabilme, kontrollü salım yaptıkları için ilaçların toksisitesini azaltma, lipofilik ilaçlarının çözünürlüğünü artırma, büyük ölçekli ve tekrarlanabilir şekilde hazırlanabilmeleri gibi birçok avantaja sahiptirler (7). Misellerin inflamasyon bölgesinde biriktiği kanıtlandığından (8,9), ağır inflamasyonun eşlik ettiği fungal oküler hastalıklarda hedef bölgede birikim sağlanarak biyoyararlanımın artırılabilmesi söz konusudur.

Posakonazol, tiazol grubu antifungal bir ajandır, oral ve intravenöz (i.v.) yoldan kullanılmaktadır (2). Posakonazolün hedef bölgeye kolayca taşınabileceği, düşük dozda uygulanabileceği ve hasta uyuncu yüksek bir ilaç taşıyıcı sisteme gereksinim bulunmaktadır.

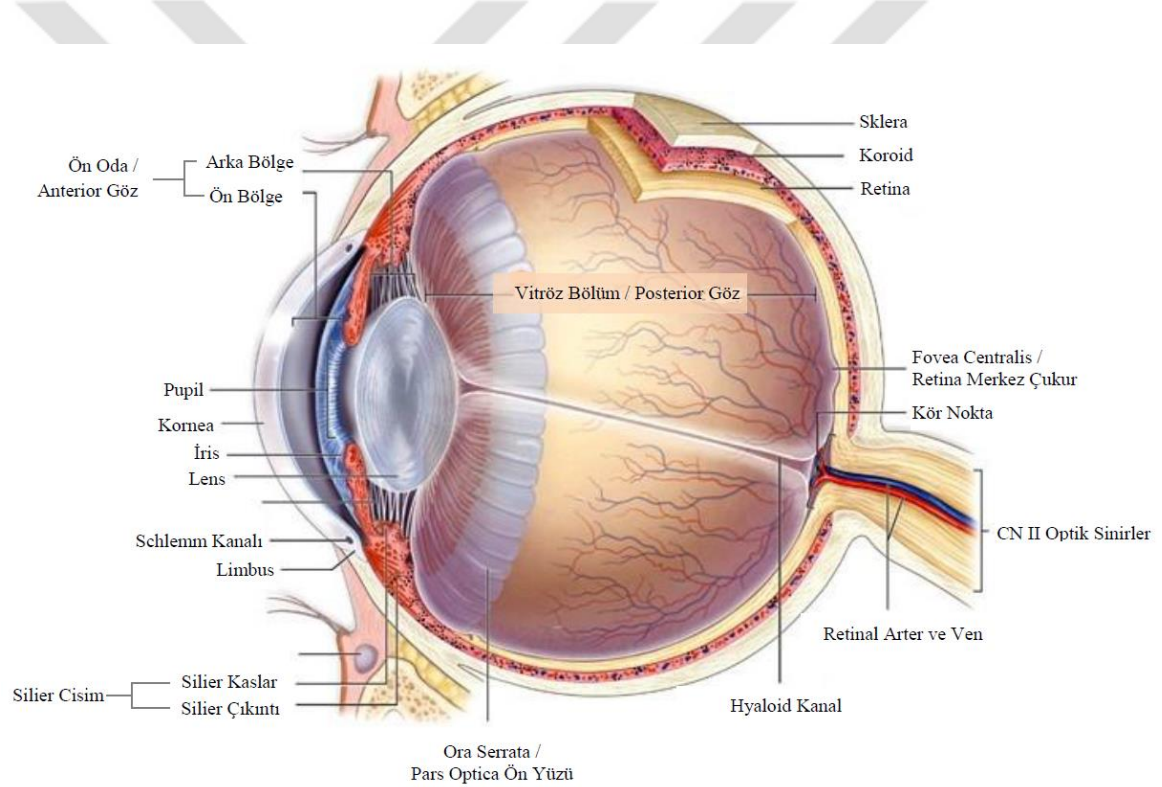
Çalışmamızda kör edici komplikasyon riski yüksek olan fungus kökenli oküler hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere, birinci basamak tedavi ajanı olarak belirtilen tiazol grubu antifungallerin içerisindeki en etkin molekül olan posakanozül oküler formunu geliştirmek amaçlanmıştır. Böylece posakonazol molekülünü polimerik misel yapılarına yükleyerek elde edilen bu misellerin oküler dokulara geçişi ve dolayısıyla ilaç etkinliği artırılmış, dokularla temas süresi uzatılmış, yan etkileri azaltılmış bir tedavi seçeneği oluşturulacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gözün Anatomisi, Fizyolojisi ve Farmakokinetiği

2.1.1. Gözün Anatomisi ve Fizyolojisi

Bulbus oculi (göz küresi), *orbita* (göz çukuru) içerisine yerleşmiştir ve orbita kemikleri sayesinde korunmaktadır. Sadece ön yüzü dış ortam ile temas halindedir. Göz küresinin ön-arka uzunluğu normal bireylerde 22-27 mm, çevresi ise 69-85 mm arasındadır (10). Aşağıda Şekil 2-1’de gözün anatomik yapısı ve dokuları görülmektedir (11).



Şekil 2-1: Gözün anatomik yapısı

Lens, gözü anterior ve posterior segment olmak üzere ikiye ayırır. Anterior segmentte kornea, pupil, aköz hümor, iris-silier cisimcik ve lensin anterior bölümüne bakan yüzü, posterior segmentte ise sklera, koroid, retinal pigment epitelyumu, retina ve vitroz hümor bulunmaktadır. Göz küresinin öndeki en çıkıntılı noktası korneanın

merkezini oluşturur ve polus anterior adını alır. Arkadaki en çıkıntılı kısmına da polus posterior denir (12).

Göz küresi dıştan içeriye doğru tunica fibrosa bulbi, tunica vasculosa bulbi ve tunica interna bulbi olmak üzere üç tabakadan oluşur (10). Bu üç tabaka tarafından sınırlandırılmış olan göz küresinin içinde corpus vitreum, lens ve aköz hümör yer alır (13).

2.1.1.1. Tunicae Fibrosa Bulbi (Korneal-Skleral Tabaka)

Göz küresinin fibröz tabakasıdır. Sklera ve kornea'dan oluşur. Kornea göz küresinin ön bölümünde yer alan kalın ve saydam kısımdır (13). Işıklar göze dış tabakanın bu çıkıntılı bölümünden girerler (14). Göz küresinin ön 1/6'sını oluşturur. Yoğun bağ dokusu içerir ve gözün ışığı kırıcı temel yapısı olup göze gelen ışığın ilk ve en çok kırıldığı bölgedir (15). Kan ve lenf damarları yoktur, bu yüzden beslenmesi merkezi kısımlarda aköz hümör'dan, periferik kısımlarda ise limbusun kan damarlarından difüzyonla sağlanır (16).

Kornea: Damarsız olmasına karşılık sinir yönünden zengin bir dokudur (13). Bu oluşumun sebebi daha iyi optik özelliklere ihtiyaç duyulması sebebiyle dokunun evrimleşmesidir. Optik özelliklerine ek olarak ayrıca göz için önemli bir koruyucu işlev görür (17). Kornea önden arkaya doğru beş tabakadan oluşur; korneal epitelyum, bowman membranı, stroma ya da substantia propria, descemet membran ve endotel tabakası ya da epitelyum posterius (18,19).

Korneal epitelyum, kornea kalınlığının yaklaşık %10'unu temsil eder ve nonkeratinize, tabakalı skuamöz epitelyumdur (17). Işık mikroskobu, epitelyumu üç katmana ayırmıştır. Bunlar: yüzeysel veya dış skuamöz tabaka, orta veya kanatlı hücre tabakası ve daha derin bazal hücre tabakasıdır. Doku yenilenmesi dış yüzey hücrelerinin gözyaşı filmine doğru dağıtılarak yaklaşık yedi günde gerçekleşir (20,21). Dış yüzey hücreleri 40-60 µm çapında ve 4-6 µm kalınlığındadır (17,21).

Bowman membranı, stromanın hemen önünde, stroma ve hücresel epitelyum arasında yer alan, kollajen fibrillerden oluşan dokudur. Kalınlığı 8-15 µm'dir. Aslında gerçek bir zar değildir. Stromanın en ön kısmının hücresel yoğunlaşmasına bağlı oluşmuştur. Embriyolojik gelişimine bağlı olarak yaralanma sonrasında kendini yenileyememektedir. Epitelyumu stromadan ayıran bir sınırdır (17,20,22,23).

Stroma (Substantia Propria), korneanın %90'ını oluşturmaktadır. Keratositler, kollajen ve hücre dışı matris üreten fibroblastik hücreler, nöral doku ve ilişkili *Schwann* hücrelerinden oluşur. Keratositler stromanın %3-5'i oluşturmakta ve stromal matrisi korumaktadır. Kollajenler ise korneanın elastikiyetini ve şeklini sağlar, yapısal bütünlüğünü. Kollajenlerin benzersiz şekli, düzeni ve aralığı korneanın ışık geçiren saydamlığını üretmede esastır (22,24).

Descemet membranı, endotelyum tarafından salgılanan kalın bazal membrandır. Aköz humor ile temas halindedir. Korneaya saydamlık sağlar. Ayrıca, basit difüzyon, kolaylaştırılmış difüzyon ve aktif transport mekanizmaları ile besinlerin geçişi ve atıkların uzaklaştırılması için önemli bir sistemdir (17,20,24).

Korneal endotelyum (epitelyum posterius) gözün anterior ve posterior bölümlerindeki sıvı dengesini içerdiği Na^+ , K^+ -ATPaz pompaları ile sağlamaktadır. Aynı zamanda aköz humor için bariyer görevi görmekte ve korneaya saydamlığını sağlamaktadır (22,24). En düşük mitotik aktiviteye (mitoz bölünen) sahip hücre tabakasıdır (25). Bu sebeple endotel tabakada meydana gelen bir hasar potansiyel olarak diğer korneal tabakalara göre daha ciddidir. Endotel hücre iskeletinde hücre kaybına ve geri dönüşsüz hasara neden olabilir. Bu sebeple görme fonksiyonunda ciddi sorunlar ortaya çıkabilir. Böyle bir durumda deneysel tedavi yöntemlerinin dışında sadece kornea nakli ile göz eski fonksiyonlarına tekrar kavuşabilir (26).

Konjunktiva: Göz kapağının iç kısmında yer alan ve sklerayı saran ince bir zarıdır. Korneanın kenarına sıkıca bağlıdır ve *cul-de-sac*'a doğru gevşek kıvrımları vardır. Bu yapısı sayesinde göz rahatlıkla hareket etmektedir. Damar yönünden oldukça zengin bir dokudur. Olası bir doku zedelenmesinde ya da rahatsızlığında gözün hızlıca kızarmasının sebebi budur (27,28).

Konjunktiva keratinize olmayan tabakalı epitel ve goblet hücrelerinden oluşur. Goblet hücreleri tek hücreli bezlerdir ve müsin adı verilen mukozaları kayganlaştırıcı işleve sahip, epitelyum hücrelerini mekanik zedelenmeye karşı koruyan, protein ve karbonhidratlardan oluşan, epiteliyal veya bağ doku kaynaklı, glikoprotein ve mukoprotein karışımından oluşan, mukusun ana maddesi yapışkan sıvıyı salgılar. Salgılanan müsin gözün kaygan yapısını sağlar, göze mikroorganizmaların girişini engelleyerek gözün korunmasına yardımcı olur ve gözyaşı filminin yüzey gerilimini azaltır. Bu hücreler günde 2,2 ml mukoza üretebilir (27).

Sklera: Kolajen liflerden oluşan, opak beyaz ve elastik dokudur. Yapısını oluşturan kollajen liflerinin düzensiz dizilimi sebebiyle opaktır. Omurgalı gözünün en dıştaki güçlü, kalın ve dayanıklı fibröz bir tabakadır. Korneaya doğru kalınlığı artar. Genel kalınlığı ise cinsiyetler arasında değişiklik göstermektedir. Erkeklerde kadınlara göre daha kalındır. Temel işlevi gözün bölümleri arasındaki hidrostatik basınca karşı koyarak gözün şeklinin korumaktır (15,27). Sklera 5 bölümden oluşur (29):

Tenon kapsülü, skleral yüzeye paralel uzanan, radyal olarak düzenlenmiş, kompakt kollajen demetlerinden oluşan tabakadır. Kornea ile skleranın halka şeklindeki birleşme sınırı yani korneoskleral limbustaki anterior merkezden, konjunktival dokuya ve episkleraya bağlanır. İnce ara bağlantı trabekülleriyle bağlandığı episklere üzerinde serbestçe hareket eder (29).

Episklere, tenon kapsülüne bağlanan kolajen ve gevşek lifli, elastik dokulardan oluşan skleranın en dış kısmıdır. Yapısındaki kollajen demetleri, tenon kapsülünün aksine sklera üzerinde bağımsız hareketini engelleyecek şekilde kan damarlarının duvarlarına sıkı bir şekilde bağlıdır. Tenon kapsülü ekleri limbus yakınında yoğunlaşır ve episkleranın sadece çok ince kollajen bantları ile kapsüle bağlandığı ekvatora doğru ilerler. Episklerada melanositler, az miktarda makrofaj ve yine az miktarda elastik doku bulunabilir. Birkaç miyelinli ve miyelinsiz sinir lifleri de, çoğunlukla damarların etrafında sonlanan episklere içinde dallanır (27,29). Skleral stroma, kollajen lif demetleri, proteoglikanlar, glikoproteinler ve fibroblastlardan meydana gelmiştir ve göz küresinin yüzeyine paralel halde bulunur (29). Diğer göz dokularının aksine 50 µm genişlik ve 6 µm kalınlık ölçüleri ile oldukça büyük çaplıdır (30). Artan iç içe geçme ve lif yoğunluğu, derin sklerada lamel düzenlemesini değiştirirken, Yapısında bulunan kollajen demetleri arasında ve içinde saçılmış elastik lifler bulunur. Bu doku yapılanmasına bağlı olarak skleraya oldukça güçlü ve visko-elastik özellik katar. Skleral visko-esneklik, göz içi basıncının geçici yükselmeleri sırasında gözü yaralanmalara karşı korur (27,29).

Skleral çıkıntı (skleral spur), sklera yüzeyel lifleri ve limbusdaki episkleral liflerin iç içe geçerek oluşturduğu ve oftalmik cerrahlar tarafından tanınan, katarakt astigmatı sonrası önemli bir anatomik işaret olan anatomik yapıdır (29).

Limbus, yarı saydam yapılı cerrahi bir işarettir. Aynı zamanda sıra dışı hücresel yapısı ve kök hücrelerin varlığı nedeniyle de önemlidir. İçerdiği kök hücreler sayesinde

bu dokudan yeni kornea epiteli üretilmektedir. Diğer taraftan içeriğindeki antijen sunan hücreler enflamasyon sırasında hem sklera hem de korneada meydana gelen immünolojik değişikliklerde büyük öneme sahiptir (29).

Posterior sklera, skleranın arka bölümüdür. Arkaya doğru devam eden skleral liflerin üçte ikisi, optik sinirin dural kılıfı ile devam eder ve geri kalanı, optik siniri destekleyen kollajenöz bir iskele olan lamina cribrosa'yı oluşturur (29).

2.1.1.2. Tunica Vasculosa Bulbi / Vasküler Tabaka / Uvea

Retina ve sklera arasına yerleşmiş kalın, damarsal tabakadır. Arkadan öne doğru koroid, silier cisimcik ve iristen oluşmuş kesintisiz bir yapıdır. Koroid göz küresinin arka tarafının yaklaşık 5/6'sını oluşturur. Yoğun kılcıl damarlardan oluşmuş pigmentli bir tabakadır. Sklera'nın iç yüzünü ve retinanın *pars optica retinae* denilen parçasını dıştan örter. Silier cisimcik, koroid ile iris arasında yer alır. Aköz hümör üretiminden ve gözün akomodasyonundan yani gözün optik sisteminin çeşitli uzaklıklara uyum yaparak net görmeyi sağlanmasından sorumludur. İris, gözün dıştan renkli olarak görülen bölümüdür. Göze giren ışığın miktarını kontrol eden göz küresinin çevresindeki ayarlanabilir bir diyaframdır (16,18).

2.1.1.3. Tunica Interna Bulbi / Nöral Tabaka, Retina

Göz küresi'nin en içteki nöral, duyuşsal ve ışığa en hassas tabakasıdır. Retina, *stratum pigmentosum* ve *stratum nervosum* olmak üzere iki tabakadan oluşur (31). Retina'ya düşen ışık, fotoreseptör hücrelerde sinir sinyaline çevrilir. Bu impuls nöron zinciri ile nervus opticus vasıtasıyla beyine iletilir (32).

2.1.2. Gözün Farmakokinetiği

Farmakokinetiğin evreleri olan absorpsiyon (emilim), dağılım, metabolizma ve eliminasyon yani ADME bir ilacın vücuttaki zaman seyrini ve hedef bölgeye verilen miktarı belirler. Birbiri ile ilişkili bu süreçlerin anlaşılması, bir ilacın dozunun ve doz sıklığının belirlenmesinde dolayısı ile de ilacın etkinliğinin ve güvenilirliğinin saptanmasında kritik bir öneme sahiptir. Göz, benzersiz anatomisi ve fizyolojisi nedeniyle bir ilacın farmakokinetiğini etkileyen pek çok bariyere sahiptir. Ayrıca ilacın göze uygulanış şekli de farmakokinetiği etkileyen diğer bir önemli parametredir (33,34).

2.1.2.1. Gözün Bariyerleri

Göz, dış ortamla temas halinde olan hayati bir organdır. Sıvıların ya da çözünmüş halde bulunan maddelerin gözün dokuları içerisinde rahatlıkla ilerleyebilmesi bu organ için ciddi riskler taşır. Göz, anatomisi ve fizyolojisine bağlı olarak sıvıların ya da çözünmüş halde bulunan maddelerin gözün anterior ve posterior bölümlerine geçişini sınırlandıran doğal bariyerler içerir. Bu bariyerler aynı zamanda göze uygulanan ilaçların da oküler emilimini dolayısıyla da biyoyararlanımını etkiler. Bu bariyerler anatomik sıra ile; gözyaşı filmi, kornea, konjunktiva, sklera, kan-aköz hümör ya da iris-silier cisimcik, lens ve kan-retina bariyerleridir. Kan-retina bariyeri posterior bölüme ilaç geçişini etkilerken diğer bariyerler anterior bölüme geçişi etkiler.

Gözyaşı Filmi: Kornea ve konjunktivanın yüzeyini kaplayan gözyaşı filmi lipid, sulu ve müsin olmak üzere üç tabakadan oluşur. Kimyasal, mekanik, bakteriyel ya da viral kaynaklı oküler problemlere karşı birincil koruyucu yapıdır. Aynı şekilde göze topikal olarak uygulanan ilaçlar içinde en büyük bariyeri oluşturur (35,36). Topikal uygulanan ilaçlar genellikle göz damlası dozaj formundadır. Bu damlalar *cul-de-sac* adı verilen ve 7-10 µl hacimli bölgeye uygulanmaktadır. Gözyaşının yenilenme hızı da 0.5-2.2 µl dk⁻¹'dir. Ancak herhangi bir ilacın uygulama dozu ise ortalama olarak 20-50 µl'dir. Bölgenin hacmindeki bu ani artış nazolakrimal kanal ile gözden uzaklaştırılır ve sistemik dolaşıma katılır (33,37-39).

Kornea: Gözün anterior bölgesinde, konvansiyonel topikal ilaçlar için önemli bir bariyer görevi görür (40). Korneanın bölümleri olan epitelyum, stroma ve endotelyum farklı polariteye sahip doku oluşumlarıdır. Örneğin epitelyum tabakasında hücrelerin dizilimine bağlı olarak 12-16 kohm-cm² aralığında yüksek şant direnci vardır ve *sıkı* yapılı doku olarak kabul edilir (4). Bu sıkı bağlantı yapılar epitelyuma lipofilik bir karakter katar. Stroma ise yapısındaki kollajen lifleri sebebiyle yüksek hidrofilik karakterdedir. Bu sebeple epitelyum hidrofilik ilaçların geçişini engellerken, stroma da lipofilik ilaçların geçişi için bariyer görevi görür. Korneanın en iç tabakası olan endotelyumda pasif taşıma yöntemi ile büyüklükleri 70 kDa'na ($1,162 \times 10^{-19}$ gram) kadar olan moleküller geçiş yapabilmektedir (33,34,38-40).

Konjunktiva: Yapısında bulunan çok sayıda kılcal damarlar ve lenfatik yapılar, uygulanan ilaçların kan ya da lenfatik dolaşım ile seyreltilmesine neden olur. Konjunktiva yapısında da korneadaki gibi epitel hücreler bulunur. Bu epitel hücreler

kornea epitelyumundaki kadar olmasa bile 1,4 kohm-cm²'lik şant direnci ile *sıkı* yapılar kabul edilir ve ilaçlar için bariyer görevi görür. Kornea epitelyumu büyüklükleri 5 kDa'a kadar olan moleküllerin geçişine izin verirken konjunktiva epitel yapısı büyüklükleri 20 kDa'a kadar olan molekülleri geçirebilir. Konjunktiva aslında korneal yol ile uygulanmayan ilaçlar için temel bariyer görevini görür. Korneaya göre hidrofilik ve büyük moleküllerin geçişi için daha uygun bir dokudur. Bu sebeple proteinler ve peptidler gibi daha büyük biyo-organik moleküllerin emilimini artırma amacıyla son yıllarda korneal uygulamayı azaltarak direk konjunktival uygulamaya yönelik oküler ilaçlar üzerinde çalışılmaktadır. Ancak klinikte kullanılan ilaçların pek çoğunun lipofilik karakterde ve küçük moleküller olduğu göz önünde bulundurulduğunda korneal uygulamanın önemini kaybetmeyeceği görülmektedir (4,36,40).

Sklera: Yapısında bulunan kollajen liflere bağlı olarak hidrofilik yapıdadır. Bu sebeple lipofilik yapılı ilaçlar için bariyer görevi görür. Ancak küçük boyutlu lipofilik ilaçlar da hidrofilik ilaçlara benzer sklera permealitesi gösterir. Ayrıca moleküllerin büyüklüğü ve pozitif yüklü olması da skleradan geçişi azaltan diğer parametrelerdir (34,41-44).

Kan-Aköz Hümör Bariyeri / İris-Silier Cisim: Vasküler tabakanın (Tunica Vasculosa Bulbi) dokuları olan iris ve silier cisimcik kan-aköz hümör bariyeri (KAB)'ni oluşturur. Bu bariyer bazı kaynaklarda anterior kan-göz bariyeri olarak da geçebilmektedir (34). Silier cisimcik, göz içi basıncı dengeleyen aköz hümörü üretir. Diğer taraftan bu tabakadaki yoğun kılcıl damarlar sıkı bağlantı noktaları içerir. Bu sıkı bağlantı noktaları, iris yapısındaki epitel hücreler ve aköz hümörün oluşturduğu bariyer hidrofilik ilaçlar için oldukça kısıtlayıcıdır. Küçük moleküller ve lipofilik ilaçlar KAB'ı rahatlıkla geçerek uvea üzerinden sistemik dolaşıma katılabilir. Bu bariyerde meydana gelebilecek bir infalamasyon bariyerin bütünlüğünü bozar. Bu da gözün anterior bölgesine geçen ilaç miktarının kontrol edilmemesine neden olur (4,27,34,41,44,45).

Lens: % 65'i su, geri kalan kısmı da ağırlıklı olarak proteinlerden oluşan göz dokusudur. İçerdiği protein miktarı ile gözün diğer dokularından belirgin bir şekilde ayrılmaktadır. Gözdeki konumlanışı gereği gözün hem anterior bölgesi ile hem de posterior bölgesi ile temas halindedir. Na⁺'a bağlı aktif taşıma ve difüze yani pasif taşımanın etkili olduğu bir dokudur. İlaç moleküllerinin geçişini temel olarak bu sebeple etkilemektedir (4,41).

Kan-Retina Bariyeri: Retina gözün en iç tabakasında yer alır ve yapısında fotoreseptörler, bipolar hücreler, ganglion hücreleri ve kılcal damarlar bulunur. Kan-retina bariyeri (KRB) birkaç faktörün bir araya gelmesi ile oluşmuştur. Öncelikli olarak retina pigment epitel hücreleri Na^+, K^+ -ATPaz pompalarına sahiptir ve bu pompalar sayesinde göz içerisindeki Na^+ ve K^+ iyonlarının dengesini sağlar. Diğer taraftan yapısında bulunan kılcal damarlar sıkı bağlantı noktalarına sahiptir. İlaç moleküllerinin bu sıkı bağlantı noktalarından geçmesi ikinci hız kısıtlayıcı basamaktır. Aynı zamanda bu kılcal damarlardan geçebilen moleküller hızlı bir şekilde sistemik dolaşıma katılırlar ve bu da ilaçların hedef bölgedeki miktarlarını azaltır, dolayısı ile de biyoyararlanım düşer. Son olarak retina yapısındaki ganglion hücreleri sinir hücreleri olup beyin-omurilik bariyerine benzer bir bariyer oluşturur. KRB protein yapılı ve küçük hidrofilik moleküllerin geçişi için bir bariyer görevi görürken lipofilik moleküllerin geçişine müsaade eder. Ancak bu lipofilik moleküllerin de yoğun sistemik dolaşım sebebi ile dağılımı ve eliminasyonu hızlıca gerçekleşir (4,34,36,41).

2.1.2.2. Oküler İlaç Uygulama Yolları

Göze uygulanacak bir ilacın hedef dokusu uygulama yolunu belirlemekteki en önemli faktördür. Hedef bölgedeki etkin madde konsantrasyonu ve eliminasyon hızı tamamen doğru hedefe, doğru yol ile ve doğru formülasyonla ilaç uygulanmasına bağlıdır. Oküler ilaç uygulama yolları gözün anterior bölgesi için topikal, posterior bölgesi için perioküler, skleral, intravitreal ve sistemik olarak sınıflandırılır (34,36).

Topikal Uygulama: Topikal olarak göze uygulanan bir ilaç çok hızlı bir şekilde gözyaşı ile karışır ve tüm göz yüzeyine yayılır. Aslında gözyaşı ile olan bu hızlı karışma durumu aynı zamanda ilacın hızlı bir şekilde seyrelmesine neden olur. Bu seyrelme sonrasında uygulanan ilacın çok az bir bölümü müsin tabakasından difüze olarak kornea dokuları ile temasa geçer. Kornea epitelyumu, stroma ve endotelyum dokularından yavaş yavaş ilerleyen ilaç aköz hümöre ulaştığında iris ve siliyer cisimciklerle de temas eder. Böylece gözün iç dokularına dağılabilir. Ancak topikal uygulandıktan sonra korneal emilim üzerinden bir ilacın en fazla % 10'u intraoküler dokulara ilerleyebilir (4,33,34,46).

Subkonjunktival Uygulama: Perioküler ilaç uygulama yollarından biridir. Kornea epitelyumunun lipofilik karakterdeki ilaçlar için geçirgen olması, hidrofilik ilaçlar için önemli bir bariyer oluşturması, aynı zamanda topikal uygulamada gözyaşı ile

ilacın hızlıca seyreltilmesi intraoküler dokularda yeterli ilaç konsantrasyonuna ulaşılmasını engellemektedir. Bu sebeple ilaçlar için farklı uygulama yolları geliştirilmiştir. Subkonjunktival uygulama da bu yollardan bir tanesidir.

Subkonjunktival uygulama ile korneadan geçemeyen hidrofilik ve büyük yapıli moleküller intraoküler dokulara daha kolay iletilir. Böylece hedef bölgedeki ilaç konsantrasyonu artar. Diğer taraftan hedef bölgedeki ilaç konsantrasyonu arttığı için sistemik uygulamaya yani yüksek doz uygulamasına gerek duyulmaz ve böylece ilacın olası yan etkilerinin görülme ihtimali azalır. Subkonjunktival uygulama aynı zamanda intravitreal enjeksiyona bağıli gelişebilen yan etkilerden de kaçınılmasını sağlar (33,34,46).

Skleral Uygulama: Perioküler ilaç uygulama yollarından bir diğeridir. Sklera hidrofilik, küçük boyutlu lipofilik ilaçlar ve protein gibi büyük yapıli moleküller için geçirgendir. Ayrıca yüzey alanının oldukça büyük olması sklerayı gözün posterior bölümünü hedef alan ilaçlar için elverişli bir uygulama yolu yapar.

Subtenon ya da bilinen diğer ismi ile retrobulbar enjeksiyon da ilacın skleral uygulama yöntemlerinden biridir. Skleraya oldukça yakın bir bölgeye yerleştirilen ilaç bir depo görevi görür ve yavaşça difüze olarak hedef bölgeye ilerler (33,34,36).

İntravitreal Uygulama: Perioküler ilaç uygulama yollarının üçüncü ve son şeklidir. İntravitreal enjeksiyon, gözün posterior segmentini hedef alan ilaçlar için uygulanan etkili yöntemlerden bir tanesidir. Vitröz hümör içerisine yerleştirilen ilaçların farmakokinetiğı difüzyon, hidrostatik basınç, ozmotik basınç, konvektif akış ve aktif taşıma parametrelerine bağıli ve oldukça kompleks yapıdadır. Difüzyona uygun lipofilik ve küçük moleküllerin KRB tarafından eliminasyonu hızlıca gerçekleşir. Uygulanan ilaç büyük moleküler yapıda ve hidrofilikse yani aktif taşımaya uygunsa KRB tarafından eliminasyonu o kadar yavaş olur ve posterior bölge dokuları ile teması o kadar uzun sürer.

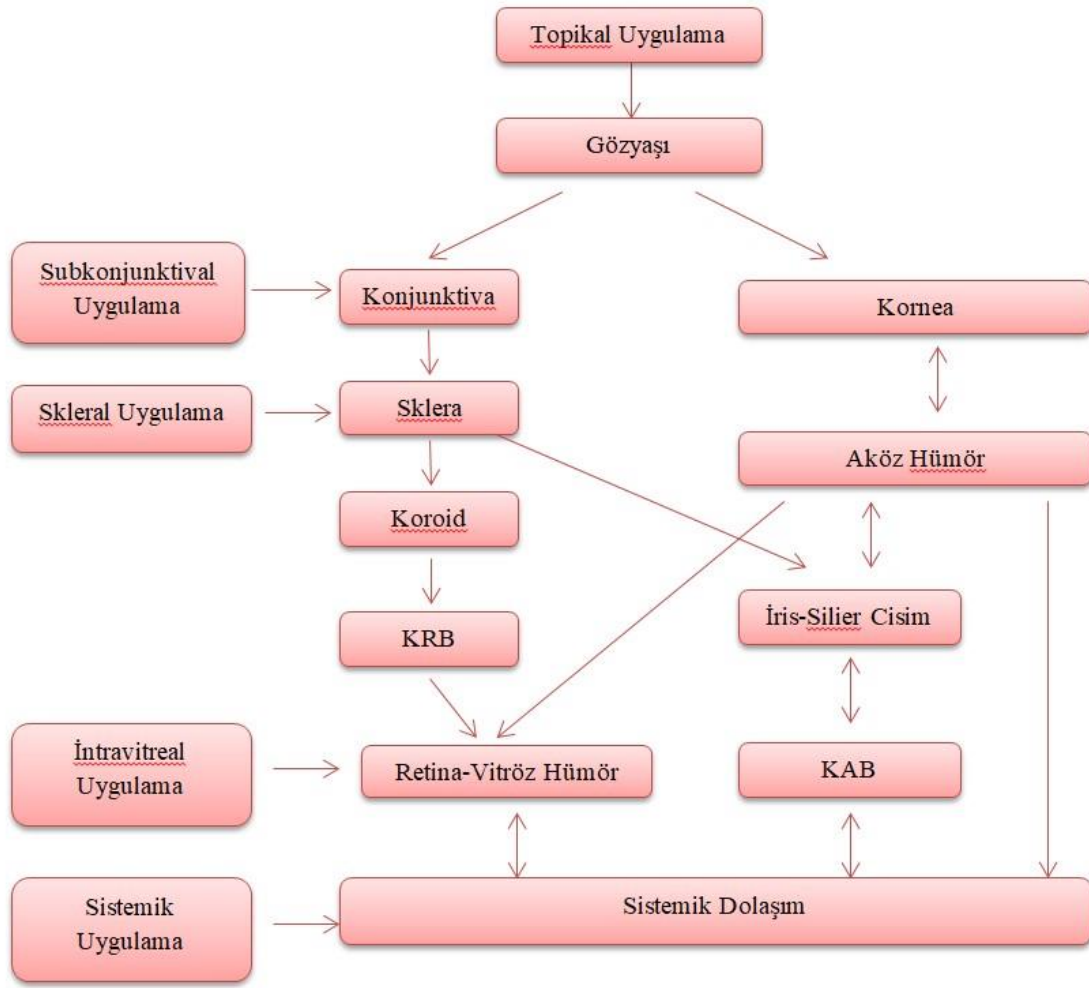
Uygulama esnasında hasta uyuncunda yaşanılabilir problemler, kontaminasyon riski ya da uygulama sonrası katarakt, endoftalmi, kanama görülme ihtimali vardır. Bu sebeple dozlama sıklığı yüksek olan dozaj formları yerine kontrollü ve sürekli salım yapan yeni ilaç taşıyıcı sistemler için uygun bir uygulama yoludur (33,34,36,46).

Sistemik Uygulama: Sistemik ilaç uygulanması lokal ilaç uygulanması ile karşılaştırıldığında tek sefer için ihtiyaç duyulan etkin madde miktarı, dozlama sıklığı ve sistemik toksisite görülme olasılığı daha yüksektir. Bu sebeplerle lokal uygulama imkanı olan durumlarda sistemik uygulamalardan kaçınılır. Diğer taraftan ilaç hedef bölgesinin posterior segment olduğu durumlarda KAB ve KRB'den kaçınma amacıyla ya da hastalığın şiddetine bağılı olarak tek başına ya da kombine sistemik ilaç uygulaması yapılabilir (33,46,47).

Aşağıdaki Tablo 2-1'de ve Şekil 2-2'de gözün farmakokinetiğinde etkili olan göz bariyerleri ve ilaç uygulama yolları özet olarak yer almaktadır (36,47).

Tablo 2-1: Gözün anatomik ve fizyolojik parametreleri

Farmakokinetik faktör	Değer
Göz kırpma hızı	15 kez/dakika
Gözyaşı hacmi	7-10 µl
Gözyaşı pH'sı	7,14-7,82
Gözyaşı osmolaritesi	305 mOsm/L
Gözyaşı yenilenme hızı	0,5-2,2 µl/dakika
Kornea kalınlığı	0,52 mm
Kornea boyutu	12 mm
Aköz hümör hacmi	310 µl
Aköz hümör yenilenme hızı	1,53 µl/dakika



Şekil 2-2: Göze ilaç uygulama yolları ve ilacın geçtiği dokular

2.2. Oküler İlaç Modelleri

2.2.1. Konvansiyonel İlaçlar

Göze uygulanan konvansiyonel dozaj şekilleri çözelti, süspansiyonlar, merhemler ve jellerdir (4-6). Günümüzde piyasadaki ilaçların %90'ı bu gruba girmektedir. Geleneksel ilaçlar olarak da bilinen bu dozaj şekilleri genellikle gözün anterior bölgesini hedef almakta ve posterior bölgedeki olası bir hastalıkta pek bir etki gösterememektedir. Diğer taraftan bu tezde yer alan “2.1.2.1 Gözün Bariyerleri” başlığı altında detaylı olarak anlatılan etkenler sebebi ile oldukça düşük biyoyararlanıma sahiptir. Düşük biyoyararlanımları sebebi ile gün içindeki dozlama sıklıkları yüksektir ve bu durum da hasta uyuncunu düşürmektedir. Ayrıca jeller ve merhemlerin bulanık görmeye sebebiyet vermeleri de hasta uyuncunu düşüren diğer bir faktördür. Tüm bu

negatifliklerin önüne geçebilmek amacıyla gözün belirli dokularını hedef alan ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmektedir.

2.2.2. İlaç Taşıyıcı Sistemler

2.2.2.1. Mikro ve Nanopartiküller

Mikro ve nanopartiküller oküler ilaç taşıyıcı sistemler olarak en sık çalışılan dozaj şekilleridir. Boyutsal olarak mikropartiküllerin tolere edilmeleri nanopartiküllere göre daha zordur. Bu da hasta uyuncunu etkileyebilmektedir. Bu sebeple nanopartiküller daha çok tercih edilen bir çalışma alanıdır (4-6,47). Sahoo ve arkadaşları nanopartikülleri “biyolojik olarak parçalanabilen ya da biyolojik olarak parçalanamayan çeşitli polimerler, lipitler, fosfolipitler ya da metallerden oluşan, 1 µm'den daha küçük çapa sahip parçacıklar” olarak tanımlamaktadır (49). Nanopartiküler sistemlerin avantajları aşağıda maddeler halinde verilmiştir:

- Lipofilik ve hidrofilik ilaçların hepsine uygulanabilen bir yöntemdir (50,51),
- Partikül boyutlarının küçük olması gözde iritasyon yapma olasılığını düşülmektedir (48,52),
- Uzatılmış salım yapan bir dozaj şekli olduğu için dozlama sıklığı azdır. Bu da hasta uyuncunu artırmaktadır (48,52),
- İlacın oküler hücreler ile penetrasyonunu artırmakta, eliminasyon süreçleri konvansiyonel dozaj şekillerine göre yavaş olmakta ve daha iyi bir emilim olmasını sağlamaktadır (48,52),
- İlacı hedef dokuya taşımaktadır (48,52).

2.2.2.2. Mikroemülsiyonlar

Sulu bir faz, yağlı bir faz, bir veya daha fazla yüzey aktif ajan aracılığı ile oluşturulan, termodinamik açıdan yüksek stabiliteye sahip kolloidal disperse dozaj şeklidir. Damlacık büyüklüğü ortalama 100 nm'dir (5,6,39,48). Şeffaf olmaları, termodinamik stabiliteleri, hazırlanmalarındaki kolaylıklar ve çözünürlükleri ve sürfaktan içermeyen diğer dozaj şekillerine göre difüzyon ve absorpsiyonlarının yüksek olması mikroemülsiyonları diğer ilaç taşıyıcı sistemlerden daha avantajlı konuma getirmektedir (52). Hem hidrofilik hem de lipofilik ilaçların çözünürlüklerini artırmaları

ve absorpsiyonlarının yüksek olması, mikroemülsiyonları göze ilaç taşınmasında önemli bir dozaj şekli yapmaktadır. Ayrıca hazırlanan formülasyonların filtrasyon yöntemi gibi basit uygulamalarla sterilize edilebilmesi de mikroemülsiyonların avantajları arasında yer almaktadır (6,48).

2.2.2.3. Nanosüspansiyonlar

Suda çözünürlükleri olmayan ya da çok az olan etkin maddelerin, yüzey aktif ajanların stabilitesini sağladığı uygun bir dispersiyon ortamında süspande edilmeleri ile oluşturulan kolloidal sistemlerdir. Boyutları 1 μm 'den daha küçüktür (5,6,48). Mikroemülsiyonların olası tahriş edici özelliklerini göstermezler. Formülasyon içeriğindeki etkin maddenin çözünürlüğünü artırarak ve ilacın prekorneal bölgede kalış süresini uzatarak oküler biyoyararlanımı artırmaktadırlar (5). Eudragit RS 100® ve RL 100® polimerleri ile yapılan flurbiprofen içeren nanosüspansiyonun, katarakt ameliyatı sırasında gelişebilecek miyoz komplikasyonunu önlemede başarılı sonuçlar verdiği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (54).

2.2.2.4. Lipozomlar

İlk olarak 1960'lı yıllarda Bangham tarafından tanımlanan bu dozaj şeklinde merkezde sulu bir faz yer almaktadır (55). Bu sulu fazın etrafını bir ya da daha fazla sıradaki fosfolipit tabaka sarmaktadır. Yapısında sulu ve lipid bölümler yer aldığı için hem hidrofilik hem de lipofilik ilaçlar için etkili bir dozaj şeklidir (4,48,56,57). 80 nm-100 μm çapa sahip olabilen bu yapı, üretiminde tamamen biyoyumlu ve biyobozunur olan malzemeler kullanıldığı için kısmen non-toksik olarak nitelendirilmektedir (57,58).

Oküler dokulara penetrasyonları yüksek, eliminasyonları düşüktür. Bu da lipozomları oküler alanda etkili bir dozaj şekli yapmaktadır. Kloramfenikol (59), pilokarpin (60), ofloksasin (61), gansiklovir (62), penisilin G (63) ve diklofenak sodyum (64) lipozomları, şimdiye kadar lipozomal oküler ilaç hedeflendirilmesinde bildirilen bazı başarılı çalışmalardandır. Örneğin gansiklovir lipozomlarının uygulandıktan sonraki kornea, iris, lens, vitröz hümör ve skleradaki miktarlarının standart gansiklovir çözeltisine göre 2-10 kat aralığında daha fazla olduğu gösterilmiştir (62). Aynı şekilde penisilin G lipozomlarının da korneal geçişlerinin ve transkorneal geçiş sonrası bölgede biriken miktarının dört kat arttığı görülmüştür (63).

2.2.2.5. Katı Lipid Nanopartiküller (SLN)

1990'lı yıllarda emülsiyon, polimerik nanopartiküller ve lipozomlara alternatif olarak geliştirilmiş ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Çapları ortalama olarak 1 µm'den küçüktür. Progesteron, diazepam gibi pek çok etkin madde için, SLN dozaj formu ile farklı dokulara ilaç hedeflendirilmesi çalışılmıştır (65). Gökçe ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmalarda siklosporin A içeren SLN ilaç taşıyıcı sistemler geliştirmişlerdir. Geliştirilen bu formülasyonların kornea ile temas süresinin siklosporin A çözeltisine göre daha uzun olduğu, ayrıca yapılan çalışmalarda geliştirilen formülasyonların sitotoksik olmadığı ve iritasyona yol açmadığı da gösterilmiştir (66,67).

2.2.2.6. Niozomlar ve Diskozomlar

Niozomlar, lipozomların kimyasal stabilite problemlerine alternatif olarak geliştirilmiş dozaj şeklidir. İyonik olmayan yüzey aktif maddelerin oluşturduğu çift katlı yapıda ve 10-1000 nm boyutundadır. Hem lipofilik hem de hidrofilik yapıları etkin maddelerin yüklenebildiği amfifilik karakterdedir. Yapısal olarak toksik değildir ve biyoyumumluluğu gayet yüksektir (5,6,48).

Niozomlar göze ilaç taşınmasında kullanılabilecek etkili dozaj şekillerinden bir tanesidir. Örneğin göz muayenelerinden ve ameliyatlarından önce kolinerjik etkisi sebebiyle kullanılan siklopentolat etkin maddesini içeren niozomal formülasyon geliştirilmiştir. Geliştirilen bu formülasyon pH bağımsız olarak ilaç salımı gerçekleştirmiş ve oküler biyoyararlanımda önemli ölçüde artışı sağlamıştır (68). Oküler alanda yapılan diğer niozom çalışmalarında timolol (69), asetazolamid (70) ve gentamisin (71) kullanılan etkin madde örnekleridir.

Diskozomlar yapısal olarak niozomlara benzeyen ve disk şeklinde dozaj formudur. *Cul-de-sac* ile daha uyumludur ve büyük boyutları sayesinde oküler drenaja daha dayanaklıdır (72).

2.2.2.7. Dendrimerler

Dendrimerler, yapısal olarak ağaçlara benzedikleri için Yunanca'da ağaç anlamına gelen "dendro" kelimesinden türetilmiş isme sahiptir. Merkezinde bir çekirdek içeren bu dozaj formunda çekirdeğe bağlı fonksiyonel gruplar vardır. Bu fonksiyonel gruplar tek olabileceği gibi birbirine bağlanarak kendini tekrar edebilmektedir.

Fonksiyonel grupların tekrarına ya da başka bir ifade ile polimerizasyon derecesine “jenerasyon sayısı” denmekte ve “G” ile tanımlanmaktadır. Çekirdeğe direk bağlı tek fonksiyonel grup var ise bu dendrimerler G-0 yani sıfırıncı jenerasyon olarak adlandırılmaktadır. Fonksiyonel grupların birbirlerine bağlanarak dallanmaları durumunda diğer jenerasyonlar meydana gelmektedir. Merkeze direk bağlı olan bir fonksiyonel grubun dallanma sayısı örneğin 3 ise o dendrimer 3. jenerasyon ya da G-3 olarak adlandırılmaktadır (5,6,48,72).

Poli-amidoamin (PAMAM), etkin madde yüklenmesi için en sıklıkla kullanılan dendrimerik yapıdır. Hem hidrofilik hem de lipofilik ilaçlar için uygulanabilen sistemlerdir. Oküler alana yönelik ilaç hedeflendirilmesinde göz dokuları ile olan etkileşim süresini artırdığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Oligonükleotid (73), kollajen (74), glukozamin (75), pilokarpin ve tropikamid (76) içeren dendrimerler ile yapılan çalışmalarda etkin maddelerin göz dokuları ile temas sürelerinin arttığı gösterilmiştir. Dendrimerler ile yapılan çalışmalar hala devam etse de uzun süreli oküler toksisistelerine ait bulgular net değildir. Yüksek toksisiteye sahip olduğu ya da kör edici etkisi olduğuna yönelik çalışmalara karşılık toksik olmadığını gösteren bazı çalışmalar da mevcuttur (5,77).

2.2.2.8. Kubozomlar

Sıvı kristaller ile üretilen naonapartiküllere kubozom adı verilmektedir (48). Gan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada deksametazon kubozomlarının ve etil rodamin B (Rh B) çözeltisi ve karbopol jeli içerisindeki nanopartiküllerinin karşılaştırması yapılmıştır. Kubozomların AUC değerinin Rh B çözelti ve jeline göre 2-3 kat artmış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu kubozomal deksametazonun aköz hüümördeki oranı deksametazon göz damlasına göre 1,8 kat daha fazla bulunmuştur (78). Yapılan bu çalışmalar kubozomların oküler ilaç hedeflendirmesinde konvansiyonel dozaj şekillerine alternatif olabileceğini düşündürmektedir.

2.2.2.9. Hidrojeller

Polivinil alkol (PVA) ve karbomer gibi polimerlerin suda üç boyutlu bir ağ oluşturması ile oluşturulan dozaj formu hidrojellerdir. *Cul-de-sac* 'ta ilaç kalma süresini uzatarak biyoyararlanımı artırmaktadırlar. Hidrojellerin en büyük dezavantajı özellikle hidrofobik yapıdaki etkin maddelerin yükleme kapasitesinin düşük olması ve

homojenliğin sağlanmasındaki zorluklardır. Ortamın pH'sı, sıcaklığı ve iyonik kuvvetlerinden etkilenerek viskozitelerinde değişiklik meydana gelebilmektedir. Bu da ürünün fiziksel özelliklerinin ve farmakolojik etkinliğinin sağlanmasında sorunlar yaratabilmektedir (6,72,79).

Hidrojeller önceden jelleştirilmiş sistemler ve *in-situ* yani uygulandıktan sonra doku ile temasına bağlı olarak jelleşen sistemler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (80). Önceden jelleştirilmiş sistemler, göze uygulanan basit yapılı viskoz çözeltilerdir. Hazırlanması için doku ile teması artıracak polimerler kullanılmaktadır. Böylece göz dokuları ile temas süresi uzatılmakta ve dozlama sıklığı azaltılmaktadır (79). Metilselüloz, PVA, sodyum hiyalüronat, hidroksietil selüloz (HEC), sodyum aljinat en sıklıkla kullanılan polimerlere örnek olarak verilebilir (81). Özellikle sodyum hiyalüronat yüksek su tutma kapasitesi ve viskoelastik özellikleri sebebiyle en sık tercih edilen polimerdir (82-84). Göz kuruluğu tedavisinde kullanılan Aqualarm® (Bausch + Lomb, Bridgewater, NJ, ABD), Vismed® (Horus Pharma, Saint-Laurent-du-Var, Fransa) ve HyloTM (Candorvision, Montreal, QC, Kanada) ürünleri piyasada bulunan ve sodyum hiyalüronat ile üretilen hidrojel müstahzarlarına örnektir.

In-situ jelleşen sistemler uygulandığı ortamın pH, sıcaklık ve iyon dengesine bağlı olarak uygulandıktan sonra jelleşen sistemlerdir. Solüsyon halinde uygulanan bu ilaçlar zaman içerisinde bulundukları ortamda jelleşerek göz dokuları ile temas süresini uzatmakta ve biyoyararlanımı artırmaktadır. Özellikle anterior göz hastalıkları için güvenilir, basit ve tekraredilebilir ürünlerdir (85). Ikervis® (Santen, Evry, France) polietilen oksit ile yapılan ve sıcaklığa bağlı *in-situ* jelleşen ilaçlara örnektir. pH'ya bağlı jelleşen sistemlerde karbomerler en çok tercih edilen polimerdir. Geltim® (LP, Thea, Clermont-Ferrand, France) karbomer ve hidroksipropil metil selüloz (HPMC) ile üretilen pH'ya bağlı hidrojel müstahzarıdır. İyon etkisi ile jelleşen sistemler ise *gellan gum* kullanılarak üretilmektedir (79).

2.2.2.10. Oküler İnsertler

Oküler insertler göz kapağı ile skleranın tam arasına, konjunktiva çıkıntısına yerleştirilen dozaj formudur. Gözyaşı sıvısında çözünmeyen, alerjik olmayan ve steril yapıdaki bu ilaçlar HPMC, HEC, jelatin, polivinil pirolidon veya kitosan kullanılarak üretilmektedir. Kontrollü ilaç salımı yapan insertler aynı zamanda ilacın sistemik eliminasyonunu da kısıtlamaktadır. Böylece oküler biyoyararlanım artmaktadır. Ancak

gözde sürekli bir yabancı cisim hissi yaratması gibi psikolojik sebepler, yerleştirilme zorluğu ya da yerleştirildiği bölgeden kayabilmesi gibi durumlar en büyük dezavantajları arasında yer almaktadır. Oküler hipertansiyon tedavisinde kullanılmak üzere pilokarpin içeren Ocusert® bilinen ilk başarılı oküler insertttür (6,72,73).

2.2.2.11. Oküler İmplantlar

Oküler implantlar ve insertler pek çok kaynakta aynı dozaj şekli gibi anlatılsa da temel olarak göze uygulanış şekilleri açısından farklılık göstermektedirler. İmplantlar göze direk uygulanabilen, implantlar ise göze cerrahi olarak yerleştirilen sistemlerdir (86).

2.2.2.12. Oküler Lensler

Direk olarak göz yüzeyine yerleştirilen, ince, şeffaf, göz küresinin şekline göre bombeli yapıda ve yuvarlak sistemlerdir. İçerisine yüklenmiş olan ilacın göz dokusu ile temas süresini artırmaktadırlar. Anterior oküler hastalıkların tedavisi için uygulanabilir yöntemlerdendir. Oksijen geçirgenliğinin olması üretimindeki en önemli zorlayıcı basamaklardan bir tanesidir. Kontaminasyon riski en büyük dezavantajdır ve olası bir kontaminasyon durumunda herhangi bir oküler enflamasyonun gelişmesine neden olabilmektedirler (79,87).

2.2.2.13. Nanomiseller

Nanomiseller, bu tezin ana çalışma konusu olduğu için tezin “2.3.Nanomiseller” başlığı altında detaylı olarak icelenmiştir.

2.2.3. Oküler Geçişin Artırılmasına Yönelik Yeni Yaklaşımlar

İyntoforez, elektrik akımı kullanılarak iyonize halde bulunan ilaçların doku içerisine geçişini ya da doku boyunca ilerlemesini sağlayan topikal bir yöntemdir. Fiziğin temel kuralı olan zıt yüklerin birbirini çekmesi, aynı yüklerin birbirini itmesi prensibine bağlı çalışan bir sistemdir. Dışarıdan bir aplikatör yardımı ile uygulanan düşük voltajlı sistem (10 volt ya da daha az) sürekli olarak elektrik akımı ($0,5 \text{ mA/ cm}^2$) sağlamak ve böylece ilaç doku içlerine ilerlemektedir (88,89).

İlk olarak 1747 yılında yüzey dokuya ilaç penetrasyonunu artırma amacı ile uygulanan (90) bu yöntemin oküler alanda ilk olarak kullanılması 1908 yılında Alman

bilim adamı Wirtz tarafından denenmiştir (91). Korneal ülser tedavisi amacıyla çinko tuzlarını başarılı bir şekilde göze taşıyan Wirtz'den sonra iyontoforez yöntemi pek çok çalışmada kullanılmıştır. İyontoforez yöntemi ile transkorneal ya da transskleral ilaç geçişi sağlanabilmektedir. Bu iki geçiş sistemi için farklı özellikteki cihazlar kullanılmaktadır (92). Oküler dokulardaki ilaç geçişini ve biyoyararlanımı artırdığına dair pek çok çalışma mevcuttur (93-99).

Lachaud ve arkadaşları, hidrokortizon asetatın % 0,1'lik çözeltisinin iyontoforez yöntemi ile taşınmasını tavşan gözü üzerinde çalışmıştır. 10 dk boyunca uygulanan iyontoforez yönteminde taşınan toplam ilaç miktarı, hidrokortizon asetatın topikal damla ya da subkonjunktival enjeksiyon yolu ile uygulanarak taşınan ilaç miktarından yüksek bulunmuştur (93).

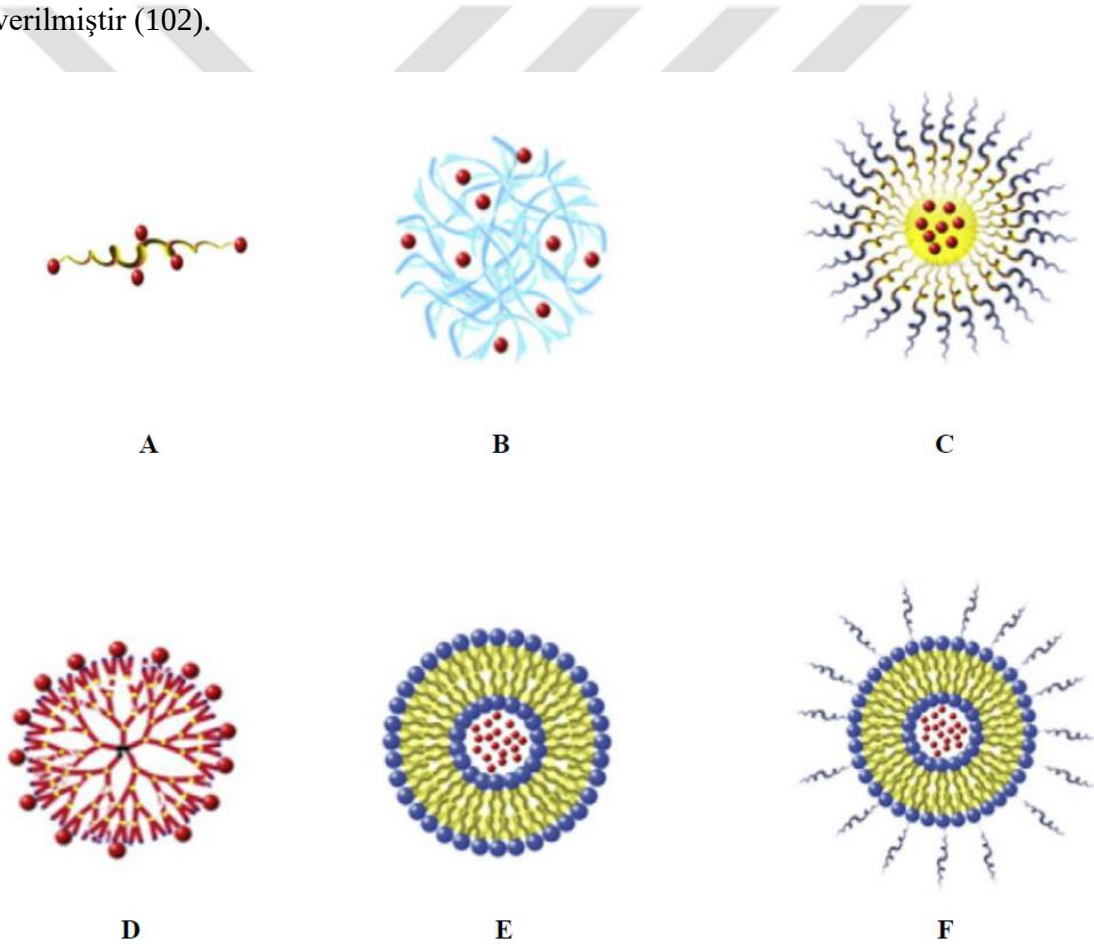
Lam ve arkadaşları yine tavşan gözünde iyontoforez yöntemi ile % 30'luk deksametazon çözeltisinin transskleral geçişi üzerinde çalışmışlardır. Deksametazonun subkonjunktival enjeksiyon ve retrobulbar enjeksiyon yöntemleri ile geçiş miktarlarını, iyontoforez yönteminde elde ettikleri sonuçlarla karşılaştırdıklarında iyontoforez yönteminin çok daha yüksek transskleral geçiş sağladığını görmüşlerdir (94). Deksametazon ile yapılan diğer bir iyontoforez çalışması Behor-Cohen ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Sıçanlardaki üveitin tedavisi amacıyla % 1'lik deksametazon çözeltisinin hem transkorneal hem de transskleral geçiş çalışmalarında incelemiş ve inflamasyonun tedavisinde etkili bulunmuşlardır (92).

Tiazol grubu bir antifungal ajan olan ketokonazol ile yapılan iyontoforez çalışmaları tavşanlar üzerinde yapılmıştır. Grossman ve arkadaşları bu çalışmada transkorneal ve transskleral ketokonazol geçişini incelemiştir. Aköz hümör ve kornea dokuları üzerindeki ketokonazol miktarını subkonjunktival enjeksiyondan daha yüksek bulmuşlardır. Ayrıca ketokonazolün bu dokularda, pek çok fungal patojen üzerinde etkili olabilecek konsantrasyonda geçiş yaptığı göstermişlerdir (95).

Alınan olumlu sonuçlar neticesinde gen tedavisinin uygulanması için de tercih edilen yöntemlerden bir tanesidir (100). Hızlı, acısız, güvenilir olması ve hedeflendirilmiş ilaç iletimi yapması iyontoforez yönteminin en büyük avantajları arasında yer almaktadır (92).

