



**OKÜLER UYGULAMAYA YÖNELİK
NORFLOKSASİN İÇEREN POLİMERİK
NANOPARTİKÜL
FORMÜLASYONLARININ TASARIMI
VE *İN VİTRO* DEĞERLENDİRİLMESİ**
Yüksek Lisans Tezi
İclal ÖZDEMİR
Eskişehir 2025

**OKÜLER UYGULAMAYA YÖNELİK NORFLOKSASİN İÇEREN
POLİMERİK NANOPARTİKÜL FORMÜLASYONLARININ TASARIMI VE *İN*
VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ**

İclal ÖZDEMİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ebru BAŞARAN

**Anadolu Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü**

Nisan 2025

Eskişehir

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

İclal ÖZDEMİR'in “ Oküler Uygulamaya Yönelik Norfloksasin İçeren Polimerik Nanopartikül Formülasyonlarının Tasarımı ve *İn Vitro* Değerlendirilmesi ” başlıklı tezi 28/04/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği”nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Teknoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	Prof. Dr. Ebru BAŞARAN	
Üye	Prof. Dr. Evrim AKYIL	
Üye	Doç. Dr. Umay Merve GÜVEN BÖLGEN	
Üye		
Üye		

Prof. Dr. Nafiz Öncü CAN
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

OKÜLER UYGULAMAYA YÖNELİK NORFLOKSASİN İÇEREN POLİMERİK NANOPARTİKÜL FORMÜLASYONLARININ TASARIMI VE *İN VİTRO* DEĞERLENDİRİLMESİ

İclal ÖZDEMİR

Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Nisan 2025

Danışman: Prof. Dr. Ebru BAŞARAN

Oküler enfeksiyonların etkin bir şekilde tedavi edilemediği durumlar görme kaybına neden olabilecek ciddi problemlere yol açabilmektedir. Bakteriyel konjonktivit dünya genelinde en sık karşılaşılan oküler enfeksiyonlardan biri olarak belirtilmektedir. Tedavisi için pek çok antibiyotik çeşidi kullanılmaktadır. Bu maddeler arasında Norfloksasin (NFX) gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı etkili, geniş spektrumlu florokinolon grubu antibiyotikler arasında yer almakta ve oküler enfeksiyonlardaki etkin ve güvenilir kullanımı farklı çalışmalarla gösterilmiştir. Ancak NFX'in sudaki düşük çözünürlüğü ve oküler ilaç uygulamalarındaki anatomik ve fizyolojik kısıtlamalardan dolayı düşük biyoyararlanımla karşılaşılmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında NFX'in düşük biyoyararlanım problemini ortadan kaldırması amaçlanan, oküler uygulamaya uygun ve uzatılmış salıma sahip polimerik nanopartiküller Eudragit® RS 100 (ERS) ve Eudragit® RS 100 : Polikaprolakton (PCL) karışım halinde kullanılarak püskürterek kurutma yöntemiyle hazırlanmıştır. Hazırlanan polimerik nanopartiküllerin karakterizasyon çalışmaları detaylı olarak gerçekleştirilmiş ve *in vitro* salım çalışması ile salım özellikleri değerlendirilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Norfloksasin, Polimerik nanopartikül, Püskürterek kurutma, Eudragit® RS 100, Polikaprolakton

ABSTRACT

DESIGN AND *IN VITRO* EVALUATION OF POLYMERIC NANOPARTICLE FORMULATIONS CONTAINING NORFLOXACIN FOR OCULAR APPLICATION

İclal ÖZDEMİR

Department of Pharmaceutical Technology

Graduate School of Anadolu University, April 2025

Supervisor: Prof. Dr. Ebru BAŞARAN

Insufficient treatment of ocular infections can result in severe complications, including irreversible vision loss. Bacterial conjunctivitis, a highly prevalent ocular infection globally, is commonly managed with a variety of antibiotic therapies. Among these antibiotics, Norfloxacin (NFX) - a broad-spectrum fluoroquinolone - exhibits potent activity against both Gram-positive and Gram-negative bacterial pathogens, with its efficacy in ocular infections well-documented in the literature. Nonetheless, the therapeutic potential of NFX is significantly limited by its poor aqueous solubility and the anatomical structure and physiological barriers of the eye, leading to limited ocular bioavailability. To overcome these challenges, nanoparticles were formulated for sustained ocular drug delivery using Eudragit® RS 100 (ERS) alone and in combination with Polycaprolactone (PCL). Polymeric nanoparticles were prepared with spray-drying method and physicochemical characterization studies were performed in detail. The release kinetics were evaluated through *in vitro* dissolution studies, aiming to enhance the ocular bioavailability and therapeutic performance of NFX with the help of polymeric nanoparticles.

Keywords: Norfloxacin, Polymeric nanoparticles, Spray drying, Eudragit® RS 100, Polycaprolactone

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecim boyunca her an desteğini hissettiğim, değerli tecrübe ve bilgileri ile tez çalışmama ışık tutan, meslek hayatımda yol göstericim olan kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Ebru BAŞARAN'a,

Lisans ve yüksek lisans eğitimimde bana kattıkları değerli bilgiler için saygıdeğer hocalarım, Prof. Dr. Müzeyyen DEMİREL'e, Prof. Dr. Gülay BÜYÜKKÖROĞLU'na, Prof. Dr. Evrim AKYIL'a, Prof. Dr. Mustafa Sinan KAYNAK'a, Doç. Dr. Behiye ŞENEL'e ve Doç. Dr. Alper ÖZTÜRK'e,

Laboratuvar çalışmalarında desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım, Dr. Öğr. Üyesi Sinan ÖZER'e, Araş. Gör. Kadir AYKAÇ'a ve değerli bölüm arkadaşlarım Araş. Gör. Ceyda KÖROĞLU ÖZMEN'e ve Araş. Gör. Kaan YALÇINKAYA'ya,

Tez çalışmamın FT-IR ve NMR analizlerinde yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Serkan LEVENT'e ve SEM analizinde yardımcı olan Şennur GÖRGÜLÜ'ye,

Beni bugünlere getiren, destekleriyle her zaman yanımda olan sevgili aileme,

Hayatıma girdiği andan itibaren her konuda destekçim olan sevgili eşim Uzm. Ecz. Koray ÖZDEMİR'e, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

28/04/2025

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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

İclal ÖZDEMİR

28/04/2025

ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI

Bu tezi hazırlarken (ChatGPT, Gemini, DALL-E vb.) üretken yapay zekâ programlarından destek almadığımı beyan ederim.

Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

İclal ÖZDEMİR

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1 GİRİŞ ve AMAÇ	1
2 KAYNAK BİLGİSİ	3
2.1 Gözün Anatomisi ve Fizyolojisi	3
2.1.1 Gözün katmanları	4
2.1.1.1 Sklera	4
2.1.1.2 Kornea	4
2.1.1.3 Retina	5
2.2 Oküler Enfeksiyonlar	5
2.2.1 Oküler enfeksiyonlarda antibiyotik tedavisi	7
2.3 Norfloksasin	9
2.3.1 Norfloksasinin etki mekanizması	9
2.3.2 Norfloksasinin endikasyonları	10
2.3.3 Norfloksasinin farmakokinetik özellikleri	11
2.3.4 Norfloksasinin yan etkileri	11
2.4 Oküler ilaç uygulamaları	11
2.4.1 Oküler ilaç emilimini etkileyen faktörler	12

2.4.1.1 Oküler fizyolojik bariyerler	13
2.4.1.1.1 Gözyaşı filmi	13
2.4.1.1.2 Kornea Bariyeri	14
2.4.2 Oküler ilaç uygulamalarındaki kısıtlamalar	15
2.5. Oküler Biyoyararlanımı Artırmak İçin Geliştirilen Yöntemler	15
2.5.1 Oküler yeni ilaç taşıyıcı sistemler	16
2.6 Polimerik Nanopartiküller	17
2.6.1 Polimerik nanopartiküllerin üstünlük ve sakıncaları	18
2.6.2 Polimerik nanopartikül hazırlanmasında kullanılan polimerler	19
2.6.2.1 Eudragit®RS100	19
2.6.2.2 Polikaprolakton	20
2.6.3 Polimerik nanopartikül hazırlama yöntemleri	21
2.6.3.1 Emülsifikasyon-çözücü buharlaşması	22
2.6.3.2 Emülsifikasyon-çözücü difüzyonu	22
2.6.3.3 Emülsifikasyon – tuzla çöktürme	23
2.6.3.4 Nanoçöktürme yöntemi	23
2.6.3.5 Diyaliz yöntemi	23
2.6.3.6 Süperkritik akışkan teknolojisi	24
2.6.3.7 Püskürterek kurutma yöntemi	24
2.6.4 Polimerik nanopartiküllerin karakterizasyon yöntemleri	26
2.6.4.1 Morfoloji	26
2.6.4.2 Parçacık boyut dağılımı	27
2.6.4.3 Kimyasal yapı	28
2.6.4.4 Moleküler kütle dağılımı	28
2.6.4.5 Zeta potansiyel	28
2.6.4.6 İn-vitro salım kinetiği	28
3 GEREÇLER	30
3.1 Kullanılan Malzemeler	30
3.2 Kullanılan Cihazlar	31
4 YÖNTEMLER	32

4.1 NFX ile Yapılan Çalışmalar	32
4.1.1 Termal analiz	32
4.1.2 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi	32
4.1.3 Nükleer manyetik rezonans analizi	32
4.1.4 Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile validasyon çalışması	32
4.1.4.1 Doğrusallık	33
4.1.4.2 Doğruluk	33
4.1.4.3 Kesinlik	33
4.1.4.4 Duyarlılık	33
4.1.4.5 Seçicilik	34
4.2 Polimerik Nanopartikül Formülasyonlarının Hazırlanması	34
4.3 Nanopartikül Formülasyonları ile Yapılan Çalışmalar.....	35
4.3.1 Termal analiz	35
4.3.2 Parçacık şekli analizi	35
4.3.3 Parçacık büyüklüğü ve dağılımı analizi	35
4.3.4 Zeta potansiyel analizi	35
4.3.5 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi	35
4.3.6 Nükleer manyetik rezonans analizi	35
4.3.7 Enkapsülasyon etkinliği ve yükleme kapasitesi tayini	35
4.3.8 <i>İn vitro</i> salım çalışması	36
5 BULGULAR ve TARTIŞMA	37
5.1 NFX ile Yapılan Çalışmalar	37
5.1.1 Termal analiz	37
5.1.2 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi	37
5.1.3 Nükleer manyetik rezonans analizi	38
5.1.4 Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile validasyon çalışması	39
5.1.4.1 Doğrusallık	39
5.1.4.2 Doğruluk	41
5.1.4.3 Kesinlik	42
5.1.4.4 Duyarlılık	44

5.1.4.5 Seçicilik	44
5.3 Nanopartikül Formülasyonları ile Yapılan Çalışmalar	46
5.3.1 Termal analiz	46
5.3.2 Parçacık şekli analizi	50
5.3.3 Parçacık büyüklüğü ve dağılımı analizi	51
5.3.4 Zeta potansiyel analizi	53
5.3.5 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi	54
5.3.6 Nükleer manyetik rezonans analizi	58
5.3.7 Enkapsülasyon etkinliği ve yükleme kapasitesi tayini	60
5.3.8 <i>İn vitro</i> salım çalışması	61
6 SONUÇ	66
KAYNAKÇA	67
ÖZ GEÇMİŞ	

TABLÖLER DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1 Konjonktivit (n = 385) ve blefarit (n = 173) izolatlarının antimikrobiyal topikal preparatlara duyarlılığı	7
Tablo 2.2 Püskürterek kurutmanın üstünlük ve sakıncaları	26
Tablo 2.3 Polimerik nanopartiküllerin karakterizasyon yöntemleri	27
Tablo 4.1 YBSK analiz koşulları	32
Tablo 4.2 Hazırlanan nanopartikül formülasyonlarının içerikleri	34
Tablo 5.1 NFX için doğrusalılık çalışması YBSK sonuçları	40
Tablo 5.2 Doğruluk çalışması YBSK sonuçları	41
Tablo 5.3 1. Gün kesinlik çalışması sonuçları	42
Tablo 5.4 2. Gün kesinlik çalışması sonuçları	43
Tablo 5.5 3. Gün kesinlik çalışması sonuçları	43
Tablo 5.6 Hazırlanan nanopartiküllere ait parçacık büyüklüğü ve PDI değerleri	52
Tablo 5.7 Hazırlanan nanopartiküllere ait zeta potansiyel sonuçları	53
Tablo 5.8 Nanopartikül formülasyonlarına ait %EE ve % yükleme kapasitesi sonuçları (Ort±SH, n=3)	61
Tablo 5.9 Nanopartikül formülasyonları ve NFX'in <i>in vitro</i> salım modelleri	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 Gözün anatomik yapısı	3
Şekil 2.2 Kornea yapısının katmanları	5
Şekil 2.3 NFX'in kimyasal formülü	9
Şekil 2.4 Oküler ilaç uygulama yolları	12
Şekil 2.5 Oküler ilaç uygulamada yeni sistemler	17
Şekil 2.6 Nanopartikül yapısı	18
Şekil 2.7 ERS'nin kimyasal yapısı	20
Şekil 2.8 PCL'nin kimyasal yapısı	21
Şekil 2.9 Püskürterek kurutma yönteminin şematik görüntüsü.....	25
Şekil 5.1 NFX'e ait DSC termogramı	37
Şekil 5.2 NFX'in FT-IR spektrumu	38
Şekil 5.3 NFX'in ¹ H-NMR analiz spektrumu	39
Şekil 5.4 NFX için doğrusallık grafiği (Ort ±SH, n=6)	40
Şekil 5.5 NFX'e ait referans YBSK kromatogramı	44
Şekil 5.6 NE nanopartikülüne ait YBSK kromatogramı	44
Şekil 5.7 Plasebo NE nanopartikülüne ait YBSK kromatogramı	45
Şekil 5.8 NEP nanopartikülüne ait YBSK kromatogramı	45
Şekil 5.9 Plasebo NEP nanopartikülüne ait YBSK kromatogramı	45
Şekil 5.10 NFX, PCL ve ERS'ye ait DSC termogramları	47
Şekil 5.11 NE nanopartiküllerine ait DSC termogramları	48
Şekil 5.12 NEP nanopartiküllerine ait DSC termogramları	49
Şekil 5.13 NE nanopartiküllerine ait SEM görüntüleri	50
Şekil 5.14 NEP nanopartiküllerine ait SEM görüntüleri	51
Şekil 5.15 NFX, ERS ve PCL'nin fiziksel karışımlarına ait FT-IR spektrumu	55
Şekil 5.16 Plasebo NE, NE1, NE2 ve NE3 formülasyonlarına ait FT-IR spektrumları	57
Şekil 5.17 Plasebo NEP, NEP1, NEP2, NEP3 formülasyonlarına ait FT-IR spektrumları	57

Şekil 5.18 NFX, ERS ve PCL'nin fiziksel karışımlarına ait ¹ H-NMR analiz spektrumları	58
Şekil 5.19 Plasebo NE, NE1, NE2, NE3 formülasyonlarına ait ¹ H-NMR analiz spektrumları	59
Şekil 5.20 Plasebo NEP, NEP1, NEP2, NEP3 formülasyonlarına ait ¹ H-NMR analiz spektrumları	60
Şekil 5.21 NE nanopartiküllerinin <i>in-vitro</i> salım çalışması sonuçları (Ort±SH, n=3)	62
Şekil 5.22 NEP nanopartiküllerinin <i>in-vitro</i> salım çalışması sonuçları (Ort±SH, n=3)	62

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AFM	: Atomik kuvvet mikroskobu
ATP	: Adenozin trifosfat
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DLS	: Dinamik ışık saçılımı
DSC	: Diferansiyel taramalı kalorimetre
EE	: Enkapsülasyon etkinliği
ERS	: Eudragit® RS 100
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GA	: Glikolik asit
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
LA	: Laktik asit
LOD	: Saptama sınırı
LOQ	: Tayin sınırı
MS	: Kütle spektrometresi
NFX	: Norfloksasin
NMR	: Nükleer manyetik rezonans
ORT	: Ortalama
PCL	: Polikaprolakton
PDI	: Polidispersite indeksi
PLA	: Polilaktik asit
PLGA	: Poli(laktik- ko -glikolik) asit
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
SH	: Standart hata
TEM	: Transmisyon elektron mikroskobu

1 GİRİŞ ve AMAÇ

Oküler enfeksiyonlar; göz yapısında hasar oluşturabilmekte ve tedavi uygulanmadığı durumlarda görme kaybına hatta körlüğe kadar gidebilen ciddi tablolara yol açmaktadır (Snyder ve Glasser, 1994). Dünya genelinde en sık karşılaşılan oküler enfeksiyon; daha çok akut enfeksiyon olarak görülen bakteriyel konjonktivit olarak belirtilmektedir (Høvdig, 2008). Oftalmik enfeksiyonlar bakterisidal ve bakteriyostatik etkili pek çok antibiyotik kullanılmaktadır. Penisilin, sefalosporin, aminoglikozid ve florokinolonlar bakterisidal etkili (Mulligan ve Cobbs, 1989), tetrasiklin, makrolid, kloramfenikol ve sülfonamidler ise bakteriyostatik etkili antibiyotiklerdir (Snyder ve Glasser, 1994). Oküler enfeksiyonlarda genellikle topikal uygulama, uygulamanın kolaylığı, kolay doze edilebilmesi ve uzman kişiye ihtiyaç duyulmadan uygulanabilmesi nedeniyle en çok tercih edilen uygulama yolu olarak tercih edilmektedir (Bertino Jr, 2009).

Norfloksasin (NFX), 4-kinolon türevi florokinolon grubu bir antibakteriyel maddedir (Barry vd., 1984). İnsanlarda ve hayvanlarda birçok ülkede enfeksiyon tedavisinde kullanılan geniş spektrumlu bir ajandır (Vijan ve Conci, 2008). Aminoglikozid dirençli *P. aeruginosa*, *Serratia* türleri ve beta-laktamaz üreten organizmalar için spesifik etki göstermektedir (Naumann ve Dopp, 1989). Bakteriyel deoksiribonükleik asit (DNA) girazı inhibe ederek etki göstermektedir (Sharma vd., 2008). Genitoüriner enfeksiyonlarda, akut gastroenteritte, kornea ve konjonktivada görülen göz enfeksiyonlarında sıklıkla kullanılmaktadır (Grangie vd., 1998). Yapılan araştırmalar NFX'in bakteriyel göz enfeksiyonlarının tedavisine uygun güvenli ve etkin bir ajan olduğunu göstermiştir (Jacobson vd., 1988; Miller vd., 1992).

Oküler ilaç uygulamalarında gözün anatomik ve fizyolojik yapısının karmaşık olması ve etkin maddenin kimyasal yapısından kaynaklanan birçok problemle karşılaşmaktadır. Bu problemler sonucunda oküler biyoyararlanım azalmakta ve tedavide istenilen etki görülememektedir (Polat ve ark., 2018). NFX ile gerçekleştirilecek tedavilerde karşılaşılan en önemli problem NFX'in sudaki düşük çözünürlüğüne bağlı olarak karşılaşılan düşük biyoyararlanım olmaktadır (Chierentin ve Salgado, 2016; Polat ve ark., 2018).

Konvansiyonel oftalmik preparatlarda karşılaşılan problemlerin üstesinden gelmek için yeni ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmektedir. Bu sistemler arasında küçük partikül boyutları, oküler dokularla uyumlulukları, daha düşük irritasyon riski ve daha yüksek biyoyararlanımları ile nanopartiküller öne çıkmaktadır (Polat ve ark., 2018).

Bu tez çalışması kapsamında NFX etkin maddesini içeren polimerik nanopartiküller hazırlanmıştır. Püskürterek kurutma yöntemi ile hazırlanan partiküller ile NFX'in kimyasal yapısı kaynaklı çözünürlük problemlerini azaltmak, kornea penetrasyonunu ve biyoyararlanımını artırma potansiyeliine sahip formülasyonlar geliştirilerek bakteriyel keratit ve bakteriyel konjonktivit gibi problemlerin tedavisinde kullanılmak üzere etkili olacağı düşünülen formülasyonlar hazırlanmıştır.



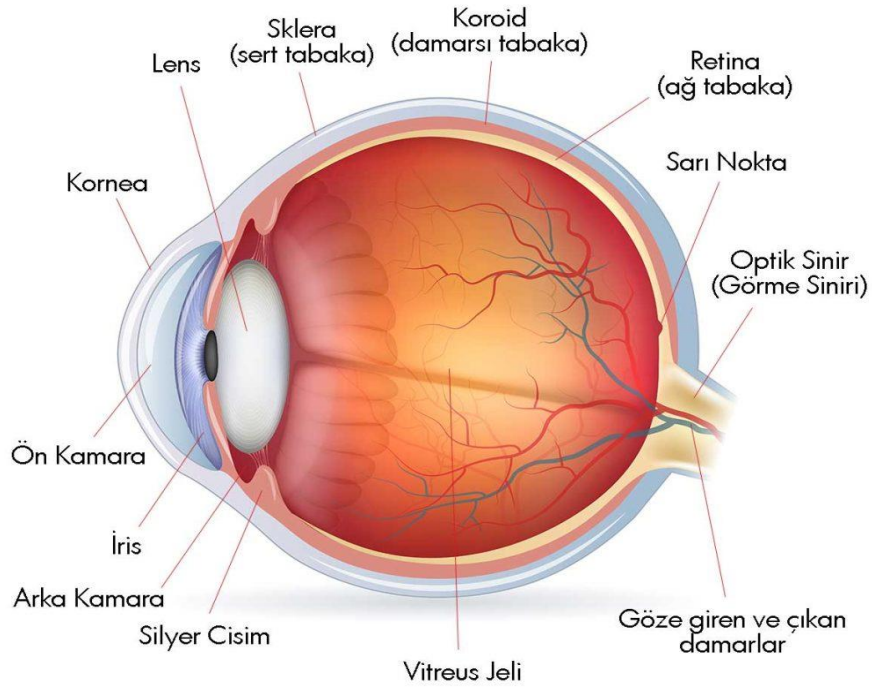
2 KAYNAK BİLGİSİ

2.1 Gözün Anatomisi ve Fizyolojisi

İnsan gözü üç ana katmandan oluşmaktadır (Şekil 2.1). Bu üç katman lif, damarlar ve sinirsel ağıdır. Dış kısmını sklera ve kornea oluşturur. Kornea ışığın kırılmasını sağlayarak merceğe göndermektedir. Ayrıca gözü enfeksiyonlara ve diğer problemlere karşı koruma görevini üstlenmektedir. Limbus kısmında, kornea ve sklera birbirine bağlanmaktadır. Skleranın kaplı olduğu mukozaya konjonktiva ismi verilmektedir. Gözün orta kısmı ise koroid, iris ve siliyer cisimden oluşmaktadır. Siliyer cisim bir sıvı üretir ve bu sıvı schlemm kanalı ile belli bir oranda gözden uzaklaştırılmaktadır. Bu sayede göz içi basınç normal seviyelerde kalmaktadır. İris ise retinaya gönderilen ışık miktarını kontrol ederek göz bebeğinin büyüklüğünü ayarlamaktadır. Koroid, retinaya besin maddeleri ve oksijen iletimi sağlayan damarlardan oluşan bir yapıdır. Gözün iç kısmını ise retina yapısı oluşturmaktadır. Aköz, vitreus ve lens ise oküler tabakalarla çevrelenmiş şeffaf yapılardır (Rawas-Qalaji ve Williams, 2012; Willoughby vd., 2010).

Şekil 2.1

Gözün anatomik yapısı



Kaynak: <http-1>

2.1.1 Gözün katmanları

2.1.1.1 Sklera

Gözün beyaz renkli dış kısmının büyük bir çoğunluğunu oluşturan ve bağ dokusu içeren yapıdır. Göz kaslarının tutunmasını sağlar, göz küresine şekil verir ve gözün korunmasında görev almaktadır (Rawas-Qalaji ve Williams, 2012). Yapılan araştırmalar sonucunda hidrofilik ilaçların skleradan büyük oranda geçebildiği ve bu yapıda ilaçların hücre içi boşluklara ulaşabildiği görülmüştür (Lawrence ve Miller, 2004).

2.1.1.2 Kornea

Gözün en fazla innerve edilen dokusudur ve ön kısmı oluşturmaktadır. Trigeminal sinirin oftalmik dalından çıkan duyuşal sinirler kornea sinirlerini oluşturmaktadır (Şekil 2.2) (Müller vd., 2003). Bir insan gözünün korneasının ortalama dikey ölçüsü 10,5 mm, yatay ölçüsü ise 11,5 mm'dir. Korneada bulunan ve 4 mm çapında ölçüsü olan optik bölge; ışık kırma fonksiyonlarında görev almaktadır (Rüfer vd., 2005). Kornea; epitel, bowman zarı, stroma, desme ve endotel olmak üzere 5 katmandan oluşmaktadır (Huang vd., 2009).

Epitel katman gözyaşı filmi ile kaplıdır. Bu katman kornea yüzeyini hasarlardan ve dış etkenlerden korumaktadır (Huang vd., 2009). Epitel tabaka lipofilik özelliktedir ve bu hidrofilik ilaçlara karşı bariyer özelliği göstermektedir (Rawas-Qalaji ve Williams, 2012). Bu tabakada bağlantıların fazla olması sebebiyle epitel hücrelerin çoğu sinir hücreleri ile ilişkilidir (Huang vd., 2009).

Bowman zarı 8-14 µm kalınlığında epitel tabakadan daha ince bir yapıdır. Bu tabakanın zarar görmesi halinde ilaçların korneadan geçişinde engel tabaka işlevi kalmamaktadır. (Rawas-Qalaji ve Williams, 2012).

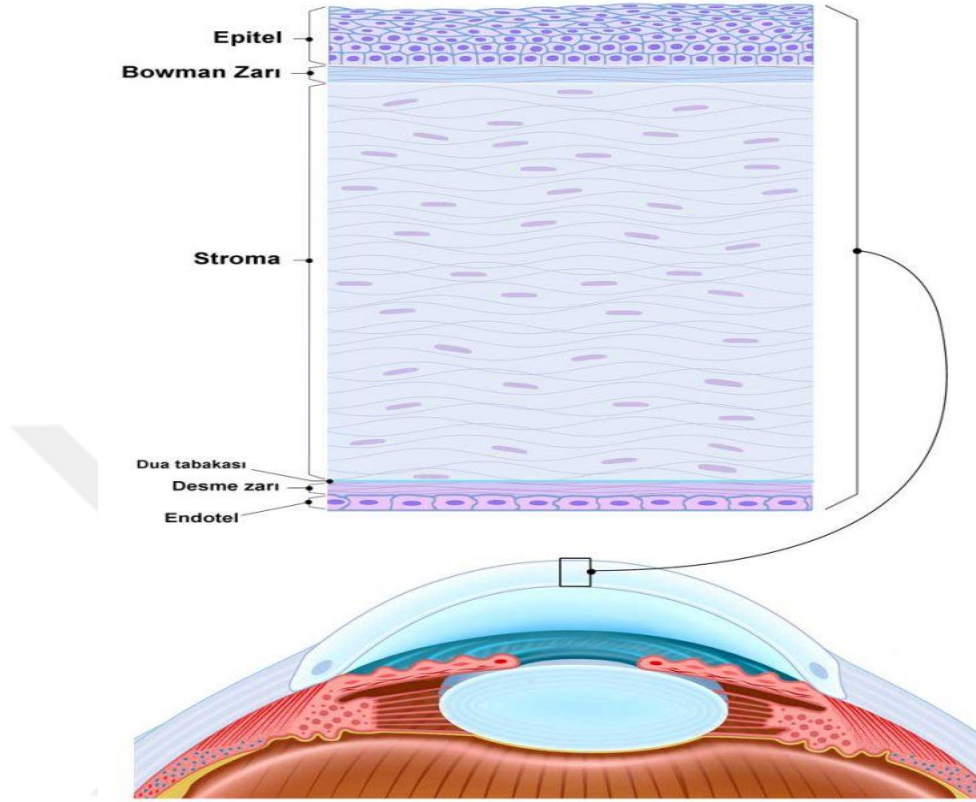
Stroma, hidrofilik bir tabakadır ve %80'i sudan oluşmaktadır. Diğer kalan kısmı ise proteinler, kollajen ve mukopolisakkaritlerden oluşmaktadır. Lipofilik yapıdaki ilaçların korneadan geçişinde stroma tabakası engel görevi görmektedir (Rawas-Qalaji ve Williams, 2012).

Descement membranı, 6 µm'lik ölçüde ince bir yapıdır. Oküler ilaç geçişinde bir etkisi olduğu bilgisine rastlanmamıştır (Willoughby vd., 2010).

Endotel tabaka rejenerasyon özelliği olmayan tek katlı bir yapıdır ve yaşlandıkça kalınlığı artmaktadır. Bu tabaka stromadan ozmotik bir gradyan oluşturmaktadır. Hücre içi ve membrana bağlı iyon pompaları bulunmaktadır (Huang vd., 2009).

Şekil 2.2

Kornea yapısının katmanları



Kaynak: http-2

2.1.1.3 Retina

Gözün iç kısmını dolduran ve vitreus boşluğunu çevreleyen yapı retinadır. Bu yapı sklera ve kornea ile korunmaktadır (Miller vd., 2005). Işığın beyne iletilmesini sağlayarak görüntünün oluşmasında görev almaktadır. Retinanın işlevi aydınlatılan bölge, gelen ışığın dalga boyu ve ışığa adaptasyon gibi etkilere bağlıdır (Willoughby vd., 2010). Gözün damar tabakası, melanin pigmenti sebebiyle koyu renkli bir yapıdır. Optik sinirin çevresindeki arterler ve oftalmik arterlerden iletilen damarlar ile beslenmektedir. Kan damarlarının geneli koroid, siliyer cisim ve iriste bulunmaktadır. Damar tabakası, kandan göze madde girişini sağlayan ve düzenleyen kan-oküler bariyerini oluşturmaktadır (Rawas-Qalaji ve Williams, 2012).

2.2 Oküler Enfeksiyonlar

Oküler enfeksiyonlarda en çok payı bulunan yapılar bakterilerdir. Enfeksiyon etkenleri; kontakt lensler, kronik nazolakrimal kanal tıkanıklığı, travma, ameliyat durumları, yaş

ve kuru göz sendromu gibi durumlardır. Bu etkenler sonucunda ortaya çıkabilecek oküler enfeksiyonlar ise; keratit, konjonktivit, endoftalmi, blefarit, dakriyosistit ve orbital selülit olabilmektedir (Ubani, 2009).

Konjonktivit, oküler enfeksiyonlar içerisinde en sık karşılaşılanıdır. Genellikle çocuklarda ve yaşlılarda görülmektedir (Hovding, 2008). Konjonktivit gözde kaşıntı, batma ve sulanma ile karakterize bir oküler iltihaptır. Tedavisinde mikrobiyolojik test sonuçları beklenmeden enfeksiyonun bakteriyel olduğu düşünülerek genellikle antibiyotik tedavisine başlanmaktadır (Epling, 2012). Bakteriyel konjonktivit oluşumunda göz kapağı dahil komşu yapılar da etkilenebilmektedir. Bu da diğer oküler enfeksiyonlar için risk oluşturmaktadır (Teweldemedhin vd., 2017). Enfeksiyon etkeni patojenlerin çoğunluğunun gram pozitif bakteriler olduğu görülmektedir (Bertino Jr, 2009). Ana bakteriyel patojenler yetişkinlerde *Staphylococcus* türleri, çocuklarda *Haemophilus influenzae* , *Streptococcus pneumoniae* ve *Moraxella catarrhalis*'tir (Epling, 2012).

Blefarit, göz kapağının enfeksiyonudur ve kirpik kaybı görülebilmektedir. Enfeksiyon göz kapağından yayılarak daha ciddi duruma gelebilmektedir (Teweldemedhin vd., 2017). Tedavisi geciken blefaritte yaygın olarak anormal kirpik büyümesi, göz kapaklarında yara görülebilmektedir. Blefarite sebep olan en yaygın patojen *S. aureus* olarak belirtilmektedir (Bertino Jr, 2009).