2.3. Nanomiseller

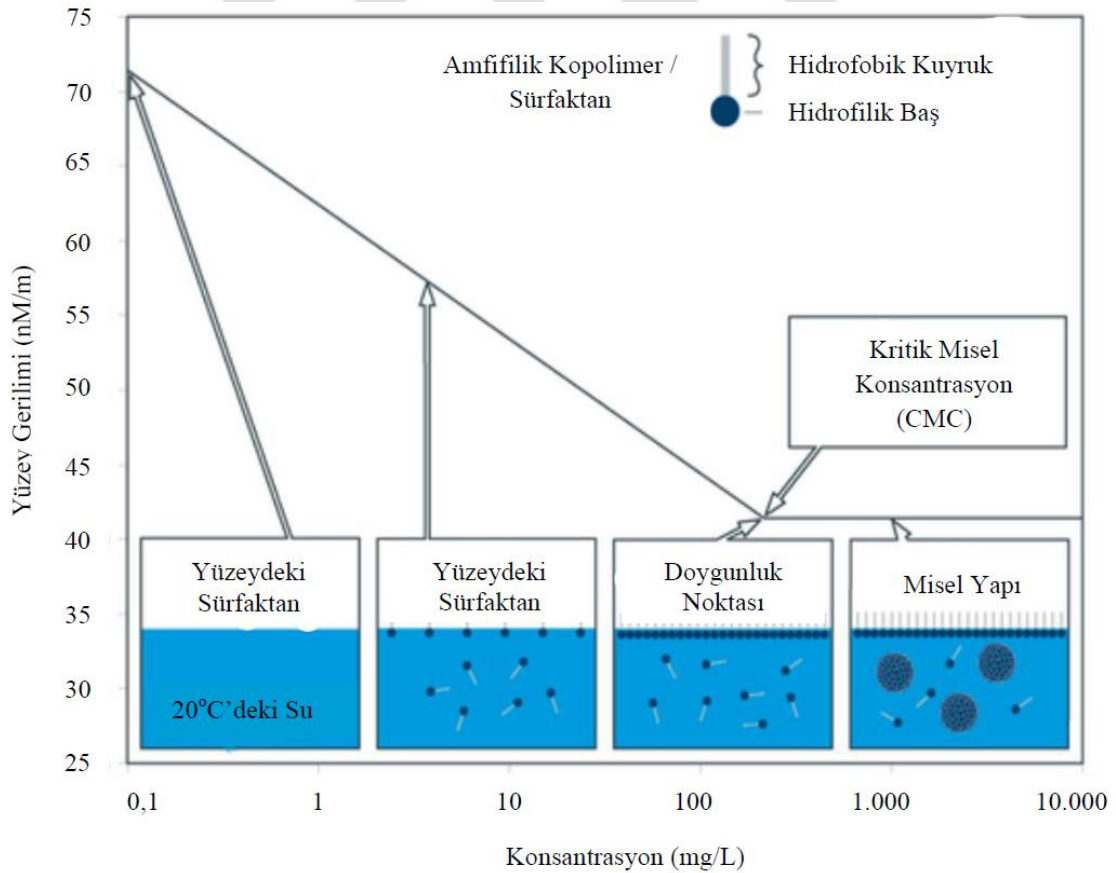
Nanomiseller amfifilik kopolimerler ya da sürfaktanlardan meydana gelen, temelde hidrofobik bir çekirdek ve hidrofilik kabuktan oluşan ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Hidrofobik çekirdekleri özellikle hidrofobik ilaçların taşınabilmesi için alternatif oluşturmaktadır. Yapısal olarak 5-200 nm aralığında boyutlara sahiptirler (48,72). Amfifilik kopolimerler ya da sürfaktanlar bazı durumlarda ters hizalanarak “ters miselleri” meydana getirebilirler. Bu durumda da hidrofilik bir çekirdek ve hidrofobik bir kabuk meydana gelir. Ters miseller hidrofobik ilaçların hidrofobik ortamlara hedeflendirilmesinde alternatif oluşturmaktadır (101). Misel yapısı ve oküler ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılan diğer dozaj şekillerinin yapıları aşağıda Şekil 2-3’te verilmiştir (102).



Şekil 2-3: Oküler taşıyıcı sistemlerin şematik gösterimleri. A: İlaç-polimer konjüгатı, B: Jel içerisindeki ilaç nano-formülasyonu, C: Nanomisel, D: Dendrimer, E: Lipozom, F: PEGlenmiş lipozom

2.3.1. Kritik Misel Konsantrasyon (CMC)

Temel yapı taşı olan amfifilik kopolimerler ya da sürfaktanlar sulu ortamlarda düşük konsantrasyonlarda iken birbirlerinden ayrı olarak bulunurlar. Sulu ortam ve hava ara yüzeyine tutunan sürfaktan ya da amfifilik kopolimer moleküllerinin konsantrasyonları artarken ara yüzey ve sistem doygun hale ulaşır. Doygunluk konsantrasyonuna ulaşıldıktan sonra sisteme hala ilave edilen moleküller miselleri meydana getiren agregasyonları oluştururlar. Misellerin oluştuğu bu konsantrasyona *kritik misel konsantrasyon (CMC)* denir ve kopolimerin ya da sürfaktanın hidrofilik-hidrofobik bloğunun uzunluğuna, yapısına ve moleküler ağırlığına bağlıdır. İlaç taşıyıcı sistem olarak misellerin CMC değerinin düşük olması büyük avantaj sağlamaktadır. Düşük CMC değerindeki miseller sistemik dolaşımda monomerlerine kolayca ayrışmamakta ve uzun süre stabilitelerini koruyabilmektedirler (102). Aşağıda Şekil 2-4'te ortamdaki sürfaktan/amfifilik kopolimer konsantrasyonuna bağlı misel oluşumu ve CMC değeri gösterilmektedir.



Şekil 2-4: Misel oluşumu ve CMC noktası

Miseller berrak bir çözelti içerisinde ilaç taşıyan sistemlerdir. Berrak yapıları, sudaki çözünürlükleri, dokular arası rahat geçiş yapmaları, hem anterior hem de posterior segmente ulaşabilmeleri ve nano boyutları sayesinde oküler alandaki en etkili dozaj şekilleri arasında yer almaktadırlar (101,103,104).

2.3.2. Nanomisellerin Yapısı

Nanomiseller yapısal olarak polimerik, sürfaktan ve poli-iyon kompleksi olmak üzere üçe ayrılmaktadır (48).

2.3.2.1. Polimerik Nanomiseller

Blok kopolimerlerden oluşmaktadır. Polimer monomerleri arasında hidrofobik veya iyonik bağlar etkilidir (105). Polietilen glikol, poli (D,L-laktik asit) polietilen oksit, polipropilen oksit poli-L-lisin gibi polimerler oküler alanda nanomisel üretimi için ağırlıklı olarak kullanılan polimerlerdir (48). Polimerik nanomisellerin CMC değerleri, sürfaktan ile üretilen misellere göre daha düşük olduğu için stabiliteleri daha yüksektir (106,107). Ayrıca uzun stabiliteye bağlı dokularla temas süresinin uzaması, düşük toksisite ve biyolojik dağılımının iyi olması polimerik nanomisellerin diğer avantajları arasında yer almaktadır (108,109). Di Tommasso ve arkadaşlarının metoksi poli (etilen glikol)-heksilsübsitüe poli (laktid) (MPEG-hexPLA) ile hazırladıkları siklosporin A (CsA) nanomiselleri hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalarda yüksek biyoyumumluluk göstermiştir. Özellikle göz kuruluğu ve otoimmün uveit tedavisinde alternatif bir ajan olarak literatüre geçmiştir (110). Pepic ve arkadaşları Pluronik F127 ticari adı ile bilinen polietilen glikol-b-polipropilen-b-polietilen glikol kullanarak pilokarpinin polimerik nanomisellerini üretmiş ve bu misellerin pilokarpin çözeltisine göre oküler biyoyararlanımının daha yüksek olduğunu göstermiştir (111). Pepic ve arkadaşlarının daha sonra 2010 yılında yaptıkları Pluronik içeren diğer bir çalışmada ise Pluronik F127 ve kitosan kullanılarak deksametazon miselleri üretilmiştir. Bu çalışmada da Pluronik F127 / kitosan kombinasyonu ile üretilen misellerin tek başına Pluronik F127 ile üretilen ya da deksametazonun konvansiyonel göz damlasına göre biyoyararlanımının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (8). Pluronik'ler oküler alanda kullanımı sıkça tercih edilen polimerler arasında yer almaktadır. Jaiswal ve arkadaşlarının irtakonazol ile yaptıkları çalışmada polimer olarak Pluronik F127 ve Pluronik F68 tercih edilmiştir. Bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda ve üretim

aşamasında farklı organik çözücüler ile hazırlanan misellerden daha sonra in-situ jelleşecek bir formülasyon geliştirilmiştir. Üretilen bu formülasyonların oküler dokular ile temas süresini ve biyoyararlanımı artırdığı gösterilmiştir (9). Ribeiro ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Tetronic ticari adı ile bilinen etilendiamin tetrakis(etoksilat-blok-propksilat) tetrol polimerinin farklı türlerini kullanarak etokszolamid miselleri üretmişlerdir. Yapılan bu çalışmada kullanılan Tetronic türleri T904, T908, T1107 ve T1307'dir. T904'ün tek ve T1107 veya T1307 ile kombinasyonları kullanılarak üretilen misellerin etokszolamid çözünürlüğünü artırdığı ve uzatılmış ilaç salımı yaptığı gösterilmiştir (112). Li ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada ise diklofenak içeren metoksi poli (etilen glikol)-poli(3-kaprolakton) (MPEG-PCL) polimerik miselleri hazırlamıştır. Üretilen miseller, fosfat tamponu (PBS) içerisindeki diklofenak çözeltisi ile karşılaştırılmıştır. *In vitro* çalışmalarda misellerin, diklofenak çözeltisine göre penetrasyonunun 17 kat daha yüksek olduğu, tavşanlarda yapılan *in vivo* çalışmalarda ise toplam ilaç konsantrasyonunun 2 kat fazla olduğu gösterilmiştir (113).

2.3.2.2. Sürfaktan Nanomiseller

Sürfaktan ile üretilen nanomisellerde ağırlıklı olarak kullanılan sürfaktanlara dodesil tetra (etilen oksit) (C12E4), sodyum dodesil sülfat (SDS), dodesiltrimetil amonyum bromür (DTAB), dioktanoil fosfatidilkolin (C8-lesitin), E vitamini (TPGS) örnek olarak verilebilir (114,115). CMC değeri veya üzerinde agregat oluşturma eğiliminde olan sürfaktanlar ile üretilen nanomiseller hidrojen bağı, elektrostatik etkileşimler, Vander Waals kuvvetleri gibi moleküler bağlar ile bir denge kurarlar. Diğer taraftan ortamdaki iyonik kuvvetler, sıcaklık, pH ve ortamdaki toplam sürfaktan miktarı üretilen misellerin boyutlarını ve stabilitelelerini etkilemektedir (116). Yapılan çalışmalarda TPGS ve oktoksinol-40 kullanılarak rapamisin, voklosporin ve deksametazon'un üretilen nanomisellerinin yapılan *in vivo* çalışmalarında, oküler toksisite belirtisi göstermeden anterior segmentte biyoyararlanımı artırdığı gösterilmiştir (48). Chopra ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada sodyum taurokholat (TA) tek başına ve yumurta lesitini (LE) ile kombine halde kullanılarak deksametazon polimerleri üretilmiştir. Üretilen bu miseller insan sklera dokusuna iyontofores yöntemi ile taşınmıştır. Uzatılmış deksametazon salımın gerçekleştiği gösterilmiştir (117).

2.3.2.3. Poli-iyonik Nanomiseller

Poli-iyon kopolimerleri ve zıt yüklü iyonik ilaçlar arasındaki elektrostatik etkileşimlerden oluşur (118). Nötr blok olan polietilen glikol (PEG), poli-iyonik nanomisellerin üretiminde stabilize edici ajan olarak sıklıkla kullanılmaktadır (119). Daha stabil hale gelen bu nanomiseller oküler ilaç hedeflendirilmesi için alternatif oluşturmaktadır (101).

2.3.3. Misel Üretim Teknikleri

Oküler alanda sıklıkla tercih edilen dozaj şekli olan nanomisellerin üretimi beş farklı yöntem ile yapılmaktadır. Bu yöntemler film oluşturma, doğrudan çözündürme, diyaliz, dondurarak kurutma (liyofilizasyon) ve su içerisinde yağ emülsiyonu oluşturmaktır (120).

2.3.3.1. Film Oluşturma

Uçucu bir organik çözücü içerisinde ilacın ve sürfaktan/polimerin çözündürülmesi ve daha sonra bu organik çözücünün buharlaştırıldığı üretim metodudur. Çözücünün buharlaştırılması ile balonun çevresinde ince bir ilaç-sürfaktan/polimer filmi oluşturulmaktadır. Bu film tabaka daha sonra sulu bir faz ile hidrate edilerek karıştırılmaktadır (102,120,121).

2.3.3.2. Doğrudan Çözündürme

Üretim metodları içerisinde bilinen en basit yöntemdir. İlaç ve sürfaktan/polimer molekülleri kendi kendilerine misel oluşturmak üzere su içerisinde CMC veya üzerindeki bir miktarda karıştırılarak üretim yapılmaktadır. Yüklenilen ilaç miktarı bu yöntemde düşüktür (102,120,121).

2.3.3.3. Diyaliz Yöntemi

İlaç ve sürfaktanların/polimerlerin su ile karışabilen bir organik çözücüde çözündürülmesi sonrası diyaliz torbalarına doldurularak suya karşı diyaliz işleminin gerçekleşmesi ile elde edilmektedir. Bu yöntemde diyaliz torbası içerisinde bulunan organik çözücü zamanla su ile yer değiştirmektedir. Üretim yapıldıktan sonra diyaliz torbası içerisinden misellerin tamamının alınmasının zorluğu ve sadece laboratuvar

ölçekli üretimler için uygun olması bu yöntemin en büyük dezavantajlarıdır (102,120,121).

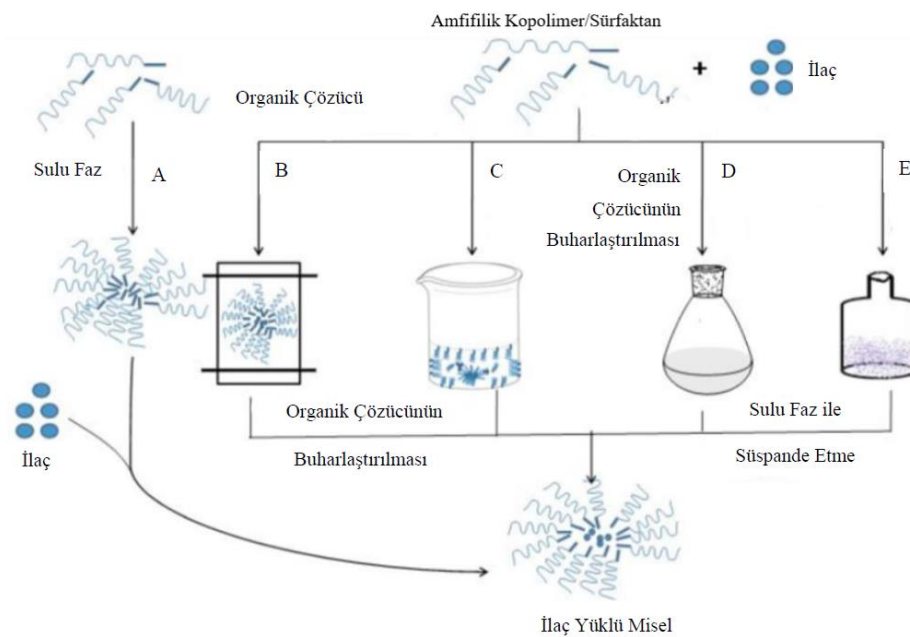
2.3.3.4. Dondurarak Kurutma (liyofilizasyon)

İlacın ve sürfaktanın/polimerin liyofilizasyona uygun bir organik çözücünde çözündürüldükten sonra su ile karıştırılması ve liyofilize edilmesine dayanan bir yöntemdir. Dondurularak kurutulan miseller daha sonra izotonik sulu ortam içeirisinde çözündürülerek uygulanmaktadır. Büyük ölçekli üretimler için en uygun üretim metodudur. Ancak kullanılan ilacın ve sürfaktanın/polimerlerin liyofilizasyona dayanıklı olması gerekmektedir (102,120,121).

2.3.3.5. Su İçerisinde Yağ (Y/S) Emülsiyonu Oluşturma

İlacın su ile karışmayan organik bir çözücünde çözündürülmekte ve elde edilen bu çözelti su ile homojen bir emülsiyon elde edilene kadar karıştırılmaktadır. Daha sonra elde edilen bu emülsiyondaki organik çözücü buharlaştırılarak sulu fazda bulunan miseller elde edilmektedir. Polimer/sürfaktan sulu fazda ya da organik çözücünde çözünebilmektedir. Eğer organik fazda çözünmüş ise bu organik çözücü de buharlaştırılmaktadır (102,120,121).

Aşağıda Şekil 2-5'te misel üretim şekillerinin şematik gösterimi yer almaktadır (105).



Şekil 2-5: Misel üretim yöntemlerinin şematik gösterimi A: Doğrudan çözündürme, B: Diyaliz, C: Y/S Emülsiyonu, D: Film oluşturma, E: Liyofilizasyon

2.3.4. Misellerde İlaç Salımını Etkileyen Faktörler

Yukarıda belirtildiği gibi misellerin üretimleri basit olarak gözüktse de misellerin ilaç salımı pek çok faktöre bağlıdır. Miseli yapılacak olan etkin maddenin moleküler özellikleri ve ilaç-çekirdek arası etkileşimler, kullanılan polimer/süpfaktan ve üretim metodu ilaç salımını etkileyen faktörlerdir (102,120,122).

2.3.4.1. İlaça Bağlı Faktörler ve İlaç-Çekirdek Arası Etkileşimler

Etkin maddenin polaritesi, yükü ve hidrofobikliği ilaç salımını etkilemektedir. İlacın moleküler özellikleri, çekirdeği oluşturan blok ile etkileşiminde ve süpfaktan/polimer-ilaç karışımının oluşmasında doğrudan etkilidir. İlaç-çekirdek arasında etkili olan hidrojen bağları ve iyonik etkileşimler gibi kimyasal bağlar moleküllerin polaritesine ve yüklerine bağlıdır. Hidrofobik karakteri daha yüksek olan bir etkin madde için güçlü hidrofobik karakterde bloğu olan süpfaktanlar/polimerler seçilmelidir. Uygun olan süpfaktanın/polimerin seçilmesinde Flory-Huggins Teorisi'nden faydalanılmaktadır. Flory-Huggins parametresinin düşük bir değer olması (<0.5), ilacın misellerin çekirdeğinde iyi çözündüğünü göstermektedir (102,120-122).

2.3.4.2. Süpfaktana/Polimere Bağlı Faktörler

Polimerin/süpfaktanın hidrofobisitesi, çekirdeği ve kabuğu oluşturacak bloklarının uzunluğu ilaç salımını etkileyen faktörlerdir. Polimerin/süpfaktanın hidrofilik/hidrofobik dengesi etkin madde ile kuracağı bağda aktif rol oynamaktadır. Eğer ilaç kabuğa doğru daha yakın yerleşirse ilaç salımı da daha kolay olacaktır. Çekirdeği oluşturacak olan bloğun hidrofobik olduğu ve ilacı bağlayan asıl kısım olduğu göz önünde bulundurulduğunda, bu bloğun boyunun uzaması daha fazla ilaç bağlanması anlamına gelmektedir. Kabuğu oluşturan bloğun boyutu ise CMC değeri üzerinde etkilidir. Hidrofilik karaktere sahip olan bu blok uzadıkça CMC değeri de artmaktadır (102,120-122).

2.3.4.3. Üretim Metodu

Üretim sırasında kullanılan organik çözücünün yapısı ve miktarı, tercih edilen üretim metodu ilaç salımını etkilemektedir (102,120-122).

2.3.5. Miseller Üzerinde Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları

Miseller üretildikten sonra karakterizasyon çalışmaları oldukça büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla misellerin boyut ve boyut dağılımı, yükü (zeta potansiyeli), CMC değerinin tespiti, stabilitesi ve morfolojisi incelenmektedir.

2.3.5.1. Boyut ve Boyut Dağılımı

Nanomisellerin tanımında 5-200 nm boyutlu oldukları ifade edilse de aslında boyutları 100 nm'ye bile nadiren ulaşmaktadır. Misellerin boyutları *in vivo* ortamdaki yazgılarını etkileyen en temel faktörlerden bir tanesidir. Hedeflendirilecek olan miselin boyutu her bir doku için farklılık göstermektedir. Ayrıca hedeflendirme sonrası sistemik dolaşıma hızlı geçişin olmaması ve ortamdan elimine edilmemesi için misel boyutunun çok da küçük olmaması gerekmektedir. Misel boyutu ışık saçılım tekniği ile tespit edilmektedir. Bu amaçla monodispers sistemler olan geçişli elektron mikroskobu (TEM), atomik kuvvet mikroskobu (AFM), taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve polidispers sistem olan dinamik ışık saçılımı (DLS) kullanılmaktadır (121,122).

2.3.5.2. Misellerin Yükü (Zeta Potansiyel)

Kolloidal sistemlerin stabilitelerinin sağlanmasındaki en etkili faktörlerden bir tanesi zeta potansiyeldir. Diğer taraftan misellerin *in vivo* hareketini de etkilemektedirler. Misellerin hücre içerisine alınması ve farmakokinetikleri misel yükü ile ilişkilidir (121,122).

2.3.5.3. CMC Değerinin Tespiti

CMC değeri nanomiseller başlığı altında anlatıldığı üzere hem misel oluşmasında hem de oluşan misellerin stabiliteleri üzerinde etkili olan ana parametredir. Kullanılan polimer/süpfaktanın toplam molekül ağırlığına, hidrofilik ve hidrofobik blok boylarına, dolayısı ile hidrofilik / hidrofobik oranına, hidrofilik bloğun boyu, hidrofobik bloğun boyu ve yapısına bağlı olan CMC değeri bir miselin biyolojik yazgısını doğrudan etkilemektedir. Örneğin yüksek CMC değerine sahip misellerin *in vivo*

ortamda hızlıca unimerlerine ayrılabilirdiği ve agregatlar oluşturabildiği bilinmektedir (121,122).

2.3.5.4. Stabilite

Misel stabilitesi termodinamik ve kinetik stabilite olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Termodinamik stabilite doğrudan CMC değeri ile ilişkili olup miselin tek tek zincirlerine ayrılma eğilimi ile karakterizedir. Sulu ortamdaki polimer/süpfaktan miktarı CMC değerinin üzerinde ise miseller termodinamik olarak stabildir. Ancak CMC değerinin altında ise unimerlere ayrışma eğilimi göstermektedir. Misel sistemlerinin kinetik stabilitesi miseller ve yığın arasındaki tek polimer zincirinin değişim hızı ile ilgilidir. Misel yapısı, eğer misel çekirdeği blok yarı kristalden oluşuyor ise CMC değerinin altında bile camsı geçiş sıcaklığına (T_g) ve / veya T_m 'ye bağlı olarak stabil kalmaktadır (121,122).

2.3.5.5. Morfoloji

Misellerin küre şeklinde ve çekirdek-kabuk kısımları arasında net bir ayırıma sahip olduğu kabul edilmektedir. Ancak denge durumuna yakın, dengede olmayan ya da bazen de denge koşullarında büyük birleşik miseller, çubuklar, dallanmış kısa çubuklar, büyük birşelik çubuklar, tübüller, vezikküler gibi çeşitli morfolojik şekillerde görülebilmektedir. Bu sebeple misellerin morfoloji tayinleri yapılması önemli bir karakterizasyon parametresidir. Morfoloji tayini TEM, AFM ya da SEM yöntemleri ile yapılabilmektedir (121,122).

2.4. Oküler Enflamasyonlar

2.4.1. Keratit

Kornea enfeksiyonu anlamına gelen keratit, yetişkinler arasındaki görme bozukluklarının en sık görülen nedenidir. Hızlı bir şekilde ilerleyebilen bir hastalıktır ve korneaya bağlı körlük gelişmesine sebep olabilir. Sonradan gelişen körlük (doğumsal olmayan) vakalarında altta yatan neden olarak dördüncü sırada keratite bağlı gelişen kornea matlaşması yer alır (123,124). ABD'de bir yılda yaklaşık olarak 30.000 keratit olgusu rapor edilmektedir (125). Kontakt lensler, fiziksel ya da kimyasal yaralanma, diyabet, oküler cerrahi, topikal steroidler, immünsüpresif hastalıklar, gelişmekte olan toplumlarda tarımsal faaliyetler keratit oluşumunun etkenleri olabilir. Keratit sebebi

olan mikroorganizma türü kişinin yaşadığı bölgenin coğrafi konumuna ve iklimine bağlıdır. Keratit hastalığı infeksiyöz, interstisyel ve non-infeksiyöz olmak üzere üç ana gruba ayrılmaktadır. İnfeksiyöz keratit kendi içerisinde patojen türüne göre bakteriyel, viral, fungal ya da acanthamoeba keratiti olmak üzere dört ve non-infeksiyöz keratit de exposure ve nöroparalitik keratit olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. (126-135).

2.4.1.1. Enfeksiyöz Keratit

Bakteriyal Keratit: Gram pozitif ve gram negatif bakterilerin neden olduğu en yaygın keratit tipidir. *Streptococcus pneumoniae*, *staphylococcus aureus*, gram negatif stafilokoklar ve *Pseudomonas aeruginosa* en sık rastlanılan patojen etkenlerdir. Kontakt lens kullanımına bağlı gelişen keratit olgularının büyük bir çoğunluğu bakteriyal kökenlidir ve özellikle de *P. aeruginosa*'ya bağlıdır (126,136).

Sigara alışkanlığı, cinsiyet, mevsim, genel vücut ve göz sağlığı kontakt lense bağlı keratit gelişmesini hızandırıcı parametrelerdir. Örneğin erkeklerin bakteriyal keratit geçirme riski kadınlardan % 35-40 oranında daha fazladır. Bu durumun en büyük sebeplerinden biri kontakt lens ile uyuma oranının erkeklerde kadınlardan daha fazla olmasıdır. Uyku sırasında gözde kalan lensler korneal infiltrasyon yani korneal ödem gelişimine neden olmaktadır. Benzer bir durum sigara içenlerde de görülmektedir. Sigara içenlerin % 35'i korneal ödeme daha yatkındır. Çünkü kontakt lens kullanan bireylerden sigara kullananların, kullanmayanlara göre gerekli hijyen koşullarını sağlamakta daha başarısız olduğu da bilinmektedir (136-142).

Kuru göz hastalığı da konjunktivit ile birlikte görülen bir bakteriyal keratit türüdür. Gözün nemlenememesi olarak özetlenebilen göz kuruluşunda batma, ışık hassasiyeti yani fotofobi, yanma ve görme bozuklukları gibi günlük hayatı etkileyen semptomlar görülmektedir. Menopoz gibi hormonal değişiklikler ya da bozukluklar, Sjögren sendromu, sistemik antikolinerjik ilaçlar, romatoid artrit gibi herhangi bir duruma bağlı olarak gözün salgı üretiminin fonksiyon kaybı gelişmesi ile ortaya çıkmaktadır. Göz, kendisini nemli tutarak stabilitesini sağlayan aynı zamanda da antimikrobiyal koruyucu görev gören gözyaşı eksikliğinde infeksiyonlara açık hale gelir. Olası bir kontaminasyon durumunda da patolojik ajan gözyaşı aracılığı ile seyreltilemez ya da gözden uzaklaştırılmaz ve infeksiyon gelişir (136,142,143).

Topikal antibiyotikler bakteriyal keratit tedavisindeki birinci basamak tedavi ajanlarıdır. Kullanılacak olan antibiyotik türü keratit etkeni patojene, etkin maddenin toksisitesi, etki spektrumu, maliyeti ve bulunabilirliğine göre seçilmektedir. Siprofloksasin ve oflaksosin gibi florokinolonlar ile monoterapi veya aminoglikozid / sefalosporin kombinasyonları sıklıkla tercih edilen antibiyotiklerdir (127-129). Geleceğe yönelik dikkat edilmesi gereken en önemli konu bakteriyal keratit olgularından patojen olarak karşımıza sıklıkla çıkan *S. aureus*'un evrim sürecidir. Her zaman oldukça yüksek direnç geliştirmeye yönelik evrimleşen bu bakterinin evrim sürecinin bundan sonra da bu şekilde ilerleyeceği öngörülmektedir (144,145). Bu sebeple zaman içerisinde daha güçlü antibiyotiklere ihtiyaç duyulabilir (129).

Akut enfeksiyon sırasında keratositler, fibroblastlar ve diğer enflamatuvar hücreler protein yıkımında ve keratinleşmede etkili kolajenaz ve matriks metalloproteinaz gibi enzimleri salgılar. Korneal doku kaybını önlemek için antikolajen etkili tetrasiklin grubu antibiyotikler de tedavide tercih edilmektedir (128,129).

Kortikosteroidler, bakteriyal keratitin adjuvan tedavisinde yer alabilirler. Ancak her ne kadar enflamasyonu azaltsalar da aynı zamanda diğer dokularda enflamasyonu tetikledikleri için tedavideki konumları hala tartışmalıdır (129).

Viral Keratit: Gelişmiş ülkelerde *Herpes simplex*'e bağlı gelişen viral keratit önemli bir körlük nedenidir. Global insidansı 40.000 kişi/yıl'dır. Sadece ABD'de tahmini olarak 500.000 kişinin *Herpes simplex*'e bağlı keratit sorunu yaşadığı düşünülmektedir. Dünya genelinde ise 1,5 milyon kişinin etkilendiği tahmin edilmektedir (146).

Viral keratit tutulum gösterdiği kornea yapısına göre epitelyal, stromal ya da endotelyal olarak sınıflandırılabilir. Epitelyal viral kerati, dendritik ülserle karakterize iken stromal viral keratit ise stromanın ülserle birlikte ya da ülserleşme, skarlaşma veya vaskülarizasyon olmadan bulanıklığı ile karakterizedir. Endotelyal viral keratitte ise endotelyumda çökelti görülür (147).

Bir bireyde viral keratit teşhis edilmişse hasta öyküsü detaylı bir şekilde alınmalıdır. Tekrarlayıcı özelliği olan ve bu sebeple diğer keratit tiplerinden ayrılan viral keratitin tanı ve tedavisinde, daha öncesinde benzer bir durum yaşanılıp yaşanılmadığının bilinmesi, yol gösterici olmaktadır (127).

Herpes simplex'e göre daha az olmakla birlikte *varicella-zoster* ve *sitomegalo virüs* de viral keratite sebep olabilmektedir (128).

Viral keratit tedavisi için topikal dozaj formları içerisinde ABD'de en çok trifluridin, Avrupa'da ise asiklovir kullanılmaktadır. Trifluridin yaygın kullanımına rağmen oküler biyoyararlanımı düşük ve toksisitesi yüksek bir etkin madde olduğu için kullanımı kısıtlıdır. Ancak ABD'de asiklovir ürünleri mevcut olmadığı için son yıllarda gansiklovire yönelim başlamıştır. Topikal kortikosteroidler adjuvan tedavide tercih edilebilmektedir (127,128).

Topikal tedavinin yeterli gelmediği durumlarda oral asiklovir de tercih edilebilmektedir (128). Valasiklovirin diğer viral ilaçlara göre oküler penetrasyonunun daha iyi ve toksisitesinin daha düşük olduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Bu da valasikloviri tedavideki yeni ajan olarak öne çıkarmaktadır (148,149).

Fungal Keratit: Fırsatçı patojenler olarak kabul edilen mantar türlerine bağlı gelişen keratit, bakteriyal keratite göre daha kötü sonuçlara neden olmaktadır. Tropikal iklimlerde, ılıman iklimlere göre daha sık görülmektedir. Tropikal iklimlerde keratit olgularının % 50'sini fungal keratitler oluştururken, bu oran ılıman iklimlerde oldukça düşüktür (128,150-153). Özellikle Asya'da körlüğün başlıca etkeni olarak kabul edilmektedir. Örneğin Güney Hindistan'da yıllık insidansı 113/100.000 kişi iken bu sayı Nepal'de 799/100.000, ABD'de 11/100.000 kişi, Britanya'da 0,3/100.000 kişi ve Danimarka'da 0,6/100.000 kişidir (154-156).

Patojen türleri coğrafi konum, iklim, söz konusu ülkenin gelişmişlik düzeyine göre değişiklik göstermektedir. Suşların izolasyonu her zaman mümkün değildir. Örneğin Güney Florida'da yürütülen dokuz yıllık bir çalışmanın ilk yarısında, dokuz *C. albicans* suşu izole edilirken ikinci yarısında sadece bir suş izole edilebilmiştir (157). Ancak buna rağmen şimdiye kadar 100'ün üzerinde farklı türün fungal keratite sebep olduğu gösterilmiştir (158). *Fusarium solani*, iklimsel ve coğrafi değişikliklere rağmen dünyanın pek çok yerinde en sık rastlanılan fungal keratit patojenidir. *Aspergillus* türleri ve *Candida albicans* diğer sık karşılaşılan fungal patojenlerdir. Diğer taraftan *Sporothrix pallida* gibi insan için nadiren patojen olabilen türler de keratite sebep olabilmektedir. Bu sebeple doğru tedavi yaklaşımı ancak patojen türünün doğru tanımlanabilmesi ile sağlanmaktadır (128,150-154).

Fungus kökenli keratitin tedavisinde ilk olarak tercih edilen ilaç natamisinidir. Topikal olarak uygulanan %5'lik natamisin ile etkili sonuçlar alınmıştır. Ancak natamisinin oküler penetrasyonu oldukça düşüktür. Bu sebeple klinikte alternatif moleküller de tercih edilmektedir. %0,3-0,5 konsantrasyondaki amfoterisin B (AMB) natamisinin alternatifi moleküllerden bir tanesidir. Bu molekülle sonuç alınmış olsa da toksisitesi klinikte kullanımını sınırlamaktadır. Yeni nesil tiazol grubu antifungallerden olan vorikonazol (VRC) klinikte son dönemlerde en çok tercih edilen moleküldür. Topikal olarak %1 konsantrasyonda uygulanmaktadır. Oküler penetrasyonu oldukça yüksek olan VRC ile yapılan çalışmalarda çok iyi sonuçlar elde edilmiştir (128,150,159-161). Ancak yine de bazı klinisyenler natamisin ile elde edilen sonuçların VRC ile elde edilenlerden daha iyi olduğunu belirtmektedir (162-164).

Fungal keratit tedavisinin diğer seçenekleri arasında oral, intravenöz (i.v.) ya da intrastromal VRC ve intrakameral AMB kullanımı da mevcuttur. İntrastromal VRC ve intrakameral AMB fungus kökenli derin korneal ülserlerde tercih edilmektedir (128,150,165-170).

Acanthamoeba Keratiti: Toprak ve tatlı sularda yaygın olarak bulunan ve bir amip çeşidi olan *Acanthamoeba* türlerinin neden olduğu keratittir. Körlüğe dönüşme riski oldukça yüksektir. İlk olarak 1973 yılında Amerika'da tespit edilen bu keratit türünün görülme oranı ilerleyen yıllarda kontakt lens kullanımının artması ile birlikte artmıştır. Özellikle hijyen koşullarına dikkat edilmediği durumlarda *Acanthamoeba* türleri kontakt lens solüsyonlarında türeyebilmekte ve keratite sebep olabilmektedir. Prevalansı 1-9/ 100.000 kişidir ve nadir bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Bu sebeple nadir hastalıklar veri tabanı Orphanet'e (ORPHA67043) kayıt edilmiştir (172-174).

Hastalık etkeni olarak pek çok alt türün olması ve bu alt türlerin farklı genotip yapılarından ötürü tek başına etkili bir tedavi ajanı hala mevcut değildir. Hastalığın erken dönemlerinde topikal antiinfektif ilaçlar, ilerleyen dönemlerde ise cerrahi müdahale gerekmektedir. %0,1'lik propamidin ve %1'lik neomisin ilk tercih edilen kombine tedavi yöntemidir. %0,02 konsantrasyonda poliheksametilen biguanid (PHMB) ve topikal neomisin, mikonazol, prednizolon ve metronidazol, oral ketokonazol diğer tedavi seçenekleridir (172-174).

2.4.1.2. İnterstisyel Keratit

Korneanın derin dokularında meydana gelen, stromada iltihap tutulumu olurken epitelyum ve endotelyum tabakalarında herhangi bir tutulumla rastlanılmayan keratit tipidir. Gözde ışık hassasiyeti, kızarıklık, sulanma ve ağrı ile kendini göstermektedir. Ayrıca kulak çınlaması, vertigo ve işitme duyusunda azalma da görülen diğer semptomlardır.

Genel olarak bir mikroorganizma ya da onun antijenlerine karşı verilen immünolojik yanıt sonrası gelişmektedir. Tam olarak bilinmemekle birlikte özellikle frengi, lepra, lyme, tüberküloz etkeni patojenlere ya da *Herpes simplex* virüsüne verilen yanıtın tetiklediği düşünülmektedir (130,132,175).

İnterstisyel keratit multidisipliner bir hastalık olduğu için tedavisinde de multidisipliner bir yaklaşım gereklidir. Tedavi seçenekleri arasında prednizolon gibi kortikosteroidler, metotreksat, siklofosfamid, azotiropin, infliksimab, rituksimab, siklosporin a, anti TNF- α , tocilizumab, etanersept ve adalimumab yer almaktadır (176).

2.4.1.3. Non-Enfeksiyöz Keratit

Exposure Keratit: Gözü korumakla görevli göz kapağının tiroid hastalığına bağlı gelişen göz problemleri, gevşeklik gibi anatomik sorunlar sebebi ile tam kapanamaması durumunda ortaya çıkar. Göz kapağı aralığından kornea sürekli olarak dış dünya ile temas halinde olur. Yüzeyi yeterince nemlenemez, mikroorganizma kontaminasyonuna açık hale gelir. Gözün tahriş olmasına ek olarak kuruluk, kızarıklık ve net görememe gibi semptomlarla kendini gösterir (132,133).

Medikal tedavi seçeneği olarak steroidler kullanılmaktadır. Diğer taraftan bandajla kapatma, amniyotik membran uygulanması gibi göz kapağı gevşekliğini ortadan kaldıracak fiziksel müdahaleler de yapılmaktadır (133).

Nöroparalitik Keratit: Kafa sinirleri adı ile de bilinen *on iki kraniyal sinir*'in beşincisi ve en büyüğü *trigeminal sinir/nervus trigeminus*'tur. Maksiler, mandibuler ve oftalmik olmak üzere üç alt gruptan oluşmaktadır. Yüzdeki hareketleri ve hissiyatı sağlamakla görevlidirler. Kornea bu sinirlerden türemiş sinir liflerinden bolca içermektedir. Bu sebeple korneanın görevleri arasında gözün duyuusal bütünlüğünü sağlamak da yer almaktadır.

Trigeminal sinirlerin bütünlüğü cerrahi bir müdahale, diyabet, lepra, radyoterapi, kimyasal yanıklar, multipl skleroz, kontakt lens, herhangi bir viral rahatsızlık, sinir tümörleri gibi durumlarda bozulabilir. Bu da korneanın yapısal anomalisine ve korneal epitelyumun işlevsel sorunlarına neden olur ve keratit gelişir (134,135).

Nöroparalitik keratit tedavisinde asıl önemli olan altta yatan hastalığı tedavi etmektir. Direkt farmakolojik bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Göz enflamasyonunu rahatlatmak amacıyla topikal steroidler kullanılabilir ancak steroidlerin altta yatan hastalığı tetikleme riski her zaman bulunmaktadır. Bunun yerine nonsteroidal antiinflatuar ilaçlar (NSAİİ) kornea enflamasyonunu rahatlatmada bir seçenek olabilir (135).

2.4.2. Endoftalmi

Göz içi boşluklarının ve bu boşlukları dolduran aköz hümör ile vitröz hümörün enflamasyonudur. Temelde infektif ve noninfektif olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. İnfektif endoftalmide görülen infeksiyon genellikle bakteri ya da fungus kökenlidir. Viral ya da paraziter infeksiyon gelişmesi görülen bir durum değildir (177-179).

2.4.2.1. Enfeksiyöz Endoftalmi

Ekzojen Endoftalmi: Göz ameliyatı ya da bir travma sonrası görülen endoftalmi türüdür. Ameliyat sonrası gelişimi akut dönemde, geç dönemde ya da bleb (kabarcık ya da kese)'e bağlı olarak görülen olmak üzere üçe ayrılmaktadır.

Sıklıkla katarakt ameliyatı sonrası gelişen akut ya da geç dönem endoftalmisinde izole edilen mikroorganizma türleri şu şekildedir: % 60-70 koagülaz-negatif stafilokoklar (KNS), % 10 *Staphylococcus aureus*, % 9 streptokoklar, % 5 diğer gram-pozitif koklar, % 6 gram-negatif ve %8 funguslar (179). Bu türlerin prevalansı coğrafi bölgeye göre farklılık göstermektedir. Cerrahi işlem sırasında kullanılan steril aletlerdeki ve solüsyonlardaki olası bir kontaminasyon, ameliyatta görevli ekipten kaynaklanabilecek bulaşı riski, gözkapığının ya da konjunktivanın florası infeksiyon gelişmesindeki etkenler olabilir. Geç dönemde gelişen infeksiyon ameliyat tarihi itibari ile 4. hafta ya da takip eden yıllar içerisinde görülmektedir.

Blebe bağılı gelişen endoftalmi açık açılı glokomun cerrahi tedavisi sonrası gelişebilmektedir. Trabekülektomi adı verilen bu ameliyatta glokom hastalarında göz içi sıvısının filtrasyonunu sağlamak amacıyla sklerada bir bleb oluşturulur. Bu bleb’de meydana gelen bir infeksiyon endoftalmiye sebep olmaktadır (180).

Bir travma sonrası gelişen endoftalmi, travma etkeninin göz dokularına penetre olması ile ortaya çıkmaktadır. İnsidansı %7’dir ancak kırsal bölgelerde bu oran %30’a kadar çıkabilmektedir (177).

İntravitreal yol ile göze ilaç uygulanması özellikle son yıllarda bazı ilaçlar için daha sık tercih edilen bir tedavi yöntemidir. İntravitreal uygulama sonrası da kontaminasyona bağlı olarak endoftalmi gelişmesi görülebilmektedir (181-183).

Endojen Endoftalmi: Toplam endoftalmi vakalarının %5-15’i endojen kaynaklıdır ve infeksiyon etkeni bakteri ya da fungaldır. Herhangi bir dokudaki olası infeksiyon ajanının göze ulaşması ile ortaya çıkmaktadır.

Endojen bakteriyel endoftalmi’de hastaların %90’ı görme bozukluğundan şikayetçidir. Göz ağrısı %50 oranında görülmektedir. Hastalarda yapılan laboratuvar çalışmalarında *S. aureus*, streptokoklar ve *Escherichia coli* gibi gram negatif bakteriler izole edilmiştir. Fungal kökenli endojen endoftalmide candida türleri en sık görülen patojen kaynaklarıdır (178,183).

İnfeksiyöz endoftalmide tedavi patojen türüne göre antibiyotik ya da antifungal ajanlar ile yapılmaktadır. Topikal, sistemik ya da intravitreal olarak uygulanan bu moleküller infeksiyöz keratit tedavisinde kullanılan moleküller ile paralellik göstermektedir (177,178,183).

2.4.2.2. Non-Enfeksiyöz Endoftalmi

Herhangi bir mikroorganizma infeksiyonundan bağımsız olarak allerjen bir maddeye bağılı gelişen enflamasyon ile görülen endoftalmi türüdür. Çok yaygın olmayan bir endoftalmi türüdür. Ancak ülkemizde bildirilmiş bazı vakalar vardır. Bu vakalara ait çalışmaların ikisinde intravitreal bevasizumab uygulamasını takiben steril endoftalmi geliştiği belirtilmiştir (184,185). Yapılan başka bir çalışmada ise intravitreal triamsinolon asetonid uygulanan hastalarda toplam 111 gözün sadece bir tanesinde steril endoftalmi gelişimi bildirilmiştir (186).

2.4.3. Uveit

Gözün uvea yani vasküler tabakasının çeşitli sebeplere bağlı olarak ortaya çıkan enflamasyonudur. Her ne kadar oküler bir enflamasyon olarak tanımlansa da altta yatan başka bir hastalığa bağlı olarak da gelişebileceği için aslında multidisipliner bir hastalıktır. Uveit teşhisi konulmuş bir bireyde detaylı inceleme yapılarak etkenin belirlenmesi başka bir hastalığın da teşhis edilmesini sağlayabilir (187-189).

ABD ve Avrupa’da yapılan çalışmalara göre uveit insidansı yılda 20-50/100.000 ve prevalansı da 100-150/100.000 oranlarında hesaplanmaktadır. Ancak az gelişmiş ve / veya tropik kuşakta yer alan ülkelerde hastalık etkeni patojenlerin bulaş riskinin yüksek olması sebebi ile insidans ve prevalans değerlerinde artış görülmektedir. Bunun yanında yapılan bazı çalışmalarda da uveit görülme sıklığının artmaya başladığı gösterilmiştir. Dünya üzerinde toplam olarak 2 milyondan fazla insanın uveit olduğu ve dünya genelindeki körlüğün % 10’unun uveite bağlı geliştiği düşünülmektedir. Çalışan nüfus olarak tanımlanan 16-65 yaş aralığında görülme oranı diğer yaş gruplarına göre daha fazladır (188,190-193).

Uluslararası Uveit Çalışma Grubu (IUSG) uveiti, klinik olarak infeksiyöz, non-infeksiyöz ve maskelenmiş olmak üzere üç sınıfa ayrılmaktadır (194). Bazı kaynaklarda endoftalimde uveit içerisinde değerlendirilmektedir (188,195).

2.4.3.1. Enfeksiyöz Uveit

Bakteriyal, viral, protozoal, fungal, helmintik yani barsak solucanlarına bağlı olarak gelişen uveit tipidir. Az gelişmiş ve / veya tropik kuşakta yer alan ülkelerde %50 oranı ile daha çok görülen uveit tipidir. ABD ve Avrupa ülkelerinde ise %13-21 oranında görülmektedir. Ayrıca patojen türü de ülkeler arasında farklılık göstermektedir. ABD ve Avrupa ülkelerinde *varicella zoster*, *herpes simpleks* ya da *toksoplazma* ana etken iken tropikal ve / veya az gelişmiş ülkelerde cüzzama sebep olan *Mycobacterium leprae*, tüberküloza sebep olan *Mycobacterium tuberculosis*, *toksoplazma*, *onkoserkiyaz* adı verilen nehir körlüğüne sebep olan helmintler ana etkindir (188,196,197).

İnfeksiyöz uveit genel olarak posterior bölgede görülmektedir. Bu sebeple tedavisindeki ana ilaç uygulama yöntemi intravitreal enjeksiyondur. Patojen türünün kesin olarak belirlenmesi kullanılacak olan etkin madde açısından son derece önemlidir.

Antiviral olarak gansiklovir ve foskarnet, antibakteriyal olarak vankomisin, gentamisin, seftazidim, moksifloksazin ve amikasin, antiprotozal olarak klindamisin ve Trimetoprim/sulfa-metoksazol, antifungal olarak da AMB ve VRC tercih edilmektedir (188,198).

2.4.3.2. Non-Enfeksiyöz Uveit

Non-infeksiyöz uveit sistemik bir rahatsızlığa bağlı gelişen ve gelişmeyen olarak ikiye ayrılmaktadır (194). Sistemik rahatsızlığın olmadığı durumlarda uveit travma, oküler cerrahi bir girişim, idiyopatik hastalıklar, sifovir ya da rifabutin gibi ilaçların kullanımına bağlı olarak gelişebilmektedir. Sistemik hastalıklara bağlı gelişen uveitte uveit etkeni olarak sarkoidozis, juvenil idiyopatik artritis, Behçet hastalığı gibi hastalıklar örnek olarak verilebilir (188).

Behçet hastalığı, söz konusu sistemik rahatsızlıklar içerisinde ülkemiz için daha önemlidir. Eski ticaret güzergahı olan İpek Yolu üzerinde görülme sıklığı daha yüksek olan Behçet hastalığı kronik olarak seyreden, vücudun pek çok sistemini etkileyen ancak sebebi tam olarak bilinmeyen bir hastalıktır. Genel olarak genetik faktörlerin etkisi ile bakteri, virüs ya da diğer antijenler tarafından tetiklendiği düşünülen sistemik bir vaskülitir. Genital ve oral lezyonlarla birlikte uveit ve retinal vaskülit en sık görülen semptomlar arasında yer almaktadır (199).

Non-infeksiyöz uveitte tedavi genel olarak kortikosteroidler ya da immün sistemi baskılayacak olan alternatif ajanlar ile yapılmaktadır (188).

2.4.3.3. Maskelenmiş Uveit

Kansere bağlı gelişen uveit çeşididir. Kendi içerisinde neoplastik ya da non-neoplastik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (194).

2.4.4. Sklerit

Sklerit, sklera merkezli ve sıklıkla episklera, kornea ve uvea gibi komşu dokuları da içerebilen oküler enflamasyon türüdür. Sklerit nadir görülen ancak şiddetli ağrılı ve potansiyel olarak kör edici bir oküler hastalıktır ve bazen göz küresinin perforasyonuna sebep olabilmektedir. Geniş etiyolojik faktörlere bağlı olarak oldukça çeşitli klinik bulgular ile ortaya çıkan, genellikle kronik bir enflamatuvar yanıt ile karakterize heterojen bir hastalık grubunu ifade eder. Sebebi bilinmeyen *otoimmün bir hastalık*

(bağışıklık sisteminin vücudun kendi hücrelerini yok etmesi) ya da geçirilen bir enfeksiyonun şiddet derecesi sklerit gelişmesindeki en önemli etkenlerdir. Skleritin gelişmesine pek çok durum ya da hastalık sebep olabilmektedir. Enfeksiyon da skleritin önemli ancak nadir sebeplerinden bir tanesidir, tüm vakaların yaklaşık %5 -%10'unda görülür (200-202).

Sklerit genellikle episklerit ile karıştırılmaktadır. Aslında dokusal farklılaşma, hastalığın ilerleyişi, tedavinin yönetimi, prognoz (hastalığın seyri ve buna bağlı yapılan iyileşme tahmini) ve komplikasyonlar yönü ile bu iki hastalık birbirlerinden oldukça farklıdır. Episklerit, sklera üzerinde yer alan derin episkleral dokuyu içermeyen yüzeysel episkleral doku ile sınırlı iltihaplanmadır. Episklerit her ne kadar genellikle idiyopatik (sebebi bilinmeyen) kökenli, klinik bulgularında komşu korneal dokunun da iltihaplanması ve göz içi basıncının yükselmesi yer alsa da diğer oküler yapıların tutulumu ile ilişkili olmayan, hafif, ateş görülmeyen bir iltihaplanma şeklidir. Episklerit ve skleritin klinik olarak ayırt edilmesi ancak göz duvarının iltihaplanan katmanlarının belirlenmesi ile mümkündür. Bunun için ayrıntılı bir hasta hikayesi ve dikkatli bir oküler muayene gerekmektedir (30,201, 204). Skleritin anatomik ve hastalığın ilerleyişi açısından sınıflandırılması ile etiyolojik sebepleri birbirinden çok da ayrılabilir başlıklar değildir. Bu sebeple etiyolojik durumlar ve anatomik sınıflandırmalar aşağıda ayrı ayrı incelenmiştir.

2.4.4.1. Sklerit Etiyolojisi

Etiyolojisine bakıldığında skleritli bireylerde sistemik hastalık insidansı % 39-50 olarak bildirilmiştir (203,205,206). *HLA* (Human Leucocyte Antigen - doku uyumu) ile bilinen bir ilişkisi yoktur (207). Altta yatan sistemik hastalığa sahip bir bireyde posterior skleritin, anterior sklerit ile birlikte görülmesi daha olasıdır (206).

Otoimmün Hastalıklar: Sklerit gelişmesinin en önemli sebebidir. Pek çok bağ dokusu hastalığı ve vaskülitler bu otoimmün hastalıkların başında gelir. Bağ dokusu hastalıkları içerisinde romatoid artrit, vaskülitler içerisinde *Wegener granülomatozu* bilinen başlıca sklerit etkenidir (208,209). Tekrarlayan polikondrit, enflamatuvar bağırsak hastalığı, sistemik lupus eritematozus ve poliarteritis nodosa sklerit etkeni olan diğer sistemik hastalıklar arasında yer alır. Dikkatli bir hasta öyküsünün alınması ve klinik testler ile bu sistemik hastalıkların tespit edilmesi, kontrol altına alınması skleritin de tedavi edilmesi için çok büyük önem taşır (202).

İnfeksiyon: Sklerit etkeni olarak infeksiyon oldukça nadir görülmektedir (%5-10). Ancak genel olarak infekte sklerit otoimmün temelli başlayıp gittikçe daha kötüleşen bir tablo ile ortaya çıktığı ve otoimmün sklerite göre daha kötü sonuçları olduğu ortak bir kanıdır. Bunun sebebi tam olarak bilinemese de tanının geç konulması ya da enfeksiyona sebep olan patojenlerin agresifliğinin neden olduğu düşünülmektedir. İnfeksiyona bağlı olarak gelişen skleritte enfeksiyon sebebi bakteriler (*P. aeruginosa* infeksiyonları en çok görülmektedir), protozoalar, fungus türleri, koinfeksiyonlar en çok bilinen etkenlerdir. Yıllar içerisinde görülmüş vakalarda pek çok patojen organizmanın, skleritin olası sebepleri arasında yer aldığı gösterilmiştir (200,202).

Pseudomonas aeruginosa enfeksiyöz skleritte rapor edilen en yaygın patojendir. (210,211) Fungal kökenli sklerite aylarca tanı konulmayabilir. Bu sebeple enfeksiyon şüphesi olan ilerleyici sklerit vakalarında skleral biyopsi önerilmektedir. Bernauer ve arkadaşları, teşhis ve başarılı bir tedavi için hem cerrahi hem de tıbbi müdahalenin gerekli olduğu üç *Aspergillus* sklerit vakası bildirmiştir (212).

Ameliyatlar (piterjium, katarakt, glokom, vitroretinal ya da konjunktiva tümör ameliyatı) (210), immünoşüpresanlar (213,215), travmalar, Mitomisin C ve radyasyon kullanımı (210,211,216-219) en sık rastlanan infekte skleriti faktörleri arasında yer almaktadır. Ayrıca yapılan pek çok çalışmada da hasta popülasyonu genelde yaşlıdır. Bunun en temel nedeni ise skleritin, etken ile maruziyetin ilk anından 36 yıl sonrasına kadar geçen sürede ortaya çıkabilmesidir. Pek çok patojen infekte sklerite sebep olabilir.

Fungal sklerit bakteriyel ya da viral skleritin aksine genelde kötü sonuçlar verir (1). Genelde sıcak ve ılıman iklimlerde cerrahi operasyon sonrası ya da kazaya bağlı travmalarda ortaya çıkar. Skleral lezyonlar ile seyreden tam kalınlıktaki korneal inflamasyonun oldukça yaygın olduğu bir klinik tablo vardır. Yapılan çalışmalarda tedaviye rağmen pek çok hastada hızlı gelişen katarakt, seröz retinal ya da koroidal ayrılımlar, fitisiz ya da endofitalmi görülmüştür (202).

Maskelenmiş: Melanomlar gibi intraoküler tümörler posterior skleriti, nadiren de konjunktival tümörler ve lenfoma skleriti taklit edebilir. Ayrıca sekonder malign birikimler şiddetli skleral inflamasyona neden olabilir (202).

Cerrahi Müdahaleler: Cerrahi uygulamanın uyardığı nekrotizan sklerit (SINS), katarakt ameliyatından sonra uygulanan çeşitli prosedürler ile ortaya çıkabilir. SINS gelişen hastalar incelendiğinde hastaların %75'i hastalığın başlangıcından önce iki veya

daha fazla cerrahi işlem geçirdiği görülmüştür (220). Ameliyattan sonra sklerit durumunu farkedilme süresi ortalama 9 ay (221) olarak bildirilmiştir. Başka bir çalışmada ise bu sürenin 2 haftadan 6 aya kadar uzanabileceği bildirilmiştir (202). SINS olan hastaların dikkatli bir sistemik araştırmaya ihtiyacı vardır, çünkü yapılan incelemelerde SINS gelişen hastalara, %90'ı bulan oranlarla immünosupresyon tedavisi gerektiren otoimmün vaskülit hastalık tanısı konmuştur (202). Cerrahi olarak indüklenen diffüz sklerit (SIDS) daha nadir görülmektedir.

Diğer Etkenler: Travma, allojenik kemik iliği transplantasyonu sonrası konjenital eritropoetik porfiri ve greft-verus-host hastalığı gibi nadir görülen sistemik hastalıklar bazı özel durumlarda nodüler sklerit nedeni olarak bildirilmiştir (222,223). Pamidronat disodyumu kullanımı sonrası gelişen sklerit ise ilaç kaynaklı nedenler arasında yer alır (224). Thuraiarajan ve arkadaşları, sulu süspansiyonda saflaştırılmış hemaglutinin ve nöraminidaz yüzey antijeninden oluşan inaktif bir influenza aşısı olan Fluvirin'i aldıktan 10 gün sonra posterior skleriti olan bir hastayı bildirmişlerdir (225).

2.4.4.2. Skleritin Sınıflandırılması

Watson ve Hayreh skleriti anatomik temelli olarak sınıflandırmışlardır. Bu sınıflandırma sistemi, bilinenler içerisinde klinik olarak en efektif sistem olarak kabul edilmektedir. Aşağıda yer alan Tablo 2-2'de bu sınıflandırma yer almaktadır (201).

Tablo 2-2 Skleritin sınıflandırılması

Tip	Alt Tip
Episklerit	Difüze
	Nodüler
Anterior Sklerit	Difüze
	Nodüler
	Nekrotize
	• İnflamasyon ile seyreden • İnflamasyonsuz seyreden • Skleromalasia perforans
Posterior Sklerit	Difüze
	Nodüler
	Nekrotize

Episklerit: Episiklerit, anterior episklerada genellikle diffüze, nadir olarak da episkleral inflamasyonun nodüler bir formu olarak görülmektedir. Posterior episklerit de oluşur ve patolojik olarak belgelenmiştir, ancak klinik bir varlık olarak kabul edilememektedir (202).