Bakteriyel keratit, travma veya yaralanma sonucu kornea epitel bariyerinin zarar görmesiyle ortaya çıkan oküler bir enfeksiyondur. Genellikle oküler travma, uzun süreli lens kullanımı ve geçirilmiş oküler cerrahi sonucunda görülebilmektedir (Green vd., 2008). Görme kaybının yaşanabileceği durumlar olduğundan teşhis ve tedavinin en hızlı şekilde yapılması gerekmektedir. Enfeksiyon patojeni genellikle gram pozitif bakterilerdir (Snyder ve Glasser, 1994). Oküler ağrı, görme azalması, fotofobi ve akıntı semptomları arasında yer alır (Bertino Jr, 2009; Rose, 2007).

Endoftalmi; katarakt, göz içi cerrahi uygulamalar ve oküler travma sonucu enfeksiyöz patojenlerin oluşturduğu bir komplikasyondur (Teweldemedhin vd., 2017). Endoftalmi yani göz içi enfeksiyonunun sıklıkla karşılaşılan patojenleri koagülaz negatif *Stafilokok* ve *Bacillus*'tur (Chhabra vd., 2006).

Dakriyosistit, nazolakrimal kanalın tıkanıklığından kaynaklanan bir iltihaptır (Teweldemedhin vd., 2017). Yetişkinlerde sebebi belirsiz olarak veya enfeksiyon, travma sebebi ile dakriyolit görülebilmektedir. Dakriyosistitte genellikle karşılaşılan

patojenler; *P. aeruginosa*, *S. aeruginosa*, *S. aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter*, *S. pneumoniae* olarak listelenmektedir (Kubal ve Garibaldi, 2008).

Orbital selülit, perioküler dokunun ciddi enfeksiyonudur. Görme kaybı oluşma riski yüksektir. Karşılaşılma sebepleri arasında; bakteriyemi, sinüzit, travma ve üst solunum yolu enfeksiyonları vardır. Görülen semptomlar ise gözde şişlik, ağrı, gözbebeği defekti ve görme kaybı durumlarıdır (Bertino Jr, 2009). Enfeksiyon patojeni ise genellikle *H. influenza* olarak belirtilmektedir (Rutar, 2005).

2.2.1 Oküler enfeksiyonlarda antibiyotik tedavisi

Oküler enfeksiyonlar tedavi edilmediğinde veya tedaviye geç kalındığında göz yapısına hasar vererek görme bozukluklarına veya görme kaybına sebep olabilen ciddi tablolar oluşturmaktadır (Baron vd., 2013). Bakteriyel enfeksiyonlarda, görme kaybını engellemek ve cerrahi müdahale gerektirecek durumları önlemek amacıyla çoğunlukla geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi tercih edilmektedir (Tablo 2.1) (Bertino Jr, 2009).

Tablo 2.1

Konjonktivit (n = 385) ve blefarit (n = 173) izolatlarının antimikrobiyal topikal preparatlara duyarlılığı

Topikal Antibiyotikler	İzolatların Duyarlılığı (%)
Kloramfenikol	94
Basitrasin/ polimiksin B	93
Ofloksasin	88
Siprofloksasin	85
Trimetoprim/ polimiksin B	84
Norfloksasin	82
Gentamisin	80
Basitrasin	79
Trimetoprim	73
Tobramisin	70
Neomisin	67
Eritromisin	49
Polimiksin B	27

Kaynak: Everett vd., 1995

Oküler enfeksiyonda antibiyotikler sistemik veya topikal olarak tercih edilebilmektedir. Topikal antibiyotikler enfeksiyonlu bölgede daha hızlı ve yüksek ilaç konsantrasyonuna ulaştığı için oküler enfeksiyonlarda daha çok tercih edilmektedir. Sistemik antibiyotik kullanımı oküler enfeksiyonlarda nispeten daha azdır (Snyder ve Glasser, 1994).

Oküler antibiyotik preparatları süspansiyon, çözelti veya merhem şeklinde olabilmektedir. Merhemler, süspansiyon ve çözeltilere göre gözden daha uzun sürede uzaklaştırılmaları nedeniyle etkileri daha uzun olmaktadır (Snyder ve Glasser, 1994; Bertino Jr, 2009). Oküler enfeksiyonları etkili bir şekilde tedavi edebilmek için geniş spektrumlu antibiyotikler kullanılmaktadır. Topikal antibiyotikler *in vitro* dirençli suşları yok ederek tedavi sağlamaktadır ancak gereğinden fazla damlatılması antibakteriyel ajanlara karşı direnç olmasına neden olmaktadır (Bremond-Gignac vd., 2011; Fintelman vd., 2011). Yapılan araştırmalara göre ciddi enfeksiyonlar ve kullanılan tedavinin başarılı olmaması durumları dışında florokinolonların kullanımının azaltılması, aminoglikozidler, fusidik asit ve rifampisin tedavide ilk seçenek olarak tercih edilmesi ile antimikrobiyal ajanların sadece gereklilik durumunda reçete edilmesi ve bakteri duyarlılık testleri ile antibiyotik tercihinin yapılması olarak özetlenmektedir (Isabelle vd., 2004; Blomquist, 2006; Robert ve Adenis, 2001).

Aminoglikozidler, bakteriyel ribozomun rRNA moleküllerine bağlanarak protein sentezini inhibe ederek etki göstermektedir. *Staphylococcus spp.*, *Haemophilus influenzae* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi geniş bir bakteri spektrumuna bakterisidal etki göstermektedirler. Bu grubun en bilinen ajanı tobramisindir. (Bremond-Gignac vd., 2011). Kloramfenikol bakteriyel protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki gösteren bir antibiyotiktir. Direnç oluşumu nadir de olsa görülmektedir (Duval ve Soussy, 1990). Fusidik asit gram pozitif koklardan özellikle *Stafilokok* türlerine karşı bakteriyel protein sentezini inhibe ederek etki göstermektedir. Etkisi bakteriyostatiktir fakat artan dozlarda bakterisidal etki de gösterebilmektedir (Portier ve Drugeon, 1994). Rifamisine bakteriyel DNA sentezini inhibe ederek etki göstermektedir (Bremond-Gignac vd., 2011). Tetrasiklinler bakteriyel protein sentezini inhibe ederek etki gösteren geniş spektrumlu bir antibiyotiktir (Sotto ve Jourdan, 1994). Polimiksin B gram negatif basillere bakterisid etki gösteren bir antibiyotiktir (Duval ve Soussy, 1990).

Florokinolonlar Bakteriyel DNA ve RNA sentezine etki eden moleküllerdir. *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi dirençli bakterilere de öldürücü etki göstermektedir (Domart ve Fantin, 1994).

Lomefloksasin, NFX, siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin bu grubun ajanlarıdır (Sood vd., 2018).

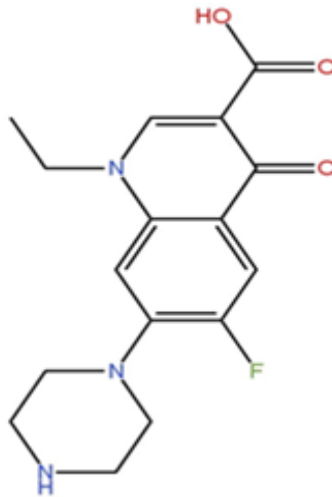
2.3 Norfloksasin

NFX, gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı etkili olan geniş spektrumlu bir florokinolon grubu ajandır (Chierentin ve Salgado, 2016). Kimyasal formülü $C_{16}H_{18}FN_3O_3$ 'tür (Şekil 2.3). Moleküler ağırlığı 319,331 g/mol'dür. Yaklaşık olarak 220°C ile 221°C arasında bir erime noktasına sahiptir. Fiziksel olarak açık sarı renkte ve kristal yapıda bir tozudur. Tat olarak acı ve kokusuzdur (O'Neil vd., 2006). NFX'in suda çözünürlüğü düşüktür. pH 7,5'te 0,45 mg/mL olarak gözlenmiştir (Swanson vd., 1983). Yapılan çalışmalar sonucunda NFX'in; etanol, 1-propanol, aseton ve kloroformdaki çözünürlüklerinin düşük olduğu ancak sıcaklığın artırılmasıyla çözünürlüğün çok az düzeyde arttığı gösterilmiştir (Zhang vd., 2010). Buzlu asetik asitte ise serbestçe çözündüğü gösterilmiştir (O'Neil vd., 2006).

NFX'in, fizyolojik bir pH aralığında iki proton grubu reseptörü bulunmaktadır. Piperazin halkasındaki dördüncü konumda nitrojene bağlı olan grup, alkali ortamda protonlanır. Karboksilik asit grubu ise hafif asidik şartlarda protonlanır (Mouton vd., 2005). pH 10' da ilacın %90'ından daha fazlası iyonik bir formdadır. pH 4,5 ve daha altında ise ilaç katyonik formdadır. NFX'in, pH 4,5 altında veya pH 8,0'ın üstünde olduğu durumlarda çözünürlüğü daha fazladır (Musa ve Eriksson, 2009).

Şekil 2.3

NFX'in kimyasal formülü



Kaynak: Sood vd., 2018

2.3.1 Norfloksasinin etki mekanizması

NFX nalidiksik asidin, florlu piperazinil ile tepkimesinden elde edilmiş ve ana bileşikten daha geniş antibakteriyel spektrum göstermektedir (Barry vd., 1984). NFX

özellikle, bakteriyel DNA girazı (topoizomeraz II) inhibe etmektedir (Sharma vd., 2008). DNA giraz, kovalent olarak kapalı dairesel DNA'yı negatif süper sarmallara çeviren bir enzimdir. Bu enzim adenosin trifosfatın (ATP) hidrolizi sonucu açığa çıkan enerjiyi biriktirerek süper sarmalların oluşmasını sağlamaktadır. NFX'in, doğrudan DNA giraz üzerine etki ederek DNA sentezi ve replikasyonunu engellediği ve böylece hücreleri öldürdüğü düşünülmektedir (Goldstein, 1987; Lee ve Ronald, 1987).

2.3.2 Norfloksasinin endikasyonları

Gram-negatif bakterilere karşı antibakteriyel etkisi nalidiksik aside göre daha fazladır. Ayrıca nalidiksik asitten daha fazla, *Pseudomonas aeruginosa* ve bazı gram-pozitif patojenlere karşı da etkilidir (Barry vd., 1984). *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* ve *Citrobacter* türleri, *S. saprophyticus* da dahil olmak üzere stafilokoklar ve çoğu gram-negatif patojenler NFX'e duyarlıdır. Birçok anaerobik bakteri türleri NFX'e karşı orta düzeyde duyarlıdır, bazıları ise dirençlidir. NFX'in antifungal bir özelliği bulunmamaktadır ancak *Candida* türlerine karşı antifungal ajanlarla birlikte kullanıldığında sinerjik etki yaptığını gösteren çalışmalar vardır. NFX'e karşı direnç oluşumunun yavaş olduğu gözlemlenmiştir. Çoklu direnç gösteren birçok bakteri türüne karşı aktivitesi iyidir (Holmes vd., 1985).

NFX, komplike olmayan gonokok enfeksiyonlarında, diyare tedavisinde ve kanserli nötropenik hastalarda enfeksiyon profilaksisi amaçlı klinik deneyimler gözlemlenmiştir (Lee ve Ronald, 1987). NFX'in; üriner sistem enfeksiyonlarında (sistit, piyelit, sistopyelit, piyelonefrit, kronik prostatit, ürolojik cerrahi ve nörojenik mesane ile ilgili enfeksiyonlar), akut gastroenterit, penisilinaz üretemeyen *Neisseria gonorrhoeae* suşlarının sebep olduğu gonokokal servisit, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes* ve *Serratia marcescens*'in sebep olduğu enfeksiyonlarda, kornea ve konjonktivayı kapsayan yüzeysel göz enfeksiyonlarında, tifo ateşi ve bazı gram-pozitif organizmaların sebep olduğu enfeksiyonlarda (*Streptococcus pneumoniae* hariç) etkili olduğu gösterilmiştir (Ramirez-Ronda vd., 1987; Roner vd., 2004; Gauzit ve Lakdhari, 2012). Gram-negatif bir bakteri olan *Pseudomonas aeruginosa*, yaygın bir göz hastalığı olan bakteriyel keratitin etkenidir. Hızlı ilerleyen bu enfeksiyon için florokinolon türevi geniş spektrumlu ajanlar tercih edilmektedir (Constantinou vd.,

2007). NFX'in suda çözünürlüğünün düşük olması oküler enfeksiyonlarda kullanım olanağını sınırlamaktadır (Lin vd., 1996).

2.3.3 Norfloksasinin farmakokinetik özellikleri

NFX oral olarak 400 mg'lık tek doz olarak kullanılır. 1- 2 saat içerisinde 1,35- 1,58 mg/L değerleri arasında maksimum serum konsantrasyonuna ulaşmaktadır. Biyoyararlanımı yaklaşık olarak %70'dir. Gıdalar ile birlikte alındığında emilim bir miktar gecikmektedir. NFX'in vücut dokularına dağılımı ile ilgili veriler kısıtlıdır. Ancak karaciğer dokusunda ve safra kesesinde serum konsantrasyonlarının daha yüksek olduğu görülmüştür (Adhami vd., 1984; Holmes vd., 1985). Serumda bulunan ilacın yaklaşık %15'i plazma proteinlere bağlı haldedir. 200 mg'lık bir oral doz kullanımından sonra insan sütünde NFX'e rastlanmamıştır. Lipofilitesi nispeten düşük olduğundan merkezi sinir sistemi penetrasyonu çok azdır (Chierentin ve Salgado, 2016).

NFX'in metabolizması ve atılımı, safra ve böbrek yoluyla gerçekleşmektedir (Chenel vd., 2004). Oral olarak alınan dozun yaklaşık %30'u değişmeden idrarla atılmaktadır. NFX'in, sağlıklı kişilerde eliminasyon yarı ömrü 3,5-6,5 saat arasındadır. Böbrek yetmezliği olan hastalarda NFX serum yarı ömrü kreatin klerensinin azalmasıyla artmaktadır. Karaciğer fonksiyon bozukluklarının ise NFX farmakokinetiğine bir etkisi bulunmamaktadır (Adhami vd., 1984; Holmes vd., 1985).

2.3.4 Norfloksasinin yan etkileri

Oral NFX kullanımında sık karşılaşılan advers etkilerden gastrointestinal rahatsızlıklar, hastaların ortalama %2-4'ünde görülmektedir. Sinir sistemine etkiler daha azdır. Baş dönmesi, uyuşukluk hali ve baş ağrısı gibi rahatsızlıklar görülebilmektedir (Holmes vd., 1985).

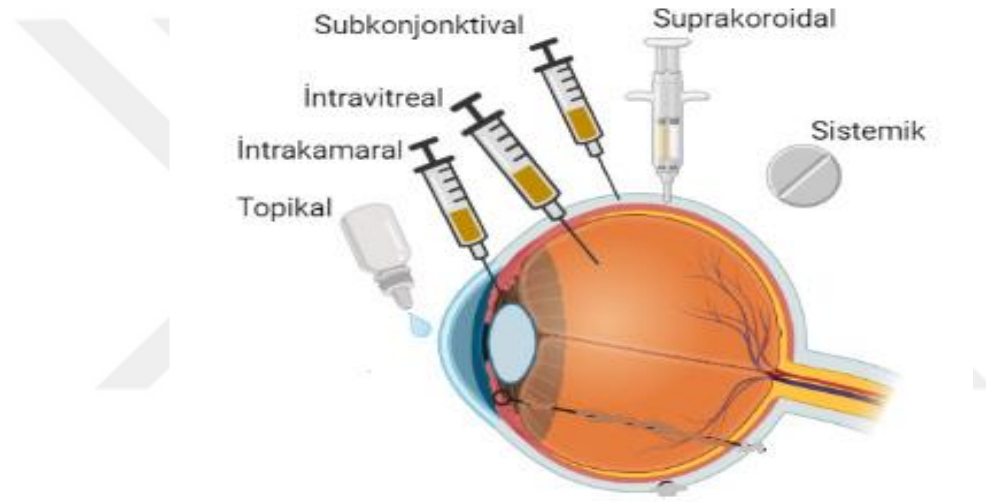
2.4 Oküler ilaç uygulamaları

Oküler olarak pek çok farklı şekilde ilaç uygulanabilirken (Şekil 2.4) topikal uygulamalarda temel olarak bir ilaç kornea, konjonktiva ya da skleradan geçerek etki gösterebilmektedir (Kang-Mieler vd., 2014). Gözden ilaç geçişinde kornea önemli bir faktördür. Kornea yapısı gereği doğal yoldan bariyer görevi görmektedir (Mofidfar vd., 2021). İlaç korneal yüzeye uygulandığında gözün arka kısımlarına da geçerek retinal epitel tabakasındaki koroid damarlar ile sistemik dolaşıma ulaşabilmektedir (Gaudana vd., 2009; Weng vd., 2017). Ancak birçok ilaç retina bölgesine ulaşmadan gözden

uzaklaştırılmaktadır. Korneaya alternatif olarak konjontiva ve skleradan da ilaç geçişi mümkündür. Konjontiva tarafından emilen ilaç; sklera, koroid, retina ve vitreus yolunu takip etmektedir. Koroid yapısında sistemik emilim de görülebilmektedir (Xu vd., 2018; Weng vd., 2017). Konjontiva yüzey alanı bakımından korneadan çok daha büyüktür. Bu sebepten hidrofilik yapıdaki ilaçların geçişi konjontivada daha fazladır (Zhang vd., 2004; Watsky vd., 1988).

Şekil 2.4

Oküler ilaç uygulama yolları



Kaynak: <http-3>

2.4.1 Oküler ilaç emilimini etkileyen faktörler

Oküler uygulamalarda oküler biyoyararlanımı etkileyen faktörler arasında gözün anatomik yapısını yanı sıra gözyaşı ve mekanik hareket ile gerçekleşen gözün doğal temizleme mekanizmasıdır (Jani vd., 2002). Göze uygulanan çözeltiye göz yüzeyinde kalabilecek çözelti hacmi ortalama 5-10 μL olarak belirtilmektedir. Günümüzde kullanılan göz damlalarında bir damla ortalama 50 μL hacme sahiptir. Gözde bulunan lakrimal bezden; su, antimikrobiyal enzimler, lizozimler, tuzlar ve mukus içeriğine sahip gözyaşı sıvısı üretilmekte ve gözyaşı ile yıkanan göz yüzeyinden oluşan kayıp sebebiyle göz damlasının büyük bir kısmı gözden uzaklaşmakta ve sonuç olarak topikal olarak uygulanan çoğu ilacın oküler biyoyararlanımı oldukça düşük olmaktadır (Jani vd., 2002).

2.4.1.1 Oküler fizyolojik bariyerler

Göze uygulanan oftalmik ilaçların biyoyararlanım oranlarının düşük olma nedenleri temel olarak fizyolojik bariyerlerin varlığı ile ilişkilendirilmektedir. Oküler membranların karakteristik özelliklerinin yanı sıra gözyaşı devinimi biyoyararlanımı etkileyen önemli faktörler olarak değerlendirilmektedir (Urtti, 2006; Barar vd., 2008; Mofidfar vd., 2021).

2.4.1.1.1 Gözyaşı filmi

Topikal olarak uygulanan bir çözeltinin gözde karşılaştığı ilk engel gözyaşı filmidir (Morrison ve Khutoryanskiy, 2014). İlacın büyük bir kısmı göz kırpması ve gözün dairesel hareketleri ile gözden hızlı bir şekilde uzaklaştırılmaktadır. Gözyaşı filminin 6-7 µm kalınlığa sahip, lipid tabakası, sulu katman ve müsin tabakası olmak üzere üç katmandan oluşmaktadır (Xu vd., 2018; Morrison ve Khutoryanskiy, 2014). En dış tabaka lipid tabakasıdır ve sulu katmanın buharlaşmasını engellemektedir. Ayrıca yüzey gerilimini koruyarak gözyaşı tabakasını kararlı hale getirmektedir (Agarwal vd., 2016). Gözyaşının %90'nını su, elektrolitler, proteinler, peptitler ve glikoproteinlerden oluşan sulu tabaka oluşturmaktadır. İnsan gözyaşı filminin hacmi 7-30 µL'dir ve ortalama gözyaşı devir hızı ise 1,2 mL.dk⁻¹'dir (Ali ve Byrne, 2008; Ghate ve Edelhauser, 2008). Bu nedenle oftalmik preparatlarda hacim küçüldükçe ilaç konsantrasyonunun artırılması gerekmektedir. Gözyaşı filminin en alttaki tabakası müsin tabakasıdır. Konjonktiva ve kornea ile bitişik şekilde bulunmaktadır (Mandal vd., 2017). Bu tabaka, kornea ve konjonktiva hücreleri ile sulu tabaka arasındaki yüzey gerilimini azaltmakta görev almaktadır. Bu da kornea epiteline sulu tabakanın bağlanmasını sağlamaktadır. Gözyaşı film tabakasındaki bu bağlantılar ve yapısında bulunan enzimler ile ilaçlar korneaya ulaşamamakta ve gözün hareketleri ile dışarı atılmaktadır. (Cwiklik, 2016; Bron vd., 2004).

Gözyaşının osmolaritesi normal sodyum klorür çözeltilerine yakın değer göstermektedir. Ortalama olarak 290-310 mOsm/kg'dır. Gözde daha az tahrişe sebep olan solüsyonların osmolaritesi 100-640 mOsm/kg arasındadır. Gözde ortalama pH 7,4'tür. Gözün tamponlama yeteneği olsa da göze uygulanan ilacın pH değeri yine de önem taşımaktadır. İlaç asidik bir yapıda ise denatüre proteinler ile çözünmeyen maddeler oluşabilmektedir. Kuvvetli bazik yapıdaki ilaçlar ise hücre zarlarına zarar verebilmektedir. Göz yapısı dengesi korumak için uygun olmayan yapıdaki damlaları nazolakrimal kanal ile dışarı atmaktadır. Bu durum da kullanılan ilacın

biyoyararlanımını olumsuz etkilemektedir. İdeal olarak oküler formülasyonların pH değerlerinin 7,0-7,7 arasında olması gerekmektedir (Rawas-Qalaji ve Williams, 2012).

2.4.1.1.2 Kornea Bariyeri

Korneanın çapı 11,7 mm ve kalınlığı yaklaşık 0,5-0,7 mm'dir. En dış katmanı olan epitelyum tabakası hidrofilik ilaç geçişine karşı engel görevi gören lipofilik bir yapıya sahiptir (Sridhar, 2018). Kornea tabakası epitel dokuya hücreler arası bağlantı yaparak tutunmakta ve bu şekilde bariyer fonksiyonu sağlamaktadır. Kornea epitelinin bütünlüğünü sağlayan ve bitişik hücrelere sabitlenmeyi sürdüren şey bu hücreler arası bağlantılardır. Kornea epitelinin katmanları arasında dağılan bağlantılar kompleks bir ağ tabakası oluşturmaktadır. Bu ağ tabakası ilaç geçişini zorlaştıran bir bariyer görevi görmektedir (Downie vd., 2021; Mantelli, 2013). Bowman tabakasının yapısında bulunan kollajen lifleri iç içe geçen bir kompleks oluşturmaktadır. Bu kısım ilaçların geçişine daha az engel olmaktadır (Wels vd., 2021). Stroma tabakasının yapısında tip I kollajen bulunmaktadır. Bu yapıya sertlik ve şeffaflık özelliği sağlamaktadır. Stroma hidrofilik yapı olduğu için hidrofilik ilaçların geçişine gösterdiği direnç düşüktür. (Molokhia vd., 2013; Ramsay vd., 2018). Stromanın en altında yer alan descement zarı büyük gözenek yapısı ile moleküllerin geçişinde engel oluşturmamaktadır. En iç tabaka olan endotelyum tabakası lipofilik ve apolar ilaçlar için geçirgenliği fazladır (Molokhia vd., 2013; Ramsay vd., 2018). En iç tabaka olan endotelyum tabakası lipofilik ve apolar ilaçlar için geçirgenliği fazladır (Molokhia vd., 2013; Ramsay vd., 2018). Korneadan etkin maddelerin geçişi temel olarak aktif ve pasif taşıma mekanizmaları ile gerçekleşmektedir. Suyun ve çözünen diğer maddelerin taşınmasında ve ilaçların emilimininde lipofilik bir yapı olarak görev yapmaktadır (Wels vd., 2021; Prausnitz ve Noonan, 1998).

Oküler hücrelerden madde geçişinde; peptid-histidin taşıyıcı ve proton bağlı di-peptid ve tripeptid taşıyıcılar kullanılmaktadır (Gaudana vd., 2010). Yapılan çalışmalarda ön ilaçların taşıyıcılar ile göze geçiş yaptığı gösterilmiştir. Oküler biyoyararlanımı artırmak ve dokuya özgü ilaç geliştirmede bu peptid taşıyıcı sistemler üzerinden çalışmalar yapılabilmektedir. Gözde bilinen besin taşıyıcıları GLUT1, GLUT3, GLUT4 ve GLUT5'dir. İlaç taşınmasının kolaylaştırılmasında verimli olarak kullanılamamaktadır. Çünkü bu taşıyıcılar substrata özel olarak çalışmaktadır (Gaudana vd., 2009). ATP bağlayıcı protein yapısında taşıyıcılar da bulunmaktadır. P-glikoprotein bu

taşıyıcılardandır. Korneada, konjonktival epitel hücrelerde, retina hücrelerinde, iris ve siliyer kas hücrelerinde bulunmaktadır (Rawas-Qalaji ve Williams, 2012).

2.4.2 Oküler ilaç uygulamalarındaki kısıtlamalar

Topikal olarak uygulanan göz formülasyonlarında ilacın karşılaştığı ilk engel gözyaşıdır. Göz kırpma, gözyaşı devir hızı gibi faktörler ilacı gözden uzaklaştırmaktadır. Kornea bariyerinin bulunması da gözde ilaç geçişinde bir dezavantajdır (Gan vd., 2013; Shirasaki, 2008). Kornea epitelinde bulunan apikal hücreler tarafından jel oluşturucu münler üretilmektedir. Bu münler; hücre dışı yapıların, patojenlerin ve alerjenlerin gözden atılmasını sağlamaktadır (Kambhampati ve Kannan, 2013). Dış yüzeysel epitel hücreler ile lipofilik epitel hücreler arasındaki bağlantılar ilaç geçişinde bir başka dezavantajı oluşturmaktadır (Baba vd., 2011). Lipofilik olmayan moleküller ise hücrelerarası sıkı bağlantılardan geçerek kornea epiteline az miktarda ulaşabilmektedir. Endotel yapının geçirgenliği epitel yapıdan daha fazladır (Hegde vd., 2013; Zhang vd., 2004). Gözdeki lipofilik epitel dokusu ve hidrofilik stroma yapısı ilaç geçişinde seçicilik oluşturmaktadır (Mofidfar vd., 2021). Özellikle hidrofilik yapıdaki formülasyonların gözden geçişinde oluşan zorluklar sebebiyle yeni yöntem arayışları doğmuştur. Genetiği değiştirilmiş protein taşıyıcılar kornea geçirgenliğini artırmada büyük ilgi görmüştür. Ancak yeterli ilerleme görülememiştir (Zhang vd., 2004; Prausnitz ve Noonan, 1998).

2.5. Oküler Biyoyararlanımı Artırmak İçin Geliştirilen Yöntemler

Korneadan ilaç geçişini artırarak kaybı azaltmak amacıyla yeni yaklaşımlar geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu yaklaşımlar arasında en çok penetrasyon artırıcı, viskozite artırıcı, mukoadesiv özellikteki maddeleri çeren formülasyonların yanısıra özellikle nano boyutlara sahip yeni geliştirilen ilaç taşıyıcı sistemler ile ön ilaç ile hazırlanan formülasyonlar sayılabilmektedir (Lanier vd., 2021).

Oftalmik formülasyonlarda penetrasyon artırıcı olarak çoğunlukla siklodekstrinler, disodyum EDTA ve benzalkonyum klorür kullanılmaktadır. Benzalkonyum klorür formülasyonlarda hem koruyucu hem de penetrasyon artırıcı olarak tercih edilmektedir (Moiseev vd., 2019). Viskozite artırıcılar olarak, molekül ağırlıkları 5-10 kDa arasında olan çeşitli hidrofilik polimer kullanılabilmektedir. Korneal bölgeden geçişte düşük molekül ağırlıklı polimerler daha kolay geçişe sahip olmaktadır (Achouri vd., 2013). İlacın gözde kalış süresini uzatmak amacıyla viskozite artırıcı maddelerin yanısıra

mukoadezif özelliğe sahip madde ve polimerler de kullanılabilir. Gözün yüzeyinde dış etkenlerden koruyucu olarak bulunan mukus katmanı pH 7,4 değere ve negatif yüke sahiptir. Bu nedenle pozitif yüklü formülasyonların korneal bölgede elektrostatik etkileşimlere bağlı olarak daha uzun süre tutunması mümkün olmaktadır (Başaran ve Yazan, 2012). Son yıllarda geliştirilen nano yapıları ilaç taşıyıcı sistemler oküler biyoyararlanımı artırmak, ilaç salımını uzatmak ve hedefleme yapmak amacıyla tercih edilmektedir (Lanier vd., 2021).

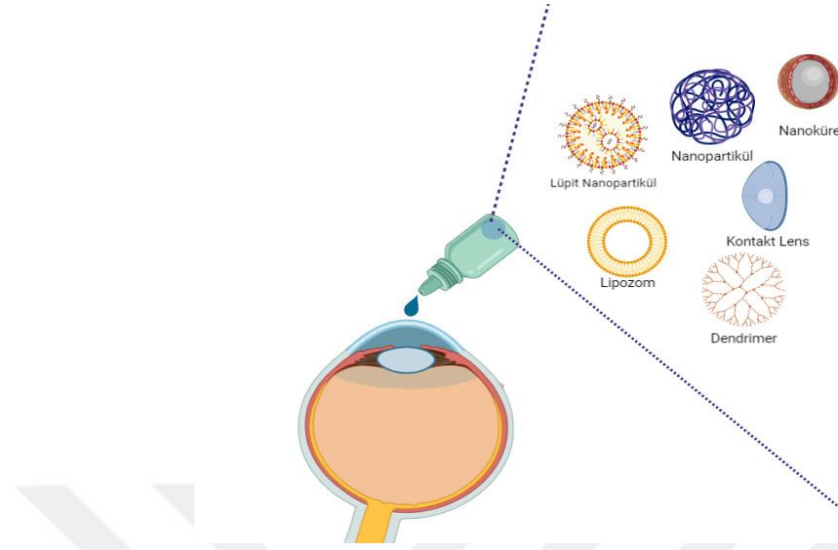
2.5.1 Oküler yeni ilaç taşıyıcı sistemler

Ticari olarak bulunan oküler formülasyonlar genellikle süspansiyon, merhem ve çözelti şeklindeki konvansiyonel ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Bu formülasyonlar gözün ön kısmını hedef alarak tedavide rol oynamaktadır. Ancak gözün doğal yapısı ve lakrimasyon, gözyaşı filmi, gözyaşı döngüsü gibi fizyolojik engeller sebebiyle uygulanan ilaçların biyoyararlanımı düşük olmaktadır (Lang, 1995; Le Bours vd., 1998). Oküler biyoyararlanımı artırmak için formülasyonlara siklodekstrin ve viskozite artırıcı gibi maddeler eklenerek yeni yöntemler denenmiştir. Ancak beklenen etki görülememiştir (Jain vd., 2004). Oküler enfeksiyonların tedavisi gereği ilaç uygulama sıklığı fazladır. Hem sık uygulamayı azaltmak hem de biyoyararlanımı artırmak için nanotaşıyıcı içeren yeni sistemler geliştirilmiştir. (Nayak ve Misra, 2018). Nanotaşıyıcı sistemler ile kontrollü salım ve hedefleme yapmak mümkün olmuştur (Girdhar vd., 2018). Boyutları 10-1000 nm arasında değişen belirli bir yüzey yüküne sahip parçacıklardır (Patra vd., 2018).

Nanotaşıyıcı sistemler; mikroemülsiyon, nanosüspansiyon, katı lipid nanopartikül, polimerik nanopartikül, lipozom, niozom, dendrimer ve nanotaşıyıcı jel sistemler olmak üzere pek çok farklı sistemi barındırmaktadır (Şekil 2.5) (Onugwu vd., 2023; Rapalli vd., 2019).

Şekil 2.5

Oküler ilaç uygulamada yeni sistemler



Kaynak: <http-3>

Oküler ilaç uygulamada nano yapılı ilaç taşıyıcı sistemlerin üstünlükleri arasında oküler engelleri daha kolay aşmaları, ilacın gözde kalış süresini uzatmaları, kontrollü salım ve hedefleme imkanı sağlamaları, ilaç uygulama sıklığını azaltmaları, hasta uyuncunun yüksek olması sayılabilmektedir (Onugwu vd., 2023; Rapalli vd., 2019).

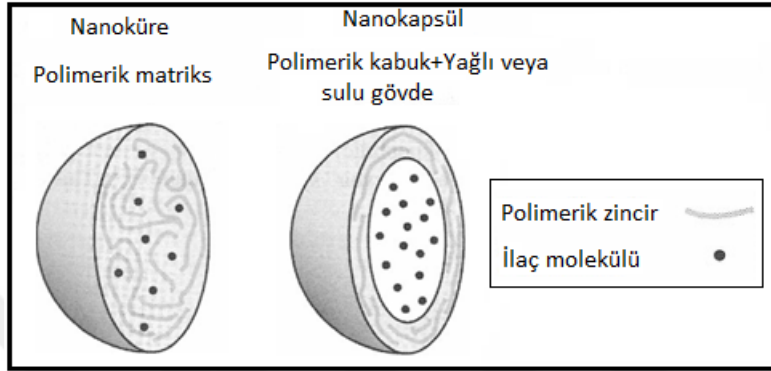
2.6 Polimerik Nanopartiküller

Nano yapılı ilaç taşıyıcı sistemler arasında polimerik nanopartiküller öne çıkmaktadır. Polimerik nanopartiküller 10-1000 nm arasında değişen boyutları ile doğal ve sentetik polimerlerden hazırlanan sistemlerdir. Nanopartiküller etkin maddenin polimer içindeki yerleşimine göre etkin maddenin matris içinde homojen dağıldığı durumlarda nanoküre ve etkin maddenin matris içinde enkapsüle edildiği durumlarda nanokapsül olarak adlandırılrsa da genel olarak nanopartikül olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.6) (Vasir vd., 2005; Singhvi vd., 2018). Nanoküreler polimerik ağdan oluşan katı kürelerdir. Matris şeklinde büyük yüzey alanına sahiptirler. İlaç yüzeyde adsorbe edilebileceği gibi partikül içerisinde de saklanabilmektedir. Nanokapsüller ise polimerik bir zar ile çevrilmiş bir çekirdek yapısındadır. Formülasyonlarında kullanılan polimerlerin ve hazırlanma yöntemlerinin çeşitliliğine göre çok farklı özelliklere sahip taşıyıcıları hazırlamak mümkün olmaktadır. (Ameeduzzafar vd., 2016).

Oküler çalışmalarda ilaç yüklü nanopartiküler taşıyıcı sistemlerin göz bariyerlerini aşarak, pasif veya ligand hedefli olarak hücre içi yapılara kolaylıkla ulaşabildiği görülmektedir (Vasir vd., 2005).

Şekil 2.6

Nanopartikül yapısı



Kaynak: Derman vd., 2013

Nanopartiküllerin hücre içine geçişinde öncelikle boyut ve yüzey özellikleri rol oynamaktadır. Bu özellikler nanopartikül hazırlama yöntemlerine göre değişkenlik göstermektedir (Rao ve Geckeler, 2011). Polimerik nanopartiküllerden ilaç salınımının kontrol edilmesinde bazı mekanizmalar etkilidir. Bunlar; polimerin biyolojik parçalanma oranı ve matriksten ilaç difüzyon oranlarıdır (Kamaly vd., 2016).

Polimerik yeni ilaç taşıyıcı sistemlerde polimerin biyolojik parçalanabilirliği ve biyoyumumluluğu önemlidir. Biyoparçalanır polimerler vücuttan metabolize edilerek atıldıkları için daha avantajlıdır (Marin vd., 2013). Doğal polimerler çoğunlukla biyoyumlu ve biyoparçalanabilir bir yapıdadır. Ancak yapılarının değişkenlik göstermesi ve immünojenik özellikleri sebebiyle kullanımları azdır. Sentetik polimerlerin kimyasal içeriklerinin kontrollü olması sebebiyle daha sık tercih edilmektedir. Bir polimerik nanopartikül hazırlanmasında; proteinler, şekerler, doğal yapıda makromoleküller ve sentetik veya doğal polimerler kullanılmaktadır (Joshi ve Patel, 2012; Mansour vd., 2010). Bu maddeleri kullanarak bir nanopartikül hazırlanmasında çeşitli teknikler geliştirilmiştir (Allouche, 2012).

2.6.1 Polimerik nanopartiküllerin üstünlük ve sakıncaları

Polimerik nanopartiküller küçük boyutları sayesinde gözün her iki bölümünü de ulaşabilmekte ve kronik rahatsızlıklarda hasta uyumunu artırmaktadır. İlaç salınım

süresinin uzun olması ve azaltılmış eliminasyon oranları polimerik nanopartiküllerin üstünlükleri arasındadır (Bachu vd., 2018). Polimerik nanopartiküllerin boyutları genellikle <400 nm olduğundan oftalmik kullanım için uygundur. Oküler dokulara hedefleme yapılabileceği için gözden ilaç kaybı engellenir ve terapötik etkinlik artırılır. Hücre içi penetrasyon artırabilmektedir. Böylece ilaç Emilimi ve biyoyararlanım artırılmaktadır. İlacın bozunma süresinde uzama da sağlanmaktadır (Almeida vd., 2014; Gorantla vd., 2020).

Polimerik nanopartiküllerin sakıncaları arasında parçacıkların bir araya toplanarak agregatları oluşturmaları ve düşük ilaç hapsetme kapasitesi formülasyon geliştirmede karşılaşılan engellerdir. Partikülün yüzey alanının büyük olması etkin maddenin hızlı salınmasına sebep olmaktadır. Bu da uzun süreli tedavi gerektiren hastalıklarda kullanılmasını sınırlamaktadır. Bir diğer sakınca ise polimerik nanopartiküllerin sitotoksik özelliğinin bulunmasıdır (Almeida vd., 2014; Gorantla vd., 2020).

Polimerik nanopartiküller, oküler ilaç taşıyıcısı olarak umut verici sistemlerdir. Bu sistemlerle çeşitli biyoaktif bileşikler uygun koşullar altında kolaylıkla geliştirilebilmektedir. Konvansiyonel oküler preparatlar ile kıyaslandığında nanopartiküler sistemlerin yüksek penetrasyon yetenekleri ve gözden daha yavaş uzaklaşmaları sebebiyle biyoyararlanım oranlarının daha yüksek olduğu görülmektedir (Liu vd., 2016).

2.6.2 Polimerik nanopartikül hazırlanmasında kullanılan polimerler

Polimerik nanopartikül hazırlanmasında doğal, sentetik ve yarı sentetik polimerler kullanılabilir (Gref vd., 1994). Doğal polimerler; daha düşük toksisite göstermeleri, biyouyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir olmaları sebebiyle sentetik olanlara göre daha çok tercih edilmektedir. Ayrıca doğal polimerler büyük oranda kararlı, ekonomik ve kolay işlenebilir özelliktedir. Kaynaklara göre genellikle kullanılan doğal polimerler; kitosan, aljinat, jelatin ve albümin gibi polimerlerdir. (Sabra vd., 2019; Elmowafy vd., 2023). Sıklıkla kullanılan sentetik polimerler ise; polilaktik asit (PLA), poli(laktit ko-glikolitler) (PLGA), polikaprolakton (PCL) ve poli(amidoamin) gibi polimerlerdir (Elmowafy vd., 2023).

2.6.2.1 Eudragit® RS100

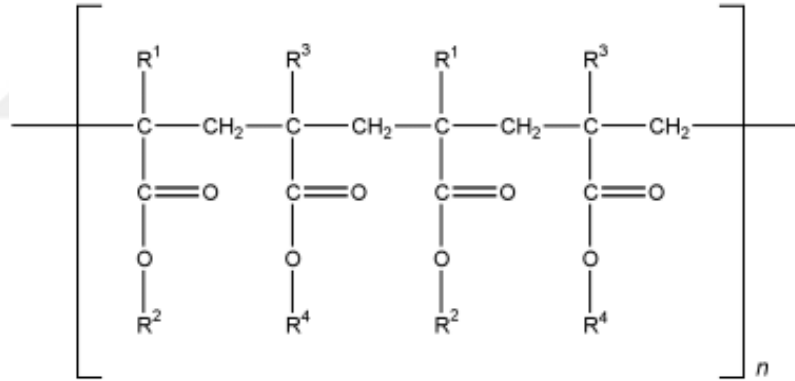
Eudragit polimerleri, yeni ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesinde sıklıkla tercih edilen polimetakrilatlardır. Kimyasal yapılarının, çözünürlük ve şişme özelliklerinin çok yönlü

olmasıyla bilinirler (Dos Santos vd., 2021). Eudragitler ortak bir yapıya sahiptir. Ancak farklı kimyasal yapıları içermeleriyle birbirlerinden ayrılmaktadır. Genellikle katyonik, anyonik ve nötr olarak ayrılırlar. Toz, granül, sulu dispersiyon ve organik çözelti şeklinde bulunabilmektedirler (Patra vd., 2017).

Eudragit®RS100 (ERS) özellikle nanokapsül hazırlanmasında kullanılan bir polimerdir. Bu polimer, poli(etil akrilat, metil metakrilat, trimetilamonyoetil metakrilat klorür) katyonik biyouyumlu bir kopolimeridir (Trapani vd., 2007). Kuaterner amonyum grupları içerir ve suda çözünmemektedir. Bu kuaterner amonyum grupları sebebiyle pH'tan bağımsız geçirgenlik özelliği bulunmaktadır. İlaç salım süresini uzatmak ve salımı geciktirmek amacıyla tercih edilen bir polimerdir (Horoz vd., 2006). Fiziksel özellik olarak; renksiz, amin benzeri kokusu olan granül yapısındadır (Singh vd., 2015). Molekül ağırlığı 32000 g/mol'dür ve camsı geçiş sıcaklığı 64 °C'dir (Dos Santos vd., 2021).

Şekil 2.7

ERS'nin kimyasal yapısı



Kaynak: Reddy vd., 2013

2.6.2.2 Polikaprolakton

PCL, 1930'larda sentezlenen en eski polimerlerden biridir (Natta vd., 1934). Hidrofobik özellikte yarı kristalin bir polimerdir. Molekül ağırlığının artmasıyla kristalinitesi azalmaktadır. PCL 59-64 °C arasında değişiklik gösteren bir erime sıcaklığına ve -60 °C'de camsı geçiş sıcaklığına sahip bir polimerdir. PCL'nin moleküler ağırlığı 3000-80.000 g/mol arasındadır. PCL numuneleri moleküler ağırlığına göre derecelendirilebilir (Hayashi, 1994). PCL oda sıcaklığında diklorometan, benzen, toluen ve kloroformda çözünür. Aseton, etil asetat, asetonitril ve 2-bütanonda çözünürlüğü

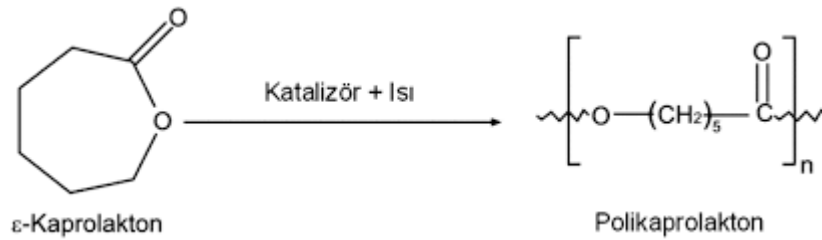
düşüktür. Alkol ve dietil eterde ise çözünürlük göstermez (Coulembier vd., 2006). PCL mikrokapsül sistemlerinden ilaç salım hızını düzenlemek için selüloz asetat bütirat, polilaktik asit ve polilaktik asit-ko-glikolik asit gibi polimerler ile birlikte kullanımı tercih edilmiştir (Chandra ve Rustgi, 1998).

PCL açık havada bulunan mantar ve bakteriler tarafından biyolojik olarak parçalanabilmekte fakat gerekli enzimlerin bulunmaması sebebiyle insan vücudunda parçalanamamaktadır (Vert, 2009). Ancak bu biyolojik olarak emilemeyeceği anlamına gelmemektedir. Öncelikle hidrolitik bir parçalanma gerçekleşerek polimerin vücutta dağılması süresinin uzadığı görülmüştür. Böylece ilaç salım sürelerinde avantaj sağlayarak uzatılmış etki elde edilebilmektedir (Woodruff ve Hutmacher, 2010).

PCL; yüksek biyoyumumluluk gösterme, biyolojik olarak emilme ve vücuttan tamamen atılabilme özellikleri sebebiyle kontrollü ilaç salımı için uygun bir polimerdir. Biyolojik bozunma süresi diğer polimerlerle karşılaştırıldığında daha yavaştır. Ayrıca PCL istenen salım profilini oluşturma ve bozunma kinetiğini etkileyen özellikleri sebebiyle diğer polimerlerle geçimli karışım oluşturabilme yeteneğine sahiptir (Sinha vd., 2004; Woodruff ve Hutmacher, 2010).

Şekil 2.8

PCL'nin kimyasal yapısı



Kaynak: Çelebi ve Karagöz, 2019

2.6.3 Polimerik nanopartikül hazırlama yöntemleri

Bir nanopartikül hazırlama yöntemi; polimerin özelliklerine, ilacın fizikokimyasal yapısına ve istenen formülasyona göre seçilmektedir. Polimer çöktürme işlemi bu yöntemlerin ortak basamağıdır. Bu olay solvent olmayan bir madde ilave edilmesi veya polimerin çözünürlüğünün azalması sonucu oluşabilir. Polimerik nanopartiküller genellikle fiziksel ve kimyasal stabiliteyi düşük olan süspansiyon şeklinde hazırlanmaktadır. Bu stabilite problemini çözmek ve taşıma, depolama gibi durumları

kolaylaştırmak için dondurarak kurutma en yaygın kullanılan yöntemdir. Dondurma işlemi sırasında nanopartikülleri korumak için kriyoprotektan ve liyoprotektanlar kullanılmaktadır (Abdelwahed vd., 2006). Nanopartikül hazırlama yöntemlerine göre formülasyonda çeşitli yabancı maddeler bulunabilir. Bu yabancı maddeleri uzaklaştırmak için filtrasyon, santrifüj, diyaliz işlemleri genellikle uygulanan saflaştırma yöntemleridir (Dalwadi vd., 2005).

Emülsiyon yapısı, kararlılığı sağlamak için iki sıvı arasındaki yüzey gerilimini azaltan yüzey etkin maddelerin de formülasyona eklenmesi ile hazırlanan sıvı fazın karıştığı veya kısmen karışması ile oluşmaktadır. Genellikle su içinde yağ veya tersi şeklinde hazırlanmaktadır. Damlacık büyüklüklerine göre de nanoemülsiyon, mikroemülsiyon ve makroemülsiyon olarak sınıflandırılabilir (Mason vd., 2006). Damlacık oluşumu emülsiyon sistemleri için ana basamaktır. Bu durum polimerik nanopartiküllerin boyut ve dağılımını etkilemektedir (Crucho ve Barros, 2017).

2.6.3.1 Emülsifikasyon-çözücü buharlaşması

Önceden yapılmış polimerlerden bir polimerik nanopartikül hazırlanmasında geliştirilen ilk yöntem çözücü buharlaştırma yöntemidir. Bu yöntemde uçucu bir solvent ile polimer çözülür. Diklorometan ve kloroform sıklıkla kullanılan çözücülerdir. Ancak bu çözücülerin toksisite riskleri nedeniyle etil asetat kullanılmaya başlanmıştır (Vauthier ve Bouchemal, 2009). Oluşturulan çözelti sulu fazda emülsifiye edilir ve yüzey aktif ajan eklenir. Yüksek hızlı homojenizasyon veya ultrasonikasyon kullanılarak nanodamlacık yapısı içeren dispersiyon elde edilmektedir. Çözücünün buharlaştırılması ile nanopartikül içeren bir süspansiyon oluşmaktadır. Çözücü oda sıcaklığında manyetik karıştırma ile ya da düşük basınç altında buharlaştırılabilir.

Bu işlemler sonrasında katı hale gelen nanopartiküller yıkanıp santrifüj edilerek toplanır ve uzun süreli saklanacak ise dondurularak kurutulabilmektedir (Abdelwahed vd., 2006; Vauthier ve Bouchemal, 2009).

2.6.3.2 Emülsifikasyon-çözücü difüzyonu

Bu yöntem Leroux ve arkadaşları tarafından ilk kez tanıtılmıştır (Leroux vd., 1995). Polimer, etkin madde ve yüzey aktif madde içeren kısmen su ile karışabilen bir solüsyon oluşturulur. Sonrasında su ile seyreltme yapılır. Bu işlem ile dağılmış damlacıklardan dış faza solvent indüklenir ve bu da kolloidal parçacık oluşumuna sebep olmaktadır. Çözücü buharlaşması yöntemine göre bu teknikte damlacık boyutu difüzyon

işlemi sırasında çok hızlı bir şekilde azalmaktadır. Bu yöntem ile genellikle nanoküreler elde edilmektedir (Moinard-Chécot vd., 2008).

2.6.3.3 Emülsifikasyon – tuzla çöktürme

Bu yöntem emülsifikasyon-çözücü difüzyonun değiştirilmiş hali olarak gösterilmektedir (İbrahim vd., 1992). Aradaki fark ise suyla karışabilen bir solvent, tuz giderici madde ve kolloidal stabilizatör içeren emülsiyon yapısında olmasıdır. Tuz gidermede magnezyum klorür, kalsiyum klorür veya magnezyum asetat gibi maddeler kullanılmaktadır. Sulu fazın doyurulmasıyla solventin ve suyun karışabilirliği azaltılabilir. Yağ/su tipi emülsiyonun su ile seyreltilmesiyle ters tuz giderme etkisi elde edilmektedir. Bu olay sonucu nanodamlacıkların içerisinde çözünen polimerler çökmektedir. Artan solvent ve diğer maddeler çapraz akışlı filtreleme ile uzaklaştırılmaktadır (Konan vd., 2002).

2.6.3.4 Nanoçöktürme yöntemi

Bu yöntem çözücünün yer değiştirmesi olarak da tanımlanabilmektedir ve ilk kez Fessi ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (Fessi vd., 1989). Bu yöntemde lipofilik çözeltideki organik çözücü sulu faza geçer ve bunun sonucunda polimer ara yüzeyde birirmektedir. Bu polimer su ile karışabilen bir solvent ile çözülür (Mora-Huertas vd., 2011). Polimer çözeltisi sulu faza hızlı bir şekilde difüzyon yapmaktadır. Bu difüzyon sırasında nanopartiküller de oluşmaktadır. İki faz arasındaki yüzey geriliminin az olması, hızlı gerçekleşen difüzyon nedeniyle yüzey alanını artırır böylece küçük organik çözücü damlacıkları oluşmaktadır (Sternling ve Scriven, 1959). Çözücünün nanodamlacıklardan yayılması sırasında polimerler nanokapsül veya nanoküre olarak çökmektedir (Crucho ve Barros, 2017).

2.6.3.5 Diyaliz yöntemi

Boyut dağılım aralığı dar olan küçük polimerik nanopartiküllerin hazırlanmasında diyaliz yöntemi tercih edilebilmektedir (Jeon vd., 2000). Mekanizma olarak nanoçöktürme yöntemine benzemektedir. Bu yöntemde polimer için fiziksel bir bariyer görevi yapacak olan ve uygun ağırlığa sahip diyaliz tüpleri ya da yarı geçirgen membranlar kullanılmaktadır (Rao ve Geckeler, 2011). Bu yöntemde polimer organik bir solvent içinde eritilir. Diyaliz membranının içerisinde solvent olmayan bir maddeye karşı diyaliz işlemi yapılır. Çözücünün membran içerisindeki hareketi sebebiyle karışımın polimeri çözme oranı azalmaktadır. Aynı zamanda ara yüzey gerilimindeki

artış sonucunda polimerler toplanır ve nanopartiküllerden oluşan koloidal bir süspansiyon elde edilir. Oluşturulan nanopartiküllerin morfolojisi ve parçacık boyut dağılımı deneysel parametreler ile değiştirilebilmektedir (Chronopoulou vd., 2009).

2.6.3.6 Süperkritik akışkan teknoloji

Buraya kadar bahsedilen yöntemlerde canlılara ve çevreye zararlı organik çözücü ve yüzey aktif maddelerin kullanımı vardır. Bu maddeler ilaç yüklü polimerik nanopartikülde toksik hale gelerek ilacın yapısını bozabilir (Soppimath vd., 2001). Polimerik nanopartikül üretim yöntemlerinin zorluklarının olması yeni yöntemlere ihtiyaç yaratmıştır. Bu amaçla süperkritik akışkanlar; çevreye zararlarının olmaması, kullanım kolaylığı, yapısal homojenliği ve yüksek saflıkta ilaç üretimi gibi avantajları sebebiyle alternatif bir yöntem olmuştur. Süperkritik akışkan; kritik sıcaklık ve basıncın üzerinde sıkıştırılmış ve ısıtılmış bir akışkandır. Bu yöntem farmasötik teknoloji alanında; partikül oluşumu ve formülasyon konusunda araştırılan ve nanopartikül konusunda detaylı bilgiye ulaşılamayan bir tekniktir (Sanli vd., 2012; Crucho ve Barros, 2017).

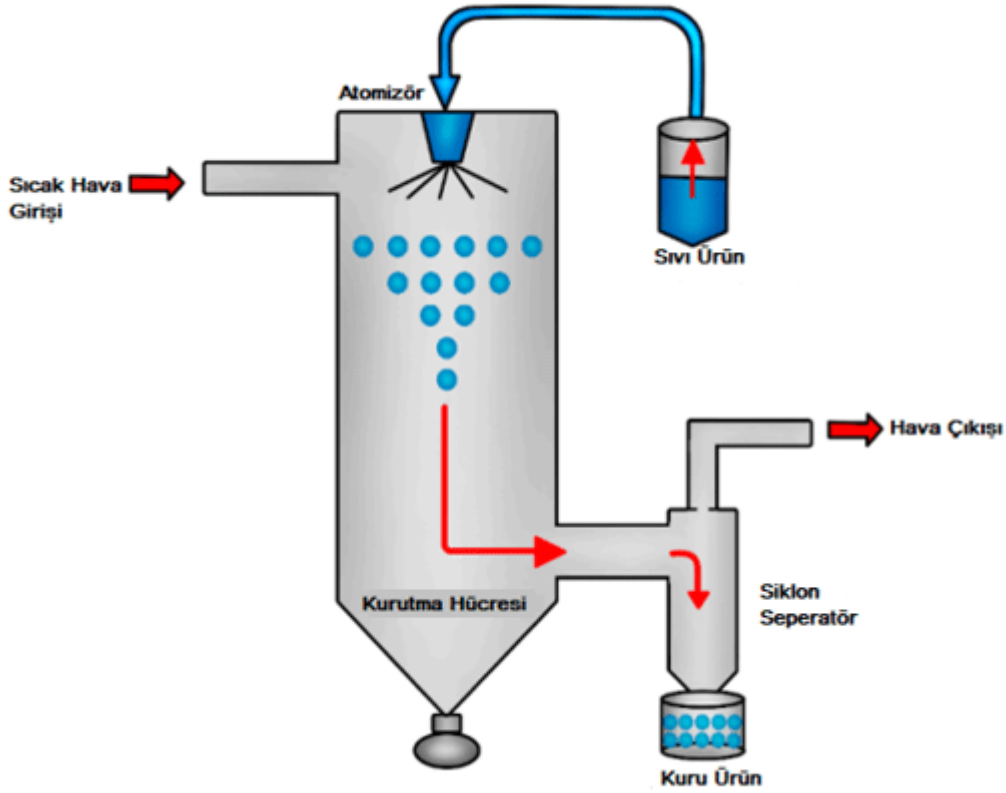
2.6.3.7 Püskürterek kurutma yöntemi

Püskürterek kurutma yöntemi; bir çözelti, emülsiyon ya da süspansiyonun sıcak bir kurutucu gaz ortamına verilmesi ile sıvı bir maddeden kuru bir toz yapısı elde edilmesi esasına dayanmaktadır (Şekil 2.9) (Sosnik ve Seremeta, 2015). Püskürterek kurutma tekniğinin dört adımı vardır (Marante vd., 2020).

- Sıvı beslemenin bir spreye atomize edilmesi,
- Gaz akışının ısıtılması ve bu gazla karışan spreya damlacıklarının oluşumu,
- Sıvının buharlaştırılmasıyla kuru toz parçacıklarının oluşması,
- Kuru toz parçacıklarının toplanması ve boyut ayrımı yapılması (Dixit vd., 2010; Broadhead vd., 1992).

Şekil 2.9

Püskürterek kurutma yönteminin şematik görüntüsü



Kaynak: Sosnik ve Seremeta, 2015

Cihazda sıvı bir besleme stoğu bulunmaktadır. Bu stok bir atomizör veya peristaltik bir pompa yoluyla kurutma odasına verilmektedir. Bu adımda hızlı solvent buharlaşması ile yeterli sıcaklığa maruz kalan mikron boyutunda kuru toz parçacıklar spray şeklinde açığa çıkmaktadır. Bu kuru toz parçacıkları, cihazın alt kısmında kurutma gazından ayrılarak birikmektedir (Lee vd., 2011). Püskürterek kurutma işlemi ile istenilen özelliklerde parçacıklar oluşturulabilir. Sıvı beslemenin yüksek akış hızı, yüksek formülasyon konsantrasyonu ile daha büyük boyutta parçacıklar elde edilebilirken, yüksek atomizasyon basıncı ile de daha küçük boyutta parçacıklar elde edilebilmektedir (Cal ve Sollohub, 2010; Sosnik ve Seremeta, 2015).

Püskürterek kurutma, emülsiyon-çözücü buharlaştırma, nano çökeltme ve dondurarak kurutma gibi yaygın olarak kullanılan yöntemlere göre daha çok üstünlüğü bulunmaktadır (Tablo 2.2). Daha basit, hızlı, tekrarlanabilir ve uygun maliyetli bir yöntemdir. Partikül boyutlarının ayarlanabilirliğinin olduğu ve ısıya duyarlı maddeler için uygun tek aşamalı bir kurutma yöntemidir (Arpagaus, 2019). Aynı zamanda

formülasyonun ömrünü ve biyoyararlanımı artırmak için de kullanılan bir tekniktir. Dondurarak kurutma işleminde de olduğu gibi formülasyondan suyun uzaklaştırılması stabiliteye yardımcı olmaktadır (Fonte vd., 2016).

Tablo 2.2

Püskürterek kurutmanın üstünlük ve sakıncaları

Üstünlükleri	Sakıncaları
-Tek adımlı, hızlı ve sürekli bir teknik	-Laboratuvar ölçeğinde düşük verim
-Kolay ölçeklendirme	-Yüksek sıvı besleme ihtiyacı sebebiyle buharlaşmanın fazla olması
-Yüksek tekrarlanabilirlik	-Yüksek pompalama gücü
-Parçacık boyutu ve morfolojisi kontrol edilebilir	-Bazı terapötiklerde fiziksel ve kimyasal kararsızlık
-Uygun maliyet	
-Polimerik taşıyıcı içine yüksek verimli kapsülleme	
-Isıya duyarlı ve kararsız maddelerde kullanılabilirlik	
-Yüksek çok yönlülük	

Kaynak: Marante vd., 2020

2.6.4 Polimerik nanopartiküllerin karakterizasyon yöntemleri

Nanoboyutta formülasyon geliştirmede klinik çalışmalar öncesi önemli rol oynayan karakterizasyon basamakları yer almaktadır (Tablo 2.3). Polimerik nanopartiküllerin özelliklerini tam anlamıyla tespit etmek vücuttaki işleyişi çözmek için önemli bir adımdır. Nanoilaçlarda; fizikokimyasal karakterizasyon, sterilite ve pirojenite değerlendirmesi, biyolojik dağılım ve toksisite değerlendirmeleri yapılmaktadır (Hall vd., 2007; Lin vd., 2014).

2.6.4.1 Morfoloji

Polimerik nanopartiküllerin şekil ve boyutu hakkında bilgi sahibi olmak için SEM ve TEM sıklıkla kullanılmaktadır. TEM, nanokapsül ve nanoküreler arasındaki farkı tespit edebilir ve nanokapsülün duvar kalınlığını belirleyebilmektedir (Bohrey vd., 2016). Nanokapsüller yağlı çekirdeğin çevresinde ince (yaklaşık 5 nm) bir polimerik yapı tarafından oluşturulur. Nanoküreler ise katı polimerik küresel bir yapıya sahiptir. Polimerik nanopartiküllerin yüzey morfolojisini karakterize etmek için AFM de kullanılmaktadır. AFM ile, atomik seviyede yüzey ayrıntılarına erişilebilmekte, üç boyutlu ve nanometre düzeyinde yüksek çözünürlüklü sonuçlar elde edilebilmektedir (Andreani vd., 2015; Mathurin vd., 2018).

Tablo 2.3*Polimerik nanopartiküllerin karakterizasyon yöntemleri*

Yöntemler	Analiz edilen fizikokimyasal özellik
Atomik kuvvet mikroskobu (AFM)	Boyut ve boyut dağılımı Şekil Yapı Yüzey özellikleri
Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC)	İlacın ve polimerin fizikokimyasal durumu Olası etkileşimler
Dinamik ışık saçılımı (DLS)	Hidrodinamik boyut dağılımı
Floresan spektroskopisi	Kritik birleşme konsantrasyonunun belirlenmesi İlaç içeriği İn vitro ilaç salınımı
Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (YBSK)	İlaç içeriği İn vitro ilaç salınımı
Kızılötesi spektroskopisi (IR)	Biyokonjugatların yapısı ve konformasyonu Fonksiyonel grup analizi
Kütle spektrometresi (MS)	Moleküler ağırlık Bileşim Yapı Yüzey özellikleri (ikincil iyon MS)
Yakın alan taramalı optik mikroskopi	Nanomalzemelerin boyutu ve şekli
Nükleer manyetik rezonans (NMR)	Yapı Bileşim Saflık Konformasyonel değişiklik
Taramalı elektron mikroskobu (SEM)	Boyut ve boyut dağılımı Şekil
Transmisyon elektron mikroskobu (TEM)	Boyut ve boyut dağılımı Şekil heterojenliği
X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS)	Yüzeydeki element ve kimyasal bileşim
Zeta potansiyeli	Yüzey yüküne ilişkin kararlılık

*Kaynak: Crucho ve Barros, 2017***2.6.4.2 Parçacık boyut dağılımı**

Genellikle polimerik nanopartiküllerin ortalama boyutları 100-300 nm arasındadır. Farklı yöntemlerle elde edildiğinden boyutlar değişkenlik göstermektedir. Polidispersite düşük (ideali sıfıra yakın) olmalıdır. Boyutları 60-70 nm arasında olan hatta 50 nm'den daha küçük çapta partiküller de oluşturulabilmektedir (Hickey vd., 2015). Nanopartiküllerin boyutu genellikle dinamik ışık saçılımı (DLS) ve statik ışık saçılımı ile ölçülebilir. Ayrıca geçirimli elektron mikroskobu (TEM), taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) de tercih edilebilmektedir

(Brar ve Verma, 2011). Boyut ölçümleri tercih edilen tekniğe göre farklılık göstermektedir. DLS, TEM için önemli tamamlayıcı bir tekniktir çünkü daha büyük boyutları ölçer ve parçacık boyut dağılımındaki farklılıkları tespit ederek çözeltideki nanopartikülün agresyonu hakkında fikir vermektedir (Carvalho vd., 2018).

2.6.4.3 Kimyasal yapı

Nanopartikül yapısının kimyasal yapısı hakkında bilgiye bir topluluk ya da tek parçacıklı element analizi ile ulaşılabilir. Sıklıkla kullanılan yöntemlerden biri, atomik emilim spektroskopisidir (Mourdikoudis vd., 2018). Bu teknikte enerji miktarı ışık yolundaki atomların cinsi ve miktarıyla ilişkilidir. Nanopartiküldeki atomların dizilimi kristal yapı şeklinde ya da amorf halinde olabilir. Kristal yapı; X-ışını kırınımı (XRD) ya da TEM ile tespit edilebilir (Lu vd., 2017; Yang vd., 2007).

2.6.4.4 Moleküler kütle dağılımı

Hazırlanan polimerin moleküler kütle dağılımının tespiti; polimerin bozunması, formüldeki yapıların polimerizasyona etkisi, etkin maddenin polimer ile kimyasal reaksiyon vermesi gibi konularda fikir vermektedir (Doncom vd., 2017). Sıklıkla boyut dışlama kromatografisi (SEC) yöntemi kullanılmaktadır (Podzimek, 2011).