Birçok vakada tedavi gerekli olmayabilir; Bununla birlikte, yapay gözyaşları, topikal kortikosteroidler ve topikal nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların (NSAİİ) hafif tahriş ve iltihaplanma semptomlarını hafiflettikleri gösterilmiştir (203,226,227). Episklerit vakalarında görülen oküler komplikasyonlar kendi halleri ile düzelebilecek özellikleri nedeniyle birçok hasta tedavi gerektirmez. Episkleritli hastaların %16.7'sinde tedavi olmaksızın hastalığın kendi kendine iyileştiği kaydedilmiştir (203). Bu sebeple sadece yapay gözyaşları kullanılarak göz olağan sürecine bırakılabilir (228).

Topikal kortikosteroidler episkleritin tedavisinde bir sonraki adımdır. Genel olarak %1'lik flüorometonon günde 4 kez uygulanır. Fluometholon ile sonuç alınamazsa, %1'lik prednizolon asetat %1 kullanılabilir. Bir çalışmada, episkleritli hastaların %50'sinde topikal kortikosteroid kullanımı yeterli iken, hastaların sadece %16.7'si oral NSAİİ kullanımı gerektirmiştir (203).

Oral NSAİİ'ler (siklooksijenaz inhibitörleri), topikal kortikosteroidlerin tedavide yetersiz kaldığı durumlarda oral kortikosteroid veya immünsüpresif ilaç gibi daha güçlü ajanlar kullanılmadan önce uygulanabilir. Bu nedenle, refrakter episklerit vakaları için indometasin veya ketorolak gibi oral NSAİİ'ler önerilmektedir (203). Topikal NSAİİ'lerin episkleritte etkisi veya yararı yoktur (227).

Anterior Sklerit:

Difüze anterior sklerit, sklera tutulumunun %50'den fazla olduğu ve altta yatan sistemik bir hastalık ile ilişkili sklerit tipidir (212). Anterior skleranın ödem ve derin episkleral damar ağının dilatasyonu ile karakterizedir. Skleranın bir bölümü için lokalize olabilmekte veya tüm anterior sklerayı içerebilmekte ve hastada fotofobi derecesinde ışık hassasiyeti olabilmektedir. Ayrıca göz dokunmaya karşı oldukça hassastır (202). Kadınlarda 40-70, erkeklerde 30-60 yaş aralığında görülmektedir. Genç ve çok yaşlılarda oldukça nadirdir (212).

Nodüler anterior sklerit, belirgin ve farklı nodüllerin olduğu, daha lokalleşmiş bir skleral ödem alanı ile karakterizedir (202,229) Tek veya çoklu olabilen bu nodüller palpasyon (el ile yapılan fiziksel muayene) için oldukça belirgin ve hassas hale gelebilmektedir (202). Sıklıkla idiyopatik olan bu sklerit çeşidi, romatoid artrit, anti-nötrofil sitoplazmik antikor (ANCA) ve vaskülit (AAV) gibi sistemik hastalıklar ile ilişkili olabilmektedir (229). Her iki cinsiyette de 40-60 yaş aralığında görülmektedir (212).

Nekrotize anterior sklerit, skleritin en şiddetli formu olarak bilinmektedir. Görme işlevi ve gözün bütünlüğüne yönelik ciddi bir tehdittir (230). Genellikle şiddetli ağrı ve yüksek derecede sklera duyarlılığı vardır. Skleral tutulum, şiddetli vaskülit ve episkleral vasküler yatağın kapanması ile karakterizedir. Skleranın nekrozu ince veya derin, lokalize veya jeneralize olabilir ve koroidi açığa çıkarmak için hızla ilerleyebilmektedir. Kornea, siliyer cisim ve trabeküler ağ örgüsünü içeren iltihap yayılımı yaygındır (205). Nekrozun anteriorda görülebilmesine rağmen, tam olarak ultrasonografi kullanılarak görselleştirilmesi veya saptanması zor olabilmektedir (202-204,212,229). Enflamasyon ile seyreden alt tipinde skleromalazi ile birlikte skleral nekroz vardır. Genelde kadınlarda 40'lı yaşlarda görülmektedir (212). Enflamasyonsuz seyreden alt tipinde ise skleromalazi ile birlikte görülmeyen skleral nekroz vardır. Sistemik bir hastalık eşlik etmektedir ve genelde kadınlarda 35-75 yaş aralığında görülmektedir (212). Üçüncü alt tipi olan skleromalasia perforans ise nekrotizan skleritin akut klinik belirtilerini göstermeyen, asemptomatik ve çok nadir görülen bir türdür. Romatoid artritli hastalarda erken ve agresif tedaviye bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. Gözde hassasiyet ve ağrı gibi inflamasyonun klinik belirtilerinin olmaması ile karakterizedir. Hastalarda genellikle skleral yıkıma bağlı skleral rijidite kaybının sebep olduğu astigmatizm görülmektedir. Bu sebeple bulanık görme ortaya çıkmaktadır (202,205,229).

Anterior skleritin tedavisinde topikal kortikosteroidler (231), oral NSAİİ'ler (COX inhibitörleri) (228), oral kortikosteroidler (203), immunosupresif ajanlar (232) ve subkonjunktival kortikosteroid injeksiyonu (229) tercih edilen seçeneklerdir.

Topikal kortikosteroidler genellikle tek başına veya oral NSAİİ'lerle kombine olarak ilk basamak tedavide nekrotize olmayan anterior sklerit için kullanılmaktadır (231). Nekrotize olmayan anterior skleritte topikal kortikosteroid uygulanan hastaların

yarısında sonuç alınmaktadır (233). Oral NSAİİ'lerde sadece %8'lik bir başarısızlık oranı vardır (234). Topikal kortikosteroidler, bakteriyel anterior sklerit için uygun antimikrobiyal ajanlarla birlikte ek tedavi seçeneği olabilmektedir (235,236). Bununla birlikte, enfeksiyöz skleritin yönetiminde immünosupresyonun rolü halen tartışmalıdır (228).

Oral NSAİİ'ler (COX İnhibitörleri), pek çok anterior sklerit çeşidinin kontrol edilmesinde etkilidirler. En sık kullanılan NSAİİ'ler arasında indometasin, naproksen, ibuprofen, piroksikam, diklofenak, selekoksib bulunur. Tedavide sonuç alınmadığı zaman, daha ileri tedavilere geçmeden önce birkaç NSAİİ'nin ardışık olarak denenebilmektedir (228).

Oral kortikosteroidler, özellikle NSAİİ'ler ile tedavide sonuç alınmadığı durumlarda nekrotizan ve nekrotizan olmayan anterior skleritlerde yaygın olarak kullanılmaktadır (203).

İmmünosüpresif ajanlar genellikle daha ciddi sklerit vakaları veya poliangiitisli granülomatozis gibi otoimmün hastalıkların eşlik ettiği durumlarda tercih edilmektedir. Genellikle kullanılan immünosüpresif ajanlar metotreksat, azatioprin ve siklofosfamid'dir (232). İmmünosüpresif ajanlar, oral prednizolon tedavisi ile sonuç alınmadığı, önemli yan etkilerin ortaya çıktığı veya altta yatan hastalığın kortikosteroidlere yeterince yanıt vermediği durumlarda endikedir (231,237).

Subkonjunktival kortikosteroid injeksiyonu çeşitli çalışmaların sonuçları, diffüz ve nodüler anterior skleritli hastalarda subkonjunktival triamsinolonun (STI), az sayıda sistemik yan etkilerle oldukça etkili olduğunu göstermektedir (229).

Posterior Sklerit: Diffüz ve nodüler formları, klinik bulgulardan ya da B-scan ultrasonografi ve manyetik rezonans görüntüleme gibi görüntüleme çalışmalarından yararlanılarak tanımlanabilmektedir. Klinik görünümü posterior skleranın tutulumunun yeri, derecesi ve şiddetine bağlıdır (206). Posterior sklerit anterior sklerit ile birlikte ya da tek başına görülebilmektedir. Her iki durumda da nadir görülen ağrısız nekroz skleromalazi perforans vakaları dışında oküler ağrı en sık görülen semptomdur (202,229). Posterior skleritli hastaların% 40'ında anterior skleral inflamasyon olduğuna dair bir kanıt ve hastaların% 9'unda incelemede anormal klinik bulgu bulunmamaktadır (202,206).

Posterior skleritin tedavisinde oral NSAİİ'ler (COX inhibitörleri) (229), oral kortikosteroidler (228) ve immunosupresif ajanlar (204) tercih edilen seçeneklerdir.

Oral NSAİİ'ler genelde kullanılan oral NSAİİ'ler arasında indometasin, naproksen ve ibuprofen bulunmaktadır. Spesifik bir ajanın seçilmesi, yan etki profilinin yanı sıra kullanılabilirliğe de dayanmalıdır (228). Daha az gastrointestinal yan etkisi olan bir COX-2 inhibitörü olan selekoksib ile de sonuç alındığı yapılan çalışma ile gösterilmiştir (238).

Oral kortikosteroidler nekrotizan olmayan posterior sklerit vakalarında, oral NSAİİ'lere cevap alınamadığı durumlarda oral prednizolon etkili bir ikinci basamak ajandır (228).

İmmunosupresif ajanlar 1 aylık yüksek dozda kortikosteroid tedavisine cevap alınamadığı durumlarda daha agresif tedaviye ihtiyaç duyulduğu için kullanılmaktadır. Kortikosteroidlerin ciddi yan etkileri ortaya çıktığında immünsüpresif ajanlara geçiş yapılmalıdır (203). Bu alanda tercih edilebilecek immosupresif ajanlar arasında metotreksat, azatioprin, mikofenalat mofetil (MMF) ve CsA yer alır (228).

2.4.5. Konjunktivit

Konjunktivanın bakteri, virüs, iritan maddeler ya da allerjenlere bağlı gelişen enflamasyonudur. Oldukça sık karşılaşılan bu durum, her yaş ve sosyo-ekonomik kesimdeki insanları etkilemektedir. Akut gelişen konjunktivit vakalarının %70'inin bir göz doktoru yerine birinci basamak tedavi merkezlerine ya da acil hizmetlere başvurması, hastalığın yaygınlığını gösteren en somut verilerdendir (239-242).

Bakteriyal konjunktivit toplam konjunktivit vakalarının %70'ine yakın bir bölümünü oluşturmaktadır. Genellikle akut olarak seyretse de bazı durumlarda Staphylococcus aureus ve Moraksella lacunata kronik konjunktivite sebep olabilmektedir. Neisseria gonorrhea'ya bağlı gelişen konjunktivit ise oldukça hızlı ve şiddetli gelişebildiği için hiperakut konjunktivit olarak tanımlanmaktadır (243,244). Virüslerin sebep olduğu konjunktivitlerde ise yaygın patojen adenovirüslerdir (245).

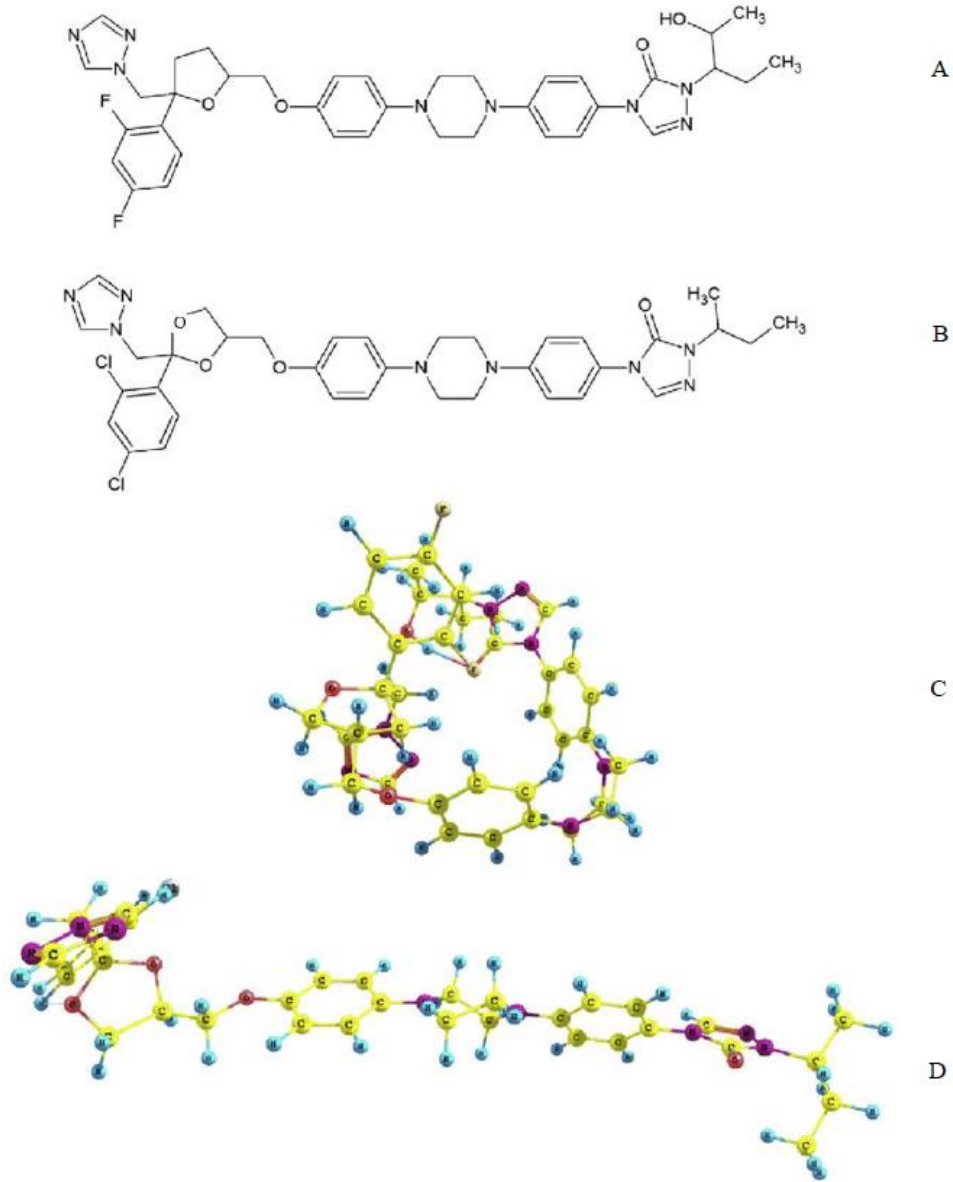
Konjunktivit gelişiminde fungus türleri bir rol oynamamaktadır. Ancak allerjik konjunktivitte ya da fungal keratit ve / veya sklerit vakalarında konjunktiva tutulumu da görülebilmektedir (228,246,247).

2.5. Posakonazol (PSC)

Günümüzde invazif (yaygın) fungus enfeksiyonlarının insidansı hızlı bir şekilde artış göstermektedir. Tedavi sürecinde uygun etkin maddenin seçilmesi, doğru dozaj şeklinde ve dozda uygulanması çok büyük önem taşımaktadır. İnvazif fungus enfeksiyonlarında sıklıkla kullanılan etkin maddeler ekinokadinler, amfoterisin B (AMB), flusitozin ve tiazol (triazol) grubu antifungallerdir. Tiazol grubu antifungallere ketokonazol, flukonazol (FLC), vorikonazol (VRC) ve itrakonazol (ITC) gibi etkin maddeler örnek olarak verilebilir (248).

2.5.1. Fizikokimyasal Özellikler

PSC beyaz kristalize bir tozudur. Kapalı formülü $C_{37}H_{42}F_2N_8O_4$ ve moleküler ağırlığı 700,78 g/mol'dür. Erime derecesi 170-172 °C ve log P değeri 5,5'tir. PSC pratik olarak suda çözünmez. Metanol, DMSO içerisinde çözünür (249). Yapısal olarak ITC ile oldukça benzerdir. İtrakonazol ile karşılaştırıldığında, ITC'nin fenil halkasının 2. ve 4. konumlarına klor bağlı iken aynı noktalara PSC'de flor bağlıdır. İtrakonazoldeki dioksolan yerine PSC'de furan halkası vardır. İtrakonazolün triazol grubuna butil grubu bağlı iken, PSC'de 1-etil-2-hidroksipropil grubu bağlıdır. Ayrıca her iki molekülün de benzerlik gösteren gruplarının uzay konumları farklıdır (248,250). Aşağıda Şekil 2-6'da ITC ve PSC'nin kimyasal yapıları gösterilmektedir.



Şekil 2-6: PSC ve İtrakonazol'un kimyasal yapıları ve uzaysal görünüşleri; A ve C: PSC, B ve D: İtrakonazol

İtrakonazol'un IUPAC isimlendirmesi: $(\pm)$ -1-[(RS)-sek-butil]-4-[p-[4-[p-[(2R,4S)-rel-2-(2,4-diklofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-1,3-dioksolan-4-il]metoksi]fenil]-1-piperazinil]fenil]-D2-1,2,4-triazolin-5-on

PSC'nin IUPAC isimlendirmesi: 4-[4-[4-[4-[(3R,5R)-5-(2,4-difluorofenil)tetrahydro-5-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-3-furanil]metoksi]fenil]-1-piperazinil]fenil]-2-[(1S,2S)-1-etil-2-hidroksipropil]-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-on

2.5.2. Etki Mekanizması

PSC geniş spektrumlu, tiazol grubu bir antifungaldir. Ergosterol adı verilen fungus hücre membranının temel yapı biriminin biyosentezi üzerinde değişiklik yaparak etkisini göstermektedir. Ergosterol sentezinin oksidatif reaksiyonu bir *sitokrom P450* enzimi olan *14-alfa-demetilaz* tarafından katalizlenmektedir. PSC'nin yapısındaki azotlardan bir tanesi lanosterol demetilazın apoproteinine bağlanırken diğer azot da molekülün demir atomuna bağlanarak *lanesterol demetilasyonu* için gereken oksijen aktivasyonunu önler. Böylece fungusta *14-metilli sterol*'ler birikirken ergosterol sentezi durarak hücre membranının fonksiyonunun bozulmasını sağlar ve fungus membran hasarına duyarlı hale gelir. Ayrıca *14-metilli sterol*'lerin elektron transportu ve kitin sentezi ile görevli membrana bağlı diğer enzimlerin aktivitelerini bozduğu da bilinmektedir (2,251).

2.5.3. Farmakokinetik Özellikler

Farmakokinetik, bir etkin maddenin ve / veya metabolitlerinin vücuttaki konsantrasyon ve miktarını zamana bağlı olarak inceleyen ve bunun için matematiksel modeller oluşturan bir bilim dalıdır. Bu amaçla bir ilacın absorpsiyon (emilim), dağılım, metabolizasyon ve eliminasyon (ADME) kinetiklerini incelemektedir (252). PSC'ye ait pazarda oral ve iv infüzyon dozaj formları bulunmaktadır. Bu ürünler Noxafil® 40 mg/ml oral süspansiyon ve Noxafil® 300 mg/16,7 ml infüzyon çözeltisidir. Aşağıda yer almakta olan farmakokinetik parametreler de bu iki ürüne göre verilmiştir.

2.5.3.1. Absorpsiyon (Emilim)

PSC ilaç sınıflandırılmalarında düşük çözünürlük, yüksek permeabilite gösteren sınıf iki grubuna dahil bir etkin maddedir.

PSC'nin oral emilimi doza ve mide içeriğine bağlıdır (253). Bu sebeple tek bir doz oral olarak uygulandıktan sonra maksimum plazma konsantrasyonuna (C_{max}) ulaşma süresi (t_{max}) 3-8 saati bulabilmektedir (254). Ayrıca bireyler arası farklılar da söz konusudur. Farklı çalışmalarda ortanca t_{max} değeri yaklaşık 3-6 saat olarak bildirilmiştir (254-260). Ortalama PSC plazma konsantrasyonu (C_{av}), günde dört kez 200 mg, günde iki kez 400 mg ve günde bir sefer 800 mg PSC alındığında sırasıyla 0,52 mg/ml, 0,32 mg/ml ve 0,16 mg/ml olarak bulunmuştur (261). PSC biyoyararlanımında da tek doz alımı ile gün içerisinde bölünmüş doz alımı arasında da belirgin bir farklılık gözlenmiştir.

Aç karnına günde tek doz 800 mg PSC, günde iki kez 400 mg ve günde dört kez 200 mg ile karşılaştırıldığında biyoyararlanımda sırasıyla %98 ve %220 artış gözlenmiştir (262).

Noxafil® 300 mg / 16,7 ml infüzyon çözeltisinin kısa ürün bilgisi (KÜB) içerisinde yer alan absorpsiyon verilerine göre, 90 dakika boyunca yavaş yavaş verilen 300 mg PSC için infüzyonun sonundaki ortalama C_{max} değeri 3.280 ng / mL (% 74 CV) olarak bulunmuştur. Yine aynı verilere göre PSC iv infüzyon plazma konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alanın minimum inhibitör konsantrasyona oranı (AUC/MIC) ile tedavide alınan yanıt arasında bir ilişki vardır. Örneğin; Aspergillus enfeksiyonlu denekler için kritik oran yaklaşık olarak 200 bulunmuştur (262).

2.5.3.2. Dağılım

PSC'nin proteinlere bağlanma oranı oldukça yüksektir. Genelde serum albuminine afinitesi olan PSC için bu değer $\geq$ %98 olarak bildirilmiştir (261,262).

Oral PSC için kararlı haldeki görünür dağılım hacmi yapılan çalışmalarda yaklaşık 5 L/kg - 25 L/kg arasında gösterilmiştir (254,256,263-265). PSC hücre dışı boşluklara yaygın dağılım ve penetrasyon göstermektedir. V_d/F dozdan ve uygulanma sıklığından etkilenmektedir. Günde iki kez oral 400 mg uygulanan bireylerde V_d/F değeri 2450 L iken , günde iki kez oral 600 mg veya günde bir kez 800 mg alanlarda ise bu değer yaklaşık olarak 5000 L olarak bulunmuştur (266).

Noxafil® 300 mg/16,7 ml infüzyon çözeltisinin de dağılım parametreleri tekli ve çoklu doz uygulanmasından etkilenmektedir. KÜB verileri PSC'nin 261 L'lik bir dağılım hacmine sahip olduğunu yazmaktadır (262).

2.5.3.3. Metabolizasyon

PSC'nin bilinen herhangi bir ana dolaşım metaboliti yoktur. Metabolizasyonu üzerinde CYP enzim sisteminin önemli ölçüde etkisi yoktur denilebilir ve 1A2, 2C8, 2C9, 2D6 ve 2E1 gibi CYP izozimleri üzerinde de herhangi bir etkiye sahip değildir (267,268). Oldukça sınırlı olan metabolizasyonu idrar difosfat (UDP) - glukuronosiltransferaz (UGT) enzimi ile faz II üzerinden ilerlemektedir (269). PSC'nin metabolizasyonunda UGT ve taşıyıcı genlerin alel polimorfizimleri gösterilmiştir ve metabolizasyon enzimlerini ve taşıyıcıları kodlayan genlerdeki genetik polimorfizmlerin rolü araştırılmaktadır (270). Fenitoin ve rifabutin gibi P-glikoprotein indükleyicilerin

PSC klerensinde artışa sebep olması P-glikoprotein de PSC metabolizasyonuna dahil olduğunu göstermektedir (271).

2.5.3.4. Eliminasyon

Courtney ve arkadaşlarının 103 sağlıklı yetişkin üzerinde yapmış oldukları faz I çalışmasında 50 ve 100 mg'lık düşük dozlarda PSC ortalama yarılanma ömrü ($t_{1/2}$) yaklaşık olarak 16-18 saat , 200-1200 mg arasında değişen dozlar için de yaklaşık olarak 24-28 saat bulunmuştur (254). Faz III çalışmalarında, $t_{1/2}$ değeri ortalama 15-35 saat (258) iken PSC'nin oral süspansiyonunda ortalama olarak 35 saat (aralık 20-66 saat) bulunmuştur (259).

Faz I çalışmalarında oral yoldan verilen 200-1200 mg arasında değişen dozlarda, PSC klerensinin dozdan bağımsız olduğu bulunmuştur. Söz konusu belirgin toplam klerens (CL / F) değerleri 4.1-6.6 mL / dk / kg arasında değişmektedir (254). PSC oral süspansiyonu için CL / F değeri ise 32 L / s olarak bulunmuştur (259).

Courtney ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada buldukları PSC farmakokinetik verileri (254) Tablo 2-3, Tablo 2-4 ve diğer tiazol grubu etkin maddelerle karşılaştırmalı farmakokinetik verileri (260) Tablo 2-5 aşağıda yer almaktadır.

Tablo 2-3: Yükselen-tek dozlu bir çalışmada oral uygulama sonrası PSC'nin plazmadaki farmakokinetik parametreleri^a

Doz (mg)^b	C_{max} (ng /ml)	t_{max} (s)	AUC_{son} (ng*s/ml)	AUC_∞ (ng*s/ml)	t_½ (s)	CL/F (ml/dk)	V_d/F (L/kg)
50	113 (46)	6,3 (51)	2.317 (50)	2.501 (45)	15,9 (18)	389 (40)	511 (32)
100	235 (26)	7,3 (36)	6.101 (28)	6357 (27)	18,3 (13)	275 (21)	431 (20)
200	332 (21)	5,8 (35)	10.354 (30)	10.896 (31)	24,5 (22)	341 (40)	674 (18)
400	611 (31)	6,3 (44)	19.401 (33)	20.264 (33)	24,1 (24)	363 (35)	781 (49)
800	1.320 (26)	6,2 (46)	46.984 (43)	49.841 (43)	24,4 (33)	320 (48)	594 (19)
1200	933 (28)	8,8 (85)	41.755 (42)	45.260 (44)	28,5 (26)	585 (73)	1.341 (58)

a: Parantez içerisindeki değerler varyasyon katsayısını yüzde (%) olarak ifade etmektedir.

b: Her bir doz grubunda altı denek vardır.

AUC_{son}: Sıfırdan son ölçülebilir konsantrasyonun zamanına kadar plazma konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alan, **AUC_∞:** AUC_{son}'ye göre hesaplanır, **CL / F:** Oral yoldan verildikten sonra belirgin toplam klerens, **C_{max}:** Maksimum plazma ilacı konsantrasyonu, **CV:** değişim katsayısı, **t_½:** Eleme yarı ömrü, **t_{max}:** C_{max}'a ulaşma süresi, **V_d / F:** Oral uygulamadan sonra belirgin dağılım hacmi.

Tablo 2-4: Günde iki kere oral PSC uygulanan yükselen-çok dozlu bir çalışmada 14 gün sonundaki plazmadaki farmakokinetik parametreleri^a

Doz (mg) ^b	İlk Doz Sonrası		İkinci Doz Sonrası		AUC ₁₂ (ng*s/ml)	AUC ₁₂₋₂₄ (ng*s/ml)	AUC ₂₄ (ng*s/ml)	t _{1/2} (s)	CL/F (ml/dk)	V _d /F (L/kg)	Birikim Oranı ^c
	C _{max} (ng /ml)	t _{max} (s)	C _{max} (ng /ml)	t _{max} (s)							
50	457 (38)	5 (12)	371 (30)	9 (34)	4.454 (37)	3.841 (36)	8.295 (36)	19,2 (16)	13,5 (34)	365 (29)	6,6 (29)
100	1.141 (37)	6 (40)	1.045 (42)	11 (16)	11.571 (40)	10.206 (40)	21.778 (40)	24,1 (20)	10,3 (32)	343 (24)	6,9 (27)
200	1.753 (27)	4 (12)	1.358 (27)	10 (19)	16.801 (26)	14.305 (27)	31.106 (26)	23,9 (26)	13,9 (34)	467 (32)	7,6 (37)
400	4.150 (20)	5 (12)	3.239 (19)	9 (32)	39.206 (20)	33.899 (21)	73.105 (20)	31,0 (46)	11,5 (25)	486 (34)	8,3 (32)

a: Parantez içerisindeki değerler varyasyon katsayısını yüzde (%) olarak ifade etmektedir.

b: Her bir doz grubunda altı denek vardı.

c: 1. gün ve 14. gündeki AUC₁₂ değerleri arasındaki birikim oranı

AUC₁₂: Sıfırdan 12. saate kadar ölçülebilir konsantrasyonun zamanına kadar plazma konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alan, **AUC₁₂₋₂₄:** 12-24. Saatler arası ölçülebilir konsantrasyonun zamanına kadar plazma konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alan, **AUC₂₄:** Sıfırdan 24. saate kadar ölçülebilir konsantrasyonun zamanına kadar plazma konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alan, **CL / F:** Oral yoldan verildikten sonra belirgin toplam klerens, **C_{max}:** İlacın maksimum plazma konsantrasyonu, **CV:** Değişim katsayısı, **t_{1/2}:** Eliminasyon yarılanma ömrü, **t_{max}:** C_{max}'a ulaşma süresi, **V_d / F:** Oral uygulamadan sonra belirgin dağılım hacmi.

Tablo 2-5: Bazı tiazol grubu antifungallere ait farmakokinetik parametreler

Parametre	PSC	FLC	ITC	VRC
Biyoyararlanım (%)	Değişken (Doza ve mide içeriğine bağlı)	> 90	50-75	> 95
Proteinlere Bağlanma (%)	> 98	11	99	58
V_d/F (L / kg)	7-25	0,7-0,8	11	4,6
t_{max} (s)	3-6	2-4	3-5	1-2
CL (L/s/kg)	0,2-0,5	0,0014	0,2-0,4	0,2-0,5
Metabolizma	Karaciğer: Glukuronidasyon ile inaktif metabolit	Karaciğer: %11 metabolize	Karaciğer: CYP3A4	Karaciğer: CYP2C19, 2C9, 3A4
t_{1/2} (s)	15-35	22-31	35-64	6-24 (Değişken)
Eliminasyon	< % 1 idrarda değişmeden, < % 66 dışkıda değişmeden atılır	% 80 idrarda değişmeden atılır	< % 1 idrarda değişmeden atılır	< % 2 idrarda değişmeden atılır

CL: Oral yoldan verildikten sonra belirgin toplam klerens, **t_{1/2}:** Eliminasyon yarılanma ömrü, **V_d / F:** Oral uygulamadan sonra belirgin dağılım hacmi, **CYP:** Sitokrom P450.

Noxafil® 300 mg/16,7 ml infüzyon çözeltisi için uygulanma sonrası, ortalama $t_{1/2}$ 27 saat ve ortalama CL / F değeri 7.3 L / s olarak bulunmuştur (262).

Sime ve arkadaşları Noxafil® 300 mg/16,7 ml infüzyon çözeltisini izotonik çözelti ile seyrelterek kritik durumdaki 8 hastaya uygulamıştır. *Candida sp.* İle enfekte olmuş bu hastalardan elde edilen farmakokinetik parametreler aşağıda Tablo 2-6’da yer almaktadır (272).

Tablo 2-6: Hastalarda tek doz 300 mg PSC’nin, iv uygulandıktan sonraki farmakokinetik parametreleri

Hasta	C _{max} (ng/ml)	C _{min} (ng/ml)	AUC _{0→24} (ng*s/ml)	AUC _{0→∞} (ng*s/ml)	CL (L/s)	t _{1/2} (s)	V (L)
1	1,702	92	10.202	10.505	28,6	10,5	432,7
2	1,956	250	15,129	16,996	17,7	15,2	386,5
3	2,699	668	27,692	37,323	8,0	214,	247,9
4	3,187	825	27,614	63,846	4,7	36,8	249,2
5	1,703	191	12,071	18,869	15,9	29,8	684,6
6	1,351	229	11,154	14,149	21,2	20,4	625,4
7	1,353	209	8,975	12,847	23,4	24,6	828,7
8	684	220	6,814	24,766	12,1	56,6	989,9
Ortalama	1,702	224	11,612	17,932	16,8	23,0	529,1

C_{max}: İlacın maksimum plazma konsantrasyonu, C_{min}: Doz uygulama sonrası 24 saatte gözlemlenen minimum konsantrasyon, AUC_{0→24}: İlk 24 saat boyunca konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alan, AUC_{0→∞}: Sıfırdan sonsuza kadar konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alan, CL: Klerens, λ_z: Eliminasyon hızı sabiti; t_{1/2}: Eliminasyon yarılanma ömrü, V: Dağılım hacmi.

2.5.3.5. Bireysel Faktörlerin ve İlaç Etkileşimlerinin Farmakokinetik Üzerindeki Etkiler

Yapılan çalışmalarda yaş, cinsiyet ve etnik kökenin PSC'nin farmakokinetiği üzerinde bir etkisi olmadığı gösterilmiştir. Ayrıca siyah ve beyaz ırklardan gelen deneklerde, P-glikoprotein ekspresyonu ve çoklu ilaç direnci (MDR) -1 genotipinin PSC farmakokinetiği üzerindeki etkileri araştırılmış ve MDR1 tek nükleotid polimorfizmi ile PSC AUC'si arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır (270). Ancak bu konu ile ilgili çalışmalar hala devam etmektedir (270).

Tedavi amaçlı PSC kullanıp tedavisini tamamlayan, yaşları 8-17 arasında değişen çocuklarla yapılan açık etiket faz III çalışması PSC farmakokinetiğinin erişkinlerle benzer olduğunu göstermiştir (273).

Renal eliminasyon, PSC için ana yolak olmadığından olası renal problemlerin farmakinetik açısından önemli olmadığı düşünülmektedir. Kronik böbrek rahatsızlığı olan ve / veya hemodiyaliz tedavisi gören hastalarla yapılan çalışmalarda CL / F değerinde anlamlı bir farklılık görülmemiştir (263). Karaciğer yetmezliği olan az sayıda hasta ile çalışma yapılabilmektedir. Söz konusu hastalarda normal bireylere göre $t_{1/2}$ değerinde düşüş olduğu ve AUC değerinin de yüksek olduğu bulunmuştur. Elde edilen veriler karaciğer yetmezliği olan hastalarda doz ayarlaması gerekip gerekmediğini belirlemek için yeterli olmamakla birlikte uzmanlar doz ayarlaması yapmayı önermektedir (259).

PSC'nin oral alımında mide içeriği büyük önem taşımaktadır. Tok karnına kullanımda AUC değerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu sebeple hastalara yüksek doygunluğa erişmiş bir mide ile ilacı kullanmaları önerilmektedir (257). Ancak sistemik yaygın fungal enfeksiyonu olan bireyler beslenme sıkıntısı yaşamakta ve katı gıdaları tüketebilmeleri zor olmaktadır. Bu tarz hastaların sıvı gıdalar ya da mamalarla iyice beslendikten sonra ilaç alımı yapmaları önerilmektedir.

PSC atazanavir, takrolimus, sirolimus, siklosporin, lorazepam ve midozolam etkin maddelerinin plazma konsantrasyonlarını yükseltmektedir. Alprazolam, digoksin, kalsiyum kanal blokörleri, amiodaron, astemizol, benzodiazepinler, dofetilid, kortikosteroid, karbamazepin, sisaprid, pimozyd, irinotekan, erektil disfonksiyon ilaçları, ergot alkaloitleri, halofantrin, sülfonil üre, terfenadin, triazolam, vinka alkaloitleri, kuinidin ve HMG-CoA redüktaz inhibitörleri üzerindeki etkisi tam olarak

bilinmemektedir. Bu etkin maddelerin de plazma konsantrasyon seviyelerini artırabileceği düşünülmektedir. UGT indükleyici olan fenitoin ve rifabutin ise PSC miktarını düşürmekte aynı zamanda kendi plazma konsantrasyonları da artmaktadır. Efaviren ve simetidin ise direk olarak PSC plazma konsantrasyonunu düşürmektedir. Farmatidin, lopinavir, rifampisin, omeprazol, tipranavir, ranitidin ve nelfinavir ise yeterli veri olmamakla birlikte PSC'nin plazma konsantrasyonunu düşürebileceği öngörülmektedir. İlaç etkileşimleri göz önünde bulundurularak doz ayarlaması yapılması gerekmektedir (270).

2.5.3.6. Yan Etkiler

Sağlıklı bireylerle yapılan çalışmalarda en sık bildirilen yan etkiler % 8 ile baş ağrısı ve % 6 ile bulantıdır. Bildirilen diğer yan etkiler farklı abdominal şikayetler, ateş basması, sırt ağrısı, sedasyon, baş dönmesi, döküntü, kaşıntı, yorgunluk ve karaciğer fonksiyon testinde, potasyum kan konsantrasyonlarında ve trombosit sayılarında anormalliklerdir (274,275).

PSC'nin refrakter invazif mantar enfeksiyonu (n = 362) veya febril nötropenisi (n = 66) olan hastalarla yapılan açık etiketli iki faz II ve III klinik çalışmalarında, tedaviye bağlı yan etki bildirimi % 38 oranında hesaplanmıştır. En sık görülen ciddi yan etki her iki hasta grubu için de % 1 oranında bilirubinemi, artmış karaciğer enzimleri, hepatoselüler hasar, bulantı ve kusma olmuştur (274-280).

Uzun süreli tedavinin yan etki riskini arttırmadığı, 2 yıla kadar süren tedavi periyotlarında bile önemli yan etki durumunun ortaya çıkmadığı gösterilmiştir (277-279,281,282).

Noxafil® 300 mg/16,7 ml infüzyon çözeltisi için yan etki araştırması akut miyeloid lösemi (AML) ve miyelodisplastik sendrom (MDS) hastalarında, hematopoetik kök hücre nakli (HSCT) sonrası ve sadece graft-versus-host hastalığı (GVHD) riski olanlarda yapılmıştır. İnfüzyon çözeltisi, oral süspansiyon ile karşılaştırılmış ve t_{max} değeri daha kısa AUC değeri ise daha yüksek bulunmuştur. Bu sebeple söz konusu yan etkilerin infüzyon çözeltisinde oral formlara göre daha yüksek şiddette ve sıklıkta görülebilmesi muhtemeldir (262).

2.5.4. Farmakodinamik Özellikler

Farmakodinamik, ilacın bir organizma üzerindeki etkisini ve zaman seyrini inceleyen bilim dalıdır. Antifungal etkinliği tanımlamak için, MIC, AUC / MIC, MIC üstündeki zaman ($T > MIC$), alt-MIC etkileri, zaman öldürme eğrileri ve antifungal sonrası etkiler (PAFE'ler) gibi parametreler kullanılır. Bu amaçla *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar yapılmaktadır (260).

PSC'nin diğer antifungal ajanlarla *in vitro* ortamda yapılmış, farklı fungus türleri üzerindeki etkinliklerini inceleyen Tablo 2-7 (283-286) ve 2-8 (287) aşağıda yer almaktadır.



Tablo 2-7: Antifungal ajanların sıklıkla karşılaşılan invazif mantar patojenlerine karşı aktivite spektrumu

Suşlar	Polyenler ^a	Tiazoller			Ekinokandisler			
		FLC	ITC	VRC	PSC	Kaspofungin	Mikafungin	Anidulafungin
Candida spp.								
C. albicans	+	+	+	+	+	+	+	+
C. glabrata	+	±	±	±	±	+	+	+
C. tropicalis	+	+	+	+	+	+	+	+
C. parapsilosis	+	+	+	+	+	±	±	±
C. krusei	+	-	±	+	+	+	+	+
C. lusitaniae	-	+	+	+	+	+	+	+
C. guilliermondii	-	±	±	+	+	±	±	±

Suşlar	Polyenler ^a	Tiazoller			Ekinokandisler			
		FLC	ITC	VRC	PSC	Kaspofungin	Mikafungin	Anidulafungin
Aspergillus spp.								
A. fumigatus	+	-	+	+	+	+	+	+
A. flavus	+	-	+	+	+	+	+	+
A. terreus	-	-	+	+	+	+	+	+
A. niger	+	-	±	+	+	+	+	+
A. nidulans	-	-	+	+	+	+	+	+
Diğer Türler								
Cryptococcus neoformans	+	+	+	+	+	-	-	-
Fusarium spp.	±	-	-	+ / ±	+ / ±	-	-	-

Suşlar	Polyenler ^a	Tiazoller			Ekinokandisler			
		FLC	ITC	VRC	PSC	Kaspofungin	Mikafungin	Anidulafungin
Scedosporium prolificans	-	-	-	±	±	-	-	-
Scedosporium apiospermum	- / ±	-	±	+	+	-	-	-
Mucorales	±	-	-	-	+	-	-	-
Blastomyces spp.	+	+	+	+	+	± ^b	± ^b	± ^b
Histoplasma spp.	+	+	+	+	+	± ^b	± ^b	± ^b
Coccidioides spp.	+	+	+	+	+	± ^b	± ^b	± ^b

a: AMB deoksikolat ve lipid AMB formülasyonları

b: Dimorfik mantarlara karşı değişken ekinokandin aktivitesi maya ve benzeri formda olmalarına bağlı olarak, *in vitro* tarif edilmiştir

+: Belirtilen fungus türüne karşı antifungal ajanın aktivitesi olduğunu gösterir.

±: Belirtilen fungus türüne karşı antifungal ajanın değişken ya da hafif aktivitesi olduğunu gösterir.

-: Belirtilen fungus türüne karşı antifungal ajanın aktivitesi olmadığını gösterir.

Tablo 2-8: Farklı suşlara karşı antifungal ajanların MIC değerleri

Suşlar	MIC (µg / ml)								
	PSC		FLC		ITC		VRC		AMB
	RPMI	YNB / ME	RPMI	YNB / ME ^a	RPMI	YNB / ME ^a	RPMI	YNB / ME ^a	RPMI
Candida spp.									
C. albicans C43	0,016	0,06	0,25	2	0,03	0,03	0,008	0,016	1
C. albicans C72	0,016	0,03	0,25	2	0,03	0,03	0,016	0,03	1
C. albicans C532	0,25	0,5	256	> 256	1	1	8	> 16	0,5
C. albicans C600	1	2	> 256	> 256	8	> 8	8	> 16	0,5
C. albicans C286	0,5	0,5	4	16	0,5	0,25	0,125	0,25	0,5
C. albicans C288	0,125	0,5	16	64	0,125	0,5	0,125	1	0,5
C. glabrata C110	0,25	2	2	64	0,25	1	0,06	0,5	1
C. glabrata C248	1	2	32	128	> 8	> 8	1	4	0,5

RPMI: Besi ortamı **YNB:** Maya azot bazı **ME:** Malt özütleme ortamı **TE:** Test edilemedi

Şimdiye kadar insanlar ya da hayvanlar üzerinde yapılmış pek çok çalışmada PSC'nin aspegilloz (285-288), invazif kandidiyazis (271,293), kriptokokozis (289,294), fusariosis (295), koksidiyoidomikoz (296,297) histoplazmozis (298) ve mukorikoz (299) üzerinde etkili olduğu bulunmuştur.

2.5.5. PSC'nin Oküler Kullanımına Yönelik Çalışmalar

PSC ile yapılmış kayıtlı bir oküler alana yönelik ilaç taşıyıcı sistem çalışması yoktur. Ancak piyasada bulunan PSC dozaj formları, endikasyon dışı (off label) olarak oküler fungal hastalıkların tedavisinde tercih edilmektedir.

Graybill ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada *Fusarium solani*'ye bağlı oluşan keratit tedavisinde PSC'yi kullanmıştır. 42 yaşındaki hastada *Fusarium solani*'ye bağlı gelişen, korneal ülser ile birlikte seyreden keratitin tedavisi için öncelikle yüksek dozda topikal ve iv AMB uygulamışlardır. Daha sonra sırasıyla hastaya natamisin, ketolarak ile yalın tedavi uygulanmış sonra da sefazolin ve neosporin topikal olarak tedaviye ilave edilmiştir. Ancak kullandıkları tüm seçeneklerden cevap alamayan Graybill, infeksiyon etkeni *Fusarium spp.*'yi PSC'yi oral yoldan günde 800 mg ve topikal yoldan günde 2 defa 10 mg / 0,1 ml PSC süspansiyonu oküler uygulayarak tedavi etmiştir (126).

Tu ve arkadaşları yaptıkları retrospektif çalışmada 3 ayrı hastayı incelemişlerdir. İnceledikleri tüm hastalara *Fusarium spp.*'ye bağlı gelişen keratit tanısı konulmuştur. 48 yaşında birinci hastalarına daha önce *Herpes simplex* keratit tanısı konulmuş ve tedavi görmüştür. *Fusarium*'a bağlı gelişen fungal keratitin tedavisi için öncelikle sistemik FLC kullanmış cevap alamayınca da topikal % 0.5'lik AMB ve günde 2 defa oral yoldan sistemik ITC kombine tedavisine geçilmiştir. Ancak hastada iyileşme gözlemlenmeyince iv ve oral yoldan VRC denenmiş, bu tedaviden de sonuç alınamayınca oral yoldan günde 4 kere 200 mg PSC uygulamasına geçilmiştir. Hasta PSC kullandığı süre boyunca günde 3 kere topikal AMB uygulamasına da devam edilmiştir. İncelenen ikinci hastanın 29 yaşında merkezi keratitin olduğu ve topikal AMB ve natamisin, sistemik FLC tedavisi gördüğü belirtilmiştir. Tedavide sonuç alınamayınca yoldan günde 4 kere 200 mg PSC uygulamasına geçilmiştir. Üçüncü hastada lens solüsyonu kullanımına bağlı olarak keratit gelişmiştir. Hasta topikal olarak vankomisin ve gatafloksasin yanı sıra sistemik olarak asiklovir kullanmıştır. Bu tedavi sırasında hastanın korneasındaki infeksiyon etkeni fungus türevlerine karşı test

edilmemiştir. Tedaviye cevap alınamadığında detaylı mikrobiyolojik analizlerle keratitin fungus kaynaklı olduğu saptanmıştır. Etken belirlendikten sonra hastaya topikal AMB ve natamisin, sistemik FLC tedavisi uygulanmış, sonuç alınamayınca iv ve oral yoldan VRC denenmiş, bu tedavide de bekledikleri ilerlemeyi gözlemleyemeyince günde 2 kere 400 mg PSC uygulamasına geçilmiştir. Her üç hastanında iyileşme profilleri zaman açısından farklılık gösterse de uygulanan PSC tedavisinden sonuç alındığı kaydedilmiştir (300).

Amiel ve arkadaşları sklerokeratit tanısı koydukları bir hastalarında öncelikle topikal kloroheksidin, natamisin, sistemik ve topikal VRC kullanmışlar ancak sonuç alamamışlardır. Daha sonra tedavide sistemik ve topikal PSC kullanmışlardır. Hastanın korneasında iyileşme kaydedilmiş ancak sklera dokusunda ilaç permeasyonunun az olduğunu gözlemlemişlerdir (301).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araç ve Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Pluronic F127 (Polietilen glikol-b-polipropilen-b-polietilen glikol) - BASF, Almanya
- Pluronic F68 (Polietilen glikol-b-polipropilen-b-polietilen glikol) - BASF, Almanya
- PEG-PCL 2000 (Poli(etilen glikol)-blok-poli(ϵ -kaprolakton) – Yıldız Teknik Üniversitesi’nde sentezlendi
- PEG-PCL 5000 (Poli(etilen glikol)-blok-poli(ϵ -kaprolakton) – Yıldız Teknik Üniversitesi’nde sentezlendi
- PEG-PLL 2000 (Poli(etilen glikol)-blok-poli-L-laktid) - Yıldız Teknik Üniversitesi’nde sentezlendi
- Lipoid PE 18:0/18:0-PEG 2000 (N-(Karbonil-metoksipolietilenglikol-2000)-1,2-distearol-sn-gliserol-3-fosfoetanolamin Na Tuzu / MPEG-2000-DSPE Na Tuzu) kopolimeri – Lipoid GmbH, Almanya
- TPGS-PEG 1000 (D- α -Tokoferol polietilen glikol 1000 suksinat) – BASF, Almanya
- Tween 80 – Tekim, Türkiye
- Propilen Glikol – Tekim, Türkiye
- Hidroklorik Asit (HCl) – Tekim, Türkiye
- Laktik asit – Tekim, Türkiye
- Kloroform – Merck, Almanya
- Asetonitril – Merck, Almanya
- Metanol – Merck, Almanya
- Aseton – Merck, Almanya

- Posakonazol – MSN Laboratories, Hindistan
- Sodyum Klorür – Merck, Almanya
- Sodyum Bikarbonat – Merck, Almanya
- Kalsiyum Klorür Dihidrat – Merck, Almanya
- Sodyum Fosfat Dibazik – Merck, Almanya
- Sodyum Fosfat Monobazik – Merck, Almanya
- Sodyum Lauril Sülfat – Merck, Almanya
- Benzalkonyum Klorür – Unilab, Hindistan

3.1.2. Kullanılan Aletler

- Hassas Terazî – Sartorius, Almanya
- Isıtcılı Manyetik Karıştırıcı – IKA, Almanya
- HPLC – Shimadzu, Japonya
- Zetasizer NanoZS – Malvern, İngiltere
- Rotari Evaporatör – IKA, Almanya
- FTIR – PerkinElmer Inc., ABD
- Stabilité Test Kabini TK 120 – Nüve, Türkiye
- pH Metre – Hanna Instruments, ABD
- Ultra Saf Su Chazı – Merck Millipore, Almanya
- Mikropipet (0,5-10 µl) – Eppendorf, Almanya
- Mikropipet (10-100 µl) – Eppendorf, Almanya
- Mikropipet (20-200 µl) – Eppendorf, Almanya
- Mikropipet (100-1000 µl) – Eppendorf, Almanya
- Mikropipet (1-5 ml) – Eppendorf, Almanya
- Hidrofilik PVDF 0.45 µm – Merck Durapore, Almanya
- Asetat Nitrit Membran – Sartorius, Almanya

- Selüloz Asetat Membran – Sartorius, Almanya
- PTFE 0,45 µm filtre – Sartorius, Almanya
- RC 0,45 µm filtre - Sartorius, Almanya
- AFM – Yıldız Teknik Üniversitesi
- Erime Derecesi Tayin Cihazı – Büchi, Almanya

3.2. Yöntem

3.2.1. PSC Üzerinde Yapılan Çalışmalar

3.2.1.1. FTIR Spektrumu

FTIR, kızıl ötesi sinyali frekanslarına ayıran ve ayırdığı her bir frekansın şiddetini gösteren bir analiz yöntemidir.

Toz halindeki PSC'nin FTIR analizi, 400 – 4000 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında PerkinElmer Inc. - Spectrum 100 FTIR Spectrometer cihazı ile yapılmış ve değerlendirilmiştir.

3.2.1.2. Erime Derecesi Tayini

Erime noktası bir bileşiğin önemli ve ayırt edici fizikokimyasal özelliklerindendir. Bu sebeple PSC'nin tanımlanmasında da kullanılmıştır.

Toz halindeki PSC kılcal tüp içerisine konularak Büchi Melting Point B-540 cihazı ile erime derecesine bakılmıştır.

3.2.1.3. Yüksek Basıncı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini

HPLC yöntemi miktar tayini yapılabilmesinin hızlı, kolay, hassas ve güvenilir metodlarından bir tanesidir. Çalışma boyunca, PSC'nin gereken durumlarda miktar tayini amacıyla HPLC yöntemi kullanılmıştır. Uygulanan HPLC metodu Garcia ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmadan modifiye edilmiştir (302). Aşağıdaki Tablo 3-1'de HPLC analizinin koşulları verilmektedir.

Tablo 3-1: HPLC ile miktar tayininde kullanılan kromatografik koşullar

Mobil Faz	Metanol:Su (90:10)
Kullanılan Kolon	C18 (Inertsil ODS-3 5 mikrometre 4.6 x 260 mm)
Enjeksiyon Hacmi	20 µl
Akış Hızı	1 ml.dk ⁻¹
Dedektör	UV Dedektör
Dalga Boyu	260 nm
Sıcaklık	25 °C

HPLC kromatogramlarının değerlendirilmesinde ise etkin maddenin pik alanları kullanılmıştır. Yöntemin güvenilirliğini belirlemek için ICH Analitik Prosedürlerin Değerlendirilmesi: Metin ve Metodoloji Q2(R1) rehberi doğrultusunda analitik yöntem validasyonu çalışması yapılmıştır.

Analitik yöntem validasyonu için incelenen parametreler aşağıda yer almaktadır:

- Doğrusallık (linearity)
- Doğruluk (accuracy)
- Kesinlik (precision)
- Seçicilik (specifity)
- Duyarlılık (sensitivity)
- Stabilite (stability) (etkin maddenin teşhis ve tayin aşamasında)

Doğrusallık (linearity): PSC'nin HPLC ile miktar tayini yönteminin doğrusallığı çalışması için 10,0 mg PSC hassas tartılmış, 20 ml mobil faz ilave edilerek 2 dk ultrasonik banyoda bırakıldıktan sonra aynı çözücü ile konsantrasyonu 50 µg / ml olacak şekilde 200 ml'ye tamamlanmıştır. Bu stok çözeltiden 10 ml alınıp mobil faz ile 100 ml'ye seyreltilerek 5 µg / ml konsantrasyonlu 1. ara stok çözeltisi hazırlanmıştır. 1. ara stok çözeltisinden 10 ml alınıp mobil faz ile 100 ml'ye seyreltilerek 0,5 µg / ml

konsantrasyonlu 2. ara stok çözeltisi hazırlanmıştır. Elde edilen stok ve ara stok çözeltilerinden belirli miktarlarda alınarak 10 ml'ye mobil faz ile tamamlanmıştır. Hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki PSC çözelti bilgileri aşağıda Tablo 3-2'de verilmiştir.

Tablo 3-2: HPLC validasyon çalışmaları için hazırlanan çözelti konsantrasyonları ve kullanılan stok çözelti miktarları

Kullanılan Stok Çözelti Konsantrasyonu	Alınan Hacim	Tamamlandığı Hacim	Elde Edilen Çözelti Konsantrasyon
Ana stok çözelti (50 µg / ml)	8 ml	10 ml	40 µg / ml
	4 ml	10 ml	20 µg / ml
	2 ml	10 ml	10 µg / ml
	1,4 ml	10 ml	7 µg / ml
	10 ml	100 ml	5 µg / ml (1. ara stok çözelti)
1. ara stok çözelti (5 µg / ml)	4 ml	10 ml	2 µg / ml
	2 ml	10 ml	1 µg / ml
	1,4 ml	10 ml	0,7 µg / ml
	0,1 ml	100 ml	0,5 µg / ml (2. ara stok çözelti)
2. ara stok çözelti (0,5 µg / ml)	5 ml	10 ml	0,25 µg / ml
	4 ml	10 ml	0,2 µg / ml
	3 ml	10 ml	0,15 µg / ml
	2 ml	10 ml	0,1 µg / ml
	1 ml	10 ml	0,05 µg / ml

0,05, 0,10, 0,15, 0,20, 0,25, 0,5, 0,7 1, 2, 5, 7, 10, 20, 40 ve 50 µg/ml konsantrasyonlarına karşı pik alanlarından elde edilen değerler kullanılarak kalibrasyon doğrusu hazırlanmıştır. Ayrıca doğru denklemi belirlendi ve determinasyon katsayısı (R^2), standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (%RSD) hesaplanmıştır.

Doğruluk: PSC için HPLC ile analitik yöntemin doğruluğunu belirlemek amacıyla 10,0 mg PSC hassas tartılmış, 20 ml mobil faz ilave edilerek 2 dk ultrasonik banyoda bırakıldıktan sonra aynı çözücü ile konsantrasyonu 50 µg / ml olacak şekilde 200 ml'ye tamamlanmıştır. Bu stok çözeltiden 10 ml alınıp mobil faz ile 100 ml'ye seyreltilerek 5 µg / ml konsantrasyonlu 1. ara stok çözeltisi hazırlanmıştır. 1. ara stok çözeltisinden 2 ml alınıp 10 ml'ye seyreltilerek 1 µg / ml konsantrasyonlu çözelti ve 10 ml alınıp mobil faz ile 1000 ml'ye seyreltilerek 0,5 µg / ml konsantrasyonlu 2. ara stok çözeltisi hazırlanmıştır. Elde edilen PSC çözeltilerinden 0,05, 1 ve 50 µg / ml konsantrasyonlu olanlar kullanılarak çalışma yapılmıştır. HPLC'de analiz edilen bu çözeltilerin pik alanlarından, doğrusallık çalışmasında elde edilen doğru denklemi aracılığıyla çözeltilerdeki karvedilol konsantrasyonu hesaplanmıştır. Yöntemin doğruluğu % geri kazanma değerleri hesaplanması ile belirlenmiştir.

Keskinlik:

- **Gün içi keskinlik:** Doğruluk çalışmasında anlatıldığı şekilde üç farklı konsantrasyonda (0,05, 1 ve 50 µg / ml) örnek hazırlanmıştır. Her konsantrasyondaki örnek 3'er kez analiz edilmiştir. Doğru denklemi yardımıyla PSC miktarı hesaplanmış ve sonuçların ortalamaları, SD ve % RSD değerleri hesaplandı. RSD değerinin % 2' den küçük olup olmadığı tespit edilmiştir.

- **Günler arası keskinlik:** Birinci gün yapılan gün içi keskinlik çalışmaları aynı şekilde 2. ve 3. günlerde tekrar yapılmıştır. Birinci, ikinci ve üçüncü gün sonuçlarının ortalamaları, SD ve % RSD değerleri hesaplandı. RSD değerinin % 2 den küçük olup olmadığı tespit edilmiştir.

Seçicilik: Oküler misel formülasyonu için miktar tayini yönteminin seçiciliğini belirlemek amacıyla PSC içeren ve içermeyen formülasyonlar ve doğruluk çalışmasında anlatıldığı şekilde 1 µg / ml konsantrasyonda PSC çözeltisi hazırlanmıştır. Her çözelti analiz edilerek etkin maddenin pik verdiği retensiyon zamanında kullanılan polimer, sürfaktan, antimikrobiyal koruyucu, pH tampon ajanlarının da pik verip vermediği tespit edilmiştir.

Duyarlılık:

- **Teşhis Limiti:** Teşhis limiti, analizi yapılan maddenin kalitatif olarak saptanabildiği en düşük konsantrasyondur.

Buradaki temel amaç analizi yapılan numunenin pik verdiği ancak sinyal-gürültü oranına göre kantitatif analizin mümkün olmadığı en düşük konsantrasyonu bulmaktır.

Teşhis limitini saptayabilmek için sinyal-gürültü oranının 3:1 olduğu konsantrasyon değeri kabul edilir. PSC'nin teşhis limitini bulabilmek için, mobil faz içerisinde içerisinde hazırlanan 2. ara stok çözeltisinden (0,5 µg / ml) 0,1 µg / ml oranında standart hazırlanmıştır. Hazırlanan bu standart çözeltiden sırasıyla 250, 500, 1000, 2000, 3000 ve 4000 µl alınarak 10 ml'ye tamamlanmıştır. Böylece 0,0025, 0,005, 0,01, 0,02, 0,03 ve 0,04 µg / ml konsantrasyonlarda standart çözeltiler elde edilmiştir. Hazırlanan çözeltiler HPLC'de analiz edilerek sinyal:gürültü oranının 3:1 olduğu konsantrasyon tespit edilmiştir.

- **Miktar Tayini Limiti:** Miktar tayini limiti, yöntemin belirlenen şartlarında analizi yapılan maddenin kabul edilebilir kesinlik ve doğruluk ile tayin edilebildiği en düşük konsantrasyon olarak tanımlanır.

Miktar tayini limitini saptayabilmek için sinyal-gürültü oranının 10:1 olduğu konsantrasyon değeri kabul edilir. PSC'nin teşhis limitini bulabilmek için, mobil faz içerisinde içerisinde hazırlanan 2. ara stok çözeltisinden (0,5 µg / ml) 0,1 µg / ml oranında standart hazırlanmıştır. Hazırlanan bu standart çözeltiden sırasıyla 250, 500, 1000, 2000, 3000 ve 4000 µl alınarak 10 ml'ye tamamlanmıştır. Böylece 0,0025, 0,005, 0,01, 0,02, 0,03 ve 0,04 µg / ml konsantrasyonlarda standart çözeltiler elde edilmiştir. Hazırlanan çözeltiler HPLC'de analiz edilerek sinyal:gürültü oranının 3:1 olduğu konsantrasyon tespit edilmiştir.

Stabilite: Doğruluk çalışmasında anlatıldığı şekilde 1 µg /ml konsantrasyonda PSC çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözelti 1., 2., 4., 6., 8., 12., 24. ve 48. saatlerde HPLC'de analiz edilmiştir. Pik alanlarının oranları kullanılarak PSC konsantrasyonunda herhangi değişiklik olup olmadığı ve farklı bir pik oluşup oluşmadığı tespit edilmiştir.

3.2.1.4. PSC'nin Çözünürlük Tayini

PSC yüklü oküler misel formülasyonlarıyla yapılan *in vitro* salım çalışmalarında salım ortamı ve *ex vivo* geçiş çalışmalarında reseptör faz yapay gözyaşı ortamıdır. Bu nedenle etkin maddenin çözünürlük çalışması bu ortamlarda yapılmıştır. Çözünürlük çalışması için 5,0'er mg PSC hassas tartılmıştır. 10 ml'lik kapaklı flakonlara konulmuştur. Üzerine 10'ar ml yapay gözyaşı ortamı veya sürfaktan içeren yapay gözyaşı ortamı eklenmiştir. Sürfaktan olarak sodyum lauril sülfat (SLS) ve PEG 400 kullanılmıştır. Ardından 37 °C'de 300 devir / dakika hızda 24 saat boyunca karıştırılmıştır. 24 saatin sonunda örnekler karıştırıcıdan alınarak PTFE filtreden süzölmüştür. Süzöntüden 1 ml alınarak 10 ml'ye mobil faz ile seyreltilmiştir. Ardından HPLC'de analiz edilmiştir. Kalibrasyon doğrusu denklemi kullanılarak çözünen PSC miktarı hesaplanmıştır. Deney 3 defa yapıldı, ortalama ve standart sapma değerleri hesaplanmıştır. Çözünürlük çalışması için yapay gözyaşı ortamı, % 0,05, % 0,1, % 0,5, % 1, % 1,5, % 2, % 3, % 4, % 5 ve % 10 SLS (a/h) içeren yapay gözyaşı ortamı, sadece PEG 400 (a/h) ve PEG 400- % 4 SLS (a/h) içeren yapay gözyaşı ortamı kullanılmıştır.

3.2.1.5. PSC'nin 37 °C'de Stabilesinin Tayini

In vitro salım çalışmaları 24 saat boyunca 37° C'de, % 0,1 (a/h) SLS içeren yapay gözyaşı ortamında devam etmiştir. Bu nedenle bu süre içerisinde 37°C'de PSC'de herhangi bir bozulma olup olmadığını gözlemlemek amacı ile stabilize çalışması yapılmıştır. % 0,1 SLS içeren yapay gözyaşı ortamında hazırlanan 1 µg / ml konsantrasyonda PSC çözeltileri 24 saat boyunca 37° C'lik etüvde bırakılmıştır. 1., 2., 4., 6., 8., 10., 12., 18. ve 24. saatlerde 0,1'er ml örnek alınmış ve 1 ml'ye mobil faz ile seyreltilmiştir. HPLC ile analiz edilen örneklerin içerisindeki PSC miktarı doğru denklemi yardımıyla hesaplanmıştır. Deney 3 defa tekrar edilmiş, ortalama, standart sapma ve % RSD değerleri bulunmuştur.

3.2.2. Oküler Misel Formülasyon Çalışmaları

3.2.2.1. Ön Formülasyon Çalışmaları

Oküler ilaç taşıyıcı sistemlerde, dozaj şeklinin boyutu ve salım profili büyük önem taşımaktadır. Miseler formülasyonlarda etkin maddenin özellikleri, polimerin /

süpfaktanın özellikleri ve üretim metodu salım profilini ve boyutu etkilemektedir. Bu sebeple ön formülasyon çalışmalarında tüm bu durumlar göz önünde bulundurulmuştur.

PSC'ün daha önce çalışılmış, literatürde kayıtlı bir miseler dozaj şekli mevcut olmadığı için farklı polimerler ve süpfaktınlar ile denemeler yapılmıştır. Misel üretimi için kullanılan polimer ve süpfaktınlar: Pluronik F127 (9), Pluronik F68 (9), PEG-PCL 2000 (123), PEG-PCL 5000 (123), PEG-PLL 2000 (123), Lipoid PE 18:0/18:0-PEG 2000, TPGS-PEG 1000 (303) ve Tween 80. PSC'nin asidik ortamda çözünürlüğünün artması sebebiyle bazı çalışmalarda düşük konsantrasyonlu asit ve ıslatıcı ajan olarak propilen glikol ilaveleri de yapılmıştır. Polimer ve süpfaktınlar tek başına ve kombine olarak kullanılmıştır.

Formülasyondaki PSC miktarı, PSC'nin *in vitro* farmakodinamik çalışmaları göz önünde bulundurularak belirlenmiştir. Yüksek konsantrasyonda PSC ile de çalışmalar yapılmıştır. Aşağıdaki Tablo 3-3'te yapılan bu çalışmalar yer almaktadır.

Tablo 3-3: Ön formülasyon çalışmasında üretilen formülasyonlar ve alınan sonuçlar

Formülasyon	PSC ^a	Pluronik F127 ^a	Pluronik F68 ^a	PEG-PCL 2000 ^a	PEG-PCL 5000 ^a	PEG-PLL 2000 ^a	Lipoid PE 18:0/18:0 - PEG 2000 ^a	TPGS ^a	HCL ^b	Laktik Asit ^b	Propilen Glikol ^a	Tween 80 ^a
F1	600	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F2	600	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F3	500	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F4	500	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F5	500	20	-	-	-	-	-	-	1 damla	-	-	-
F6	333	20	-	-	-	-	-	-	-	1 damla	-	-
F7	666	20	-	-	-	-	-	-	-	1 damla	-	-
F8	1000	20	-	-	-	-	-	-	-	1 damla	-	-
F9	400	-	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-

Formülasyon	PSC ^a	Pluronik F127 ^a	Pluronik F68 ^a	PEG-PCL 2000 ^a	PEG-PCL 5000 ^a	PEG-PLL 2000 ^a	Lipoid PE 18:0/18:0 - PEG 2000 ^a	TPGS ^a	HCL ^b	Laktik Asit ^b	Propilen Glikol ^a	Tween 80 ^a
F10	400	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-
F11	400	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-
F12	400	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-
F13	330	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-
F14	500	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-
F15-28 ^c	500	-	-	-	-	-	11-100	-	-	-	-	-
F29	500	-	-	-	-	-	40	-	-	-	0,1	-
F30 – F41 ^c	500	-	-	-	-	-	35-45	-	-	-	16,67	-
F42 – F48 ^d	300	-	-	20 – 50	-	-	10	-	-	-	-	-
F49 – F55 ^d	300	-	-	20 – 50	-	-	15	-	-	-	-	-

Formülasyon	PSC ^a	Pluronik F127 ^a	Pluronik F68 ^a	PEG-PCL 2000 ^a	PEG-PCL 5000 ^a	PEG-PLL 2000 ^a	Lipoid PE 18:0/18:0 - PEG 2000 ^a	TPGS ^a	HCL ^b	Laktik Asit ^b	Propilen Glikol ^a	Tween 80 ^a
F56 – F62^d	250	-	-	20 – 50	-	-	10	-	-	-	-	-
F63– F69^d	250	-	-	20 – 50	-	-	15	-	-	-	-	-
F70 – F76^d	300	-	-	-	20 – 50	-	10	-	-	-	-	-
F77 – F83^d	300	-	-	-	20 – 50	-	15	-	-	-	-	-
F84 – F90^d	250	-	-	-	20 – 50	-	10	-	-	-	-	-
F91 – F97^d	250	-	-	-	20 – 50	-	15	-	-	-	-	-
F98 – F104^d	300	-	-	-	-	20 – 50	10	-	-	-	-	-
F105 – F111^d	300	-	-	-	-	20 – 50	15	-	-	-	-	-
F112 – F118^d	250	-	-	-	-	20 – 50	10	-	-	-	-	-
F119 – F125^d	250	-	-	-	-	20 – 50	15	-	-	-	-	-

Formülasyon	PSC ^a	Pluronik F127 ^a	Pluronik F68 ^a	PEG-PCL 2000 ^a	PEG-PCL 5000 ^a	PEG-PLL 2000 ^a	Lipoid PE 18:0/18:0 - PEG 2000 ^a	TPGS ^a	HCL ^b	Laktik Asit ^b	Propilen Glikol ^a	Tween 80 ^a
F126 – 141^e	250	-	-	-	-	1 – 1,8	0,5 – 0,75	-	-	-	-	0,125 – 2
F142 – 143	250	-	-	-	-	-	1,8	-	-	-	-	1,5 – 2
F144 – 145	250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5 – 2
F146 – 147	250	-	15	-	-	-	1,5	-	-	-	-	0,6 – 0,625
F148	250	-	15	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-
F149	250	-	10,8	-	-	-	1,8	-	-	-	-	-
F150	250	-	10,8	-	-	-	1,8	-	-	-	-	0,625
F151	250	10	-	-	-	-	1,8	-	-	-	-	-
F152	250	10	-	-	-	-	1,8	-	-	-	-	0,625
F153 – 168^f	250	10 – 40	-	-	-	-	1,8	-	-	-	-	0,5-1

Formülasyon	PSC ^a	Pluronik F127 ^a	Pluronik F68 ^a	PEG-PCL 2000 ^a	PEG-PCL 5000 ^a	PEG-PLL 2000 ^a	Lipoid PE 18:0/18:0 - PEG 2000 ^a	TPGS ^a	HCL ^b	Laktik Asit ^b	Propilen Glikol ^a	Tween 80 ^a
F169 – 182^f	250	-	10 – 40	-	-	-	1,8	-	-	-	-	0,5-1
F183 – 184	250	-	-	-	-	-	1,8	3,6 – 7,2	-	-	-	-
F185	250	20	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-
F186	250	-	-	-	-	-	1,8	5	-	-	-	-
F187	250	-	-	-	0,75	-	1,8	5	-	-	-	-
F188	250	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-
F189 – 191	250	10-20	-	-	-	-	-	10-20	-	-	-	-
F192 – 195	250	-	10-20	-	-	-	-	10-20	-	-	-	-
F196	500	20	-	-	-	-	-	20	-	-	-	-
F197 – 200	1000	10 – 20	-	-	-	-	-	20 – 30	-	-	-	-

Formülasyon	PSC ^a	Pluronik F127 ^a	Pluronik F68 ^a	PEG-PCL 2000 ^a	PEG-PCL 5000 ^a	PEG-PLL 2000 ^a	Lipoid PE 18:0/18:0 - PEG 2000 ^a	TPGS ^a	HCL ^b	Laktik Asit ^b	Propilen Glikol ^a	Tween 80 ^a
F201 – 204	500	-	15 – 20	-	-	-	-	15 – 20	-	-	-	-
F205 – 207	250	-	-	-	-	-	-	10 – 20	-	-	-	-
F208	500	-	-	-	-	-	-	15	-	-	-	-

a: PSC miktarı µg / ml ve polimer / sürfaktan miktarları mg / ml olacak şekilde çalışma yapıldı.

b: Asitler % 0,1 konsantrasyonda 0,1 N olacak şekilde çalışıldı.

c: Bu formülasyonlarda kullanılan Lipoid PE 18:0/18:0 -PEG 2000 miktarları 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 ve 100 mg / ml olacak şekilde çalışmalar yapıldı.

d: Bu formülasyonlarda kullanılan PEG-PCL 2000, PEG-PCL 5000 ve PEG-PLL 2000 miktarları 20, 25, 30, 35, 40, 45 ve 50 mg / ml olacak şekilde çalışmalar yapıldı.

e: Bu formülasyonda kullanılan PEG-PLL 2000 miktarları 1, 1,25, 1,5 ve 1,8 mg / ml, Lipoid PE 18:0/18:0 -PEG 2000 miktarları 0,5 ve 0,75 mg / ml, Tween 80 miktarları 0,125, 0,15, 0, 188, 0,374, 0,625, 1, 1,25, 1,5 ve 2 mg / ml olacak şekilde çalışmalar yapıldı.

f: Bu formülasyonlarda kullanılan Pluronik F127 Pluronik F68 miktarları 10, 15, 20, 25, 30, 35 ve 40 mg / ml, Tween 80 miktarları 0,5 ve 1 mg / ml olacak şekilde çalışmalar yapıldı.

Ön formülasyon çalışmasının yapıldığı ve yukarıda Tablo 3-3'te belirtilen 208 formülasyonun tamamı, üretim yöntemleri arasındaki farklılıkların incelenebilmesi amacıyla belirlenen tüm formüller film oluşturma ve Y/S emülsiyonu yöntemleri ile üretilmiştir. Her formülasyon final konsantrasyonu en az 4 ml olacak şekilde çalışılmıştır.

Film oluşturma yönteminde her formülasyon için gerekli tartımlar yapıldıktan sonra polimer / sürfaktan 5 ml asetonitril içerisinde çözündürülmüştür. Tartılan PSC üzerine ayrı bir beher içerisinde 5 ml metanol ilave edilerek PSC de çözündürülmüştür. Tamamen çözünmüş olan polimer / sürfaktan üzerine PSC çözeltisi ilave edilmiş ve rotavaporda 55°C, 125 rpm hızda 10 d karıştırılmıştır. Daha sonra 150 mbar basınçta asetonitril ve metanol uçurulmuştur. Uçurma işlemi tamamlandıktan sonra balon çeker ocak altında 15 d bekletilmiştir. Daha sonra önceden 60°C'ye ısıtılarak 25°C'ye soğutulmuş ultra saf su ile hidrate edilmiştir. Hidratasyon işlemi için 25°C'de 125 rpm hızda 1 s karıştırılmıştır. Hidratasyon işlemi sonrasında hazırlanan formülasyonlar hiç süzülmemiş ya da PTFE 0,45 µm ve RC 0,45 µm filtrelerden süzülmüştür. 1 saat bekletildikten sonra partikül büyüklüğü, dağılım ve zeta potansiyel değeri ölçümleri yapılmıştır.

Y/S emülsiyonu yönteminde önceden 60°C'ye ısıtılarak 25°C'ye soğutulmuş ultra saf su final hacimde alınarak bir behere konulmuştur. Ayrı beherlerde polimer / sürfaktan 5 ml asetonitril içerisinde, PSC de 5 ml metanol içerisinde çözündürülmüştür. Çeker ocak altında manyetik karıştırıcı ile 125 rpm'de karıştırılan ultra saf su üzerine öncelikle polimer / sürfaktan çözeltisi yavaşça ilave edilmiştir. 10 d karıştırılan bu çözelti üzerine daha sonra damla damla PSC çözeltisi ilave edilmiştir. 4 saat süren karıştırma işleminin sonunda asetonitril ve metanol kalıntısı kalmaması amacıyla rotavaporda 55°C, 125 rpm hızda, 150 mbar basınçta solvan buharlaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem sadece 30 sn süre ile yapılmıştır. Hazırlanan formülasyonlar hiç süzülmemiş ya da PTFE 0,45 µm ve RC 0,45 µm filtrelerden süzülmüş, ve 1 saat bekletildikten sonra partikül büyüklüğü, dağılım ve zeta potansiyel değeri ölçümleri yapılmıştır.

Hidratasyon aşamasında berrak çözelti elde edilip zaman içerisinde çökmenin gözlemlenmediği, zamanla çökmenin gözlemlendiği ya da partikül büyüklüğü dağılımında varyasyonların olduğu formülasyonlarda solvan etkisinin incelenmesi amacıyla

asetonitril, kloroform ve aseton, polimeri / sürfaktanı çözündürme amacıyla kullanılmıştır.

Lipoid PE 18:0/18:0 -PEG 2000 stabilitesi sıcaklıktan etkilenen ve -20°C’de saklanması gereken bir polimer olduğu için onunla yapılan çalışmaların tamamı 25°C’de yapılmıştır. Bu sebeple kullanılan organik solvanların uzaklaştırılması işlemi diğer formülasyonlara göre daha uzun sürede (film oluşturma yönteminde 30 d – 1 s, Y/S emülsiyon yönteminde 8 s) tamamlanmıştır.

Ön formülasyon çalışmasında uygun görülen formülasyonlar üretildikten sonra 1 ay süre ile stabilite takibi edilmiştir. Bu ön stabilite çalışmaları nihai formülasyonların belirlenebilmesi amacıyla yapılmıştır. 1 hafta içerisinde çökmenin gözlemlendiği Lipoid PE 18:0/18:0-PEG 2000 içeren formülasyonların hidrasyon işlemleri % 5 mannitol içeren ultra saf su çözeltisinde yapılmıştır. Bu formülasyonlar daha sonra liyofilize edilerek ilave stabilite takipleri yapılmıştır.

Yapılan tüm çalışmalar sonunda aşağıda Tablo 3-4’te verilen dört formülasyon ile ileri çalışmaların yapılması kararı alınmıştır.

Tablo 3-4: Ön formülasyon çalışmaları sonunda seçilen dört formülasyon

Formülasyon	PSC	TPGS	Pluronic F127	Pluronic F68
F191	250	20	20	-
F195	250	20	-	20
F206	250	15	-	-
F207	250	20	-	-

3.2.2.2. Misel Formülasyonlarının Hazırlanışı

Film oluşturma yöntemi: 400 mg TPGS tartılarak 20 ml asetonitrilde çözündürülmüştür. Böylece final TPGS konsantrasyonu 20 mg / ml olmuştur. 100 mg Pluronic F127 ve 100 mg Pluronic F68 tartılarak 5'er ml asetonitrilde çözündürülmüştür. Böylece her iki polimerinde final konsantrasyonu 20 mg / ml

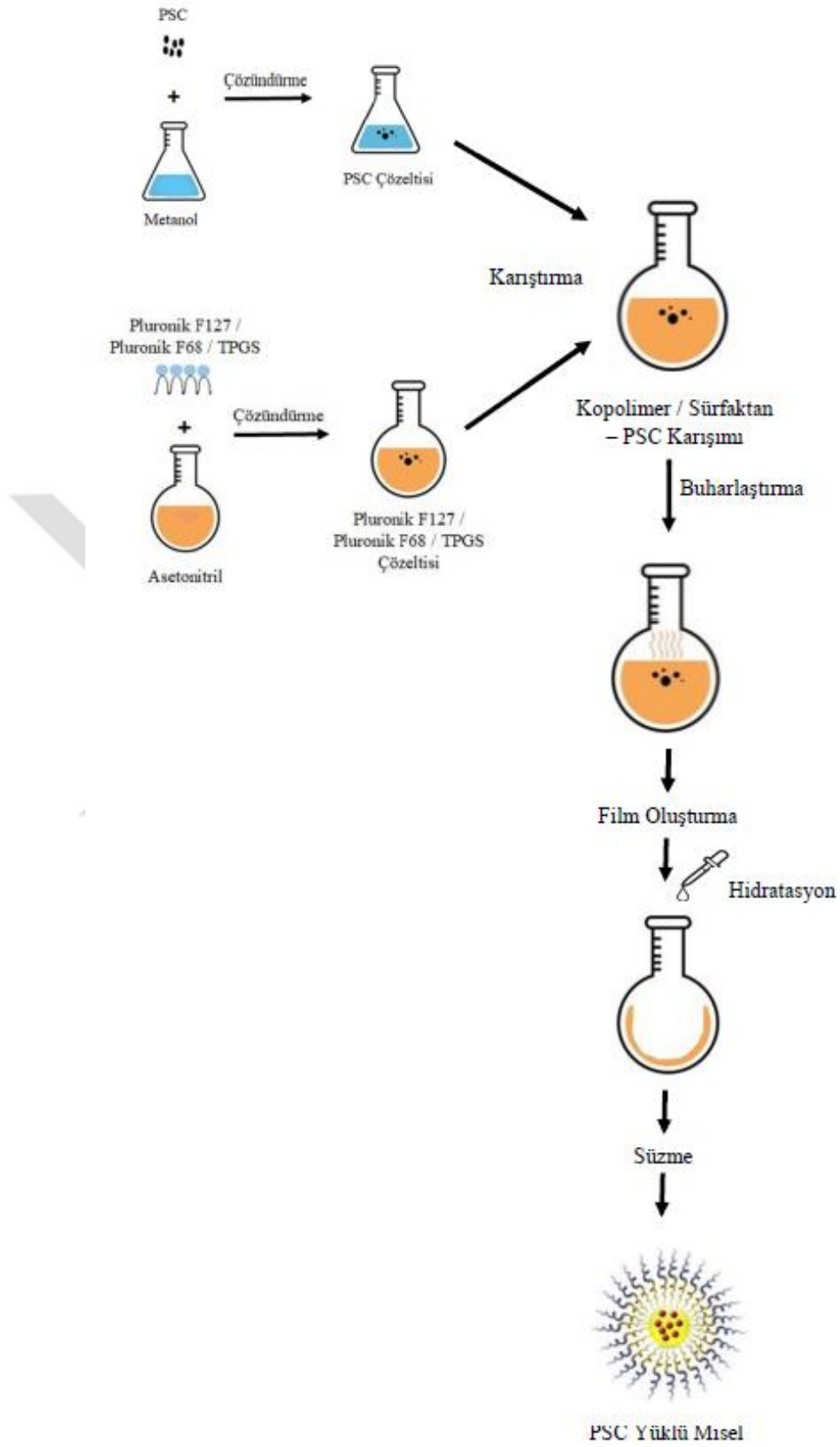
olmuştur. PSC'den 5 mg tartılmış ve 5 ml metanol içerisinde çözündürülmüştür. Böylece PSC'nin final konsantrasyonu 1 mg / ml olmuştur.

F191 için 4 ml TPGS çözeltisi ve 4 ml Pluronic F127 çözeltisi 125 rpm hızda 10 d karıştırılmıştır. Daha sonra 1 ml PSC çözeltisi alınarak polimer – sürfaktan karışımı üzerine ilave edilmiştir. Rotavaporda 55°C, 125 rpm hızda 10 d karıştırılmış ve ardından 150 mbar basınçta asetonitril ve metanol uçurulmuştur. Uçurma işlemi tamamlandıktan sonra balon çeker ocak altında 15 d bekletilmiştir. Daha sonra önceden 60°C'ye ısıtılarak 25°C'ye soğutulmuş ultra saf su ile hidrate edilmiştir. Hidratasyon işlemi için 25°C'de 125 rpm hızda 1 s karıştırılmıştır. Hidratasyon işlemi sonrasında hazırlanan formülasyon PTFE 0,45 µm filtreden süzölmüştür.

F195 için 4 ml TPGS çözeltisi ve 4 ml Pluronic F68 çözeltisi 125 rpm hızda 10 d karıştırılmıştır. Daha sonra 1 ml PSC çözeltisi alınarak polimer – sürfaktan karışımı üzerine ilave edilmiştir. Rotavaporda 55°C, 125 rpm hızda 10 d karıştırılmış ve ardından 150 mbar basınçta asetonitril ve metanol uçurulmuştur. Uçurma işlemi tamamlandıktan sonra balon çeker ocak altında 15 d bekletilmiştir. Daha sonra önceden 60°C'ye ısıtılarak 25°C'ye soğutulmuş ultra saf su ile hidrate edilmiştir. Hidratasyon işlemi için 25°C'de 125 rpm hızda 1 s karıştırılmıştır. Hidratasyon işlemi sonrasında hazırlanan formülasyon PTFE 0,45 µm filtreden süzölmüştür.

F206 ve F207 için sırasıyla için 3 ml ve 4 ml TPGS çözeltisi üzerine 1'er ml PSC çözeltisi ilave edilmiştir. Rotavaporda 55°C, 125 rpm hızda 10 d karıştırılmış ve ardından 150 mbar basınçta asetonitril ve metanol uçurulmuştur. Uçurma işlemi tamamlandıktan sonra balon çeker ocak altında 15 d bekletilmiştir. Daha sonra önceden 60°C'ye ısıtılarak 25°C'ye soğutulmuş ultra saf su ile hidrate edilmiştir. Hidratasyon işlemi için 25°C'de 125 rpm hızda 1 s karıştırılmıştır. Hidratasyon işlemi sonrasında hazırlanan formülasyon PTFE 0,45 µm filtreden süzölmüştür.

Aşağıda Şekil 3-1'de film oluşturma yöntemi şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 3-1: Film oluşturma yönteminin şematik gösterimi

Y/S emülsiyonu yöntemi: 400 mg TPGS tartılarak 20 ml asetonitrilde çözündürülmüştür. Böylece final TPGS konsantrasyonu 20 mg / ml olmuştur. 100 mg Pluronik F127 ve 100 mg Pluronik F68 tartılarak 5'er ml asetonitrilde çözündürülmüştür. Böylece her iki polimerinde final konsantrasyonu 20 mg / ml olmuştur. PSC'den 5 mg tartılmış ve 5 ml metanol içerisinde çözündürülmüştür. Böylece PSC'nin final konsantrasyonu 1 mg / ml olmuştur. Ultra saf su önceden 60°C'ye ısıtılarak 25°C'ye soğutulmuştur.

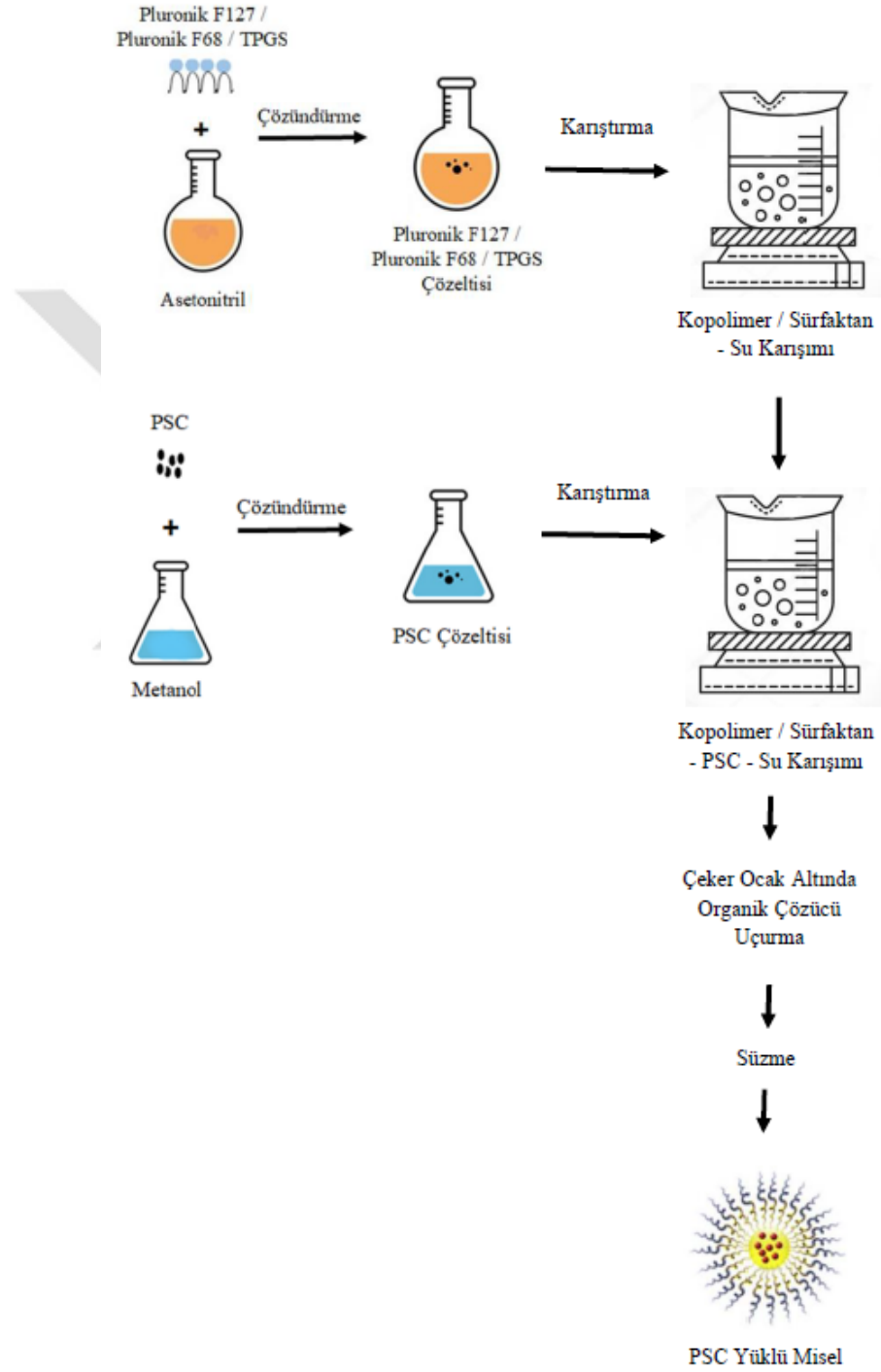
F191 için 4 ml ultra saf su alınarak bir behere konulmuştur. Aynı bir beherde 4'er ml TPGS ve Pluronik F127 125 rpm hızda 10 d karıştırılmıştır. Çeker ocak altında manyetik karıştırıcı ile 125 rpm'de karıştırılan ultra saf su üzerine polimer / sürfaktan çözeltisi yavaşça ilave edilmiştir. 10 d karıştırılan bu çözelti üzerine daha sonra damla damla 1 ml PSC çözeltisi ilave edilmiştir. 4 saat süren karıştırma işleminin sonunda asetonitril ve metanol kalıntısı kalmaması amacıyla rotavaporda 55°C, 125 rpm hızda, 150 mbar basınçta 30 sn süre ile solvan buharlaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Final hacim 4 ml'nin altına düşmüşse ultra saf su ile 4 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan formülasyon PTFE 0,45 µm filtreden süzölmüştür.

F195 için 4 ml ultra saf su alınarak bir behere konulmuştur. Aynı bir beherde 4'er ml TPGS ve Pluronik F168 125 rpm hızda 10 d karıştırılmıştır. Çeker ocak altında manyetik karıştırıcı ile 125 rpm'de karıştırılan ultra saf su üzerine polimer / sürfaktan çözeltisi yavaşça ilave edilmiştir. 10 d karıştırılan bu çözelti üzerine daha sonra damla damla 1 ml PSC çözeltisi ilave edilmiştir. 4 saat süren karıştırma işleminin sonunda asetonitril ve metanol kalıntısı kalmaması amacıyla rotavaporda 55°C, 125 rpm hızda, 150 mbar basınçta 30 sn süre ile solvan buharlaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Final hacim 4 ml'nin altına düşmüşse ultra saf su ile 4 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan formülasyon PTFE 0,45 µm filtreden süzölmüştür.

F206 ve 207 için 4'er ml ultra saf su alınarak bir behere konulmuştur. Çeker ocak altında manyetik karıştırıcı ile 125 rpm'de karıştırılan ultra saf su üzerine sırasıyla 3 ml ve 4 ml sürfaktan çözeltisi yavaşça ilave edilmiştir. 10 d karıştırılan bu çözelti üzerine daha sonra damla damla 1 ml PSC çözeltisi ilave edilmiştir. 4 saat süren karıştırma işleminin sonunda asetonitril ve metanol kalıntısı kalmaması amacıyla rotavaporda 55°C, 125 rpm hızda, 150 mbar basınçta 30 sn süre ile solvan buharlaştırma

işlemi gerçekleştirilmiştir. Final hacim 4 ml'nin altına düşmüşse ultra saf su ile 4 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan formülasyon PTFE 0,45 µm filtreden süzölmüştür.

Aşağıda Şekil 3-2'de Y/S emülsiyon yönteminin yöntemi şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 3-2: Y/S emülsiyon yönteminin şematik gösterimi

Hem film oluşturma hem de Y/S emülsiyon yöntemi ile üretilen formülasyonlara antimikrobiyal koruyucu olarak % 0,01 a/h benzalkonyum klorür ve % 0,1 a/h disodyum EDTA (304), pH ayarlayıcı olarak da PBS pH 7,4 PTFE 0,45 µm filtreden süzölerek ilave edilmiştir. Üretilen formülasyonlara ait kodlar aşağıda Tablo 3-5'te verilmiştir.



Tablo 3-5: Üretilen formülasyonlara ait kodlar

Formülasyon	Boş	Boş + antimikrobiyal koruyucu ve pH tamponu	PSC	PSC + antimikrobiyal koruyucu ve pH tamponu	Üretim Metodu
F191	F191B	F191BF	F192	F191F	Film oluşturma
F195	F195B	F195BF	F195	F195F	
F206	F206B	F206BF	F206	F206F	
F207	F207B	F207BF	F207	F207F	
F191	F191B Y/S	F191BF Y/S	F191 Y/S	F191F Y/S	Y/S emülsiyon oluşturma
F195	F195B Y/S	F195BF Y/S	F195 Y/S	F195F Y/S	
F206	F206B Y/S	F206BF Y/S	F206 Y/S	F206F Y/S	
F207	F207B Y/S	F207BF Y/S	F207 Y/S	F207F Y/S	

3.2.3. Misel Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları

3.2.3.1. Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Tayini

Üretilen misellerin boyutunu belirlemek için, hazırlanan formülasyonlar Zetasizer Nano ZS küvetine konulmuş ve bütün ölçümler $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ hassaslığında 25°C 'de çalışılmıştır. Her biri 10'lu tekrardan oluşan toplamda 3'er ölçüm yapılmıştır. Elde edilen boyut ölçüm verileri 3 ölçümün ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Ölçümlerin tamamı her iki üretim metodu ile üretilen misellerin boş, PSC yüklü, antimikrobiyal koruyucu ve pH tamponu içeren formları için çalışılmıştır.

3.2.3.2. Zeta Potansiyel Tayini

Boş, PSC yüklü, antimikrobiyal koruyucu ve pH tamponu içeren formülasyonlarının zeta potansiyellerinin tayini için elektroforetik ışık saçılımı yöntemi kullanılmıştır. Zeta potansiyelinin elektroforetik tayini Smoluchowski eşitliğinden yararlanarak cihaz tarafından hesaplanmaktadır (305). Her biri 10'lu tekrardan oluşan toplamda 3'er ölçüm yapılmıştır. Polimerik miseller Zetasizer Nano ZS cihazı ile $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ hassaslığında 25°C 'de çalışılmıştır. Kıvrımlı kapiler küvet kullanılmıştır.

3.2.3.3. AFM ile Misellerin Morfolojilerinin Tayini

Üretilen misellerin morfolojisi hakkında detaylı bilgi edinmek amacıyla AFM analizi, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. AFM analizi için F206 kodlu misel formülasyonu seçilmiştir. Analiz formülasyon seyreltilmeden yapılmıştır.

Analiz yüzeyinin hazırlanması için analizin yapılacağı mika yüzey 20 μl ultra saf su ile yıkanmıştır. Formülasyonun kısmen negatif yüklü olması sebebi ile adhezyonun artırılması önem taşımaktadır. Adhezyonu artırmak için mika yüzeye 10 mM MgCl_2 çözeltisinde 20 μl damlatılmıştır. Hazırlanan analiz numunesinden 2 μl alınarak mika yüzeye damlatılmıştır. Örnek burada 24 saat bekletilmiştir. Daha sonra mika yüzey ultra saf su ile tekrar yıkanmıştır. Tekrar yıkama işlemi 2 defa daha yapılmıştır. Yıkanan yüzey oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Rezonans frekansı 1 Hz olarak ayarlanmıştır. Mika yüzey kuruduktan sonra temassız analiz yapılmıştır.

3.2.3.4. Misellerdeki PSC Miktarının ve PSC Yükleme Etkinliğinin Tayini

Hazırlanan PSC yüklü misel formülasyonları yüklenmemiş PSC olabileceği düşünülerek HPLC analizleri yapılmıştır. HPLC analizi için formülasyonlardan 0,1 ml alınarak 1 ml'ye mobil faz ile tamamlanmış ve bu tezin “3.2.1.1. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini” bölümünde anlatılan koşullarda analiz edilmiştir. Her formülasyonun 260 nm’de verdiği absorbans değerleri tespit edilmiştir.

HPLC analizi ile misellere yüklenen PSC miktarı hesaplandıktan sonra aşağıda verilen denklemler ile misellere yüklenen PSC yüzdesi ve PSC’nin miseller içerisindeki yüzdesi hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Misellere yüklenen PSC} = A \times 100 / B \quad (3-1)$$

$$\% \text{ PSC'nin miseller içindeki içeriği} = A \times 100 / B + C \quad (3-2)$$

A: Misellere yüklenen PSC miktarı (µg)

B: Misel hazırlama aşamasında kullanılan PSC miktarı (µg)

C: Misel hazırlama aşamasında kullanılan kopolimer / sürfaktan miktarı (µg)

3.2.3.5. Stabilite

Boş, PSC yüklü, antimikrobiyal koruyucu ve pH tamponu içeren formülasyonlarının stabilite çalışmaları hem film oluşturma hem de Y/S emülsiyon yöntemi ile üretilen formülasyonların tamamı için çalışılmıştır. Türkiye sıcaklık ve nem oranları açısından II. Bölge olarak adlandırılan 25°C sıcaklık ve % 60 bağıl neme sahip coğrafik konumda yer almaktadır. Üretilen formülasyonlar 25 ± 2 °C, % 60 ± 5 bağıl nem ve 40 ± 2 °C, % 75 ± 5 bağıl nem özelliklerine sahip stabilite kabinlerine poli etilen şişelerde kaldırılmıştır. Stabilite kabini olarak Nüve Test Kabini TK 120 kullanılmıştır. 7., 14., 30., 45., 60., 90., 120., 150. ve 180. günde partikül büyüklüğü ve dağılımı, zeta potansiyel, HPLC analizleri ve pH ölçümleri yapılmıştır. HPLC analizi için formülasyonlardan 0,1 ml alınarak 1 ml'ye mobil faz ile tamamlanmış ve bu tezin “3.2.1.1. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini” bölümünde anlatılan koşullarda analiz edilmiştir.

3.2.4. *In vitro* Salım Çalışmaları

In vitro salım çalışmaları için misel karakterizasyonları ve % etkin maddenin miseller içindeki içeriği dikkate alınarak seçim yapıldı. Salım çalışmaları için PSC yüklü, antimikrobiyal koruyucu ve pH tamponu içeren formülasyonlar için çalışıldı. *In vitro* salım çalışması için Yang ve arkadaşlarının (306), Yu ve arkadaşlarının (307) ve Kanoujia ve arkadaşlarının (308) kullandığı yöntemler modifiye edilerek kullanıldı. F191F, F195F, F206F, F207F formülasyonları ve Noxafil® 40 mg/ml oral süspansiyonu seyreltilerek (127) karşılaştırmalı (her biri için n=6) çalışmalar yapıldı. Süspansiyon seyreltilirken Graybill ve arkadaşlarının kullandığı 10 mg / 0,1 ml seyreltme oranı kullanılmamıştır. Formülasyonlarla benzerlik göstermesi amacıyla 250 µg / ml olacak şekilde seyreltme yapılmıştır. Salım çalışmaları *Franz Difüzyon Hücre Sistemi*'nde yapılmıştır. Salım ortamı olarak % 0,1 SLS içeren yapay göz yaşı ortamı seçilmiştir. Deneyden önce salım ortamının 37 °C'ye gelmesi için 30 d beklenmiştir. 12 ml hacimli *Franz Hücreleri* kullanılmıştır. Donör olarak formülasyonlardan 2'şer ml *Franz Hücrelerine* ilave edilmiştir. Hücrelerde hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilmiştir. Deney sırasında salım ortamından 30., 60., 120., 150., 180., 210., 240. ve 270. dakikalarda 1 ml örnek alınmış ve alınan ortamlara karşılık yerine 1 ml salım ortamı ilave edilmiştir. Alınan örneklerin 0,1 ml'si mobil faz ile 1 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra bu örnekler bu tezin "3.2.1.1. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini" bölümünde anlatılan koşullarda analiz edilmiştir.

% salım hesabının yapılabilmesi için misel formülasyonlarında yüklü PSC miktarını tespit etmek amacıyla çalışmanın başlangıcında 0,1 ml misel formülasyonu alınarak mobil faz ile 1 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra bu örnekler bu tezin "3.2.1.1. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini" bölümünde anlatılan koşullarda analiz edilmiştir. Elde edilen pik alanlarından kalibrasyon doğrusu yardımı ile çalışmada kullanılan misel formülasyonlarındaki PSC miktarı ve % salım oranları hesaplanmıştır. Ayrıca zamana karşı % salım grafiği çizilmiştir.

3.2.5. Sığır Kornea ve Sklera Dokularında *Ex Vivo* Geçiş Çalışmaları

3.2.5.1. Dokuların Hazırlanması

Bu çalışmada Veteriner Hekim İhsan Kenanoğlu tarafından izole edilen sığır gözleri kullanılmıştır. İzole edilen gözler çalışmalar yapılana kadar Avrupa Göz

Bankası Birliği tarafından yayımlanmış olan rehber kurallarına uygun olarak penisilin G (50 ünite.mL⁻¹) ve streptomisin (50 ünite.mL⁻¹) içeren % 0,9'luk izotonik sodyum klorür çözeltisinde +4°C'de muhafaza edilmiştir (309). Çalışma yapılmadan önce gözler antibiyotiklerin uzaklaştırılması amacıyla % 0,9'luk izotonik sodyum klorür çözeltisi ile yıkanarak 24 saat boyunca % 0,9'luk izotonik sodyum klorür çözeltisinde +4°C'de muhafaza edilmiştir. Çalışma gününde gözlerden kornea ve sklera dokuları ayrılarak her iki doku için de *ex vivo* geçiş çalışması yapılmıştır.

3.2.5.2. *Ex Vivo* Geçiş ve Biyoadhezyon Çalışmaları

Ex vivo geçiş çalışmalarında *Valia Chain* hücreler kullanılmıştır. Kullanılan hücrelerin reseptör ve donör faz hacmi 4 ml'dir. Reseptör faz için difüzyon küresi 12 mm ve donör faz için geçiş açıklığı 3 mm'dir. Kullanılan *Valia Chain* hücresinin fotoğrafı aşağıda Şekil 3-3'te yer almaktadır.



Şekil 3-3: *Ex vivo* çalışmalarda kullanılan *Valia Chain* hücreler

Deneyden 24 saat öncesinde yıkamaya bırakılan gözlerden kornea ve sklera dokuları çıkartılarak *Valia Chain* hücrelere yerleştirilmiştir. Reseptör ortamı olarak % 0,1 (a/h) SLS içeren yapay göz yaşı ortamı seçilmiştir. Deneyden önce salım ortamının 37°C'ye gelmesi için 30 d beklenmiştir. Ardından reseptör ortamı ve formülasyonlardan 4'er ml hücrelere hava kabarcığı kalmayacak şekilde eklenmiştir. F191F, F195F, F206F ve F207F formülasyonlarının, 250 µg / ml'ye seyreltilmiş Noxafil® 40 mg/ml oral süspansiyonu (127) ile karşılaştırmalı (her biri için n=6) *ex vivo* geçiş çalışması

yapılmıştır. 400 rpm / dk hızda yapılan çalışmada 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7., 8., 12. ve 24. saatlerde reseptör fazdan 0,2 ml örnek alınmıştır. Alınan örnek yerine 0,2 ml reseptör ortamı ilave edilmiştir. Alınan 0,2 ml örneğin 0,1 ml'si mobil faz ile 1 ml'ye seyreltilmiştir. Daha sonra bu örnekler bu tezin “3.2.1.1. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini” bölümünde anlatılan koşullarda analiz edilmiştir. Elde edilen pik alanlarından kalibrasyon doğrusu yardımı ile çalışmada kullanılan misel formülasyonlarındaki PSC miktarı ve % salım oranları hesaplandı. Ayrıca zamana karşı % geçiş grafiği çizilmiştir.

3.2.6. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması

PSC'nin miseller sistemden *in vitro* salım ve *ex vivo* geçiş davranışını belirlemek için elde edilen bulgular Higuchi, sıfırıncı ve birinci derece kinetik modellerine uygulanmıştır. Bu kinetik modellere ait korelasyon katsayıları hesaplanmış ve bunun sonucunda miseller formülasyondan PSC salımına uygun kinetik model tespit edilmiştir.

3.2.6.1. Sıfırıncı Derece Kinetik Model

Sıfırıncı derece kinetik modelinde (310), zamana (t) karşı konsantrasyon (C) grafiği çizildiğinde bir doğru elde edilir. Bu modelde her bir zaman aralığında formülasyondan çözeltiye geçen etkin madde miktarı sabittir.

$$C = C_0 - k_0 t \quad (3-3)$$

C= t zamanı sonunda kalan ilaç konsantrasyonu

C₀= Başlangıç anındaki ilaç konsantrasyonu

k₀= 0. derece hız sabiti

3.2.6.2. Birinci Derece Kinetik Model

Birinci derecede kinetik modelinde (310), zamana bağlı olarak çözünen etkin madde miktarı logaritmik şekilde azalmaktadır.

$$\text{Log } C = \text{Log } C_0 - k_1 t / 2,303 \quad (3-4)$$

C= t zamanı sonunda kalan ilaç konsantrasyonu

C₀= Başlangıç anındaki ilaç konsantrasyonu

k₁= 1. derece hız sabiti

3.2.6.3. Higuchi Kinetik Modeli

Higuchi kinetik modelinde (310), salınan etkin madde miktarı zamanın kareköküyle orantılıdır. Higuchi kinetik modeline ait denklem aşağıda yer almaktadır.

$$Q = kt^{1/2} \quad (3-5)$$

Q= Birim yüzeyden salınan ilaç miktarı

k =Higuchi salım hızı sabiti

t=Zaman

3.2.7. İstatistiksel Değerlendirmeler

Yapılan çalışmada elde edilen deney bulguları, GraphPad Prism 8.1.1 bilgisayar programı kullanımı ile istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara ikiden çok karşılaştırma ögesi olduğu durumlarda “one-way ANOVA testi” ve iki tane karşılaştırma ögesi olduğunda “t testi” uygulanmıştır.

4. BULGULAR

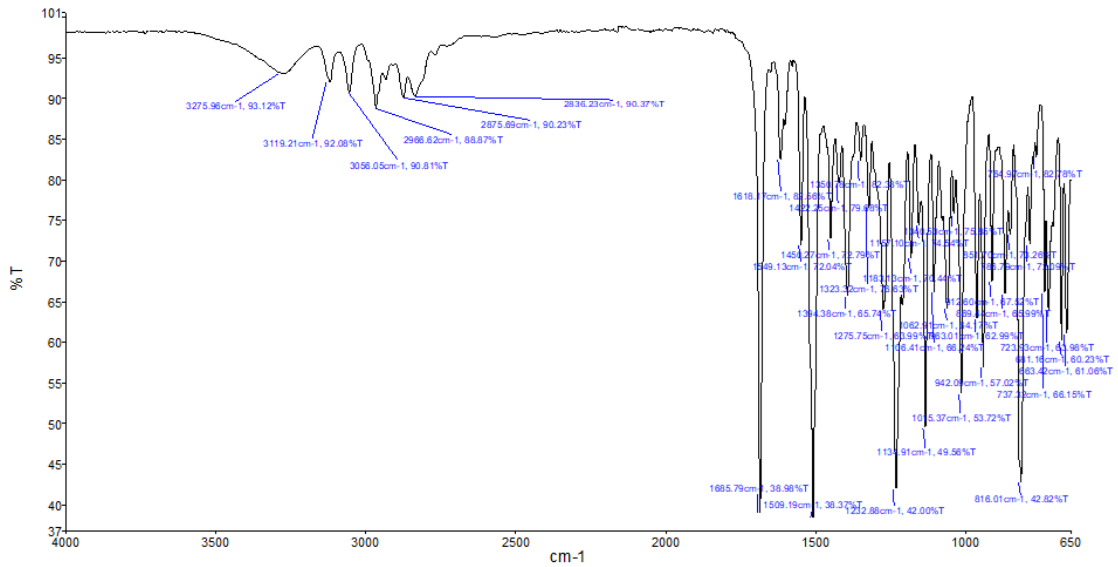
4.1. PSC Üzerinde Yapılan Çalışmalar

4.1.1. FTIR Spektrumu

4000-400 cm^{-1} dalga boyu aralığında yapılan PSC'nin FTIR analizinde görülen gerilim bantları aşağıda verilmiştir.

- 3119 cm^{-1} 'de OH,
- 2966 cm^{-1} 'de CH_2 ,
- 1685 cm^{-1} 'de $\text{C}=\text{O}$,
- 1618 cm^{-1} 'de $\text{C}=\text{N}$,
- 1422 cm^{-1} 'de $\text{C}-\text{N}$

Analize ait spektrum örneği aşağıda Şekil 4-1'de yer almaktadır.



Şekil 4-1: PSC'nin FTIR Spektrumu

4.1.2. Erime Derecesi Tayini

PSC'nin erime derecesi yapılan analiz sonucunda 166-168 $^{\circ}\text{C}$ olarak bulunmuştur.

4.1.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini

PSC'nin HPLC ile miktar tayini "3.2.1.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini" bölümünde anlatılan koşullarda analiz edilmiştir. PSC'ye ait örnek kromatogram Şekil 4-2'de gösterilmiştir. Kromatogramda da görüldüğü gibi, PSC'nin retansiyon zamanı 4,5 dakika olarak belirlenmiştir.



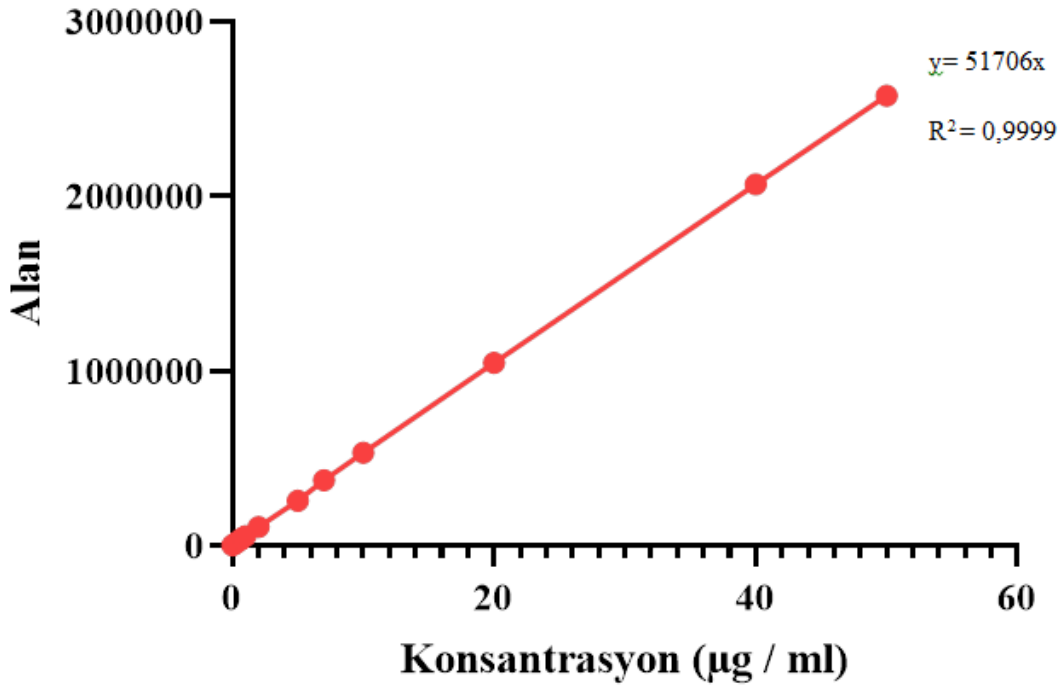
Şekil 4-2: PSC'ye (50 µg/mL) ait HPLC kromatogramı

4.1.3.1. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yönteminin Validasyonu

Doğrusallık (Linearity): Bölüm 3.2.1.3.'te açıklandığı üzere, PSC'nin Metanol:Su (90:10) mobil faz içerisinde hazırlanan, 50 µg / ml ana stok ve 5 µg / ml ile 0,5 µg / ml konsantrasyonlardaki ara stok çözeltilerden seyreltilerek hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki (0,05 – 50 µg / ml) çözeltiler ile yapılmıştır. Tablo 4-1'de yer alan deney bulguları 15 farklı konsantrasyondaki PSC çözeltilisinin hazırlanan 3'er ayrı örneğinin kendi içerisinde yapılmış 3'lü ölçümleri sonrası ortalama alınarak bulunmuştur. Bulgular incelendiğinde belirtilen konsantrasyon aralığında, konsantrasyon ile elde edilen pik alanları oranları arasında doğrusal ilişki saptanmış olup, regresyon analizi bulguları Şekil 4-3'te verilmiştir.

Tablo 4-1: PSC'nin HPLC yöntemi ile miktar tayini validasyonunun doğrusallık çalışmasına ait bulgular (n=3)

Stok Kodu	Konsantrasyon	Alan	SD (±)	RSD (%)
S1	0,05	2734,4444	43,7125	1,5985
S2	0,1	5573,5556	88,4251	1,5865
S3	0,15	8302,0000	32,9089	0,3963
S4	0,2	10823,8889	8,7368	0,0807
S5	0,25	13449,0000	115,8598	0,8614
S6	0,5	27145,0000	102,7886	0,3786
S7	0,7	37735,8889	92,6012	0,2453
S8	1	54051,5556	114,3843	0,2116
S9	2	105829,3333	65,6531	0,0620
S10	5	256776,3333	27,0000	0,0103
S11	7	372633,1111	45,3468	0,01216
S12	10	530798,1111	17,0000	0,0032
S13	20	1047175,1110	76,7094	0,0073
S14	40	2067726,6670	21,0079	0,0010
S15	50	2576244,6670	54,0123	0,0021



Şekil 4-3: PSC'nin kalibrasyon doğrusu ve denklemi

Doğruluk: 0,05, 1 ve 50 µg / ml konsantrasyonlarda PSC çözeltilerinin miktar tayini için, Bölüm 3.2.1.3.'te açıklandığı üzere çalışılarak yöntemin doğruluğu tespit edilmiştir. Her bir konsantrasyon için 3'er örnek hazırlanarak bu örneklerin kendi içerisindeki 3'lü ölçümlerinin ortalaması alınmıştır. Her konsantrasyon için geri kazanma değeri (%), standart sapma (SD) ve relatif standart sapma (%RSD) değerleri Tablo 4-2'de gösterilmiştir.

Tablo 4-2: PSC'nin HPLC yöntemi ile miktar tayini validasyonunun doğruluk çalışmasına ait bulgular (n=3)

Konsantrasyon	Geri Kazanma	Geri kazanma (%)	SD (±)	RSD (%)
0,05 µg / ml	0,0500 µg / ml	100,0529	31,5330	1,2190
1,0 µg / ml	1,0358 µg / ml	103,5869	38,7875	0,0718
50 µg / ml	50,0074 µg / ml	100,0149	72,2804	0,0080

Keskinlik:

- **Gün içi keskinlik:** Doğruluk çalışmasında anlatıldığı şekilde üç farklı konsantrasyonda (0,05, 1 ve 50 µg / ml) örnek hazırlanmıştır. Her konsantrasyondaki örnekler Bölüm 3.2.1.3.'te açıklandığı üzere 3'er kez analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki Tablo 4-3'te yer almaktadır.

Tablo 4-3: PSC'nin HPLC yöntemi ile miktar tayini validasyonunun günler içi keskinlik çalışmasına ait bulgular (n=3)

Konsantrasyon	Pik Alanları	SD (±)	RSD (%)
0,05 µg / ml	2644,2220	30,7961	1,1646
1,0 µg / ml	56561,0000	386,5259	0,6834
50 µg / ml	2731359,0000	716,5940	0,0262

• **Günler arası kesinlik:** Birinci gün yapılan gün içi kesinlik çalışmaları aynı şekilde 2. ve 3. günlerde tekrar yapılmıştır. Birinci, ikinci ve üçüncü gün sonuçlarının ortalamaları, SD ve % RSD değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlar aşağıda Tablo 4-4'te yer almaktadır.

Tablo 4-4: PSC'nin HPLC yöntemi ile miktar tayini validasyonunun günler arası kesinlik çalışmasına ait bulgular (n=3)

Konsantrasyon	1. Gün	2. Gün	3. Gün	Ortalama	SD (±)	RSD (%)
0,05 µg / ml	2644,2220	2672,5660	2707,0000	2586,6667	31,5330	1,2190
1,0 µg / ml	56561,0000	56263,0000	55205,3300	53560,6700	712,4248	1,3301
50 µg / ml	2731359,0000	2816980,0000	2744578,0000	2585686,0000	46093,8084	1,7826

Seçicilik: Bölüm 3.2.1.3.'te anlatıldığı üzere yapılan HPLC çalışmalarında, oküler formülasyonlarda kullanılan tüm polimer, sürfaktan, antimikrobiyal koruyucu ve pH tampon ajanlarının etkin maddenin pik verdiği retansiyon süresi içerisinde pik vermediği tespit edilmiştir.

Duyarlılık: HPLC yönteminin duyarlılığının tespiti amacıyla tezin "3.2.1.3.Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini" bölümünde anlatıldığı üzere 0,0025, 0,005, 0,01, 0,02, 0,03 ve 0,04 µg / ml konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltiler HPLC'de analiz edilmiştir. Teşhis limiti 0,0025 µg / ml ve miktar tayin limiti 0.02 µg / ml olarak bulunmuştur.