2.6.4.5 Zeta potansiyel

Zeta potansiyel, partiküllerde yüzey yükü hakkında bilgi vermektedir. Partikül yüzeyindeki grupların ayrılması, sulu çözücü ortamındaki iyonik grupların adsorpsiyonu gibi değişimlerden etkilenmektedir (Honary ve Zahir, 2013). Zeta potansiyel Doppler tekniği kullanılarak tespit edilir ve bir çözeltide nanopartikülün çevresindeki elektriksel çift tabakadaki elektrostatik potansiyelin ölçümü ile hesaplanmaktadır (Zielińska vd., 2020; Clogston ve Patri, 2011). Zeta potansiyeli -10 ile +10 mV aralığındaki nanopartiküller yaklaşık nötr kabul edilmektedir. Zeta potansiyel +30 mV değerinden büyük ise nanopartikül güçlü katyoniktir. -30 mV değerinden küçük ise nanopartikül güçlü anyonik yapıdadır (Clogston ve Patri, 2011).

2.6.4.6 İn-vitro salım kinetiği

Polimerik nanopartiküllerden ilaç salımı; ilacın nanoküre matrisi ya da nanokapsüllerin polimerik çeperinden difüzyonuna, ilacın parçacık yüzeyinden desorpsiyonuna ya da polimerik matrisin aşınmasına bağlıdır (Soppimath vd., 2001). İlaç salınımını tespit etmek için difüzyon yöntemi, ultra santrifüjleme, düşük basınçlı filtrasyon gibi

yöntemler tercih edilmektedir (Shen ve Burgess, 2013). Yapılan çalışmalarda, nanokürelerden ilaç salımının birinci derece kinetiğe göre gerçekleştiği görülmüştür. Nanokürelerde ilaç salımı; ilacın polimerik matristen ortama difüzyonu ya da polimerik matrisin aşınması ile olmaktadır (Lee ve Yeo, 2015). Nanokapsüllerde ilaç salımı ise, yağlı çekirdekte çözünen etkin maddenin polimer yapısındaki çeperden difüzyonu ile olmaktadır. Burada salınım sıfırcı derece kinetik göstermektedir (Fu ve Kao, 2010).



3 GEREÇLER

3.1 Kullanılan Malzemeler

Asetik asit	: Merck, Almanya
Aseton	: Merck, Almanya
Asetonitril	: Merck, Almanya
Diyaliz membran	: Sigma, Almanya
Dötorokloroform	: Merck, Almanya
Etanol	: Merck, Almanya
Eudragit® RS 100	: Röhm Pharma Polymers, Almanya
Kalsiyum klorür dihidrat	: Merck, Almanya
Metanol	: Merck, Almanya
Norfloksasin	: Sigma, Almanya
O-fosforik asit	: Sigma, Almanya
Polikaprolakton	: Sigma, Almanya
Potasyum klorür	: Merck, Almanya
Potasyum fosfat monobazik	: Sigma, Almanya
Sodyum bikarbonat	: Merck, Almanya
Sodyum klorür	: Merck, Almanya

3.2 Kullanılan Cihazlar

Buzdolabı	: Arçelik No Frost, Türkiye
Çeker Ocak	: Hedlab, Türkiye
Diferansiyel Taramalı Kalorimetri	: Shimadzu DSC-60, Japonya
Distile su cihazı	: MilliQ Milipore, Fransa
Etüv	: Elektro-mag M 5040BD, Türkiye
Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektrofotometresi	: IR Prestige- 21 Shimadzu, Japonya
Hassas Terazı	: Ohaus, İsviçre
Manyetik karıştırıcı	: IKA, Almanya
Mikropipet Seti	: Eppendorf, Almanya
Nükleer Manyetik Rezonans Spektrofotometresi	: Ultra Shield CP MAS NMR, Bruker, Almanya
Parçacık Büyüklüğü Analiz Cihazı	: Zetasizer Nano Series, İngiltere
pH Metre	: WTW Profi Lab pH 597 Weilheim Almanya
Püskürterek Kurutma Cihazı	: Büchi B-90, İsviçre
Taramalı Elektron Mikroskobu	: Hitachi, SPC-900-C Model, Çin
Ultrasonik Banyo	: Elma T470/H, Almanya
UV-Spektrofotometre	: Shimadzu, Japonya
Vorteks karıştırıcı	: Jeiotech VM96B, Kore
Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi	: Shimadzu 20-A, Japonya
Zeta Potansiyel Analiz Cihazı	: Zetasizer Nano Series, İngiltere

4 YÖNTEMLER

4.1 NFX ile Yapılan Çalışmalar

4.1.1 Termal analiz

NFX'nin termal analizi DSC (Shimadzu DSC-60, Japonya) cihazı ile yapılmıştır. Yaklaşık 4 mg etkin madde hücreye konularak basınçla sıkıştırılmıştır. Analiz, 50 mL.dk⁻¹ azot gazı akış hızı, 10°C.dk⁻¹ sıcaklık artışı ile, 30-300°C aralığında alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiştir.

4.1.2 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi

NFX ve polimerlerin Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) analizi 4000-400 cm⁻¹ dalga boyu aralığında IR Prestige- 21 Shimadzu, Tokyo, Japonya cihazında gerçekleştirilmiştir.

4.1.3 Nükleer manyetik rezonans analizi

NFX ve polimerlerin yapısal özellikleri, çözücü olarak dötörokloroform kullanılarak ¹H-NMR cihazıyla (Ultra-Shield™ CPMAS NMR, Bruker, Rheinstetten, Almanya) analiz edilmiştir.

4.1.4 Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile validasyon çalışması

Hazırlanan nanopartiküllerdeki NFX miktar tayini işlemi için YBSK (Shimadzu 20-A, Japonya) cihazı kullanılmıştır. Öncelikle UV-Spektrofotometrede NFX için dalga boyu tespit edilmiştir. NFX miktar tayini için analiz koşulları Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1

YBSK analiz koşulları

Cihaz	Shimadzu-20A
Kolon	GL Sciences Inc. / 5 µm, 4,6x150 mm
Mobil Faz	Asetonitril:Fosfat Tamponu (pH =3) / (16:84; h/h)
Dedektör	Shimadzu Fotodiyot Dizisi
Fırın Sıcaklığı	30 °C
Dalga Boyu	278 nm
Akış Hızı	1 mL.dk ⁻¹
Enjeksiyon Hacmi	5 µL

Mobil faz olarak asetonitril ve fosfat tamponun belirtilen oranda karışımı kullanılmıştır. 3,4 g potasyum fosfat monobazık 950 mL distile su içerisinde çözünmüş ve o-fosforik asit ile çözeltinin pH'ı 3.0 ± 0.5 'e ayarlanmıştır. Sonrasında 1000 mL'ye distile su ile tamamlanarak elde edilen tampon çözelti analizde kullanılmıştır (Bedor vd., 2007).

4.1.4.1 Doğrusallık

Validasyon çalışmasında doğrusallık sonucunu elde edebilmek için NFX'in %1 asetik asit (h/h) içerisinde stok çözeltisi hazırlanmıştır. (5 mg/50 mL). Bu stok çözeltiden; 1-100 µg/mL konsantrasyon aralığında 8 farklı konsantrasyon seçilerek örnekler hazırlanmıştır. Her analiz 6 kez tekrarlanmıştır. Bulunan pik alanı değerleri ile NFX için bir doğru denklemi elde edilmiştir.

4.1.4.2 Doğruluk

Kullanılan yöntemin doğruluğunu tespit etmek için doğrusallık çalışmasındaki konsantrasyon aralığından 3 nokta seçilmiştir. (5, 50, 100 µg/mL). Hazırlanan çözeltiler ile analiz 6 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

4.1.4.3 Kesinlik

Kullanılan yöntemin kesinliğini değerlendirmek için doğruluk çalışmasında seçilen 3 konsantrasyon ile çözeltiler hazırlanmıştır. Bu analiz 3 farklı günde 6 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

4.1.4.4 Duyarlılık

Kullanılan analitik yöntemin duyarlılığının değerlendirilmesinde; örneklerdeki etkin madde miktarının tespit edilebilmesi için miktar tayini sınırı olan (LOQ) ve örnekte olmasına rağmen kesin miktarı tespit edilemeyen saptama sınırı (LOD) kullanılmaktadır (Rao, 2018). ICH kılavuzundaki denklemlere göre LOD ve LOQ değerleri hesaplanmaktadır.

$$LOD = [3.3 \times SS] / m \quad (4.1)$$

Denklem (4.1)'de y ekseninin kesim değerinin standart sapması SS olarak, korelasyon denkleminin eğimi ise m ile gösterilmektedir (ICH Q2-R1, 2005).

$$LOQ = [10 \times SS] / m \quad (4.2)$$

Denklem (4.2)'de y ekseninin kesim noktasının standart sapması SS olarak, korelasyon denkleminin eğimi ise m ile gösterilmektedir (ICH Q2-R1, 2005).

4.1.4.5 Seçicilik

Seçicilik, kullanılan analitik yöntemde karşılaştırılması beklenen maddelerin asıl maddeden ayrıldığını gösteren bir değerlendirmedir. Bu değerlendirme ICH kılavuzuna göre yapılmıştır (ICH Q2-R1, 2005).

Kullanılan yöntemin seçiciliğini değerlendirmek için NFX'in %1 asetik asit çözeltisi içerisinde 278 nm dalga boyunda yapılan analizi ile miktar tayininde kullanılan metanol çözeltisi ve polimer piklerinin birbirinden ayrılıp ayrılmadığı araştırılmıştır.

4.2 Polimerik Nanopartikül Formülasyonlarının Hazırlanması

Formülasyonlarda polimer olarak ERS ve ERS:PCL'nin (3:1; a/a) oranında karışımı kullanılmıştır. Çözücü olarak polimerler ve NFX'nin ortak çözücüsü olan aseton kullanılmıştır. 100 mL aseton içerisine 1000 mg polimer eklenerek ultrasonik banyoda bir süre bekletilmiş ve manyetik karıştırıcıda (200 rpm) karıştırılmıştır. Hazırlanan plasebo çözeltiler 0,45 µm çapında membran filtreden geçirilerek giriş sıcaklığı 60°C ±1°C (çıkış sıcaklığı 40°C ±5°C) olan püskürterek kurutma cihazında (Büchi B-90, İsviçre) kurutulmuştur. Toplanan tozlar, gerekli analizler yapılana kadar oda sıcaklığında ışık görmeyecek şekilde kapaklı cam flakonlarda saklanmıştır. Etkin maddeli formülasyonlar da aynı şekilde hazırlanan çözeltilere, Tablo 4.2'de belirtilen oranlarda NFX eklenmesiyle hazırlanmıştır.

Tablo 4.2

Hazırlanan nanopartikül formülasyonlarının içerikleri

Kod	NFX (mg)	ERS (mg)	ERS:PCL (3:1; a/a) (mg)	Aseton (mL)
Plasebo NE	-	1000	-	100
NE1	50	1000	-	100
NE2	100	1000	-	100
NE3	150	1000	-	100
Plasebo NEP	-	-	1000	100
NEP1	50	-	1000	100
NEP2	100	-	1000	100
NEP3	150	-	1000	100

*ERS: Eudragit® RS 100, PCL: Polikaprolakton

4.3 Nanopartikül Formülasyonları ile Yapılan Çalışmalar

4.3.1 Termal analiz

Polimerik nanopartikül formülasyonlarının termal analizi yaklaşık 4 mg madde kullanılarak DSC (Shimadzu DSC-60, Japonya) cihazı ile yapılmıştır. Analiz, 50 mL.dk⁻¹ azot gazı akış hızı, 10°C.dk⁻¹ sıcaklık artışı ile, 30-300°C aralığında alüminyum referansa karşı gerçekleştirilmiştir.

4.3.2 Parçacık şekli analizi

Hazırlanan nanopartiküllerin şekilleri ve parçacık özelliklerinin analiz edilebilmesi için SEM (Hitachi, SPC-900-C Model, Çin) kullanılmıştır.

4.3.3 Parçacık büyüklüğü ve dağılımı analizi

Nanopartikül formülasyonlarının parçacık büyüklüğü ve dağılımı analizinde, partiküller etanol içerisinde dağıtılmıştır. Analizler zeta hücreleri içerisinde 25°C’de Malvern Nano ZS (Zetasizer Nano Series, İngiltere) cihazında her formülasyon için 3 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

4.3.4 Zeta potansiyel analizi

Nanopartikül formülasyonlarının zeta potansiyel analizinde partiküller etanol içerisinde dağıtılmıştır. Analizler zeta hücreleri içerisinde 25°C’de Malvern Nano ZS (Zetasizer Nano Series, İngiltere) cihazında her formülasyon için 3 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

4.3.5 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi

Hazırlanan nanopartiküllerin, FT-IR analizi 4000-400 cm⁻¹ dalga boyu aralığında IR Prestige- 21 Shimadzu, Tokyo, Japonya cihazında gerçekleştirilmiştir.

4.3.6 Nükleer manyetik rezonans analizi

Hazırlanan nanopartiküllerin yapısal özelliklerinin değerlendirilmesi için dötorokloroform kullanılarak ¹H-NMR cihazıyla (Ultra-Shield™ CPMAS NMR, Bruker, Rheinstetten, Almanya) analiz edilmiştir.

4.3.7 Enkapsülasyon etkinliği ve yükleme kapasitesi tayini

Nanopartikül formülasyonlarına yüklenen toplam NFX miktarı ve partikülün içerisine enkapsüle edilmiş miktarın tayini için YBSK (Shimadzu 20-A, Japonya) cihazı ile

geliştirilen analitik yöntem kullanılmıştır. Nanopartiküllerdeki toplam NFX miktarının tespiti için tam tartım (5 mg) alınan partiküller 10 mL metanol:%1 asetik asit karışımında (1:1; h/h) çözüldü. Ultrasonik banyoda birkaç dk bekletildikten sonra 0,45 µm çapında membran filtreden geçirildi. Partiküllerin yüzeyine adsorbe edilen NFX miktarının tespiti için ise tam tartım (5 mg) alınan partiküller 10 mL %1 asetik asit ile çalkalandı ve membran filtreden geçirilerek YBSK cihazında analiz edildi. Bu işlem her partikül için 3 kez tekrarlandı. Elde edilen pik alanı değerleri validasyon çalışmasında bulunan doğru denkleminde kullanılmıştır.

İlaç yükleme kapasitesi ve enkapsülasyon etkinliği (EE) için Denklem (4.3) ve (4.4) kullanılarak hesaplamalar yapılmıştır (Başaran, 2017).

$$\text{Yükleme Kapasitesi (\%)} = [\text{toplam etkin madde} / \text{partikülün ağırlığı}] \times 100 \quad (4.3)$$

$$\text{EE (\%)} = [(\text{toplam etkin madde} - \text{yüzeydeki etkin madde}) / \text{toplam etkin madde}] \times 100 \quad (4.4)$$

4.3.8 *İn vitro* salım çalışması

NFX'in polimerik nanopartiküllerden salımı diyaliz membran yöntemiyle analiz edilmiştir (Başaran, 2017). Diyaliz membran olarak D9777-100FT (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Salım ortamı olarak suni gözyaşı sıvısı (STF; NaHCO 0,218 g, NaCl 0,678 g, CaCl₂.2H₂O, 0,0084 g, KCl 0,138 g ve distile su k.m. 100 g; pH 7,4) hazırlanmıştır (Başaran, 2017). pH 7,4 olarak ayarlamak için o-fosforik asit eklenmiştir. Cihaz olarak ısıtıcı özelliği olan manyetik karıştırıcı kullanılmıştır. Çalışma şartları 15 rpm hız ve 34°C sıcaklık olarak ayarlanmıştır. Buharlaşmayı önlemek için ağzı kapaklı erlenler kullanılmıştır. Nanopartikül formülasyonları ve referans olarak kullanılmak üzere saf NFX'ten belirli miktarlarda tartım alınarak, karıştırıcı balık ile birlikte diyaliz membran içerisine konulmuş ve membran her iki ucundan sıkıca bağlanmıştır. Bu diyaliz membranlar 40 mL salım ortamı içerisine bırakılarak sabit hızda karıştırılmıştır. Salım ortamından belirlenmiş zamanlarda (30. dakika, 1., 2., 3., 4., 6., 8., 10., 24., 48. saat) 1 mL örnekler alınmış, yerine aynı miktar suni gözyaşı sıvısı tekrardan ortama eklenerek sink koşul sağlanmıştır. Alınan örnekler YBSK cihazı ile her partikül için 3 tekrarlı olarak analiz edilmiştir.

5 BULGULAR ve TARTIŞMA

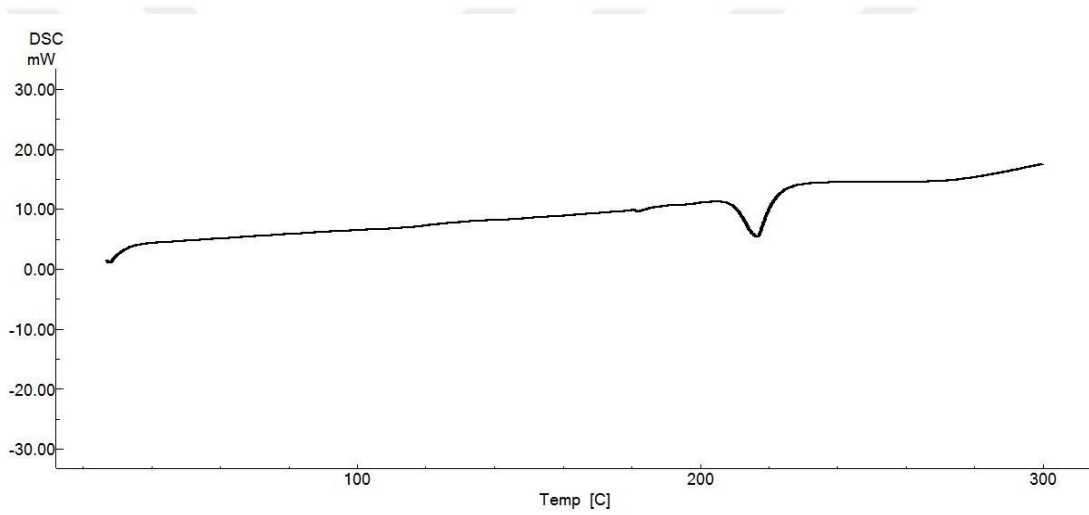
5.1 NFX ile Yapılan Çalışmalar

5.1.1 Termal analiz

DSC cihazı kullanılarak 30-300°C aralığında gerçekleştirilen analizde NFX'in erime sıcaklığı 218,79°C olarak bulunmuştur. Bulunan sonucun literatür değerleri ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir (Dave vd., 2017). NFX'e ait DSC termogramı Şekil 5.1'de gösterilmiştir.

Şekil 5.1

NFX'e ait DSC termogramı



5.1.2 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi

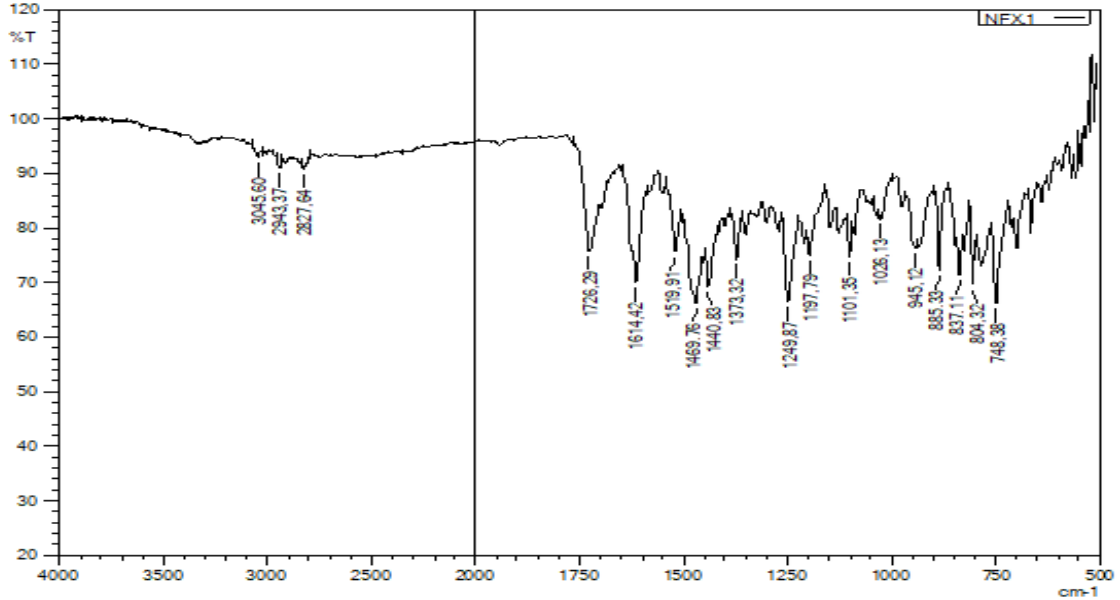
FT-IR kullanılarak; etkin maddelerin fonksiyonel grupları, bileşik içerisindeki bağlarının yapısı ve konformasyon durumları hakkında bilgi elde edilebilmektedir. Her bileşiğin farklı ve kendine özgü bir spektroskopik sonuca sahip olması bileşiklerin birbirinden ayırt edilebilmesini sağlar ve sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir (Gniadecka vd., 1997).

NFX için FT-IR analiz sonucu Şekil 5.2'de gösterilmiştir. Bu sonuca göre 3550-3500 cm^{-1} arasında dikkat çeken bir karakteristik tepe bulunmuştur. Bu tepe OH grubunun gerilme titreşimini ve moleküler arası hidrojen bağı göstermektedir. 3500-3300 cm^{-1} arasında oluşan bant ise piperazinil gruplarının imino bölgesindeki NH gerilmesini göstermektedir. 2750-2700 cm^{-1} arasındaki tepe etil grubunun varlığını göstermektedir.

2500 cm^{-1} 'de görülen bant ise karboksilin asidin OH grubundan sebebiyledir. 1700 cm^{-1} 'deki tepe karbonil C=O gerilmesini göstermektedir. 1650-1600 cm^{-1} arasındaki bant kinolon gruplarının N-H bağını göstermektedir. 1500-1450 cm^{-1} arasındaki pikler asit gruplarının O-C-O bağlarını göstermektedir. 1300-1250 cm^{-1} arasındaki pikler O-H grubunu temsil etmektedir. Bu pikler NFX'deki karboksilik asidin varlığını göstermektedir. 1050-1000 cm^{-1} arasındaki bant ise C-F bağını göstermektedir. 950-900 cm^{-1} aralığındaki pik amin gruplarının NH bağından kaynaklanmaktadır. 800 cm^{-1} 'deki bant ise aromatik protonların meta dağılımını göstermektedir. Bu sonuçların literatür bilgisi ile uyumlu olduğu görülmüştür (Al-Mustafa, 2002; Sahoo vd., 2011).

Şekil 5.2

NFX'in FT-IR spektrumu

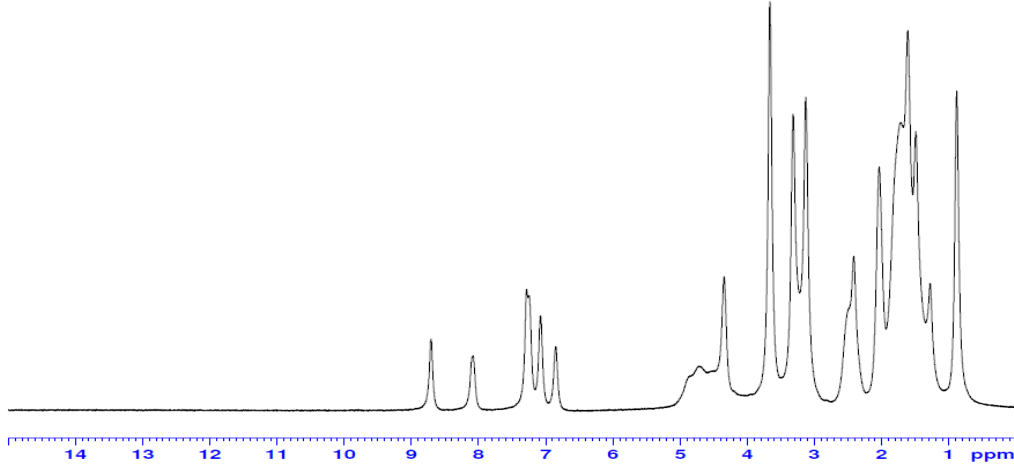


5.1.3 Nükleer manyetik rezonans analizi

NFX ile yapılan ^1H -NMR analizi sonucunda (Şekil 5.3) 7.54-8.64 ppm arasındaki tepenin NFX'nin aromatik protonlarından kaynaklandığı görülmüştür. 1.18 ppm'deki tepe CH_3 grubunu, 1.31 ppm'deki tepe ise CH_2 grubunu göstermektedir (Dhevaraj vd., 2019).

Şekil 5.3

NFX'in ¹H-NMR analiz spektrumu



5.1.4 Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile validasyon çalışması

Çalışmalarda kullanılan analitik yöntemlerin amaca uygunluğunu göstermek ve güvenilirliğini ölçmek amacıyla validasyon çalışmaları yapılmaktadır. Çalışmalarda yöntemin; doğrusalılık, doğruluk, kesinlik ve duyarlılık analizleri ile güvenilirliği gösterilmektedir. Bu validasyon çalışmasında, Uluslararası Harmonizasyon Konferansı'nın (ICH) Q2 (R1) kılavuzu kullanılmıştır (ICH Q2-R1, 2005).

5.1.4.1 Doğrusallık

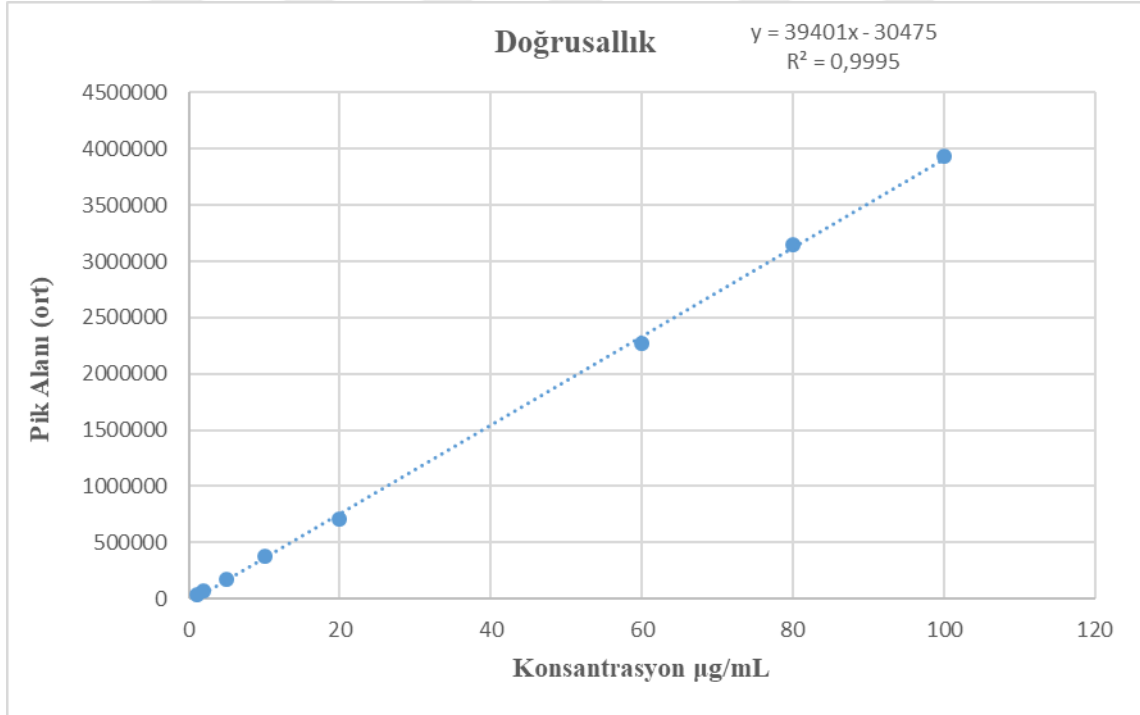
Analitik bir çalışmanın doğrusalılığı; belirli bir konsantrasyon aralığından seçilen örneklerden doğru orantılı sonuç elde edilmesiyle değerlendirilmektedir. Örneklerin konsantrasyonun bir fonksiyonu olarak grafik üzerinden sonuçlar incelenir. Doğrusallık sonuçları için elde edilen veriler ile regresyon analizi yapılmaktadır. Bu analiz için en az 5 farklı konsantrasyon ile çalışılması önerilmektedir (ICH Q2-R1, 2005).

Regresyon analizi ile korelasyon katsayısı (R^2) hesaplanmaktadır. Korelasyon katsayısı 0,99'dan büyük olmalıdır. Bu değer analizin doğrusal olup olmadığını göstermektedir (Yılmaz, 2012). NFX'in %1 asetik asit içerisinde stok çözeltisi hazırlanmıştır. (5 mg/50 mL). Bu stok çözeltiden, 1-100 µg/mL konsantrasyon aralığında 8 farklı konsantrasyon seçilerek örnekler hazırlanmıştır. Tablo 4.1'de gösterilen koşullarda YBSK analizi yapılmıştır. Elde edilen pik alanı değerleri ile regresyon analizi yapılmıştır. Her analiz 6 kez tekrarlanmıştır. Ortalama pik alanı sonuçları Tablo 5.1'de gösterilmiştir.

Tablo 5.1*NFX için doğrusallık çalışması YBSK sonuçları*

Örnek	Konsantrasyon (µg/mL)	Pik Alanı (ort)
1	1	33591,83 ± 3661
2	2	68921,30 ± 8226
3	5	170070,7 ± 17768
4	10	373175,2 ± 8320
5	20	712426,5 ± 42172
6	60	2271297 ± 57641
7	80	3143421 ± 14793
8	100	3936755 ± 29963

Elde edilen pik alanı değerlerin ortalamaları alınarak yapılan regresyon analizi sonucu bir doğru denklemi elde edilmiştir. ($y=39401x- 30475$). Korelesyon katsayısı ise 0,9995 olarak bulunmuştur. Bu değer 0,99'dan büyük olması doğrusallık sonucunun elde edildiğini göstermektedir. Bu doğru denklemi, hazırlanan nanopartikül formülasyonlarında etkin madde miktar tayini analizinde kullanılmıştır.

Şekil 5.4*NFX için doğrusallık grafiği (Ort ±SH, n=6)*

5.1.4.2 Doğruluk

Bir analitik yöntemin doğruluğu; analiz sonucu elde edilen sonuçlar ile doğruluğu tespit edilmiş bir başka prosedürün sonuçlarının kıyaslanması ile değerlendirilmektedir. En az 3 farklı konsantrasyon seçilerek çalışılmalıdır. Elde edilen değerlerin, hazırlanan örneklerdeki miktarlarıyla karşılaştırılarak yüzde geri kazanım değerleri ve kabul edilen gerçek değer ile sonuçlardaki farkın güven aralığı değerleri belirtilmelidir (ICH Q2-R1, 2005).

Doğrusallık çalışması için belirlenen aralıktan 3 farklı konsantrasyonda örnekler hazırlanmıştır. (5 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL). Hazırlanan çözeltiler ile analiz 6 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Tablo 5.2’de gösterilmiştir.

Tablo 5.2

Doğruluk çalışması YBSK sonuçları

Konsantrasyon ve Sonuçlar			
	5 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
1	5,19720311	50,23737976	98,96403645
2	5,17156925	49,34136189	99,58965508
3	5,145698148	49,59998477	99,42138524
4	5,182736479	49,90274359	98,89858125
5	5,166873937	49,5259765	99,33841781
6	5,012583651	50,38524403	99,66912007
Ortalama konsantrasyon	5,14611013	49,83211509	99,31353265
Ortalama % Geri Kazanım	102,9222026	99,66423018	99,31353265
Standart Sapma	0,061727561	0,379390626	0,291338785
Varyasyon Katsayısı	1,199499415	0,761337594	0,293352554
Güven Aralığı	0,049391428	0,303570148	0,233115296
%BSS	1,199499415	0,761337594	0,293352554

Elde edilen sonuçlara göre % geri kazanım değerleri kabul edilebilir aralık olan %98-102 (± %2) aralığında olduğu görülmüştür.

5.1.4.3 Kesinlik

Bir analitik yöntemin kesinliği; hazırlanan örneğin belirli şartlar altında yapılan ölçümlerinde elde edilen değerlerin arasındaki uyumun yakınlığı olarak ifade edilmektedir. Tekrarlanabilirlik, ara kesinlik ve yeniden üretilebilirlik olarak üç şekilde ifade edilebilmektedir (ICH Q2-R1, 2005).

Kullanılan yöntemin kesinliğini değerlendirmek için doğruluk çalışmasında seçilen 3 konsantrasyon ile çözeltiler hazırlanmıştır. (5 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL). Bu analiz 3 farklı günde, 6 kez tekrarlanarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Tablo 5.3-Tablo 5.5 arasında gösterilmiştir.

Tablo 5.3

1. Gün kesinlik çalışması sonuçları

Konsantrasyon ve Sonuçlar			
1. Gün	5 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
1	5,197203117	49,47212	99,46107967
2	5,2456977	50,13583412	99,53699145
3	5,227659196	48,32298673	98,17943707
4	5,31236588	50,23737976	98,96403645
5	5,2635894	49,34136189	99,58965508
6	5,02365825	49,57417324	99,27283571
Ortalama	5,211695591	49,51397596	99,16733924
Standart Sapma	0,091110307	0,627647357	0,488140877
Standart Hata	0,037195471	0,256234888	0,199281844
Varyasyon			
Katsayısı	1,748189341	1,267616557	0,492239563
%BSS	1,748189341	1,267616557	0,492239563

Tablo 5.4*2. Gün kesinlik çalışması sonuçları*

Konsantrasyon ve Sonuçlar			
2. Gün	5 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
1	5,21458	48,37207177	97,12131672
2	5,265897	50,37625949	98,66016091
3	5,3214569	49,12550443	99,42138524
4	5,145698	49,59998477	98,90012944
5	5,1827364	49,90274359	99,93307276
6	5,256142	48,80967488	98,87391183
Ortalama	5,231085063	49,36437315	98,81832948
Standart Sapma	0,057601712	0,685485487	0,950502163
Standart Hata	0,023515702	0,279847106	0,388039258
Varyasyon			
Katsayısı	1,101142709	1,388623906	0,961868277
%BSS	1,101142709	1,388623906	0,961868277

Tablo 5.5*3. Gün kesinlik çalışması sonuçları*

Konsantrasyon ve Sonuçlar			
3. Gün	5 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL
1	5,166873937	49,48341413	99,84200909
2	5,158745	49,99099008	99,19090886
3	5,234569	50,38524403	99,33841781
4	5,21356	49,40953275	99,66912007
5	5,041293368	50,07020126	100,2265425
6	5,023698	49,62318215	99,47775437
Ortalama	5,139789884	49,82709407	99,62412545
Standart Sapma	0,080308616	0,369229395	0,368082773
Standart Hata	0,032785718	0,150736638	0,150268534
Varyasyon			
Katsayısı	1,562488299	0,741021329	0,369471523
%BSS	1,562488299	0,741021329	0,369471523

Elde edilen sonuçlara göre % BSS değerlerinin % 2'yi geçmediği ve ICH kılavuzuna göre uygun olduğu görülmüştür.

5.1.4.4 Duyarluluk

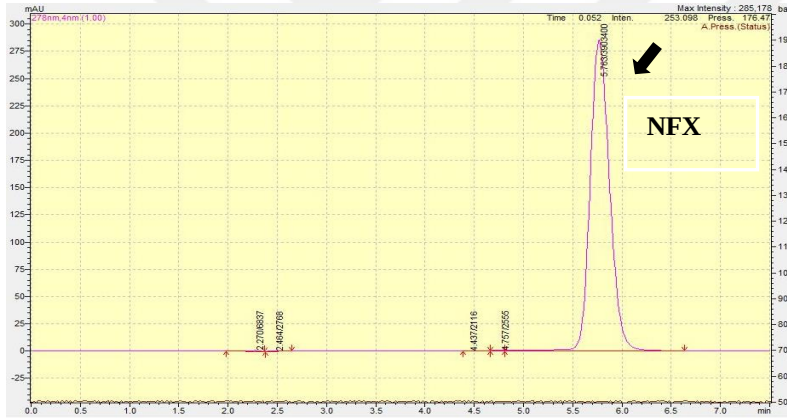
Çalışmamızda kullandığımız analitik yöntemin duyarlılığını değerlendirmek için *Bölüm 4.1.4.4*'de bahsedilen denklemler kullanılarak hesaplamalar yapılmıştır. Bunun sonucunda LOD değeri 0,2826 µg/mL, LOQ değeri ise 0,8563 µg/mL bulunmuştur. Bulunan bu değerler validasyon çalışmasında kullanılan en düşük konsantrasyon olan 1 µg/mL'den küçük olduğundan yöntemin duyarlılığı tespit edilmiştir.

5.1.4.5 Seçicilik

Kullanılan yöntemin seçiciliğini değerlendirmek için NFX'in miktar tayini çalışmasında kullanılan çözeltilerde polimer ve çözelti piklerinden ayrıştığı Şekil 5.5 - Şekil 5.9'da gösterilmiştir.

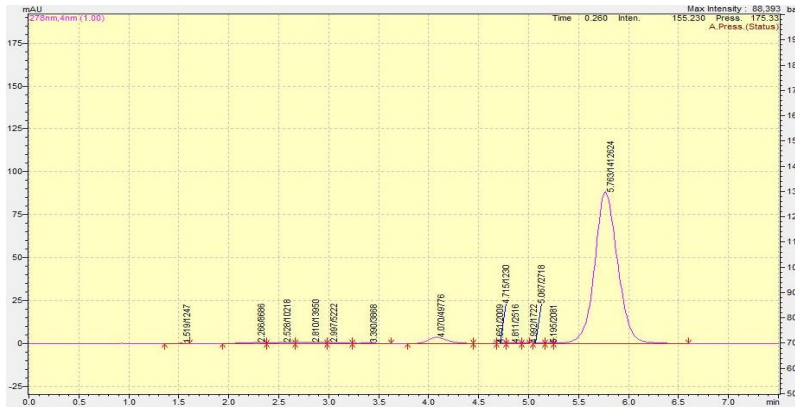
Şekil 5.5

NFX'e ait referans YBSK kromatogramı



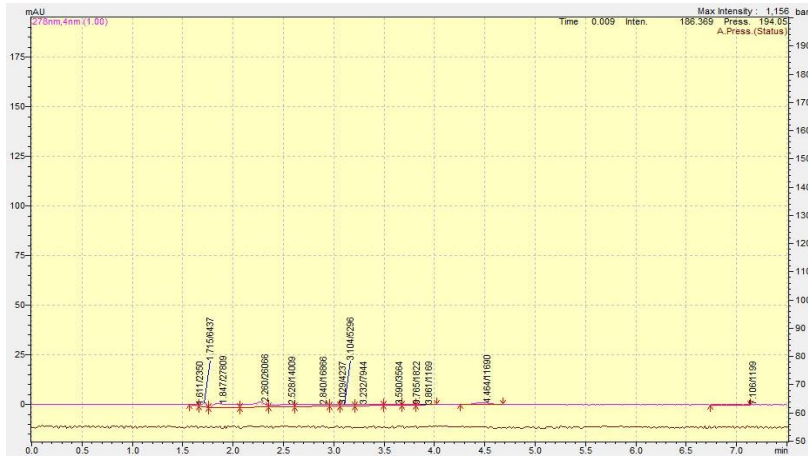
Şekil 5.6

NE nanopartikülüne ait YBSK kromatogramı



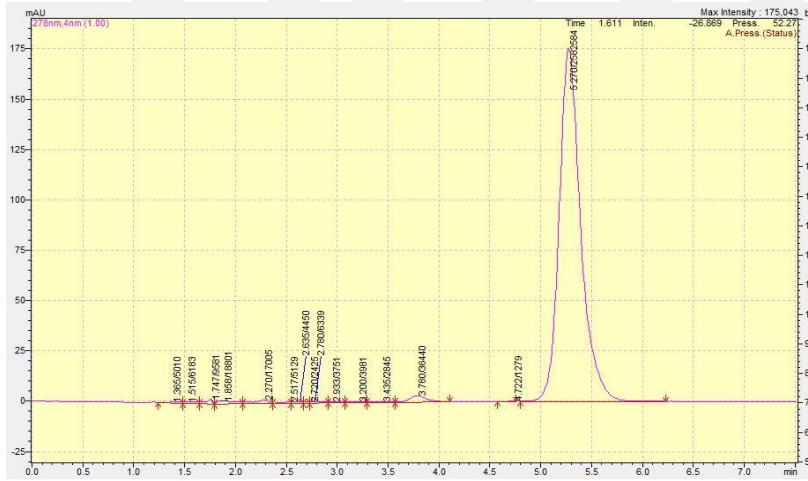
Şekil 5.7

Plasebo NE nanopartikülüne ait YBSK kromatogramı



Şekil 5.8

NEP nanopartikülüne ait YBSK kromatogramı



Şekil 5.9

Plasebo NEP nanopartikülüne ait YBSK kromatogramı



5.3 Nanopartikül Formülasyonları ile Yapılan Çalışmalar

5.3.1 Termal analiz

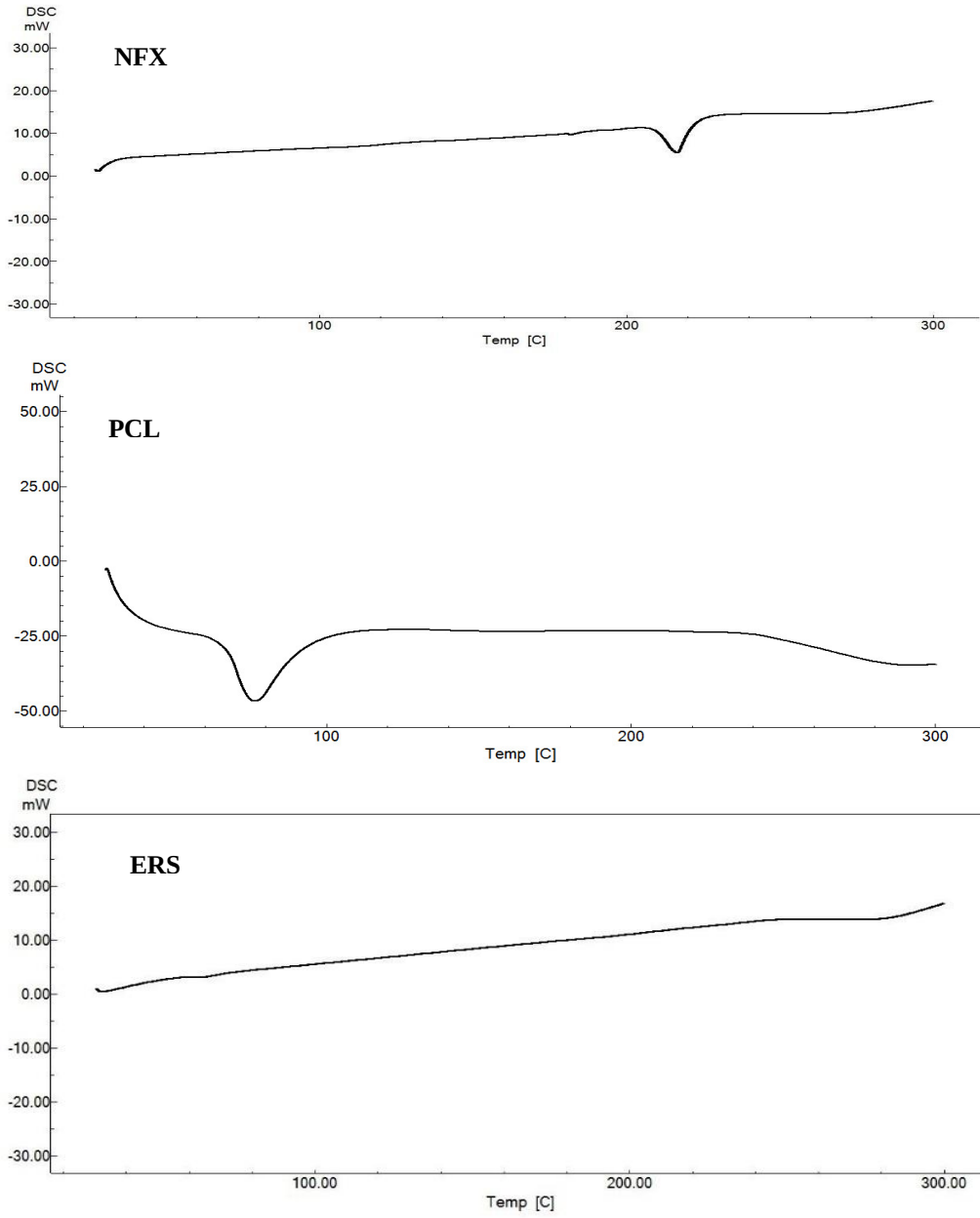
DSC cihazı biyomoleküllerin ve kimyasalların yapıları, hidrofilik özellikleri ile ilgili termal özelliklerinin karakterize etmek için kullanılmaktadır. Analizlerde örneklerin sıcaklık karşısındaki davranışları incelenmektedir. Endotermik ve ekzotermik olarak oluşabilen pikler ve bu piklerdeki değişiklikler etkin madde ve polimerin birbiri ile olan etkileşimini açıklamaktadır (Borges vd., 2005; Ribeiro vd., 2005).

Çalışmamızda NFX'in 30-300°C aralığında gerçekleştirilen DSC analizinde erime sıcaklığı 218,79°C olarak bulunduğu Şekil 5.1'de gösterilmiştir. PCL'nin yarı kristalin yapısı ve ERS'nin amorf yapısına ait DSC termogramları Şekil 5.10'da gösterilmiştir. Bu sonuçlar nanopartikül formülasyonları ile yapılan analizleri, değerlendirmek için kullanılmıştır. Plasebo NE ve plasebo NEP nanopartikülüne ait DSC termogramları Şekil 5.11 ve Şekil 5.12'de gösterilmiştir. Bu termogramlar NFX yüklü nanopartikül formülasyonları ile karşılaştırılmıştır. Saf NFX'e ait endotermik pik, nanopartikül formülasyonlarında görülmemiştir. NE1, NE2 ve NE3 formülasyonlarının DSC termogramlarının plasebo NE termogramına yakın olduğu, NEP1, NEP2 ve NEP3 formülasyonlarının termogramlarının ise plasebo NEP termogramına yakın olduğu görülmüştür. Nanopartiküllerin saf NFX'ten farklı olarak amorf yapı göstermesi suda çözünürlük için fayda sağlayacaktır (Khan vd., 2021).

Bu sonuçlar NFX'in polimer içerisinde moleküler olarak dağıldığını ve etkin madde yüklenmesiyle polimerin amorf yapısında değişiklik olmadığını göstermektedir (Başaran vd., 2014).

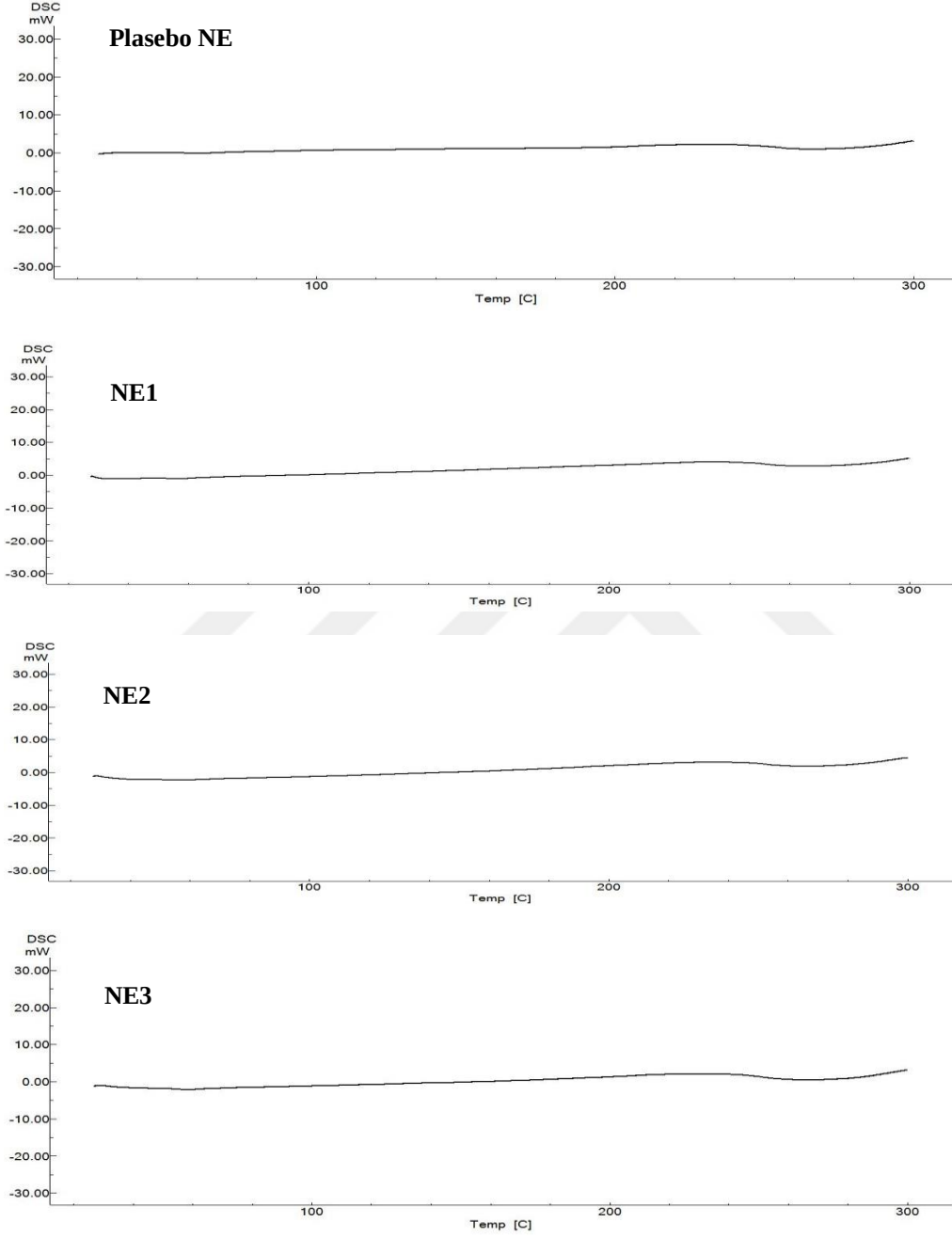
Şekil 5.10

NFX, PCL ve ERS'ye ait DSC termogramları



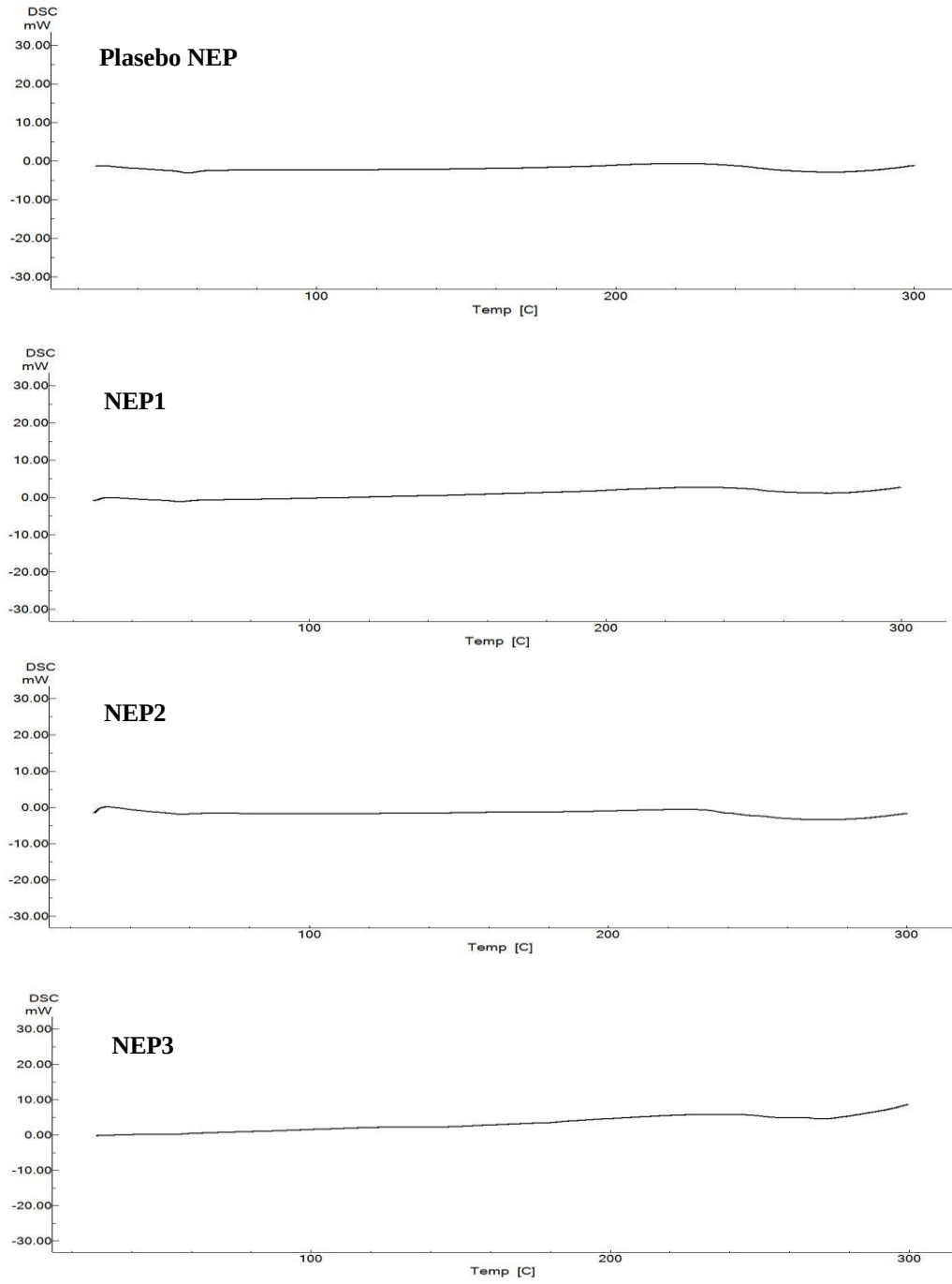
Şekil 5.11

NE nanopartiküllerine ait DSC termogramları



Şekil 5.12

NEP nanopartiküllerine ait DSC termogramları



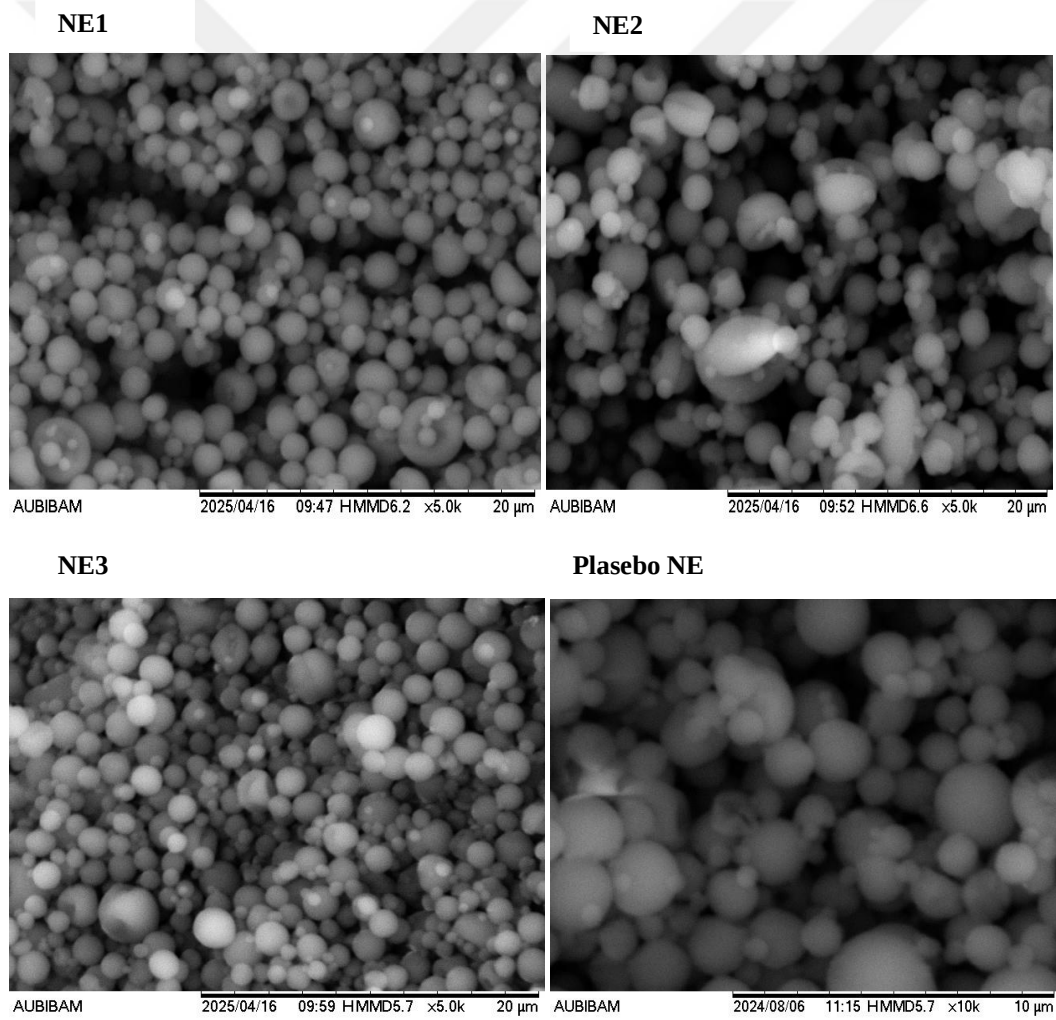
5.3.2 Parçacık şekli analizi

Elde edilen nanopartiküllerin morfolojisi SEM ile analiz edilmiştir. Oküler uygulamada partiküllerin göz tahrişine sebep olma potansiyeli olduğundan morfoloji önem taşımaktadır (Gebreel vd., 2021).

SEM görüntüleri ile nanopartiküllerin küresel şekilde olduğu görülmüştür. (Şekil 5.13 ve Şekil 5.14). Formülasyonlarda etkin madde konsantrasyonunun artırılması morfolojide anlamlı bir değişikliğe sebep olmamıştır. Oluşan küresel nanopartiküllerin oküler uygulamaya uygun olabileceği görülmüştür.

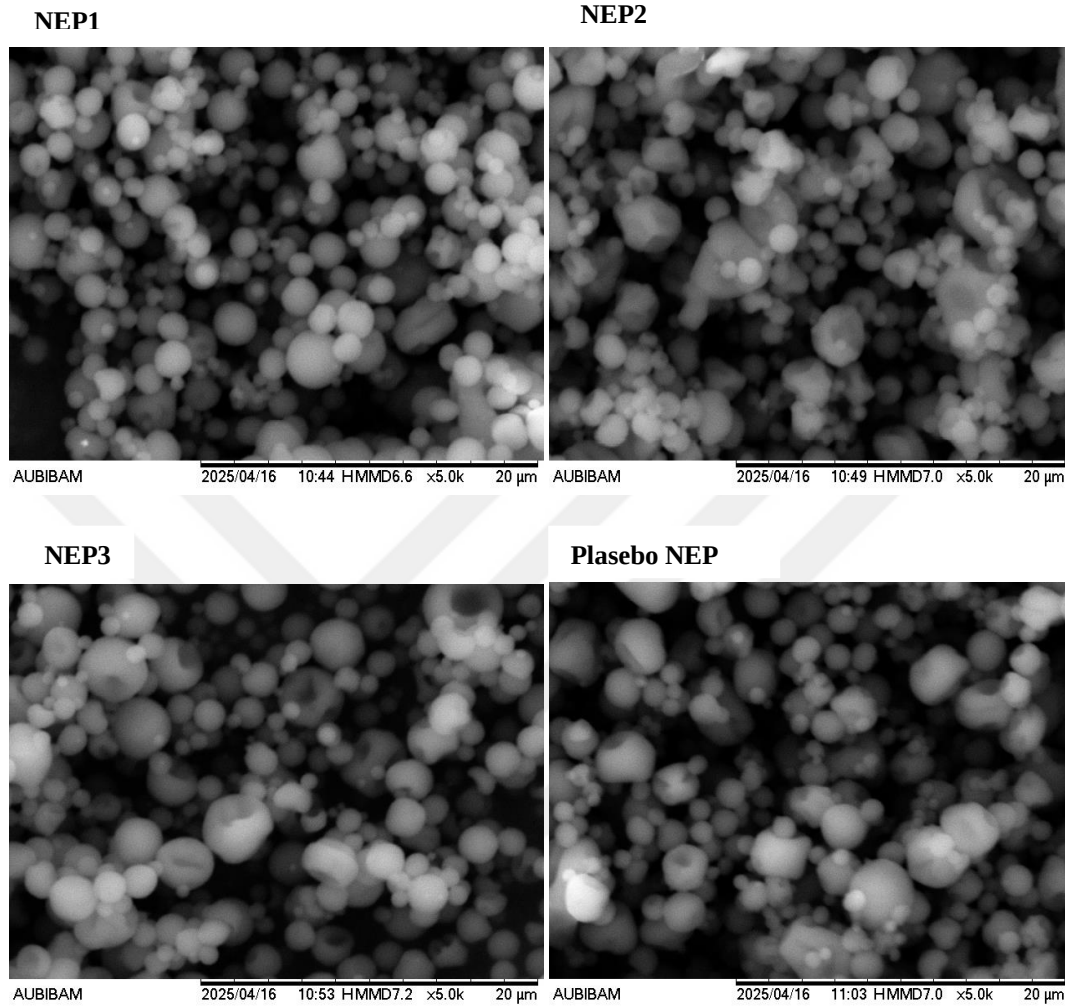
Şekil 5.13

NE nanopartiküllerine ait SEM görüntüleri



Şekil 5.14

NEP nanopartiküllerine ait SEM görüntüleri



5.3.3 Parçacık büyüklüğü ve dağılımı analizi

Parçacık büyüklüğünün değerlendirilmesi nanopartiküller için birçok öneme sahiptir. Stabilitate, kapsülleme verimliliği, etkin madde salımı, mukoadesyon gibi parametrelerde kritik bir özelliktir (Bahari ve Hamishehkar, 2016). İlaç taşıyıcı sistemlerde parçacıkların boyut dağılımını tanımlamak için kullanılan parametre polidispersite indeksidir (PDI) (Bera, 2015). PDI değerinin 0,5'ten küçük olması partiküllerin homojen bir dağılıma sahip olduğunu, 0,7'den büyük bir değer olması ise homojen olmayan bir dağılıma sahip olduğunu göstermektedir (Worldwide, 2011).

Nanopartikül formülasyonlarının parçacık büyüklüğü ve PDI değerlerinin tespiti için yapılan analizlerin sonuçları Tablo 5.6'da gösterilmiştir.

Tablo 5.6*Hazırlanan nanopartiküllere ait parçacık büyüklüğü ve PDI değerleri*

Kod	Parçacık Büyüklüğü (nm)	PDI±SH
	ORT±SH	
Plasebo NE	502,80 ± 8,91	0,452 ± 0,02
NE1	328,73 ± 24,01	0,258 ± 0,07
NE2	235,27 ± 23,51	0,167 ± 0,02
NE3	233,47 ± 16,93	0,214 ± 0,00
Plasebo NEP	438,63 ± 22,53	0,381 ± 0,04
NEP1	315,50 ± 13,59	0,272 ± 0,05
NEP2	335,47 ± 4,86	0,161 ± 0,04
NEP3	383,43 ± 8,01	0,135 ± 0,01

(ORT: Ortalama, SH: Standart hata, PDI: Polidispersite indeksi)

Püskürterek kurutma yöntemi ile nanopartikül hazırlamada; üretim parametreleri, besleme pompasının hızı, giriş sıcaklığı ve basınçlı havanın akış hızı özellikleri elde edilen partiküllerin boyutlarını etkilemektedir (Corrigan vd., 2006; Başaran vd., 2014).

Partiküllerin oküler yüzeyde kalış sürelerinde partikül boyutu önem taşımaktadır. Küçük boyutta partiküller prekorneal oküler yapılar tarafından kolaylıkla emilebilirken, daha büyük boyutta partiküller ise oküler yüzeyde daha fazla tutunma ve daha yavaş ilaç salımı sağlamaktadır (Zimmer ve Kreuter, 1995).