Stabilite: Doğruluk çalışmasında anlatıldığı şekilde hazırlanan 1 µg /ml konsantrasyonda PSC çözeltisinin stabilitesine ait bulgular aşağıdaki Tablo 5-4'te yer almaktadır.

Tablo 4-5: PSC'nin HPLC yöntemi ile miktar tayininin stabilitesine ait bulgular (n=3)

Ölçüm Zamanı (saat)	Teorik Konsantrasyon (µg / ml)	Hesaplanan Konsantrasyon (µg / ml)
0	1	1,0359
1	1	1,0343
2	1	1,0356
4	1	1,0274
6	1	1,0349
8	1	1,0254
12	1	1,0181
24	1	1,0133
48	1	1,0012

4.1.4. PSC'nin Çözünürlük Tayini

Yöntem 3.2.1.4'te tarif edildiği üzere yapılan çözünürlük çalışmalarına ait bulgular aşağıdaki Tablo 4-6'da yer almaktadır.

Tablo 4-6: PSC'nin farklı ortamlarda çözünürlük çalışmasına ait bulgular (n=3)

Çalışma Ortamı (a/h)	Çözünen Madde Miktarı (µg / ml)
Gözyaşı	2,0477
% 0,05 SLS	13,7409
% 0,1 SLS	55,3680
% 0,5 SLS	580,4297
% 1 SLS	1162,4517
% 1,5 SLS	1706,4737
% 2 SLS	2553,1652
% 3 SLS	2672,7497
% 4 SLS	3078,0503
% 5 SLS	3631,5243
% 10 SLS	4156,5789
PEG 400	9,2356
PEG 400 + % 4 SLS	173,4603

4.1.5. PSC'nin 37 °C'de Stabilitesinin Tayini

24 saat boyunca 37°C'de, % 0,1 SLS (a/h) içeren yapay gözyaşı ortamında stabilite çalışması yapılan PSC çözeltilerine ait bulgular aşağıda Tablo 4-7'de yer almaktadır.

Tablo 4-7: PSC'nin 37 °C'de % 0,1 SLS (a/h) içeren yapay gözyaşı ortamında içerisindeki stabilitesine ait bulgular (n=3)

Ölçüm Zamanı (saat)	Teorik Konsantrasyon (µg / ml)	Hesaplanan Konsantrasyon (µg / ml)
0	1	1,0041
1	1	1,0004
2	1	1,0003
4	1	0,9997
6	1	0,9991
8	1	0,9989
12	1	0,9986
24	1	0,9982
48	1	0,9897
Ortalama		0,9988
SD (±)		0,0038
RSD (%)		0,3829

4.2. Misel Formülasyonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar

4.2.1. Ön Formülasyon Çalışmaları

Yapılan ön formülasyon çalışmalarında F1-4 aralığındaki formülasyonlarda polimer olarak Pluronic F127 ve F68 kullanılmıştır. Bu polimerlere 500 ve 600 µg / ml olacak şekilde PSC yüklenmeye çalışılmıştır. Film oluşturma yöntemi ile yapılan çalışmalarda berrak bir film tabakası elde edilse de hidrasyon sırasında etkin maddede

çökme gözlemlenmiştir. Aynı formülasyonlar Y/S emülsiyon metodu ile üretildiğinde organik çözücülerin zaman içerisindeki uçması ile orantılı olarak etkin maddede çökmeler meydana gelmiştir.

PSC'nin asidik ortamda çözündüğü göz önünde bulundurularak HCl ve laktik asit ile üretilen F5-8 aralığındaki formülasyonlarda hidrasyon sonrası berrak bir çözelti elde edilmiştir. Formülasyonların bu hali ile partikül büyüklüğü 25-50 nm olarak ölçülmüştür ancak partikül büyüklüğü dağılımında varyasyonların çok fazla olduğu tespit edilmiştir. Formülasyonların pH'sı 3,5 olarak ölçülmüştür. Bu pH oküler uygulamaya uygun olmadığı için PBS pH 7,4 ile pH ayarlaması yapılmaya çalışılmıştır. Ancak pH yükseldikçe PSC'nin çöktüğü gözlemlenmiştir.

F9-14 aralığında PEG-PCL 2000, PEG-PCL 5000, PEG-PLA 2000 ve Lipoid PE 18:0/18:0-PEG 2000 ile çalışmalar yapılmıştır. Bu formülasyonlarda da film oluşturma yöntemi ile yapılan çalışmalarda berrak bir film tabakası elde edilse de hidrasyon sırasında etkin maddede çökme gözlemlenmiştir. Aynı formülasyonlar Y/S emülsiyon metodu ile üretildiğinde organik çözücülerin zaman içerisindeki uçması ile orantılı olarak etkin maddede çökmeler meydana gelmiştir.

F15-41 aralığında polimer olarak Lipoid PE 18:0/18:0-PEG 2000 11 – 100 mg/ml aralığında kullanılmıştır. Ayrıca bazı formülasyonlarda ıslatıcı ajan olarak propilen glikol ilavesi de yapılmıştır. Bu formülasyonlarda film oluşturma yöntemi ile üretim yapıldığında hidrasyon sonrası berrak bir çözelti elde edilmiştir. Ancak partikül büyüklüğü dağılımında varyasyonların çok fazla olduğu tespit edilmiştir. Y/S emülsiyon yöntemi ile üretim yapıldıktan sonra da final çözelti berrak olarak elde edilmiştir. Ancak bu üretim metodunda da partikül büyüklüğü dağılımında varyasyonların çok fazla olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca her iki üretim metodunda da tekrarlanabilirlik gösterilememiştir.

F42-125 aralığındaki formülasyonlarda Lipoid PE 18:0/18:0-PEG 2000 polimeri PEG-PCL 2000, PEG-PCL 5000 ve PEG-PLA 2000 polimerleri ile farklı konsantrasyonlarda kombine edilerek çalışmalar yapılmıştır. Bu formülasyonlarda PSC miktarı 250 – 300 µg / ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Film oluşturma yöntemi ile üretim yapıldığında hidrasyon sonrası berrak bir çözelti elde edilmiştir. Yapılan analizlerde 3'lü ölçümü %100 tutarlılık gösteren partikül büyüklükleri ve partikül büyüklüğü dağılımı sonuçları bulunmuştur. Ancak 1 hafta sonunda bu formülasyonlarda

stabilite problemleri tespit edilmiştir. PSC'nin zaman içerisinde çöktüğü görülmüştür. Y/S emülsiyon yöntemi ile üretilen misellerde elde edilen sonuç film oluşturma yöntemi ile üretilen miseller ile paralellik göstermiştir.

Çalışmalarda Lipoid PE 18:0/18:0-PEG 2000 ve PEG-PLA 2000 polimerler CMC değerlerinin çok üzerinde kullanıldığı için konsantrasyonları düşürülerek ve tween 80 eklenerek kombine halde çalışmalar tekrarlanmıştır. PSC miktarı 250 µg / ml olacak şekilde ayarlanmıştır. F126 – 141 aralığındaki bu formülasyonlarda film oluşturma yöntemi ile üretim yapıldığında hidrasyon sonrası berrak bir çözelti elde edilmiştir. Yapılan analizlerde 3'lü ölçümü %100 tutarlılık gösteren partikül büyüklükleri ve partikül büyüklüğü dağılımı sonuçları bulunmuştur. Ancak 1 hafta sonunda bu formülasyonlarda stabilite problemleri tespit edilmiştir. PSC'nin zaman içerisinde çöktüğü görülmüştür. Y/S emülsiyon yöntemi ile üretilen misellerde elde edilen sonuç film oluşturma yöntemi ile üretilen miseller ile paralellik göstermiştir.

F142 – 145 aralığındaki formülasyonlarda tween 80 etkisini görmek amacıyla tween 80 tek başına ya da Lipoid PE 18:0/18:0-PEG 2000 kombine halde kullanılarak çalışmalar yapılmıştır. PSC miktarı 250 µg / ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Film oluşturma yöntemi ile yapılan çalışmalarda berrak bir film tabakası elde edilse de hidrasyon sırasında etkin maddede çökme gözlemlenmiştir. Aynı formülasyonlar Y/S emülsiyon metodu ile üretildiğinde organik çözücülerin zaman içerisindeki uçması ile orantılı olarak etkin maddede çökmeler meydana gelmiştir.

F146 – 150 aralığındaki formülasyonlarda Lipoid PE 18:0/18:0-PEG 2000, Pluronic F68 ile kombine olarak kullanılmıştır. Tween 80'in bu formülasyonları destekleyebileceği düşünülerek farklı konsantrasyonlarda tween 80 de ilave edilmiştir. F151 kodlu formülasyonda ise Lipoid PE 18:0/18:0-PEG 2000, 10 mg / ml konsantrasyondaki Pluronic F127 ile kombine halde kullanılmıştır. Tüm formülasyonlarda PSC miktarı 250 µg / ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Film oluşturma yöntemi ile yapılan çalışmalarda berrak bir film tabakası elde edilse de hidrasyon sırasında etkin maddede çökme gözlemlenmiştir. Aynı formülasyonlar Y/S emülsiyon metodu ile üretildiğinde organik çözücülerin zaman içerisindeki uçması ile orantılı olarak etkin maddede çökmeler meydana gelmiştir.

F152 kodlu formülasyon F151 kodlu formülasyonun tween 80 ilave edilmiş hali olarak çalışılmıştır. Ayrıca F153 – 168 aralığındaki formülasyonlar da Lipoid PE

18:0/18:0-PEG 2000, farklı oranlarda Pluronic F127 ve tween 80 içerecek şekilde çalışılmıştır. PSC miktarı 250 µg / ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Film oluşturma yöntemi ile üretim yapıldığında hidrasyon sonrası berrak bir çözelti elde edilmiştir. Yapılan analizlerde 3'lü ölçümü %100 tutarlılık gösteren partikül büyüklükleri ve partikül büyüklüğü dağılımı sonuçları bulunmuştur. Ancak gün içerisinde bu formülasyonlarda stabilite problemleri tespit edilmiştir. PSC'nin zaman içerisinde çöktüğü görülmüştür. Y/S emülsiyon yöntemi ile üretilen misellerde ise organik çözücülerin zaman içerisindeki uçması ile orantılı olarak etkin maddede çökmeler meydana gelmiştir. Lipoid PE 18:0/18:0-PEG 2000 stabilitesinin sıcaklıktan etkilendiği göz önünde bulundurularak çökmenin bu sebeple meydana geldiği düşünülmüştür. Bu sebeple liyofilizasyon işleminin uygulanmasına karar verilmiştir. 1 hafta içerisinde çökmenin gözlemlendiği Lipoid PE 18:0/18:0-PEG 2000 içeren formülasyonların hidrasyon işlemleri % 5 mannitol içeren ultra saf su çözeltisinde yapılarak liyofilizasyon işlemi uygulanmıştır. Ancak liyofilize edilen formülasyonlarda partikül büyüklüğü ve dağılımı analizlerinde ciddi varyasyonlar tespit edilmiştir.

F169 – 182 aralığında Lipoid PE 18:0/18:0-PEG 2000, farklı oranlarda Pluronic F68 ve tween 80 içerecek şekilde çalışılmıştır. Bu formülasyonlardaki Pluronic F68 ve tween 80 miktarları F146 – 150 aralığından farklı olarak seçilmiştir. Tüm formülasyonlarda PSC miktarı 250 µg / ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Film oluşturma yöntemi ile yapılan çalışmalarda berrak bir film tabakası elde edilse de hidrasyon sırasında etkin maddede çökme gözlemlenmiştir. Aynı formülasyonlar Y/S emülsiyon metodu ile üretildiğinde organik çözücülerin zaman içerisindeki uçması ile orantılı olarak etkin maddede çökmeler meydana gelmiştir.

F183 – 188 aralığındaki formülasyonlarda TPGS kullanılmaya başlanmıştır. TPGS'nin Lipoid PE 18:0/18:0-PEG 2000, Pluronic F127 veya PEG-PCL 5000 ile kombine halde kullanıldığı bu formülasyonlarda PSC miktarı 250 µg / ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Film oluşturma yöntemi ile yapılan çalışmalarda berrak bir film tabakası elde edilse de hidrasyon sırasında etkin maddede çökme gözlemlenmiştir. Aynı formülasyonlar Y/S emülsiyon metodu ile üretildiğinde organik çözücülerin zaman içerisindeki uçması ile orantılı olarak etkin maddede çökmeler meydana gelmiştir.

F189- 195 aralığında farklı konsantrasyonlarda farklı konsantrasyonlarda TPGS, farklı konsantrasyonlarda Pluronic F127 ve F68 ile kombine edilmiştir. PSC miktarı

250 µg / ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Film oluşturma yöntemi ile üretim yapıldığında hidrasyon sonrası berrak bir çözelti elde edilmiştir. Yapılan analizlerde 3'lü ölçümü %100 tutarlılık gösteren partikül büyüklükleri ve partikül büyüklüğü dağılımı sonuçları bulunmuştur. Pluronik F68'i 10 mg / ml konsantrasyonda içeren F192 ve 193 kodlu formülasyonlarda zaman içerisinde PSC'nin çöktüğü gözlemlenmiştir. Y/S emülsiyon yöntemi ile üretilen misellerde de film yöntemi ile üretilen misellerle paralel sonuçlar elde edilmiştir.

F196 – 204 aralığındaki formülasyonlarda, F189- 195 aralığındaki çalışmalar göz önünde bulundurularak aynı polimer oranları kullanılmıştır. PSC miktarı 500 - 1000 µg / ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Çökmelerin gözlemlendiği 10 mg / ml konsantrasyondaki Pluronik F68 ile yapılan çalışmalar yüksek PSC miktarları ile tekrar çalışılmamıştır. Film oluşturma yöntemi ile üretim yapıldığında hidrasyon sonrası berrak bir çözelti elde edilmiştir. Ön stabilite çalışmalarında 2 hafta sonunda 40 ± 2 °C, % 75 $\pm$ 5 bağıl nem kabinindeki numunelerde PSC çökmesi gözlemlenmiştir. Y/S emülsiyon yöntemi ile üretilen misellerde de film yöntemi ile üretilen misellerle paralel sonuçlar elde edilmiştir.

F205 – 208 aralığındaki formülasyonlarda TPGS tek başına farklı konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Bu formülasyonlarda F205 – 207 aralığında PSC miktarı 250 µg / ml, F208'de ise 500 µg / ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Film oluşturma yöntemi ile üretim yapıldığında hidrasyon sonrası berrak bir çözelti elde edilmiştir. Ancak TPGS konsantrasyonunun 10 mg / ml olduğu F205 kodlu formülasyonda gün içerisinde, PSC miktarının fazla olduğu F208 kodlu formülasyonda ön stabilite çalışmalarında 2 hafta sonunda 40 ± 2 °C, % 75 $\pm$ 5 bağıl nem kabinindeki numunelerde PSC çökmesi gözlemlenmiştir. Y/S emülsiyon yöntemi ile üretilen misellerde de film yöntemi ile üretilen misellerle paralel sonuçlar elde edilmiştir.

Hazırlanan formülasyonlar içerisinde tamamen berrak olarak elde edilen ve stabilite problemi yaşanmayan formülasyonlar hiç süzülmeyle ya da PTFE 0,45 µm ve RC 0,45 µm filtrelerden süzülerek ve 1 saat bekletildikten sonra partikül büyüklüğü, dağılım ve zeta potansiyel değeri ölçümleri yapılmıştır. PTFE 0,45 µm ile süzülen formülasyonlarda varyasyonun olmadığı, %100 tutarlı sonuçlar elde edilmiştir. Hiç süzülmeyen formülasyonlarda az da olsa varyasyon gözlemlenmiştir. RC 0,45 µm filtrelerden süzülen formülasyonlarda ise ciddi varyasyonlar tespit edilmiştir.

Hidratasyon aşamasında berrak çözelti elde edilip zaman içerisinde çökmenin gözlemlenmediği, zamanla çökmenin gözlemlendiği ya da partikül büyüklüğü dağılımında varyasyonların olduğu formülasyonlarda solvan etkisinin incelenmesi amacıyla asetonitril, kloroform ve aseton, polimeri / sürfaktanı çözündürme amacıyla kullanılmıştır. Kullanılan solvanın cinsinin ya da miktarının belirgin bir etkisi gözlemlenmemiştir.

Ön formülasyon çalışmasında elde edilen tüm sonuçlar aşağıdaki Tablo 4-8’de özetlenmiştir.



Tablo 4-8: Önformülasyon çalışmasında hazırlanan formülasyonlar ve alınan sonuçlar

Formülasyon	PSC ^a	Pluronik F127 ^a	Pluronik F68 ^a	PEG-PCL 2000 ^a	PEG-PCL 5000 ^a	PEG-PLL 2000 ^a	Lipoid PE 18:0/18:0 -PEG 2000 ^a	TPGS ^a	HCL ^b	Laktik Asit ^b	Propilen Glikol ^a	Tween 80 ^a	Sonuç
F1	600	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
F2	600	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	• Berrak bir film tabakası
F3	500	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	• Hidratasyon sırasında etkin maddede çökme
F4	500	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
F5	500	20	-	-	-	-	-	-	1 damla	-	-	-	• pH: 3,5 ; oküler uygulamaya uygun değil
F6	333	20	-	-	-	-	-	-	-	1 damla	-	-	• Hidratasyon sonrası berrak çözelti
													• 25-50 nm boyut, varyasyon çok fazla

Formülasyon	PSC ^a	Pluronik F127 ^a	Pluronik F68 ^a	PEG-PCL 2000 ^a	PEG-PCL 5000 ^a	PEG-PLL 2000 ^a	Lipoid PE 18:0/18:0 -PEG 2000 ^a	TPGS ^a	HCL ^b	Laktik Asit ^b	Propilen Glikol ^a	Tween 80 ^a	Sonuç
F7	666	20	-	-	-	-	-	-	-	1 damla	-	-	
F8	1000	20	-	-	-	-	-	-	-	1 damla	-	-	
F9	400	-	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	
F10	400	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	• Berrak bir film tabakası
F11	400	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	• Hidratasyon sırasında etkin maddede çökme
F12	400	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	
F13	330	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	
F14	500	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	

Formülasyon	PSC ^a	Pluronik F127 ^a	Pluronik F68 ^a	PEG- PCL 2000 ^a	PEG- PCL 5000 ^a	PEG- PLL 2000 ^a	Lipoid PE 18:0/18:0 -PEG 2000 ^a	TPGS ^a	HCL ^b	Laktik Asit ^b	Propilen Glikol ^a	Tween 80 ^a	Sonuç
F15-28 ^c	500	-	-	-	-	-	11-100	-	-	-	-	-	
F29	500	-	-	-	-	-	40	-	-	-	0,1	-	- Hidratasyon sonrası berrak çözelti - Varyasyon çok fazla
F30 – F41 ^c	500	-	-	-	-	-	35-45	-	-	-	16,67	-	

Formülasyon	PSC ^a	Pluronik F127 ^a	Pluronik F68 ^a	PEG-PCL 2000 ^a	PEG-PCL 5000 ^a	PEG-PLL 2000 ^a	Lipoid PE 18:0/18:0 -PEG 2000 ^a	TPGS ^a	HCL ^b	Laktik Asit ^b	Propilen Glikol ^a	Tween 80 ^a	Sonuç
F42 – F48 ^d	300	-	-	20 – 50	-	-	10	-	-	-	-	-	
F49 – F55 ^d	300	-	-	20 – 50	-	-	15	-	-	-	-	-	
F56 – F62 ^d	250	-	-	20 – 50	-	-	10	-	-	-	-	-	
F63– F69 ^d	250	-	-	20 – 50	-	-	15	-	-	-	-	-	
F70 – F76 ^d	300	-	-	-	20 – 50	-	10	-	-	-	-	-	• Hidratasyon sonrası berrak çözelti
F77 – F83 ^d	300	-	-	-	20 – 50	-	15	-	-	-	-	-	• Yapılan analizlerde 3'lü ölçümü %100 tutarlılık gösteren PDI ve partikül büyüklükleri değerleri
F84 – F90 ^d	250	-	-	-	20 – 50	-	10	-	-	-	-	-	
F91 – F97 ^d	250	-	-	-	20 – 50	-	15	-	-	-	-	-	
F98 – F104 ^d	300	-	-	-	-	20 – 50	10	-	-	-	-	-	• 1 hafta sonunda stabilite problemleri, çökme
F105 – F111 ^d	300	-	-	-	-	20 – 50	15	-	-	-	-	-	
F112 – F118 ^d	250	-	-	-	-	20 – 50	10	-	-	-	-	-	
F119 – F125 ^d	250	-	-	-	-	20 – 50	15	-	-	-	-	-	

Formülasyon	PSC ^a	Pluronik F127 ^a	Pluronik F68 ^a	PEG-PCL 2000 ^a	PEG-PCL 5000 ^a	PEG-PLL 2000 ^a	Lipoid PE 18:0/18:0 -PEG 2000 ^a	TPGS ^a	HCL ^b	Laktik Asit ^b	Propilen Glikol ^a	Tween 80 ^a	Sonuç
F126 – 141 ^c	250	-	-	-	-	1 – 1,8	0,5 – 0,75	-	-	-	-	0,125 – 2	- Hidratasyon sonrası berrak çözelti - Yapılan analizlerde 3'lü ölçümü %100 tutarlılık gösteren PDI ve partikül büyüklükleri değerleri 1 hafta sonunda stabilite problemleri, çökme
F142 – 143	250	-	-	-	-	-	1,8	-	-	-	-	1,5 – 2	
F144 – 145	250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,5 – 2	
F146 – 147	250	-	15	-	-	-	1,5	-	-	-	-	0,6 – 0,625	Berrak bir film tabakası
F148	250	-	15	-	-	-	1,5	-	-	-	-	-	Hidratasyon sırasında etkin maddede çökme
F149	250	-	10,8	-	-	-	1,8	-	-	-	-	-	
F150	250	-	10,8	-	-	-	1,8	-	-	-	-	0,625	
F151	250	10	-	-	-	-	1,8	-	-	-	-	-	

Formülasyon	PSC ^a	Pluronik F127 ^a	Pluronik F68 ^a	PEG-PCL 2000 ^a	PEG-PCL 5000 ^a	PEG-PLL 2000 ^a	Lipoid PE 18:0/18:0 -PEG 2000 ^a	TPGS ^a	HCL ^b	Laktik Asit ^b	Propilen Glikol ^a	Tween 80 ^a	Sonuç
F152	250	10	-	-	-	-	1,8	-	-	-	-	0,625	Hidrasyon sonrası berrak çözelti
F153 – 168 ^f	250	10 – 40	-	-	-	-	1,8	-	-	-	-	0,5-1	- Yapılan analizlerde 3'lü ölçümü %100 tutarlılık gösteren PDI ve partikül büyüklükleri değerleri - Gün içerisinde stabilite problemleri, çökme
F169 – 182 ^f	250	-	10 – 40	-	-	-	1,8	-	-	-	-	0,5-1	
F183 – 184	250	-	-	-	-	-	1,8	3,6 – 7,2	-	-	-	-	
F185	250	20	-	-	-	-		10	-	-	-	-	Berrak bir film tabakası
F186	250	-	-	-	-	-	1,8	5	-	-	-	-	Hidrasyon sırasında etkin maddede çökme
F187	250	-	-	-	0,75	-	1,8	5	-	-	-	-	
F188	250	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	

Formülasyon	PSC ^a	Pluronik F127 ^a	Pluronik F68 ^a	PEG-PCL 2000 ^a	PEG-PCL 5000 ^a	PEG-PLL 2000 ^a	Lipoid PE 18:0/18:0 -PEG 2000 ^a	TPGS ^a	HCL ^b	Laktik Asit ^b	Propilen Glikol ^a	Tween 80 ^a	Sonuç
F189 – 191	250	10-20	-	-	-	-	-	10-20	-	-	-	-	- Hidratasyon sonrası berrak çözelti - Yapılan analizlerde 3'lü ölçümü %100 tutarlılık gösteren PDI ve partikül büyüklükleri değerleri
F192 – 195	250	-	10-20	-	-	-	-	10-20	-	-	-	-	F127'nin ve F68'in 10 mg kullanıldığı formülasyonda gün içerisinde çökme
F196	500	20	-	-	-	-	-	20	-	-	-	-	Hidratasyon sonrası berrak çözelti
F197 – 200	1000	10 – 20	-	-	-	-	-	20 – 30	-	-	-	-	Ön stabilite çalışmalarında görülen stabilite problemleri, çökme
F201 – 204	500	-	15 – 20	-	-	-	-	15 – 20	-	-	-	-	

Formülasyon	PSC ^a	Pluronik F127 ^a	Pluronik F68 ^a	PEG-PCL 2000 ^a	PEG-PCL 5000 ^a	PEG-PLL 2000 ^a	Lipoid PE 18:0/18:0 -PEG 2000 ^a	TPGS ^a	HCL ^b	Laktik Asit ^b	Propilen Glikol ^a	Tween 80 ^a	Sonuç
F205 – 207	250	-	-	-	-	-	-	10 – 20	-	-	-	-	- Hidratasyon sonrası berrak çözelti - Yapılan analizlerde 3'lü ölçümü %100 tutarlılık gösteren PDI ve partikül büyüklükleri değerleri - TPGS'nin 10 mg kullanıldığı formülasyonda gün içerisinde çökme
F208	500	-	-	-	-	-	-	15	-	-	-	-	- Hidratasyon sonrası berrak çözelti - Ön stabilite çalışmalarında görülen stabilite problemleri, çökme

a: PSC miktarı µg / ml ve polimer / sürfaktan miktarları mg / ml olacak şekilde çalışma yapıldı. **b:** Asitler % 0,1 konsantrasyonda 0,1 N olacak şekilde çalışıldı.

c: Bu formülasyonlarda kullanılan Lipoid PE 18:0/18:0 -PEG 2000 miktarları 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 ve 100 mg / ml olacak şekilde çalışmalar yapıldı. **d:** Bu formülasyonlarda kullanılan PEG-PCL 2000, PEG-PCL 5000 ve PEG-PLL 2000 miktarları 20, 25, 30, 35, 40, 45 ve 50 mg / ml olacak şekilde çalışmalar yapıldı. **e:** Bu formülasyonda kullanılan PEG-PLL 2000 miktarları 1, 1,25, 1,5 ve 1,8 mg / ml, Lipoid PE 18:0/18:0 -PEG 2000 miktarları 0,5 ve 0,75 mg / ml, Tween 80 miktarları 0,125, 0,15, 0, 188, 0,374, 0,625, 1, 1,25, 1,5 ve 2 mg / ml olacak şekilde çalışmalar yapıldı. **f:** Bu formülasyonlarda kullanılan Pluronik F127 Pluronik F68 miktarları 10, 15, 20, 25, 30, 35 ve 40 mg / ml, Tween 80 miktarları 0,5 ve 1 mg / ml olacak şekilde çalışmalar yapıldı.

4.3. Misel Formülasyonlarının Karakterizasyonu

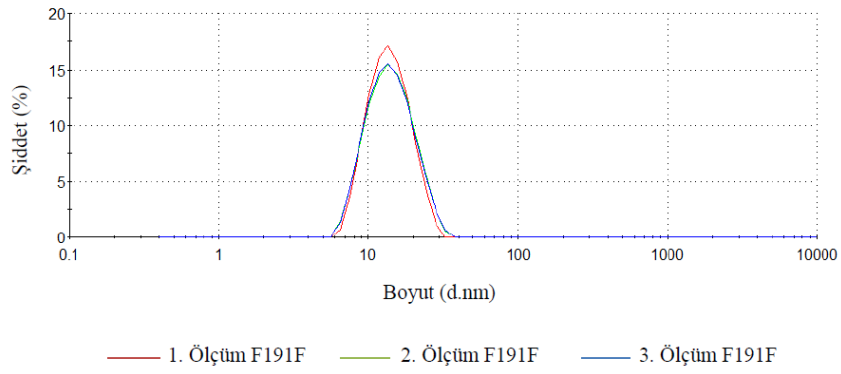
4.3.1. Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Tayini

Hazırlanan misel formülasyonlarının partikül büyüklüğü ve PDI değerleri Tablo 4-9’da gösterilmiştir. Ayrıca Şekil 4-4, 4-5, 4-6, 4-7, 4-8, 4-9, 4-10 ve 4-11’de bazı misel formülasyonlarına ait partikül büyüklüğü dağılımı kromatogramları verilmiştir.

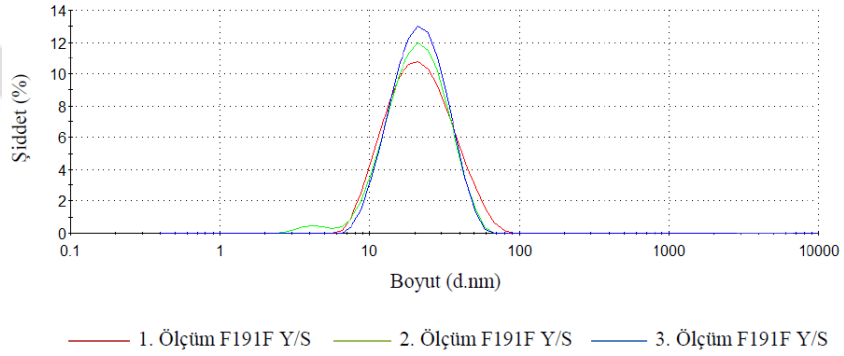
Tablo 4-9: Üretilen misellerin partikül büyüklüğü ve dağılımı (n=3)

Formülasyon	Z.Avg (d.nm) (ortalama+SD)	PDI
F191B	13,37 ± 4,949	0,091
F191BF	12,78 ± 4,083	0,089
F191	13,37 ± 4,572	0,082
F191F	12,96 ± 4,515	0,093
F191B Y/S	18,82 ± 14,527	0,193
F191BF Y/S	19,38 ± 7,948	0,216
F191 Y/S	19,04 ± 8,283	0,195
F191F Y/S	19,55 ± 12,020	0,239
F195B	13,59 ± 4,821	0,117
F195BF	12,39 ± 5,667	0,124
F195	12,21 ± 4,222	0,095
F195F	13,32 ± 6,454	0,169
F195B Y/S	12,82 ± 3,438	0,209
F195BF Y/S	13,27 ± 5,218	0,093
F195 Y/S	13,07 ± 2,825	0,126
F195F Y/S	12,91 ± 3,065	0,063

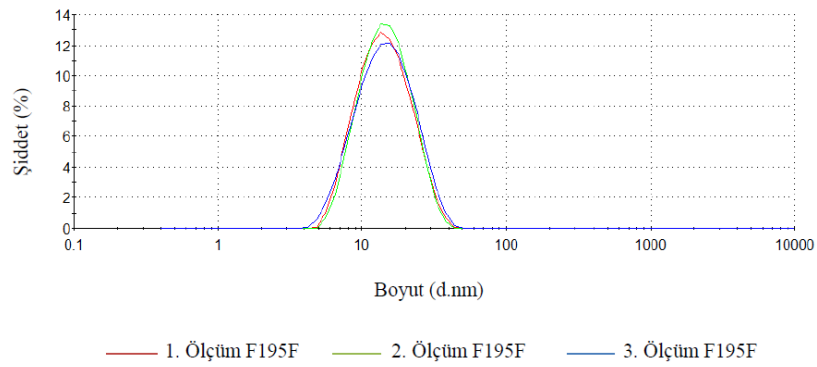
Formülasyon	Z.Avg (d.nm) (ortalama+SD)	PDI
F206	F206B	11,48 ± 2,796
	F206BF	11,52 ± 3,013
	F206	11,51 ± 2,900
	F206F	11,51 ± 3,143
F206 Y/S	F206B Y/S	10,70 ± 2,549
	F206BF Y/S	10,68 ± 3,021
	F206 Y/S	10,75 ± 2,093
	F206F Y/S	10,77 ± 2,674
F207	F207B	11,05 ± 2,679
	F207BF	11,11 ± 3,419
	F207	11,45 ± 3,352
	F207F	11,38 ± 2,005
F207 Y/S	F207B Y/S	10,65 ± 2,936
	F207BF Y/S	10,70 ± 2,047
	F207 Y/S	10,73 ± 3,013
	F207F Y/S	10,74 ± 2,930



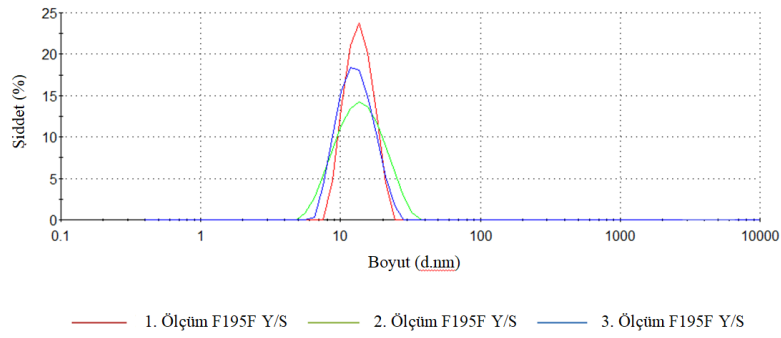
Şekil 4-4: F191F formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği



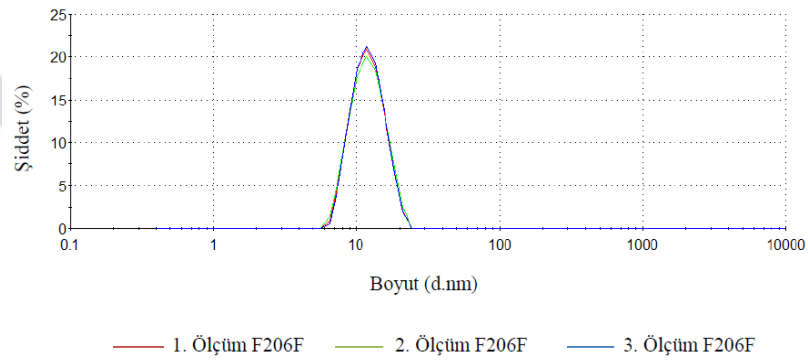
Şekil 4-5: F191F Y/S formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği



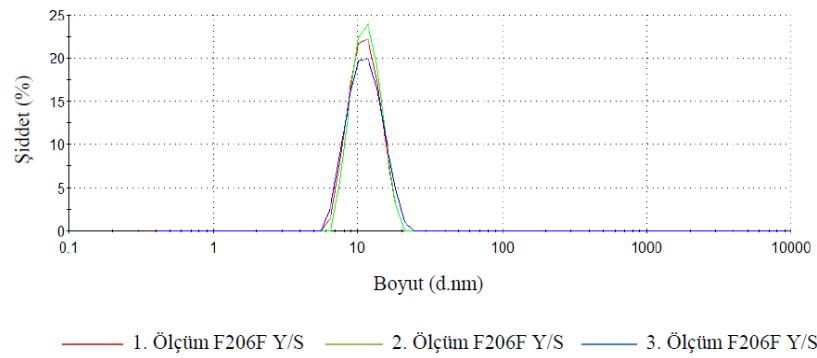
Şekil 4-6: F195F formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği



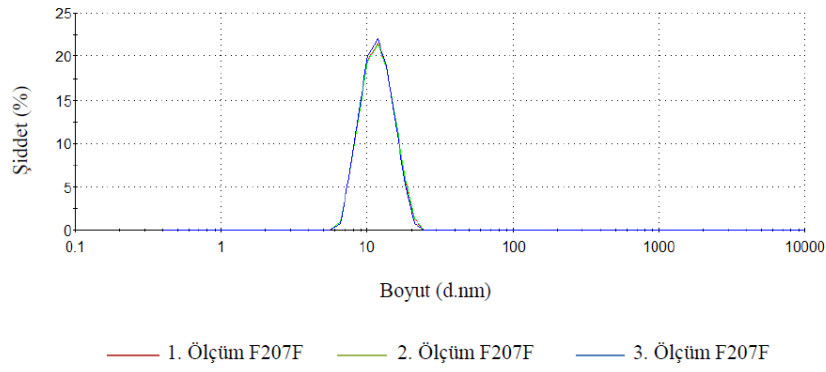
Şekil 4-7: F195F Y/S formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği



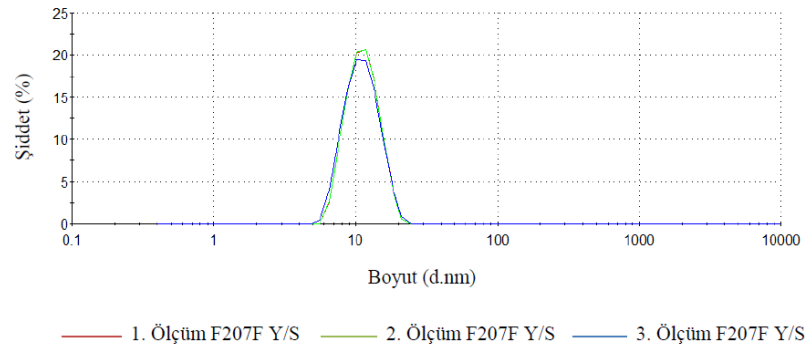
Şekil 4-8: F206F formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği



Şekil 4-9: F206F Y/S formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği



Şekil 4-10: F207F formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği



Şekil 4-11: F207F Y/S formülasyonuna ait partikül büyüklüğü dağılım grafiği

4.3.2. Zeta Potansiyel Tayini

Hazırlanan misel formülasyonlarının Zeta potansiyelleri Tablo 4-10'da gösterilmiştir.

Tablo 4-10: Üretilen misellerin zeta potansiyel değerleri (n=3)

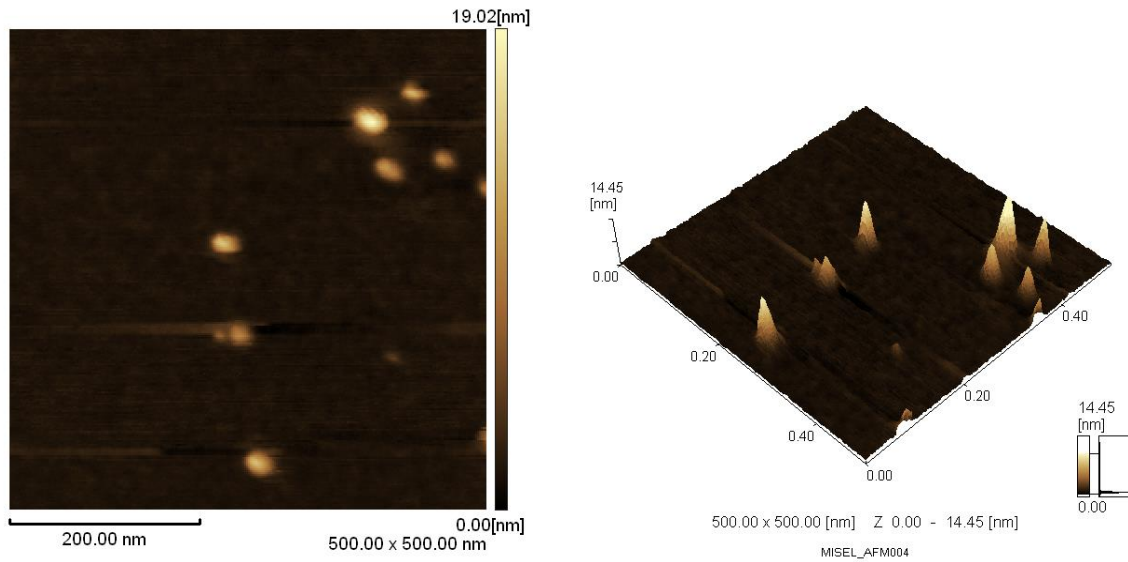
Formülasyon	Zeta Potansiyeli (mV) $\pm$ SD
F191B	-6,39 $\pm$ 3,81
F191BF	-4,05 $\pm$ 5,00
F191	-5,16 $\pm$ 4,67
F191F	-1,66 $\pm$ 3,41

	Formülasyon	Zeta Potansiyeli (mV) ± SD
F191 Y/S	F191B Y/S	1,18 ± 5,12
	F191BF Y/S	-0,840 ± 4,08
	F191 Y/S	-3,42 ± 4,82
	F191F Y/S	-0,38 ± 2,99
F195	F195B	-0,66 ± 4,300
	F195BF	-7,69 ± 3,03
	F195	-7,07 ± 5,890
	F195F	-4,46 ± 4,98
F195 Y/S	F195B Y/S	-2,07 ± 4,05
	F195BF Y/S	-3,91 ± 3,95
	F195 Y/S	-1,75 ± 4,83
	F195F Y/S	-8,70 ± 5,74
F206	F206B	-10,2 ± 3,80
	F206BF	-4,78 ± 3,64
	F206	-7,82 ± 7,62
	F206F	-0,93 ± 4,59
F206 Y/S	F206B Y/S	-9,24 ± 4,53
	F206BF Y/S	-6,01 ± 4,54
	F206 Y/S	-10,7 ± 4,26
	F206F Y/S	-8,70 ± 5,74

Formülasyon	Zeta Potansiyeli (mV) $\pm$ SD
F207B	-5,59 $\pm$ 3,11
F207BF	-0,78 $\pm$ 5,08
F207	-6,08 $\pm$ 6,31
F207F	-0,75 $\pm$ 4,91
F207B Y/S	-6,83 $\pm$ 5,18
F207BF Y/S	-7,30 $\pm$ 5,39
F207 Y/S	-3,67 $\pm$ 3,5
F207F Y/S	-8,17 $\pm$ 5,55

4.3.3. AFM ile Misellerin Morfolojilerinin Tayini

F206 kodlu formülasyon üzerinde yapılan AFM analizi sonrası elde edilen görüntüler aşağıda Şekil 4-12’de yer almaktadır.



Şekil 4-12: F206 koflu formülasyonun AFM görüntüsü (500 nm x 500 nm)

4.3.4. Misellerdeki PSC Miktarının ve PSC Yükleme Etkinliğinin Tayini

Hazırlanan misel formülasyonlarında “3.2.1.1. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini” bölümünde anlatıldığı gibi miktar tayini yapılmış ve “3.2.3.5. Misellerdeki PSC Miktarının ve PSC Yükleme Etkinliğinin Tayini” bölümünde yer alan formüller kullanılarak misellere yüklenen etkin madde ve etkin maddenin miseller içindeki % içerikleri hesaplanmıştır. İlgili hesaplamaların sonuçları Tablo 4-11’de gösterilmiştir.

Tablo 4-11: Üretilen misellerdeki PSC miktarı ve yükleme etkinliği (n=3)

Formülasyon	Misel Formülasyonunda Bulunan Etkin Madde Miktarı ($\mu\text{g} / \text{ml}$) (ortalama+ SD)	Misellere Yüklenen Etkin Madde (%) (a/a) (ortalama+ SD)	Misel İçindeki Etkin Madde Ağırlığı (%) (a/a) (ortalama+ SD)
F191	220,95 $\pm$ 0,41	88,38 $\pm$ 0,17	1,96 $\pm$ 0,004
F191 Y/S	213,24 $\pm$ 0,26	85,30 $\pm$ 0,10	1,89 $\pm$ 0,002
F195	240,54 $\pm$ 0,52	96,21 $\pm$ 0,21	2,14 $\pm$ 0,004
F195 Y/S	233,84 $\pm$ 0,47	93,54 $\pm$ 0,19	2,08 $\pm$ 0,004
F206	244,65 $\pm$ 0,15	97,86 $\pm$ 0,06	2,80 $\pm$ 0,001
F206 Y/S	237,60 $\pm$ 0,22	95,04 $\pm$ 0,09	2,71 $\pm$ 0,002
F207	237,99 $\pm$ 0,25	95,20 $\pm$ 0,10	2,72 $\pm$ 0,002
F207 Y/S	239,79 $\pm$ 0,45	95,92 $\pm$ 0,18	2,74 $\pm$ 0,003

4.3.5. Stabilite

Bölüm “3.2.3.6. Stabilite”de anlatıldığı üzere toplam 180 gün stabilite kabinde bekleyen formülasyonlar üzerinde fiziksel özellikler, partikül büyüklüğü ve dağılımı, zeta potansiyel tayini ve miktar tayini analizleri yapılmıştır. Elde edilen tüm bulgular bu bölümde alt başlıklar halinde sunulmuştur.

4.3.5.1. Fiziksel Özellikler

Önformülasyon çalışmasında seçilerek ileri çalışmaların yapıldığı misel formülasyonlarının tamamı berrak çözeltilerdir. Stabilite kabinlerine kaldırılan misellerin 7., 14., 30., 45., 60., 90., 120., 150. ve 180. günde fiziksel görünüşleri incelenmiştir. Formülasyonların berrak görüntüsünü koruduğu, herhangi bir çökmenin ya da bulanıklığın olmadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca numunelerin viskozitesinde de gözle görülür bir değişiklik farkedilmemiştir.

4.3.5.2. Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Tayini

Tüm misel formülasyonlarının çalışıldığı ilk gün partikül büyüklüğü ve dağılımı tayini yapılmıştır. Daha sonra stabilite kabinlerine kaldırılan her bir formülasyon için 7., 14., 30., 45., 60., 90., 120., 150. ve 180. günde partikül büyüklüğü ve dağılımı tayin analizleri tekrar edilmiştir.

Analizler “3.2.3.2. Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Tayini” bölümünde anlatıldığı üzere Zetasizer Nano ZS’nin küvetine konularak $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ hassaslığında 25°C ’de çalışılmıştır. Her biri 10’lu tekrardan oluşan toplamda 3’er ölçüm alınmıştır. Aşağıdaki Tablo 4-12’de tüm formülasyonların ilk gün ve 180. gündeki partikül büyüklüğü ve dağılımı sonuçları verilmiştir.

Tablo 4-12: Stabilité çalışması sonrası yapılan partikül büyüklüğü ve dağılımı tayinine ait bulgular (n=3)

Formülasyon	Başlangıç	25 ± 2 °C, % 60 ± 5 Bağıl Nem		40 ± 2 °C, % 75 ± 5 Bağıl Nem			
		180. Gün		180. Gün			
		Z.Avg (d.nm) (ortalama+SD)	PDI	Z.Avg (d.nm) (ortalama+SD)	PDI	Z.Avg (d.nm) (ortalama+SD)	PDI
F191	F191B	13,37 ± 4,949	0,091	12,30 ± 4,974	0,129	13,12 ± 4,752 ^a	0,149
	F191BF	12,78 ± 4,083	0,089	12,68 ± 5,393	0,113	14,25 ± 5,313	0,095
	F191	13,37 ± 4,572	0,082	13,08 ± 4,301	0,148	13,55 ± 5,234	0,105
	F191F	12,96 ± 4,515	0,093	13,95 ± 5,155	0,196	14,54 ± 6,402	0,136
F191 Y/S	F191B Y/S	18,82 ± 14,527	0,193	19,47 ± 8,784	0,274	21,38 ± 15,839	0,283
	F191BF Y/S	19,38 ± 7,948	0,216	19,95 ± 14,438	0,198	22,81 ± 10,930	0,271
	F191 Y/S	19,04 ± 8,283	0,195	20,34 ± 13,248	0,238	21,75 ± 9,3780 ^b	0,197
	F191F Y/S	19,55 ± 12,020	0,239	21,15 ± 10,836	0,183	23,92 ± 11,062 ^c	0,207

Formülasyon		Başlangıç		25 ± 2 °C, % 60 ± 5 Bağıl Nem		40 ± 2 °C, % 75 ± 5 Bağıl Nem	
				180. Gün		180. Gün	
		Z.Avg (d.nm) (ortalama+SD)	PDI	Z.Avg (d.nm) (ortalama+SD)	PDI	Z.Avg (d.nm) (ortalama+SD)	PDI
F195	F195B	13,59 ± 4,821	0,117	14,20 ± 5,425	0,134	14,16 ± 6,859	0,136
	F195BF	12,39 ± 5,667	0,124	14,04 ± 4,281	0,158	12,38 ± 2,793	0,038
	F195	12,21 ± 4,222	0,095	14,26 ± 6,797	0,123	14,37 ± 6,421	0,197
	F195F	13,32 ± 6,454	0,169	14,35 ± 5,527	0,145	14,23 ± 7,115	0,133
F195 Y/S	F195B Y/S	12,82 ± 3,438	0,209	14,84 ± 4,639	0,205	15,82 ± 3,927	0,207
	F195BF Y/S	13,27 ± 5,218	0,093	14,92 ± 7,946	0,172	15,97 ± 13,946	0,251
	F195 Y/S	13,07 ± 2,825	0,126	15,28 ± 9,305	0,281	14,72 ± 8,957	0,296
	F195F Y/S	12,91 ± 3,065	0,063	14,92 ± 4,917	0,173	15,93 ± 5,397	0,186

Formülasyon	Başlangıç	25 ± 2 °C, % 60 ± 5 Bağıl Nem				40 ± 2 °C, % 75 ± 5 Bağıl Nem	
		180. Gün		180. Gün			
		Z.Avg (d.nm) (ortalama+SD)	PDI	Z.Avg (d.nm) (ortalama+SD)	PDI	Z.Avg (d.nm) (ortalama+SD)	PDI
F206	F206B	11,48 ± 2,796	0,037	12,54 ± 3,397	0,71	12,03 ± 2,846	0,084
	F206BF	11,52 ± 3,013	0,043	12,07 ± 2,928	0,026	11,90 ± 3,085	0,015
	F206	11,51 ± 2,900	0,012	12,66 ± 2,350	0,162	12,10 ± 4,013	0,072
	F206F	11,51 ± 3,143	0,056	13,00 ± 3,016	0,226	14,20 ± 5,201 ^d	0,197
F206 Y/S	F206B Y/S	10,70 ± 2,549	0,053	11,06 ± 2,947	0,018	12,94 ± 4,048	0,192
	F206BF Y/S	10,68 ± 3,021	0,024	11,49 ± 3,937	0,083	13,06 ± 3,920	0,263
	F206 Y/S	10,75 ± 2,093	0,015	12,01 ± 2,048	0,172	12,57 ± 2,048	0,173
	F206F Y/S	10,77 ± 2,674	0,041	12,48 ± 4,604	0,218	13,02 ± 4,907	0,283

Formülasyon	Başlangıç		25 ± 2 °C, % 60 ± 5 Bağıl Nem		40 ± 2 °C, % 75 ± 5 Bağıl Nem		
			180. Gün		180. Gün		
	Z.Avg (d.nm) (ortalama+SD)	PDI	Z.Avg (d.nm) (ortalama+SD)	PDI	Z.Avg (d.nm) (ortalama+SD)	PDI	
F207	F207B	11,05 ± 2,679	0,015	11,75 ± 3,054	0,041	12,63 ± 3,182	0,009
	F207BF	11,11 ± 3,419	0,078	11,38 ± 3,133	0,058	11,75 ± 2,953	0,023
	F207	11,45 ± 3,352	0,052	12,33 ± 4,166	0,089	11,80 ± 3,940	0,114
	F207F	11,38 ± 2,005	0,037	12,51 ± 3,787	0,150	12,13 ± 3,706	0,047
F207 Y/S	F207B Y/S	10,65 ± 2,936	0,068	11,92 ± 2,307	0,104	13,95 ± 6,925	0,180
	F207BF Y/S	10,70 ± 2,047	0,023	11,06 ± 2,910	0,092	13,72 ± 5,308	0,206
	F207 Y/S	10,73 ± 3,013	0,039	11,89 ± 4,832	0,205	12,83 ± 3,927	0,184
	F207F Y/S	10,74 ± 2,930	0,060	12,01 ± 3,302	0,107	13,08 ± 5,9352	0,238

a: 4503 nm’de % 1,4 oranında ikinci bir pik tespit edilmiştir. **b:** 4126 nm’de % 4,7 oranında ikinci bir pik tespit edilmiştir. **c:** 4963 nm’de % 1,9 oranında ikinci bir pik tespit edilmiştir. **d:** 4788 nm’de % 2,4 oranında ikinci bir pik tespit edilmiştir.

4.3.5.3. Zeta Potansiyel Tayini

Tüm misel formülasyonlarının çalışıldığı ilk gün zeta potansiyel tayini yapılmıştır. Daha sonra stabilite kabinlerine kaldırılan her bir formülasyon için 7., 14., 30., 45., 60., 90., 120., 150. ve 180. günde zeta potansiyel tayin analizleri tekrar edilmiştir.

Analizler “3.2.3.3. Zeta Potansiyel Tayini” bölümünde anlatıldığı üzere Zetasizer Nano ZS küvetine konularak $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ hassaslığında 25°C ’de yapılmıştır. Her biri 10’lu tekrardan oluşan toplamda 3’er ölçüm alınmıştır. Aşağıdaki Tablo 4-13’te tüm formülasyonların ilk gün ve 180. gündeki zeta potansiyel sonuçları verilmiştir.



Tablo 4-13: Stabilit e  alışması sonrası yapılan zeta potansiyel tayinine ait bulgular (n=3)

Formülasyon	Başlangıç	25 � 2 �C, % 60 � 5 Bağıl Nem		40 � 2 �C, % 75 � 5 Bağıl Nem
		180. Gün		180. Gün
		Zeta Potansiyeli (mV) � SD	Zeta Potansiyeli (mV) � SD	Zeta Potansiyeli (mV) � SD
F191	F191B	-6,39 � 3,81	-5,74 � 3,94	-2,84 � 5,87
	F191BF	-4,05 � 5,00	-3,27 � 4,01	-1,39 � 3,02
	F191	-5,16 � 4,67	-5,58 � 3,28	-3,81 � 4,85
	F191F	-1,66 � 3,41	-0,93 � 4,62	0,31 � 5,28
F191 Y/S	F191B Y/S	1,18 � 5,12	0,37 � 6,42	-0,06 � 5,73
	F191BF Y/S	-0,84 � 4,08	0,53 � 5,29	1,49 � 4,59
	F191 Y/S	-3,42 � 4,82	-2,96 � 3,05	-0,93 � 4,70
	F191F Y/S	-0,39 � 2,99	0,26 � 1,83	1,04 � 2,47

Formülasyon	Başlangıç	25 ± 2 °C, % 60 ± 5 Bağıl Nem		40 ± 2 °C, % 75 ± 5 Bağıl Nem	
		180. Gün		180. Gün	
		Zeta Potansiyeli (mV) ± SD		Zeta Potansiyeli (mV) ± SD	
F195	F195B	-0,66 ± 4,30		0,21 ± 3,75	
	F195BF	-7,69 ± 3,03		-6,82 ± 4,05	
	F195	-7,07 ± 5,89		-6,97 ± 6,38	
	F195F	-4,46 ± 4,98		-3,84 ± 3,59	
F195 Y/S	F195B Y/S	-2,07 ± 4,05		-1,74 ± 5,62	
	F195BF Y/S	-3,91 ± 3,95		-2,72 ± 4,18	
	F195 Y/S	-1,75 ± 4,83		-0,64 ± 5,03	
	F195F Y/S	-8,70 ± 5,74		-5,06 ± 4,29	

Formülasyon	Başlangıç	25 ± 2 °C, % 60 ± 5 Bağıl Nem		40 ± 2 °C, % 75 ± 5 Bağıl Nem
		180. Gün		180. Gün
		Zeta Potansiyeli (mV) ± SD		Zeta Potansiyeli (mV) ± SD
F206	F206B	-10,2 ± 3,80	-7,38 ± 4,92	-6,52 ± 2,86
	F206BF	-4,78 ± 3,64	-3,27 ± 4,49	-2,96 ± 4,76
	F206	-7,82 ± 7,62	-6,81 ± 3,27	-4,47 ± 3,93
	F206F	-0,93 ± 4,59	0,03 ± 2,18	1,07 ± 5,86
F206 Y/S	F206B Y/S	-9,24 ± 4,53	-8,36 ± 3,29	-6,87 ± 4,02
	F206BF Y/S	-6,01 ± 4,54	-5,83 ± 2,91	-5,19 ± 3,37
	F206 Y/S	-10,7 ± 4,26	-8,19 ± 4,62	-6,91 ± 2,48
	F206F Y/S	-8,70 ± 5,74	-7,07 ± 3,60	-6,68 ± 4,05

Formülasyon	Başlangıç	25 ± 2 °C, % 60 ± 5 Bağıl Nem		40 ± 2 °C, % 75 ± 5 Bağıl Nem
		180. Gün		180. Gün
		Zeta Potansiyeli (mV) ± SD		Zeta Potansiyeli (mV) ± SD
F207	F207B	-5,59 ± 3,11	-4,82 ± 4,06	-2,75 ± 3,18
	F207BF	-0,78 ± 5,08	0,38 ± 4,13	1,07 ± 5,65
	F207	-6,08 ± 6,31	-5,79 ± 5,62	-3,86 ± 5,26
	F207F	-0,75 ± 4,91	0,02 ± 3,68	1,25 ± 5,72
F207 Y/S	F207B Y/S	-6,83 ± 5,18	-6,08 ± 4,86	-5,82 ± 5,62
	F207BF Y/S	-7,30 ± 5,39	-6,81 ± 5,97	-4,28 ± 3,92
	F207 Y/S	-3,67 ± 3,5	-2,09 ± 4,83	0,04 ± 5,31
	F207F Y/S	-8,17 ± 5,55	-7,79 ± 4,13	-4,21 ± 2,96

4.3.5.4. Miktar Tayini

Tüm misel formülasyonlarının çalışıldığı ilk gün “3.2.1.1. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini” bölümünde anlatıldığı gibi miktar tayini yapılmıştır. Daha sonra stabilite kabinlerine kaldırılan her bir formülasyon için 7., 14., 30., 45., 60., 90., 120., 150. ve 180. günde miktar tayini analizleri tekrar edilmiştir.

“3.2.3.5. Misellerdeki PSC Miktarının ve PSC Yükleme Etkinliğinin Tayini” bölümünde yer alan formüller kullanılarak miseller içerisinde bulunan etkin madde % içeriği hesaplanmıştır. İlgili hesaplamaların sonuçları Tablo 4-14, 4-15, 4-16, 4-17, 4-18, 4-19, 4-20 ve 4-21’de gösterilmiştir.



Tablo 4-14: F191 kodlu tüm formülasyonların 25 ± 2 °C, % 60 ± 5 bağıl nem ortamında 180. günlük stabilite çalışmasına ait PSC'nin miktar tayini ve % içerik çalışması sonuçları (n=3)

Zaman (Gün)	PSC Miktarı ($\mu\text{g} / \text{ml}$) (ortalama+ SD)				Miseller PSC (%) (a/a) (ortalama+ SD)			
	F191	F191F	F191 Y/S	F191F Y/S	F191 ^a	F191F ^a	F191 Y/S ^a	F191F Y/S ^a
0	220,95 $\pm$ 0,41	220,95 $\pm$ 0,41	213,24 $\pm$ 0,26	213,24 $\pm$ 0,26	100	100	100	100
7	220,05 $\pm$ 0,38	215,86 $\pm$ 0,53	211,52 $\pm$ 0,05	209,88 $\pm$ 0,07	99,59 $\pm$ 0,03	97,70 $\pm$ 0,05	99,19 $\pm$ 0,02	98,42 $\pm$ 0,06
14	217,95 $\pm$ 0,27	213,54 $\pm$ 0,18	210,45 $\pm$ 0,29	205,63 $\pm$ 0,37	98,64 $\pm$ 0,14	96,65 $\pm$ 0,13	98,69 $\pm$ 0,13	96,43 $\pm$ 0,02
30	214,75 $\pm$ 0,08	210,33 $\pm$ 0,63	208,32 $\pm$ 0,17	197,67 $\pm$ 0,19	97,19 $\pm$ 0,01	95,19 $\pm$ 0,09	97,69 $\pm$ 0,07	92,70 $\pm$ 0,07
45	212,03 $\pm$ 0,15	207,03 $\pm$ 0,07	203,00 $\pm$ 0,32	191,27 $\pm$ 1,72	95,96 $\pm$ 0,17	93,70 $\pm$ 0,07	95,20 $\pm$ 0,16	89,70 $\pm$ 0,13
60	209,22 $\pm$ 0,04	204,82 $\pm$ 0,48	200,87 $\pm$ 0,16	186,41 $\pm$ 0,68	94,69 $\pm$ 0,21	92,70 $\pm$ 0,18	94,20 $\pm$ 0,04	87,42 $\pm$ 0,35
90	203,60 $\pm$ 0,13	198,19 $\pm$ 0,53	197,30 $\pm$ 0,38	178,46 $\pm$ 0,92	92,15 $\pm$ 0,18	89,70 $\pm$ 0,21	92,52 $\pm$ 0,10	83,69 $\pm$ 0,21
120	194,87 $\pm$ 0,21	190,56 $\pm$ 0,39	190,31 $\pm$ 0,63	168,98 $\pm$ 1,05	88,20 $\pm$ 0,09	86,24 $\pm$ 0,19	89,25 $\pm$ 0,15	79,24 $\pm$ 0,37
150	187,14 $\pm$ 0,34	182,92 $\pm$ 1,07	182,65 $\pm$ 2,74	162,81 $\pm$ 0,89	84,70 $\pm$ 0,25	82,79 $\pm$ 0,15	85,65 $\pm$ 0,08	76,35 $\pm$ 0,09
180	170,22 $\pm$ 0,75	174,40 $\pm$ 0,91	169,09 $\pm$ 1,29	153,90 $\pm$ 1,27	77,04 $\pm$ 0,13	78,93 $\pm$ 0,06	79,30 $\pm$ 0,13	72,17 $\pm$ 0,72

a: Stabilite çalışmasında misel içerisinde kalan PSC miktarını % olarak hesaplamak için başlangıç miktarı % 100 kabul edilmiştir.

Tablo 4-15: F191 kodlu tüm formülasyonların 40 ± 2 °C, % 75 ± 5 bağıl nem ortamında 180. günlük stabilite çalışmasına ait PSC'nin miktar tayini ve % içerik çalışması sonuçları (n=3)

Zaman (Gün)	PSC Miktarı ($\mu\text{g} / \text{ml}$) (ortalama+ SD)				Miseller PSC (%) (a/a) (ortalama+ SD)			
	F191	F191F	F191 Y/S	F191F Y/S	F191 ^a	F191F ^a	F191 Y/S ^a	F191F Y/S ^a
0	220,95 $\pm$ 0,41	220,95 $\pm$ 0,41	213,24 $\pm$ 0,26	213,24 $\pm$ 0,26	100	100	100	100
7	216,94 $\pm$ 0,29	216,73 $\pm$ 0,25	208,41 $\pm$ 0,37	221,11 $\pm$ 0,39	98,18 $\pm$ 0,48	98,09 $\pm$ 0,02	97,73 $\pm$ 0,08	103,69 $\pm$ 0,08
14	213,70 $\pm$ 0,68	210,78 $\pm$ 0,38	204,55 $\pm$ 0,68	214,95 $\pm$ 0,07	96,72 $\pm$ 0,03	95,40 $\pm$ 0,05	95,92 $\pm$ 0,13	100,80 $\pm$ 0,02
30	210,26 $\pm$ 0,39	203,70 $\pm$ 1,68	202,42 $\pm$ 0,42	210,26 $\pm$ 0,17	95,16 $\pm$ 0,15	92,19 $\pm$ 0,12	94,92 $\pm$ 0,09	98,60 $\pm$ 0,10
45	207,07 $\pm$ 0,25	201,49 $\pm$ 0,97	198,73 $\pm$ 0,73	205,14 $\pm$ 0,15	93,72 $\pm$ 0,29	91,19 $\pm$ 0,04	93,20 $\pm$ 0,16	96,20 $\pm$ 0,09
60	203,76 $\pm$ 0,19	192,84 $\pm$ 0,68	188,17 $\pm$ 1,15	198,27 $\pm$ 0,49	92,22 $\pm$ 0,34	87,28 $\pm$ 0,09	88,24 $\pm$ 0,08	92,98 $\pm$ 0,17
90	201,74 $\pm$ 0,75	181,71 $\pm$ 1,15	180,01 $\pm$ 0,97	190,01 $\pm$ 1,27	91,31 $\pm$ 0,12	82,24 $\pm$ 0,12	84,42 $\pm$ 0,20	89,10 $\pm$ 0,21
120	180,34 $\pm$ 0,49	167,38 $\pm$ 2,38	167,92 $\pm$ 1,26	175,17 $\pm$ 0,83	81,62 $\pm$ 0,08	75,76 $\pm$ 0,26	78,75 $\pm$ 0,19	82,15 $\pm$ 0,05
150	165,25 $\pm$ 0,87	153,74 $\pm$ 0,87	159,97 $\pm$ 2,05	158,02 $\pm$ 1,68	74,79 $\pm$ 0,23	69,58 $\pm$ 0,10	75,02 $\pm$ 0,25	74,10 $\pm$ 0,28
180	152,18 $\pm$ 0,29	136,15 $\pm$ 1,68	155,13 $\pm$ 1,73	158,02 $\pm$ 0,73	68,87 $\pm$ 0,07	61,62 $\pm$ 0,21	72,75 $\pm$ 0,21	74,10 $\pm$ 0,13

a: Stabilite çalışmasında misel içerisinde kalan PSC miktarını % olarak hesaplamak için başlangıç miktarı % 100 kabul edilmiştir.

Tablo 4-16: F195 kodlu tüm formülasyonların 25 ± 2 °C, % 60 ± 5 bağıl nem ortamında 180. günlük stabilite çalışmasına ait PSC'nin miktar tayini ve % içerik çalışması sonuçları (n=3)

Zaman (Gün)	PSC Miktarı ($\mu\text{g} / \text{ml}$) (ortalama+ SD)				Miseller PSC (%) (a/a) (ortalama+ SD)			
	F195	F195F	F195 Y/S	F195F Y/S	F195 ^a	F195F ^a	F195 Y/S ^a	F195F Y/S ^a
0	240,54 $\pm$ 0,52	240,54 $\pm$ 0,52	233,84 $\pm$ 0,47	233,84 $\pm$ 0,47	100	100	100	100
7	238,20 $\pm$ 0,28	239,84 $\pm$ 0,84	230,94 $\pm$ 0,38	228,94 $\pm$ 0,41	99,03 $\pm$ 0,01	99,71 $\pm$ 0,05	98,76 $\pm$ 0,02	97,90 $\pm$ 0,01
14	235,03 $\pm$ 0,31	233,02 $\pm$ 0,39	224,02 $\pm$ 0,72	224,39 $\pm$ 0,68	97,71 $\pm$ 0,02	96,87 $\pm$ 0,01	95,80 $\pm$ 0,04	95,96 $\pm$ 0,09
30	228,40 $\pm$ 0,08	230,19 $\pm$ 1,05	218,63 $\pm$ 0,49	218,05 $\pm$ 0,59	94,95 $\pm$ 0,01	95,70 $\pm$ 0,11	93,50 $\pm$ 0,02	93,25 $\pm$ 0,09
45	225,39 $\pm$ 0,74	226,11 $\pm$ 0,91	211,56 $\pm$ 0,94	213,40 $\pm$ 1,03	93,70 $\pm$ 0,05	94,00 $\pm$ 0,06	90,47 $\pm$ 0,07	91,26 $\pm$ 0,16
60	218,49 $\pm$ 0,62	219,31 $\pm$ 0,87	206,17 $\pm$ 1,05	205,61 $\pm$ 0,97	90,83 $\pm$ 0,04	91,17 $\pm$ 0,10	88,17 $\pm$ 0,08	87,93 $\pm$ 0,13
90	203,85 $\pm$ 0,59	197,39 $\pm$ 1,02	193,84 $\pm$ 0,92	187,31 $\pm$ 1,14	84,75 $\pm$ 0,04	82,06 $\pm$ 0,11	82,89 $\pm$ 0,08	80,10 $\pm$ 0,18
120	184,30 $\pm$ 0,96	185,23 $\pm$ 1,63	176,39 $\pm$ 1,83	182,33 $\pm$ 1,95	76,62 $\pm$ 0,07	77,01 $\pm$ 0,15	75,43 $\pm$ 0,17	77,97 $\pm$ 0,24
150	169,29 $\pm$ 1,26	178,30 $\pm$ 1,84	165,39 $\pm$ 2,63	176,40 $\pm$ 3,61	70,38 $\pm$ 0,14	74,13 $\pm$ 0,19	70,73 $\pm$ 0,21	75,44 $\pm$ 0,36
180	153,95 $\pm$ 2,05	165,31 $\pm$ 1,94	158,30 $\pm$ 1,07	170,18 $\pm$ 2,78	64,00 $\pm$ 0,28	68,72 $\pm$ 0,23	67,70 $\pm$ 0,12	72,78 $\pm$ 0,32

a: Stabilite çalışmasında misel içerisinde kalan PSC miktarını % olarak hesaplamak için başlangıç miktarı % 100 kabul edilmiştir.

Tablo 4-17: F195 kodlu tüm formülasyonların 40 ± 2 °C, % 75 ± 5 bağıl nem ortamında 180. günlük stabilite çalışmasına ait PSC'nin miktar tayini ve % içerik çalışması sonuçları (n=3)

Zaman (Gün)	PSC Miktarı ($\mu\text{g} / \text{ml}$) (ortalama+ SD)				Miseller PSC (%) (a/a) (ortalama+ SD)			
	F195	F195F	F195 Y/S	F195F Y/S	F195 ^a	F195F ^a	F195 Y/S ^a	F195F Y/S ^a
0	240,54 $\pm$ 0,52	240,54 $\pm$ 0,52	233,84 $\pm$ 0,47	233,84 $\pm$ 0,47	100	100	100	100
7	231,97 $\pm$ 0,27	236,61 $\pm$ 0,48	227,40 $\pm$ 0,52	224,47 $\pm$ 0,72	96,44 $\pm$ 0,01	98,37 $\pm$ 0,01	97,25 $\pm$ 0,02	95,99 $\pm$ 0,05
14	227,30 $\pm$ 0,39	217,07 $\pm$ 0,23	214,40 $\pm$ 0,75	217,41 $\pm$ 0,64	94,50 $\pm$ 0,02	90,24 $\pm$ 0,03	91,69 $\pm$ 0,04	92,97 $\pm$ 0,05
30	215,04 $\pm$ 0,82	217,94 $\pm$ 1,02	203,92 $\pm$ 0,08	214,40 $\pm$ 0,10	89,40 $\pm$ 0,06	90,61 $\pm$ 0,08	87,20 $\pm$ 0,00	91,69 $\pm$ 0,01
45	209,11 $\pm$ 1,93	203,68 $\pm$ 0,79	189,31 $\pm$ 1,03	206,39 $\pm$ 0,94	86,93 $\pm$ 0,15	84,68 $\pm$ 0,05	80,96 $\pm$ 0,08	88,26 $\pm$ 0,08
60	196,31 $\pm$ 2,49	187,07 $\pm$ 0,76	173,20 $\pm$ 0,64	198,40 $\pm$ 0,58	81,61 $\pm$ 0,20	77,77 $\pm$ 0,05	74,07 $\pm$ 0,03	84,84 $\pm$ 0,03
90	184,97 $\pm$ 1,53	174,29 $\pm$ 0,98	157,41 $\pm$ 1,15	192,50 $\pm$ 0,93	76,90 $\pm$ 0,12	72,46 $\pm$ 0,06	67,31 $\pm$ 0,13	82,32 $\pm$ 0,08
120	171,23 $\pm$ 2,48	161,91 $\pm$ 2,15	148,73 $\pm$ 0,92	185,41 $\pm$ 1,09	71,19 $\pm$ 0,20	67,31 $\pm$ 0,19	63,60 $\pm$ 0,06	79,29 $\pm$ 0,10
150	153,29 $\pm$ 3,61	152,40 $\pm$ 1,08	140,29 $\pm$ 2,85	162,41 $\pm$ 3,68	63,73 $\pm$ 0,28	63,36 $\pm$ 0,10	60,00 $\pm$ 0,25	69,45 $\pm$ 0,35
180	146,39 $\pm$ 0,97	148,21 $\pm$ 2,37	130,93 $\pm$ 3,76	145,06 $\pm$ 2,19	60,86 $\pm$ 0,11	61,61 $\pm$ 0,23	55,99 $\pm$ 0,31	62,03 $\pm$ 0,15

a: Stabilite çalışmasında misel içerisinde kalan PSC miktarını % olarak hesaplamak için başlangıç miktarı % 100 kabul edilmiştir.

Tablo 4-18: F206 kodlu tüm formülasyonların 25 ± 2 °C, % 60 ± 5 bağıl nem ortamında 180. günlük stabilite çalışmasına ait PSC'nin miktar tayini ve % içerik çalışması sonuçları (n=3)

Zaman (Gün)	PSC Miktarı ($\mu\text{g} / \text{ml}$) (ortalama+ SD)				Miseller PSC (%) (a/a) (ortalama+ SD)			
	F206	F206F	F206 Y/S	F206F Y/S	F206 ^a	F206F ^a	F206 Y/S ^a	F206F Y/S ^a
0	244,65 $\pm$ 0,15	244,65 $\pm$ 0,15	237,60 $\pm$ 0,22	237,60 $\pm$ 0,22	100	100	100	100
7	242,39 $\pm$ 0,06	240,91 $\pm$ 0,21	235,94 $\pm$ 0,31	234,51 $\pm$ 0,37	99,08 $\pm$ 0,01	98,47 $\pm$ 0,10	99,30 $\pm$ 0,12	98,70 $\pm$ 0,03
14	241,39 $\pm$ 0,17	238,50 $\pm$ 0,07	230,91 $\pm$ 0,16	227,40 $\pm$ 0,14	98,67 $\pm$ 0,03	97,49 $\pm$ 0,09	97,18 $\pm$ 0,08	95,71 $\pm$ 0,02
30	240,49 $\pm$ 0,21	232,46 $\pm$ 0,42	225,21 $\pm$ 0,61	221,41 $\pm$ 0,72	98,30 $\pm$ 0,04	95,02 $\pm$ 0,11	94,78 $\pm$ 0,18	93,18 $\pm$ 0,07
45	237,50 $\pm$ 0,67	225,39 $\pm$ 0,52	217,38 $\pm$ 0,42	214,04 $\pm$ 0,43	97,08 $\pm$ 0,17	92,13 $\pm$ 0,14	91,49 $\pm$ 0,15	90,08 $\pm$ 0,06
60	231,49 $\pm$ 0,41	218,95 $\pm$ 0,13	203,50 $\pm$ 1,06	207,30 $\pm$ 0,67	94,62 $\pm$ 0,14	89,49 $\pm$ 0,08	85,65 $\pm$ 0,21	87,25 $\pm$ 0,09
90	226,50 $\pm$ 0,03	214,31 $\pm$ 0,52	198,40 $\pm$ 0,82	196,39 $\pm$ 1,05	92,58 $\pm$ 0,01	87,60 $\pm$ 0,13	83,50 $\pm$ 0,19	82,66 $\pm$ 0,12
120	220,50 $\pm$ 0,29	192,40 $\pm$ 0,81	182,94 $\pm$ 1,38	187,11 $\pm$ 0,87	90,13 $\pm$ 0,04	78,64 $\pm$ 0,17	76,99 $\pm$ 0,23	78,75 $\pm$ 0,10
150	192,50 $\pm$ 0,97	179,40 $\pm$ 0,75	169,50 $\pm$ 0,95	180,26 $\pm$ 1,30	78,68 $\pm$ 0,21	73,33 $\pm$ 0,16	71,34 $\pm$ 0,19	75,87 $\pm$ 0,16
180	175,09 $\pm$ 1,05	164,52 $\pm$ 1,23	152,05 $\pm$ 2,61	165,09 $\pm$ 0,96	71,57 $\pm$ 0,21	67,25 $\pm$ 0,21	63,99 $\pm$ 0,28	69,48 $\pm$ 0,12

a: Stabilite çalışmasında misel içerisinde kalan PSC miktarını % olarak hesaplamak için başlangıç miktarı % 100 kabul edilmiştir.

Tablo 4-19: F206 kodlu tüm formülasyonların 40 ± 2 °C, % 75 ± 5 bağıl nem ortamında 180. günlük stabilite çalışmasına ait PSC'nin miktar tayini ve % içerik çalışması sonuçları (n=3)

Zaman (Gün)	PSC Miktarı ($\mu\text{g} / \text{ml}$) (ortalama+ SD)				Miseller PSC (%) (a/a) (ortalama+ SD)			
	F206	F206F	F206 Y/S	F206F Y/S	F206 ^a	F206F ^a	F206 Y/S ^a	F206F Y/S ^a
0	244,65 $\pm$ 0,15	244,65 $\pm$ 0,15	237,60 $\pm$ 0,22	237,60 $\pm$ 0,22	100	100	100	100
7	240,09 $\pm$ 0,38	239,02 $\pm$ 0,28	230,58 $\pm$ 0,12	231,48 $\pm$ 0,39	98,14 $\pm$ 0,02	97,70 $\pm$ 0,01	97,05 $\pm$ 0,01	97,42 $\pm$ 0,03
14	234,11 $\pm$ 0,51	230,92 $\pm$ 0,42	227,19 $\pm$ 0,33	227,41 $\pm$ 0,17	95,69 $\pm$ 0,04	94,39 $\pm$ 0,02	95,62 $\pm$ 0,02	95,71 $\pm$ 0,01
30	227,40 $\pm$ 0,28	218,63 $\pm$ 0,09	210,49 $\pm$ 0,56	223,95 $\pm$ 0,62	92,95 $\pm$ 0,02	89,36 $\pm$ 0,00	88,59 $\pm$ 0,05	94,25 $\pm$ 0,05
45	221,94 $\pm$ 0,18	205,61 $\pm$ 0,65	194,21 $\pm$ 0,21	217,46 $\pm$ 0,85	90,72 $\pm$ 0,01	84,04 $\pm$ 0,03	81,74 $\pm$ 0,02	91,52 $\pm$ 0,07
60	213,29 $\pm$ 0,47	194,90 $\pm$ 0,82	187,31 $\pm$ 0,42	211,85 $\pm$ 0,59	87,18 $\pm$ 0,04	79,66 $\pm$ 0,04	78,83 $\pm$ 0,03	89,16 $\pm$ 0,05
90	208,20 $\pm$ 0,63	186,29 $\pm$ 0,28	170,93 $\pm$ 0,73	203,50 $\pm$ 1,38	85,10 $\pm$ 0,05	76,15 $\pm$ 0,01	71,94 $\pm$ 0,06	85,65 $\pm$ 0,11
120	199,39 $\pm$ 0,91	172,21 $\pm$ 1,07	155,40 $\pm$ 0,94	182,40 $\pm$ 0,97	81,50 $\pm$ 0,07	70,39 $\pm$ 0,06	65,40 $\pm$ 0,08	76,77 $\pm$ 0,08
150	183,30 $\pm$ 1,04	165,29 $\pm$ 0,94	142,40 $\pm$ 1,38	165,40 $\pm$ 1,84	74,92 $\pm$ 0,09	67,56 $\pm$ 0,05	59,93 $\pm$ 0,11	69,61 $\pm$ 0,15
180	168,31 $\pm$ 2,15	154,04 $\pm$ 2,65	136,20 $\pm$ 2,15	159,31 $\pm$ 2,17	68,80 $\pm$ 0,19	62,96 $\pm$ 0,23	57,33 $\pm$ 0,20	67,05 $\pm$ 0,19

a: Stabilite çalışmasında misel içerisinde kalan PSC miktarını % olarak hesaplamak için başlangıç miktarı % 100 kabul edilmiştir.

Tablo 4-20: F207 kodlu tüm formülasyonların 25 ± 2 °C, % 60 ± 5 bağıl nem ortamında 180. günlük stabilite çalışmasına ait PSC'nin miktar tayini ve % içerik çalışması sonuçları (n=3)

Zaman (Gün)	PSC Miktarı ($\mu\text{g} / \text{ml}$) (ortalama+ SD)				Miseller PSC (%) (a/a) (ortalama+ SD)			
	F207	F207F	F207 Y/S	F207F Y/S	F207 ^a	F207F ^a	F207 Y/S ^a	F207F Y/S ^a
0	237,99 $\pm$ 0,25	237,99 $\pm$ 0,25	239,79 $\pm$ 0,45	239,79 $\pm$ 0,45	100	100	100	100
7	235,42 $\pm$ 0,17	232,06 $\pm$ 0,47	230,20 $\pm$ 0,30	233,60 $\pm$ 0,21	98,92 $\pm$ 0,01	97,51 $\pm$ 0,03	96,00 $\pm$ 0,02	97,42 $\pm$ 0,01
14	232,30 $\pm$ 0,38	225,40 $\pm$ 0,59	221,75 $\pm$ 0,38	229,36 $\pm$ 0,62	97,61 $\pm$ 0,03	94,71 $\pm$ 0,04	92,48 $\pm$ 0,02	95,65 $\pm$ 0,04
30	224,12 $\pm$ 0,53	218,38 $\pm$ 0,19	216,41 $\pm$ 0,53	217,02 $\pm$ 0,47	94,17 $\pm$ 0,04	91,76 $\pm$ 0,01	90,25 $\pm$ 0,03	90,50 $\pm$ 0,03
45	214,05 $\pm$ 0,41	214,05 $\pm$ 0,79	210,12 $\pm$ 0,39	207,56 $\pm$ 0,59	89,94 $\pm$ 0,04	89,94 $\pm$ 0,06	87,63 $\pm$ 0,02	86,56 $\pm$ 0,04
60	207,38 $\pm$ 1,05	208,38 $\pm$ 0,52	204,86 $\pm$ 0,63	199,75 $\pm$ 0,81	87,14 $\pm$ 0,09	87,56 $\pm$ 0,03	85,43 $\pm$ 0,04	83,30 $\pm$ 0,06
90	197,27 $\pm$ 0,97	203,20 $\pm$ 0,98	190,47 $\pm$ 1,05	192,90 $\pm$ 1,02	82,89 $\pm$ 0,08	85,38 $\pm$ 0,08	79,43 $\pm$ 0,08	80,44 $\pm$ 0,7
120	193,20 $\pm$ 1,67	197,29 $\pm$ 1,05	183,69 $\pm$ 0,93	189,14 $\pm$ 0,93	81,18 $\pm$ 0,15	82,90 $\pm$ 0,08	76,60 $\pm$ 0,07	78,88 $\pm$ 0,06
150	189,39 $\pm$ 1,58	192,51 $\pm$ 1,63	179,75 $\pm$ 1,54	174,73 $\pm$ 1,37	79,58 $\pm$ 0,14	80,89 $\pm$ 0,14	74,96 $\pm$ 0,11	72,87 $\pm$ 0,9
180	184,30 $\pm$ 2,03	186,30 $\pm$ 0,92	161,33 $\pm$ 1,39	158,88 $\pm$ 1,52	77,44 $\pm$ 0,19	78,28 $\pm$ 0,08	67,28 $\pm$ 0,10	66,26 $\pm$ 0,10

a: Stabilite çalışmasında misel içerisinde kalan PSC miktarını % olarak hesaplamak için başlangıç miktarı % 100 kabul edilmiştir.

Tablo 4-21: F207 kodlu tüm formülasyonların 40 ± 2 °C, % 75 ± 5 bağıl nem ortamında 180. günlük stabilite çalışmasına ait PSC'nin miktar tayini ve % içerik çalışması sonuçları (n=3)

Zaman (Gün)	PSC Miktarı ($\mu\text{g} / \text{ml}$) (ortalama+ SD)				Miseller PSC (%) (a/a) (ortalama+ SD)			
	F207	F207F	F207 Y/S	F207F Y/S	F207 ^a	F207F ^a	F207 Y/S ^a	F207F Y/S ^a
0	237,99 $\pm$ 0,25	237,99 $\pm$ 0,25	239,79 $\pm$ 0,45	239,79 $\pm$ 0,45	100	100	100	100
7	230,18 $\pm$ 0,42	234,30 $\pm$ 0,52	228,65 $\pm$ 0,33	233,23 $\pm$ 0,72	96,72 $\pm$ 0,03	98,45 $\pm$ 0,03	95,35 $\pm$ 0,02	97,26 $\pm$ 0,06
14	227,06 $\pm$ 0,17	228,50 $\pm$ 0,18	223,17 $\pm$ 0,14	229,13 $\pm$ 0,27	95,41 $\pm$ 0,01	96,01 $\pm$ 0,01	93,07 $\pm$ 0,01	95,55 $\pm$ 0,02
30	221,50 $\pm$ 0,31	219,68 $\pm$ 0,48	215,27 $\pm$ 0,67	225,64 $\pm$ 0,55	93,07 $\pm$ 0,02	92,31 $\pm$ 0,03	89,77 $\pm$ 0,04	94,10 $\pm$ 0,04
45	216,06 $\pm$ 0,75	217,30 $\pm$ 0,97	194,89 $\pm$ 0,42	219,10 $\pm$ 1,63	90,78 $\pm$ 0,05	91,31 $\pm$ 0,08	81,28 $\pm$ 0,03	91,37 $\pm$ 0,14
60	203,54 $\pm$ 1,08	205,40 $\pm$ 0,56	194,89 $\pm$ 0,89	213,46 $\pm$ 0,92	85,53 $\pm$ 0,08	86,31 $\pm$ 0,04	81,28 $\pm$ 0,06	89,02 $\pm$ 0,07
90	196,15 $\pm$ 0,99	194,39 $\pm$ 1,04	180,99 $\pm$ 1,08	205,04 $\pm$ 1,36	82,42 $\pm$ 0,06	81,68 $\pm$ 0,09	75,48 $\pm$ 0,08	85,51 $\pm$ 0,12
120	183,21 $\pm$ 1,23	187,40 $\pm$ 0,81	169,44 $\pm$ 0,97	183,78 $\pm$ 0,85	76,98 $\pm$ 0,08	78,74 $\pm$ 0,06	70,66 $\pm$ 0,07	76,64 $\pm$ 0,06
150	166,57 $\pm$ 1,86	175,98 $\pm$ 1,47	163,26 $\pm$ 1,63	166,65 $\pm$ 1,29	69,99 $\pm$ 0,13	73,95 $\pm$ 0,12	68,08 $\pm$ 9,12	69,50 $\pm$ 0,11
180	155,31 $\pm$ 2,01	169,68 $\pm$ 2,13	159,01 $\pm$ 1,31	160,51 $\pm$ 2,04	65,26 $\pm$ 0,15	71,30 $\pm$ 0,19	66,31 $\pm$ 0,10	66,94 $\pm$ 0,18

a: Stabilite çalışmasında misel içerisinde kalan PSC miktarını % olarak hesaplamak için başlangıç miktarı % 100 kabul edilmiştir.

4.3.5.5. pH Ölçümleri

Tüm misel formülasyonlarının çalışıldığı ilk gün pH ölçümleri yapılmıştır. Daha sonra stabilite kabinlerine kaldırılan her bir formülasyon için 7., 14., 30., 45., 60., 90., 120., 150. ve 180. günde pH analizleri tekrar edilmiştir. Aşağıdaki Tablo 4-22’de tüm formülasyonların ilk gün ve 180. gündeki zeta potansiyel sonuçları verilmiştir.



Tablo 4-22: Stabilit  çalışması sonrası yapılan pH ölçümlerine ait bulgular

Formülasyon	Başlangıç	25 � 2 �C, % 60 � 5 Bağıl Nem	40 � 2 �C, % 75 � 5 Bağıl Nem
		180. Gün	180. Gün
F191	F191B	4,92	4,06
	F191BF	7,37	6,92
	F191	5,03	4,73
	F191F	7,39	6,81
F191 Y/S	F191B Y/S	4,78	4,29
	F191BF Y/S	7,41	7,07
	F191 Y/S	5,15	4,89
	F191F Y/S	7,36	6,83

Formülasyon	Başlangıç	25 ± 2 °C, % 60 ± 5 Bağıl Nem	40 ± 2 °C, % 75 ± 5 Bağıl Nem
		180. Gün	180. Gün
F195	F195B	4,91	4,58
	F195BF	7,37	6,96
	F195	5,17	4,82
	F195F	7,38	6,84
F195 Y/S	F195B Y/S	5,02	4,59
	F195BF Y/S	7,40	6,89
	F195 Y/S	4,98	4,26
	F195F Y/S	7,39	6,91

Formülasyon	Başlangıç	25 ± 2 °C, % 60 ± 5 Bağıl Nem	40 ± 2 °C, % 75 ± 5 Bağıl Nem
		180. Gün	180. Gün
F206	F206B	5,42	4,93
	F206BF	7,41	7,01
	F206	5,67	5,06
	F206F	7,43	6,97
F206 Y/S	F206B Y/S	5,19	4,95
	F206BF Y/S	7,38	7,02
	F206 Y/S	5,63	5,12
	F206F Y/S	7,37	6,92

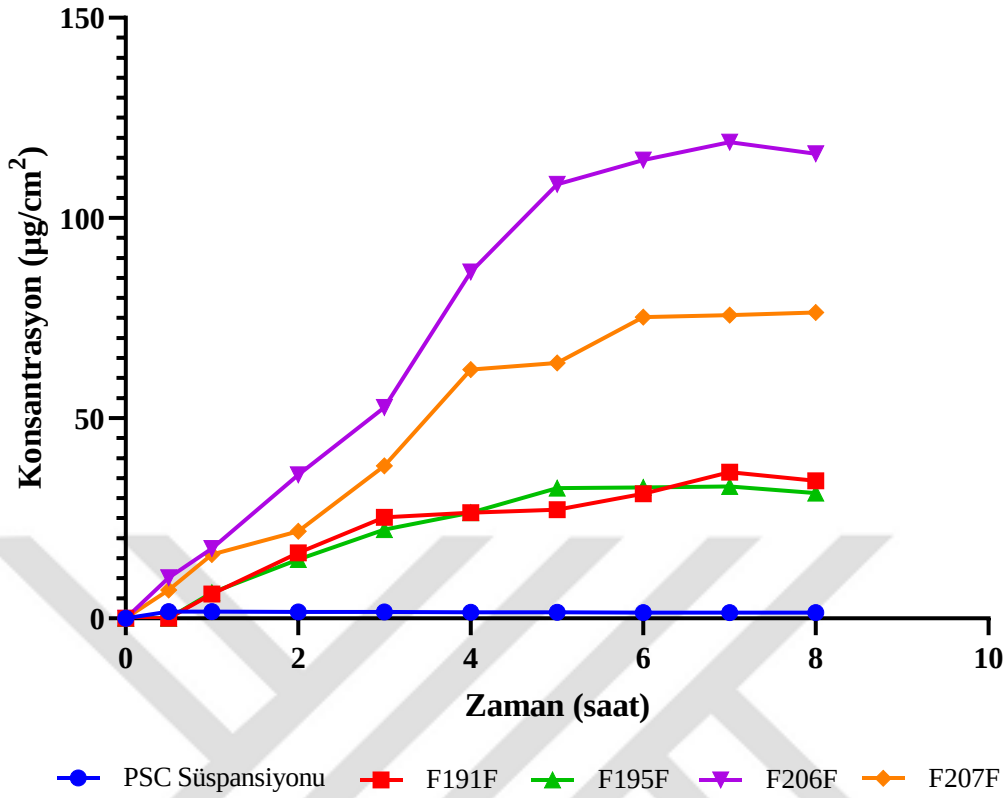
Formülasyon	Başlangıç	25 ± 2 °C, % 60 ± 5 Bağıl Nem	40 ± 2 °C, % 75 ± 5 Bağıl Nem
		180. Gün	180. Gün
F207	F207B	5,27	4,90
	F207BF	7,41	7,09
	F207	5,18	4,79
	F207F	7,37	7,16
F207 Y/S	F207B Y/S	4,97	4,32
	F207BF Y/S	7,36	7,06
	F207 Y/S	5,13	4,81
	F207F Y/S	7,38	6,97

4.4. *In vitro* Salım Çalışmaları

Hazırlanan formülasyonların ve 250 µg / ml'ye seyreltilmiş PSC süspansiyonunun “3.2.4. *In vitro* Salım Çalışmaları” bölümünde anlatıldığı gibi *in vitro* salım çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar aşağıda Tablo 4-23'te ve zamana karşı % salım miktarı grafiği Şekil 4-13'te yer almaktadır.

Tablo 4-23: Üretilen formülasyonların ve seyreltilmiş PSC süspansiyonunun Franz difüzyon hücrelerindeki PSC salım çalışması sonuçları (n=6)

Zaman (saat)	Posakonazol Salımı (µg/cm ²) ± SD				
	Kontrol Grubu	F191F	F195F	F206F	F207F
0,5	1,69 ± 0,31	0	0	10,19 ± 0,42	7,06 ± 0,95
1	1,67 ± 0,25	6,12 ± 1,12	6,40 ± 0,14	17,45 ± 1,46	15,97 ± 1,19
2	1,64 ± 0,21	16,34 ± 2,05	14,73 ± 1,01	35,90 ± 2,30	21,74 ± 2,06
3	1,58 ± 0,18	25,25 ± 1,69	22,20 ± 2,95	52,71 ± 1,58	38,08 ± 0,94
4	1,54 ± 0,23	26,44 ± 1,77	26,37 ± 3,38	86,50 ± 1,41	62,16 ± 1,73
5	1,50 ± 0,13	27,18 ± 1,76	32,56 ± 2,61	108,42 ± 1,40	63,84 ± 1,30
6	1,48 ± 0,07	31,10 ± 10,79	32,70 ± 3,50	114,51 ± 1,19	75,27 ± 1,03
7	1,43 ± 0,06	36,52 ± 0,98	32,99 ± 4,33	118,95 ± 1,60	75,71 ± 0,86
8	1,42 ± 0,28	34,37 ± 0,81	31,31 ± 3,18	116,04 ± 1,35	76,44 ± 1,38



Şekil 4-13: Üretilen formülasyonların ve PSC süspansiyonun zamana karşı salım grafiği

4.5. Sığır Kornea ve Sklera Dokularında *Ex Vivo* Geçiş Çalışmaları

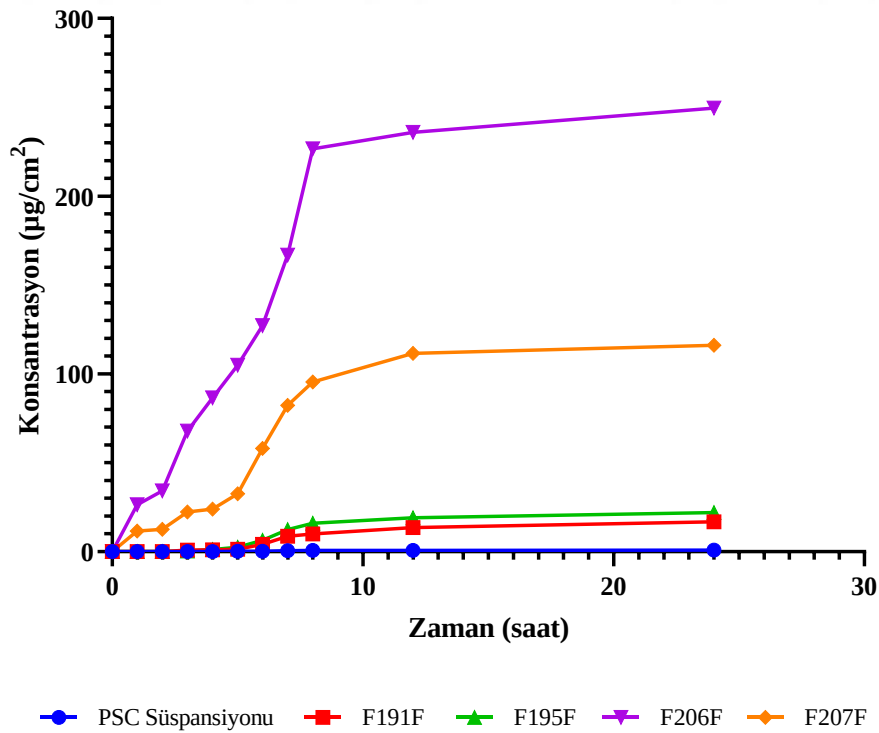
4.5.1. *Ex Vivo* Geçiş ve Biyoadhezyon Çalışmaları

Hazırlanan formülasyonların ve 250 µg / ml'ye seyreltilmiş PSC süspansiyonunun, “3.2.5.2. *Ex Vivo* Geçiş ve Biyoadhezyon Çalışmaları” bölümünde anlatıldığı gibi *ex vivo* geçiş çalışmaları yapılmıştır.

Hem kornea hem de sklera dokularında *ex vivo* geçiş çalışmaları incelenmiştir. Çalışmalar sonunda elde edilen sonuçlar aşağıda Tablo 4-24 ve 4-25'te, zamana karşı % geçiş miktarı grafiği Şekil 4-14 ve 4-15'te yer almaktadır.

Tablo 4-24: Üretilen formülasyonların ve seyreltilmiş PSC süspansiyonunun sıgır korneasındaki *ex vivo* PSC geçiş çalışması sonuçları (n=6)

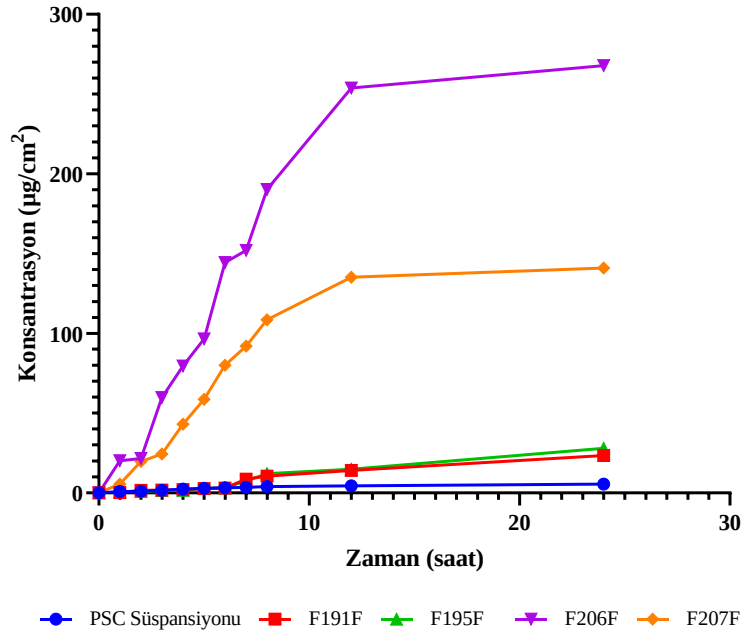
Zaman (saat)	Posakonazol Geçiş ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm$ SD				
	Kontrol Grubu	F191F	F195F	F206F	F207F
1	0	0	0	26,36 $\pm$ 0,03	11,58 $\pm$ 0,00
2	0	0	0	34,26 $\pm$ 0,01	12,54 $\pm$ 0,02
3	0	0,93 $\pm$ 0,2	0,45 $\pm$ 0,00	67,79 $\pm$ 0,01	22,29 $\pm$ 0,03
4	0,12 $\pm$ 0,00	0,99 $\pm$ 0,2	1,27 $\pm$ 0,02	86,56 $\pm$ 0,00	23,90 $\pm$ 0,02
5	0,27 $\pm$ 0,00	1,42 $\pm$ 0,01	2,58 $\pm$ 0,00	104,90 $\pm$ 0,14	32,58 $\pm$ 0,03
6	0,31 $\pm$ 0,00	4,07 $\pm$ 0,03	6,47 $\pm$ 0,01	127,15 $\pm$ 0,32	58,09 $\pm$ 0,27
7	0,58 $\pm$ 0,01	8,70 $\pm$ 0,01	12,36 $\pm$ 0,03	166,89 $\pm$ 0,48	82,31 $\pm$ 0,18
8	0,66 $\pm$ 0,01	9,96 $\pm$ 0,01	16,04 $\pm$ 0,00	226,57 $\pm$ 1,04	95,49 $\pm$ 1,49
12	0,70 $\pm$ 0,00	13,63 $\pm$ 0,04	19,15 $\pm$ 0,02	235,95 $\pm$ 0,95	111,57 $\pm$ 0,78
24	0,85 $\pm$ 0,01	16,78 $\pm$ 0,02	22,10 $\pm$ 0,01	249,55 $\pm$ 1,23	116,18 $\pm$ 1,05



Şekil 4-14: Üretilen formülasyonların ve PSC süspansiyonunun sıgır korneasındaki *ex vivo* zamana karşı geçiş grafiği

Tablo 4-25: Üretilen formülasyonların ve seyreltilmiş PSC süspansiyonunun sıgır skleresindeki ex vivo PSC geçiş çalışması sonuçları (n=6)

Zaman (saat)	Posakonazol Geçişi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) $\pm$ SD				
	Kontrol Grubu	F191F	F195F	F206F	F207F
1	0,89 $\pm$ 0,01	0,30 $\pm$ 0,02	0,45 $\pm$ 0,05	20,14 $\pm$ 0,07	5,57 $\pm$ 0,08
2	1,04 $\pm$ 0,02	1,69 $\pm$ 0,08	0,86 $\pm$ 0,00	21,51 $\pm$ 0,23	19,72 $\pm$ 0,27
3	1,62 $\pm$ 0,00	1,85 $\pm$ 0,35	1,43 $\pm$ 0,08	59,78 $\pm$ 0,18	24,33 $\pm$ 0,71
4	2,40 $\pm$ 0,01	2,18 $\pm$ 0,41	1,68 $\pm$ 0,27	79,49 $\pm$ 0,42	43,09 $\pm$ 0,49
5	2,86 $\pm$ 0,00	2,75 $\pm$ 0,44	2,86 $\pm$ 0,16	96,47 $\pm$ 1,16	58,73 $\pm$ 1,15
6	3,25 $\pm$ 0,03	3,08 $\pm$ 0,07	3,27 $\pm$ 0,05	144,44 $\pm$ 0,92	79,95 $\pm$ 0,92
7	3,48 $\pm$ 0,01	8,70 $\pm$ 0,29	7,61 $\pm$ 0,57	152,03 $\pm$ 1,43	91,96 $\pm$ 0,14
8	4,02 $\pm$ 0,13	10,55 $\pm$ 0,71	12,15 $\pm$ 0,43	190,19 $\pm$ 1,02	108,57 $\pm$ 1,03
12	4,48 $\pm$ 0,57	14,13 $\pm$ 0,83	14,81 $\pm$ 0,82	253,87 $\pm$ 1,62	135,26 $\pm$ 0,88
24	5,53 $\pm$ 0,49	23,43 $\pm$ 1,02	27,89 $\pm$ 1,01	267,79 $\pm$ 1,18	140,94 $\pm$ 1,01

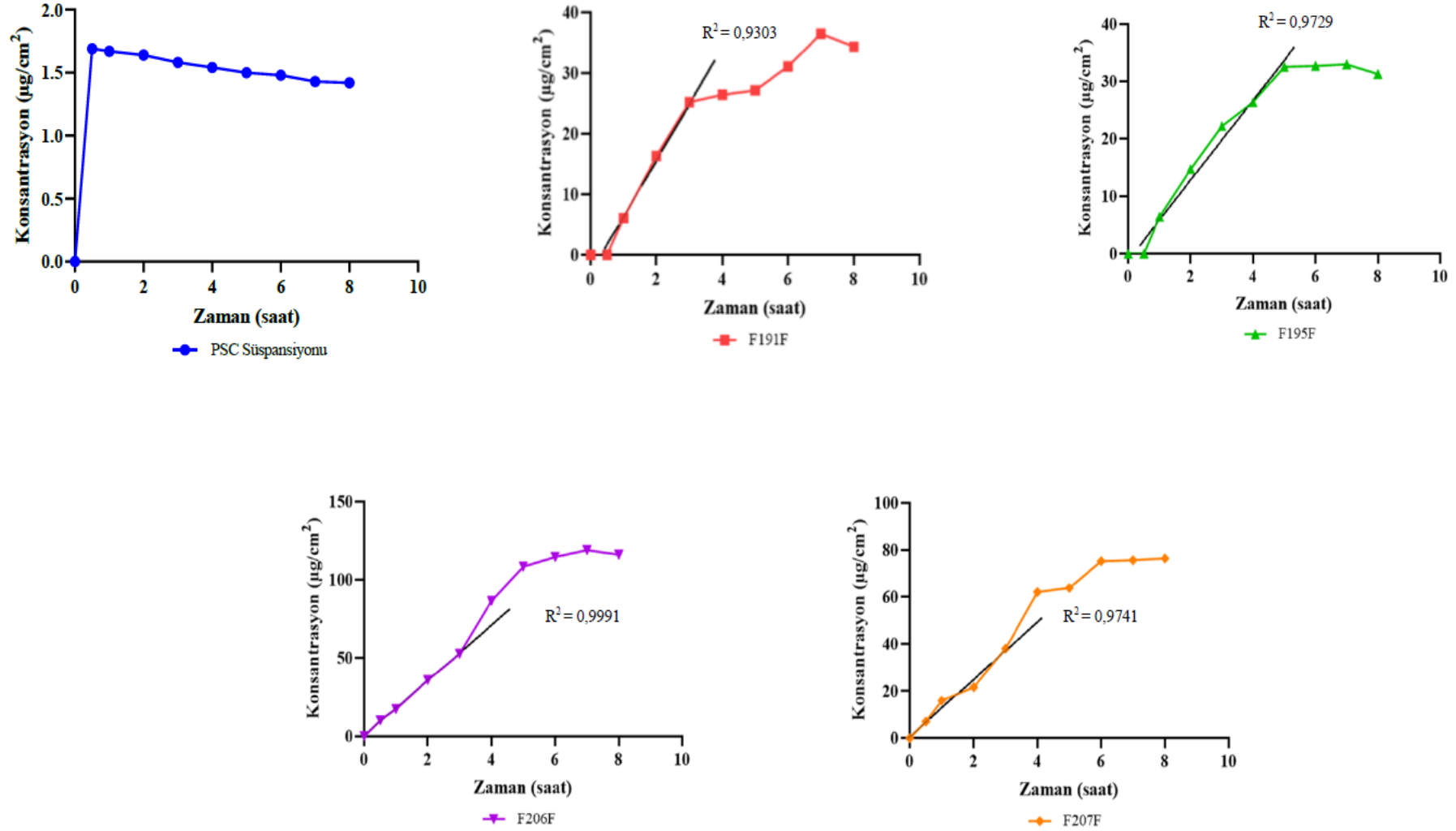


Şekil 4-15: Üretilen formülasyonların ve PSC süspansiyonunun sıgır skleresindeki ex vivo zamana karşı geçiş grafiği

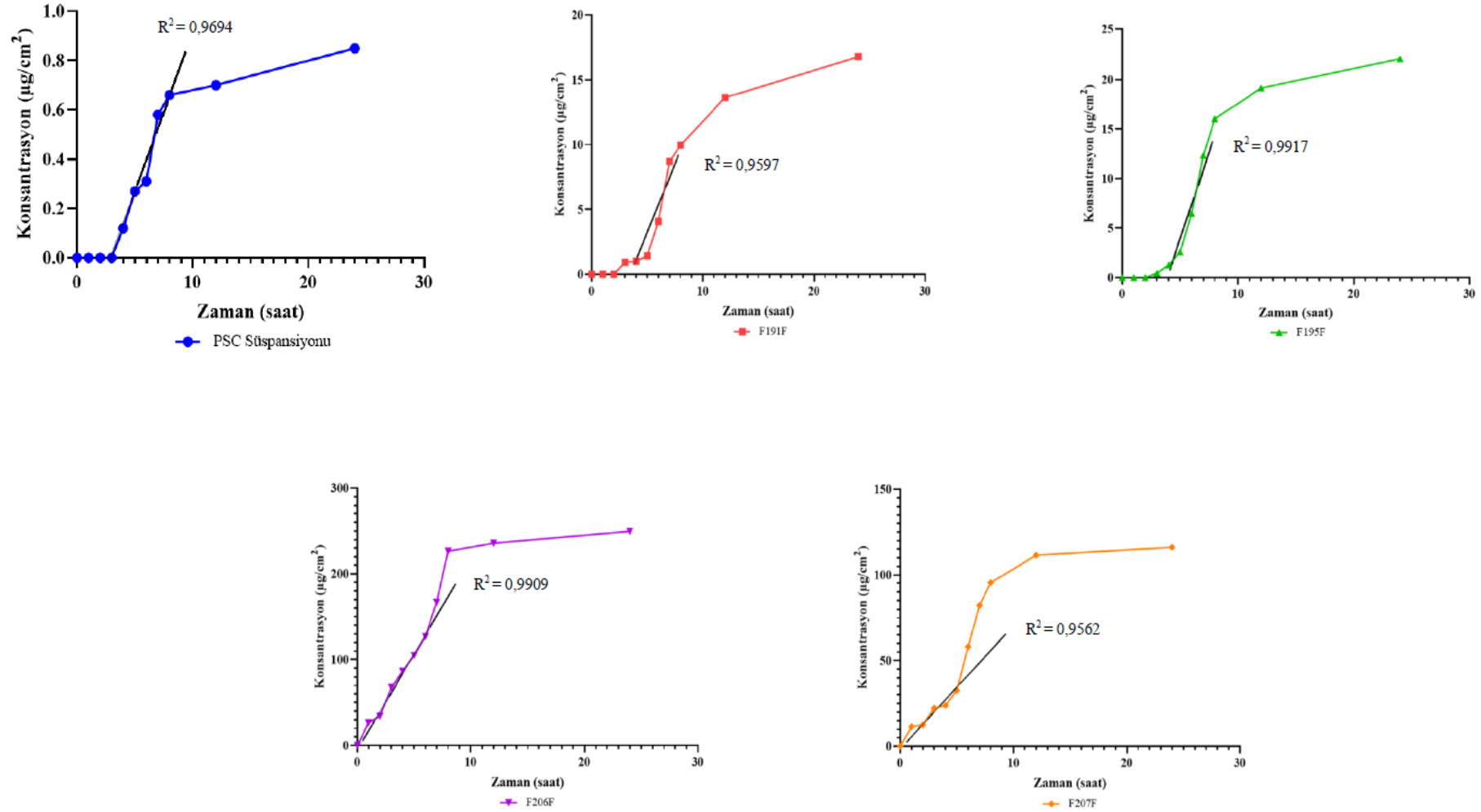
4.6. Kinetik Parametrelerin Hesaplanması

Üretilen formülasyonların kinetik parametreleri incelendiğinde, misellerin hem *in vitro* salım hem de *ex vivo* geçiş çalışmalarında sıfırıncı derece kinetiğe uygun olarak salım yaptıkları görülmüştür. Formülasyonların zamana karşı % salım ve % geçiş değerlerinin sıfırıncı derece kinetiğe uygunluğunu gösteren grafikler ve R^2 değerleri Şekil 4-16, 4-17 ve 4-18’de yer almaktadır.

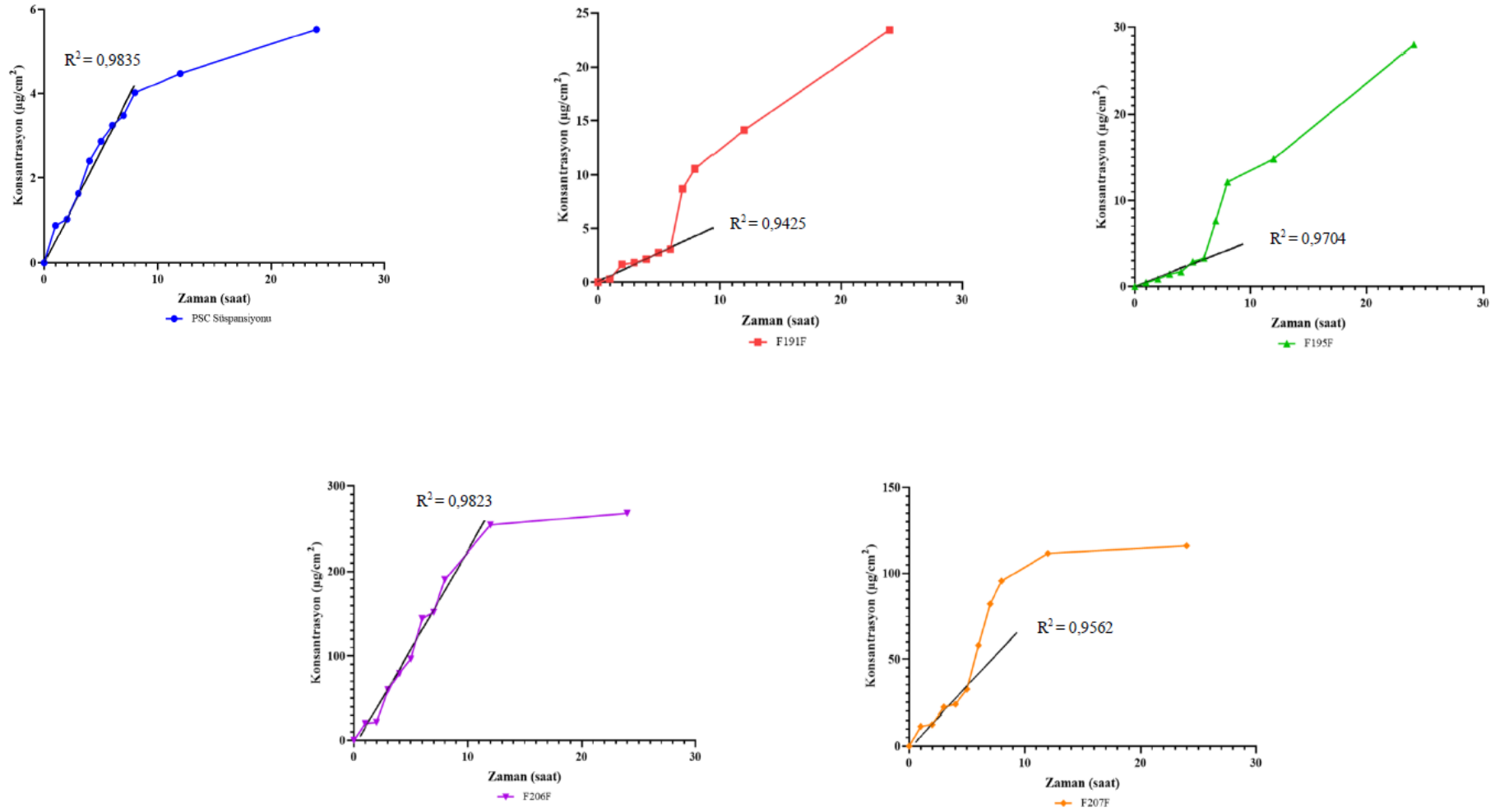




Şekil 4-16: Üretilen formülasyonların ve PSC süspansiyonun zamana karşı salım grafiği ve kalibrasyon doğruları



Şekil 4-17: Üretilen formülasyonların ve PSC süspansiyonun zamana karşı kornea geçiş grafiği ve kalibrasyon doğruları



Şekil 4-18: Üretilen formülasyonların ve PSC süspansiyonun zamana karşı sklere geçiş grafiği ve kalibrasyon doğruları

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında piyasada mevcut olmayan oküler fungal enfeksiyonlara karşı antifungal ilaç geliştirilmesi amaçlanmıştır. Kökeni ne olursa olsun herhangi bir oküler hastalık, gözün anatomik ve fizyolojik yapısından ötürü fırsatçı patojenlere de aktif hale geçebilmeleri için ortam hazırlamaktadır. Bu sebeple özellikle ülkemizin bulunduğu iklim kuşağında insidansının az olması beklenen oküler fungal enfeksiyonlara daha sık rastlanılabilmektedir. Ayrıca fungal kökenli oküler rahatsızlıklarda, zamanında ve doğru müdahale yapılmadığı takdirde hastalığın agresifliğine bağlı olarak organ kaybı görülme riski yüksektir. Bu sebeplere bağlı olarak antifungal bir ajanın oküler dozaj şeklinin geliştirilmesi;

- İlaç hedeflendirmesi yapmak,
- Hedef bölgede biyoyararlanımı artırmak,
- Sistemik yan etkiyi azaltmak açısından büyük önem taşımaktadır.

Çalışmalarımızda kullandığımız PSC, dahil olduğu tiazol grubu ve diğer antifungal ajanlara göre etki spektrumu oldukça geniş ve MIC değeri düşük bir etkin maddedir. Düşük çözünürlük, yüksek permeabilite özelliklerine sahip olan PSC'nin çözünürlüğünün artırılarak oküler uygulamaya elverişli bir dozaj şeklinin geliştirilmesi bu çalışmanın bir diğer amacıdır. “2.5.5. PSC'nin Oküler Kullanımına Yönelik Çalışmalar” bölümünde anlatılan şimdiye kadar yapılmış vaka incelemelerinde, diğer antifungal ajanların tedavide yeterli gelmediği tüm durumlarda PSC sistemik ve süspansiyonun seyreltilerek lokal kullanılması bile tedavide cevap alınabilmesini sağlamıştır. Bu bilgilerden hareketle PSC'nin oküler bir dozaj formunun geliştirilmesinde çok daha hızlı etki sağlayacağı düşünülmektedir.

PSC'nin çözünürlüğünün artırılarak herhangi bir ilaç taşıyıcı sisteme yüklenmesi bu tezin en önemli önceliğidir. Şimdiye kadar PSC ile ilgili oküler alanda yapılmış bir ilaç taşıyıcı sistem çalışması mevcut değildir. Farmasötik form olarak misel tercih edilmiştir. Üretim kolaylığı, ultra saf su içerisinde disperse edilerek göz damlası gibi basit bir form haline getirilebilmesi, kontrollü ilaç salımı yapması ve PSC'nin şimdiye kadar misel yapıda hiçbir çalışmasının olmaması, dozaj formu olarak misel seçilmesinin sebepleridir.