Hazırlanan nanopartiküllerin parçacık boyutları birbirine yakın değerler göstermiştir. NE3 nanopartikülü 233,47 nm ile nispeten en küçük boyutta partiküldür. Etkin madde konsantrasyonunun artırılması ve formülasyona PCL eklenmesiyle parçacık boyutunda anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Plasebo partiküller etkin madde yüklü partiküllerden daha büyük boyutlarda oluşmuştur. Bunun NFX ile polimerler arasındaki fizikokimyasal etkileşimden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Partiküllerin PDI değerleri ise özellikle yüklü partiküllerde 0,5'ten oldukça küçüktür. Bu da partiküllerin homojen bir dağılıma sahip olduğunu göstermiştir. Partikül boyutu ve PDI değerleri literatür çalışmalarına yakındır (Wu vd., 2021; Öztürk vd., 2017).

Çalışmamız göz bölgesine ilaç uygulamayı hedeflediğinden parçacık boyutu gözde tahriş ve rahatsızlık hissi oluşmaması için <10 µm'nin altında olmalıdır (Gibson, 2004).

Hazırlanan NE ve NEP nanopartiküllerinin boyutlarının hedeflenen aralıkta olduğu ve oküler uygulama için uygun oldukları söylenebilmektedir (Almeida vd., 2014; Başaran vd., 2014; Gorantla vd., 2020).

5.3.4 Zeta potansiyel analizi

Partiküllerde yüzey yükü ile parçacığın etrafındaki yükün potansiyel olarak farkı zeta potansiyel olarak tanımlanmaktadır. Aynı yüke sahip parçacıklar arasında itme kuvveti oluşmakta bu da parçacıkların bir araya toplanmasını engellemektedir (Tsai vd., 2018). Zeta potansiyel; nanoparçacıkların hücrel özellikleri, toksisitesi, çözünme özellikleri de dahil olmak üzere özellikle parçacık dispersiyonun fiziksel kararlılığı hakkında ön bilgi sağlayan önemli bir parametredir (Bhattacharjee, 2016; Freitas ve Müller, 1998). Fiziksel olarak stabil bir formülasyon elde etmek için zeta potansiyelin minimum 30 mV'luk bir değere sahip olması gerekmektedir (Radomska-Soukharev, 2007). Nanopartikül formülasyonları ile zeta potansiyel analiz cihazında yapılan çalışmanın sonuçları Tablo 5.7'de gösterilmiştir.

Tablo 5.7

Hazırlanan nanopartiküllere ait zeta potansiyel sonuçları

Kod	Zeta potansiyel (mV)
	ORT±SH
Plasebo NE	+9,63 ± 0,34
NE1	+14,45 ± 1,38
NE2	+9,96 ± 2,72
NE3	+11,85 ± 1,99
Plasebo NEP	+36,20 ± 1,13
NEP1	+38,43 ± 2,76
NEP2	+36,30 ± 1,96
NEP3	+34,97 ± 0,22

(ORT: Ortalama, SH: Standart hata)

Elde edilen sonuçlara göre NE partiküllerinin zeta potansiyeli 10 mV'a yakın değerlerde olduğu görülmüştür. Kararlılık yönünden NEP partiküllerinden daha zayıf elde edilmiştir. NEP partikülleri ise 30 mV'tan büyük değerlere ulaştığından oldukça kararlı bir yapıya sahip olduğu söylenebilmektedir. Etkin madde konsantrasyonu zeta potansiyel değerinde anlamlı bir farklılığa sebep olmamıştır. Formülasyona PCL eklenmesiyle partiküllerin fiziksel kararlılığı olumlu yönde etkilenmiştir.

Hazırlanan nanopartiküllerin zeta potansiyel değerlerinin katyonik olduğu görülmüştür. Bunun ERS'nin pozitif yüklü kuaterner amonyum gruplarından kaynaklandığı düşünülmektedir (Yenilmez, 2017). Saf PCL nanopartiküllerinde karboksil grubu sebebiyle negatif zeta potansiyel değeri beklenmektedir (Badri vd., 2017).

Çalışmamızda ERS:PCL karışımı kullanılmış ve polimerler arası fizikokimyasal etkileşimden kaynaklı olduğu düşünülenerek NEP partikülleri de katyonik yapıda elde edilmiştir.

Kornea ve konjonktivanın yüzeyi negatif yüke sahiptir. Bu nedenle göze uygulanacak nanopartikül formülasyonlarının katyonik yapıda olması, gözün ön bölgesine formülasyonun daha iyi tutunmasını sağlamaktadır (Tsai vd., 2018). Analiz sonuçları her iki grup partiküllerin katyonik yapıda olduklarını ve elektrostatik etkileşimler sayesinde gözün ön kısmına iyi tutunabilecek ve etkin bir tedaviye imkan verecek nanopartiküllerin elde edildiğini göstermektedir (Yenilmez, 2017).

5.3.5 Fourier dönüşümlü kızıl ötesi analizi

Hazırlanan nanopartikül formülasyonları, kullanılan polimerler ve polimerler ile NFX'in fiziksel karışımları ile FT-IR analizi yapılmıştır. Formülasyon içerikleri ile etkin madde arasındaki etkileşim olasılıkları incelenmiştir (Al-Heibshy vd., 2020). Analiz sonuçları Şekil 5.15 - Şekil 5.17'de gösterilmiştir.

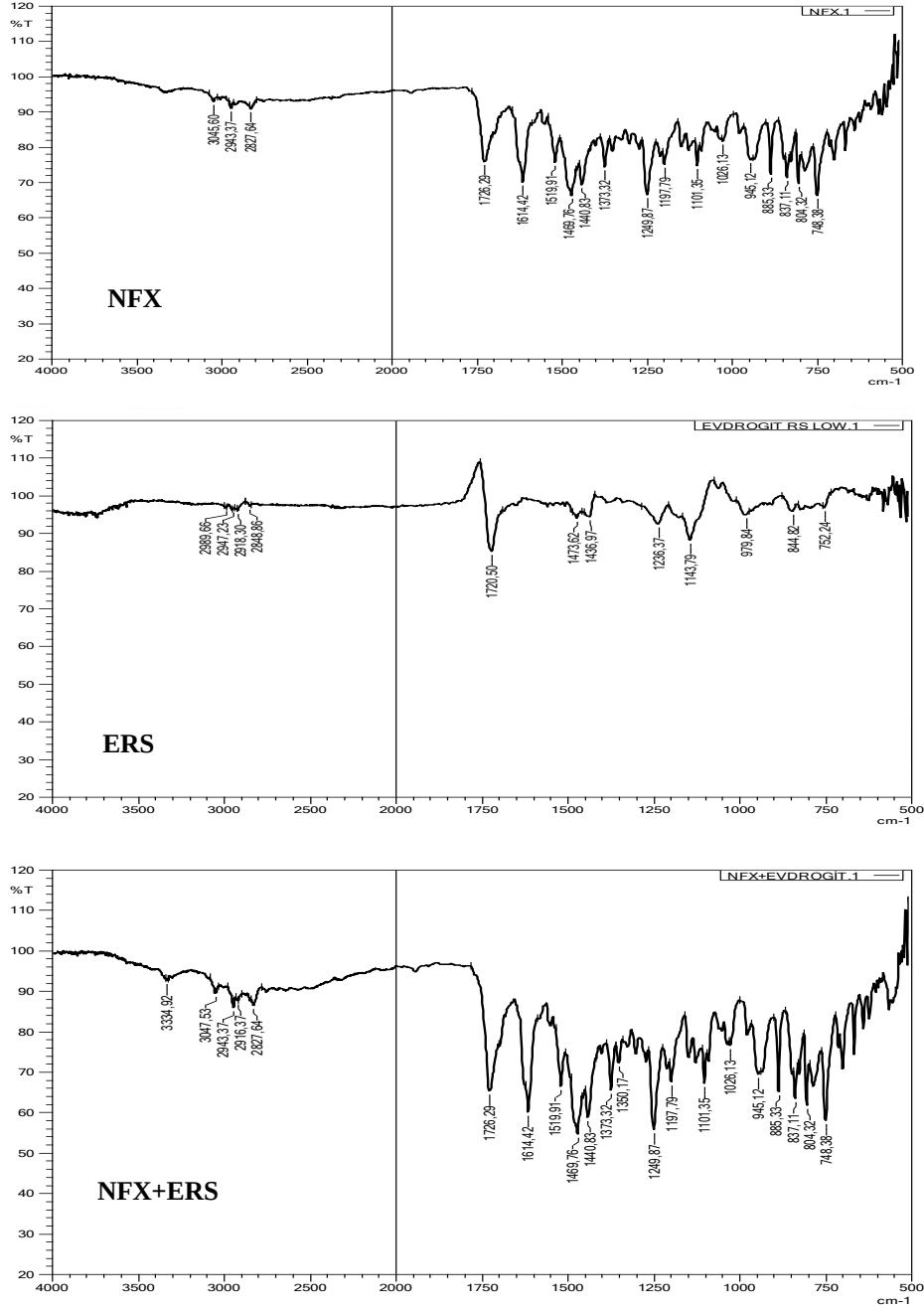
ERS için spesifik olarak 1720 cm^{-1} 'de C-O piki görülmüştür. Elde edilen sonuçların literatür bilgisi ile uyumlu olduğu görülmüştür (Seremeta vd., 2013).

PCL'nin alifatik gerilme ile ilişkili olan karakteristik pikleri 2865 ve 2942 cm^{-1} 'de görülmüştür. Bir diğer karakteristik pik ise 1721 cm^{-1} 'de C=O bağına aittir. C-O ve C-C pikleri $1292,9\text{ cm}^{-1}$ 'dedir. C-O-C bağlarına ait pikler ise 1162 ve 1238 cm^{-1} 'de görülmüştür (Badri vd., 2017). Analiz sonucu elde edilen sonuçların literatür bilgisine yakın olduğu görülmüştür.

NFX ve polimerlerin fiziksel karışımları ile yapılan analizlere göre maddelerin kendi karakteristik piklerinin kaybolmadığı ve birbirine yakın spektrumlar elde edildiği görülmüştür. Bu da NFX ile kullanılan polimerlerin formülasyon oluşumu sırasında kimyasal bir değişime uğramadığını göstermektedir. Hazırlanan nanopartikül formülasyonlarının FT-IR sonuçlarına bakıldığında ise piklerin sayılarında ve şiddetlerinde bazı farklılıklar olsa da genel anlamda birbirine yakın spektrumlar elde edildiği ve karakteristik pik aralıklarının yakın olduğu görülmüştür. Plasebo NE ve plasebo NEP partikülleri ile NFX yüklü NE ve NEP'lerin sonuçları karşılaştırılmıştır. Spektrumların birbirine yakın pik aralıklarında olduğu ve NFX'e ait karakteristik pik şiddetinin azaldığı görülmüştür. Bu da NFX'in polimerlere yüklenebildiğini göstermektedir.

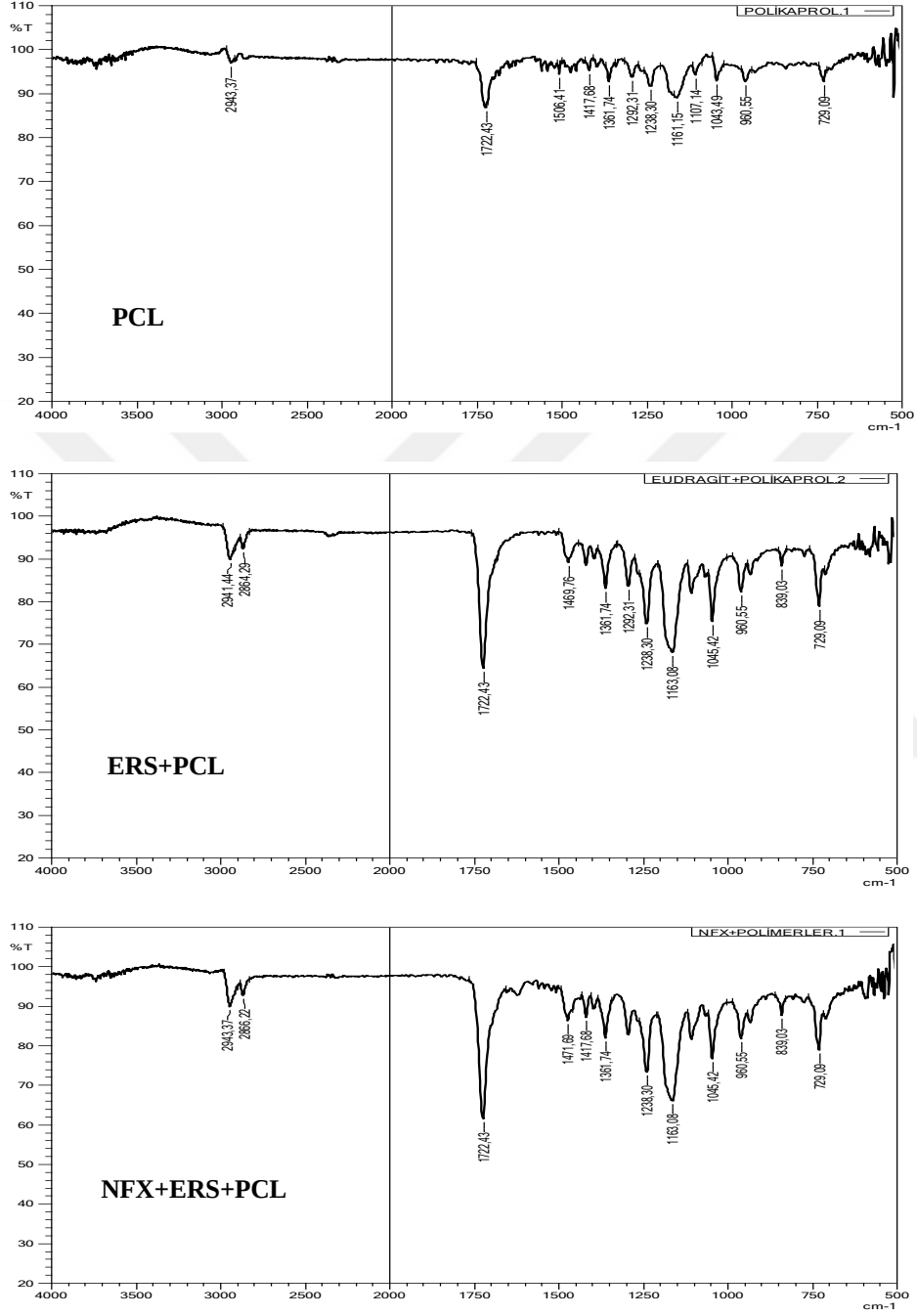
Şekil 5.15

NFX, ERS ve PCL'nin fiziksel karışımlarına ait FT-IR spektrumu



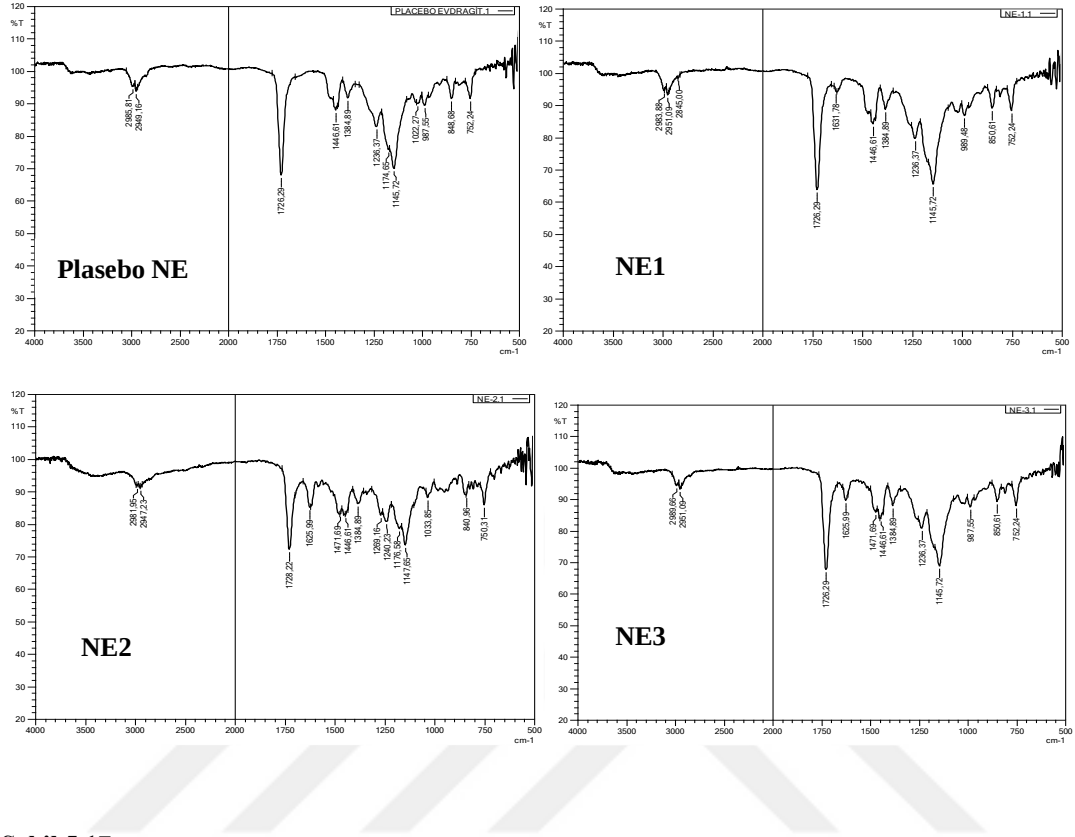
Şekil 5.15 (Devam)

NFX, ERS ve PCL 'nin fiziksel karışımlarına ait FT-IR spektrumu



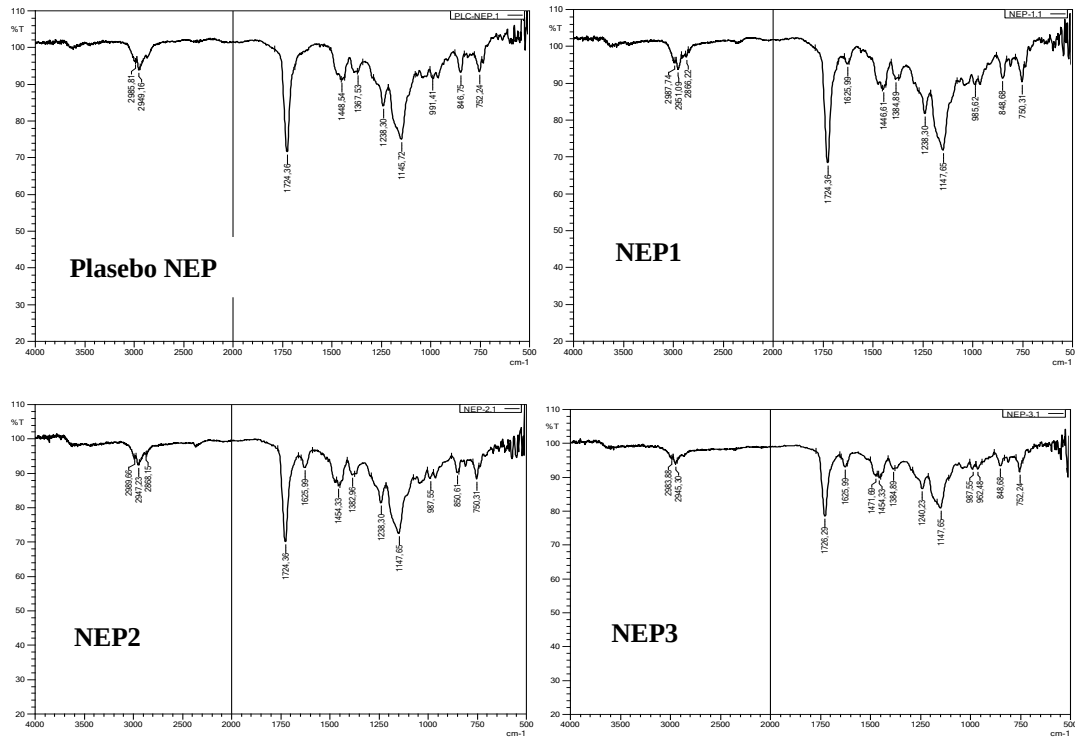
Şekil 5.16

Plasebo NE, NE1, NE2 ve NE3 formülasyonlarına ait FT-IR spektrumları



Şekil 5.17

Plasebo NEP, NEP1, NEP2, NEP3 formülasyonlarına ait FT-IR spektrumları

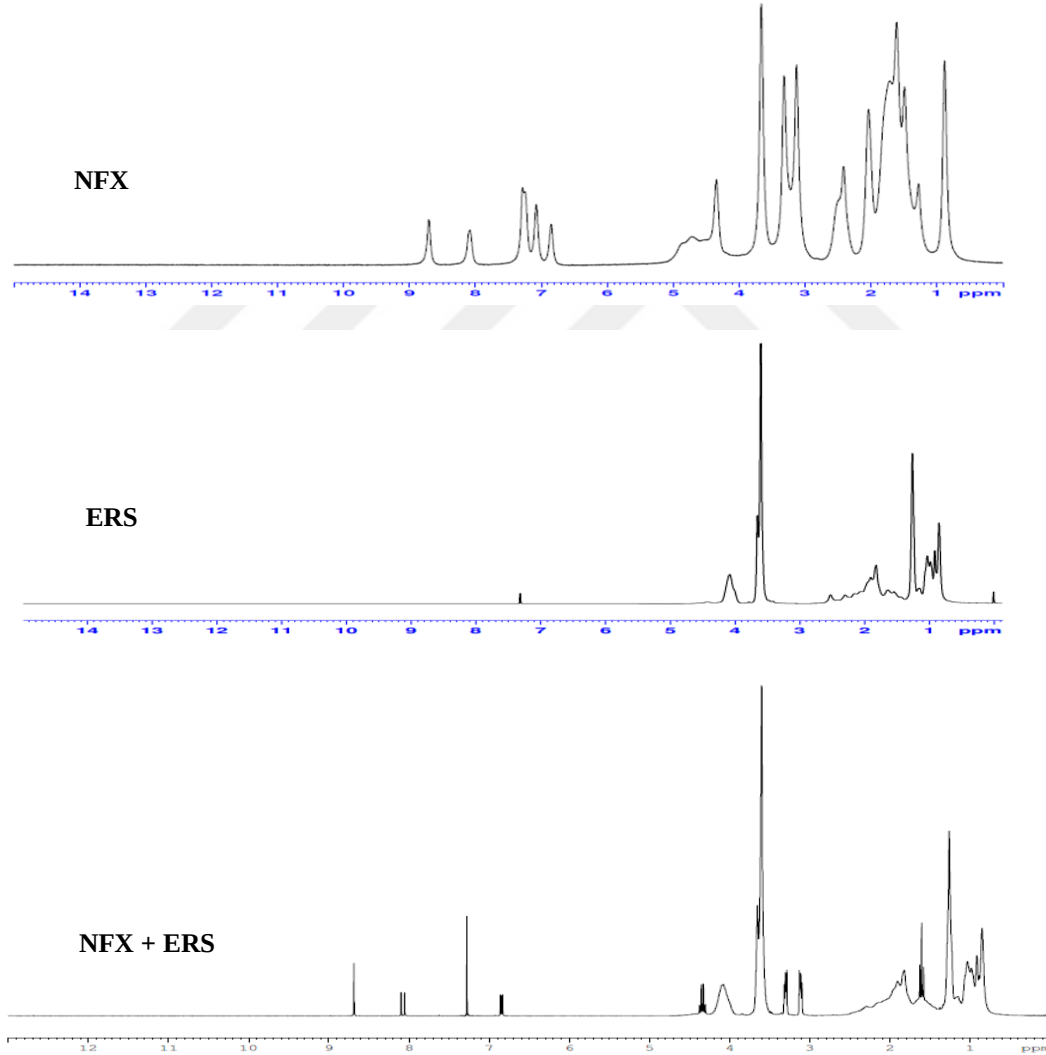


5.3.6 Nükleer manyetik rezonans analizi

NMR analizi ile nanopartiküllerin fizikokimyasal özellikleri, polimere yüklenen etkin maddenin durumu, moleküler hareketlilik ve etkin madde ile birlikte formülasyonda kullanılan yardımcı maddeler arasındaki etkileşimler hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir (Jenning vd., 2000; Li vd., 2008). ^1H -NMR analizi, hem nanopartiküllerin hem de NFX'in hareketliliği ve yapısı hakkında bilgi elde etmek için kullanıldı (Yenilmez, 2017). Analiz sonuçları Şekil 5.18 – Şekil 5.20' de gösterilmiştir.

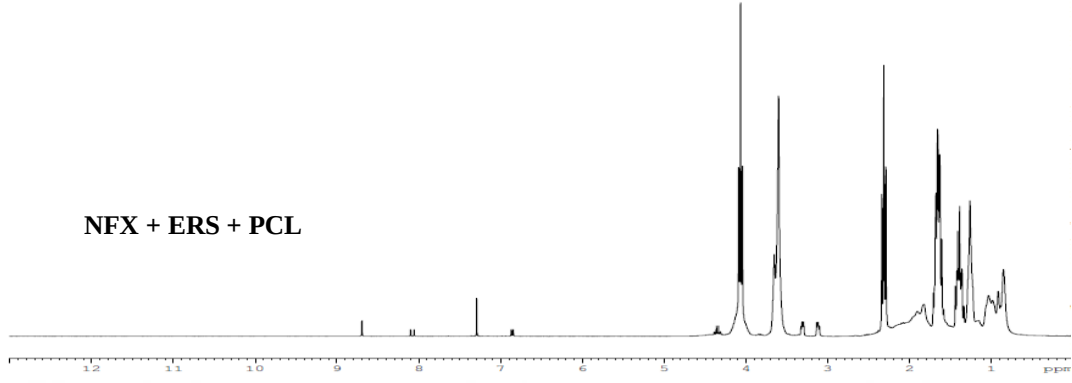
Şekil 5.18

NFX, ERS ve PCL'nin fiziksel karışımlarına ait ^1H -NMR analiz spektrumları



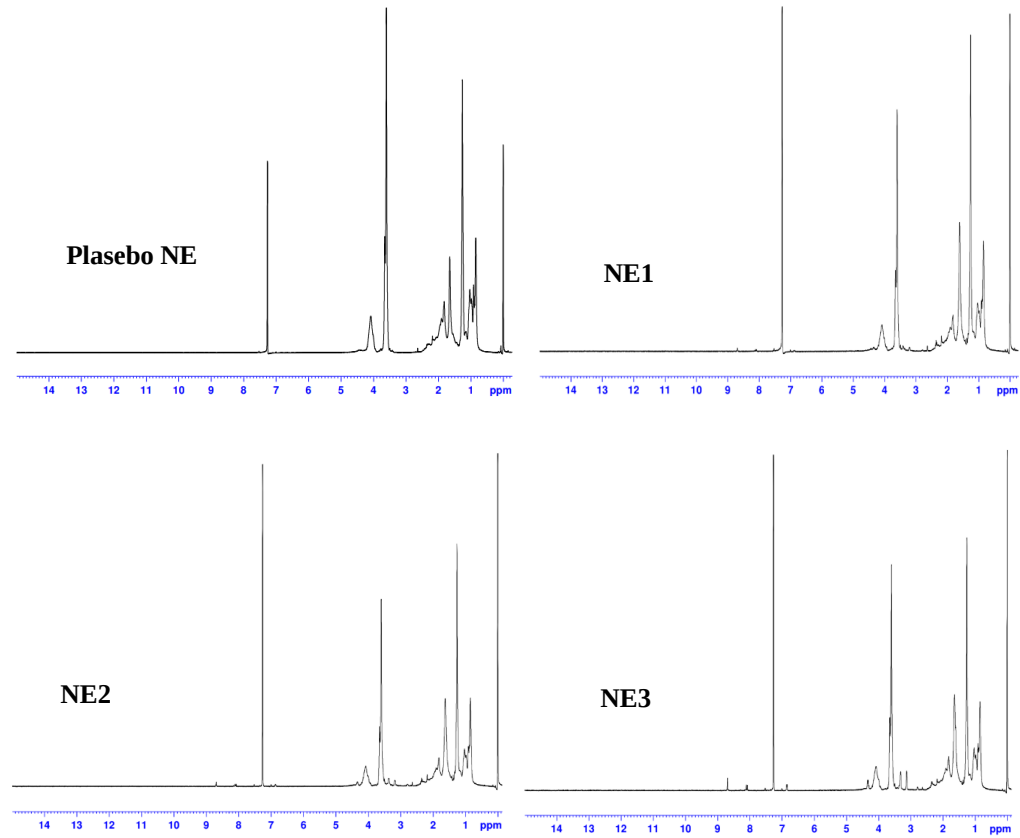
Şekil 5.18 (Devam)

NFX, ERS ve PLC'nin fiziksel karışımlarına ait ^1H -NMR analiz spektrumları



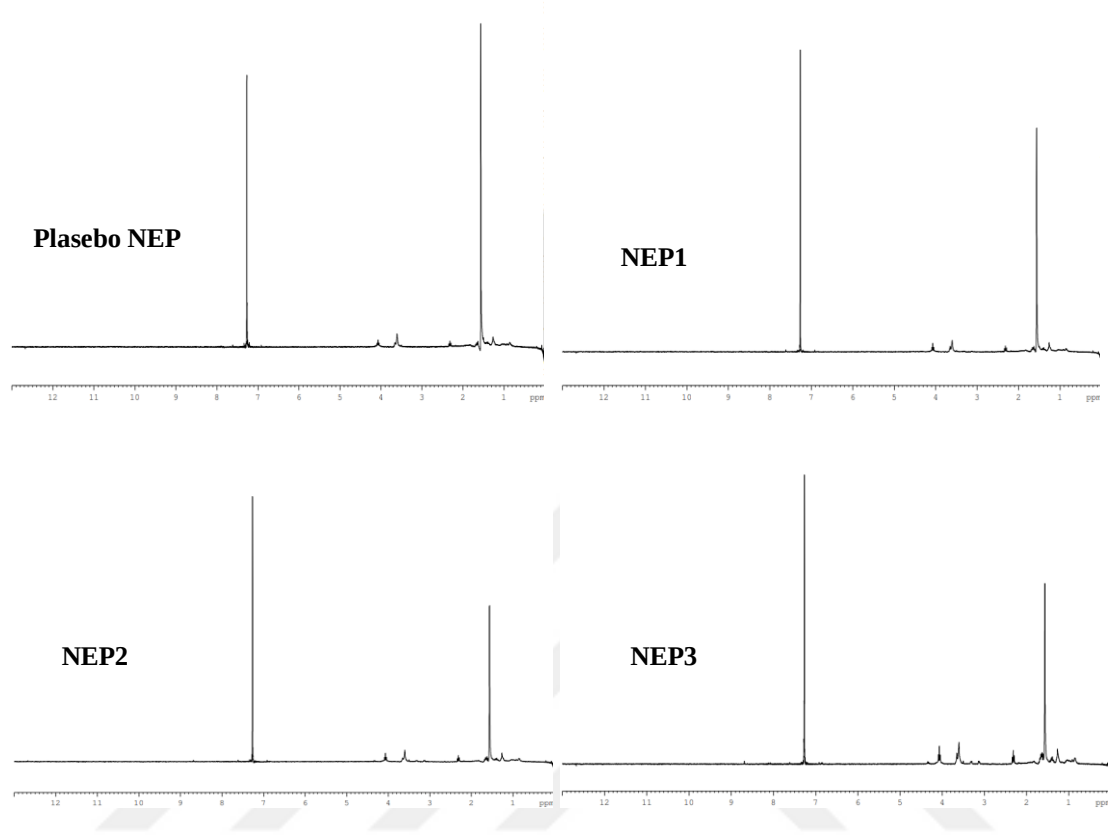
Şekil 5.19

Plasebo NE, NE1, NE2, NE3 formülasyonlarına ait ^1H -NMR analiz spektrumları



Şekil 5.20

Plasebo NEP, NEP1, NEP2, NEP3 formülasyonlarına ait ¹H-NMR analiz spektrumları



NFX yüklü nanopartikül formülasyonları karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark gözlemlenmedi. Saf NFX'e ait 8-9 ppm aralığında görülen pik, etkin madde yüklü NE ve NEP formülasyonlarında pikin şiddeti azalsa da görülmüştür. Etkin madde konsantrasyonuyla doğru orantılı olarak bu karakteristik pikin şiddeti de artmıştır.