5.1. PSC Üzerinde Yapılan Çalışmalar

5.1.1. FTIR Spektrumu

Toz haldeki PSC'nin FTIR analizi, 4000-400 cm^{-1} dalga boyu aralığında yapılmıştır. Analize ait spektrum örneği aşağıda Şekil 4-1'de yer almaktadır. 3119 cm^{-1} 'de OH, 2966 cm^{-1} 'de CH_2 , 1685 cm^{-1} 'de C=O, 1618 cm^{-1} 'de C=N ve 1422 cm^{-1} 'de C-N gerilim bantları görülmüştür. Elde edilen bu veriler Tang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma (311) ile uyumludur.

5.1.2. Erime Derecesi Tayini

PSC'nin erime derecesi yapılan analiz sonucunda 166-168 $^{\circ}\text{C}$ olarak bulunmuştur. Bu bulgu, literatürde verilen 170 – 172 $^{\circ}\text{C}$ aralığına çok yakındır. Cihazdan cihaza ölçüm farklılıkları olabileceği göz önünde bulundurulduğunda bulunan analiz sonucu literatürde kayıtlı PSC'nin erime derecesi (249) ile uyumludur.

5.1.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Miktar Tayini

Garcia ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmadan (302) modifiye edilen HPLC metodunun validasyon çalışmaları, bu analitik yöntemin çalışmalarımız için uygun olduğunu göstermiştir.

Doğrusallık çalışmasında doğru denklemi $y = 51706x$ ve R^2 değerimiz de 0,9999 olarak bulunmuştur. Rehberlere göre 5 farklı konsantrasyon değeri ile yapılması yeterli olan doğrusallık çalışmasını, 15 farklı nokta kullanarak gerçekleştirdik. 0,05 – 50 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyon aralığında yöntemimizin doğrusal olduğunu tespit ettik.

Doğruluk çalışması için 0,05, 1 ve 50 $\mu\text{g} / \text{ml}$ konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerden % geri kazanım değerlerini inceledik. Elde ettiğimiz sonuçlar ve % RSD değerleri değerlendirdiğimizde, geliştirdiğimiz yöntemin 0,05 – 50 $\mu\text{g} / \text{ml}$ konsantrasyon aralığında doğruluğunun bulunduğunu ve kullanılabilir olduğu sonucuna ulaştık.

Kesinlik çalışmaları gün içi kesinlik ve günler arası kesinlik olarak iki şekilde yapılmıştır. 0,05, 1 ve 50 $\mu\text{g} / \text{ml}$ konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerin HPLC'de analiz edilmesi sonucu % RSD değerlerinin “2 >” çıkması, mevcut yöntemimiz ile elde edilen sonuçların kesinliği olduğunu göstermiştir.

Seçililik çalışması için PSC dışında formülasyon çalışmalarında kullandığımız tüm yardımcı maddelerin 260 nm'deki HPLC kromatogramları incelenmiştir. Yardımcı maddelerin hiç biri PSC ile aynı dedekiyon zamanında pik vermemiştir. Böylece kullandığımız yöntemin PSC için seçiliği olduğu sonucunu elde ettik.

Duyarlılık çalışmalarında teşhis limiti 0,0025 µg / ml ve miktar tayin limiti 0.02 µg / ml olarak bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar yöntemimizin 0,05 – 50 µg / ml konsantrasyon aralığında duyarlılığının yeterli olduğunu göstermiştir.

Stabilite çalışmaları için 1 µg /ml konsantrasyonda PSC çözeltileri 1., 2., 4., 6., 8., 12., 24. ve 48. saatlerde HPLC'de analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar hazırlanan çözeltinin stabil kaldığını göstermiştir.

5.1.4. PSC'nin Çözünürlük Tayini

Çözünürlük çalışmalarında elde edilen bulgular değerlendirilmiştir. % 0,1 SLS (a/h) içeren yapay gözyaşı ortamı içerisinde PSC çözünürlüğünün 55,3680 µg / ml olduğu bulunmuştur. Sink koşulun sağlanması amacıyla % 0,1 SLS (a/h) içeren yapay gözyaşı ortamı tercih edilmiştir.

5.1.5. PSC'nin 37 °C'de Stabilitesinin Tayini

% 0,1 SLS (a/h) içeren yapay gözyaşı ortamı içerisinde yapılan stabilite çalışmalarında PSC'nin stabil kaldığı tespit edilmiştir. *In vitro* salım ve *Ex vivo* geçiş çalışmalarının bu ortam içerisinde yapılmasında herhangi bir sorun olmayacağı görülmüştür.

5.2. Misel Formülasyonları Üzerinde Yapılan Çalışmalar

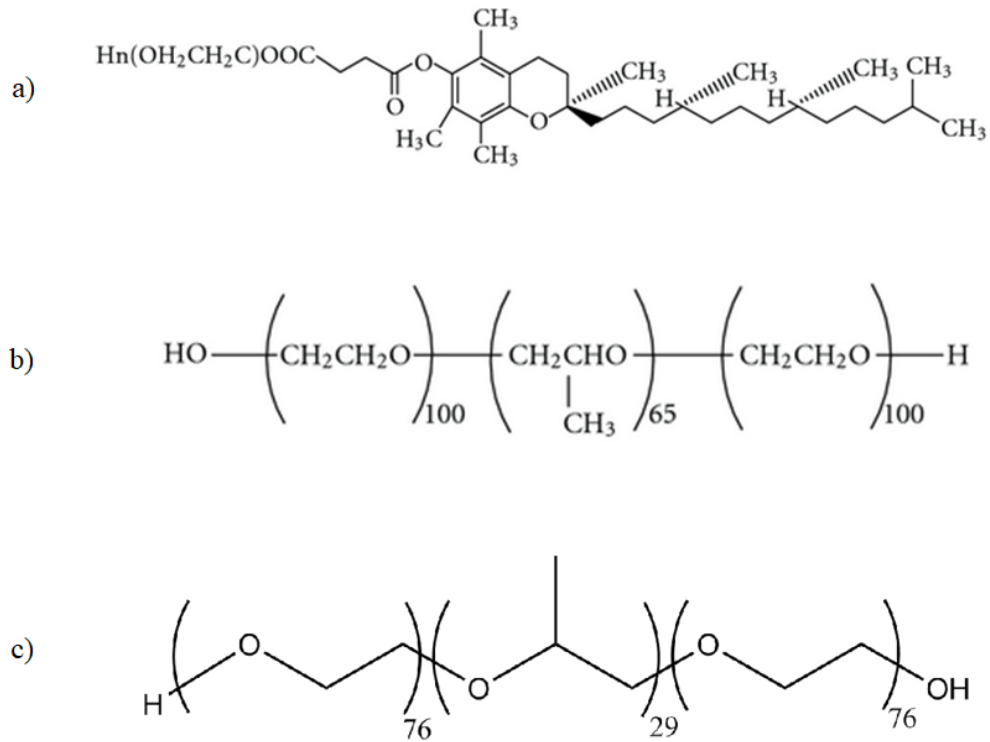
5.2.1. Ön Formülasyon Çalışmaları

Ön formülasyon çalışmaları bu tezin en zorlayıcı basamağı olmuştur. PSC'nin mevcut bir misel formu olmaması sebebiyle benzer kimyasal yapıda ve log P değerine sahip olan diğer bir tiazol antifungal ajan ITC ile yapılan çalışmalar göz önünde bulundurulmuştur.

ITC çalışmaları örnek alınarak tercih edilen polimerler ve miktarlarda misel yapısına PSC yüklenememiş ya da yüklenmiş olsa bile ciddi stabilite problemleri yaşanmıştır. Bunun PSC'nin 3 boyutlu kimyasal yapısından kaynaklandığı düşünülmektedir. “2.5.1. Fizikokimyasal Özellikler” bölümünde Şekil 2-6'da

gösterildiği üzere PSC'nin 3 boyutlu yapısı sarmal şeklindedir. Bu yapı, kimyasal bağ yapması muhtemel olan grupların kısıtlı bir alana sahip olmasına ve kullanılan kopolimer / sürfaktan ile yeterli etkileşememesine sebep olmaktadır.

TPGS özellikle lipofilik yapılı moleküllerde çözücü ve taşıyıcı ajan olarak tercih edilen bir sürfaktandır. Çalışmalarımızda tek başına ve Pluronik F127 veya Pluronik F68 ile kombine halde kullanılarak PSC'nin çözünürlüğünü artırmış ve misel oluşmasını sağlamıştır. Tek başına Pluronik F127 veya Pluronik F68 ile yaptığımız çalışmalarda sonuç alamamış olmamızın, bu polimerlerin PSC ile yeterli kimyasal bağ yapamamasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Her iki polimerin de içerdiği gruplar TPGS ile benzerlik gösterse de bu grupların 3 boyutlu yapılarındaki farklılıklar ve TPGS'nin içerdiği aromatik halka, PSC ile kimyasal bağ kurulmasını ya da kurulmamasını belirleyen en büyük unsurdur. Aşağıda Şekil 5-1'de TPGS, Pluronik F127 ve Pluronik F68'in kimyasal yapıları yer almaktadır. Ayrıca Hansson ve Lindman yapmış oldukları çalışmada (312) polimerlerin sürfaktanlarla birlikte kullanımının misel yapısının elde edilmesini desteklediğini belirtmektedir. Bu çalışma göz önünde bulundurulduğunda TPGS ilavesinin Pluronik F127 ve Pluronik F68'in etkinliğini artırdığı yorumu yapılabilmektedir. Çalışmalarımızda bu durumun en büyük göstergesi daha önce Pluronik F127 ve Pluronik F68 kullanılan F1-8 ve F146-182 kod aralığında bulunan formülasyonlarda görülen stabilite problemlerinin F191 ve F195'te gözlemlenmemiş olmasıdır.



Şekil 5-1: Çalışmada kullanılan kopolimerlerin ve sürfaktanların kimyasal yapıları a: TPGS, b: Pluronik F127, c: Pluronik F68

Geliştirilen formülasyonlarda işlem basamağı olarak süzmenin yer alıp almaması gerektiği yapılan kontrollü çalışmalar ile gösterilmiştir. süzme işleminin gerekliliği yapılan kontrollü çalışmalarla gösterilmiştir. PTFE 0,45 µm ile süzülen formülasyonlarda %100 tutarlı sonuçlar ile varyasyona rastlanılmazken, hiç süzülmeyen formülasyonlarda az da olsa varyasyon gözlemlenmiştir. Diğer taraftan kullanılan filtrenin misel yapısına ciddi bir şekilde etki ettiği de gösterilmiştir. PTFE filtreler ile aynı por açıklığına sahip RC 0,45 µm filtrelerden süzülen formülasyonlarda ciddi varyasyonlar tespit edilmiştir.

Önformülasyon çalışmalarında toplamda 208 adet formülasyon hem film oluşturma hem de Y/S emülsiyon yöntemi ile üretilerek, üretim yönteminin misel oluşumu üzerindeki etkisi incelenmiştir. Misel oluşumunun gerçekleştiği kopolimer / sürfaktan kombinasyonlarında her iki yöntemin uygulanabilir olduğu tespit edilmiştir. Misel oluşumunun gerçekleşmediği formülasyonlarda ise hangi üretim yöntemi kullanıldığından bağımsız olarak stabilite problemleri yaşandığı görülmüştür. Misel oluşumunun başarılı olduğu formülasyonlarda, üretim yönteminin partikül büyüklüğü

ve dağılımı, zeta potansiyel ve yükleme etkinliği üzerindeki etkisi bu tezin ilerleyen bölümlerinde incelenmiştir.

TPGS, Pluronik F127 ve Pluronik F68 kullanılarak hazırlanan misellerde PSC yüklenmesinin başarılı olduğu formülasyonların önstabilite çalışmaları, ileri çalışmaların yapılacağı formülasyonları seçmek için oldukça belirleyici olmuştur.

İleri çalışmaların yapılması için seçilen dört formülasyon F191, F195, F206 ve F207'de çözücü etkisi incelenmiştir. Kopolimer / sürfaktan çözücüsü olarak asetonitril, kloroform ve aseton ile de çalışmalar yapılmıştır. Normal şartlarda çözücünün misel oluşumu üzerinde etkisi olduğu bilinmektedir. Ancak bizim çalışmamızda anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Bu sebeple ileri çalışmalar için kullanılacak tüm formülasyonlar asetonitril kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ancak solvan cinsinin *in vitro* salım, *ex vivo* geçiş profillerini ve uzun dönem stabilite çalışmalarını etkileyebileceği yine de göz önünde bulundurulmalıdır.

5.3. Misel Formülasyonlarının Karakterizasyon Çalışmaları

5.3.1. Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Tayini

TPGS ve Pluronik F127 içeren F191 kodlu formülasyonlarda üretim yönteminin partikül büyüklüğü ve dağılımını etkilediği görülmüştür. Film oluşturma yöntemi ile üretilen misellerin tamamının partikül büyüklüğü 12-14 nm aralığında iken, Y/S emülsiyonu yöntemi ile üretilen formülasyonlarda bu değer 18-20 nm aralığında bulunmuştur. Diğer taraftan her bir üretim yöntemi kendi içerisinde değerlendirildiğinde boş, boş ve nihai formülasyon ajanlarını içeren, PSC yüklü, PSC yüklü ve nihai formülasyon ajanlarını içeren misellerin partikül büyüklüğü ve dağılımlarında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir.

TPGS ve Pluronik F68 içeren F195 kodlu formülasyonlarda üretim yönteminin partikül büyüklüğü ve dağılımını etkilemediği görülmüştür. Her iki yöntemde de boş, boş ve nihai formülasyon ajanlarını içeren, PSC yüklü, PSC yüklü ve nihai formülasyon ajanlarını içeren misellerin partikül büyüklüğü ve dağılımı arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Ölçülen partikül büyüklükleri 12-14 nm aralığındadır.

Tek başına TPGS içeren F206 ve F207 kodlu formülasyonlarda TPGS miktarının partikül büyüklüğü ve dağılımı üzerinde bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Ancak her iki formülasyonda da üretim yönteminin partikül büyüklüğü ve dağılımını

etkilediği görülmüştür. Film oluşturma yöntemi ile üretilen her iki formülasyonda da misellerin tamamının partikül büyüklüğü 11-12 nm aralığında iken, Y/S emülsiyonu yöntemi ile üretilen formülasyonlarda bu değer 10-11 nm aralığında bulunmuştur. Diğer taraftan her bir üretim yöntemi kendi içerisinde değerlendirildiğinde boş, boş ve nihai formülasyon ajanlarını içeren, PSC yüklü, PSC yüklü ve nihai formülasyon ajanlarını içeren misellerin partikül büyüklüğü ve dağılımlarında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir.

Her iki üretim yönteminde de üretilen misellerin partikül büyüklüğü dağılımları literatürlerle karşılaştırılmıştır. Grimaudo ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada (303), oküler alana yönelik Pluronic F127 ve TPGS ile üretilen siklosporin A misellerin partikül büyüklüğü dağılımı iki formülasyon için 30 – 60 nm, dört formülasyon için de 200-300 nm aralığında bulunmuştur. Bizim çalışmamızda bulduğumuz veriler bu literatürler uyumluluk göstermemektedir. Bu sebeple farklı literatür araştırmalarına gidilmiştir. Suksiriworapong ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada (313) itrakonazol içeren TPGS misellerinin partikül büyüklükleri 8-10 nm aralığında bulunmuştur. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar da bu literatür ile uyumludur.

Misellerin boyutu; üretim metodu, kullanılan filtre, polimer / sürfaktan – ilaç etkileşimlerinden etkilenmektedir. ITC, kimyasal yapı olarak PSC ile büyük benzerlikler göstermektedir. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda formülasyonlarımızı karşılaştıracığımız ana çalışma Suksiriworapong ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmadır (313).

5.3.2. Zeta Potansiyel Tayini

Belirlenen tüm formülasyonlarda zeta potansiyel tayini her iki üretim metodu ile elde edilen misellerin boş, boş ve nihai formülasyon ajanlarını içeren, PSC yüklü, PSC yüklü ve nihai formülasyon ajanlarını içeren versiyonları için çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar her bir formülasyonun kendi içerisinde değişkenliğe sahip olduğunu göstermiştir. Ancak bu değişkenliğin kullanılan kopolimer / sürfaktan çeşidine, üretim yöntemine, miselin boş ya da PSC yüklü olmasına ya da formülasyonun nihai formülasyon ajanları içerip içermemesine göre yorumlanabilesinin mümkün olmadığı görülmüştür. Çalışmamızda ölçtüğümüz zeta potansiyel değerleri nötrale yakın değerler olarak çıkmıştır. Bu durum formülasyonlarımızda kullanılan ana sürfaktan TPGS'den kaynaklandığını düşünmekteyiz. Elde ettiğimiz zeta potansiyel değerleri,

Suksiriworapong ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada ölçülen zeta potansiyel değerleri ile uyumludur (313).

5.3.3. AFM ile Misellerin Morfolojilerinin Tayini

F206 üzerinden yapılan AFM ile morfoloji tayininde geliştirilen formülasyonda misel oluşumu net olarak görülmüştür. Analizlerde misellerin boyutunun 30-45 nm aralığında olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç zetasizer cihazı ile yaptığımız partikül büyüklüğü ve dağılımı analizimiz ile paralellik göstermemiştir. Bu durumun analiz yapılırken formülasyonun seyreltilmeden kullanılması sebebiyle olduğu düşünülmüştür. Formülasyon içerisinde yer alan misellerin, görüntüleme sırasında üst üste bir yığın oluşturduğu ve bu yığın halinde 30-45 nm boyutlu ölçüm yapıldığı tahmin edilmiştir. AFM görüntüsünün yer aldığı Şekil 4-12'ye bakıldığında ortadaki büyük misellerin yan tarafında daha küçük boyutlu ancak boyut ölçümü yapılmamış başka bir misel yapısı olduğu görülmektedir.

5.3.4. Misellerdeki PSC Miktarının ve PSC Yükleme Etkinliğinin Tayini

Yapılan analizlerde kullanılan kopolimer cinsinin yükleme etkinliğini etkilediği görülmüştür. Pluronik F127 ile üretilen F191 kodlu formülasyondaki PSC yükleme etkinliği diğer formülasyonlara göre daha düşük bulunmuştur. Ayrıca üretim metodunun da bu formülasyondaki yükleme etkinliğini değiştirdiği ve Y/S emülsiyon yöntemi ile üretilen misellerin daha düşük yükleme etkinliğine sahip olduğu gösterilmiştir.

Pluronik F68 içeren F195 kodlu formülasyonun ve sadece 20 mg TPGS içeren F207 kodlu formülasyonların yükleme etkinlikleri birbirine son derece yakın bulunmuştur. Üretim metodunun etkisi incelendiğinde ise Y/S emülsiyon yönteminde F195'te daha düşük, F207'de ise daha yüksek yükleme etkinliği tespit edilmiştir. Ancak F207 formülasyonu kendi içerisinde değerlendirildiğinde her iki üretim metodu ile elde edilen yükleme etkinliği değerleri arasında anlamlı bir farklılık söz konusu değildir.

Tek başına 15 mg TPGS içeren F206 kodlu formülasyonların yükleme etkinliği diğer formülasyonlara göre daha yüksek bulunmuştur. Üretim metodunun da bu formülasyondaki yükleme etkinliğini değiştirdiği ve Y/S emülsiyon yöntemi ile üretilen misellerin daha düşük yükleme etkinliğine sahip olduğu gösterilmiştir.

Misel üretiminde kullanılan kopolimer / sürfaktanın tamamen moleküler düzeyde bulunmasının etkileşimi artırdığı ve daha iyi bağ yapabildiği bilinmektedir.

Yapılan tüm çalışmalarda üretim aşamasında her bir kopolimer, sürfaktan ve PSC çözeltisinin ayrı ayrı hazırlanmasının ve tamamen çözünmüş hallerinin karıştırılarak üretime devam edilmesinin yükleme etkinliğini ciddi boyutlarda etkilediği görülmüştür. Kullanılan maddelerin ayrı ayrı çözeltileri hazırlanmadan, tek bir beher içerine konularak çözündürülmesi ile üretilen misellerde yükleme etkinliğinin yarı yarıya düşebildiği, partikül büyüklüğü ve dağılımı analizlerinde ciddi varyasyonların oluşabildiği ve stabilite problemlerinin yaşanabildiği tespit edilmiştir.

Film oluşturma yöntemi ile yapılan üretimlerde tekli balon ağzı ya da çoklu balon ağzı kullanımının PSC yükleme etkinliğini ciddi anlamda etkilediği görülmüştür. Çoklu üretimlerde kullanılan balon hacminden, üretim miktarından ya da balonların su banyosu ile yaptıkları eğim açısından bağımsız olarak solvan kaçışları gözlemlenmiştir. Bu durumun formülasyonların kopolimer / sürfaktan dengesini bozabildiği gibi PSC içeriklerini de etkilediği tespit edilmiştir. “4.3.5. Misellerdeki PSC Miktarının ve PSC Yükleme Etkinliğinin Tayini” bölümünde verilen film oluşturma yöntemine ait tüm yükleme etkinliği verileri tekli balon ucu ile, her formülasyonun teker teker üretilmesi ile elde edilmiş sonuçlardır.

5.3.5. Stabilite

5.3.5.1. Fiziksel Özellikler

Stabilite kabinlerine kaldırılan misellerin 7., 14., 30., 45., 60., 90., 120., 150. ve 180. günde fiziksel görünümünde herhangi bir değişiklik tespit edilmemiştir. Formülasyonların berrak görüntüsünü koruduğu, herhangi bir çökmenin ya da bulanıklığın olmadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca viskozitelerinde de gözle görülür bir değişiklik söz konusu olmamıştır. Tüm bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda sıcaklık ve bağıl nem değişkenlerinin, takip süresi içerisinde üretilen misellerin fiziksel özellikleri üzerinde bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır.

5.3.5.2. Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Tayini

Stabilite kabinlerine kaldırılan misellerin 7., 14., 30., 45., 60., 90., 120., 150. ve 180. günde partikül büyüklüğü ve dağılımları incelenmiştir. Yapılan incelemelerde partikül büyüklüklerinin zaman içerisinde arttığı tespit edilmiştir. Ancak bu artış sadece bir kaç nm ölçekli olup 180. gün sonunda her bir formülasyonun partikül büyüklüğü açısından hala oküler uygulamaya uygun olduğu sonucuna varılmıştır. 25 ± 2 °C - % 60

± 5 bağıl nem ve 40 ± 2 °C - % 75 ± 5 bağıl nem özelliklerine sahip stabilite kabinlerindeki numunelerin partikül büyüklüğü ve dağılımları arasında anlamlı bir farklılık söz konusu değildir. Elde edilen tüm sonuçlar değerlendirildiğinde misellerin partikül büyüklüğü ve dağılımının sıcaklık ya da bağıl nemden direk olarak etkilenmediği görülmüştür. Zamanın, partikül büyüklüğü ve dağılımı üzerindeki asıl etkileyici unsur olduğu tespit edilmiştir.

5.3.5.3. Zeta Potansiyel Tayini

Stabilite kabinlerine kaldırılan misellerin 7., 14., 30., 45., 60., 90., 120., 150. ve 180. günde zeta potansiyelleri incelenmiştir. Yapılan incelemelerde zeta potansiyellerde değişiklik olduğu tespit edilmiştir. Ancak gözlemlenen bu değişiklik formülasyonlar arası, üretim metodları arası ya da formülasyonun içeriğine bağlı olarak yorumlanabilir anlamlı istatistiksel verilere sahip değildir. 25 ± 2 °C - % 60 ± 5 bağıl nem ve 40 ± 2 °C - % 75 ± 5 bağıl nem özelliklerine sahip stabilite kabinlerindeki numunelerin zeta potansiyelleri karşılaştırıldığında 40 ± 2 °C - % 75 ± 5 bağıl nem koşullarında zeta potansiyellerin biraz daha hızlı değişkenlik gösterdiği görülmüştür. Sıcaklık ve bağıl nemin, partikül büyüklüğü ve dağılımı üzerindeki asıl etkileyici unsur olduğu tespit edilmiştir.

5.3.5.4. Miktar Tayini

Stabilite çalışmaları kapsamında yapılan tüm analizler içerisinde sorunlarla karşılaşılan tek çalışma miktar tayini analizleri olmuştur. Her iki stabilite kabinine de tüm formülasyonlar örneklerinden numaralandırılarak dörder adet numune kaldırılmıştır. Analizlerin tamamı her bir formülasyonun dörder numunesine de yapılmıştır. Fiziksel özellikler, partikül büyüklüğü ve dağılımı, zeta potansiyel açısından her formülasyonun dört numunesinin sonuçları da paralellik göstermektedir. Ancak miktar tayini için aynı paralellüğün olmadığı tespit edilmiştir. Bazı numunelerin PSC miktarında zaman içerisinde çok hızlı düşme gözlemlenmiştir.

Gözlemlenen varyasyonların numune ambalajından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Primer ambalaj, bir ilacın stabilitesini etkileyen en önemli parametredir (314). Göz damlalarında polivinil ambalajlar primer ambalaj olarak kullanılabilir. Çalışmamızda bu sebeple polivinil yapılı, damlalıklı 4 ml hacimli primer ambalajlar tercih edilmiştir. İlerleyen analizlerde elde ettiğimiz sonuçları göz

önünde bulundurduğumuzda, tercih ettiğimiz primer ambalajın beklenen kalite standartlarına sahip olmadığı sonucuna varmış bulunmaktayız.

F191 kodlu formülasyonların 25 ± 2 °C - % 60 ± 5 bağıl nem koşullarındaki miktar tayin sonuçları incelendiğinde hem film oluşturma hem de Y/S emülsiyon yöntemi ile üretilen misellerin 90. günün sonuna kadar içeriklerindeki PSC miktarının % 90'ını korumayı başardığı tespit edilmiştir. Her iki formülasyonunda nihai formülasyon ajanlarını içeren numnelerinin ise 60. günün sonuna kadar içeriklerindeki PSC miktarının % 90'ını korumayı başardığı görülmüştür. Film oluşturma yöntemi ile üretilen ve nihai yardımcı maddeleri de içeren F191F kodlu formülasyonun 90. gün miktar tayin analizinde PSC içeriğinin % 89,70 oranında olduğu ve 90 günlük raf ömrü kriterine çok yakın bir değerde kaldığı tespit edilmiştir. Sadece bu verilere bakıldığında antimikrobiyal koruyucuların ve pH tampon ajanlarının stabiliteyi etkileyebildiği görülmüştür.

F191 kodlu formülasyonların 40 ± 2 °C - % 75 ± 5 bağıl nem koşullarındaki miktar tayin sonuçları incelendiğinde ise F191 kodlu formülasyonun 90. günün sonuna kadar, F191F Y/S kodlu formülasyonun 60. gün sonuna kadar, F191F ve F191 Y/S kodlu formülasyonların ise 45. gün sonuna kadar içeriklerindeki PSC miktarının % 90'ını korumayı başardığı tespit edilmiştir.

F195 kodlu formülasyonların 25 ± 2 °C - % 60 ± 5 bağıl nem koşullarındaki miktar tayin sonuçları incelendiğinde hem film oluşturma hem de Y/S emülsiyon yöntemi ile üretilen misellerin 60. günün sonuna kadar içeriklerindeki PSC miktarının % 90'ını korumayı başardığı tespit edilmiştir. Her iki formülasyonunda nihai formülasyon ajanlarını içeren numnelerinin ise 45. günün sonuna kadar içeriklerindeki PSC miktarının % 90'ını korumayı başardığı görülmüştür. Söz konusu koşullarda ve süre içerisinde antimikrobiyal koruyucuların ve pH tampon ajanlarının stabiliteyi etkileyebildiği görülmüştür.

F195 kodlu formülasyonların 40 ± 2 °C - % 75 ± 5 bağıl nem koşullarındaki miktar tayin sonuçları incelendiğinde ise hem film oluşturma hem de Y/S emülsiyon yöntemi ile üretilen misellerin 14. günün sonuna kadar, F191F ve F191F Y/S kodlu formülasyonların ise 30. gün sonuna kadar içeriklerindeki PSC miktarının % 90'ını korumayı başardığı tespit edilmiştir. Sadece bu veriler incelendiğinde antimikrobiyal koruyucuların ve pH tampon ajanlarının stabilite üzerinde etkili olduğu görülmüştür.

F206 kodlu formülasyonların 25 ± 2 °C - % 60 ± 5 bağıl nem koşullarındaki miktar tayin sonuçları incelendiğinde F206 kodlu formülasyonun 120. günün sonuna kadar, diğer formülasyonların ise 45. günün sonuna kadar içeriklerindeki PSC miktarının % 90'ını korumayı başardığı tespit edilmiştir. 300. gün sonundaki PSC % içerikleri incelendiğinde ise raf ömrü olarak kabul edilen % 90'lık içerik ile paralel sonuçlar elde edilmiştir.

F206 kodlu formülasyonların 40 ± 2 °C - % 75 ± 5 bağıl nem koşullarındaki miktar tayin sonuçları incelendiğinde ise F206 kodlu formülasyonun 45. günün sonuna kadar, F206F Y/S kodlu formülasyonun 30. günün sonuna kadar, F206F ve F206 Y/S kodlu formülasyonların ise 14. gün sonuna kadar içeriklerindeki PSC miktarının % 90'ını korumayı başardığı tespit edilmiştir. Sadece bu veriler incelendiğinde antimikrobiyal koruyucuların ve pH tampon ajanlarının ya da üretim metodunun stabilite üzerinde etkisi olup olmadığı tespit edilememiştir.

F207 kodlu formülasyonların 25 ± 2 °C - % 60 ± 5 bağıl nem koşullarındaki miktar tayin sonuçları incelendiğinde tüm formülasyonların 30. günün sonuna kadar içeriklerindeki PSC miktarının % 90'ını korumayı başardığı tespit edilmiştir.

F207 kodlu formülasyonların 40 ± 2 °C - % 75 ± 5 bağıl nem koşullarındaki miktar tayin sonuçları incelendiğinde ise F207 Y/S kodlu formülasyonun 14. günün sonuna kadar, diğer formülasyonların ise 45. günün sonuna kadar içeriklerindeki PSC miktarının % 90'ını korumayı başardığı tespit edilmiştir.

Yukarıda tek tek açıklandığı üzere elde edilen sonuçlara göre, tüm formülasyonların stabiliteleri üzerinde üretim metodunun, antimikrobiyal koruyucuların veya pH tampon ajanlarının etkisi istatistiksel olarak anlamlı değildir. PSC'nin oküler hedeflendirilmesine yönelik yapılacak ileri çalışmalarda stabilite çalışmalarının cam flakonlar kullanılarak daha detaylı yapılmasına karar verilmiştir. Üretilen miseller stabilite kabinine iki ayrı grup olarak kaldırılacaktır. Birinci grupta tüm formülasyonların hidrate edilmiş halleri cam flakonlar içerisinde yer alacaktır. İkinci grupta ise tüm formülasyonlar cam flakonlara konularak liyofilize edilecek ve daha sonra stabilite kabinine kaldırılacaktır. Liyofilizasyon yöntemi olarak Yu ve arkadaşlarının oküler miseller üzerinde kullanıldığı yöntem uygulanacaktır (308).

5.3.5.5. pH Ölçüleri

Stabilite kabinlerine kaldırılan misellerin 7., 14., 30., 45., 60., 90., 120., 150. ve 180. günde pH değerleri ölçülmüştür. 25 ± 2 °C - % 60 ± 5 bağıl nem ve 40 ± 2 °C - % 75 ± 5 bağıl nem özelliklerine sahip stabilite kabinlerindeki formülasyonların başlangıç ve 180. günün sonundaki pH değerleri arasında anlamlı bir farklılık olduğu bulunmuştur. Bir ilacın oküler iritasyona ve korozyona neden olmaması için sahip olması gereken pH aralıkları sırasıyla 4,3-8,4 ve 2-11,5'tir (315). Tüm formülasyonların her iki stabilite kabininde bekleyen numunelerinin de 180. gün sonunda nonkoroziv pH'ya sahip olduğu görülmüştür. İritasyon parametresi incelendiğinde ise değişiklikler olduğu tespit edilmiştir. pH tampon ajanı içeren formülasyonların 25 ± 2 °C - % 60 ± 5 bağıl nem koşullarında 180. gün sonunda iritasyona neden olmayacak pH değerine sahip olduğu bulunmuştur. Ancak 40 ± 2 °C - % 75 ± 5 bağıl nem kabininde bekleyen formülasyonların pH'ları iritasyon yönü ile oküler uygulamaya uygun bulunmamıştır.

5.4. *In vitro* Salım Çalışmaları

Salım çalışmaları sadece film oluşturma yöntemi ile üretilmiş, antimikrobiyal koruyucu ve pH tampon ajanı içeren nihai formülasyon üzerinde çalışılmıştır. PSC'nin seyreltilmiş süspansiyonu (Noxafil® 40 mg/ml oral süspansiyonu 250 µg / ml oranına seyreltildi), F191F, F195F, F206F ve F207F kodlu formülasyonlar için selüloz asetat membran insan göz dokusu gibi düşünülerek Franz difüzyon hücrelerinde salım çalışması yapılmıştır. Kullanılan membranın por açıklığı 0,45 µm'dir. Çalışmamızda selüloz asetat membranın kullanılmasına yapılan bir dizi salım çalışması sonrasında karar verilmiştir. Bu çalışmalarda selüloz asetat membran dışında hidrofilik PVDF 0.45 µm, asetat nitril 0,45 µm membranları da kullanılmıştır. Ayrıca diyaliz tubing sistemi ile de salım çalışması yapılmıştır. Elde edilen tüm sonuçlar değerlendirildiğinde selüloz asetat membranı ile Franz difüzyon hücrelerinde yapılan salım çalışmasının en iyi sonuçları verdiği görülmüştür.

Her bir formülasyona ait salım profilleri incelendiğinde (Tablo 4-21) tüm formülasyonların (F207F hariç) 7. saatin sonunda en yüksek salım miktarına ulaştığı, 8. saatten itibaren ortamda bulunan PSC miktarının azalmaya başladığı tespit edilmiştir. F206F'in $118,95 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ile en yüksek salım yapan formülasyon olduğu tespit edilmiştir. Aynı süre içerisinde F191F $34,37$ ve F195F $32,99 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ PSC salımı

yapmıştır. F207F ise 76,44 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ile 8. saatin sonunda en yüksek PSC salım seviyesine ulaşmış, daha sonra ortamdaki PSC miktarı azalmaya başlamıştır. Vaka çalışmalarında kullanıldığı için karşılaştırma çalışmalarında kontrol grubu olarak Noxafil® 40 mg/ml oral süspansiyonu 250 μg / ml oranına seyreltilerek kullanılmıştır. Seyreltilmiş PSC çözeltisinin formülasyonların salım profilinden farklı olarak ilk yarım saat içerisinde 1,69 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ile en yüksek salım profiline ulaştığı, bu değer zaman içerisinde giderek azaldığı ve 7. saat sonunda 1,42 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ salım oranına sahip olduğu görülmüştür. F191F ve F195F formülasyonlarının ilk yarım saatte salım yapmadığı görülmüş 1. saatten sonra salıma başladıkları tespit edilmiştir.

Varyasyon katsayısının (p)'nin 0,05'ten küçük olması ($p < 0,05$), istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen salım sonuçlarına "one-way ANOVA" testi uygulandığında formülasyonlar ve kontrol grubunun salımları arasında anlamlı olarak fark olduğu görülmüştür ($p < 0,0001$, $p < 0,05$) Ancak salım profilleri benzerlik gösteren F191F ve F195F formülasyonlarının salım profillerine "t test" uygulandığında salımları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p = 0,9481$, $p > 0,05$).

Salım modelinin belirlenmesi için Gouda ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmadaki (307) parametreler tek tek incelenmiştir. Ürettiğimiz misellerden elde edilen difüzyon salım profillerinin sıfıncı derece kinetik modele uygun olarak salım yaptığı gösterilmiştir. F191F'in 0,5-3. saat aralığında ($R^2 = 0,9303$), F195F'in 0,5-5. saat aralığında ($R^2 = 0,9729$), F206F ve F207F'in 0-3. saat aralığında (R^2 değerleri F206F: 0,9991 ve F207F: 0,9741) sıfıncı derece kinetiğe göre salım yaptığı tespit edilmiştir. TPGS, Pluronik F127 ve Pluronik F68 ile yapılmış önceki çalışmalara bakıldığında (300,305), bu misellerin de sıfıncı derece kinetik ile ilaç salımı yaptıkları görülmüştür. Çalışmamızda üretilen misellerin salım profili literatür bulguları ile uyumludur.

5.5. Sığır Kornea ve Sklera Dokularında *Ex Vivo* Geçiş Çalışmaları

Geçiş çalışmaları sadece film oluşturma yöntemi ile üretilmiş, antimikrobiyal koruyucu ve pH tampon ajanı içeren nihai formülasyon üzerinde çalışılmıştır. İzole edildikten sonra, Avrupa Göz Bankası Birliği standartlarına uygun bir şekilde muhafaza edilen (penisilin G - 50 ünite.mL⁻¹ ve streptomisin - 50 ünite.mL⁻¹ içeren % 0,9'luk izotonik sodyum klorür çözeltisinde +4°C'de) gözler çalışma yapılmadan bir gün önce

antibiyotiklerin uzaklaştırılması amacıyla % 0,9'luk izotonik sodyum klorür çözeltisi ile yıkanarak 24 saat boyunca % 0,9'luk izotonik sodyum klorür çözeltisinde +4°C'de muhafaza edilmiştir. Çalışma gününde gözlerden kornea ve sklera dokuları ayrılarak her iki doku için de *ex vivo* geçiş çalışması yapılmıştır.

Ex vivo geçiş çalışmalarında; PSC'nin seyreltilmiş süspansiyonu (Noxafil® 40 mg/ml oral süspansiyonu 250 µg / ml oranına seyreltildi), F191F, F195F, F206F ve F207F kodlu formülasyonlar kullanılmıştır. Reseptör ve donör faz hacmi 4 ml olan Valai Chain hücreler kullanılmıştır. Kullanılan hücrelerin reseptör faz için difüzyon küresi 12 mm ve donör faz için geçiş açıklığı 3 mm'dir. Reseptör faz olarak % 0,1 (a/h) SLS içeren yapay gözyaşı ortamı kullanılmıştır. Her bir formülasyon için geçiş çalışmaları kornea ve sklera dokuları üzerinden yapılmıştır.

Formülasyona ait geçiş profilleri kornea (Tablo 4-22) ve sklera (Tablo 4-23) dokuları için ayrı ayrı incelendiğinde (Tablo 4-21) tüm formülasyonların 24. saatin sonunda en yüksek geçiş miktarına ulaştığı, ancak bu saatten sonra bir değişiklik olmadığı gözlemlenmiştir.

Kornea geçiş çalışmalarında F206F'in 249,55 µg/cm² oranı ile en yüksek geçiş yapan formülasyon olduğu tespit edilmiştir. Aynı süre içerisinde F207F 116,18, F195F 22,10 ve F191F 16,78 µg/cm² PSC geçişi yapmıştır. Vaka çalışmalarında kullanıldığı için karşılaştırma çalışmalarında kontrol grubu olarak Noxafil® 40 mg/ml oral süspansiyonu 250 µg / ml oranına seyreltilerek kullanılmıştır. Seyreltilmiş PSC çözeltisinin 24. saatin sonundaki geçiş oranı 0,85 µg/cm² olarak bulunmuştur. F191F ve F195F formülasyonlarının ilk 2 saat boyunca korneadan PSC geçişi olmadığı görülmüştür. PSC süspansiyonun ise ilk 3 saat boyunca korneadan PSC geçişi olmamıştır.

Varyasyon katsayısının (p)'nin 0,05'ten küçük olması (p < 0,05), istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen salım sonuçlarına "one-way ANOVA" testi uygulandığında formülasyonlar ve kontrol grubunun PSC geçişleri arasında anlamlı olarak fark olduğu görülmüştür (p < 0,0001 , p < 0,05).

Sklera geçiş çalışmalarında F206F'in 267,79 µg/cm² oranı ile en yüksek geçiş yapan formülasyon olduğu tespit edilmiştir. Aynı süre içerisinde F207F 140,94, F195F 27,99 ve F191F 23,43 µg/cm² PSC geçişi yapmıştır. Vaka çalışmalarında kullanıldığı

için karşılaştırma çalışmalarında kontrol grubu olarak Noxafil® 40 mg/ml oral süspansiyonu 250 µg / ml oranına seyreltilerek kullanılmıştır. Seyreltilmiş PSC çözeltisinin 24. saatin sonundaki geçiş oranı 5,53 µg/cm² olarak bulunmuştur. F191F, F195F ve PSC süspansiyonun kornea geçişlerinin aksine sklera geçişlerinin ilk saatten itibaren gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Varyasyon katsayısının (p)'nin 0,05'ten küçük olması (p < 0,05), istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen salım sonuçlarına "one-way ANOVA testi" uygulandığında formülasyonlar ve kontrol grubunun PSC geçişleri arasında anlamlı olarak fark olduğu görülmüştür (p < 0,0001, p < 0,05).

Yapılan geçiş çalışmaları PSC süspansiyonu ve her bir formülasyonun kornea ve sklera geçişleri arasında "t testi" uygulanmıştır. Seyreltilerek kullanılan PSC süspansiyonunun kornea sklera geçişleri arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p< 0,0001, p< 0,05). Diğer formülasyonlar için korneal ve skleral geçiş arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Geçiş modelinin belirlenmesi için Gouda ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmadaki (310) parametreler tek tek incelenmiştir. Ürettiğimiz misellerden elde edilen geçiş çalışması profillerinin sıfıncı derece kinetik modele uygun olarak salım yaptığı gösterilmiştir. PSC süspansiyonunun geçiş profili de sıfıncı derece modele uygun geçiş gerçekleştirmektedir. Kornea geçişleri için PSC süspansiyonunun 3-8. saat aralığında (R² değeri: 0,9694), F191F ve F195'in 5-8. saat aralığında (R² değeri; F191F: 0,9597 ve F195F: 0,9917), F206F'in 0-6. saat aralığında (R² değeri: 0,9909) ve F207F'in 0-5. saat aralığında (R² değeri: 0,95628)sıfıncı derece kinetiğe göre geçiş yaptığı tespit edilmiştir. Daha önce Duan ve arkadaşlarının yaptığı kurkumin içeren TPGS ve Pluronik P123 misellerinin *ex vivo* kornea geçiş çalışmalarında da salım kinetiği sıfıncı dereceye uygun bulunmuştur (316). Sklera geçişleri için ise PSC süspansiyonunun 0-8. saat aralığında (R² değeri: 0,9835), F191F ve F195'in 0-6. saat aralığında (R² değeri; F191F: 0,9425 ve F195F: 0,9704), F206F'in 0-12. saat aralığında (R²: 0,9823) ve F207F'in 0-8. saat aralığında (R²: 0,9810) sıfıncı derece kinetiğe göre geçiş yaptığı tespit edilmiştir. Grimaudo ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada da CsA içeren Pluronik F127 ve TPGS misellerinin hem kornea hem de sklera dokularına

ex vivo geçişlerinin sıfırncı derece kinetiğe uygun olduğu bulunmuştur (303). Bizim alışmamızda bulunduğumuz sonuçlar da bu çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

Üretilen formülasyonların ve PSC süspansiyonunun sklara geçişinin daha yüksek olduğu görölmüştür. Bu durumun disperse ortamının su olmasından kaynaklandığı düşünölmektedir. Çünkü kornea hidrofilik ilaçlar için temel bir bariyer görevi görmektedir (33).

5.6. Sonuç

Bu tez alışmamızda PSC yüklü misel formülasyonu geliştirmeyi hedeflemiştik. Ürettiğimiz formülasyonlar üzerinde yaptığımız analizlerde misel oluşumunun olduğunu gözlemledik. Güncel literatür kayıtlarında PSC içeren misel formülasyonu bulunmamaktadır. Çalışmamız bu yönü ile yenilikçi bir yöne sahiptir.

Belirlediğimiz misel formülasyonları üzerinde yapılan *in vitro* salım ve *ex vivo* geçiş çalışmalarında kullandığımız polimer ve sürfaktanlarla daha önce yapılmış çalışmalara benzer sonuçlar elde ettik. Yaptığımız çalışmalarda formülasyonlarımızın oküler alana hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistem olduğu görölmektedir.

Elde ettiğimiz sonuçlar gözönünde bulundurulduğunda tezimiz, oküler tedaviye yönelik PSC yüklü misel formülasyonlarının bir ön çalışmasıdır. Formülasyonlarımızın nihai ürün haline getirilebilmesi için hücre kültürü çalışmaları ile sitotoksik olmadığının ve *in vivo* alışmalar ile de klinikte etkili olduğunun gösterilmesi yeni hedeflerimizdir.

KAYNAKLAR

1. DeCroos FC, Garg P, Reddy AK ve ark. Hyderabad Endophthalmitis Research Group. Optimizing Diagnosis and Management of Nocardia Keratitis, Scleritis, And Endophthalmitis: 11-Year Microbial And Clinical Overvie. *Ophthalmology* 2011; 118(6): 1193–200.
2. Rx Media Pharma 2019. Levent Üstünes, editör.
3. Beardsley RM, Suhler EB, Rosenbaum JT ve Lin P. Pharmacotherapy Of Scleritis: Current Paradigms and Future Directions. *Expert Opin Pharmacother* 2103; 14(4): 411–24.
4. Rupenthal ID ve Alany RG. Ocular Drug delivery İçinde Gad SC, editor *Ocular Drug Delivery- Pharmaceutical Manufacturing Handbook: Production And Processes*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc; 2008. pp. 729-68.
5. Gaudana R, Jwala J, Boddu SHS ve Mitra AK. Recent Perspectives in Ocular Drug Delivery. *Pharmaceutical Research* 2009; 26(5): 1197-21.
6. Wadhwa S, Paliwal R, Paliwal SR ve Vyas SP. Nanocarriers in Ocular Drug Delivery: An Update Review. *Curr Pharm Des* 2009; 15(23): 2724-50.
7. Cho HK, Cheong IW, Lee JM ve Kim JH. Polymeric Nanoparticles, Micelles And Polymersomes From Amphiphilic Block Copolymer, *Korean Journal of Chemical Engineering* 2010; 27(3): 731-40.
8. Pepić I, Hafner A, Lovrić J, Pirkić B ve Filipović-Grcić J. A Nonionic Surfactant/Chitosan Micelle System In An Innovative Eye Drop Formulation. *J Pharm Sci* 2010; 99(10): 4317-25.
9. Jaiswal M, Kumar M ve Pathak K. Zero Order Delivery Of Itraconazole Via Polymeric Micelles Incorporated In Situ Ocular Gel For The Management Of Fungal Keratitis. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2015; 130: 23-30.
10. Kels, BD, Grzybowski A ve Grant-Kels JM. Human Ocular Anatomy. *Clinics in Dermatology* 2015; 33: 140–6.
11. Junaidy P. Anatomy of the Eye. Erişim: 14.12.2018, <https://www.dreamstime.com/royalty-free-stock-images-anatomy-eye-image24992479>

12. Kansara V, Budda B ve Mitra AK. Advancements In Ocular Drug Delivery İçinde Mashkevich BO, editor *Drug delivery research advances*. New York; 2007. pp.1-37.
13. Toprak M ve Akın SM, editör. *Anatomi Ders Kitabı*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi; 1998.
14. Williams PL, Warwick R, Dyson M ve Bannister LH, editor. *Gray's Anatomy* (37. Baskı). New York: Churchill Livingstone; 1989.
15. April WE, editor. *Clinical Anatomy* (3. Baskı). Egypt: Williams&Wilkins, 1997.
16. Paker Ş, editör. *Histoloji*. Bursa: Uludağ Üniversitesi Basımevi; 1993.
17. Beuerman RW ve Pedroza L. Ultrastructure Of The Human Cornea. *Microscopy Research and Technique* 1996; 33: 320-35.
18. Fawcett DW, editör. *Bloom And Fawcett. A Textbook of Histology* (12. Baskı). New York: Chapman & Hall; 1994.
19. Ross MH ve Pawlina W, editör. *Histology A Text And Atlas. With Correlated Cell And Molecular Biology* (5. Baskı). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
20. Farjo A, McDermott M ve Soong, H. Corneal Anatomy, Physiology, And Wound Healing. İçinde Yanoff M ve Duker J, editör. *Ophthalmology*. Edinburgh: Elsevier Inc; 2009. pp. 203-208.
21. Hanna C, Bicknell DS ve OBrien JE. Cell Turnover In The Adult Human Eye. *Arch. Ophthalmol* 1961; 65: 695-98.
22. Vracko R ve Benditt E. Basal Lamina: The Scaffold For Orderly Cell Replacement. Observations On Regeneration Of Injured Skeletal Muscle Fibers And Capillaries. *J. Cell Biol* 1972; 55: 55406-19.
23. DelMonte DW ve Kim T. Anatomy And Physiology Of The Cornea. *J Cataract Refract Surg* 2011; 37(3): 588–98.
24. Meek KM ve Knupp C. Corneal Structure And Transparency. *Prog Retin Eye Res* 2015; 49: 1–16.
25. Joyce NC, Harris DL ve Mello DM. Mechanisms Of Mitotic Inhibition In Corneal Endothelium: Contact Inhibition And TGF-Beta2. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43(7): 2152–9.

26. Zavala J, Lopez Jaime GR, Rodriguez Barrientos CA ve Valdez Garcia J. Corneal Endothelium: Developmental Strategies For Regeneration. *Eye* 2013; 27: 579–88.
27. Addo E, Bamiro OA ve Siwale R. Anatomy of the Eye and Common Diseases Affecting the Eye. İçinde Addo RT, editör. *Ocular drug delivery: advances, challenges and applications*. Cham: Springer Nature; 2016. pp. 11-26.
28. Agarwal R, Iezhitsa I, Agarwal P, Nasir NAA, Razali N, Alyautdin R ve ark. Liposomes In Topical Ophthalmic Drug Delivery: An Update. *Drug Delivery* 2016; 23(4): 1075–91.
29. Watson PG ve Young RD. Scleral Structure, Organisation And Disease. A Review. *Exp. Eye Re* 2004; 78: 609-23.
30. Komai Y. ve Ushiki T. The Three-Dimensional Organisation Of Collagen Fibrils In The Human Cornea And Sclera. *Invest. Ophthalmol. Vis. Scin* 1991; 32: 2244–58.
31. Arıncı K. ve Elhan A, editör. *Anatomi* 2. Cilt, 3. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi; 2001.
32. Malkoç İ. Göz Küresinin Tabakaları: Anatomik ve Histolojik Bir Derleme, *The Eurasian Journal of Medicine* 2006; 38: 124-9.
33. Durairaj C. Ocular Pharmacokinetics İçinde Whitcup SM, S.M. ve Azar DT, editör. *Pharmacologic Therapy of Ocular Disease*. Switzerland: Springer International Publishing; 2016. pp. 32-55.
34. Urtti A. Challenges And Obstacles Of Ocular Pharmacokinetics And Drug Delivery. *Adv Drug Deliv Rev*, 2006; 58(11): 1131-5.
35. Winter KN, Anderson DM ve Braun RJ. A Model For Wetting And Evaporation Of A Post-Blink Precorneal Tear Film. *Math Med Biol : J IMA* 2010;27(3): 211–225.
36. Nettey H, Darko Y, Bamiro OA ve Addo RT. Ocular Barriers İçinde Addo RT, editor. *Ocular Drug Delivery: Advances, Challenges And Applications*. Cham: Springer Nature; 2016. pp. 27-36.
37. Mishima S, Gasset A, Klyce SD Jr, ve Baum JL. Determination Of Tear Volume And Tear Flow. *Investigative Ophthalmology* 1966; 5(3): 264-76.
38. Kuno N. ve Fujii S. Recent Advances In Ocular Drug Delivery Systems. *Polymers* 2011; 3: 193-221.

39. Dey S, Anand BS, Patel J ve Mitra AK. Transporters/Receptors In The Anterior Chamber: Pathways To Explore Ocular Drug Delivery Strategies, *Expert Opin. Biol. Ther* 2033; 3: 23-44.
40. Sunkara G ve Kompella UB. Membrane Transport Processes In The Eye İçinde Mitra AK, editör. *Ophthalmic Drug Delivery System*, 2. Baskı. New Jersey: Marcel Decker Inc; 2003. pp. 13-58
41. Olsen TW, Aaberg SY, Geroski D ve Fedelhauser HF. Human Sclera: Thickness And Surface Area. *American Journal of Ophthalmology* 1998; 125(2): 237-41.
42. Cruysberg L, Nuijts R, Geroski D, Koole L, Hendrikse F ve Edelhauser HF. In Vitro Human Scleral Permeability Of Fluorescein, Dexamethasone-Fluorescein, Methotrexate-Fluorescein And Rhodamine 6G And The Use Of A Coated Coil As A New Drug Delivery System. *Journal Of Ocular Pharmacology And Therapeutics* 2002; 18(6): 559-69.
43. Dunlevy JR ve Summers Rada JA. Interaction Of Lumican With Aggrecan In The Aging Human Sclera. *Ophthalmology & Visual Science*. 2004; 45(11): 3849-56.
44. Lee J. ve Pelis RM. Drug Transport By The Blood–Aqueous Humor Barrier Of The Eye. *Drug Metabolism and Disposition* 2016; 44(10): 1675-81.
45. Coca-Prados M. The Blood-Aqueous Barrier In Health And Disease. *J Glaucoma* 2014; 23(8): 36-8.
46. Chastain JE. General Considerations In Ocular Drug Delivery İçinde Mitra AK, editör. *Ophthalmic Drug Delivery System*. 2. Baskı. New Jersey: Marcel Decker Inc; 2003. pp. 59-107.
47. Schoenwald RD. Ocular Pharmacokinetics and Pharmacodynamics İçinde Mitra AK, editör. *Ophthalmic drug delivery system*. 2. Baskı. New Jersey: Marcel Decker Inc; 2003. pp. 135-80.
48. Bachu RD, Chowdhury P, Al-Saedi ZHF, Karla PK ve Boddu SHS. Ocular Drug Delivery Barriers—Role of Nanocarriers In The Treatment of Anterior Segment Ocular Diseases. *Pharmaceutics* 2018; 10(1).
49. Sahoo SK, Dilnawaz F ve Krishnakumar S. Nanotechnology In Ocular Drug Delivery. *Drug Discov Today* 2008; 13: 144–51.

50. Losa C, Marchal-Heussler L, Orallo F, Vila Jato JL ve Alonso MJ. Design Of New Formulations For Topical Ocular Administration: Polymeric Nanocapsules Containing Metipranolol. *Pharm. Res* 1993; 10: 80–7.
51. Losa C, Calvo P, Castro E, Vila-Jato JL ve Alonso MJ. Improvement Of Ocular Penetration Of Amikacin Sulphate By Association To Poly (Butylcyanoacrylate) Nanoparticles. *J. Pharm. Pharmacol* 1991; 43: 548–52.
52. Boddu SH. Polymeric Nanoparticles for Ophthalmic Drug Delivery: An Update On Research and Patenting Activity. *Recent Pat. Nanomed* 2012; 2: 96–112.
53. Jadhav KR, Shaikh IM, Ambade KW ve Kadam VJ. Applications Of Microemulsion Based Drug Delivery System. *Curr Drug Deliv* 2006; 3: 267-73.
54. Pignatello R, Bucolo C, Spedalieri G, Maltese A ve Puglisi G. Flurbiprofen-Loaded Acrylate Polymer Nanosuspensions For Ophthalmic Application. *Biomaterials* 2002; 23: 3247–55.
55. Bangham AD ve Horne RW. Negative Staining Of Phospholipids And Their Structural Modification By Surface-Active Agents As Observed In The Electron Microscope. *Journal of molecular biology* 1964; 8: 660-8.
56. Mainardes RM ve Silva LP. Drug Delivery Systems: Past, Present, And Future. *Curr. Drug Targets* 2004; 5(5): 449 – 55.
57. Cholkar K, Vadlapudi AD, Dasari SR ve Mitra AK. Ocular Drug Delivery İçinde Mitra AK, Vadlapudi A ve Kwatra D editör. *Drug Delivery*. Burlington: Jones & Bartlett Learning; 2014. pp. 219-263.
58. Le Boursais C, Acar L, Zia H, Sado PA, Needham T ve Leverage R. Ophthalmic Drug Delivery Systems-Recent Advances. *Prog. Ret. Eye Res* 1998; 17(1): 33 – 58.
59. Mahmoud SS, Gehman JD, Azzopardi K, Robins-Browne RM ve Separovic F. Liposomal Phospholipid Preparations Of Chloramphenicol For Ophthalmic Applications. *J Pharm Sci* 2008; 97: 2691-701.
60. Durrani AM, Davies NM, Thomas M ve Kellaway IW. Pilocarpine Bioavailability From A Mucoadhesive Liposomal Ophthalmic Drug Delivery System. *Int J Pharm* 1992; 88: 409-15.
61. Wiechens B, Neumann D, Grammer JB, Pleyer U, Hedderich J ve Duncker GI. Retinal Toxicity Of Liposome-Incorporated And Free Ofloxacin After Intravitreal Injection In Rabbit Eyes. *Int Ophthalmol* 1998-1999; 22: 133-43.

62. Shen Y ve Tu J. Preparation And Ocular Pharmacokinetics Of Ganciclovir Liposomes. *AAPS J* 2007; 9: E371-7.
63. Kaur IP, Garg A, Singla AK ve Aggarwal D. Vesicular Systems In Ocular Drug Delivery: An Overview. *Int. J. Pharm* 2004; 269: 1–14.
64. Sun KX, Wang AP, Huang LJ, Liang RC ve Liu K. Preparation Of Diclofenac Sodium Liposomes And Its Ocular Pharmacokinetics. *Yao Xue Xue Bao* 2006; 41: 1094-8.
65. Üstündağ Okur N ve Gökçe EH. Lipid Nanoparticles for Ocular Drug Delivery. *Int J Ophthalmic Res* 2015; 1(3): 77-82.
66. Gökçe EH, Sandri G, Eğrilmez S, Bonferoni MC, Güneri T ve Caramella C. Cyclosporine A-Loaded Solid Lipid Nanoparticles: Ocular Tolerance And In Vivo Drug Release In Rabbit Eyes. *Curr Eye Res* 2009; 34(11): 996-1003.
67. Gokce EH, Sandri G, Bonferoni MC, Rossi S, Ferrari F, Güneri T ve Caramella C. Cyclosporine A Loaded Slns: Evaluation Of Cellular Uptake And Corneal Cytotoxicity. *Int J Pharm* 2008; 364(1): 76-86.
68. Saettone MF, Perini G, Carafa M, Santucci E ve Alhaique, F. Non-ionic Surfactant Vesicles As Ophthalmic Carriers For Cyclopentolate. A Preliminary Evaluation. *S.T.P. Pharma. Sci.* 1996; 6: 94–8.
69. Vyas SP, Mysore N, Jaitely V ve Venkatesan N. Discoidal Niosome Based Controlled Ocular Delivery Of Timolol Maleate. *Pharmazie* 1998; 53: 466-9.
70. Guinedi AS, Mortada ND, Mansour S ve Hathout RM. Preparation And Evaluation Of Reverse-Phase Evaporation And Multilamellar Niosomes As Ophthalmic Carriers Of Acetazolamide. *Int J Pharm* 2005; 306: 71-82.
71. Abdelbary G ve El-Gendy N. Niosome-Encapsulated Gentamicin For Ophthalmic Controlled Delivery. *AAPS Pharm Sci Tech* 2008; 9: 740-7.
72. Bennett L. Topical Versus Systemic Ocular Drug Delivery İçinde Addo, R.T. (Ed). *Ocular Drug Delivery: Advances, Challenges And Applications*. Cham: Springer Nature; 2016. pp. 53-74.
73. Marano RJ, Toth I, Wimmer N, Brankov M ve Rakoczy PE. Dendrimer Delivery Of An Anti-VEGF Oligonucleotide Into The Eye: A Long-Term Study Into Inhibition Of Laser-Induced CNV, Distribution, Uptake And Toxicity. *Gene. Therapy* 2005; 12: 1544–50.

74. Duanand X ve Sheardown H. Dendrimer Crosslinked Collagen As A Corneal Tissue Engineering Scaffold: Mechanical Properties And Corneal Epithelial Cell Interactions. *Biomaterials* 2006; 27: 4608–17.
75. Shaunak S, Thomas S, Gianasi E, Godwin A, Jones E, Teo I ve ark. Polyvalent Dendrimer Glucosamine Conjugates Prevent Scar Tissue Formation. *Nat Biotechnol* 2004; 22: 977–84.
76. Vandammeand TF ve Brobeck L. Poly(Amidoamine) Dendrimers As Ophthalmic Vehicles For Ocular Delivery Of Pilocarpine Nitrate And Tropicamide. *J. Control Release* 2005; 102: 23–38.
77. Lancina MG, Wang J, Williamson GS ve Yang H. Dentimol As A Dendrimeric Timolol Analogue For Glaucoma Therapy: Synthesis And Preliminary Efficacy And Safety Assessment. *Mol Pharm* 2018; 15(7): 2883-9.
78. Gan L, Han S, Shen J, Zhu J, Zhu C, Zhang X ve ark. Self-Assembled Liquid Crystalline Nanoparticles As A Novel Ophthalmic Delivery System For Dexamethasone: Improving Preocular Retention And Ocular Bioavailability. *Int. J. Pharm* 2010; 396: 179–87.
79. Dubald M, Bourgeois S, Andrieu V ve Fessi H. Ophthalmic Drug Delivery Systems for Antibiotherapy - A Review. *Pharmaceutics* 2018; 10: E10.
80. Kirchhof S, Goepferich A.M ve Brandl FP. Hydrogels In Ophthalmic Applications. *Eur. J. Pharm. Biopharm* 2015; 95: 227–38.
81. Roy S, Pal K, Anis A, Pramanik K ve Prabhakar B. Polymers In Mucoadhesive Drug-Delivery Systems: A Brief Note. *Des. Monomers Polym* 2009; 12: 483–95.
82. Bora M, Mundargi RC, Chee Y, Wong TTL ve Venkatraman SS. 5-Flurouracil Microencapsulation And Impregnation In Hyaluronic Acid Hydrogel As Composite Drug Delivery System For Ocular Fibrosis. *Cogent Med.* 2016; 3: 1182108.
83. Lai JY, Ma DH, Cheng HY, Sun CC, Huang SJ, Li YT ve ark. Ocular Biocompatibility Of Carbodiimide Cross-Linked Hyaluronic Acid Hydrogels For Cell Sheet Delivery Carriers. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2010; 21: 359–76.
84. Widjaja LK, Bora M, Chan PN, Lipik V, Wong TT ve Venkatraman SS. Hyaluronic Acid-Based Nanocomposite Hydrogels For Ocular Drug Delivery Applications: Ha-Based Nanocomposite Hydrogels. *J. Biomed. Mater. Res. A* 2014; 102: 3056–65.

85. Rajoria G ve Gupta A. In situ Gelling System: A Novel Approach For Ocular Drug Delivery. *Am. J. PharmTech Res* 2012; 2: 25–53.
86. Zırh Gürsoy A. Oküler Sistemler İçinde *Kontrollü Salım Sistemleri* Zırh Gürsoy A, editör. *Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayınları* 2. Baskı. İstanbul, Türkiye, 2014. pp. 197-216.
87. Baranowski P, Karolewicz B, Gajda M ve Pluta J. Ophthalmic Drug Dosage Forms: Characterisation And Research Methods. *Sci. World J* 2014; 2014: 1–14.
88. Sing P ve Maibach HI. Iontophoresis İn Drug Delivery: Basic Principles And Applications. *Crit. Rev. Therp. Drug Carrier Systems* 1994; 11: 161–213.
89. Guy RH, Kalia YN, Delgado-Charro MB, Merino, Lopez A ve Marro D. Iontophoresis: Electorepulsion And Electroosmosis. *J. Control Release* 2000; 64: 129-32.
90. Turrell WJ. Therapeutic Ation Of The Constant Current. *Proc. R. Soc. Med* 1921; 14: 41–52.
91. Wirtz R. Die Ionentherapie In Der Augenheilkunde. *Klin. Monatsbl. Augenheilkd* 1908; 46: 543–79.
92. Myles ME, Loutsch JM, Higaki S ve Hill JM. Ocular Iontophoresis İçinde Mitra AK, editör. *Ophthalmic Drug Delivery System*. 2. Baskı. New Jersey: Marcel Decker Inc; 2003. pp. 365-408.
93. Lachaud JP. Considerations On The Use Of Corticosteroids By Ionization In Certain Ocular Diseases. *Bull. Soc. Ophthalmol* 1965; 65: 84–9.
94. Lam TT, Edward DP, Zhu XA ve Tso M. Transscleral Iontophoresis Of Dexamethasone. *Arch. Ophthalmol* 1989; 107: 1368–71.
95. Grossman RE, Chu DF ve Lee DA. Regional Ocular Gentamicin Levels After Transcorneal And Transscleral Iontophoresis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci* 1990; 31: 909–16.
96. Fishman PH, Jay WM, Hill JM, Rissing JP ve Shockley RK. Iontophoresis Of Gentamicin Into Aphakic Rabbit Eyes: Sustained Vitreal Levels. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci* 1984; 25: 343–45.
97. Hughes L ve Maurice D. A Fresh Look At Iontophoresis. *Arch. Ophthalmol* 1984; 102: 1825–29.

98. Frucht-Pery J, Solomon A, Doron R, Ever-Hadani P, Manor O ve Shapiro M. Efficacy Of Iontophoresis In The Rat Cornea. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol* 1996; 234: 765–9.
99. Barza M, Peckman C ve Baum J. Transscleral Iontophoresis Of Cefazolin, Ticarcillin, And Gentamicin In The Rabbit. *Ophthalmology* 1986; 93: 133–9.
100. Yoshida M, Yoshimura N, Hangai M, Tanihara H ve Honda Y. Interleukin-1 A, Interleukin-1 B, And Tumor Necrosis Factor Gene Expression In Endotoxin-Induced Uveitis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci* 1994; 35: 1107–13.
101. Vaishya RD, Khurana V, Patel S ve Mitra AK Controlled Ocular Drug Delivery With Nanomicelles. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol* 2014; 6: 422–37.
102. Mandal A, Bisht R, Rupenthal ID ve Mitra AK. Polymeric Micelles For Ocular Drug Delivery: From Structural Frameworks To Recent Preclinical Studies. *J Control Release* 2017; 28: 248: 96–116.
103. Trivedi R ve Kompella UB. Nanomicellar Formulations For Sustained Drug Delivery: Strategies And Underlying Principles. *Nanomedicine* 2010; 5: 485–505.
104. Torchilin VP. Structure And Design Of Polymeric Surfactant-Based Drug Delivery Systems. *J. Control. Release* 2001; 73: 137–72.
105. Cholkar K, Patel A, Vadlapudi AD ve Mitra AK. Novel Nanomicellar Formulation Approaches For Anterior And Posterior Segment Ocular Drug Delivery. *Recent Pat. Nanomed* 2012; 2: 82–95.
106. Kabanov AV, Batrakova EV ve Alakhov VY. Pluronic® Block Copolymers As Novel Polymer Therapeutics For Drug And Gene Delivery. *J. Control. Release* 2002; 82: 189–212.
107. Batrakova EV ve Kabanov AV. Pluronic Block Copolymers: Evolution Of Drug Delivery Concept From Inert Nanocarriers To Biological Response Modifiers. *J. Control. Release* 2008; 130: 98–106.
108. Kwon GS ve Kataoka K. Block Copolymer Micelles As Long-Circulating Drug Vehicles. *Adv. Drug Deliv. Rev* 1995; 16: 295–309.
109. Jones MC, Leroux, J.C. Polymeric Micelles-A New Generation Of Colloidal Drug Carriers. *Eur. J. Pharm. Biopharm* 1999; 48: 101–11.

110. Di Tommaso C, Torriglia A, Furrer P, Behar-Cohen F, Gurny R ve Möller M. Ocular Biocompatibility Of Novel Cyclosporin A Formulations Based On Methoxy Poly (Ethylene Glycol)-Hexylsubstituted Poly (Lactide) Micelle Carriers. *Int. J. Pharm* 2011; 416: 515–24.
111. Pepi'c I, Jalšenjak N ve Jalšenjak I. Micellar Solutions Of Triblock Copolymer Surfactants With Pilocarpine. *Int. J. Pharm* 2004; 272: 57–64.
112. Ribeiro A, Sosnik A, Chiappetta DA, Veiga F, Concheiro A ve Alvarez-Lorenzo C. Single And Mixed Poloxamine Micelles As Nanocarriers For Solubilization And Sustained Release Of Ethoxzolamide For Topical Glaucoma Therapy. *J R Soc Interface* 2012; 9(74): 2059-69.
113. Li X, Zhang Z, Li J, Sun S, Weng Y ve Chen H. Diclofenac/Biodegradable Polymer Micelles For Ocular Applications. *Nanoscale* 2012; 4(15): 4667-73.
114. Sammalkorpi M, Karttunen M ve Haataja M. Ionic Surfactant Aggregates In Saline Solutions: Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) In The Presence Of Excess Sodium Chloride (NaCl) Or Calcium Chloride (CaCl₂). *J. Phys. Chem. B* 2009; 113: 5863–70.
115. Rosen MJ ve Kunjappu JT, editör. Surfactants And Interfacial Phenomena, 4. baskı. John Wiley & Sons: New York City, NY, USA, 2012.
116. Chevalier Y ve Zemb T. The Structure Of Micelles And Microemulsions. *Rep. Prog. Phys* 1990; 53, 279-371.
117. Chopra P, Hao J ve Li SK. Sustained Release Micellar Carrier Systems For Iontophoretic Transport Of Dexamethasone Across Human Sclera. *J Control Release* 2012; 160(1): 96-104.
118. Kataoka K, Harada A ve Nagasaki Y. Block Copolymer Micelles For Drug Delivery: Design, Characterization And Biological Significance. *Adv. Drug Deliv. Rev* 2001; 47: 113–31.
119. Castro E, Taboada P ve Mosquera V. Behavior Of A Styrene Oxide-Ethylene Oxide Diblock Copolymer/Surfactant System: A Thermodynamic And Spectroscopy Study. *J. Phys. Chem. B* 2005; 09: 5592–9.
120. Özsoy Y, Güngör S, Kahraman E ve Durgun ME. Polymeric Micelles: as a Novel Carrier for Ocular Drug Delivery İçinde Grumezescu AM, editor. Nanoarchitectonics in Biomedicine. Oxford: Elsevier; 2019. pp. 85-118.

121. Özsoy Y. Miseller İçinde *Nanofarmasötikler ve Uygulamaları İçinde* Zırh Gürsoy A, editör. Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayınları, İstanbul, Türkiye, 2014. pp. 111-24.
122. Kahraman E. Misel Oluşturan, Biyobozunur, Biyoyumlu, Katyonik Polimerler ile İlaçların Nazal Yol ile Uygulanması. İstanbul Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, Türkiye, 2011.
123. Pascolini D ve Mariotti SP. Global Estimates Of Visual Impairment: 2010. *Br J Ophthalmol* 2012; 96: 614-8.
124. 3. World Health Organization. *Causes Of Blindness And Visual Impairment*. Aralık, 2016. Erişim 25.02.2019 <http://www.who.int/blindness/causes/en>
125. Sharma A ve Taniguchi J. Review: Emerging Strategies For Antimicrobial Drug Delivery To The Ocular Surface: Implications For Infectious Keratitis. *Ocul Surf* 2017; 15: 670-9.
126. Graybill JR, Nevarez HL ve Dang D.(2002) Ocular And Systemic Posaconazole (SCH-56592) Treatment Of İnvasive Fusarium Solani Keratitis And Endophthalmitis. *Br J Ophthalmol* 2002; 86, 829–30.
127. Watson S, Cabrera-Aguas M ve Khoo P. Common Eye Infections. *Australian Prescriber* 2018; 41(3): 67-72.
128. Austin A, Lietman T ve Rose-Nussbaumer J. Update On The Management of Infectious Keratitis. *Ophthalmology* 2017; 124(11): 1678-89.
129. Janumala H, Sehgal PK ve Mandal AB. Bacterial Keratitis –Causes, Symptoms And Treatment İçinde Srinivasan M, editor. *Keratitis Scholars' Press* 2013. pp. 15-30.
130. Yalçın S. Korneal Hastalıklar. *Derman medical publishing* Erişim 16.02.2019 <http://www.jcam.com.tr/files/JCAM-3942.pdf>
131. Petrovic A, Hashemi K, Blaser F, Wild W ve Kymionis G Characteristics Of Linear Interstitial Keratitis by In Vivo Confocal Microscopy and Anterior Segment Optical Coherence Tomography. *Cornea* 2018; 37: 785-8.
132. Kellogg Eye Center Univrsity of Michigan Health System Exposure Keratopathy. Erişim: 15.12.2018 <http://www.aao.org/publications/eyenet/201404/upload/april-2014-ophthalmic-pearls.pdf>

133. Rajaii F ve Prescott C. Management of Exposure Keratopathy. *Eyenet* 2014; 37-8.
134. Vantieghem G ve Maudgal PC. Neuroparalytic Keratopathy As The First Sign Of A Cerebral Meningioma. *Bull. Soc. belge Ophtalmol* 2007; 303: 81-6.
135. Sacchetti M ve Lambiase A. Diagnosis And Management Of Neurotrophic Keratitis. *Clinical Ophthalmology* 2014; 8: 571–9.
136. Green M, Apel A ve Stapleton F. Risk Factors And Causative Organisms In Microbial Keratitis. *Cornea* 2008; 27: 22-7.
137. Efron N, Morgan PB, Hill EA, Raynor MK ve Tullo AB. The Size, Location And Clinical Severity Of Corneal Infiltrative Events Associated With Contact Lens Wear. *Optom Vis. Sci* 2005; 82: 519–27.
138. Efron N, Morgan PB, Hill EA, Raynor MK ve Tullo AB. Incidence And Morbidity Of Hospital-Presenting Corneal Infiltrative Events Associated With Contact Lens Wear. *Clin. Exp. Optom* 2005; 88: 232–9.
139. Efron N ve Morgan PB. Impact Of Differences In Diagnostic Criteria When Determining The Incidence Of Contact Lens Associated Keratitis. *Optom.Vis. Sci* 2006; 83: 152–9.
140. Morgan PB, Efron N, Brennan NA, Hill EA, Raynor MK ve Tullo AB. Risk Factors for the Development of Corneal Infiltrative Events Associated With Contact Lens Wear. *Invest Ophthalmol Vis. Sci* 2005; 46: 3136-43.
141. Morgan PB, Efron N, Brennan NA, Hill EA, Raynor MK ve Tullo AB. AB. Incidence Of Keratitis Of Varying Severity Among Contact Lens Wearers. *Br. J. Ophthalmol* 2005; 89: 430–436.
142. Pehlivan SB, Yavuz B, Çalamak S, Ulubayram K, Kaffashi A, Vural İ ve ark. Preparation And In Vitro/In Vivo Evaluation Of Cyclosporin A-Loaded Nanodecorated Ocular Implants For Subconjunctival Application. *J Pharm Sci* 2015; 104(5): 1709-20.
143. Pflugfelder SC. Antiinflammatory Therapy for Dry Eye. *Am J Ophthalmol* 2004; 137: 337–42.
144. Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, Kawasaki S, Hosoda Y, Hori S ve ark. Dissemination In Japanese Hospitals Of Strains Of Staphylococcus Aureus Heterogeneously Resistant To Vancomycin. *Lancet* 1997; 350: 1670–3.

145. Peterson DL. Vancomycin-Resistant Staphylococcus Aureus. *Infect. Med* 1999; 16: 235–8.
146. Farooq AV ve Shukla D. Herpes Simplex Epithelial And Stromal Keratitis: An Epidemiologic Update. *Surv Ophthalmol* 2012; 57: 448-62.
147. Guess S, Stone DU ve Chodosh J. Evidence-Based Treatment Of Herpes Simplex Virus Keratitis: A Systematic Review. *Ocul Surf* 2007; 5: 240-5.
148. Goldblum D, Bachmann C, Tappeiner C, Garweg J ve Frueh BE. Comparison Of Oral Antiviral Therapy With Valacyclovir Or Acyclovir After Penetrating Keratoplasty For Herpetic Keratitis. *Br J Ophthalmol*. 2008; 92: 1201-205.
149. Dias C, Nashed Y, Atluri H ve Mitra A. Ocular Penetration Of Acyclovir And Its Peptide Prodrugs Valacyclovir And Valacyclovir Following Systemic Administration In Rabbits: An Evaluation Using Ocular Microdialysis And LC-MS. *Curr Eye Res* 2002; 25: 243-52.
150. Mahmoudi S, Masoomi A, Ahmadikia K, Tabatabaei SA, Soleimani M, Rezaie S ve ark. Fungal Keratitis: An Overview Of Clinical And Laboratory Aspects. *Mycoses* 2018; 61(12): 916-30.
151. Garg P. Fungal, Mycobacterial, And Nocardia Infections And The Eye: An Update. *Eye* 2012; 26: 245–51.
152. Thomas PA ve Kalliamurthy J. Mycotic Keratitis: Epidemiology, Diagnosis And Management. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19: 210–20.
153. Thomas PA. Current Perspectives on Ophthalmic Mycoses. *Clinical Microbiology Reviews* 2003; 16(4): 730–97.
154. Ng JK, Fraunfelder FW ve Winthrop KL. Review And Update On The Epidemiology, Clinical Presentation, Diagnosis, And Treatment Of Fungal Keratitis. *Curr Fungal Infect Rep* 2013; 7(4): 293-300.
155. Ong HS, Fung SS, Macleod D, Dart JK, Tuft SJ ve Burton MJ. Altered Patterns Of Fungal Keratitis At A London Ophthalmic Referral Hospital: An Eight-Year Retrospective Observational Study. *Am J Ophthalmol* 2016; 168: 227-36.
156. Nielsen SE, Nielsen E, Julian HO, Lindegaard J, Højgaard K, Ivarsen A ve ark. Incidence And Clinical Characteristics Of Fungal Keratitis In A Danish Population From 2000 To 2013. *Acta Ophthalmol* 2015; 93(1): 54-8.

157. Liesegang TJ ve Forster RK. Spectrum Of Microbial Keratitis In South Florida. *Am. J. Ophthalmol* 1980; 90: 38–47.
158. Xie L, Zhai H, Zhao J, Sun S, Shi W ve Dong X. Antifungal Susceptibility For Common Pathogens Of Fungal Keratitis In Shandong Province, China. *Am J Ophthalmol* 2008; 146(2): 260-5.
159. O'Day DM, Head WS, Robinson RD ve Clanton JA. Corneal Penetration Of Topical Amphotericin B And Natamycin. *Curr Eye Res* 1986; 5: 877-82.
160. Hariprasad SM, Mieler WF, Lin TK, Sponsel WE ve Graybill JR. Voriconazole In The Treatment Of Fungal Eye Infections: A Review Of Current Literature. *Br J Ophthalmol* 2008; 92: 871-8.
161. Thiel MA, Zinkernagel AS, Burhenne J, Kaufmann C ve Haefeli WE. Voriconazole Concentration In Human Aqueous Humor And Plasma During Topical Or Combined Topical And Systemic Administration For Fungal Keratitis. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(1): 239-44.
162. Sharma S, Das S, Viridi A, Fernandes M, Sahu SK, Kumar Koday N ve ark. Re-appraisal Of Topical 1% Voriconazole And 5% Natamycin In The Treatment Of Fungal Keratitis In A Randomised Trial. *Br J Ophthalmol* 2015; 99(9): 1190-5.
163. Prajna NV, Krishnan T, Mascarenhas J, Rajaraman R, Prajna L, Srinivasan M ve ark. The Mycotic Ulcer Treatment Trial: A Randomized Trial Comparing Natamycin Vs Voriconazole. *JAMA Ophthalmol* 2013; 131(4): 422-9.
164. Prajna NV, Mascarenhas J, Krishnan T, Reddy PR, Prajna L, Srinivasan M ve ark. Comparison Of Natamycin And Voriconazole For The Treatment Of Fungal Keratitis. *Arch Ophthalmol* 2010; 128(6): 672-8.
165. Kuriakose T, Kothari M, Paul P, Jacob P ve Thomas R. Intracameral Amphotericin B Injection In The Management Of Deep Keratomycosis. *Cornea* 2002; 21(7): 653-6.
166. Kaushik S, Ram J, Brar GS, Jain AK, Chakraborti A ve Gupta A. Intracameral Amphotericin B: Initial Experience In Severe Keratomycosis. *Cornea* 2001; 20(7): 715-9.
167. Sharma N, Sankaran P, Agarwal T, Arora T, Chawla B, Titiyal JS ve ark. Evaluation Of Intracameral Amphotericin B In The Management Of Fungal

- Keratitis: Randomized Controlled Trial. *Ocul Immunol Inflamm* 2016; 24(5): 493-7.
- 168.** Sharma N, Agarwal P, Sinha R, Titiyal JS, Velpandian T ve Vajpayee RB. Evaluation Of Intrastromal Voriconazole Injection In Recalcitrant Deep Fungal Keratitis: Case Series. *Br J Ophthalmol* 2011; 95(12): 1735-7.
- 169.** Prakash G, Sharma N, Goel M, Titiyal JS ve Vajpayee RB. Evaluation Of Intrastromal Injection Of Voriconazole As A Therapeutic Adjunctive For The Management Of Deep Recalcitrant Fungal Keratitis. *Am J Ophthalmol* 2008; 146(1): 56-9.
- 170.** Kalaiselvi G, Narayana S, Krishnan T ve Sengupta S. Intrastromal Voriconazole For Deep Recalcitrant Fungal Keratitis: A Case Series. *Br J Ophthalmol* 2015; 99(2): 195-8.
- 171.** Akın Polat Z, Özçelik S, Vural A ve Saygı G. Aksenik Kültürlerde Acanthamoeba Trofozoitleri Üzerindeki Gözlemler ve Bunların Farklı Boyalarla Boyanma Özellikleri. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2007; 31(1): 7-13.
- 172.** Bairagi SH. Acanthamoeba Keratitis: Diagnosis and Treatment. *Journal of Rare Disorders: Diagnosis&Therapy* 2017; 3(2): 1-2.
- 173.** Ertabaklar H, Dayanır V, Apaydın P, Ertuğ S ve Walochnik. Olgu Sunumu: Acanthamoeba Keratiti. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2009; 33(4): 283 – 5.
- 174.** Lorenzo-Morales J, Khan N.A. ve Walochnik J. An Update On Acanthamoeba Keratitis: Diagnosis, Pathogenesis And Treatment. *Parasite* 2015, 22, 10 1-20.
- 175.** Karaaslan F, Gürakan SA, Kalçın S ve Gemici Karaaslan B. Ender Görülen İnflamatuvar Bir Hastalık: Cogan Sendromu. *İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hast. Dergisi* 2016; 6(3): 223-6.
- 176.** D'Aguzzo V, Ralli M, de Vincentiis M ve Greco A. Optimal Management Of Cogan's Syndrome: A Multidisciplinary Approach. *J Multidiscip Healthc* 2017; 22; 1-11.
- 177.** Gökmen O ve Akça Bayar S. Endoftalmi Kliniği ve Tedavisi. *Ret-Vit* 2014; 22: 242-7.
- 178.** Turgut-Çoban D, Erol MK ve Çoban AY. Türkiye'deki Endoftalmi Etkenlerine Genel Bakış. *Klinik Dergisi* 2013; 26(2): 44-8.
- 179.** Barry P, Cordovés L ve Gardner S, editör. Katarakt Cerrahisi Sonrası Endoftalminin Önlenmesi ve Tedavisi için ESCRS Rehberleri Veriler,

Tartışmalı Konular ve Sonuçlar. Avrupa Katarakt ve Refraktif Cerrahi Derneği, Temple House, Temple Road, Blackrock, Co Dublin, Erişim 19.05.2019 <http://www.todnet.org/TODdata/File/endophthalmitis-guidelines-turkish-son-versiyon-2015-u015fubat.pdf>

180. Kocatürk T, Bekmez S, Çakmak H ve Dayanır V. Trabekülektomi Komplikasyonları. *Meandros Medical Journal* 2015; 16: 114-23.
181. Artunay O, Yüzbaşıoğlu E, Rasier R, Şengül A ve Bahçecioğlu H. Incidence And Management Of Acute Endophthalmitis After Intravitreal Bevacizumab (Avastin) Injection. *Eye (Lond)* 2009; 23(12): 2187-93.
182. Durand ML. Endophthalmitis. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19: 227-34.
183. Yenerel NM, Dinç UA ve Görgün E. A Case Of Sterile Endophthalmitis After Repeated Intravitreal Bevacizumab Injection. *J Ocul Pharmacol Ther* 2008; 24(3): 362-3.
184. Hazırolan D, Ünlü N, Acar MA Üney GÖ, Sungur G ve Duman S. İntravitreal Bevacizumab Sonrası Gelişen Ağır Bir Steril Endoftalmi Olgusu. *Retina-Vitreus* 2010; 18(4): 330-2.
185. Sönmez K ve Öztürk F. Complications Of Intravitreal Triamcinolone Acetonide For Macular Edema And Predictive Factors For İntraocular Pressure Elevation. *Int J Ophthalmol* 2012; 5(6): 719-25.
186. Sharma SM ve Jackson D. Uveitis In The Spondyloarthopathies Best Practice&Research. *Clinical Rheumatology* 2017; 31: 846-62.
187. Krishna U, Ajanaku D, Denniston AK ve Gkika T. Uveitis: A Sight-Threatening Disease Which Can Impact All Systems. *Postgrad Med J* 2017; 93: 766-73.
188. Guly CM ve Forrester JV. Investigation And Management Of Uveitis. *BMJ* 2010; 13: 341.
189. Durrani OM, Meads CA ve Murray PI. Uveitis: A Potentially Blinding Disease. *Ophthalmologica* 2004; 218: 223-36.
190. Gritz DC ve Wong IG. Incidence And Prevalence Of Uveitis In Northern California; The Northern California Epidemiology Of Uveitis Study. *Ophthalmology* 2004; 111: 491-500.
191. Hwang DK, Chou YJ, Pu CY ve Chou P. Epidemiology Of Uveitis Among The Chinese Population In Taiwan. *Ophthalmology* 2012; 119: 2371-6.

192. Foster CS, Kothari S, Anesi SD, Vitale AT, Chu D, Metzinger JL ve ark. The Ocular Immunology And Uveitis Foundation Preferred Practice Patterns Of Uveitis Management. *Surv Ophthalmol* 2016; 61: 1–17.
193. Deschenes J, Murray PI, Rao NA ve Nussenblatt RB; International Uveitis Study Group. International Uveitis Study Group (IUSG): Clinical Classification Of Uveitis. *Ocul Immunol Inflamm* 2008; 16: 1–2.
194. Moothy RS, Read RW, Birnbaum AD, Levy-Clarke GA, Rao PK ve Thorne JA. Uveitis Practising Ophthalmologist Curriculum 2014-2016 American Academy Of Ophthalmology, 2014. Erişim 06.04.2019 <https://www.aao.org/assets/8f1bff17-b02c-4750-b05c.../uveitis-2014-pdf>
195. London NJ, Rathinam SR ve Cunningham ET. The Epidemiology Of Uveitis In Developing Countries. *Int Ophthalmol Clin* 2010; 50: 1–17.
196. Miserocchi E, Fogliato G, Modorati G ve Bandello F. Review On The Worldwide Epidemiology Of Uveitis. *Eur J Ophthalmol* 2013; 23: 705–17.
197. Sallam AB, Kirkland KA, Barry R, Soliman MK, Ali TK ve Lightman S. A Review of Antimicrobial Therapy for Infectious Uveitis Of The Posterior Segment. *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol* 2018; 7(4), 140-54.
198. Kulaçoğlu DN, Gürelik G, Özdek Ş, Aydın B ve Hasanreisioğlu B. Oküler Tutulumlu Behçet Hastalığında Klinik Bulgular. *Ret - Vit* 2003; 11: 19-29.
199. Jain V, Garg P ve Sharma S. Microbial Scleritis-Experience From A Developing Country. *Eye (Lond)* 2009; 23(2): 255–61.
200. Watson PG ve Hayreh SS. Scleritis And Episcleritis. *Br. J. Ophthalmol* 1976; 60: 163-91.
201. Okhravi N, Odufuwa B, McCluskey P ve Lightman S. Scleritis. *Surv. Ophthalmol* 2005; 50: 351-63.
202. Jabs DA, Mudun A, Dunn JP ve Marsh MJ. Episcleritis And Scleritis: Clinical Features And Treatment Results. *American Journal of Ophthalmology* 2000; 130: 469–76.
203. Watson PG ve Young RD. Scleral Structure, Organisation And Disease. A Review. *Exp. Eye Res* 2004; 78: 609-23.
204. McCluskey PJ, Wakefield D ve Penny R. Scleritis And The Spectrum Of External Inflammatory Eye Disease. *Aust. N. Z. J. Ophthalmol* 1985; 13: 159-64.

205. Sainz de la Maza M, Jabbur NS ve Foster CS. Severity Of Scleritis And Episcleritis. *Ophthalmology* 1994; 101: 389–96.
206. McCluskey PJ, Watson PG, Lightman S, Haybittle J, Restori M ve Branley M. Posterior Scleritis: Clinical Features, Systemic Associations, And Outcome In A Large Series Of Patients. *Ophthalmology* 1999; 106: 2380–6.
207. Joysey VC, Roger JH, Ashworth F, Bullman W, Hazleman BL, Lachmann SM ve ark. Parallel Studies Of HLA Antigens In Patients With Rheumatic Heart Disease And Scleritis: Comparisons With Three Control Populations. *J Rheumatol* 1977; 3: 84–8.
208. Foster CS, Forstot SL ve Wilson LA. Mortality Rate In Rheumatoid Arthritis Patients Developing Necrotizing Scleritis Or Peripheral Ulcerative Keratitis. Effects Of Systemic Immunosuppression. *Ophthalmology* 1984; 91: 1253–63.
209. Harper SL, Letko E, Samson CM, Zafirakis P, Sangwan V ve Nguyen Q. Wegener's Granulomatosis: The Relationship Between Ocular And Systemic Disease. *J Rheumatol* 2001; 28: 1025–32.
210. Helm CJ, Holland GN, Webster RG Jr, Maloney RK ve Mondino BJ. Combination Intravenous Ceftazidime And Aminoglycosides In The Treatment Of Pseudomonal Scleritis. *Ophthalmology* 1997; 104: 838–43.
211. Moriarty AP, Crawford GJ, McAllister IL ve Constable IJ. Bilateral Streptococcal Corneoscleritis Complicating Beta Irradiation Induced Scleral Necrosis. *Br J Ophthalmol* 1993; 77: 251–2.
212. Ramenaden ER ve Raiji VR. Clinical Characteristics And Visual Outcomes In Infectious Scleritis: A Review. *Clinical Ophthalmology* 2013; 7: 2113–22.
213. Hodson KL, Galor A, Karp CL, Davis JL, Albin TA, Perez VL ve ark. Epidemiology And Visual Outcomes In Patients With Infectious Scleritis. *Cornea* 2013; 32(4): 466–72.
214. Hwang YS, Chen YF, Lai CC, Chen HS ve Hsiao CH. Infectious Scleritis After Use Of Immunomodulators. *Arch Ophthalmol* 2002; 120(8): 1093–4.
215. Moreno Honrado M, del Campo Z. ve Buil JA. A Case Of Necrotizing Scleritis Resulting From Pseudomonas Aeruginosa. *Cornea* 2009; 28(9): 1065–6.
216. Paula JS, Simão ML, Rocha EM, Romão E ve Velasco Cruz AA. Atypical Pneumococcal Scleritis After Pterygium Excision: Case Report And Literature Review. *Cornea* 2006; 25(1): 115–7.

217. Moriarty AP, Crawford GJ, McAllister IL ve Constable IJ. Fungal Corneoscleritis Complicating Beta-Irradiation-Induced Scleral Necrosis Following Pterygium Excision. *Eye* 1993; 7(4): 525–8.
218. Moriarty AP, Crawford GJ, McAllister IL ve Constable IJ. Severe Corneoscleral Infection. A Complication Of Beta Irradiation Scleral Necrosis Following Pterygium Excision. *Arch Ophthalmol* 1993; 111: 947–51.
219. MacKenzie FD1, Hirst LW, Kynaston B ve Bain C. Recurrence Rate And Complications After Beta Irradiation For Pterygia. *Ophthalmology* 1991; 98: 1776–80.
220. O'Donoghue E, Lightman S, Tuft S ve Watson P. Surgically Induced Necrotising Sclerokeratitis (SINS)—Precipitating Factors And Response To Treatment. *Br J Ophthalmol* 1992; 76: 17–21.
221. Polaczek-Kornecka A, Mirkiewicz-Sieradzka B, Heitzman J ve Zygulska-Mach H. Scleritis Resembling Choroidal Melanoma: A Case Report. *Klin Oczna* 1999; 101: 135–7.
222. Kim RY, Anderlini P, Naderi AA, Rivera P, Ahmadi MA ve Esmaeli B. Scleritis As The Initial Clinical Manifestation Of Graft-Versus-Host Disease After Allogenic Bone Marrow Transplantation. *Am J Ophthalmol* 2002; 133: 843–5.
223. Veenashree MP, Sangwan VS, Vemuganti GK ve Parthasaradhi A. Acute Scleritis As A Manifestation Of Congenital Erythropoietic Porphyria. *Cornea* 2002; 21: 530–1.
224. Fraunfelder FW, Fraunfelder FT ve Jensvold B. Scleritis And Other Ocular Side Effects Associated With Pamidronate Disodium. *Am J Ophthalmol* 2003; 135: 219–22.
225. Thurairajan G, Hope-Ross MW, Situnayake RD ve Murray PI. Polyarthropathy, Orbital Myositis And Posterior Scleritis: An Unusual Adverse Reaction To Influenza Vaccine. *Br J Rheumatol* 1997; 36: 120–3.
226. Kolomeyer AM, Ragam A, Shah K, Do BK, Shah VP ve Chu DS. Cyclo-Oxygenase Inhibitors In The Treatment Of Chronic Non-Infectious, Nonnecrotizing Scleritis And Episcleritis. *Ocul Immunol Inflamm* 2012; 20(4): 293–9.

227. Williams CP, Browning AC, Sleep TJ, Webber SK ve McGill JI. A Randomised, Double-Blind Trial Of Topical Ketorolac Vs Artificial Tears For The Treatment Of Episcleritis. *Eye (Lond)* 2005; 19(7): 739-42.
228. Daniel Diaz J, Sobol EK ve Gritz DC. Treatment And Management Of Scleral Disorders. *Survey of ophthalmology* 2016; 61: 702-17.
229. Wakefield D, Di Girolamo N, Thureau S, Wildner G ve McCluskey P. Scleritis: Immunopathogenesis And Molecular Basis For Therapy. *Progress in Retinal and Eye Research* 2013; 35: 44-62.
230. Tuft SJ ve Watson PG. Progression Of Scleral Disease. *Ophthalmology* 1991; 98: 467-71.
231. Albin TA, Rao NA ve Smith RE. The Diagnosis And Management Of Anterior Scleritis. *Int Ophthalmol Clin* 2005; 45(2): 191-204.
232. Erkanli L, Akova YA, Guney-Tefekli E ve Tugal-Tutkun I. Clinical Features, Prognosis, And Treatment Results Of Patients With Scleritis From 2 Tertiary Eye Care Centers In Turkey. *Cornea* 2010; 29(1): 26-33.
233. McMullen M, Kovarik G ve Hodge WG. Use Of Topical Steroid Therapy In The Management Of Nonnecrotizing Anterior Scleritis. *Can J Ophthalmol* 1999; 34(4): 217-21.
234. Sainz de la Maza M, Jabbur NS ve Foster CS. An Analysis Of Therapeutic Decision For Scleritis. *Ophthalmology* 1993; 100(9): 1372-6.
235. Cunningham MA, Alexander JK, Matoba AY, Jones DB ve Wilhemus KR. Management And Outcome Of Microbial Anterior Scleritis. *Cornea* 2011; 30(9): 1020-3.
236. Lee GA, Gray TB, Dart JK, Pavesio CE, Ficker LA ve Larkin DF. Acanthamoeba Sclerokeratitis: Treatment With Systemic Immunosuppression. *Ophthalmology* 2002; 109(6): 1178-82
237. Jabs DA. Regional Corticosteroids For Scleritis. *Ophthalmology* 2012; 119(10): 2198-200.
238. Bauer AM, Fiehn C ve Becker MD. Celecoxib, A Selective Inhibitor Of Cyclooxygenase 2 For Therapy Of Diffuse Anterior Scleritis. *Am J Ophthalmol*. 2005; 139(6): 1086-9.

239. Visscher KL, Hutnik CM ve Thomas M. Evidence-Based Treatment Of Acute Infective Conjunctivitis: Breaking The Cycle Of Antibiotic Prescribing. *Can Fam Physician* 2009; 55: 1071-5.
240. Kaufman HE. Adenovirus Advances: New Diagnostic And Therapeutic Options. *Curr Opin Ophthalmol* 2011;22(4):290-3.
241. Rietveld RP, Ter Riet G, Bindels PJ, Schellevis FG ve Van Weert HC. Do General Practitioners Adhere To The Guideline On Infectious Conjunctivitis? Results Of The Second Dutch National Survey Of General Practice. *BMC Fam Pract* 2007; 8: 54.
242. Sheikh A ve Hurwitz B. Antibiotics Versus Placebo For Acute Bacterial Conjunctivitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; 19: CD001211.
243. Aydoğan Ü, Doğaner YÇ ve Akbulut H. Birinci Basamakta Kırmızı Göze Genel Yaklaşım. *Türk Aile Hek Derg* 2010; 14(2): 77-85.
244. Alfonso SA, Fawley J ve Alexa Lu X. Conjunctivitis. *Prim Care* 2015; 42(3): 325-45.
245. Cronau H, Kankanala RR ve Mauger T. Diagnosis And Management Of Red Eye In Primary Care. *Am Fam Physician* 2010; 81(2): 137-44.
246. Sridhar MS, Gopinathan U ve Rao GN Rao Fungal Keratitis Associated With Vernal Keratoconjunctivitis. *Cornea* 2003; 22(1): 80-1.
247. Reddy JC, Murthy SI, Reddy AK ve Garg P. Risk Factors and Clinical Outcomes of Bacterial And Fungal Scleritis At A Tertiary Eye Care Hospital. *Middle East Afr J Ophthalmol* 2015; 22(2): 203-11.
248. Li Y, Theuretzbacher U, Clancy CJ, Nguyen MH ve Derendorf H. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Profile Of Posaconazole. *Clin Pharmacokinet* 2010; 49(6): 379-96.
249. Erişim 19.05.2019 <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01263>
250. Kujawski J, Czaja K, Dettlaff K, Żwawiak J, Ratajczak T ve Bernard MK. Structural And Spectroscopic Properties Of Posaconazole – Experimental And Theoretical Studies. *Journal of Molecular Structure* 2019; 1181: 179-89.
251. Yücesoy M. Sistemik Mantar İnfeksiyonlarında Kullanılan Antifungal İlaçlar *ANKEM Derg* 2000; 14(3): 286-97.

252. Öner L. Farmakokinetik İçinde *Farmasötik Teknoloji-Temel Konular ve Dozaj Şekilleri* Zırh Gürsoy A, editör. Kontrollü Salım Derneği Yayınları No:1 2. Baskı İstanbul, Türkiye 2012. pp. 185-200.
253. European Medicines Agency. Posaconazole SP: European Public Assessment Report. Scientific Discussion. London: European Medicines Agency, 2006.
254. Courtney R, Pai S, Laughlin M, Lim J ve Batra V. Pharmacokinetics, Safety, And Tolerability Of Oral Posaconazole Administered In Single And Multiple Doses In Healthy Adults. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 2788-95.
255. Keating GM. Posaconazole. *Drugs* 2005; 65: 1553-67; discussion 1568-9.
256. Courtney R, Radwanski E, Lim J ve Laughlin M. Pharmacokinetics Of Posaconazole Coadministered With Antacid In Fasting Or Nonfasting Healthy Men. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 804-8.
257. Courtney R, Wexler D, Radwanski E, Lim J ve Laughlin M. Effect Of Food On The Relative Bioavailability Of Two Oral Formulations Of Posaconazole In Healthy Adults. *Br J Clin Pharmacol* 2004; 57: 218-22.
258. Torres HA, Hachem RY, Chemaly RF, Kontoyiannis DP ve Raad II. Posaconazole: A Broad-Spectrum Triazole Antifungal. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 775-85.
259. Schering-Plough Inc. Label: Noxafil (Posaconazole) Oral Suspension. Labeling – 31029708. Kenilworth (NJ): Schering-Plough Inc., 2006.
260. Li Y, Theuretzbacher U, Clancy CJ, Nguyen MH ve Derendorf H. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Profile Of Posaconazole. *Clin Pharmacokinet* 2010; 49 (6): 379-96.
261. Ezzet F, Wexler D, Courtney R, Krishna G, Lim J ve Laughlin M. Oral Bioavailability Of Posaconazole In Fasted Healthy Subjects: Comparison Between Three Regimens And Basis For Clinical Dosage Recommendations. *Clin Pharmacokinet* 2005; 44: 211-20.
262. Noxafil® 300 mg/16,7 ml Infüzyon Çözeltisi KÜB Erişim 19.05.2019 https://www.medicines.org.uk/emc/product/3435/smpc#PHARMACOKINETIC_PROPS
263. Courtney R, Sansone A, Smith W, Marbury T, Statkevich P, Martinho M ve ark. Posaconazole Pharmacokinetics, Safety, And Tolerability In Subjects With

- Varying Degrees Of Chronic Renal Disease. *J Clin Pharmacol* 2005; 45: 185-92.
- 264.** Krieter P, Flannery B, Musick T, Gohdes M, Martinho M ve Courtney R. Disposition Of Posaconazole Following Single-Dose Oral Administration In Healthy Subjects. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 3543-51.
- 265.** Herbrecht R. Voriconazole: Therapeutic Review Of A New Azole Antifungal. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2004; 2: 485-97.
- 266.** Ezzet F, Wexler D ve Courtney R. Comparative Bioavailability Of Oral Posaconazole (POS) In Different Dosage Regimens: A Population Pharmacokinetic Analysis. 43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; Chicago (IL), ABD. 2003.
- 267.** Groll AH ve Walsh TJ. Posaconazole: Clinical Pharmacology And Potential For Management Of Fungal Infections. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2005; 3: 467-87.
- 268.** Wexler D, Courtney R, Richards W, Banfield C, Lim J ve Laughlin M. Effect Of Posaconazole On Cytochrome P450 Enzymes: A Randomized, Open-Label, Two-Way Crossover Study. *Eur J Pharm Sci* 2004; 21: 645-53.
- 269.** Ghosal A, Hapangama N, Yuan Y, Achanfuo-Yeboah J, Iannucci R, Chowdhury S ve ark. Identification Of Human Udp glucuronosyltransferase Enzyme(S) Responsible For The Glucuronidation Of Posaconazole (Noxafil). *Drug Metab Dispos* 2004; 32: 267-71.
- 270.** Meletiadis J, Chanock S ve Walsh TJ. Human Pharmacogenomic Variations And Their Implications For Antifungal Efficacy. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 763-87.
- 271.** Adis International Ltd. Posaconazole: SCH 56592. *Drugs R D* 2003; 4: 258-63.
- 272.** Sime FB, Stuart J, Butler J, Starr T, Wallis SC, Pande S ve ark. Pharmacokinetics Of Intravenous Posaconazole In Critically Ill Patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2018; 62(6): pii: e00242-18.
- 273.** Krishna G, Sansone-Parsons A, Martinho M, Kantesaria B, ve Pedicone L. Posaconazole Plasma Concentrations In Juvenile Patients With Invasive Fungal Infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 812-8.
- 274.** Sansone-Parsons A, Krishna G, Simon J, Soni P, Kantesaria B, Herron J ve ark. Effects Of Age, Gender, And Race/Ethnicity On The Pharmacokinetics Of

- Posaconazole In Healthy Volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 495-502.
- 275.** European Union's CHMP Adopts Positive Opinion For Noxafil(Posaconazole) Oral Suspension For Prevention Of Invasive Fungal Infections. 2006 Erişim 21.01.2019
<http://www.prnewswire.com/cgi-bin/stories.pl?ACCT=104&STORY=/www/story/09-22-2006/0004437836&EDATE>
- 276.** Langston A, Ullmann AJ, Cornely OA, Lipton J, Maertens J, Winston D ve ark. Pharmacokinetics (PK) And Safety Of Posaconazole (POS) As Prophylaxis For Invasive Fungal Infection In High-Risk Patients. 46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. San Francisco (CA), ABD, 2006.
- 277.** Anstead GM, Corcoran G, Lewis J, Berg D ve Graybill JR. Refractory Coccidioidomycosis Treated With Posaconazole. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 1770-6.
- 278.** Greenberg RN, Mullane K, van Burik JA, Raad I, Abzug MJ, Anstead G ve ark. Posaconazole As Salvage Therapy For Zygomycosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 126-33.
- 279.** Raad II, Graybill JR, Bustamante AB, Cornely OA, Gaona-Flores V, Afif C ve ark. Safety Of Long-Term Oral Posaconazole Use In The Treatment Of Refractory Invasive Fungal Infections. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 1726-34.
- 280.** Raad II, Hachem RY, Herbrecht R, Graybill JR, Hare R, Corcoran G ve ark. Posaconazole As Salvage Treatment For Invasive Fusariosis In Patients With Underlying Hematologic Malignancy And Other Conditions. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 1398-403.
- 281.** Tarani L1, Costantino F, Notheis G, Wintergerst U, Venditti M, Di Biasi C ve ark. Long-Term Posaconazole Treatment And Follow-Up Of Rhino-Orbital-Cerebral Mucormycosis In A Diabetic Girl. *Pediatr Diabetes* 2009; 10: 289-93.
- 282.** Störzinger D, Lichtenstern C, Swoboda S, Weigand MA ve Hoppe-Tichy T. Posaconazole In Intensive Care Patients I: Invasive Fungal Infections In Surgical Intensive Care And Case Presentation. *Mycoses* 2008; 51(2): 52-7.
- 283.** Lewis RE. Current Concepts In Antifungal Pharmacology. *Mayo Clin Proc* 2011; 86: 805-17.

284. Denning DW ve Hope WW. Therapy For Fungal Diseases: Opportunities And Priorities. *Trends Microbiol* 2010; 18: 195-204.
285. Dodds Ashley ES, Lewis R, Lewis JS, Martin C ve Andes D. Pharmacology Of Systemic Antifungal Agents. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 28-39.
286. Andes D. Optimizing Antifungal Choice And Administration. *Curr Med Res Opin* 2013; 4: 13-8.
287. Munayyer HK, Mann PA, Chau AS, Yarosh-Tomaine T, Greene JR, Hare RS ve ark. Posaconazole Is A Potent İnhibitor Of Sterol 14alpha-Demethylation In Yeasts And Molds. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(10) :3690-6.
288. Oakley KL, Moore CB ve Denning DW. In Vitro Activity Of SCH-56592 And Comparison With Activities Of Amphotericin B And Itraconazole Against *Aspergillus* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 1124-6.
289. Alexander BD, Perfect JR, Daly JS, Restrepo A, Tobón AM, Patino H ve ark. Posaconazole As Salvage Therapy In Patients With Invasive Fungal Infections After Solid Organ Transplant. *Transplantation* 2008; 86: 791-6.
290. Graybill JR, Bocanegra R, Najvar LK, Luther MF ve Loebenberg D. SCH56592 Treatment Of Murine Invasive Aspergillosis. *J Antimicrob Chemother* 1998; 42: 539-42.
291. Petraitiene R, Petraitis V, Groll AH, Sein T, Piscitelli S, Candelario M ve ark. Antifungal Activity And Pharmacokinetics Of Posaconazole (SCH 56592) In Treatment And Prevention Of Experimental Invasive Pulmonary Aspergillosis: Correlation With Galactomannan Antigenemia. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 857-69.
292. Cacciapuoti A, Loebenberg D, Corcoran E, Menzel F Jr, Moss EL Jr, Norris C ve ark. In Vitro And In Vivo Activities Of SCH 56592 (Posaconazole), A New Triazole Antifungal Agent, Against *Aspergillus* And *Candida*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 2017-22.
293. Vazquez JA, Skiest DJ, Nieto L, Northland R, Sanne I, Gogate J ve ark. A Multicenter Randomized Trial Evaluating Posaconazole Versus Fluconazole For The Treatment Of Oropharyngeal Andidiasis In Subjects With HIV/AIDS. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 1179-86.

294. Barchiesi F, Schimizzi AM, Caselli F, Giannini D, Camiletti V, Fileni B ve ark. Activity Of The New Antifungal Triazole, Posaconazole, Against *Cryptococcus Neoformans*. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48: 769-73.
295. Lozano-Chiu M, Arikan S, Paetznick VL, Anaissie EJ, Loebenberg D ve Rex JH. Treatment Of Murine Fusariosis With SCH 56592. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 589-91.
296. Lutz JE, Clemons KV, Aristizabal BH ve Stevens DA. Activity Of The Triazole SCH 56592 Against Disseminated Murine *Coccidioidomycosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 1558-61.
297. Wollina U, Hansel G, Vennewald I, Schönlebe J, Tintelnot K ve Seibold M. Successful Treatment Of Relapsing Disseminated *Coccidioidomycosis* With Cutaneous Involvement With Posaconazole. *J Dtsch Dermatol Ges* 2009; 7: 46-9.
298. Connolly P, Wheat J, Schnitzlein-Bick C, Durkin M, Kohler S, Smedema M ve ark. Comparison Of A New Triazole Antifungal Agent, Schering 56592, With Itraconazole And Amphotericin B For Treatment Of Histoplasmosis In Immunocompetent Mice. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 322-8.
299. Brugière O, Dauriat G, Mal H, Marrash-Chalha R, Fournier M, Groussard O ve ark. Pulmonary Mucormycosis (Zygomycosis) In A Lung Transplant Recipient: Recovery After Posaconazole Therapy. *Transplantation* 2005; 80: 1361-62.
300. Tu EY, McCartney DL, Beatty RF, Springer KL ve Levy J, Edward D. Successful Treatment of Resistant Ocular Fusariosis With Posaconazole (SCH-56592), Treatment Of Resistant Ocular Fusariosis. *Am J Ophthalmol* 2007; 143(2): 222-7.
301. Amiel H, Chohan AB, Snibson GR ve Vajpayee R. Atypical Fungal Sclerokeratitis, *Cornea* 2008; 27(3): 382-3.
302. Garcia CV, Cpsta RG ve Mendez ASL. Stability-Indicating HPLC Method for Posaconazole Bulk Assay. *Sci Pharm* 2012; 80: 317-27.
303. Grimaudo MA, Pescina S, Padula C, Santi P, Concheiro A, Alvarez-Lorenzo C ve ark. Poloxamer 407/TPGS Mixed Micelles as Promising Carriers for Cyclosporine Ocular Delivery. *Mol Pharm* 2018; 15(2): 571-84.
304. Rowe RC, Sheskey PJ ve Quinn ME, editör. Handbook Of Pharmaceutical Excipients 6. Baskı, Pharmaceutical Press, İngiltere, 2006.

- 305.** Malvern Zetasizer Bilgi Kitapçığı Erişim 16.05.2019
<http://www.malvern.com/common/downloads/campaign/MRK656-01.pdf>
- 306.** Yang M, Dong Z, Zhang Y, Zhang F, Wang Y ve Zhao Z. Preparation And Evaluation Of Posaconazole-Loaded Enteric Microparticles In Rats. *Drug Dev Ind Pharm* 2017; 43(4): 618-27.
- 307.** Yu Y, Chen D, Li Y, Yang W, Tu J ve Shen Y. Improving The Topical Ocular Pharmacokinetics Of Lyophilized Cyclosporine A-Loaded Micelles: Formulation, In Vitro And In Vivo Studies. *Drug Deliv* 2018; 25(1): 888-99.
- 308.** Kanoujia J, Kushwaha PS ve Saraf SA. Evaluation Of Gatifloxacin Pluronic Micelles And Development Of Its Formulation For Ocular Delivery. *Drug Deliv Transl Res.* 2014; 4(4): 334-43.
- 309.** Standards Reviewed By The EEBA Technical Guidelines Erişim 19.05.2019
https://www.eeba.eu/files/09_final_Technical_Guidelines_Rev9_2018-02-13.pdf
- 310.** Gouda R, Baishya H ve Qing Z. Application of Mathematical Models in Drug Release Kinetics of Carbidopa and Levodopa ER Tablets. *J. Develop Drugs* 2017; 6 (2): 1000171.
- 311.** Tang P, Wang L, Ma X, Xu K, Xiong X, Liao X ve ark. Characterization And In Vitro Evaluation of the Complexes of Posaconazole with β - And 2,6-di-O-methyl- β -cyclodextrin. *AAPS Pharm Sci Tech* 2017; 18(1): 104-14.
- 312.** Hansson P ve Lindman B. Surfactant-Polymer Interactions. *Current Opinion In Colloid & Interface Science* 1996; 1: 604-13.
- 313.** Suksiriworapong J, Mingkwan T ve Chantasart D. Enhanced Transmucosal Delivery Of Itraconazole By Thiolated D- α -Tocopheryl Poly(Ethylene Glycol) 1000 Succinate Micelles For The Treatment Of Candida Albicans. *Eur J Pharm Biopharm* 2017; 120: 107-115.
- 314.** Erişim 14.05.2019
http://www.icceturkey.com/media/dokuman/farmasotik_gmp_klavuzu_bakanlik.pdf
- 315.** Attar M, Brassard JA, Kim AS, Matsumoto S, Ramos Meg ve Vangyi C. Safety Evaluation of Ocular Drugs İçinde Faqi AS, editör. *A Comprehensive Guide to Toxicology in Preclinical Drug Development.* Detroit (Michigan), ABD, 2013. pp. 567-617

- 316.** Duan Y, Cai X, Du H ve Zhai G. Novel In Situ Gel Systems Based On P123/TPGS Mixed Micelles And Gellan Gum For Ophthalmic Delivery Of Curcumin. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2015; 128: 322-30.



HAM VERİLER

FORMLAR

ETİK KURUL KARARI

PATENT HAKKI İZİNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

OKÜLER UYGULAMAYA YÖNELİK NANOTAŞIYICILARIN HAZIRLANMASI

ORJİNALLİK RAPORU

% 6	% 3	% 1	% 5
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 2
2	www.eajm.org İnternet Kaynağı	% 1
3	katalog.hacettepe.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
4	avgpharma.it İnternet Kaynağı	<% 1
5	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<% 1
6	Submitted to Yeditepe University Öğrenci Ödevi	<% 1
7	Submitted to Anadolu University Öğrenci Ödevi	<% 1
8	Submitted to Ataturk Universitesi Öğrenci Ödevi	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Meltem Ezgi	Soyadı	Durgun Kılıç
Doğ.Yeri		Doğ.Tar.	
Uyruğu		TC Kim No	
Email		Tel	

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans		
Lise		

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce					

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft office	Çok iyi
SAP	Orta

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özsoy Y, Güngör S, Kahraman E ve Durgun ME. *Polymeric Micelles: as a Novel Carrier for Ocular Drug Delivery* İçinde Grumezescu AM, editor. *Nanoarchitectonics in Biomedicine*. Oxford: Elsevier; 2019. pp. 85-118.

Durgun ME, Kahraman E, Güngör S ve Özsoy Y. *Nano-micellar drug carriers for topical ocular administration*, IVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies, İstanbul, Türkiye, 26-29 Nisan 2017. pp.713-13.

Durgun ME, Kahraman E, Güngör S ve Özsoy Y. *Fabrication and characterization of nano-micelles for topical ocular therapy*, 22nd International Biomedical Science and Technology Symposium (BIOMED 2017), Ankara, Türkiye, 12-14 Mayıs 2017. pp.85-5.

Pehlivan SB, Yavuz B, Çalamak S, Ulubayram K, Kaffashi A, Vural İ, Çakmak HB, Durgun ME, Denkbaş EB ve Ünlü N. Preparation and in vitro/in vivo evaluation of cyclosporin A-loaded nanodecorated ocular implants for subconjunctival application. *J Pharm Sci*. 2015; 104(5): 1709-20.

Durgun ME, Yavuz B, Bozdağ Pehlivan S ve Ünlü N. *Designing Nanodecorated Implants for Ophtalmic Drug Delivery*. AAPS Annual Meeting and Exposition, Şikago (IL),ABD, 2012.

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Kitap okumak, dans, film izlemek