Bu da etkin maddenin yapısını koruyarak formülasyonlara yüklenebildiğini göstermektedir (Yenilmez, 2017).

5.3.7 Enkapsülasyon etkinliği ve yükleme kapasitesi tayini

Nanopartiküllere yüklenen etkin maddenin miktarı yükleme kapasitesi ile ifade edilmektedir. Yükleme kapasitesi polimerin yüzeyine tutunan etkin madde miktarı ile polimerin içerisine yüklenen etkin madde miktarının toplamının yüzde değeridir (Adibkia vd., 2011; Wang vd., 2012). EE polimerin içine yüklenebilen etkin madde miktarının yüzdesi olarak ifade edilmektedir (Adibkia vd., 2011).

Bölüm 4.3.7'de gösterilen Denklem 1 ve 2 kullanılarak; yüzde olarak yükleme kapasitesi ve %EE sonuçları hesaplanmıştır. Analiz 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 5.8*Nanopartikül formülasyonlarına ait %EE ve % yükleme kapasitesi sonuçları (Ort±SH, n=3)*

Nanopartikül	%EE	% Yükleme Kapasitesi
NE1	64,79±0,04	67,09±0,01
NE2	27,72±0,05	70,52±0,04
NE3	24,52±0,09	71,89±0,19
NEP1	65,09±0,01	79,95±0,00
NEP2	43,17±0,12	80,39±0,00
NEP3	32,44±0,08	86,78±0,06

Elde edilen yükleme kapasitesi ve %EE sonuçlarının literatür çalışmasına göre yakın değerler olduğu görülmüştür (Wang vd., 2012; Öztürk vd., 2017; Badri vd., 2017).

Sonuçlara bakıldığında NE1 ve NEP1 partiküllerinde etkin maddenin %65 oranında enkapsüle edilebildiği görülmüştür. Ancak NE2, NE3, NEP2 ve NEP3 partiküllerinde etkin maddenin büyük bir kısmı yüzeyde adsorbe olmuştur. Formülasyonda etkin madde konsantrasyonu artırıldıkça, enkapsüle etme oranının azaldığı söylenebilmektedir. Bunun elektrostatik olaylar sonucu gerçekleşebileceği düşünülmüştür (Thagele vd., 2011).

Formülasyona PCL eklenmesiyle etkin maddenin enkapsüle edilebilme oranında artış görülmüştür. Etkin madde konsantrasyonunun artırılmasıyla, enkapsülasyon oranı NEP partiküllerinde NE'ye göre daha az düşmüştür. %EE 65,09 olarak en yüksek enkapsülasyon değerine sahip partikül NEP1'dir.

Etkin madde oranı artırıldıkça NE partiküllerinin yükleme kapasitelerinde anlamlı bir artış olmadığı görülmüştür. NEP partiküllerinde ise NEP3 partikülünün yükleme kapasitesinde nispeten daha fazla bir artış olmuştur.

PCL'nin formülasyona eklenmesi, hem etkin maddenin enkapsüle edilmesine hem de toplam yükleme kapasitesine olumlu bir etki sağlamıştır.

Elde edilen sonuçlar püskürterek kurutma tekniği ile NFX yüklenmiş nanopartiküllerin oluştuğunu göstermektedir.

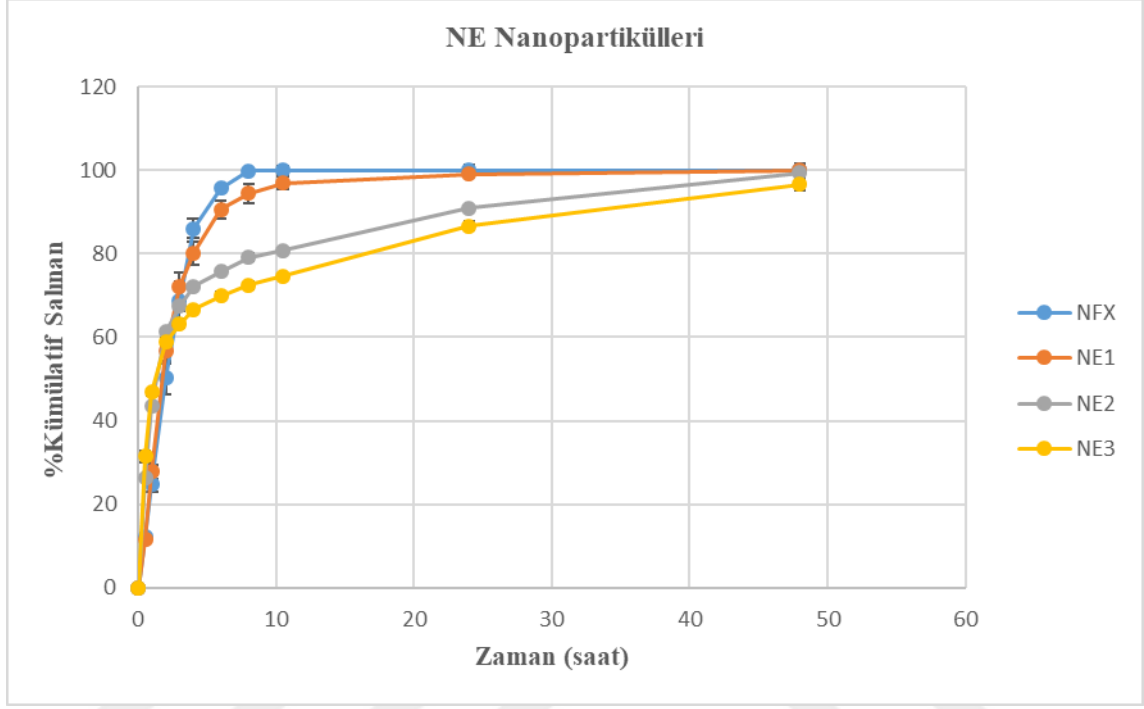
5.3.8 *İn vitro* salım çalışması

Diyaliz membran yönteminde nanopartikülden salınan serbest ilaç, salım ortamına yarı geçirgen bir membrandan geçmektedir. Bu membran, polimer ve etkin maddenin birbirinden ayrılmasını sağlamaktadır (Modi ve Anderson, 2013).

Önceden belirlenmiş saatlerde alınan örnekler YBSK’de analiz edilmiş ve yüzde kümülatif salınan NFX miktarı grafikleri Şekil 5.21 ve Şekil 5.22’de gösterilmiştir.

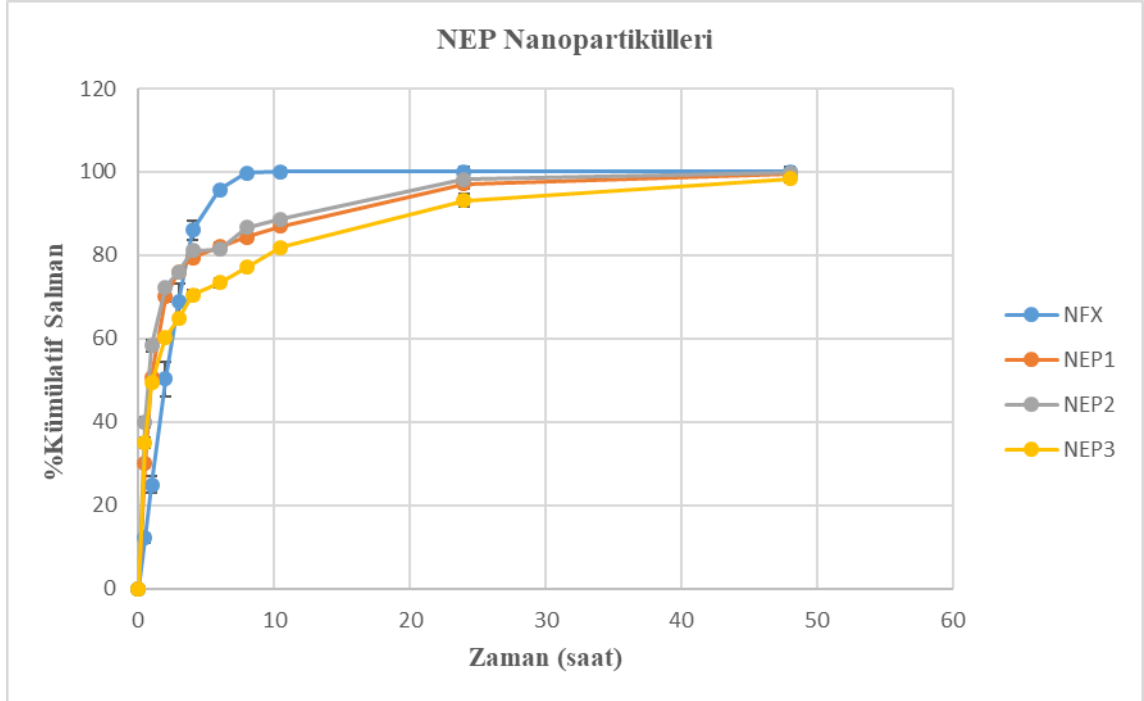
Şekil 5.21

NE nanopartiküllerinin in-vitro salım çalışması sonuçları (Ort±SH, n=3)



Şekil 5.22

NEP nanopartiküllerinin in-vitro salım çalışması sonuçları (Ort±SH, n=3)



In-vitro salım çalışması ile nanopartiküllerden NFX'in büyük bir kısmının ilk 10 saatte salındığı görülmüştür. Kalan NFX'in tamamına yakını ise nispeten daha yavaş olacak şekilde 48 saatte salınmıştır. Tüm nanopartiküllerde NFX'in yaklaşık %60-70 oranında bir kısmı 3. ve 4. saat aralığında salındığı görülmüştür. Bu hızlı salımın, etkin maddenin çoğunlukla polimerin yüzeyine tutunmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür (Mudgil ve Pawar, 2013). Ancak başlangıçtaki bu hızlı salım, antibakteriyel etki açısından minimum etkili ilaç konsantrasyonuna daha hızlı ulaşmak için faydalı olacaktır (Gebreel vd., 2021).

NE3 nanopartikülü 10. saatte %74 kümülatif salıma ulaşmıştır. 10. saatte NE1 %96, NE2 ise %80 kümülatif salım yapmıştır.

NEP nanopartiküllerinden ilk yarım saatte salınan oran NE nanopartiküllerine göre daha hızlı olmuştur. Ancak ilerleyen saatlerde salım profilleri her iki formülasyonda da birbirine yakın olarak ilerlemiştir. 10. saatte NEP1 %87, NEP2 %88, NEP3 ise %81 kümülatif salım göstermiştir. Nanopartiküller arasında nispeten daha yavaş salım gösteren NE3 nanopartikülü olmuştur. NE ve NEP partiküllerinin salım profillerinin yakın olması, PCL'nin formülasyona eklenmesiyle salım profili açısından anlamlı bir farklılık oluşmadığını göstermiştir.

Saf NFX salım profili ile partiküller kıyaslanmıştır. Saf NFX'in 4. saatte %86, 8. saatte ise %99 kümülatif salıma ulaştığı görülmüştür. Nanopartikül formülasyonlarında ise %99 kümülatif salıma 48. saatte ulaşılmıştır.

Hedeflendiği üzere ERS ve PCL polimerleri ile tüm nanopartikül formülasyonlarında yavaşlatılmış ve uzatılmış bir etkin madde salımı elde edilmiştir. Suda oldukça düşük bir çözünürlüğe sahip olan NFX'in oküler uygulamada biyoyarlanımının artırabileceği *in vitro* salım çalışmasıyla gösterilmiştir.

Hazırlanan nanopartikül formülasyonlarının *in vivo* salım davranışları hakkında bilgi sahibi olmak adına, partiküllerin *in vitro* matematiksel salım modellerine uygunluğu değerlendirilmiştir (Bruschi, 2015). DD Solver programı kullanılarak determinasyon katsayısı (r^2), akaike bilgi kriteri (AIC), model seçim kriteri (MSC) parametreleri değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 5.9'da gösterilmiştir (Bruschi, 2015; Başaran, 2017).

Tablo 5.9*Nanopartikül formülasyonları ve NFX'in in vitro salım modelleri*

Formülasyon	Parametre	Salım Modelleri					
		Sıfırıncı Derece	Birinci Derece	Higuchi	Hixon-Crowell	Hopfenberg	Korsmeyer-Peppas
NE1	k	3,2618	0,3645	22,2686	0,0275	0,0412	47,2788
	r²	-1,1059	0,9921	0,3416	0,0955	0,5320	0,6674
	AIC	114,9848	53,4835	102,1946	105,6880	100,4399	83,9111
	MSC	-1,3130	4,2780	-0,1502	-0,4678	0,0093	0,7007
	n	-	-	-	-	-	0,2158
NE2	k	3,0621	0,1670	20,6961	0,0313	0,0313	56,0511
	r²	-1,7248	0,5600	0,1975	0,0137	0,0348	0,8060
	AIC	112,7082	92,6517	99,2622	101,5303	103,2920	71,0497
	MSC	-1,8103	0,0130	-0,5879	-0,7941	-0,9543	1,2399
	n	-	-	-	-	-	0,1694
NE3	k	2,9271	0,1213	19,6844	0,0267	0,0267	45,3288
	r²	-1,9152	0,2083	0,1429	-0,2325	-0,2297	0,9153
	AIC	111,3995	97,0610	97,9335	101,9300	103,9042	59,7338
	MSC	-1,9730	-0,6695	-0,7488	-1,1121	-1,2916	2,0692
	n	-	-	-	-	-	0,2188
NEP1	k	3,1849	0,1919	21,9456	0,0344	0,0344	56,4592
	r²	-2,2071	0,4644	-0,0514	-0,2565	-0,1704	0,7440
	AIC	115,2408	95,5543	102,9729	104,9330	106,1523	73,3643
	MSC	-2,0661	-0,2764	-0,9508	-1,1290	-1,2399	0,9627
	n	-	-	-	-	-	0,1433
NEP2	k	3,2157	0,2159	22,3090	0,0361	0,0361	57,0863
	r²	-2,7387	0,3885	-0,2807	-0,5731	-0,3908	0,8207
	AIC	116,0806	96,1644	104,2963	106,5578	107,2034	66,7872
	MSC	-2,3984	-0,5878	-1,3271	-1,5327	-1,5914	1,3185
	n	-	-	-	-	-	0,1809
NEP3	k	3,0575	0,1500	20,6923	0,0303	0,0303	48,4080
	r²	-2,0309	0,3676	0,0977	-0,1591	-0,1443	0,9194
	AIC	112,8046	95,5673	99,4763	102,2319	104,0904	59,8768
	MSC	-2,0326	-0,4655	-0,8209	-1,0714	-1,2404	2,1182
	n	-	-	-	-	-	0,2129
NFX	k	3,3022	0,6283	22,6091	0,0310	0,0465	24,7907
	r²	-1,0229	0,9044	0,3472	0,2425	0,6481	0,8960
	AIC	115,5857	82,0080	103,1439	104,7806	98,3475	60,0509
	MSC	-1,2403	1,8123	-0,1092	-0,2580	0,3269	1,4315
	n	-	-	-	-	-	0,7871

Saf NFX ve NE1 nanopartikülünün salım kinetiğinin, ilaç salım hızının madde konsantrasyonuna bağlı olduğu birinci derece salım kinetiğine uygun olduğu görülmüştür (Bohrey vd., 2016). NE1 dışında diğer tüm nanopartiküllerin salım kinetiği modelinin Korsmeyer-Peppas'a uyduğu görülmüştür. Bu model genellikle salım mekanizması iyi bilinmediğinde veya birden fazla salım türü içeren polimerik ilaç taşıyıcı sistemlerin salımını analiz etmek için kullanılmaktadır (Costa ve Lobo, 2001). Etkin maddenin membranlardan geçişinin temel mekanizması pasif difüzyonla açıklanmaktadır. Pasif difüzyon maddenin yüksek konsantrasyonlu bir bölgeden daha düşük konsantrasyonlu bir bölgeye kendiliğinden geçişi olarak tanımlanmaktadır. Bu difüzyon Fick yasasına göre gerçekleşmektedir (Mittal, 2016). Korsmeyer-Peppas modelinde elde edilen “n” değeri Fick yasasına uygun difüzyonun bir göstergesidir. $n < 0,45$ ise difüzyon Fick yasasına uygun gerçekleşmektedir (Dash vd., 2010). Tablo 5.9'a göre tüm nanopartikül formülasyonlarının “n” değeri 0,45'ten küçüktür. Böylece hazırlanan nanopartikül formülasyonlarında difüzyonun Fick yasasına uygun olarak gerçekleştiği söylenebilmektedir (Dash vd., 2010).

6 SONUÇ

Tez çalışması kapsamında oküler uygulamaya yönelik NFX yüklü polimerik nanopartiküller püskürterek kurutma yöntemiyle küresel yapıda elde edilmiştir. Elde edilen nanopartiküllerin; amorf yapısı DSC analizi ile gösterilmiştir. FT-IR ve NMR cihazlarıyla yapılan karakterizasyon çalışmalarıyla NFX'in formülasyon oluşturma aşamasında kararlı halde bulunduğu gösterilmiştir. Partikül büyüklüğü, PDI ve pozitif zeta potansiyel değerlerinin oküler uygulama için uygun olduğu ve yapılan etkin madde miktar tayini çalışması ile NFX'in yeterli miktarda polimerlere yüklenebildiği görülmüştür.

NEP formülasyonlarında %EE, yükleme kapasitesi ve fiziksel kararlılığın NE formülasyonlarına göre arttığı görülmüştür. PCL'nin formülasyona eklenmesi partiküllere olumlu yönde katkı sağlamıştır. Çalışmalar sonucunda fiziksel kararlılığı, NFX'i daha fazla yüklenebilmiş olması ve uzatılmış salım özellikleri ile NEP3 nanopartikülü öne çıkmıştır.

Hazırlanan nanopartiküller ile suda çözünürlüğü oldukça düşük olan NFX suni göz yaşı ortamında koloidal olarak dağılabilmiş ve polimerlerin amorf yapısı ile çözünürlük özellikleri artırılmıştır. 48 saate kadar uzatılmış salıma sahip, oküler uygulamaya uygun nanopartiküller elde edilerek biyoyararlanımın artırabileceği *in vitro* salım çalışması ile gösterilmiştir.

Bu tez çalışmasının sonuçlarının antibakteriyel ve antifungal açıdan değerlendirilmesi için antibakteriyel aktivite çalışmaları ile *in vivo* çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Tez kapsamında hazırlanacak akademik makale öncesinde bu çalışmaların gerçekleştirilmesi planlanmaktadır.

KAYNAKÇA

- Abdelwahed, W., Degobert, G., Stainmesse, S., & Fessi, H. (2006). Freeze-drying of nanoparticles: formulation, process and storage considerations. *Advanced drug delivery reviews*, 58(15), 1688-1713.
- Achouri, D., Alhanout, K., Piccerelle, P., & Andrieu, V. (2013). Recent advances in ocular drug delivery. *Drug development and industrial pharmacy*, 39(11), 1599-1617.
- Adhami, Z. N., Wise, R., Weston, D., & Crump, B. (1984). The pharmacokinetics and tissue penetration of norfloxacin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 13(1), 87-92.
- Adibkia, K., Javadzadeh, Y., Dastmalchi, S., Mohammadi, G., Niri, F. K., & Alaei-Beirami, M. (2011). Naproxen–eudragit® RS100 nanoparticles: Preparation and physicochemical characterization. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 83(1), 155-159.
- Agarwal, R., Iezhitsa, I., Agarwal, P., Abdul Nasir, N. A., Razali, N., Alyautdin, R., & Ismail, N. M. (2016). Liposomes in topical ophthalmic drug delivery: an update. *Drug delivery*, 23(4), 1075-1091.
- Ali, M., & Byrne, M. E. (2008). Challenges and solutions in topical ocular drug-delivery systems. *Expert review of clinical pharmacology*, 1(1), 145-161.
- Al-Heibshy, F. N., Başaran, E., Arslan, R., Öztürk, N., Erol, K., & Demirel, M. (2020). Physicochemical characterization and pharmacokinetic evaluation of rosuvastatin calcium incorporated solid lipid nanoparticles. *International journal of pharmaceutics*, 578, 119106.
- Almeida, H., Amaral, M. H., Lobão, P., Silva, A. C., & Lobo, J. M. S. (2014). Applications of polymeric and lipid nanoparticles in ophthalmic pharmaceutical formulations: present and future considerations. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 17(3), 278-293.
- Al-Mustafa, J. (2002). Magnesium, calcium, and barium perchlorate complexes of ciprofloxacin and norfloxacin. *Acta Chimica Slovenica*, 49(3), 457-466.

- Allouche, J. (2012). Synthesis of organic and bioorganic nanoparticles: an overview of the preparation methods. *Nanomaterials: A Danger or a Promise? A Chemical and Biological Perspective*, 27-74.
- Ameeduzzafar, Ali, J., Fazil, M., Qumbar, M., Khan, N., & Ali, A. (2016). Colloidal drug delivery system: amplify the ocular delivery. *Drug delivery*, 23(3), 700-716.
- Andreani, T., Kiill, C. P., de Souza, A. L. R., Fangueiro, J. F., Doktorovova, S., Garcia, M. L., ... & Souto, E. B. (2015). Effect of cryoprotectants on the reconstitution of silica nanoparticles produced by sol–gel technology. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 120, 1001-1007.
- Arpagaus, C. (2019). PLA/PLGA nanoparticles prepared by nano spray drying. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 49, 405-426.
- Baba, K., Tanaka, Y., Kubota, A., Kasai, H., Yokokura, S., Nakanishi, H., & Nishida, K. (2011). A method for enhancing the ocular penetration of eye drops using nanoparticles of hydrolyzable dye. *Journal of controlled release*, 153(3), 278-287.
- Bachu, R. D., Chowdhury, P., Al-Saedi, Z. H., Karla, P. K., & Boddu, S. H. (2018). Ocular drug delivery barriers—role of nanocarriers in the treatment of anterior segment ocular diseases. *Pharmaceutics*, 10(1), 28.
- Badri, W., Miladi, K., Robin, S., Viennet, C., Nazari, Q. A., Agusti, G., ... & Elaissari, A. (2017). Polycaprolactone based nanoparticles loaded with indomethacin for anti-inflammatory therapy: from preparation to ex vivo study. *Pharmaceutical research*, 34, 1773-1783.
- Bahari, L. A. S., & Hamishehkar, H. (2016). The impact of variables on particle size of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers; a comparative literature review. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 6(2), 143.
- Barar, J., Javadzadeh, A. R., & Omid, Y. (2008). Ocular novel drug delivery: impacts of membranes and barriers. *Expert opinion on drug delivery*, 5(5), 567-581.

- Baron, E. J., Miller, J. M., Weinstein, M. P., Richter, S. S., Gilligan, P. H., Thomson Jr, R. B., ... & Pritt, B. S. (2013). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM) a. *Clinical infectious diseases*, 57(4), e22-e121.
- Barry, A. L., Jones, R. N., Thornsberry, C., Ayers, L. W., Gerlach, E. H., & Sommers, H. M. (1984). Antibacterial activities of ciprofloxacin, norfloxacin, oxolinic acid, cinoxacin, and nalidixic acid. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 25(5), 633-637.
- Başaran, E., & Yazan, Y. (2012). Ocular application of chitosan. *Expert opinion on drug delivery*, 9(6), 701-712.
- Başaran, E., Yenilmez, E., Berkman, M. S., Büyükköroğlu, G., & Yazan, Y. (2014). Chitosan nanoparticles for ocular delivery of cyclosporine A. *Journal of microencapsulation*, 31(1), 49-57.
- Başaran, E. (2017). Ocular application of dirithromycin incorporated polymeric nanoparticles: An in vitro evaluation. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(2), 191.
- Bedor, D. C. G., Gonçalves, T. M., Bastos, L. L., Sousa, C. E. M. D., Abreu, L. R. P. D., Oliveira, E. D. J., & Santana, D. P. D. (2007). Development and validation of a new method for the quantification of norfloxacin by HPLC-UV and its application to a comparative pharmacokinetic study in human volunteers. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 43, 231-238.
- Bera, B. (2015). Nanoporous silicon prepared by vapour phase strain etch and sacrificial technique. *Int. J. Comput. Appl*, 975, 8887.
- Bertino Jr, J. S. (2009). Impact of antibiotic resistance in the management of ocular infections: the role of current and future antibiotics. *Clinical Ophthalmology*, 507-521.
- Bhattacharjee, S. (2016). In relation to the following article “DLS and zeta potential—what they are and what they are not?” journal of controlled release, 2016, 235, 337–351. *Journal of Controlled Release*, 238, 311-312.

- Blomquist, P. H. (2006). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections of the eye and orbit (an American Ophthalmological Society thesis). *Transactions of the American Ophthalmological Society*, 104, 322.
- Bohrey, S., Chourasiya, V., & Pandey, A. (2016). Polymeric nanoparticles containing diazepam: preparation, optimization, characterization, in-vitro drug release and release kinetic study. *Nano Convergence*, 3(1), 3.
- Borges, O., Borchard, G., Verhoef, J. C., de Sousa, A., & Junginger, H. E. (2005). Preparation of coated nanoparticles for a new mucosal vaccine delivery system. *International journal of pharmaceutics*, 299(1-2), 155-166.
- Brar, S. K., & Verma, M. (2011). Measurement of nanoparticles by light-scattering techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(1), 4-17.
- Bremond-Gignac, D., Chiambaretta, F., & Milazzo, S. (2011). A European perspective on topical ophthalmic antibiotics: current and evolving options. *Ophthalmology and eye diseases*, 3, OED-S4866.
- Broadhead, J., Edmond Rouan, S. K., & Rhodes, C. T. (1992). The spray drying of pharmaceuticals. *Drug development and industrial pharmacy*, 18(11-12), 1169-1206.
- Bron, A. J., Tiffany, J. M., Gouveia, S. M., Yokoi, N., & Voon, L. W. (2004). Functional aspects of the tear film lipid layer. *Experimental eye research*, 78(3), 347-360.
- Bruschi, M. L. (2015). Mathematical models of drug release. *Strategies to modify the drug release from pharmaceutical systems*, 5, 63-86.
- Cal, K., & Sollohub, K. (2010). Spray drying technique. I: Hardware and process parameters. *Journal of pharmaceutical sciences*, 99(2), 575-586.
- Carvalho, P. M., Felício, M. R., Santos, N. C., Gonçalves, S., & Domingues, M. M. (2018). Application of light scattering techniques to nanoparticle characterization and development. *Frontiers in chemistry*, 6, 237.
- Chandra, R. U. S. T. G. I., & Rustgi, R. (1998). Biodegradable polymers. *Progress in polymer science*, 23(7), 1273-1335.

- Chenel, M., Marchand, S., Dupuis, A., Lamarche, I., Paquereau, J., Pariat, C., & Couet, W. (2004). Simultaneous central nervous system distribution and pharmacokinetic–pharmacodynamic modelling of the electroencephalogram effect of norfloxacin administered at a convulsant dose in rats. *British journal of pharmacology*, 142(2), 323-330.
- Chhabra, S., Kunitomo, D. Y., Kazi, L., Regillo, C. D., Ho, A. C., Belmont, J., ... & Brown, G. C. (2006). Endophthalmitis after open globe injury: microbiologic spectrum and susceptibilities of isolates. *American journal of ophthalmology*, 142(5), 852-854.
- Chierentin, L., & Salgado, H. R. N. (2016). Review of properties and analytical methods for the determination of norfloxacin. *Critical reviews in analytical chemistry*, 46(1), 22-39.
- Chronopoulou, L., Fratoddi, I., Palocci, C., Venditti, I., & Russo, M. V. (2009). Osmosis based method drives the self-assembly of polymeric chains into micro- and nanostructures. *Langmuir*, 25(19), 11940-11946.
- Clogston, J. D., & Patri, A. K. (2011). Zeta potential measurement. *Characterization of nanoparticles intended for drug delivery*, 63-70.
- Constantinou, M., Daniell, M., Snibson, G. R., Vu, H. T., & Taylor, H. R. (2007). Clinical efficacy of moxifloxacin in the treatment of bacterial keratitis: a randomized clinical trial. *Ophthalmology*, 114(9), 1622-1629.
- Corrigan, D. O., Healy, A. M., & Corrigan, O. I. (2006). Preparation and release of salbutamol from chitosan and chitosan co-spray dried compacts and multiparticulates. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, 62(3), 295-305.
- Costa, P., & Lobo, J. M. S. (2001). Modeling and comparison of dissolution profiles. *European journal of pharmaceutical sciences*, 13(2), 123-133.
- Coulembier, O., Degée, P., Hedrick, J. L., & Dubois, P. (2006). From controlled ring-opening polymerization to biodegradable aliphatic polyester: Especially poly (β -malic acid) derivatives. *Progress in Polymer Science*, 31(8), 723-747.

- Crucho, C. I., & Barros, M. T. (2017). Polymeric nanoparticles: A study on the preparation variables and characterization methods. *Materials Science and Engineering: C*, 80, 771-784.
- Cwiklik, L. (2016). Tear film lipid layer: A molecular level view. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1858(10), 2421-2430.
- Çelebi, M., & Karagöz, İ. (2019). Biyobozunur Polimerler Ve Özellikleri; Nişasta, Poli (Glikolik Asit), Poli (Laktik Asit) Ve Poli (ε Kaprolakton). *Gece Akademi Yayıncılık, Mühendislik Alanında Yeni Ufuklar*, 249-266.
- Dalwadi, G., Benson, H. A., & Chen, Y. (2005). Comparison of diafiltration and tangential flow filtration for purification of nanoparticle suspensions. *Pharmaceutical research*, 22, 2152-2162.
- Dash, S., Murthy, P. N., Nath, L., & Chowdhury, P. (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Pol Pharm*, 67(3), 217-223.
- Dave, V., Yadav, R. B., Kushwaha, K., Yadav, S., Sharma, S., & Agrawal, U. (2017). Lipid-polymer hybrid nanoparticles: Development & statistical optimization of norfloxacin for topical drug delivery system. *Bioactive materials*, 2(4), 269-280.
- Derman, S., Kızılbey, K., & Akdeste, Z. M. (2013). Polymeric nanoparticles. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 31(1), 107-120.
- Dhevaraj, J., Vembu, S., Pazhamalai, S., & Gopalakrishnan, M. (2019). Design and synthesis of some cyclic carbohydrates with norfloxacin as surface moiety. A study of sustained release of drugs. *Oriental Journal of Chemistry*, 35(2), 577-590.
- Dixit, M., Kulkarni, P. K., Kini, A. G., & Shivakumar, H. G. (2010). Spray drying: A crystallization technique: A review. *Int J Drug Formulation and Res*, 1, 1-29.
- Domart, Y., & Fantin, B. (1994). Quinolones. *Médicaments anti-infectieux*, 123-146.
- Doncom, K. E., Blackman, L. D., Wright, D. B., Gibson, M. I., & O'Reilly, R. K. (2017). Dispersity effects in polymer self-assemblies: a matter of hierarchical control. *Chemical Society Reviews*, 46(14), 4119-4134.

- Dos Santos, J., da Silva, G. S., Velho, M. C., & Beck, R. C. R. (2021). Eudragit®: A versatile family of polymers for hot melt extrusion and 3D printing processes in pharmaceuticals. *Pharmaceutics*, 13(9), 1424.
- Downie, L. E., Bandlitz, S., Bergmanson, J. P., Craig, J. P., Dutta, D., Maldonado-Codina, C., ... & Wolffsohn, J. S. (2021). BCLA CLEAR-Anatomy and physiology of the anterior eye. *Contact Lens and Anterior Eye*, 44(2), 132-156.
- Duval, J., & Soussy, C. J. (1990). *Antibiothérapie: bases bactériologiques pour l'utilisation des antibiotiques*. Masson.
- Elmowafy, M., Shalaby, K., Elkomy, M. H., Alsaidan, O. A., Gomaa, H. A., Abdelgawad, M. A., & Mostafa, E. M. (2023). Polymeric nanoparticles for delivery of natural bioactive agents: recent advances and challenges. *Polymers*, 15(5), 1123.
- Epling, J. (2012). Bacterial conjunctivitis. *BMJ clinical evidence*, 2012, 0704.
- Everett, S. L., Kowalski, R. P., Karenchak, L. M., Landsittel, D., Day, R., & Gordon, Y. J. (1995). An in vitro comparison of the susceptibilities of bacterial isolates from patients with conjunctivitis and blepharitis to newer and established topical antibiotics. *Cornea*, 14(4), 382-387.
- Fessi, H. P. F. D., Puisieux, F., Devissaguet, J. P., Ammoury, N., & Benita, S. (1989). Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. *International journal of pharmaceutics*, 55(1), R1-R4.
- Fintelman, R. E., Hoskins, E. N., Lietman, T. M., Keenan, J. D., Gaynor, B. D., Cevallos, V., & Acharya, N. R. (2011). Topical fluoroquinolone use as a risk factor for in vitro fluoroquinolone resistance in ocular cultures. *Archives of ophthalmology*, 129(4), 399-402.
- Fonte, P., Reis, S., & Sarmiento, B. (2016). Facts and evidences on the lyophilization of polymeric nanoparticles for drug delivery. *Journal of controlled release*, 225, 75-86.
- Freitas, C., & Müller, R. H. (1998). Effect of light and temperature on zeta potential and physical stability in solid lipid nanoparticle (SLN™) dispersions. *International journal of pharmaceutics*, 168(2), 221-229.

- Fu, Y., & Kao, W. J. (2010). Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems. *Expert opinion on drug delivery*, 7(4), 429-444.
- Gan, L., Wang, J., Jiang, M., Bartlett, H., Ouyang, D., Eperjesi, F., ... & Gan, Y. (2013). Recent advances in topical ophthalmic drug delivery with lipid-based nanocarriers. *Drug discovery today*, 18(5-6), 290-297.
- Gaudana, R., Ananthula, H. K., Parenky, A., & Mitra, A. K. (2010). Ocular drug delivery. *The AAPS journal*, 12, 348-360.
- Gaudana, R., Jwala, J., Boddu, S. H., & Mitra, A. K. (2009). Recent perspectives in ocular drug delivery. *Pharmaceutical research*, 26, 1197-1216.
- Gauzit, R., & Lakdhari, M. (2012). Generic antibiotic drugs: is effectiveness guaranteed?. *Medecine et maladies infectieuses*, 42(4), 141-148.
- Gebreel, R. M., Edris, N. A., Elmofly, H. M., Tadros, M. I., El-Nabarawi, M. A., & Hassan, D. H. (2021). Development and characterization of PLGA nanoparticle-laden hydrogels for sustained ocular delivery of norfloxacin in the treatment of pseudomonas keratitis: An experimental study. *Drug Design, Development and Therapy*, 399-418.
- Ghate, D., & Edelhauser, H. F. (2008). Barriers to glaucoma drug delivery. *Journal of glaucoma*, 17(2), 147-156.
- Gibson, M. (2004). Pharmaceutical formulation and preformulation. *Boca Raton, FL: Interpharm*.
- Girdhar, V., Patil, S., Banerjee, S., & Singhvi, G. (2018). Nanocarriers for drug delivery: mini review. *Current Nanomedicine (Formerly: Recent Patents on Nanomedicine)*, 8(2), 88-99.
- Gniadecka, M., Wulf, H. C., Nielsen, O. F., Christensen, D. H., & Hercogova, J. (1997). Distinctive molecular abnormalities in benign and malignant skin lesions: studies by Raman spectroscopy. *Photochemistry and photobiology*, 66(4), 418-423.

- Gorantla, S., Rapalli, V. K., Waghule, T., Singh, P. P., Dubey, S. K., Saha, R. N., & Singhvi, G. (2020). Nanocarriers for ocular drug delivery: Current status and translational opportunity. *RSC advances*, 10(46), 27835-27855.
- Goldstein, E. J. (1987). Norfloxacin, a fluoroquinolone antibacterial agent: classification, mechanism of action, and in vitro activity. *The American journal of medicine*, 82(6), 3-17.
- Grangie, J. D., Roulot, D., Pelletier, G., Pariente, É. A., Denis, J., Ink, O., ... & Amiot, X. (1998). Norfloxacin primary prophylaxis of bacterial infections in cirrhotic patients with ascites: a double-blind randomized trial. *Journal of hepatology*, 29(3), 430-436.
- Green, M., Apel, A., & Stapleton, F. (2008). Risk factors and causative organisms in microbial keratitis. *Cornea*, 27(1), 22-27.
- Gref, R., Minamitake, Y., Peracchia, M. T., Trubetskoy, V., Torchilin, V., & Langer, R. (1994). Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres. *Science*, 263(5153), 1600-1603.
- Hall, J. B., Dobrovolskaia, M. A., Patri, A. K., & McNeil, S. E. (2007). Characterization of nanoparticles for therapeutics. *Nanomedicine*, 2(6), 789-803.
- Hayashi, T. (1994). Biodegradable polymers for biomedical uses. *Progress in polymer science*, 19(4), 663-702.
- Hegde, R. R., Verma, A., & Ghosh, A. (2013). Microemulsion: new insights into the ocular drug delivery. *International Scholarly Research Notices*, 2013.
- Hickey, J. W., Santos, J. L., Williford, J. M., & Mao, H. Q. (2015). Control of polymeric nanoparticle size to improve therapeutic delivery. *Journal of Controlled Release*, 219, 536-547.
- Holmes, B., Brogden, R. N., & Richards, D. M. (1985). Norfloxacin: a review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs*, 30, 482-513.

- Honary, S., & Zahir, F. (2013). Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems-a review (Part 1). *Tropical journal of pharmaceutical research*, 12(2), 255-264.
- Horoz, B. B., Kiliçarslan, M., Yüksel, N., & Baykara, T. (2006). Influence of aluminum tristearate and sucrose stearate as the dispersing agents on physical properties and release characteristics of Eudragit RS microspheres. *AAPS PharmSciTech*, 7, E111-E117.
- Høvding, G. (2008). Acute bacterial conjunctivitis. *Acta ophthalmologica*, 86(1), 5-17.
 (http-1): <https://gozdoktor.net/gozun-yapisi/> (Erişim tarihi: 11.07.2024)
 (http-2): <https://gozdoktor.net/gozun-yapisi/> (Erişim tarihi: 12.07.2024)
 (http-3): <https://www.researchgate.net/publication/369921014/> (Erişimtarihi: 12.07.2024)
- Huang, D., Schallhorn, S. C., Sugar, A., Farjo, A. A., Majmudar, P. A., Trattler, W. B., & Tanzer, D. J. (2009). Phakic intraocular lens implantation for the correction of myopia: a report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology*, 116(11), 2244-2258.
- Ibrahim, H., Bindschaedler, C., Doelker, E., Buri, P., & Gurny, R. (1992). Aqueous nanodispersions prepared by a salting-out process. *International journal of pharmaceuticals*, 87(1-3), 239-246.
- Isabelle, P. P. C., Pierre-Yves, A. D. R., Nathalie, L. D. D., Bahram, A. P. B., Anne, P. P. B., Max, P. P. B., ... & Président de la Commission de Transparence Pr Ambrosi Pierre. (2004). Collyres et autres topiques antibiotiques dans les infections oculaires superficielles. *Médecine thérapeutique*, 10(5), 360-364.
- Jacobson, J. A., Call, N. B., Kasworm, E. M., Dirks, M. S., & Turner, R. B. (1988). Safety and efficacy of topical norfloxacin versus tobramycin in the treatment of external ocular infections. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 32(12), 1820-1824.
- Jain, R., Majumdar, S., Nashed, Y., Pal, D., & Mitra, A. K. (2004). Circumventing P-glycoprotein-mediated cellular efflux of quinidine by prodrug derivatization. *Molecular pharmaceuticals*, 1(4), 290-299.

- Jani, R., Lang, J., Rodeheaver, D., Missel, P., Roehrs, R., & Chowhan, M. (2002). Design and Evaluation of Ophthalmic Pharmaceutical Products, Modern Pharmaceutics.
- Jenning, V., Mäder, K., & Gohla, S. H. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLNTM) based on binary mixtures of liquid and solid lipids: a ¹H-NMR study. *International journal of pharmaceutics*, 205(1-2), 15-21.
- Jeon, H. J., Jeong, Y. I., Jang, M. K., Park, Y. H., & Nah, J. W. (2000). Effect of solvent on the preparation of surfactant-free poly (DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles and norfloxacin release characteristics. *International journal of pharmaceutics*, 207(1-2), 99-108.
- Joshi, J. R., & Patel, R. P. (2012). Role of biodegradable polymers in drug delivery. *Int J Curr Pharm Res*, 4(4), 74-81.
- Kamaly, N., Yameen, B., Wu, J., & Farokhzad, O. C. (2016). Degradable controlled-release polymers and polymeric nanoparticles: mechanisms of controlling drug release. *Chemical reviews*, 116(4), 2602-2663.
- Kambhampati, S. P., & Kannan, R. M. (2013). Dendrimer nanoparticles for ocular drug delivery. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 29(2), 151-165.
- Kang-Mieler, J. J., Osswald, C. R., & Mieler, W. F. (2014). Advances in ocular drug delivery: emphasis on the posterior segment. *Expert opinion on drug delivery*, 11(10), 1647-1660.
- Khan, M. A., Khan, S., Kazi, M., Alshehri, S. M., Shahid, M., Khan, S. U., ... & Thu, H. E. (2021). Norfloxacin loaded lipid polymer hybrid nanoparticles for oral administration: fabrication, characterization, in silico modelling and toxicity evaluation. *Pharmaceutics*, 13(10), 1632.
- Konan, Y. N., Gurny, R., & Allémann, E. (2002). Preparation and characterization of sterile and freeze-dried sub-200 nm nanoparticles. *International journal of pharmaceutics*, 233(1-2), 239-252.
- Kubal, A., & Garibaldi, D. C. (2008). Dacryoadenitis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ophthalmic Plastic & Reconstructive Surgery*, 24(1), 50-51.

- Lang, J. C. (1995). Ocular drug delivery conventional ocular formulations. *Advanced drug delivery reviews*, 16(1), 39-43.
- Lanier, O. L., Manfre, M. G., Bailey, C., Liu, Z., Sparks, Z., Kulkarni, S., & Chauhan, A. (2021). Review of approaches for increasing ophthalmic bioavailability for eye drop formulations. *Aaps Pharmscitech*, 22, 1-16.
- Lawrence, M. S., & Miller, J. W. (2004). Ocular tissue permeabilities. *International ophthalmology clinics*, 44(3), 53-61.
- Le Boultais, C., Acar, L., Zia, H., Sado, P. A., Needham, T., & Leverge, R. (1998). Ophthalmic drug delivery systems—recent advances. *Progress in retinal and eye research*, 17(1), 33-58.
- Lee, C., & Ronald, A. R. (1987). Norfloxacin: its potential in clinical practice. *The American Journal of Medicine*, 82(6), 27-34.
- Lee, J. H., & Yeo, Y. (2015). Controlled drug release from pharmaceutical nanocarriers. *Chemical engineering science*, 125, 75-84.
- Lee, S. H., Heng, D., Ng, W. K., Chan, H. K., & Tan, R. B. (2011). Nano spray drying: a novel method for preparing protein nanoparticles for protein therapy. *International journal of pharmaceuticals*, 403(1-2), 192-200.
- Leroux, J. C., Allemann, E., Doelker, E., & Gurny, R. (1995). New approach for the preparation of nanoparticles by an emulsification-diffusion method. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceuticals*, 41, 14-14.
- Li, Y., Wong, H. L., Shuhendler, A. J., Rauth, A. M., & Wu, X. Y. (2008). Molecular interactions, internal structure and drug release kinetics of rationally developed polymer–lipid hybrid nanoparticles. *Journal of controlled release*, 128(1), 60-70.
- Lin, H. H., Ko, S. M., Hsu, L. R., & Tsai, Y. H. (1996). The preparation of norfloxacin-loaded liposomes and their in-vitro evaluation in pig's eye. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 48(8), 801-805.
- Lin, P. C., Lin, S., Wang, P. C., & Sridhar, R. (2014). Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. *Biotechnology advances*, 32(4), 711-726.

- Liu, S., Dozois, M. D., Chang, C. N., Ahmad, A., Ng, D. L., Hileeto, D., ... & Gu, F. X. (2016). Prolonged ocular retention of mucoadhesive nanoparticle eye drop formulation enables treatment of eye diseases using significantly reduced dosage. *Molecular pharmaceutics*, 13(9), 2897-2905.
- Lu, M., Yang, X., Yang, Y., Qin, P., Wu, X., & Cai, Z. (2017). Nanomaterials as assisted matrix of laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for the analysis of small molecules. *Nanomaterials*, 7(4), 87.
- Mandal, A., Bisht, R., Rupenthal, I. D., & Mitra, A. K. (2017). Polymeric micelles for ocular drug delivery: From structural frameworks to recent preclinical studies. *Journal of Controlled Release*, 248, 96-116.
- Mansour, H. M., Sohn, M., Al-Ghananeem, A., & DeLuca, P. P. (2010). Materials for pharmaceutical dosage forms: molecular pharmaceutics and controlled release drug delivery aspects. *International journal of molecular sciences*, 11(9), 3298-3322.
- Mantelli, F., Mauris, J., & Argüeso, P. (2013). The ocular surface epithelial barrier and other mechanisms of mucosal protection: from allergy to infectious diseases. *Current opinion in allergy and clinical immunology*, 13(5), 563-568.
- Marante, T., Viegas, C., Duarte, I., Macedo, A. S., & Fonte, P. (2020). An overview on spray-drying of protein-loaded polymeric nanoparticles for dry powder inhalation. *Pharmaceutics*, 12(11), 1032.
- Marin, E., Briceño, M. I., & Caballero-George, C. (2013). Critical evaluation of biodegradable polymers used in nanodrugs. *International journal of nanomedicine*, 3071-3091.
- Mason, T. G., Wilking, J. N., Meleson, K., Chang, C. B., & Graves, S. M. (2006). Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: condensed matter*, 18(41), R635.
- Mathurin, J., Pancani, E., Deniset-Besseau, A., Kjoller, K., Prater, C. B., Gref, R., & Dazzi, A. (2018). How to unravel the chemical structure and component localization of individual drug-loaded polymeric nanoparticles by using tapping AFM-IR. *Analyst*, 143(24), 5940-5949.

- Miller, I. M., Wittreich, J. M., Cook, T., Vogel, R., Ober, M., Scharrer, A., ... & Seal, D. (1992). The safety and efficacy of topical norfloxacin compared with chloramphenicol for the treatment of external ocular bacterial infections. *Eye*, 6(1), 111-114.
- Miller, N. R., Walsh, F. B., & Hoyt, W. F. (Eds.). (2005). *Walsh and Hoyt's clinical neuro-ophthalmology* (Vol. 1). Lippincott Williams & Wilkins.
- Mittal, B. (2016). *How to develop Robust solid oral dosage forms: from conception to post-approval*. Academic press.
- Modi, S., & Anderson, B. D. (2013). Determination of drug release kinetics from nanoparticles: overcoming pitfalls of the dynamic dialysis method. *Molecular pharmaceutics*, 10(8), 3076-3089.
- Mofidfar, M., Abdi, B., Ahadian, S., Mostafavi, E., Desai, T. A., Abbasi, F., ... & Flowers, C. W. (2021). Drug delivery to the anterior segment of the eye: A review of current and future treatment strategies. *International journal of pharmaceutics*, 607, 120924.
- Moinard-Chécot, D., Chevalier, Y., Briançon, S., Beney, L., & Fessi, H. (2008). Mechanism of nanocapsules formation by the emulsion–diffusion process. *Journal of colloid and interface science*, 317(2), 458-468.
- Moiseev, R. V., Morrison, P. W., Steele, F., & Khutoryanskiy, V. V. (2019). Penetration enhancers in ocular drug delivery. *Pharmaceutics*, 11(7), 321.
- Molokhia, S. A., Thomas, S. C., Garff, K. J., Mandell, K. J., & Wirostko, B. M. (2013). Anterior eye segment drug delivery systems: current treatments and future challenges. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics*, 29(2), 92-105.
- Mora-Huertas, C. E., Fessi, H., & Elaissari, A. (2011). Influence of process and formulation parameters on the formation of submicron particles by solvent displacement and emulsification–diffusion methods: Critical comparison. *Advances in colloid and interface science*, 163(2), 90-122.
- Morrison, P. W., & Khutoryanskiy, V. V. (2014). Advances in ophthalmic drug delivery. *Therapeutic delivery*, 5(12), 1297-1315.

- Mourdikoudis, S., Pallares, R. M., & Thanh, N. T. (2018). Characterization techniques for nanoparticles: comparison and complementarity upon studying nanoparticle properties. *Nanoscale*, 10(27), 12871-12934.
- Mudgil, M., & Pawar, P. K. (2013). Preparation and in vitro/ex vivo evaluation of moxifloxacin-loaded PLGA nanosuspensions for ophthalmic application. *Scientia pharmaceutica*, 81(2), 591.
- Mulligan, M. J., & Cobbs, C. G. (1989). Bacteriostatic versus bactericidal activity. *Infectious disease clinics of North America*, 3(3), 389-398.
- Musa, K. A., & Eriksson, L. A. (2009). Theoretical assessment of norfloxacin redox and photochemistry. *The Journal of Physical Chemistry A*, 113(40), 10803-10810.
- Müller, L. J., Marfurt, C. F., Kruse, F., & Tervo, T. M. (2003). Corneal nerves: structure, contents and function. *Experimental eye research*, 76(5), 521-542.
- Natta, F. J. V., Hill, J. W., & Carothers, W. H. (1934). Studies of polymerization and ring formation. XXIII. 1 ϵ -Caprolactone and its polymers. *Journal of the American Chemical Society*, 56(2), 455-457.
- Naumann, P., & Dopp, C. (1989). Fluoroquinolones--antibacterial activity, pharmacokinetics and indications for a new group of chemotherapeutic drugs. *Der Internist*, 30(1), 20-31.
- Nayak, K., & Misra, M. (2018). A review on recent drug delivery systems for posterior segment of eye. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 107, 1564-1582.
- O'Neil, M. J., Smith, A., & Heckelman, P. E. (2006). The Merck Index—An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals; Merck and Co. Inc.: Whitehouse Station, NJ, USA, 1204.
- Onugwu, A. L., Nwagwu, C. S., Onugwu, O. S., Echezona, A. C., Agbo, C. P., Ihim, S. A., ... & Khutoryanskiy, V. V. (2023). Nanotechnology based drug delivery systems for the treatment of anterior segment eye diseases. *Journal of Controlled Release*, 354, 465-488.

- Öztürk, A. A., Yenilmez, E., Arslan, R., Şenel, B., & Yazan, Y. (2017). Dexketoprofen trometamol-loaded Kollidon® SR and Eudragit® RS 100 polymeric nanoparticles: Formulation and in vitro-in vivo evaluation. *Lat Am J Pharm*, 36(11), 2153-2165.
- Patra, C. N., Priya, R., Swain, S., Jena, G. K., Panigrahi, K. C., & Ghose, D. (2017). Pharmaceutical significance of Eudragit: A review. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3(1), 33-45.
- Patra, J. K., Das, G., Fraceto, L. F., & Campos, E. V. R. (2018). M. d. P. Rodriguez-Torres, LS Acosta-Torres, LA Diaz-Torres, R. Grillo, MK Swamy, and S. Sharma," Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects,". *Journal of nanobiotechnology*, 16(1), 1-33.
- Podzimek, S. (2011). *Light scattering, size exclusion chromatography and asymmetric flow field flow fractionation: powerful tools for the characterization of polymers, proteins and nanoparticles*. John Wiley & Sons.
- Polat, H., Pehlivan, S., & Çalış, S. (2018). Bakteriyel Keratit Tedavisinde Yeni İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Uygulanması. *Turkiye Klinikleri Journal of Ophthalmology*, 27(4).
- Portier, H., & Drugeon, H. B. (1994). Acide fusidique. *Médicaments anti-infectieux*, 243-248.
- Prausnitz, M. R., & Noonan, J. S. (1998). Permeability of cornea, sclera, and conjunctiva: a literature analysis for drug delivery to the eye. *Journal of pharmaceutical sciences*, 87(12), 1479-1488.
- Radomska-Soukharev, A. (2007). Stability of lipid excipients in solid lipid nanoparticles. *Advanced drug delivery reviews*, 59(6), 411-418.
- Ramirez-Ronda, C., Colon, M., Saavedra, S., Jacobo, S., & Corrado, M. L. (1987). Treatment of urinary tract infection with norfloxacin: analysis of cost. *The American Journal of Medicine*, 82(6), 75-78.

- Ramsay, E., Del Amo, E. M., Toropainen, E., Tengvall-Unadike, U., Ranta, V. P., Urtti, A., & Ruponen, M. (2018). Corneal and conjunctival drug permeability: Systematic comparison and pharmacokinetic impact in the eye. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 119, 83-89.
- Rao, T. N. (2018). Validation of analytical methods. *Calibration and validation of analytical methods—a sampling of current approaches*, 131-141.
- Rao, J. P., & Geckeler, K. E. (2011). Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. *Progress in polymer science*, 36(7), 887-913.
- Rapalli, V. K., Gorantla, S., Waghule, T., Mahmood, A., Singh, P. P., Dubey, S. K., ... & Singhvi, G. (2019). Nanotherapies for the treatment of age-related macular degeneration (AMD) disease: Recent advancements and challenges. *Recent patents on drug delivery & formulation*, 13(4), 283-290.
- Rawas-Qalaji, M., & Williams, C. A. (2012). Advances in ocular drug delivery. *Current eye research*, 37(5), 345-356.
- Reddy, Y. D., Dhachinamoorthi, D., & Sekhar, K. C. (2013). Formulation and in vitro evaluation of antineoplastic drug loaded nanoparticles as drug delivery system.
- Ribeiro, A. J., Silva, C., Ferreira, D., & Veiga, F. (2005). Chitosan-reinforced alginate microspheres obtained through the emulsification/internal gelation technique. *European journal of pharmaceutical sciences*, 25(1), 31-40.
- Robert, P. Y., & Adenis, J. P. (2001). Comparative review of topical ophthalmic antibacterial preparations. *Drugs*, 61, 175-185.
- Roner, M. R., Carraher Jr, C. E., Roehr, J. L., Bassett, K. D., & Siegmann-Louda, D. W. (2004). Anti-Viral Activity of Norfloxacin and Ampicillin and Dibutyltin Polymers Derived From Norfloxacin And Ampicillin Against Reovirus ST3, Vaccinia Virus, Herpes Simplex Virus(HSV-1) And Varicella Zoster Virus(VZV). *Polymeric Materials Science and Engineering*, 91.
- Rose, P. (2007). Management strategies for acute infective conjunctivitis in primary care: a systematic review. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 8(12), 1903-1921.

- Rutar, T., Zwick, O. M., Cockerham, K. P., & Horton, J. C. (2005). Bilateral blindness from orbital cellulitis caused by community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *American journal of ophthalmology*, 140(4), 740-742.
- Rüfer, F., Schröder, A., & Erb, C. (2005). White-to-white corneal diameter: normal values in healthy humans obtained with the Orbscan II topography system. *Cornea*, 24(3), 259-261.
- Sabra, R., Roberts, C. J., & Billa, N. (2019). Courier properties of modified citrus pectinate-chitosan nanoparticles in colon delivery of curcumin. *Colloid and Interface Science Communications*, 32, 100192.
- Sahoo, S., Chakraborti, C. K., Behra, C., & Mishra, S. (2011). Characterization of mucoadhesive norfloxacin suspensions by fourier transform infrared spectroscopy. *Int J Drug Dev Res*, 3, 261-270.
- Sanli, D., Bozbag, S. E., & Erkey, C. (2012). Synthesis of nanostructured materials using supercritical CO₂: Part I. Physical transformations. *Journal of Materials Science*, 47, 2995-3025.
- Seremeta, K. P., Chiappetta, D. A., & Sosnik, A. (2013). Poly (ϵ -caprolactone), Eudragit® RS 100 and poly (ϵ -caprolactone)/Eudragit® RS 100 blend submicron particles for the sustained release of the antiretroviral efavirenz. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 102, 441-449.
- Sharma, P. C., Saneja, A., & Jain, S. (2008). Norfloxacin: A therapeutic review. *Int J Chem Sci*, 6(4), 1702-1713.
- Shen, J., & Burgess, D. J. (2013). In vitro dissolution testing strategies for nanoparticulate drug delivery systems: recent developments and challenges. *Drug delivery and translational research*, 3, 409-415.
- Shirasaki, Y. (2008). Molecular design for enhancement of ocular penetration. *Journal of pharmaceutical sciences*, 97(7), 2462-2496.
- Singh, S., Neelam, S. A., & Singla, Y. P. (2015). An overview of multifaceted significance of eudragit polymers in drug delivery systems. *Asian J. Pharm. Clin. Res*, 8(5), 1-6.

- Singhvi, G., Banerjee, S., & Khosa, A. (2018). Lyotropic liquid crystal nanoparticles: a novel improved lipidic drug delivery system. In *Organic materials as smart nanocarriers for drug delivery* (pp. 471-517). William Andrew Publishing.
- Sinha, V. R., Bansal, K., Kaushik, R., Kumria, R., & Trehan, A. (2004). Poly-ε-caprolactone microspheres and nanospheres: an overview. *International journal of pharmaceutics*, 278(1), 1-23.
- Snyder, R. W., & Glasser, D. B. (1994). Antibiotic therapy for ocular infection. *Western journal of medicine*, 161(6), 579.
- Sosnik, A., & Seremeta, K. P. (2015). Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. *Advances in colloid and interface science*, 223, 40-54.
- Sood, D., Kumar, N., Singh, A., Sakharkar, M. K., Tomar, V., & Chandra, R. (2018). Antibacterial and pharmacological evaluation of fluoroquinolones: a chemoinformatics approach. *Genomics & informatics*, 16(3), 44.
- Soppimath, K. S., Aminabhavi, T. M., Kulkarni, A. R., & Rudzinski, W. E. (2001). Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of controlled release*, 70(1-2), 1-20.
- Sotto, A., & Jourdan, J. (1994). Tétracyclines. *Médicaments anti-infectieux*, 199-204.
- Sridhar, M. S. (2018). Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian journal of ophthalmology*, 66(2), 190.
- Sternling, C. A., & Scriven, L. E. (1959). Interfacial turbulence: hydrodynamic instability and the Marangoni effect. *AIChE Journal*, 5(4), 514-523.
- Swanson, B. N., Boppana, V. K., Vlasses, P. H., Rotmensch, H. H., & Ferguson, R. K. (1983). Norfloxacin disposition after sequentially increasing oral doses. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 23(2), 284-288.
- Teweldemedhin, M., Gebreyesus, H., Atsbaha, A. H., Asgedom, S. W., & Saravanan, M. (2017). Bacterial profile of ocular infections: a systematic review. *BMC ophthalmology*, 17(1), 1-9.

- Thagele, R., Mishra, A., & Pathak, A. K. (2011). Formulation and characterization of clarithromycin based nanoparticulate drug delivery system. *Int J Pharm Life Sci*, 2(1), 510-15.
- Trapani, A., Laquintana, V., Denora, N., Lopedota, A., Cutrignelli, A., Franco, M., ... & Liso, G. (2007). Eudragit RS 100 microparticles containing 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin and glutathione: Physicochemical characterization, drug release and transport studies. *European journal of pharmaceutical sciences*, 30(1), 64-74.
- Tsai, C. H., Wang, P. Y., Lin, I. C., Huang, H., Liu, G. S., & Tseng, C. L. (2018). Ocular drug delivery: Role of degradable polymeric nanocarriers for ophthalmic application. *International journal of molecular sciences*, 19(9), 2830.
- Ubani, U. A. (2009). Common bacterial isolates from infected eyes. *Journal of the Nigerian Optometric Association*, 15, 40-47.
- Urtti, A. (2006). Challenges and obstacles of ocular pharmacokinetics and drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 58(11), 1131-1135.
- Vasir, J. K., Reddy, M. K., & Labhasetwar, V. D. (2005). Nanosystems in drug targeting: opportunities and challenges. *Current Nanoscience*, 1(1), 47-64.
- Vauthier, C., & Bouchemal, K. (2009). Methods for the preparation and manufacture of polymeric nanoparticles. *Pharmaceutical research*, 26, 1025-1058.
- Vert, M. (2009). Degradable and bioresorbable polymers in surgery and in pharmacology: beliefs and facts. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 20(2), 437-446.
- Vijan, L. E., & Conci, M. (2008, May). Absorption study of norfloxacin–DNA interaction. In *Macromolecular symposia* (Vol. 265, No. 1, pp. 260-267). Weinheim: WILEY-VCH Verlag.
- Wang, Y., Zhu, L., Dong, Z., Xie, S., Chen, X., Lu, M., ... & Zhou, W. (2012). Preparation and stability study of norfloxacin-loaded solid lipid nanoparticle suspensions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 98, 105-111.

- Watsky, M. A., Jablonski, M. M., & Edelhauser, H. F. (1988). Comparison of conjunctival and corneal surface areas in rabbit and human. *Current eye research*, 7(5), 483-486.
- Wels, M., Roels, D., Raemdonck, K., De Smedt, S. C., & Sauvage, F. (2021). Challenges and strategies for the delivery of biologics to the cornea. *Journal of Controlled Release*, 333, 560-578.
- Weng, Y., Liu, J., Jin, S., Guo, W., Liang, X., & Hu, Z. (2017). Nanotechnology-based strategies for treatment of ocular disease. *Acta pharmaceutica sinica B*, 7(3), 281-291.
- Willoughby, C. E., Ponzin, D., Ferrari, S., Lobo, A., Landau, K., & Omid, Y. (2010). Anatomy and physiology of the human eye: effects of mucopolysaccharidoses disease on structure and function—a review. *Clinical & Experimental Ophthalmology*, 38, 2-11.
- Woodruff, M. A., & Hutmacher, D. W. (2010). The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in polymer science*, 35(10), 1217-1256.
- Worldwide, M. I. (2011). Dynamic light scattering, common terms defined. *Inform white paper. Malvern Instruments Limited*, 2011, 1-6.
- Wu, R., Huang, Q., Zhou, Z., Chen, Y., Hu, H., Wang, F., & Li, J. (2021). Nanoparticulate ophthalmic drug delivery of norfloxacin to prevent ocular infection after cataract surgery: Evaluation in animal model. *Materials Express*, 11(8), 1402-1411.
- Xu, J., Xue, Y., Hu, G., Lin, T., Gou, J., Yin, T., ... & Tang, X. (2018). A comprehensive review on contact lens for ophthalmic drug delivery. *Journal of controlled release*, 281, 97-118.
- Yang, Y., Jiang, Y., Xu, J., & Yu, J. (2007). Conducting polymeric nanoparticles synthesized in reverse micelles and their gas sensitivity based on quartz crystal microbalance. *Polymer*, 48(15), 4459-4465.
- Yenilmez, E. (2017). Desloratadine-Eudragit® RS100 nanoparticles: Formulation and characterization. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(2), 148.

- Yılmaz, A. (2012). Kimyasal analizlerde metod validasyonu ve verifikasyonu. *Turklab Rehber*, (01).
- Zhang, C. L., Li, B. Y., & Wang, Y. (2010). Solubilities of norfloxacin in ethanol, 1-propanol, acetone, and chloroform from 294.15 to 318.15 K. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 88(1), 63-66.
- Zhang, W., Prausnitz, M. R., & Edwards, A. (2004). Model of transient drug diffusion across cornea. *Journal of Controlled Release*, 99(2), 241-258.
- Zielińska, A., Ferreira, N. R., Feliczak-Guzik, A., Nowak, I., & Souto, E. B. (2020). Loading, release profile and accelerated stability assessment of monoterpenes-loaded solid lipid nanoparticles (SLN). *Pharmaceutical development and technology*, 25(7), 832-844.
- Zimmer, A., & Kreuter, J. (1995). Microspheres and nanoparticles used in ocular delivery systems. *Advanced drug delivery reviews*, 16(1), 61-73.

ÖZ GEÇMİŞ

Adı-Soyadı : İclal ÖZDEMİR

Yabancı Dil : İngilizce

Doğum Yeri ve Yılı :

E-Posta :

Eğitim:

- Lise: Karaman TOBB Fen Lisesi (2012-2015)/ Karaman Karadağ Temel Lisesi (2015-2016)
- Lisans: Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (2016-2021)

Mesleki Geçmişi:

- Özel Eskişehir Anadolu Hastanesi – Mesul Müdür Eczacı (Aralık 2021-Ekim 2023)
- Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Eczacılık Teknolojisi Bölümü Farmasötik Teknoloji Ana Bilim Dalı Araştırma Görevlisi, (Şubat 2025 - Devam etmekte)

Mesleki Birlik/Dernek/Kuruluş Üyelikleri:

- 2021, 9. Bölge Eskişehir Eczacı Odası